NORME INTERNATIONALE

ISO 20184-2

Première édition
2018-11

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

Partie 2: Protéines extraites

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

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

Part 2: Isolated proteins

ISO 20184-2:2018
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7cb3559a-c1c4-46ec-8207-8d9671a605a0/iso-20184-2-2018

Numéro de référence
ISO 20184-2:2018(F)

© ISO 2018

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 20184-2:2018
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7cb3559a-c1c4-46ec-8207-8d9671a605a0/iso-20184-2-2018

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 des protéines totales ... 12
  - 6.5.1 Généralités ... 12
  - 6.5.2 Utilisation de kits commerciaux ... 12
  - 6.5.3 Utilisation des protocoles propres aux laboratoires ... 12
- 6.6 Évaluation quantitative et qualitative de protéines extraites ... 13
- 6.7 Stockage des protéines totales extraites ... 13

Annexe A (informative) **L'analyse protéique quantitative démontre les variations de quantités de protéines pendant l'ischémie froide** ... **15**

Bibliographie ... **19**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 20184-2:2018
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7cb3559a-c1c4-46ce-8207-8d7171a005a0/iso-20184-2-2018

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.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

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.

ISO 20184-2:2018
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7eb3559a-c1c4-4bec-8207-8d9671a605a0/iso-20184-2-2018

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 motif moléculaire 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 des protéines, 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 des protéines.

Les profils protéiques et les interactions protéine-protéine dans les tissus peuvent considérablement varier avant, pendant (par exemple en raison d'une ischémie chaude) et après le prélèvement (par exemple en raison d'une ischémie froide). Ces variations sont par exemple provoquées par une induction de gènes, une régulation à la baisse de l'expression de gènes ou une dégradation des protéines. Les quantités d'espèces protéiques peuvent varier dans les tissus des différents donneurs/patients. L'expression des gènes peut être influencée par le traitement donné ou l'intervention réalisée (chirurgie, biopsie) ou par les médicaments administrés pour l'anesthésie, voire pour le traitement d'une maladie concomitante, ainsi que par les différentes conditions environnementales après le prélèvement des tissus sur l'organisme.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

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 protéique décrits, pour l'analyse ultérieure.

Le présent document ne couvre pas les tissus ayant subi un prétraitement de stabilisation chimique avant la congélation. En outre, le présent document n'est pas applicable pour l'analyse des protéines par immunohistochimie.

ISO 20184-2:2018
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7cb9599a-a1e4-46ce-8207-8d9671a605a0/iso-20184-2-2018

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 20184-2:2018
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7cb3559a-c1c4-46ec-8207-8d9671a605a0/iso-20184-2-2018

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

Partie 2: Protéines extraites

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 congelés destinés à l'analyse des protéines extraites, 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 les protéines extraites 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.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

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

ISO 20184-2:2018
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7cb3559a-c1c4-46ec-8207-8d9671a605a0/iso-20184-2-2018

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 donnés dans 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 du Compendium of Chemical Terminology Gold Book. International Union of Pure and Applied Chemistry. Version 2.3.3., 2014; the PAC, 1990,62,1193 (Nomenclature for sampling in analytical chemistry (Recommendations 1990)) p. 1206; et the PAC 1990, 62, 2167 [Glossary of atmospheric chemistry terms (Recommendations 1990)] p. 2173.

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

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

ISO 20184-2:2018
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7cb3559a-c1c4-46ec-8207-8d9671a605a0/iso-20184-2-2018

3.7
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 — La définition est reprise ici sans les notes d'origine; le terme «examen» a été remplacé par «analyse».]

3.8
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

3.9
homogène
de structure et de composition uniformes

 © ISO 2018 – Tous droits réservés

3.10
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 — Un terme supplémentaire a été ajouté et des détails supplémentaires ont été inclus.]

3.11
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, 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 — Le terme et la définition sont repris ici sans les notes d'origine]

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

3.12
protéine
type de macromolécules biologiques composées d'une ou plusieurs chaînes avec une séquence définie d'acides aminés reliés par des liaisons peptidiques

ISO 20184-2:2018
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7cb3559a-c1c4-46ec-8207-8d9671a605a0/iso-20184-2-2018

3.13
profil protéique
quantités de molécules de protéines individuelles qui sont présentes dans un échantillon et qui peuvent être mesurées en l'absence de toute perte, inhibition et interférence

3.14
espèce protéique
quantités d'une protéine clairement définie d'un point de vue chimique, correspondant à un spot sur une image d'électrophorèse bidimensionnelle sur gel à haute performance

[SOURCE: Jungblut *et. al.*1996]

3.15
PTM
modifications post-traductionnelles
modifications chimiques d'une structure protéique primaire, souvent cruciales pour conférer une activité biologique à une protéine

[SOURCE: Encyclopedia of Psychopharmacology, 2010]

3.16
température de laboratoire
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.

© ISO 2018 – Tous droits réservés

3.17
échantillon
une ou plusieurs parties prélevées à partir d'un échantillon primaire

[SOURCE: ISO 15189:2012, 3.24, modifiée — Les exemples n'ont pas été repris.]

3.18
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

[SOURCE: ISO Guide 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.]

Note 1 à l'article: L'analyte pour les besoins du présent document est composé de protéines extraites.

3.19
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.

3.20
validation
confirmation, par des preuves tangibles, que les exigences pour une utilisation spécifique ou une application prévue ont été satisfaites

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

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

ISO 20184-2:2018
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7cb3559a-c1c4-46ec-8207-8d9671a605a0/iso-20184-2-2018

[SOURCE: ISO 9000:2015, 3.8.13, modifiée — Les Notes 1 et 3 n'ont pas été reprises.]

3.21
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.

[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.

3.22
ischémie chaude
situation avant que le tissu soit prélevé de l'organisme, mais dans laquelle il est privé de son apport sanguin normal

3.23
flux de travail
série d'activités nécessaires à la réalisation d'une tâche

 © ISO 2018 – Tous droits réservés

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 le développement et la mise en œuvre d'une analyse, il convient d'étudier la stabilité des protéines spécifiques à analyser et leurs modifications post-traductionnelles (si elles sont importantes pour l'analyse) durant l'ensemble du processus préanalytique (par exemple en réalisant une expérience ou une étude cinétique; voir également l'Annexe A et la Référence [8]).

Avant la stabilisation des tissus par congélation, les quantités, les conformations et l'état des liaisons des protéines peuvent changer, par exemple par dégradation et synthèse modifiée des protéines suite à l'induction de gènes, la régulation à la baisse de l'expression de gènes, la dégradation de l'ARN, et des changements de voie biochimique et d'état énergétique. 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.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 20184-2:2018
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7ed5555b-e364-46cb-b201-8d967fa005ab/iso-20184-2-2018

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 protéique.

NOTE Des durées d'ischémie froide prolongées entraînent des modifications des quantités de protéines (par exemple de la cytokératine 18) et de phosphoprotéines (par exemple phospho-p42/44)[8][9]. La conservation du prélèvement sur un bain de glace atténue cet effet[10]. Les quantités de protéines ainsi que les modifications post-traductionnelles peuvent également varier au cours de la phase préanalytique, 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 réglementations en matière de sécurité pour le transport et la manipulation doivent être suivies (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.

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

© ISO 2018 – Tous droits réservés