
**Analyse moléculaire des
biomarqueurs — Définitions générales
et exigences relatives à la détection
sur microréseaux de séquences
d'acides nucléiques spécifiques**

*Molecular biomarker analysis — General definitions and requirements
for microarray detection of specific nucleic acid sequences*
(standards.iteh.ai)

[ISO 16578:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f78423b2-ccd7-4891-907a-c2cac6545ea4/iso-16578-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f78423b2-ccd7-4891-907a-c2cac6545ea4/iso-16578-2013>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16578:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f78423b2-ccd7-4891-907a-c2cac6545ea4/iso-16578-2013>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2013

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées 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 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 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	2
4 Principe	3
4.1 Essai sur support de microréseau.....	3
4.2 Conception et fabrication de microréseaux.....	3
4.3 Validation de la spécificité de l'hybridation.....	3
4.4 Validation interlaboratoires des méthodes qualitatives.....	4
5 Expression des résultats	5
5.1 Généralités.....	5
5.2 Expression d'un résultat négatif.....	5
5.3 Expression d'un résultat positif.....	5
5.4 Expression d'un résultat non concluant.....	5
6 Rapport d'essai	6
Bibliographie	7

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 16578:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f78423b2-ccd7-4891-907a-c2cac6545ea4/iso-16578-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f78423b2-ccd7-4891-907a-c2cac6545ea4/iso-16578-2013>

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 (CEI) 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/CEI, 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/CEI, Partie 2, www.iso.org/directives.

L'attention est appelée 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 sur la liste ISO des déclarations de brevets reçues, www.iso.org/brevets.

Les éventuelles appellations commerciales utilisées dans le présent document sont données pour information à l'intention des utilisateurs et ne constituent pas une approbation ou une recommandation.

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 16, *Méthodes horizontales pour l'analyse moléculaire de biomarqueurs*.

[ISO 16578:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f78423b2-ccd7-4891-907a-c2cac6545ea4/iso-16578-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f78423b2-ccd7-4891-907a-c2cac6545ea4/iso-16578-2013>

Introduction

La présente Norme internationale porte essentiellement sur les méthodologies basées sur les microréseaux d'ADN.

Un microréseau d'ADN est une technique de biologie moléculaire permettant de détecter simultanément de multiples séquences d'acide nucléique. Elle est particulièrement adaptée à l'identification de séquences d'acides nucléiques d'intérêt et à l'étude des profils d'expression des gènes. Les microréseaux et la technologie qui en découle ont été développés pour être utilisés dans le domaine de l'analyse des aliments [par exemple l'analyse d'organismes génétiquement modifiés (OGM), l'identification de biomarqueurs, etc.]. Bien que les paramètres normalisés requis pour appliquer les méthodes basées sur les microréseaux aient été étudiés (par exemple MAQC et MIAME), il est nécessaire de définir des exigences minimales concernant l'interprétation des résultats.

De ce fait, la présente Norme internationale a pour objectif de fournir des lignes directrices et d'indiquer des exigences pour la recherche de séquences d'acides nucléiques d'intérêt sur microréseaux. Ces informations concernent:

- l'établissement de procédures de validation des méthodes basées sur les microréseaux d'ADN;
- la définition des principes généraux mis en œuvre lors de la réalisation de ces analyses en laboratoire.

La technologie des microréseaux est issue des transferts d'ADN; son principe central réside dans l'hybridation de deux brins d'ADN, en vertu de la complémentarité des séquences d'acide nucléique. Un microréseau d'ADN est une accumulation de taches microscopiques d'ADN fixées sur un substrat solide ou des billes codées. La mise au point d'un essai sur microréseau requiert en général de concevoir les sondes ADN, de les mettre en place sur un substrat solide, de marquer les séquences d'acides nucléiques cibles, d'hybrider les cibles avec les sondes ADN et d'élaborer un système de détection approprié. Il existe de nombreux types de réseaux et quantité de moyens de fabriquer des microréseaux. Selon les techniques de marquage des cibles mises en œuvre, l'hybridation peut être détectée par des signaux électriques, colorimétriques, et/ou de fluorescence.

Au moment de la publication de la présente Norme internationale, des pratiques optimisées et des normes pour la représentation des données et l'indication des informations minimales ont été développées afin d'assurer la comparabilité et la reproductibilité des données obtenues sur microréseaux. Cependant, seules quelques publications se sont penchées sur la fiabilité et la comparabilité de supports de microréseaux déterminés et il est fort probable qu'en l'occurrence, une validation dans un seul laboratoire ne serait pas suffisante. Il convient plutôt d'adopter une validation interlaboratoires de la méthode, en conformité avec des lignes directrices internationales spécifiques.

NOTE 1 Le consortium de Contrôle qualité des microréseaux [Microarray Quality Control (MAQC) consortium] fournit d'excellentes ressources pour déterminer des pratiques optimisées de la technologie des microréseaux, y compris l'utilisation d'un matériau de référence, l'organisation des données et les présentations.

Voir <http://www.fda.gov/ScienceResearch/BioinformaticsTools/MicroarrayQualityControlProject/default.htm>

NOTE 2 Les Informations minimales concernant les expériences sur microréseaux (MIAME) via d'une part l'établissement de normes communes ayant pour objet de décrire les données relatives aux microréseaux et les systèmes de transfert et de gestion des données, et d'autre part la mise en place des banques publiques dédiées à l'exploitation et au stockage des données, facilitent la mise à disposition des informations détaillées qu'il est recommandé aux chercheurs de fournir, pour expliquer les modes opératoires et les objectifs biologiques de leurs travaux sur les microréseaux.

Voir <http://www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame.html>

Les exigences générales applicables en matière de détection d'ADN sont fixées dans les Normes internationales suivantes: ISO 21569, ISO 21570, ISO 21571, ISO 22174 et ISO 24276.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16578:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f78423b2-ccd7-4891-907a-c2cac6545ea4/iso-16578-2013>

Analyse moléculaire des biomarqueurs — Définitions générales et exigences relatives à la détection sur microréseaux de séquences d'acides nucléiques spécifiques

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale définit des termes relatifs à la recherche de séquences d'acides nucléiques d'intérêt à l'aide de microréseaux d'ADN pour la détection d'acides nucléiques.

La présente Norme internationale est applicable à toutes les méthodes qui utilisent des microréseaux pour la détection d'acides nucléiques.

La présente Norme internationale spécifie les paramètres et procédés de vérification utilisés en analyse de biologie moléculaire, y compris pour la recherche et l'identification de séquences d'acides nucléiques spécifiques.

La présente Norme internationale a été élaborée afin de fournir des recommandations et un protocole pour:

- la conception et la fabrication d'un microréseau;
- la validation de la spécificité d'hybridation;
- la validation interlaboratoire des méthodes qualitatives;
- la détermination des limites de détection pour un microréseau;
- la détermination d'une plage de signaux fiables;
- les critères d'évaluation des performances techniques du support de microréseau.

Elle n'aborde pas les protocoles suivants:

- le processus de quantification;
- les exigences relatives à la préparation de l'échantillon avant les expériences sur microréseau d'ADN.

2 Références normatives

Les documents suivants, en tout ou partie, sont référencés de manière normative dans le présent document et sont indispensables pour son application. 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 5725-1, *Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure — Partie 1: Principes généraux et définitions*

ISO 5725-2, *Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure — Partie 2: Méthode de base pour la détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode de mesure normalisée*

ISO 22174, *Microbiologie des aliments — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche de micro-organismes pathogènes dans les aliments — Exigences générales et définitions*

ISO 24276, *Produits alimentaires — Méthodes d'analyse pour la détection des organismes génétiquement modifiés et des produits dérivés — Exigences générales et définitions*

ISO/CEI 17025, *Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions donnés dans l'ISO 5725-1, l'ISO 5725-2, l'ISO/CEI 17025, le Guide ISO/CEI 99, l'ISO 22174 et l'ISO 24276 ainsi que les suivants s'appliquent.

3.1

limite de détection pour le support de microréseau

LDPM

plus petite quantité relative d'étalon externe (ou de matériau de référence) susceptible d'être détectée expérimentalement à un niveau de confiance de 95 %, étant donné un nombre de copies et/ou une concentration connus d'étalon externe (ou de matériau de référence), obtenus par détermination ou estimation

3.2

plage de signaux fiables

aptitude (à l'intérieur d'une plage donnée) à fournir des résultats qui sont directement proportionnels à la concentration et/ou au nombre de copies de l'étalon externe (ou du matériau de référence)

3.3

microréseau d'ADN

puce à ADN

support solide sur lequel une collection de sondes ADN disposée selon un motif particulier est fixée en haute densité directement ou indirectement, pour analyser de grandes quantités de matériau biologique par des méthodes de tri à haut débit

3.4

sonde ADN

acide nucléique simple brin défini par son aptitude à cibler une séquence d'acide nucléique spécifique par complémentarité des bases, pour lequel la solidité de la liaison est liée à la longueur des sondes et à la composition de leur acide nucléique, ainsi qu'aux paramètres réactionnels

3.5

support

dispositif sur lequel reposent les éléments nécessaires à la technologie des microréseaux (ou une puce à ADN)

3.6

détection de fluorescence

méthode de détection de l'hybridation au moyen d'une sonde ADN immobilisée, par mesurage d'un signal de fluorescence

3.7

détection colorimétrique

méthode de détection de l'hybridation au moyen d'une sonde ADN immobilisée, par mesurage d'un signal colorimétrique

3.8

détection électrochimique

méthode de détection de l'hybridation par mesurage des courants électriques sortant d'une électrode sur laquelle sont immobilisées des sondes ADN

3.9

étalon externe

matériau ou substrat préparé pour tester la compatibilité de méthodes d'analyse basées sur des microréseaux, dont la valeur caractéristique reconnue a été obtenue à partir d'essais interlaboratoires menés sous l'égide d'un groupe scientifique ou d'ingénierie

3.10

hybridation croisée

liaison non spécifique d'une sonde ADN à un acide nucléique non cible

4 Principe

4.1 Essai sur support de microréseau

Un essai sur support de microréseau comprend par exemple:

- la dénaturation d'un analyte d'ADN ou d'ARN simple ou double brin;
- l'hybridation de la ou des cibles aux sondes ADN liées à un support solide;
- la détection de l'hybridation par des signaux électriques, colorimétriques et/ou de fluorescence;
- l'analyse des données.

Le laboratoire doit mettre en œuvre des étalons externes (ou un matériau de référence) et des témoins appropriés à l'étape de mesurage sur microréseau, lors du processus de vérification. Ces exigences, qui régissent la vérification des méthodes basées sur des microréseaux d'ADN, contribuent également à faciliter l'interprétation des résultats.

4.2 Conception et fabrication de microréseaux

Il convient que les analyses sur microréseaux utilisent les types suivants de sondes ADN, et qu'elles soient conçues pour être vérifiables.

Un microréseau contient des sondes ADN pour détecter:

- les étalons externes (ou le matériau de référence);
- un témoin positif;
- un témoin négatif;
- la séquence d'acide nucléique étudiée.

La sonde ADN immobilisée doit être répliquée au moins en des emplacements doubles. Les sondes ADN doivent être conçues en tenant compte de la valeur T_m , du ratio G/C et de la spécificité des séquences. Il convient de décrire la séquence. Pour éviter toute confusion entre les bases des nucléotides, un «g» minuscule doit être utilisé pour bien faire la différence entre «G» et «C» dans la description (c'est-à-dire que C, g, A et T doivent être utilisés pour indiquer les bases). La qualité de la sonde ADN doit être garantie par une méthode appropriée (par exemple analyse spectroscopique, analyse par spectrométrie de masse, etc.).

4.3 Validation de la spécificité de l'hybridation

4.3.1 Évaluation théorique de la spécificité

L'évaluation théorique de la sonde ADN implique de faire une recherche dans l'une des grandes bases de données relatives aux séquences d'acides nucléiques, ou dans plusieurs d'entre elles (telles que Refseq: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq/>) avec un algorithme de recherche d'homologie de séquences (BLAST: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, le programme SSEARCH de la suite FASTA, etc.). Il convient de choisir des séquences spécifiques qui ne sont pas susceptibles de générer une hybridation croisée. Il est recommandé de soumettre à essai ces séquences expérimentalement.