

---

---

**Systèmes d'essai pour diagnostic  
in vitro — Exigences et  
recommandations pour la détection  
du coronavirus 2 du syndrome  
respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2)  
au moyen de méthodes d'amplification  
de l'acide nucléique**

*In vitro diagnostic test systems — Requirements and  
recommendations for detection of severe acute respiratory syndrome  
coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by nucleic acid amplification methods*

[ISO/TS 5798:2022](https://standards.iteh.ai/standards/sist/3e2f46ec-d455-4488-a42b-f37cf27a46b5/iso-ts-5798-2022)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3e2f46ec-d455-4488-a42b-f37cf27a46b5/iso-ts-5798-2022>



iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO/TS 5798:2022

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3e2f46ec-d455-4488-a42b-f37cf27a46b5/iso-ts-5798-2022>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2022

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  
E-mail: [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

<b>Avant-propos</b> .....	<b>v</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>vi</b>
<b>1 Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3 Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>4 Vue d'ensemble</b> .....	<b>7</b>
4.1 SARS-CoV-2 .....	7
4.1.1 Généralités .....	7
4.1.2 Préanalyse .....	9
4.1.3 Analyse — Vue d'ensemble .....	9
4.1.4 Phase postanalytique .....	11
4.2 Méthodes d'amplification de l'acide nucléique .....	11
4.2.1 qPCR à transcription inverse (RT-qPCR) .....	11
4.2.2 PCR numérique à transcription inverse (RT-dPCR) .....	12
4.2.3 Méthodes d'amplification isotherme .....	12
<b>5 Exigences imposées aux laboratoires</b> .....	<b>13</b>
5.1 Généralités .....	13
5.2 Exigences de biosécurité .....	13
5.2.1 Au sein du laboratoire .....	13
5.2.2 Maîtrise des risques .....	13
5.2.3 Équipement de protection individuelle (EPI) .....	14
5.3 Configuration générale du laboratoire .....	14
5.4 Appareillage .....	14
5.5 Personnel de laboratoire .....	14
<b>6 Conception et développement</b> .....	<b>15</b>
6.1 Besoins des clients, des patients et des parties prenantes .....	15
6.2 Usage prévu de l'analyse .....	15
6.3 Stratégie institutionnelle .....	15
6.3.1 Tests développés en laboratoire (LDT) et dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (dispositifs médicaux de DIV) .....	15
6.3.2 Autorisation d'utilisation d'urgence .....	16
6.4 Stratégie clinique .....	16
6.5 Spécification des besoins de conception et de développement .....	17
6.5.1 Préanalyse des spécimens respiratoires en vue du dépistage du SARS-CoV-2 .....	17
6.5.2 Spécifications de conception de l'analyse (spécifications de l'analyse) .....	24
6.5.3 Gestion du risque de conception .....	30
6.6 Optimisation des réactifs et des méthodes .....	30
6.6.1 Sélection des séquences cibles du SARS-CoV-2 .....	30
6.6.2 Impact potentiel de variants préoccupants sur la qualité des méthodes diagnostiques des TAAN pour la détection du SARS-CoV-2 .....	31
6.6.3 Sélection des méthodes d'amplification .....	31
6.6.4 Conception et sélection des amorces .....	31
6.6.5 Optimisation du système réactionnel .....	32
6.6.6 Détermination des valeurs seuils .....	32
6.6.7 Vérification et validation de la conception de l'essai .....	32
<b>7 Vérification en vue de la prise en charge des patients</b> .....	<b>34</b>
7.1 Généralités .....	34
7.2 Confirmation des caractéristiques de performance analytique .....	34
7.2.1 Exactitude .....	34
7.2.2 Limite de détection (LD) .....	35
7.2.3 Inclusivité .....	35
7.2.4 Spécificité .....	36

7.2.5	Robustesse.....	36
7.3	Preuves cliniques.....	36
<b>8</b>	<b>Validation en vue de la prise en charge des patients.....</b>	<b>37</b>
8.1	Critères généraux.....	37
8.2	Clarification de l'usage prévu.....	37
8.3	Performance avec des échantillons ou des spécimens cliniques.....	37
<b>9</b>	<b>Transfert de la conception à la production.....</b>	<b>38</b>
<b>10</b>	<b>Mise en œuvre et utilisation en laboratoire et publication des résultats.....</b>	<b>38</b>
10.1	Mise en œuvre et utilisation en laboratoire.....	38
10.2	Publication et interprétation des résultats.....	39
<b>11</b>	<b>Assurance qualité.....</b>	<b>40</b>
11.1	Surveillance de la performance.....	40
11.2	Changement de conception, y compris optimisation de l'analyse.....	40
11.3	Comparaison interlaboratoires.....	41
	<b>Annexe A (informative) Techniques d'amplification de l'acide nucléique.....</b>	<b>42</b>
	<b>Bibliographie.....</b>	<b>45</b>

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

[ISO/TS 5798:2022](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3e2f46ec-d455-4488-a42b-f37cf27a46b5/iso-ts-5798-2022)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3e2f46ec-d455-4488-a42b-f37cf27a46b5/iso-ts-5798-2022>

## 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](http://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](http://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](http://www.iso.org/iso/fr/avant-propos).

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 212, *Laboratoires de biologie médicale et systèmes de diagnostic in vitro*, en collaboration avec le comité technique ISO/TC 276, *Biotechnologie*.

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](http://www.iso.org/fr/members.html).

## Introduction

Les coronavirus sont des virus à ARN enveloppés qui sont largement répandus dans le règne animal. Ils ont été identifiés chez les humains, d'autres mammifères, ainsi que les oiseaux. Les coronavirus doivent leur nom au halo que semblent former les protéines spike, connues pour faciliter l'attachement viral et la pénétration du virus dans les cellules, à leur surface lorsqu'ils sont observés sous un microscope électronique. À peu près sphériques, les coronavirus mesurent de 118 nm à 136 nm de diamètre. Le génome des coronavirus, qui comprend de 26 kb à 32 kb, est le plus gros de tous les virus à ARN, y compris les virus à ARN qui disposent de génomes segmentés. Jusqu'en 2019, six coronavirus étaient associés à des maladies humaines :

- le coronavirus lié au syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV) ;
- le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) ;
- le coronavirus humain 229E (HCoV-229E) ;
- le coronavirus humain OC43 (HCoV-OC43) ;
- le coronavirus humain NL63 (HCoV-NL63) ; et
- le coronavirus humain HKU1 (HCoV-HKU1)<sup>[1]</sup>.

En 2019, un groupe de patients présentant une maladie respiratoire s'est révélé, après séquençage, être infecté par un nouveau coronavirus<sup>[2]</sup>. Le coronavirus associé à ce cluster a été ensuite baptisé coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2) par l'International Committee on Taxonomy of Viruses<sup>[3]</sup>. Le SARS-CoV-2 est le septième coronavirus connu qui infecte les humains. La maladie provoquée par le SARS-CoV-2 a été désignée comme la maladie infectieuse à coronavirus 2019 (COVID-19) par l'Organisation mondiale de la santé (OMS)<sup>[4]</sup>.

La gamme d'hôtes pour le SARS-CoV-2 n'est pas encore totalement définie. Le SARS-CoV-2 est un bêtacoronavirus. Le récepteur du SARS-CoV-2 est une enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2). L'ACE2 est une carboxypeptidase contenant du zinc exposée à la surface des cellules qui est impliquée dans la régulation de la fonction cardiaque et de la pression sanguine. Elle s'exprime dans les cellules épithéliales des poumons et de l'intestin grêle, qui sont les principales cibles du SARS-CoV-2, ainsi que du cœur, des reins et d'autres tissus.

Le SARS-CoV-2 se reproduit dans les voies supérieures et inférieures de l'appareil respiratoire et est transmis par des gouttelettes et des aérosols, mais aussi très probablement par le contact avec d'autres personnes infectées, qu'elles soient symptomatiques ou non. Le nombre de reproduction de base ( $R_0$ ) du variant d'origine est compris entre 2 et 3, mais des variants nettement plus contagieux ont fait leur apparition. La période d'incubation médiane est de 5,7 (2 à 14) jours<sup>[5]</sup>. Comme pour le SARS et le MERS, des épisodes de supercontamination ont été rapportés, avec un facteur de dispersion ( $kappa$ ) estimé à 0,1. Si la plupart des infections ne présentent pas de complications, entre 5 % à 10 % des patients sont hospitalisés en raison d'une pneumonie associée à une inflammation sévère. Cependant, les complications comprennent des insuffisances respiratoires et des défaillances multi-organiques. Les facteurs de risque contribuant à l'apparition de formes graves augmentent avec l'âge et comprennent l'hypertension, le diabète, les maladies cardiovasculaires et pulmonaires chroniques, ainsi que l'immunodéficience.

La gestion clinique du COVID-19 et la maîtrise des infections et de la propagation du SARS-CoV-2 nécessitent des diagnostics *in vitro* efficaces et efficients. Il existe un certain nombre d'essais et de kits visant à détecter le SARS-CoV-2 et le nombre de méthodes disponibles va continuer d'augmenter. Il est essentiel de concevoir, de mettre au point et d'établir des diagnostics du SARS-CoV-2 de qualité fondés sur des méthodes de détection utilisant l'acide nucléique afin de s'assurer que l'infection de COVID-19 est sous contrôle. L'établissement d'indices pour la réalisation d'une évaluation de la qualité complète de ces méthodes et de ces kits, que ce soit au cours de leur élaboration qu'en application de routine, permettra de garantir l'exactitude des résultats d'essai et de soutenir la prévention et la maîtrise de l'épidémie. Le présent document fournit des exigences et des recommandations à prendre en compte pour une mise en œuvre de qualité des méthodes d'amplification de l'acide nucléique du SARS-CoV-2.

# Systemes d'essai pour diagnostic in vitro — Exigences et recommandations pour la détection du coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2) au moyen de méthodes d'amplification de l'acide nucléique

## 1 Domaine d'application

Le présent document fournit des exigences et des recommandations pour la conception, le développement, la vérification, la validation et la mise en œuvre d'analyses afin de détecter le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2) au moyen de l'amplification de l'acide nucléique. Il aborde les étapes du processus préanalytique, de l'analyse et du processus postanalytique pour des spécimens humains.

Le présent document s'applique aux laboratoires de biologie médicale. Il est également destiné aux concepteurs et fabricants de diagnostics in vitro, ainsi qu'aux institutions et aux organisations soutenant la recherche et le diagnostic du SARS-CoV-2.

Le présent document ne s'applique pas aux échantillons environnementaux.

## 2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

## 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 <http://www.iso.org/obp> ;
- IEC Electropedia : disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>.

### 3.1

#### **coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère SARS-CoV-2**

virus provoquant la maladie infectieuse à coronavirus 2019 (COVID-19)

### 3.2

#### **spécimen**

échantillon primaire

partie discrète d'un fluide 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

Note 1 à l'article: à l'article La Global Harmonisation Task Force (GHTF) utilise le terme spécimen dans ses guides harmonisés pour désigner un échantillon d'origine biologique destiné à être analysé par un laboratoire de biologie médicale.

Note 2 à l'article: Dans certains pays, le terme « spécimen » est utilisé au lieu du terme « échantillon primaire » (ou l'un de ses sous-produits), lequel correspond à l'échantillon préparé pour envoi ou tel qu'il est reçu par le laboratoire et destiné à être analysé.

[SOURCE: : ISO 15189:2012, 3.16<sup>[6]</sup> modifié — La Note 2 à l'article a été supprimée et la Note 3 à l'article a été renumérotée pour former la Note 2 à l'article.]

### 3.3 échantillon

une ou plusieurs parties prélevées à partir d'un *échantillon primaire* (3.2)

EXEMPLE Un volume de sérum prélevé à partir d'un volume de sérum plus important.

[SOURCE: : ISO 15189:2012, 3.24<sup>[6]</sup>]

### 3.4 transcription inverse

RT  
méthode de synthèse de l'ADN complémentaire [ADNc (3.6)] à partir d'une *matrice* (3.22) d'ARN (3.20), qui utilise l'activité enzymatique d'une transcriptase inverse couplée à une ou plusieurs amorces oligonucléotidiques dans des conditions appropriées

[SOURCE: : ISO 16577:2016, 3.180<sup>[7]</sup>, modifié — « ADN » a été remplacé par « ADN complémentaire (ADNc) ».]

### 3.5 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<sup>[8]</sup>]

### 3.6 ADN complémentaire

ADNc  
ADN (3.5) simple brin, complémentaire à de l'ARN (3.20) donné et synthétisé en présence de transcriptase inverse servant de *matrice* (3.22) pour l'amplification de l'ADN

[SOURCE: : ISO 20395:2019, 3.5<sup>[9]</sup>]

### 3.7 spécificité analytique

capacité d'un système de mesure, utilisant une procédure de mesure spécifiée, à produire des résultats de mesure, pour un ou plusieurs mesurandes, qui ne dépendent ni les uns des autres ni de toute autre grandeur dans le système soumis au mesurage

Note 1 à l'article: Le manque de spécificité analytique est appelé interférence analytique (voir l'ISO 18113-1:2009, A.3.2).

[SOURCE: : ISO 18113-1:2009, A.3.4<sup>[10]</sup>]

### 3.8 limite de détection

LD  
valeur mesurée, obtenue par une procédure de mesure donnée, pour laquelle la probabilité de déclarer faussement l'absence d'un constituant dans un matériau est 0,05, étant donnée une probabilité de 0,05 de déclarer faussement sa présence

[SOURCE: : ISO/IEC Guide 99:2007, 4.18<sup>[11]</sup>, modifié — «  $\beta$ , étant donnée la probabilité  $\alpha$  » a été remplacé par « 0,05, étant donné une probabilité de 0,05 », et les Notes 1 à 3 à l'article ont été supprimées.]



### 3.9 vérification

fourniture de preuves tangibles qu'une entité donnée satisfait à des exigences spécifiées

[SOURCE: : ISO/IEC Guide 99:2007, 2.44<sup>[11]</sup>, modifié — Les EXEMPLES 1 à 3 et les Notes 1 à 6 à l'article ont été supprimés.]

### 3.10 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<sup>[12]</sup>, modifié — Les Notes 1 à 3 à l'article ont été supprimées et la Note 2 à l'article a été renommée Note 1 à l'article.]

### 3.11 amplicon

fragment d'*ADN* (3.5) spécifique produit par une technologie d'amplification de l'*ADN*, telle que la *réaction de polymérisation en chaîne* (PCR) (3.12)

[SOURCE: : ISO 13495:2013, 3.3.1<sup>[13]</sup>]

### 3.12 réaction de polymérisation en chaîne PCR

méthode enzymatique permettant l'amplification *in vitro* de l'*ADN* (3.5) ou de l'*ARN* (3.20)

[SOURCE: : ISO 22174:2005, 3.4.1<sup>[8]</sup>, modifié — « ou de l'*ARN* » a été ajouté à la fin de définition et la mise en forme en italique d'« *in vitro* » a été supprimée conformément au Guide de style interne de l'ISO.]

### 3.13 matériau de référence

matériau suffisamment homogène et stable en ce qui concerne des propriétés spécifiées, qui a été préparé pour être adapté à son utilisation prévue pour un mesurage ou pour l'examen de propriétés qualitatives

[SOURCE: : ISO/IEC Guide 99:2007, 5.13<sup>[11]</sup>, modifié — Les Notes 1 à 8 à l'article et les EXEMPLES 1 à 5 ont été supprimés.]

### 3.14 pseudovirus

particule virale ou pseudovirale pouvant intégrer l'enveloppe glycoprotéique d'un autre virus pour former un virus avec l'enveloppe du virus exogène, tandis que le génome conserve les caractéristiques du rétrovirus

### 3.15 PCR numérique dPCR

méthode consistant à répartir des *matrices* (3.22) d'acide nucléique entre plusieurs partitions d'un volume nominal équivalent, de sorte que certaines partitions contiennent de la *matrice* et d'autres non, puis à soumettre les séquences cibles à une amplification par *PCR* (3.12) pour détecter les produits spécifiques de la PCR, en dénombrant les partitions avec un signal positif et négatif pour la matrice cible

Note 1 à l'article: Les séquences d'acide nucléique cibles sont présumées être réparties de manière aléatoire et indépendante entre les partitions au cours du processus de partitionnement.

Note 2 à l'article: Le comptage de partitions positives et négatives s'appuie normalement sur la détection du point final des produits de la PCR suivie par un cycle thermique, néanmoins il est également possible que certaines plateformes de dPCR procèdent à une surveillance par *qPCR* (3.16) en temps réel de l'accumulation de produits de PCR.

[SOURCE: : ISO 20395:2019, 3.10<sup>[9]</sup>]

### 3.16

#### PCR quantitative en temps réel

##### qPCR

technique de réaction enzymatique qui combine l'amplification in vitro de segments d'ADN (3.5) ou d'ARN (3.20) spécifiques, la détection et la quantification de produits de PCR (3.12) spécifiques pendant le processus d'amplification

Note 1 à l'article: Tandis que la PCR produit des copies de la séquence d'ADN pertinente, le marqueur fluorescent émet une fluorescence directement proportionnelle à la quantité d'ADN présente, qui peut, en théorie, être rétrocalculée pour déduire la quantité initiale de cet ADN spécifique présente dans un *échantillon* (3.3) avant la réaction de PCR.

[SOURCE: : ISO 20395:2019, 3.25<sup>[9]</sup>, modifié — « ARN » a été ajouté.]

### 3.17

#### cycle de quantification

$C_q$

cycle de PCR quantitative en temps réel (qPCR) (3.16), au cours duquel la fluorescence provoquée par la réaction atteint un niveau de seuil spécifié auquel le signal peut être distingué des niveaux de bruit de fond

Note 1 à l'article: « Cycle de quantification » est un terme générique qui couvre le cycle seuil ( $C_q$ ), le point de franchissement ( $C_p$ ), le point de décollage et tous les autres termes spécifiques à l'instrument faisant référence au cycle fractionnel qui est proportionnel à la concentration d'ADN cible dans l'essai par qPCR.

Note 2 à l'article: Le cycle de quantification s'appuie soit sur un seuil appliqué à tous les *échantillons* (3.3) soit à une analyse de régression du signal, pour chaque *échantillon*.

Note 3 à l'article: Le cycle de quantification est une mesure offrant une mauvaise reproductibilité qui ne peut pas être utilisée pour comparer la performance de différents kits.

Note 4 à l'article: Il arrive que des considérations pratiques en laboratoire conduisent à sélectionner une valeur seuil pour le nombre de cycles. Cette valeur seuil ne peut pas être choisie de manière à éviter toute influence néfaste sur la *limite de détection* (3.8) disponible.

Note 5 à l'article: Le  $C_q$  ne s'applique pas aux méthodes de PCR numérique (3.15) et d'amplification isotherme.

[SOURCE: : ISO 20395:2019, 3.8<sup>[9]</sup>, modifié — Les Notes 3 et 5 à l'article ont été ajoutées.]

### 3.18

#### spécificité clinique

spécificité diagnostique

aptitude d'une procédure d'analyse de diagnostic in vitro à reconnaître l'absence d'un marqueur cible associé à une maladie particulière ou à un état particulier

Note 1 à l'article: Elle est également définie comme le « pourcentage de négativité » dans les *échantillons* (3.3) où le marqueur cible est notoirement absent.

Note 2 à l'article: La spécificité diagnostique est exprimée comme un pourcentage (nombre fractionnaire multiplié par 100), calculé comme étant 100 fois le nombre de valeurs vraiment négatives divisé par la somme du nombre de valeurs vraiment négatives et du nombre de valeurs faussement positives ou  $100 \times TN / (TN + FP)$ . Ce calcul est basé sur une méthode d'étude où un seul *échantillon* est prélevé sur chaque sujet.

Note 3 à l'article: L'état cible est défini par des critères indépendants de la procédure d'analyse considérée.

[SOURCE: : ISO 18113-1:2009, A.3.16<sup>[10]</sup>]

**3.19****sensibilité clinique**

sensibilité diagnostique

aptitude d'une procédure d'analyse de diagnostic *in vitro* à identifier la présence d'un marqueur cible associé à une maladie particulière ou à un état particulier

Note 1 à l'article: Elle est également définie comme le « pourcentage de positivité » dans les *échantillons* (3.3) où le marqueur cible est notoirement présent.

Note 2 à l'article: La sensibilité diagnostique est exprimée comme un pourcentage (nombre fractionnaire multiplié par 100), calculé comme étant  $100 \times$  le nombre de valeurs vraies positives (VP) divisé par la somme du nombre de valeurs vraies positives (VP) et du nombre de valeurs fausses négatives (FN), soit  $100 \times VP/(VP + FN)$ . Ce calcul est basé sur une méthode d'étude où un seul échantillon est prélevé sur chaque sujet.

Note 3 à l'article: L'état cible est défini par des critères indépendants de la procédure d'analyse considérée.

[SOURCE: : ISO 18113-1:2009, A.3.15<sup>[10]</sup>]

**3.20****acide ribonucléique****ARN**

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

[SOURCE: : ISO 22174:2005, 3.1.3<sup>[8]</sup>]

**3.21****étalon**

étalon utilisé pour des étalonnages

[SOURCE: : ISO 20395:2019, 3.4<sup>[9]</sup>, modifié — La Note 1 à l'article et l'EXEMPLE ont été supprimés.]

**3.22****matrice d'acide nucléique**

brin d'ADN (3.5) ou d'ARN (3.21) qui spécifie la séquence des bases d'un nouveau brin d'ADN ou d'ARN synthétisé, les deux brins étant complémentaires

[SOURCE: : ISO 16577:2016, 3.206<sup>[7]</sup>]

**3.23****salive**

salive totale

liquide biologique buccal principalement sécrété par les trois principales glandes salivaires (glandes parotides, sous-maxillaires et sublinguales) et par les glandes salivaires présentes dans la cavité buccale

[SOURCE: : ISO 4307:2021, 3.15<sup>[14]</sup>]

**3.24****réaction de polymérisation en chaîne à transcription inverse****RT-PCR**

processus qui combine la *RT* (3.4) et la *PCR* (3.12) pour amplifier l'ADNc (3.6) cible, ce qui permet de détecter les *matrices* (3.22) d'ARN (3.20)

Note 1 à l'article: Cette méthode peut être réalisée en employant différents formats. Une approche préisée consiste à utiliser un instrument de PCR en temps réel qui procède à la *PCR* et à l'analyse simultanément, une méthode qualifiée de PCR quantitative à transcription inverse [RT-*qPCR* (3.16)].

Note 2 à l'article: Adapté à partir de l'ISO 20395:2019, 3.31<sup>[9]</sup>.

### 3.25

#### **dispositif médical de diagnostic in vitro dispositif médical de DIV**

dispositif, utilisé seul ou en combinaison, désigné par le fabricant, pour l'analyse in vitro d'échantillons prélevés sur le corps humain uniquement ou principalement dans le but de fournir des informations à des fins de diagnostic, de surveillance ou de compatibilité incluant les réactifs, les *étalons* (3.21), les matériaux de contrôle, les réceptacles d'échantillons, les logiciels et les instruments ou appareillages associés ou autres articles

[SOURCE: ISO 17511:2020, 3.21<sup>[15]</sup>]

### 3.26

#### **processus préanalytiques**

processus comprenant la préparation et l'identification du patient, le prélèvement de l'échantillon ou des *échantillons primaires* (3.2), leur acheminement jusqu'au laboratoire et au sein du laboratoire et l'isolement de l'ARN (3.20)

Note 1 à l'article: Les termes « préanalytique » et « phase préanalytique » sont des synonymes de « processus préanalytique ».

Note 2 à l'article: Adapté à partir de l'ISO 15189:2012, 3.15<sup>[6]</sup>.

### 3.27

#### **limite de quantification**

**LQ**  
plus petite concentration ou teneur en analyte recherché par quantité définie de *matrice* (3.31) qui peut être constamment mesurée avec une certitude statistique raisonnable dans les conditions expérimentales spécifiées dans la méthode

Note 1 à l'article: Généralement exprimée en termes de valeur (vraie) du signal ou de la mesure qui produira des estimations présentant un écart-type relatif (RSD) spécifié.

[SOURCE: : ISO 16577:2016, 3.91<sup>[7]</sup>]

### 3.28

#### **témoin de PCR positif**

source fiable de matériau d'*échantillon* (3.3) positif bien caractérisé, contenant des séquences intactes d'acides nucléiques cibles pour *PCR* (3.12)

[SOURCE: : ISO 16577:2016, 3.150<sup>[7]</sup>, modifié — La Note 1 à l'article a été supprimée.]

### 3.29

#### **témoin interne d'inhibition**

matériau jouant le rôle de témoin interne, obtenu pendant la réaction d'amplification du fragment cible par ajout d'*ADN* (3.5) et/ou d'amorces.

Note 1 à l'article: Ce matériau est clairement différent du fragment cible.

Note 2 à l'article: Adapté à partir de l'ISO 16577:2016, 3.82<sup>[7]</sup>.

### 3.30

#### **test développé en laboratoire**

**LDT**  
essai conçu (ou modifié) et utilisé au sein d'un même laboratoire afin de procéder à une analyse d'*échantillons* (3.3), dont les résultats sont destinés à faciliter le diagnostic clinique ou à prendre des décisions en matière de gestion clinique

Note 1 à l'article: Il est nécessaire que le test développé en laboratoire soit validé en fonction de son usage prévu avant d'être utilisé.

Note 2 à l'article: Adapté à partir de l'ISO 17822:2020, 3.23<sup>[16]</sup>.

**3.31****matrice**

composants d'un système de matériau à l'exception de l'analyte

[SOURCE: : ISO 15193:2009, 3.6<sup>[17]</sup>]

**3.32****effet de matrice**

influence d'une propriété de l'échantillon (3.3), indépendamment de la présence de l'analyte, sur le mesurage et, par conséquent, sur la valeur mesurée de la grandeur

[SOURCE: : ISO 15194:2009, 3.7<sup>[18]</sup>, modifié — Les Notes 1 et 2 à l'article et l'EXEMPLE ont été supprimés.]

**3.33****témoin sans matrice****NTC**

réaction témoin contenant tous les réactifs à l'exception de la *matrice* (3.22) d'acide nucléique de l'échantillon (3.3) pour essai extrait

Note 1 à l'article: Ce témoin permet de démontrer l'absence de contamination des acides nucléiques. À la place de l'ADN de la matrice, un volume correspondant d'eau exempte d'acide nucléique est, par exemple, ajouté à la réaction. Le terme « témoin négatif de PCR » est parfois utilisé également.

[SOURCE: : ISO 20395:2019, 3.20<sup>[9]</sup>]

**3.34****amplification isotherme à médiation par boucle****LAMP**

méthode isotherme d'amplification de l'ADN (3.5) employant deux ou trois groupes d'amorces conçus spécifiquement et une polymérase dotée d'une forte activité de déplacement du brin

[SOURCE: : ISO 16577:2016, 3.94<sup>[7]</sup>]

ISO/TS 5798:2022

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3e2f46ec-d455-4488-a42b-f37cf27a46b5/iso-ts-5798-2022>

**4 Vue d'ensemble****4.1 SARS-CoV-2****4.1.1 Généralités**

Le processus de détection moléculaire du SARS-CoV-2 par test d'amplification de l'acide nucléique (TAAN) comprend en général les étapes de préanalytique et d'analyse. Les étapes préanalytiques incluent le prélèvement de spécimens cliniques, le transport, le stockage, la lyse de l'échantillon, ainsi que l'extraction et la concentration de l'acide nucléique. Les étapes d'analyse incluent la transcription inverse (synthèse d'ADNc) et une méthode d'amplification appropriée. En outre, des étapes postanalytiques, telles que la gestion des déchets et la publication des résultats d'essai, sont incluses.

Parmi les attributs de qualité pour les processus de détection fondés sur des TAAN figurent l'évaluation de la performance d'un mode opératoire d'extraction adapté, l'évaluation des réactifs d'essai selon des critères minimaux d'essai, une évaluation complète de la spécificité analytique, la limite de détection (LD) de l'essai ou encore l'évaluation de la stabilité des réactifs.

Le mode opératoire technique visant à évaluer les attributs de qualité est présenté à la [Figure 1](#), y compris l'évaluation de l'ensemble du processus et l'évaluation de la performance des principaux paramètres d'analyse.

NOTE La partie de l'évaluation de la qualité consacrée à l'extraction de l'acide nucléique n'est pas toujours nécessaire pour les TAAN qui n'emploient qu'une seule méthode d'extraction de l'acide nucléique ou lorsque la méthode d'extraction fait partie intégrante du flux de travail.

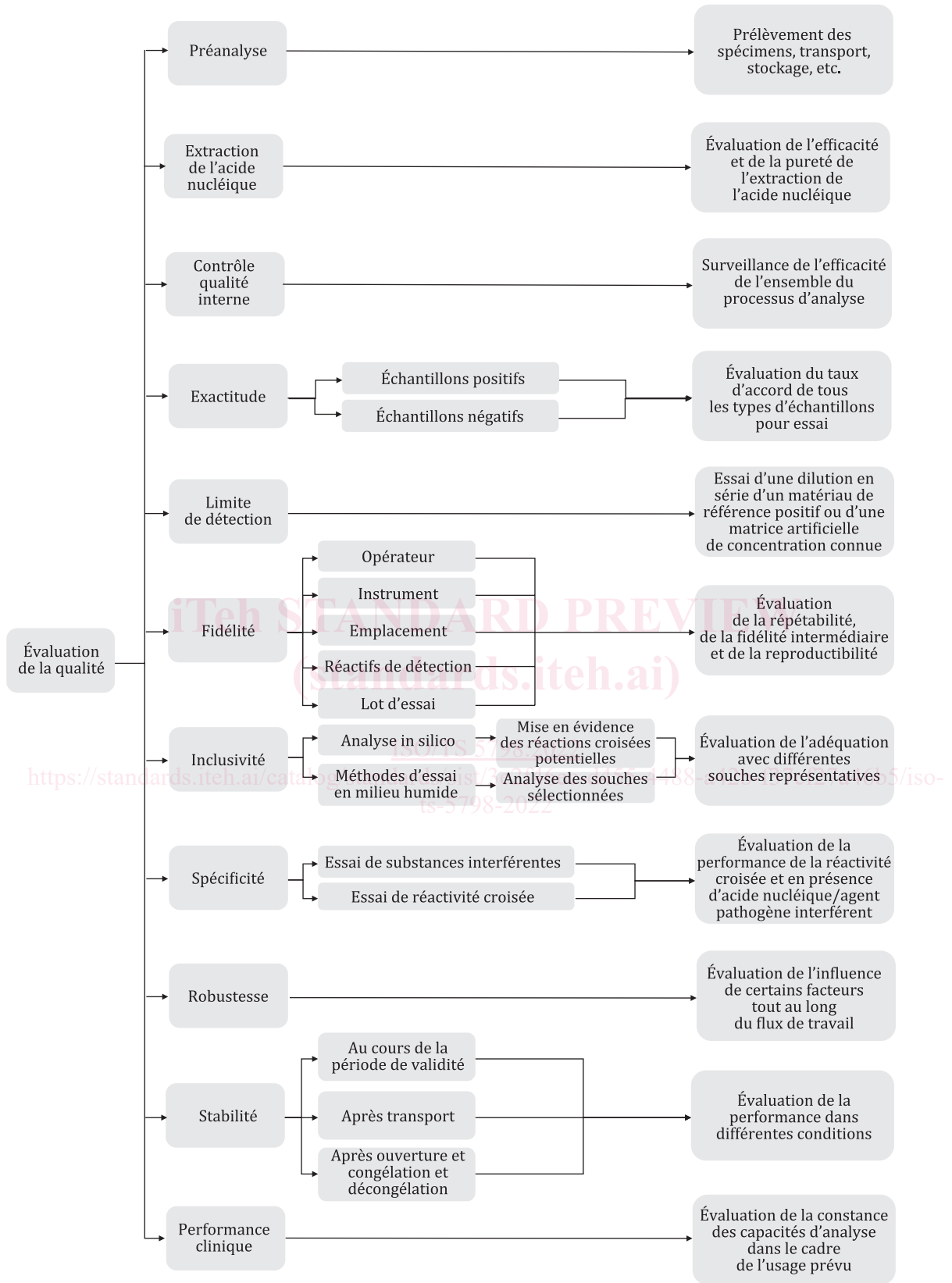


Figure 1 — Flux de travail pour l'évaluation de la qualité de la méthode de détection du SARS-CoV-2 fondée sur un test d'amplification de l'acide nucléique (TAAN)

#### 4.1.2 Préanalyse

Dans le cadre de la détection du SARS-CoV-2, il convient de prendre en compte les considérations générales suivantes au cours du processus préanalytique :

- a) il convient d'utiliser des équipements de protection individuelle (EPI) appropriés ;
- b) sélection du type de spécimen : le SARS-CoV-2 touchant principalement le système respiratoire, il convient de sélectionner les spécimens selon les caractéristiques d'infection ou d'exposition au SARS-CoV-2 ;
- c) prélèvement des spécimens : selon les types de spécimens sélectionnés, il convient de prélever des spécimens cliniques obtenus conformément aux exigences d'échantillonnage normalisées ;
- d) conditionnement des spécimens : il convient que le conditionnement des spécimens tienne compte des pratiques de biosécurité appropriées ;
- e) transport et stockage des spécimens : il convient de prendre en compte l'impact du transport et du stockage sur la dégradation de l'acide nucléique viral ;
- f) inactivation du SARS-CoV-2 : avant de procéder aux analyses en laboratoire, il convient que tous les spécimens subissent un traitement initial (avant leur inactivation) dans un poste de sécurité microbiologique validé (PSM) ou un dispositif de confinement primaire. Si les modes opératoires initiaux impliquent de manipuler un échantillon primaire (dilution avec réactif d'inactivation, par exemple), il convient de les inclure à la vérification et à la validation de l'essai.

NOTE De plus amples informations concernant les paramètres préanalytiques sont fournies en [6.5.1](#).

#### 4.1.3 Analyse — Vue d'ensemble

##### 4.1.3.1 Généralités

Au cours de l'analyse en laboratoire d'acide nucléique de SARS-CoV-2, il convient de prendre en compte les considérations générales suivantes :

- a) il convient d'utiliser des EPI appropriés pour toutes les analyses ;
- b) il convient d'utiliser du matériel distinct et/ou du matériel jetable à usage unique pour toutes les activités afin d'éviter toute contamination croisée ;
- c) il convient de procéder à l'extraction des échantillons, à la préparation des réactifs et à la manipulation des amplicons dans des pièces séparées.

La nécessité de recourir à des pièces séparées peut être quelque peu réduite en utilisant des essais disponibles dans le commerce, des méthodes en tube fermé et des instruments automatisés. Les méthodes entièrement automatisées nécessitent une seule pièce ou une zone dédiée pour les laboratoires qui utilisent uniquement des kits d'essai disponibles dans le commerce. Les méthodes en tube fermé sont des méthodologies au cours desquelles l'amplification et l'analyse sont réalisées dans un même tube sans avoir à transférer les produits de la PCR en vue de leur analyse ;

- d) sauf utilisation dans le cadre des étapes postérieures à l'amplification, il convient d'éviter l'emploi de tubes ouverts dans la mesure du possible ;
- e) afin d'éviter toute contamination croisée, il est recommandé d'éviter de déplacer l'instrument ou de partager le matériel dans différents espaces de travail ;
- f) dans le cas de méthodes de détection utilisant des techniques conventionnelles de TAAN, il convient de respecter à la lettre les exigences de partition à l'attention des laboratoires de TAAN lors de la réalisation des essais ;