
**Produits alimentaires — Méthodes pour
la détection d'organismes génétiquement
modifiés et de produits dérivés —
Méthodes basées sur les protéines**

*Foodstuffs — Methods for the detection of genetically modified
organisms and derived products — Protein based methods*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21572:2004

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8cd47c51-54a6-4397-9993-1d5e00722336/iso-21572-2004>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 21572:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8cd47c51-54a6-4397-9993-1d5e00722336/iso-21572-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8cd47c51-54a6-4397-9993-1d5e00722336/iso-21572-2004>

© ISO 2004

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, 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 et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du 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

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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

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.

L'ISO 21572 a été élaborée par le Comité européen de normalisation (CEN) en collaboration avec le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Tout au long du texte du présent document, lire «... la présente Norme européenne ...» avec le sens de «... la présente Norme internationale...».

Sommaire

Page

Avant-propos	v
Introduction.....	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	5
5 Réactifs	5
6 Appareillage et équipement	5
7 Échantillonnage	5
8 Mode opératoire	5
9 Interprétation et expression des résultats	6
10 Paramètres spécifiques pouvant influencer sur les résultats	7
11 Méthode de confirmation	9
12 Rapport d'essai	9
Annexe A (normative) Détection de graines de soja génétiquement modifiées (résistantes au Roundup-Ready[®])	10
Bibliographie	22

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8cd47c51-54a6-4397-9993-1d5e00722336/iso-21572-2004>

Avant-propos

Le présent document (EN ISO 21572:2004) a été élaboré par le Comité Technique CEN/TC 275 "Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales", dont le secrétariat est tenu par DIN, en collaboration avec le Comité Technique ISO/TC 34 "Produits alimentaires".

Cette Norme européenne devra recevoir le statut de norme nationale, soit par publication d'un texte identique, soit par entérinement, au plus tard en septembre 2004, et toutes les normes nationales en contradiction devront être retirées au plus tard en septembre 2004.

La preuve de la présence de protéines génétiquement modifiées peut être d'ordre qualitatif ou quantitatif. Ces étapes figurent dans la présente Norme européenne.

Parmi les autres normes traitant de méthodes d'analyse pour la détection d'organismes génétiquement modifiés et de produits dérivés présents dans les produits alimentaires figurent les projets de norme suivants :

- prEN ISO 21568, *Produits alimentaires – Méthodes d'analyse pour la détection d'organismes génétiquement modifiés et de produits dérivés – Echantillonnage (ISO/DIS 21568 :2003)*
- prEN ISO 21571, *Produits alimentaires - Méthodes d'analyse pour la détection d'organismes génétiquement modifiés et de produits dérivés - Extraction des acides nucléiques (ISO/DIS 21571 :2002)*
- prEN ISO 21569, *Produits alimentaires - Méthodes d'analyse pour la détection d'organismes génétiquement modifiés et de produits dérivés - Méthode qualitative basée sur la recherche des acides nucléiques (ISO/DIS 21569 :2002)*
- prEN ISO 21570, *Produits alimentaires - Méthodes d'analyse pour la détection d'organismes génétiquement modifiés et de produits dérivés - Méthode quantitative basée sur la recherche des acides nucléiques (ISO/DIS 21570 :2003)*

Pour plus d'informations sur les définitions et les éléments à caractère général inclus dans les étapes citées ci-dessus, se référer au :

- prEN ISO 24276, *Produits alimentaires - Détection d'organismes génétiquement modifiés et de produits dérivés - Exigences générales et définitions (ISO/DIS 24276 :2002)*

L'Annexe A est normative.

Le présent document traite de méthodes qui peuvent faire l'objet de droits d'auteur et de brevets : pour plus d'informations, contacter l'institut national de normalisation.

Selon le Règlement Intérieur du CEN/CENELEC, les instituts de normalisation nationaux des pays suivants sont tenus de mettre cette Norme européenne en application : Allemagne, Autriche, Belgique, Danemark, Espagne, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Portugal, République Tchèque, Royaume-Uni, Slovaquie, Suède et Suisse.

Introduction

Les analyses effectuées pour détecter les organismes génétiquement modifiés (OGM) et leurs produits dérivés peuvent avoir pour objet de cribler, d'identifier ou de quantifier les OGM et leurs produits dérivés dans une matrice donnée.

La détection de l'origine transgénique d'ingrédients selon une méthode fondée sur les protéines repose sur les principes de base suivants :

- prélèvement d'un échantillon représentatif de la matrice ;
- extraction des protéines ;
- détection et/ou identification de la protéine spécifique dérivée du ou des OGM étudiés.

Au fur et à mesure de la validation et de l'acceptation de nouvelles méthodes, celles-ci viendront s'ajouter en annexe à la présente norme.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 21572:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8cd47c51-54a6-4397-9993-1d5e00722336/iso-21572-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8cd47c51-54a6-4397-9993-1d5e00722336/iso-21572-2004>

1 Domaine d'application

Le présent document énonce des lignes directrices et des critères de performances généraux pour les méthodes de détection et/ou de quantification de protéines spécifiques dérivées de matériel végétal génétiquement modifié dans une matrice donnée.

Ces directives générales concernent les méthodes axées sur des anticorps existants. Il existe d'autres méthodes que celles décrites en Annexe A susceptibles de détecter des protéines. Les mêmes critères que ceux répertoriés dans la présente norme sont applicables de façon générale.

2 Références normatives

Cette Norme européenne comporte par référence datée ou non datée des dispositions d'autres publications. Ces références normatives sont citées aux endroits appropriés dans le texte et les publications sont énumérées ci-après. Pour les références datées, les amendements ou révisions ultérieurs de l'une quelconque de ces publications ne s'appliquent à cette Norme européenne que s'ils y ont été incorporés par amendement ou révision. Pour les références non datées, la dernière édition de la publication à laquelle il est fait référence s'applique (y compris les amendements).

prEN ISO 21568, *Produits alimentaires – Méthodes d'analyse pour la détection d'organismes génétiquement modifiés et de produits dérivés – Échantillonnage (ISO/DIS 21568 :2003)*.

3 Termes et définitions

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Pour les besoins de la présente Norme européenne, les termes et définitions suivants s'appliquent :

3.1 Termes généraux

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8cd47c51-54a6-4397-9993-1d5e00722336/iso-21572-2004>

3.1.1 échantillon

une ou plusieurs unités d'échantillonnage prélevées dans une population et destinées à fournir des informations sur cette population

[ISO 3534-1:1993]

3.1.2 échantillon pour laboratoire

échantillon destiné à être utilisé pour un contrôle ou pour des essais en laboratoire

3.1.3 échantillon pour essai (prise d'essai)

échantillon préparé pour essai ou analyse, la quantité totale étant utilisée pour l'essai ou l'analyse en une seule fois

[ISO 3534-1:1993]

3.1.4 matrice

ensemble des composants présents dans l'échantillon contenant l'analyte. Chaque matrice porte habituellement un nom ordinaire permettant sa classification

3.1.5 dénaturation de protéines

traitement physique et/ou (bio)chimique détruisant ou modifiant la structure de l'analyte. La dénaturation peut modifier les propriétés fonctionnelles, enzymatiques ou antigéniques de la protéine

3.2 Termes relatifs aux anticorps

3.2.1

anticorps

protéine (immunoglobuline) produite et sécrétée par des lymphocytes B en réponse à la présence d'une molécule reconnue comme étrangère (antigène). L'anticorps est capable de se lier à cet antigène spécifique

3.2.2

antigène

substance reconnue comme étant un corps étranger par le système immunitaire et provoquant une réponse immunitaire

3.2.3

clone

population de cellules identiques issues d'une seule lignée cellulaire

3.2.4

réactivité croisée

anticorps lié à des substances autres que l'analyte de premier intérêt

3.2.5

anticorps monoclonal

anticorps produit à partir d'un seul clone d'hybridome et dirigé vers un déterminant antigénique unique

3.2.6

anticorps polyclonal

anticorps produit par plusieurs clones de lymphocytes

3.2.7

spécificité d'un anticorps

capacité d'un anticorps à se lier spécifiquement à un déterminant antigénique et non à d'autres structures similaires de cet antigène ou d'autres antigènes

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21572:2004

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sis/8cd47c51-34a6-4397-9995-1d5e00722336/iso-21572-2004>

1d5e00722336/iso-21572-2004

3.3 Termes relatifs aux techniques

3.3.1

conjugué

matériau formé par liaison de deux ou plusieurs substances

NOTE Les conjugués d'anticorps couplés à des fluorochromes (par exemple particules colorées), des substances marquées ou des enzymes sont souvent utilisés dans des immunoessais.

3.3.2

western blot

transfert d'un antigène (c'est-à-dire le protéine d'intérêt) séparé par électrophorèse vers une surface de liaison

L'antigène peut être visualisé avec un anticorps spécifique marqué ou conjugué avec une enzyme

3.3.3

ELISA – Essai par immunosorbant lié à une enzyme

essai *in vitro* de quantification via l'utilisation d'anticorps liés à des enzymes et d'un substrat constituant un produit de réaction coloré

En fonction de l'application, cet essai peut être utilisé à des fins qualitatives ou quantitatives.

3.3.4

kit d'essai

ensemble constitué de produits chimiques, de matériaux et d'un mode d'emploi rassemblés en un tout et destiné à la mesure *in vitro* en vue de la détection d'un analyte particulier

3.3.5**format bandelette**

formats de dosages qualitatives et rapides, comprenant des bandelettes pour lesquelles un anticorps ou un analyte recouvre une surface solide en bandes perpendiculaires à la bandelette principale

3.4 Termes relatifs au contrôle**3.4.1****matériau de référence**

matériau ou substance dont une ou plusieurs valeurs de propriété sont suffisamment homogènes et correctement définies pour permettre de l'utiliser pour l'étalonnage d'un appareil, l'évaluation d'une méthode de mesurage ou l'attribution de valeurs aux matériaux

[Guide ISO 30]

3.4.2**étalon**

mesure matérialisée, appareil de mesure, matériau de référence ou système de mesure destiné à définir, réaliser, conserver ou reproduire une unité ou une ou plusieurs valeurs d'une grandeur pour servir de référence

L'étalon peut servir de préparation, dont les caractéristiques sont connues, pour normaliser l'analyse.

3.5 Termes relatifs à la validation**3.5.1****exactitude**

étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée

NOTE Le terme "exactitude", appliqué à un ensemble de résultats d'essai implique une combinaison de composants aléatoires et d'une erreur systématique commune ou d'une composante de biais.

[ISO 3534-1:1993]

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8cd47c51-54a6-4397-9993-1d5e00722336/iso-21572-2004>

3.5.2**fidélité**

étroitesse d'accord entre des résultats d'essai indépendants obtenus sous des conditions stipulées

NOTE 1 La fidélité dépend uniquement de la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie ou la valeur spécifiée.

NOTE 2 La mesure de la fidélité est exprimée en termes d'infidélité et est calculée à partir de l'écart-type des résultats d'essais. Une fidélité faible est reflétée par un grand écart-type.

NOTE 3 Des résultats d'essais indépendants signifient des résultats obtenus d'une façon non influencée par un résultat précédent sur le même matériel ou similaire. Les mesures quantitatives de la fidélité dépendent de façon critique des conditions stipulées. Les conditions de répétabilité et de reproductibilité sont des ensembles particuliers de conditions extrêmes stipulées.

[ISO 3534-1:1993]

3.5.3**biais**

estimation de l'écart systématique du résultat mesuré par rapport au résultat réel d'un échantillon donné

3.5.4**sensibilité**

capacité à enregistrer de faibles variations de concentration d'une substance dans le matériau d'essai

Dans ce contexte, la sensibilité indique habituellement la plus petite quantité ou concentration d'analyte pouvant être différenciée du bruit de fond avec fiabilité.

3.5.5

spécificité

capacité d'une méthode à réagir exclusivement à la caractéristique ou à l'analyte défini dans le Codex

3.5.6

limite de détection

pour les méthodes qualitatives, plus petite concentration ou quantité de l'analyte pouvant être détectée de manière fiable mais pas nécessairement quantifiée, démontré par un essai interlaboratoire satisfaisant ou par une validation effectuée par un seul laboratoire [1], [2]

3.5.7

limite de quantification

pour un mode opératoire d'analyse, plus petite quantité ou concentration d'analyte présente dans un échantillon pouvant être déterminée quantitativement avec un niveau de fidélité et d'exactitude acceptable démontré par un essai interlaboratoire satisfaisant ou par une validation effectuée par un seul laboratoire conformément à l'ISO 5725, [2], ou [3]

3.5.8

plage d'applicabilité (plage de quantification/ de linéarité/plage dynamique)

plage définie par les limites supérieure et inférieure de quantification, telles qu'exprimées par un ensemble de matériaux de référence (ou de dilutions)

3.5.9

limite de répétabilité [reproductibilité]

valeur au-dessous de laquelle est située, avec une probabilité de 95 %, la valeur absolue de la différence entre deux résultats d'essais, obtenus sous des conditions de répétabilité (de reproductibilité)

NOTE Le symbole utilisé est r [R].

(standards.iteh.ai)

[ISO 3534-1:1993]

ISO 21572:2004

Lors de l'examen de deux résultats d'essais individuels obtenus sous des conditions de répétabilité [de reproductibilité], il convient de faire la comparaison avec la limite de répétabilité (reproductibilité) r [R] = $2,8 s_r$ [S_R]

3.5.10

reproductibilité

fidélité dans des conditions de reproductibilité

[ISO 3534-1:1993]

3.5.11

conditions de reproductibilité

conditions où les résultats d'essais sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essai identiques dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents

[ISO 3534-1:1993]

3.5.12

répétabilité

fidélité dans des conditions de répétabilité

[ISO 3534-1:1993]

3.5.13

conditions de répétabilité

conditions où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essai identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps

[ISO 3534-1:1993]

3.5.14

écart-type de répétabilité [de reproductibilité]

écart-type des résultats d'essais obtenus sous des conditions de répétabilité [de reproductibilité]

NOTE L'écart-type de répétabilité [de reproductibilité] est une mesure de la dispersion de la loi des résultats d'essais sous des conditions de répétabilité [de reproductibilité]. On peut définir de façon similaire la « variance de répétabilité (reproductibilité) et le coefficient de variation de répétabilité [de reproductibilité] et les utiliser comme mesures de la dispersion des résultats d'essais dans des conditions de répétabilité [de reproductibilité].

3.5.15

récupération

capacité à mesurer ou récupérer une quantité connue d'analyte à partir d'échantillons dopés dans une plage de quantification

4 Principe

La protéine cible est extraite selon le mode opératoire décrit pour cette matrice spécifique et un anticorps spécifique est utilisé pour détecter ou mesurer la concentration de la protéine présente dans l'échantillon.

5 Réactifs

Sauf indication contraire, au cours de l'analyse utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau déminéralisée, distillée, purifiée ou ayant subi un traitement équivalent.

D'autres réactifs, tels que les anticorps, les anticorps conjugués, les substrats, les solutions de blocage et les tampons sont propres à la méthode. Pour des cas spécifiques de réactifs, tels que des étalons protéiniques ou des matériaux de référence, des anticorps libres ou sensibilisés sur une surface solide, des contrôles et des échantillons, se référer à la méthode concernée. [ISO 21572:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8cd47c51-54a6-4397-9993-1d5e00722336/iso-21572-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8cd47c51-54a6-4397-9993-1d5e00722336/iso-21572-2004>

6 Appareillage et équipement

L'appareillage et l'équipement sont spécifiés en A.5.

7 Échantillonnage

L'échantillonnage est décrit en détail dans le prEN ISO 21568.

8 Mode opératoire

8.1 Généralités

Les conditions de stockage et la durée de conservation des anticorps, du conjugué, du substrat, etc., doivent être clairement spécifiées par le fournisseur.

Dans le cadre de cette norme, les exigences générales relatives à l'assurance qualité des laboratoires doivent être respectées (par exemple : étalonnage de l'appareillage, dosage en double, essais à blanc, utilisation de matériaux de référence, préparation de courbes d'étalonnage, etc.). Nettoyer avec soin l'ensemble de l'équipement placé en contact direct avec l'échantillon afin d'éviter toute contamination.

Utiliser un matériel de laboratoire approprié ayant une faible capacité de liaison des protéines (par exemple tubes en polypropylène) afin d'empêcher l'adsorption des protéines pendant toute la durée du mode opératoire.

8.2 Préparation de la solution d'échantillon

Des modes opératoires spécifiques pour la préparation des échantillons représentatifs obtenus sont proposés en Annexe A.

Si nécessaire, broyer les échantillons tel que spécifié dans la méthode avant de prélever les prises d'essai. Les poudres et la farine peuvent présenter des propriétés de gonflement et parfois nécessiter une extraction à l'aide d'un double volume de solution d'extraction.

Les échantillons de laboratoire renfermant d'importantes quantités de matières grasses peuvent ne pas s'avérer suffisamment homogènes et par conséquent requérir l'extraction d'un échantillon plus important. Le cas échéant, des instructions sont présentées en Annexe A.

Peser une quantité appropriée (spécifiée en Annexe A) d'un échantillon analytique représentatif pour analyse en vue d'obtenir une prise d'essai pour extraction. Ajouter la solution d'extraction, puis homogénéiser ou mélanger.

8.3 Extraction

Suivre une procédure d'extraction adaptée à la matrice. Les conditions requises pour l'extraction ou la dilution de la prise d'essai, des contrôles et des matériaux de référence sont présentés en détail en Annexe A.

Il convient de veiller à l'utilisation de procédures d'extraction validées pour la matrice et, si besoin est, d'utiliser des agents liants ou des tampons spéciaux en vue de faciliter l'extraction de la protéine (par exemple, le liant de tanin à ajouter pour l'analyse de chocolat noir).

8.4 Préparation des courbes d'étalonnage

Pour la préparation des courbes d'étalonnage, il est recommandé d'utiliser des matériaux de référence adaptés à la matrice ou des matériaux de référence qui ont été validés pour la matrice.

8.5 Mode opératoire de dosage

En fonction du mode opératoire choisi dans l'Annexe A de cette norme, sélectionner le nombre requis de bandes, d'essais, etc., nécessaires pour la série de solutions d'essai d'échantillon à analyser, y compris les témoins, les références, les étalons et les contrôles, puis ajouter la solution d'essai d'échantillon, les étalons etc., au moins en double en les diluant correctement en fonction du dosage.

Selon la méthode choisie, mélanger délicatement, puis laisser la réaction se dérouler pendant le laps de temps et dans la plage de température indiqués. Si nécessaire, interrompre la réaction selon la méthode décrite en annexe.

La stabilité du signal final peut varier. Relever les résultats aux intervalles de temps spécifiés en annexe.

9 Interprétation et expression des résultats

9.1 Généralités

Les paramètres à interpréter varient selon que l'analyse est qualitative, semi-quantitative ou quantitative.

Pour les méthodes quantitatives, le coefficient de variation des valeurs de densité optique résultant de mesures en double d'une solution d'essai d'échantillon ne doit pas dépasser en général 15 %. Le coefficient de variation des concentrations calculées résultant de mesures en double d'une solution d'essai d'échantillon ne doit pas dépasser en général 20 % du coefficient de variation.

Si la limite du coefficient de variation en pourcentage est dépassé, il convient de répéter les analyses avec une solution d'essai d'échantillon fraîchement préparée. Dans ce cas, trois dosages au moins doivent être réalisés pour définir un coefficient de variation (exemple : valeurs de 3 puits à microtitration).