NORME INTERNATIONALE

ISO 20166-3

Première édition
2018-12

Analyses de diagnostic moléculaire in vitro — Spécifications relatives aux processus préanalytiques pour les tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) —

Partie 3: ADN extrait

Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for formalin-fixed and paraffin-embedded (FFPE) tissue —

Part 3: Isolated DNA

Numéro de référence
ISO 20166-3:2018(F)

© ISO 2018



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2018

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11
Fax: +41 22 749 09 47
E-mail: copyright@iso.org
Web: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos ..... **iv**
Introduction ..... **v**
1 Domaine d'application **1**
2 Références normatives **1**
3 Termes et définitions **1**
4 Considérations générales **4**
5 Hors du laboratoire **5**
5.1 Recueil des prélèvements 5
5.1.1 Généralités 5
5.1.2 Informations relatives au donneur/patient 5
5.1.3 Informations relatives au prélèvement 6
5.1.4 Traitement du prélèvement 6
5.2 Exigences de transport 7
6 Dans le laboratoire **7**
6.1 Informations relatives à la réception des prélèvements 7
6.2 Fixation au formol du prélèvement ou de l'échantillon 7
6.3 Évaluation de la pathologie du prélèvement et sélection du ou des échantillons 9
6.4 Post-fixation d'échantillons congelés 10
6.5 Décalcification 10
6.6 Traitement et inclusion en paraffine 10
6.7 Exigences relatives au stockage 10
6.8 Extraction de l'ADN 11
6.8.1 Généralités 11
6.8.2 Informations générales relatives aux protocoles d'extraction de l'ADN 11
6.8.3 Utilisation de kits commerciaux 12
6.8.4 Utilisation des protocoles propres aux laboratoires 12
6.9 Évaluation quantitative et qualitative de l'ADN extrait 13
6.10 Stockage de l'ADN extrait 14
Annexe A (informative) **Influence de la température de stockage sur l'intégrité de l'ADN dans les blocs de tissus FFPE** **15**
Bibliographie **17**

© ISO 2018 – Tous droits réservés

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est attirée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 212, *Laboratoires d'analyses de biologie médicale et systèmes de diagnostic in vitro*.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 20166 se trouve sur le site web de l'ISO.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

© ISO 2018 – Tous droits réservés

Introduction

Le diagnostic moléculaire in vitro, y compris la pathologie moléculaire, a permis de faire considérablement progresser la médecine. D'autres avancées sont attendues avec les nouvelles technologies d'analyse des acides nucléiques, des protéines et des métabolites dans les tissus humains et les fluides corporels. Toutefois, les profils et/ou l'intégrité de ces molécules peuvent varier considérablement au cours du prélèvement des échantillons primaires, du transport, du stockage et du traitement, et engendrer ainsi un résultat de diagnostic ou de recherche peu fiable, voire impossible, car l'analyse subséquente ne déterminera pas l'état du patient, mais un motif moléculaire artificiel généré pendant le processus préanalytique. Des études ont été réalisées afin de définir les facteurs ayant un impact sur l'analyse de l'ADN des tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE). Ces études ont établi qu'une normalisation de l'ensemble du processus allant du prélèvement des échantillons primaires jusqu'à l'analyse de l'ADN, est nécessaire. Le présent document se fonde sur ces travaux pour codifier et normaliser les étapes des processus dits de la phase préanalytique pour tissus FFPE au regard de l'analyse de l'ADN.

L'intégrité de l'ADN dans les tissus peut changer avant, pendant et après la fixation au formol, le traitement et le stockage. Les modifications chimiques apportées à l'ADN durant la fixation des tissus peuvent entraîner une fragmentation et une modification de séquence, des changements de l'état de méthylation ou même des changements structuraux susceptibles de conduire, par exemple, à de fausses variations du nombre de copies dans les profils des puces à ADN d'hybridation génomique comparative (CGH array). Ces modifications des molécules d'ADN peuvent avoir un impact sur la validité et la fiabilité des résultats d'analyse. Il est donc essentiel de prendre des mesures particulières afin de réduire le plus possible les changements et modifications de l'ADN décrits pour l'analyse ultérieure.

Dans le présent document, les formes verbales suivantes sont utilisées:

— «doit» indique une exigence;

— «il convient de/que» indique une recommandation;

— «peut/il est admis/permis» indique une autorisation;

— «peut/il est possible» indique une possibilité ou une capacité.

© ISO 2018 – Tous droits réservés

Analyses de diagnostic moléculaire in vitro — Spécifications relatives aux processus préanalytiques pour les tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) —

Partie 3: ADN extrait

1 Domaine d'application

Le présent document fournit des lignes directrices concernant la manipulation, la documentation, le stockage et le traitement de prélèvements de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) destinés à l'analyse de l'ADN durant la phase préanalytique précédant la réalisation d'une analyse moléculaire.

Le présent document s'applique aux analyses de diagnostic moléculaire in vitro, y compris les analyses développées en laboratoire, réalisées par des laboratoires de biologie médicale et des laboratoires de pathologie moléculaire. Il est également destiné à être utilisé par des clients de laboratoires, des développeurs et fabricants de l'industrie du diagnostic in vitro, ainsi que par des biobanques, des institutions et des organismes commerciaux spécialisés en recherche biomédicale, de même que des autorités de réglementation.

NOTE Des réglementations ou exigences internationales, nationales ou régionales peuvent également s'appliquer à des sujets spécifiques traités dans le présent document.

2 Références normatives

Les documents suivants cités dans le texte constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 15189:2012, *Laboratoires de biologie médicale — Exigences concernant la qualité et la compétence*

ISO 15190, *Laboratoires de médecine — Exigences pour la sécurité*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions de l'ISO 15189 ainsi que les suivants, s'appliquent.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse https://www.iso.org/obp;

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse http://www.electropedia.org/.

3.1
aliquote
partie d'une quantité plus importante d'un matériau homogène, prélevée avec une erreur d'échantillonnage supposée négligeable

Note 1 à l'article: Le terme s'applique généralement à des fluides. Les tissus sont hétérogènes et ne peuvent donc pas être aliquotés.

© ISO 2018 – Tous droits réservés

Note 2 à l'article: La définition est issue des Références [25], [26] et [27].

3.2
température ambiante
température non régulée de l'air environnant

3.3
analyte
composant représenté sous la forme d'une grandeur mesurable

[SOURCE: ISO 17511:2003, 3.2, modifiée — L'EXEMPLE a été supprimé.]

3.4
performance analytique
l'exactitude, la précision, la spécificité et la sensibilité d'une analyse pour mesurer l'*analyte* (3.3) concerné

Note 1 à l'article: D'autres caractéristiques de performance d'analyse, telles que la robustesse ou la répétabilité, peuvent également s'appliquer.

3.5
ischémie froide
état d'un tissu suite à son prélèvement de l'organisme jusqu'à sa stabilisation ou sa fixation

3.6
diagnostic
identification d'un état de santé sain ou pathologique à partir de ses signes et/ou symptômes, dans laquelle le processus de diagnostic peut impliquer des *analyses* (3.8) et essais pour la classification de l'état d'un individu en catégories ou sous-classes distinctes, laquelle permet la prise de décisions médicales concernant le traitement et le pronostic à établir

3.7
ADN
acide désoxyribonucléique
polymère de désoxyribonucléotides se présentant sous la forme de double brin (ADNdb) ou de simple brin (ADNsb)

[SOURCE: ISO 22174:2005, 3.1.2]

3.8
analyse
phase analytique
ensemble des opérations destinées à déterminer la valeur ou les caractéristiques d'une propriété

Note 1 à l'article: Les processus débutent avec l'analyte extrait et comprennent toutes sortes d'essais paramétriques ou une manipulation chimique en vue de réaliser l'analyse quantitative ou qualitative.

[SOURCE: ISO 15189:2012, 3.7, modifiée — Les Notes à l'Article 1 à 3 ont été supprimées, la Note 1 à l'article a été ajoutée, le terme «examen» a été remplacé par «analyse» et «phase analytique» a été ajouté comme terme privilégié.]

3.9
formol
solution aqueuse saturée en formaldéhyde qui, à 100 %, contient 37 % de formaldéhyde en masse (correspondant à 40 % en volume)

3.10
fixation au formol
traitement d'un *échantillon* (3.18) avec une *solution de formol tamponnée standard* (3.20) à des fins de stabilisation

© ISO 2018 – Tous droits réservés

3.11
macroscopie
analyse macroscopique
contrôle de prélèvements pathologiques à l'œil nu, au cours de leur traitement à des fins d'analyse microscopique ultérieure, en vue d'obtenir des informations de diagnostic

3.12
substances interférentes
substances endogènes d'un *prélèvement* (3.15)/*échantillon* (3.18) ou substances exogènes (par exemple, solution de stabilisation) susceptibles d'altérer le résultat d'une analyse

3.13
inclusion en paraffine
processus dans lequel un échantillon de tissu est placé dans de la paraffine en vue de produire une matrice rigide environnante permettant le découpage de fines coupes microscopiques

3.14
processus préanalytique
phase préanalytique
flux de travail préanalytique
processus commençant chronologiquement par la prescription des analyses par le clinicien, comprenant la demande d'analyse, la préparation et l'identification du patient, le prélèvement de l'*échantillon primaire* (3.15), son acheminement jusqu'au laboratoire et au sein du laboratoire médical ou de pathologie, l'extraction des *analytes* (3.3), et finissant au début de l'analyse

Note 1 à l'article: La phase préanalytique comprend des processus de préparation qui influencent le résultat de l'analyse prévue.

[SOURCE: ISO 15189:2012, 3.15, modifiée — «Flux de travail préanalytique» a été ajouté comme terme privilégié, la Note 1 à l'article a été ajoutée et la définition a été complétée.]

3.15
échantillon primaire
prélèvement
spécimen
partie discrète d'un liquide corporel, d'une haleine, d'un cheveu ou d'un tissu prélevé à des fins d'*examens* (3.8), d'étude ou d'analyse d'une ou plusieurs grandeurs ou propriétés pour déterminer le caractère de l'ensemble

[SOURCE: ISO 15189:2012, 3.16, modifiée — Les Notes à l'Article 1 à 3 ont été supprimées.]

3.16
essai d'aptitude
évaluation de la performance d'un participant par rapport à des critères préétablis au moyen de comparaisons interlaboratoires

[SOURCE: ISO 17043:2010, 3.7, modifiée — Les Notes à l'Article 1 et 2 ont été supprimées.]

3.17
température de laboratoire
pour les besoins du présent document, température dans la plage de 18 °C à 25 °C

Note 1 à l'article: Des réglementations locales ou nationales peuvent stipuler des définitions différentes.

3.18
échantillon
une ou plusieurs parties prélevées à partir d'un *échantillon primaire* (3.15)

[SOURCE: ISO 15189:2012, 3.24, modifiée — L'EXEMPLE a été supprimé.]

© ISO 2018 – Tous droits réservés

3.19
stabilité
capacité d'un échantillon, lorsqu'il est entreposé dans des conditions spécifiées, à conserver une valeur de propriété spécifiée dans des limites spécifiées pendant une période de temps spécifiée

Note 1 à l'article: L'analyte pour les besoins du présent document est composé d'ADN extrait.

[SOURCE: Guide ISO 30:2015, 2.1.15, modifiée — L'expression «matériau de référence» a été remplacée par «échantillon» et la Note 1 à l'article a été modifiée.]

3.20
solution de formol tamponnée standard
formol neutre tamponné
NBF
solution de *formol* (3.9) à 10 % dans l'eau, avec une fraction massique de 3,7 % (correspondant à une fraction volumique de 4 %) de formaldéhyde, tamponnée entre un pH 6,8 et un pH 7,2

Note 1 à l'article: Les solutions de formol tamponnées standards contiennent souvent de petites quantités de méthanol pour inhiber l'oxydation et la polymérisation du formaldéhyde.

3.21
stockage
interruption prolongée du *flux de travail préanalytique* (3.14) d'un *échantillon* (3.18), d'un *analyte* (3.3) ou de leurs dérivés, tels que des coupes colorées ou des blocs de tissus, dans des conditions appropriées afin de préserver leurs propriétés

Note 1 à l'article: Le stockage à long terme a généralement lieu dans les sites d'archivage des laboratoires ou dans les biobanques.

3.22
appareil de préparation des tissus
instrument automatisé où la fixation, la déshydratation, le nettoyage et l'infiltration de paraffine des tissus sont opérés

3.23
validation
confirmation, par des preuves tangibles, que les exigences pour une utilisation spécifique ou une application prévue ont été satisfaites

Note 1 à l'article: Le terme «validé» est utilisé pour désigner l'état correspondant.

[SOURCE: ISO 9000:2015, 3.8.13, modifiée — Les Notes à l'Article 1 et 3 ont été supprimées.]

3.24
ischémie chaude
situation avant que le tissu soit prélevé de l'organisme, mais dans laquelle il est privé de son apport sanguin normal

3.25
flux de travail
série d'activités nécessaires à la réalisation d'une tâche

3.26
homogène
de structure et de composition uniformes

4 Considérations générales

Pour les instructions générales relatives aux systèmes de management de la qualité de laboratoire de biologie médicale et portant en particulier sur le prélèvement et la manipulation d'échantillons primaires (y compris la prévention des contaminations croisées), voir l'ISO 15189:2012, 4.2, 5.4.4,

© ISO 2018 – Tous droits réservés