
**Analyses de diagnostic moléculaire
in vitro — Spécifications relatives
aux processus préanalytiques pour
les tissus fixés au formol et inclus en
paraffine (FFPE) —**

**Partie 4:
Techniques de détection in situ**

*Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for
preexamination processes for formalin-fixed and paraffin-embedded
(FFPE) tissue —*

Part 4: In situ detection techniques

ISO 20166-4:2021

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/49d8dbc8-701c-4218-bd74-567cf1212065/iso-20166-4-2021>



iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

ISO 20166-4:2021

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/49d8dbc8-701c-4218-bd74-567cf1212065/iso-20166-4-2021>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2021

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
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 Considérations générales	9
5 Activité en dehors du laboratoire	11
5.1 Recueil des prélèvements.....	11
5.1.1 Généralités.....	11
5.1.2 Informations relatives au patient/donneur.....	11
5.1.3 Informations relatives au prélèvement.....	11
5.1.4 Traitement du prélèvement, stockage intermédiaire et préparation au transport.....	12
5.2 Transport.....	13
6 Dans le laboratoire	13
6.1 Réception des prélèvements.....	13
6.2 Fixation au formol du prélèvement ou de l'échantillon ou des échantillons.....	13
6.3 Évaluation de la pathologie du prélèvement et sélection de l'échantillon ou des échantillons.....	15
6.3.1 Généralités.....	15
6.3.2 Examen macroscopique.....	15
6.3.3 Sélection de l'échantillon ou des échantillons.....	15
6.4 Post-fixation d'échantillons congelés d'un examen peropératoire.....	16
6.5 Décalcification/ramollissement des échantillons.....	16
6.6 Préparation du tissu et inclusion en paraffine.....	17
6.6.1 Généralités.....	17
6.6.2 Déshydratation et nettoyage.....	18
6.6.3 Imprégnation à la paraffine et inclusion en paraffine.....	18
6.7 Stockage des blocs de tissu FFPE.....	19
6.8 Découpage des blocs de tissu FFPE et stockage des coupes montées sur lame.....	19
6.9 Déparaffinage et réhydratation des coupes montées sur lame.....	21
6.10 Prétraitement des coupes montées sur lame pour les techniques de détection <i>in situ</i>	21
6.10.1 Généralités.....	21
6.10.2 Prétraitement pour les techniques de détection <i>in situ</i> basées sur des anticorps ou d'autres ligands d'affinité.....	21
6.10.3 Prétraitement pour les techniques de détection <i>in situ</i> reposant sur une hybridation.....	22
6.10.4 Prétraitement pour les autres techniques de détection <i>in situ</i>	22
6.11 Évaluation qualitative de la phase préanalytique de la détection <i>in situ</i>	22
Annexe A (informative) Recommandations relatives à la vérification et à la validation des analyses de détection <i>in situ</i> développées par le laboratoire	23
Annexe B (informative) Exemple de protocole de préparation du tissu	24
Bibliographie	25

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 20166 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*, y compris la pathologie moléculaire, a permis de faire considérablement progresser la médecine. D'autres avancées sont attendues avec les nouvelles technologies d'analyse de la morphologie tissulaire et des biomolécules (telles que les protéines, l'ADN, l'ARN, par exemple) et/ou des métabolites (par exemple, le glucose) dans les tissus humains et les fluides corporels.

En pathologie, la majorité des diagnostics s'établissent à partir d'une coloration *in situ* de coupes de tissu fixé au formol et inclus en paraffine (FFPE). Dans le cadre de la médecine personnalisée, la coloration histologique classique (par exemple, hématoxyline et éosine) à des fins d'examen morphologique est de plus en plus souvent complétée par des techniques de détection *in situ*, telles que l'immunohistochimie ou l'hybridation *in situ*, ainsi que par l'analyse moléculaire de biomolécules extraites. En oncologie par exemple, de nombreux diagnostics compagnons homologués par des organismes réglementaires s'appuient sur des techniques de détection *in situ* appliquées à des coupes de tissu FFPE. Les avancées en médecine personnalisée et les nouvelles technologies, telles que l'immunocoloration à marqueurs multiples et l'analyse informatique d'images numériques (par exemple, générées à l'aide d'un scanner pour lames) imposent de nouvelles exigences concernant la normalisation des procédures préanalytiques afin d'obtenir des résultats qualitatifs et quantitatifs reproductibles.

Les profils et/ou l'intégrité des biomolécules *in situ* ainsi que leurs positions, quantités et accessibilités pour une détection *in situ* dans des tissus peuvent varier considérablement au cours du processus préanalytique englobant le prélèvement des échantillons primaires, la préparation du tissu, l'inclusion, le transport, le stockage, la réalisation des coupes et le prétraitement en vue d'une détection *in situ*. De ce fait, le résultat d'une détection *in situ* à des fins de diagnostic ou de recherche est peu fiable, voire inexploitable, car l'analyse subséquente ne représentera pas l'état *in vivo* des molécules, mais un profil ou une morphologie artificiel généré pendant le processus préanalytique.

Par conséquent, une normalisation de l'ensemble du processus préanalytique des prélèvements de tissu FFPE destinés à des analyses *in situ* de morphologie et de biomolécules sur des coupes de tissu FFPE à l'aide de différentes techniques de détection *in situ*, est nécessaire.

Des preuves scientifiques démontrent que plusieurs facteurs de la phase préanalytique influencent le résultat (c'est-à-dire la qualité ou le niveau de sélectivité ou de sensibilité) de la détection *in situ* et, de ce fait, peuvent avoir un impact considérable sur les résultats de diagnostic.

Le présent document se fonde sur ces travaux pour organiser et normaliser les étapes des processus dits de la phase préanalytique pour tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) au regard des diverses techniques de détection *in situ*. Le présent document est applicable à la phase préanalytique des techniques de détection *in situ* et couvre l'ensemble du spectre des techniques de détection *in situ*.

Celles-ci incluent notamment (liste non exhaustive):

- la coloration histologique classique, par exemple la coloration à l'hématoxyline et à l'éosine (H&E);
- les techniques histochimiques, par exemple la coloration des lipides, la coloration PAS (de l'anglais « Periodic Acid Schiff »), la coloration au bleu de Prusse ou coloration de Perls, la coloration de Feulgen, l'histochimie enzymatique;
- la coloration immunohistochimique (IHC) ou la coloration par immunofluorescence utilisant des anticorps (anticorps polyclonaux, monoclonaux ou recombinés) ou d'autres ligands d'affinité;
- les techniques reposant sur une hybridation, telles que les techniques d'hybridation *in situ* (HIS) d'ADN ou d'ARN, par exemple l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH, de l'anglais « fluorescence *in situ* hybridization »), l'hybridation *in situ* chromogène (CISH, de l'anglais « chromogenic *in situ* hybridization »), ou l'hybridation *in situ* améliorée à l'argent (SISH, de l'anglais « silver enhanced *in situ* hybridization »);
- l'analyse moléculaire de biomolécules extraites qui peuvent être reliées à une région définie d'une coupe FFPE (par exemple, au moyen d'un séquençage *in situ*, d'une spectrométrie de masse à imagerie).