NORME INTERNATIONALE

ISO 20186-1

Première édition
2019-02

Analyses de diagnostic moléculaire in vitro — Spécifications relatives aux processus préanalytiques pour le sang total veineux —

Partie 1: ARN cellulaire extrait

Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for venous whole blood —

Part 1: Isolated cellular RNA

Numéro de référence
ISO 20186-1:2019(F)

© ISO 2019



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

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 Informations relatives au donneur/patient 6
5.1.2 Choix du tube de prélèvement de sang total veineux par le laboratoire 6
5.1.3 Protocoles de prélèvement de sang total veineux primaire du donneur/patient et méthodes de stabilisation 7
5.1.4 Informations sur les échantillons primaires et exigences de stockage dans le centre de prélèvement 7
5.2 Exigences de transport 8
6 Dans le laboratoire **9**
6.1 Informations relatives à la réception des prélèvements 9
6.2 Exigences relatives au stockage 9
6.3 Extraction de l'ARN cellulaire 10
6.3.1 Généralités 10
6.3.2 Utilisation de tubes de prélèvement sanguin contenant des stabilisateurs de profil d'ARN 10
6.3.3 Utilisation de tubes de prélèvement sanguin sans stabilisateurs de profil d'ARN 10
6.4 Évaluation quantitative et qualitative de l'ARN cellulaire extrait 11
6.5 Stockage de l'ARN cellulaire extrait 11
6.5.1 Généralités 11
6.5.2 ARN cellulaire extrait à l'aide de kits disponibles dans le commerce 12
6.5.3 ARN cellulaire extrait selon les propres protocoles du laboratoire 12
Annexe A (informative) **Impact des étapes du processus préanalytique sur les profils de l'ARN cellulaire du sang total veineux** **13**
Annexe B (informative) **Influence de la température de stockage du sang sur les profils d'ARN cellulaire sanguin** **18**
Bibliographie **20**

© ISO 2019 – 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.*

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.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 20186 se trouve sur le site web de l'ISO.

 © ISO 2019 – Tous droits réservés

Introduction

Le diagnostic moléculaire in vitro a permis de faire considérablement progresser la médecine. D'autres avancées sont attendues avec les nouvelles technologies d'analyse des profils des acides nucléiques, des protéines et des métabolites dans les tissus humains et les fluides corporels. Toutefois, les profils de ces molécules peuvent changer radicalement au cours des processus préanalytiques, notamment lors du prélèvement des échantillons primaires, du transport, du stockage et du traitement. Le résultat du diagnostic ou de la recherche est donc peu fiable, voire impossible à obtenir, car l'analyse subséquente pourrait ne pas déterminer l'état réel du patient, mais un profil artificiel généré pendant les processus préanalytiques.

Les profils d'ARN cellulaire sanguin peuvent varier de manière significative après le prélèvement sanguin. Par conséquent, il est nécessaire de prendre des mesures spécifiques pour assurer la bonne qualité des échantillons de sang en vue de l'analyse de l'ARN cellulaire et de son stockage.

Une normalisation de l'ensemble du processus, allant du prélèvement des échantillons primaires jusqu'à l'analyse de l'ARN cellulaire, 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 l'ARN cellulaire du sang total veineux.

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 2019 – Tous droits réservés

Analyses de diagnostic moléculaire in vitro — Spécifications relatives aux processus préanalytiques pour le sang total veineux —

Partie 1: ARN cellulaire extrait

1 Domaine d'application

Le présent document fournit des lignes directrices pour la manipulation, le stockage, le traitement et la documentation des prélèvements de sang total veineux destinés à l'analyse de l'ARN cellulaire durant la phase préanalytique précédant la réalisation d'un essai moléculaire. Le présent document concerne les échantillons primaires prélevés dans des tubes de prélèvement de sang total veineux.

Le présent document s'applique aux analyses de diagnostic moléculaire in vitro réalisées par des laboratoires de biologie médicale. 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.

Des mesures spécifiques différentes sont prises pour stabiliser l'ARN libre circulant dans le sang et l'ARN des exosomes du sang. Ces mesures ne sont pas décrites dans le présent document.

Des mesures spécifiques différentes sont prises pour prélever, stabiliser, transporter et stocker le sang capillaire, et pour prélever et stocker le sang par des technologies à base de support papier ou d'autres technologies produisant du sang séché. Ces mesures ne sont pas décrites dans le présent document.

Le présent document ne traite ni de l'extraction de cellules sanguines spécifiques ni de l'extraction de l'ARN cellulaire qu'elles contiennent.

L'ARN des pathogènes présents dans le sang n'est pas couvert par le présent document.

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils 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 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 2019 – Tous droits réservés

3.1
température ambiante
température non régulée de l'air environnant

3.2
analyte
composant indiqué dans le nom d'une grandeur mesurable

[SOURCE: ISO 17511:2003, 3.2]

3.3
reflux
écoulement d'un liquide dans la direction opposée à la direction d'écoulement habituelle ou souhaitée

3.4
ARN cellulaire sanguin
ARN cellulaire
molécules d'ARN présentes dans les cellules sanguines

3.5
profil d'ARN cellulaire sanguin
quantités de molécules d'ARN individuelles qui sont présentes dans les cellules sanguines et qui peuvent être mesurées en l'absence de toute perte, inhibition et interférence

3.6
stabilisateurs de profil d'ARN cellulaire sanguin
composés, solutions ou mélanges qui sont conçus pour limiter les modifications du *profil d'ARN cellulaire sanguin* (3.5)

3.7
kit de prélèvement sanguin
dispositif intraveineux conçu spécifiquement pour la ponction veineuse, constitué d'une aiguille biseautée en acier inoxydable et d'un tube doté d'ailettes en plastique et d'un raccord

Note 1 à l'article: Le raccord se fixe sur un dispositif de prélèvement sanguin supplémentaire, par exemple un *tube de prélèvement sanguin* (3.8).

3.8
tube de prélèvement sanguin
tube utilisé pour prélever du sang, généralement sous un vide entraînant le sang de la veine à pénétrer dans l'aiguille pour venir remplir le tube

3.9
système fermé
système non modifiable, fourni par le fournisseur, incluant tous les composants nécessaires à l'analyse (c'est-à-dire le matériel, les logiciels, les protocoles et les réactifs)

3.10
acide désoxyribonucléique
ADN
polymère de désoxyribonucléotides se présentant sous la forme de double brin (ADNdb) ou de brin simple (ADNsb)

[SOURCE: ISO 22174:2005, 3.1.2]

3.11
DNase
désoxyribonucléase
enzyme catalysant la dégradation de l'ADN en composants plus petits

© ISO 2019 – Tous droits réservés

3.12
analyse
phase analytique
ensemble des opérations destinées à déterminer la valeur ou les caractéristiques d'une propriété

[SOURCE: ISO 15189:2012, 3.7, modifiée — Le terme et la définition sont repris ici sans les notes d'origine; ajout d'un terme supplémentaire.]

Note 1 à l'article: Les processus débutent avec l'*analyte* (3.2) extrait et comprennent toutes sortes d'essais paramétriques ou de manipulations chimiques en vue de réaliser l'analyse quantitative ou qualitative.

3.13
performance analytique
capacité d'un dispositif de déceler ou mesurer correctement un *analyte* (3.2) donné

Note 1 à l'article: La performance analytique est déterminée à partir des études de performance analytique servant à évaluer la capacité d'un dispositif de diagnostic in vitro de déceler ou mesurer correctement un analyte particulier.

Note 2 à l'article: La performance analytique englobe des caractéristiques telles que la sensibilité analytique, la limite de détection, la spécificité analytique (interférences et réactivité croisée), la justesse, la fidélité et la linéarité.

[SOURCE: ISO/TS 17822-1:2014, 3.2, modifiée — Deux termes ont été ajoutés.]

3.14
prestataire d'analyse
entité fournissant une analyse spécifique

3.15
substance interférente
substances endogènes ou exogènes présentes dans les *prélèvements* (3.18) cliniques/*échantillon* (3.24) et pouvant altérer le résultat d'une *analyse* (3.12)

Note 1 à l'article: Les constituants du sang et les polysaccharides acides sont des exemples de substances endogènes.

Note 2 à l'article: Le talc et les anticoagulants sont des exemples de substances exogènes.

3.16
porte-aiguille
corps de seringue utilisé dans les protocoles de ponction veineuse de routine pour maintenir en place le *tube de prélèvement sanguin* (3.8) et protéger le phlébotomiste d'un contact direct avec le sang

3.17
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* (3.18), son acheminement jusqu'au laboratoire de biologie médicale et au sein du laboratoire de biologie médicale, l'extraction des analytes, et finissant au début de l'analyse

Note 1 à l'article: La phase préanalytique comprend des processus de préparation, par exemple des protocoles d'extraction d'ARN, qui influencent le résultat de l'analyse prévue.

[SOURCE: ISO 15189:2012, 3.15, modifiée — Un terme supplémentaire a été ajouté et des détails supplémentaires ont été inclus.]

© ISO 2019 – Tous droits réservés

3.18
échantillon primaire
spécimen
prélèvement
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 ont été omises.]

3.19
dispositif de collecte d'échantillon primaire
dispositif de collecte d'un prélèvement
appareillage spécifiquement désigné par le fabricant d'un dispositif médical de DIV pour obtenir, contenir et conserver un fluide ou un tissu corporel pour l'analyse de diagnostic in vitro

Note 1 à l'article: Sont inclus les dispositifs destinés à conserver un échantillon primaire avant l'analyse.

Note 2 à l'article: Sont inclus les dispositifs de collecte d'échantillon primaire sous vide et sans vide.

[SOURCE: ISO 18113-1:2009, 3.55]

3.20
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 ont été omises.]

3.21
acide ribonucléique
ARN
polymère de ribonucléotides se présentant sous la forme de double brin ou de brin simple

[SOURCE: ISO 22174:2005, 3.1.3]

3.22
RNase
ribonucléase
enzyme catalysant la dégradation de l'ARN en composants plus petits

3.23
température de laboratoire
température dans la plage de 18 °C à 25 °C

Note 1 à l'article: Cette définition est donnée aux fins du présent document. Des réglementations locales ou nationales peuvent stipuler des définitions différentes.

3.24
échantillon
une ou plusieurs parties prélevées à partir d'un *échantillon primaire* (3.18)

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

3.25
stabilité
caractéristique 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

[SOURCE: Guide ISO 30:2015, 2.1.15, modifiée — L'expression «matériau de référence» a été remplacée par «échantillon».]

© ISO 2019 – Tous droits réservés

3.26
validation
confirmation, par des preuves objectives, que les exigences pour une utilisation ou une application spécifiques 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 1 et 3 ont été omises.]

3.27
sang total veineux
sang prélevé après perforation directe d'une veine, généralement avec une aiguille et une seringue ou tout autre dispositif de prélèvement

3.28
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.

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

— réalisation de calculs alternatifs;

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

— réalisation d'essais et de démonstrations;

— revue des documents avant diffusion.

[SOURCE: ISO 9000:2015, 03/08/2012, modifiée — Les Notes 1 et 2 n'ont pas été reprises.]

3.29
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, 7.2 et Article 8. 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 analytique final. Par conséquent, le flux de travail complet, y compris les conditions de stockage et de transport des échantillons/prélèvements, ainsi que son impact sur la stabilité des biomolécules destinées à être analysées, doit être vérifié et validé. Les étapes du flux de travail qui ne peuvent pas toujours être contrôlées doivent être documentées, leur impact sur la performance analytique doit être étudié et des mesures d'atténuation doivent être mises en place pour garantir la performance analytique requise. Dans pareils cas, une évaluation des risques est recommandée.

Les profils d'ARN cellulaire peuvent changer de manière significative après le prélèvement sanguin, par exemple par induction génique, régulation génique à la baisse ou dégradation de l'ARN.[8][9][10][11] Ces changements peuvent varier différemment dans le sang provenant de différents donneurs ou patients[8][12][13][14][15] et peuvent influer sur la validité et la fiabilité des résultats d'analyse.

Avant ou pendant la conception de l'analyse, il convient donc d'étudier et de s'assurer que le ou les profils d'ARN cellulaire sanguin spécifiques destinés à être analysés ne sont pas compromis par le

© ISO 2019 – Tous droits réservés