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

**Partie 3:
ADN libre circulant extrait du plasma**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

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

Part 3: Isolated circulating cell free DNA from plasma

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e43759f-d28f-43a4-88ab-4084f049f2fa/iso-20186-3-2019>



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 20186-3:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e43759f-d28f-43a4-88ab-4084f049f2fa/iso-20186-3-2019>



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 du donneur/patient et protocoles 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 Réception des prélèvements.....	9
6.2 Exigences de stockage pour les prélèvements de sang.....	9
6.3 Préparation du plasma.....	9
6.4 Exigences de stockage pour les échantillons de plasma.....	10
6.5 Extraction de l'ADNc.....	11
6.5.1 Généralités.....	11
6.5.2 Utilisation de tubes de prélèvement sanguin contenant des stabilisateurs.....	11
6.5.3 Utilisation de tubes de prélèvement sanguin sans stabilisateur.....	12
6.6 Évaluation quantitative et qualitative de l'ADNc extrait.....	12
6.7 Stockage de l'ADNc extrait.....	12
6.7.1 Généralités.....	12
6.7.2 ADNc extrait avec des kits disponibles dans le commerce.....	13
6.7.3 ADNc extrait suivant des protocoles propres au laboratoire.....	13
Annexe A (informative) Impact des étapes du processus préanalytique sur les profils d'ADN libre circulant dans le plasma du sang total veineux	14
Bibliographie	18

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 www.iso.org/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 20186 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.

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 varier considérablement au cours du processus préanalytique, incluant le prélèvement des échantillons, le transport, le stockage et le traitement. Il en découle un résultat de diagnostic ou de recherche peu fiable, voire impossible, 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'ADN libre circulant (ADNlc) peuvent varier considérablement suite à un prélèvement sanguin (par exemple, libération d'ADN génomique par les cellules sanguines, dégradation et fragmentation de l'ADNlc et changement de la quantité d'ADNlc). Par conséquent, il est nécessaire que des mesures spécifiques soient prises pour assurer la bonne qualité des échantillons primaires en vue de l'analyse de l'ADNlc. Des études ont été réalisées afin de définir les facteurs les plus influents^[23].

Une normalisation de l'ensemble du flux de travail, à partir du prélèvement de l'échantillon primaire jusqu'à l'analyse de l'ADNlc, est nécessaire.

Le présent document normalise les étapes de la phase préanalytique de l'ADN libre circulant préparé à partir du plasma 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.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 20186-3:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e43759f-d28f-43a4-88ab-4084f049f2fa/iso-20186-3-2019>

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

Partie 3: ADN libre circulant extrait du plasma

1 Domaine d'application

Le présent document fournit des recommandations et des exigences sur la manipulation, le stockage, le traitement et la documentation des prélèvements de sang total veineux destinés à l'analyse de l'ADN libre circulant (ADNlc) durant la phase préanalytique précédant la réalisation d'un essai analytique. 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, non décrites dans le présent document, sont prises pour stabiliser l'ADN génomique sanguin. L'ADN génomique sanguin est couvert par l'ISO 20186-2.

Des mesures spécifiques différentes, non décrites dans le présent document, sont prises pour préserver l'ADN des exosomes circulants.

NOTE L'ADNlc extrait du sang à l'aide des protocoles cités dans le présent document est susceptible de contenir de l'ADN présent à l'origine dans les exosomes^{[8][9]}.

L'ADN 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/>.

**3.1
analyte**

composant représenté sous la forme d'une grandeur mesurable

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

**3.2
reflux**

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

**3.3
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.

**3.4
tube de prélèvement sanguin**

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

**3.5
ADNlc
ADN libre circulant**

ADN humain extracellulaire présent dans le sang et le plasma

Note 1 à l'article: l'ADNlc peut inclure de l'ADN présent dans des vésicules telles que les exosomes^{[8][9]}.

**3.6
profil d'ADNlc
profil d'ADN libre circulant**

quantité de molécules d'ADNlc individuelles présentes dans le sang et le plasma qui peut être mesurée en l'absence de toute perte, inhibition et interférence

ISO 20186-3:2019
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7e43759f-d28f-43a4-88ab-4084f049f2fa/iso-20186-3-2019>

**3.7
système fermé**

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

**3.8
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]

**3.9
DNase
désoxyribonucléase**

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

**3.10
analyse
essai analytique
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 termes « essai analytique » et « phase analytique » ont été ajoutés et sont considérés comme des termes complémentaires recommandés; les Notes à l'article ont été supprimées; une nouvelle Note 1 à l'article a été ajoutée.]

3.11

performance d'analyse
performance d'un essai analytique
performance analytique

aptitude d'un protocole d'analyse à mesurer ou détecter un analyte particulier

Note 1 à l'article: La performance analytique est déterminée à partir des études de performance analytique servant à évaluer l'aptitude d'un protocole d'analyse de diagnostic *in vitro* à mesurer ou détecter 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 recommandés ont été ajoutés.]

3.12

prestataire d'analyse
prestataire d'essai analytique

entité fournissant un essai analytique spécifique

3.13

porte-aiguille

corps de seringue utilisé dans les protocoles de ponction veineuse de routine pour maintenir en place le tube de prélèvement sanguin et protéger le phlébotomiste d'un contact direct avec le sang

3.14

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, 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 de l'ADNlc, qui influencent le résultat prévu de l'analyse.

[SOURCE: ISO 15189:2012, 3.15, modifiée — Un terme supplémentaire a été ajouté et davantage de précisions ont été apportées à la définition; la Note 1 à l'article a été ajoutée.]

3.15

échantillon primaire
prélèvement

partie discrète d'un fluide corporel, d'une haleine, d'un cheveu ou d'un tissu prélevé à des fins d'examen, 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 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/IEC 17043:2010, 3.7, modifiée — Les notes ont été supprimées.]

3.17

ARN

acide ribonucléique

polymère de ribonucléotide se présentant sous la forme de double brin ou de brin simple

[SOURCE: ISO 22174:2005, 3.1.3]

3.18

RNase

ribonucléase

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

3.19

température de laboratoire

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

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

caractéristique d'un échantillon primaire ou 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: ISO Guide 30:2015, 2.1.15, modifiée — L'expression « matériau de référence » a été remplacée par « échantillon primaire ou échantillon ».]

3.22

validation

confirmation, par des preuves objectives, 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 1 et 3 à l'article ont été supprimées, la Note 2 à l'article a été renumérotée en Note 1 à l'article.]

3.23

sang total veineux

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

3.24

vérification

confirmation par des preuves tangibles 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 d'autres calculs;
- 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, 3.8.12, modifiée — Les Notes 1 et 2 à l'article ont été supprimées, la Note 3 à l'article a été renumérotée en Note 1 à l'article; une nouvelle Note 2 à l'article a été ajoutée.]

3.25

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, Articles 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 les conditions de stockage et de transport des prélèvements/échantillons, et son impact sur la stabilité des biomolécules à analyser doivent être vérifiés et validés. 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 permettre la performance analytique requise. Dans pareils cas, une évaluation des risques est recommandée.

Les profils d'ADNlc peuvent varier de manière significative après le prélèvement sanguin. La libération d'ADN génomique par les cellules sanguines après le prélèvement peut modifier considérablement le profil de l'ADNlc (voir [A.1](#)). Des effets supplémentaires peuvent également se produire après le prélèvement, par exemple une fragmentation de l'ADNlc ^{[10][11][12][13]}. Toutes ces modifications après prélèvement peuvent varier individuellement parmi les prélèvements provenant de différents donneurs ou patients et peuvent dépendre également de l'état physiopathologique ^{[10][14][15][16]}. Cela peut avoir un impact sur la validité et la fiabilité des résultats de l'analyse (voir [A.2](#)).

Avant ou pendant la conception d'une analyse, il doit donc être examiné et garanti que le ou les profils d'ADNlc destinés à être analysés ne sont pas compromis d'une manière susceptible d'influer sur la performance de l'analyse. Cela peut être effectué, par exemple, en appliquant l'analyse prévue aux prélèvements/échantillons ayant été soumis à des études en temps contrôlé représentant les étapes unitaires du processus préanalytique telles que le transport et le stockage et en mettant en place des mesures destinées à prévenir ou à réduire les impacts induits par les variables préanalytiques identifiées, par exemple, en utilisant des tubes de prélèvement sanguin contenant des stabilisateurs.

Des protocoles de sécurité doivent être en mis en œuvre pour la manipulation et le transport. Les exigences en matière de sécurité pour le transport et la manipulation doivent être prises en considération (voir l'ISO 15189 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.

Si un produit commercial n'est pas utilisé selon les instructions du fabricant, la responsabilité de sa validation, de sa vérification, de son utilisation et de sa performance incombe à l'utilisateur.