NORME INTERNATIONALE

ISO 20184-1

Première édition
2018-11

Analyses de diagnostic moléculaire in vitro — Spécifications relatives aux processus préanalytiques pour les tissus congelés —

Partie 1: **ARN extrait**

Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for frozen tissue —

Part 1: Isolated RNA

Numéro de référence
ISO 20184-1:2018(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 **5**
5 Hors du laboratoire **6**
5.1 Recueil des prélèvements 6
5.1.1 Généralités 6
5.1.2 Informations relatives au donneur/patient 6
5.1.3 Informations relatives au prélèvement 6
5.1.4 Traitement du prélèvement 6
5.2 Exigences relatives au transport de tissus frais 7
5.2.1 Généralités 7
5.2.2 Préparation pour le transport 7
5.2.3 Au cours du transport 8
6 Dans le laboratoire **8**
6.1 Informations relatives à la réception du prélèvement 8
6.2 Évaluation de la pathologie du prélèvement et sélection du ou des échantillons 8
6.3 Congélation du prélèvement, du ou des échantillons 9
6.4 Exigences relatives au stockage 11
6.5 Extraction de l'ARN 12
6.5.1 Généralités 12
6.5.2 Exigences et recommandations. 12
6.5.3 Utilisation de kits commerciaux 13
6.5.4 Utilisation des protocoles propres aux laboratoires 13
6.6 Évaluation quantitative et qualitative de l'ARN extrait 13
6.7 Stockage de l'ARN extrait 14
6.7.1 Généralités 14
6.7.2 Utilisation de kits disponibles dans le commerce pour l'extraction de l'ARN 14
6.7.3 Utilisation des protocoles propres au laboratoire pour l'extraction de l'ARN 14
Annexe A (informative) **Impact des variables préanalytiques sur les profils d'ARN obtenus à partir d'échantillons de tissus hépatiques congelés prélevés pendant et après des interventions chirurgicales de routine** **15**
Bibliographie **19**

© 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 20184 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'essai analytique subséquent ne déterminera pas l'état du patient, mais un profil artificiel généré pendant le processus préanalytique.

Par conséquent, une normalisation de l'ensemble du processus, allant du prélèvement des échantillons primaires jusqu'à l'analyse de l'ARN, est nécessaire. Des études ont été réalisées afin de définir les facteurs ayant un impact important. Le présent document se fonde sur ces travaux pour codifier et normaliser les étapes des processus dits de la phase préanalytique pour tissus congelés au regard de l'analyse de l'ARN.

Les profils d'ARN dans les tissus peuvent changer considérablement avant, pendant et après le prélèvement (par exemple en raison de l'induction de gènes ou de la régulation à la baisse de l'expression de gènes). Les espèces d'ARN peuvent varier différemment dans les tissus de différents donneurs/patients.

Il est donc essentiel de prendre des mesures particulières afin de réduire le plus possible, au sein des tissus, les changements et modifications de profil d'ARN 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 congelés —

Partie 1: ARN extrait

1 Domaine d'application

Le présent document fournit des lignes directrices pour la manipulation, la documentation, le stockage et le traitement de prélèvements de tissus congelés destinés à l'analyse de l'ARN durant la phase préanalytique précédant la réalisation d'un essai moléculaire.

Le présent document s'applique aux analyses de diagnostic moléculaire in vitro réalisées par des laboratoires de biologie médicale et des laboratoires de pathologie moléculaire qui évaluent l'ARN extrait de tissus congelés. 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.

Le cas des tissus ayant subi un prétraitement de stabilisation chimique avant la congélation n'est pas couvert par le présent document.

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*

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/.

© ISO 2018 – Tous droits réservés

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.

Note 2 à l'article: La définition est issue des Références [22],[23] et [24].

3.2
température ambiante
température non régulée de l'air environnant

3.3
analyte
composant indiqué dans le nom d'une grandeur mesurable

[SOURCE: ISO 17511:2003, 3.2]

3.4
performance analytique
l'exactitude, la précision et la sensibilité d'un essai pour mesurer l'analyte concerné

Note 1 à l'article: D'autres caractéristiques de performance d'essai, 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 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
DNase
désoxyribonucléase
enzyme catalysant la dégradation de l'ADN en composants plus petits

3.9
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.]

© ISO 2018 – Tous droits réservés

3.10
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

3.11
homogène
de structure et de composition uniformes

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

3.13
processus préanalytiques
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, son acheminement jusqu'au laboratoire et au sein du laboratoire médical ou de pathologie, l'extraction des analytes, 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.]

3.14
échantillon primaire
prélèvement
spécimen
partie discrète d'un liquide corporel, d'une haleine, d'un cheveu ou d'un tissu prélevée à des fins d'examens, 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.]

3.15
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.]

3.16
profil d'ARN
quantités de molécules d'ARN individuelles qui sont présentes dans un échantillon et qui peuvent être mesurées en l'absence de toute perte, inhibition et interférence

3.17
ARN
acide ribonucléique
polymère de ribonucléotides se présentant sous la forme de double brin ou de simple brin

[SOURCE: ISO 22174:2005, 3.1.3]

© ISO 2018 – Tous droits réservés

3.18
RNase
ribonucléase
enzyme catalysant la dégradation de l'ARN en composants plus petits

3.19
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.

3.20
échantillon
une ou plusieurs parties prélevées à partir d'un échantillon primaire

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

3.21
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'ARN extrait.

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

3.22
stockage
interruption prolongée du flux de travail préanalytique d'un échantillon ou d'un analyte, respectivement, ou de leurs dérivés, par exemple 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.

3.23
validation
confirmation par des preuves objectives que les exigences pour une utilisation spécifique ou une application prévues 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
vérification
confirmation par des preuves objectives que les exigences spécifiées ont été satisfaites

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

[SOURCE: ISO 9000:2015, 3.8.12, modifiée — Les Notes 1 et 2 n'ont pas été reprises.]

Note 2 à l'article: La confirmation peut couvrir des activités telles que:

— la réalisation d'autres calculs;

— la comparaison d'une spécification de conception nouvelle avec une spécification de conception similaire éprouvée;

— la réalisation d'essais et de démonstrations;

— la revue des documents avant diffusion.

© ISO 2018 – Tous droits réservés

3.25
ischémie chaude
situation avant que le tissu soit prélevé de l'organisme, mais dans laquelle il est privé de son apport sanguin normal

3.26
flux de travail
série d'activités nécessaires à la réalisation d'une tâche

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, la réception et la manipulation d'échantillons primaires (y compris la prévention des contaminations croisées), voir l'ISO 15189:2012, 4.2, 5.4.4, 5.4.6 ou l'ISO/IEC 17020:2012, Article 8 et 7.2. Les exigences relatives aux équipements de laboratoire, aux réactifs et aux consommables conformément à l'ISO 15189:2012, 5.3 doivent être respectées; l'ISO 15189:2012, 5.5.1.2 et 5.5.1.3, et l'ISO/IEC 17020:2012, 6.2 peuvent également s'appliquer.

Toutes les étapes d'un flux de travail de diagnostic peuvent influencer le résultat final de l'analyse. Par conséquent, le flux de travail complet, y compris la stabilité des biomolécules et les conditions de stockage des échantillons, doit être vérifié et validé. Les étapes du flux de travail qui ne peuvent pas toujours être contrôlées (par exemple l'ischémie chaude) doivent être documentées. Une évaluation des risques des étapes non contrôlables du flux de travail, incluant leur impact potentiel sur la performance analytique, doit être réalisée et des mesures d'atténuation doivent être mises en place pour obtenir la performance analytique requise.

Avant ou pendant la conception de la phase analytique, il convient donc d'étudier et de s'assurer que le ou les profils d'ARN destinés à être analysés ne sont pas compromis de manière à avoir un impact sur la performance analytique (par exemple en réalisant une expérience ou une étude cinétique; voir également l'Annexe A).

Avant la stabilisation des tissus par congélation, le ou les profils d'ARN peuvent changer, par exemple par induction de gènes, régulation à la baisse de l'expression de gènes et dégradation de l'ARN. Ces effets dépendent de la durée des ischémies chaude et froide et de la température ambiante avant la congélation. De plus, les effets décrits peuvent varier dans les tissus de différents donneurs/patients.

En général, plus la durée des ischémies chaude et froide est longue et plus la température ambiante est élevée avant la congélation du prélèvement tissulaire, plus le risque est élevé de voir se produire des modifications du profil d'ARN.

NOTE L'ischémie chaude peropératoire peut entraîner des modifications plus marquées des profils d'ARN qu'au cours de l'ischémie froide postopératoire[7][8]. Les profils d'ARN peuvent également varier en fonction de l'origine et du type du tissu, de la maladie sous-jacente, de l'intervention chirurgicale, du traitement et des médicaments administrés pour l'anesthésie ou pour le traitement d'une maladie concomitante, ainsi qu'en fonction des différentes conditions environnementales après le prélèvement du tissu sur l'organisme.

Comme une normalisation de l'ischémie chaude n'est pas facilement réalisable, sa durée doit être documentée. Lorsqu'il n'est pas possible d'éviter l'ischémie froide, sa durée doit être documentée et il convient de consigner les températures aux abords du récipient du prélèvement. Lorsque le prélèvement est transporté vers un autre établissement pour la congélation, la durée du transport doit être documentée et il convient de documenter également les conditions ambiantes.

Les instructions en matière de sécurité pour le transport et la manipulation doivent être prises en considération (voir l'ISO 15189:2012, 5.2.3 et 5.4.5 et l'ISO 15190).

Des précautions doivent être prises au cours de l'ensemble du processus préanalytique afin d'éviter toute contamination croisée entre les différents prélèvements/échantillons, par exemple en utilisant, dans la mesure du possible, du matériel à usage unique ou en mettant en place des méthodes de nettoyage appropriées entre les traitements des différents prélèvements/échantillons.

© ISO 2018 – Tous droits réservés