

# PROJET DE NORME INTERNATIONALE

## ISO/DIS 18074

ISO/TC 38

Secrétariat: JISC

Début de vote:  
2013-09-26

Vote clos le:  
2013-12-26

---

---

## Textiles — Identification de certaines fibres animales par la méthode d'analyse de l'ADN - Cachemire, laine, yak et leurs mélanges

*Textiles — Identification of some animal fibres by DNA analysis method- Cashmere, wool, yak and their blends*

ICS: 59.080.01

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
(standards.iteh.ai)  
Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/40391e27-8c8c-4502-b4a1-7c2de646f164/iso-18074-2015>

CE DOCUMENT EST UN PROJET DIFFUSÉ POUR OBSERVATIONS ET APPROBATION. IL EST DONC SUSCEPTIBLE DE MODIFICATION ET NE PEUT ÊTRE CITÉ COMME NORME INTERNATIONALE AVANT SA PUBLICATION EN TANT QUE TELLE.

OUTRE LE FAIT D'ÊTRE EXAMINÉS POUR ÉTABLIR S'ILS SONT ACCEPTABLES À DES FINS INDUSTRIELLES, TECHNOLOGIQUES ET COMMERCIALES, AINSI QUE DU POINT DE VUE DES UTILISATEURS, LES PROJETS DE NORMES INTERNATIONALES DOIVENT PARFOIS ÊTRE CONSIDÉRÉS DU POINT DE VUE DE LEUR POSSIBILITÉ DE DEVENIR DES NORMES POUVANT SERVIR DE RÉFÉRENCE DANS LA RÉGLEMENTATION NATIONALE.

LES DESTINATAIRES DU PRÉSENT PROJET SONT INVITÉS À PRÉSENTER, AVEC LEURS OBSERVATIONS, NOTIFICATION DES DROITS DE PROPRIÉTÉ DONT ILS AURAIENT ÉVENTUELLEMENT CONNAISSANCE ET À FOURNIR UNE DOCUMENTATION EXPLICATIVE.



Numéro de référence  
ISO/DIS 18074:2013(F)

© ISO 2013

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
(standards.iteh.ai)  
Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/40391e27-8c8c-4502-b4a1-7c2de646f164/iso-18074-2015>

### Notice de droit d'auteur

Ce document de l'ISO est un projet de Norme internationale qui est protégé par les droits d'auteur de l'ISO. Sauf autorisé par les lois en matière de droits d'auteur du pays utilisateur, aucune partie de ce projet ISO ne peut être reproduite, enregistrée dans un système d'extraction ou transmise sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, les enregistrements ou autres, sans autorisation écrite préalable.

Les demandes d'autorisation de reproduction doivent être envoyées 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 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Toute reproduction est soumise au paiement de droits ou à un contrat de licence.

Les contrevenants pourront être poursuivis.

## Sommaire

Page

Avant-propos .....	iv
Introduction.....	v
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Mise en garde</b> .....	1
3 <b>Références normatives</b> .....	1
4 <b>Termes et définitions</b> .....	2
5 <b>Principe</b> .....	3
6 <b>Appareillage et équipements</b> .....	3
7 <b>Réactifs</b> .....	4
8 <b>Échantillonnage</b> .....	7
9 <b>Méthodes d'essai</b> .....	7
10 <b>Vérification</b> .....	10
11 <b>Conclusions</b> .....	12
12 <b>Rapport d'essai</b> .....	13
<b>Annex A</b> (informative) <b>Amplification du fragment d'ADN de longueur constante par la méthode PCR</b> .....	14
<b>Annex B</b> (informative) <b>Purification complémentaire de l'ADN</b> .....	16
<b>Annex C</b> (informative) <b>Répétabilité &amp; reproductibilité</b> .....	18
<b>Annex D</b> (informative) <b>Application pratique à divers produits textiles</b> .....	21
<b>Bibliographie</b> .....	22

## 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 18074 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 38, *Textiles*, GT 22 *Composition et essais chimiques*.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
(standards.iteh.ai)  
Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/40378788-8c8c-4502-b4a1-7c2de646f164/iso-18074-2015>

## Introduction

La composition des fibres utilisées dans les produits textiles est l'une des propriétés les plus importantes. L'étiquetage de la composition des produits textiles est exigé au niveau mondial par les législations ou les réglementations volontaires liées au commerce équitable.

La méthode d'essai visant à déterminer la composition de certaines fibres animales utilisées dans les produits textiles a été décrite dans l'ISO 17751:2007 « *Textiles – Analyse quantitative des fibres animales par microscopie – Cachemire, laine, fibres spéciales et leurs mélanges* ». Il s'agit de la seule méthode permettant actuellement de déterminer la composition de fibres animales. Dans cette méthode, les fibres animales sont observées au microscope et identifiées en fonction de la forme de leurs écailles par des opérateurs expérimentés. De cette manière, de nombreux échantillons peuvent être soumis à essai de façon très efficace. Toutefois, malgré leur expérience, les opérateurs rencontrent certaines difficultés dans l'identification des fibres, car les produits textiles présentent une grande diversité de couleurs et de finitions, ainsi que de nombreux mélanges de fibres animales.

C'est pourquoi plusieurs méthodes d'essai visant à obtenir des résultats plus précis ont été recherchées et élaborées. Parmi elles, la méthode d'analyse de l'ADN (acide désoxyribonucléique) s'est révélée pratique et facile à mettre en œuvre pour identifier la nature des fibres animales.

Il est bien connu que tous les animaux possèdent un ADN spécifique. La méthode d'amplification de l'ADN par PCR (réaction de polymérisation en chaîne) a récemment évolué, atteignant une haute précision. De très faibles quantités d'ADN extraites de fibres animales sont amplifiées par PCR afin d'obtenir de grandes quantités d'ADN copié. Pour cette analyse, on utilise l'ADN mitochondrial plutôt que l'ADN nucléaire en raison de sa présence en plus grande quantité.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/40391e27-8cbc-4502-b4a1-7c2de646f164/iso-18074-2015>

# Textiles — Identification de certaines fibres animales par la méthode d'analyse de l'ADN — Cachemire, laine, yak et leurs mélanges

**AVERTISSEMENT** — L'utilisation de la présente norme peut impliquer des matériaux, opérations et équipements dangereux. La présente norme n'a pas pour objectif de traiter l'ensemble des problèmes de sécurité associés à son utilisation. L'utilisateur de la présente norme est tenu, avant utilisation, d'établir des pratiques de sécurité et d'hygiène appropriées et de déterminer l'applicabilité des limitations réglementaires et des exigences du fournisseur en matière de sécurité.

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode d'essai pour l'analyse de l'ADN de certaines fibres animales afin d'identifier le cachemire, la laine, le yak et leurs mélanges au moyen d'une extraction, d'une amplification par la méthode PCR (réaction par polymérisation en chaîne) et du procédé de détection de l'ADN.

La présente Norme internationale s'applique au cachemire, au yak, à la laine et à leurs mélanges en tant que méthode qualitative.

## 2 Mise en garde

Les résultats d'essai pour l'identification de fibres par la méthode d'analyse de l'ADN peuvent être obtenus avec un haut degré de précision pour les produits textiles mentionnés ci-dessus ayant été traités avec de faibles concentrations en colorants ou ayant été teints en couleurs claires.

En revanche, lorsque les produits textiles ont été traités dans des conditions plus agressives ou à de hautes températures, l'ADN mitochondrial est susceptible d'avoir été endommagé. Dans ce cas, l'identification peut s'avérer difficile car l'amplification de l'ADN par PCR peut être impossible.

## 3 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application 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 139, *Textiles — Atmosphères normales de conditionnement et d'essai.*

ISO 6938, *Textiles — Fibres naturelles — Noms génériques et définitions*

ISO 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai.*

ISO 8655, *Appareils volumétriques à piston*

## 4 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

**4.1 ADN**  
acide désoxyribonucléique, présent dans le noyau et les mitochondries des cellules composant les fibres animales et constitué d'une chaîne linéaire de 4 bases : l'adénine (A), la thymine (T), la guanine (G) et la cytosine (C). Chaque fibre animale possède une séquence d'ADN identique qui lui est propre

**4.2 fibres animales**  
fibres de cachemire, de laine ou de yak

**4.3 solution tampon**  
solution utilisée afin de maintenir le pH de la solution de réaction à une valeur souhaitée

**4.4 agent réducteur**  
agent dissolvant les fibres animales par décomposition réductrice des ponts disulfure de la protéine

**4.5 amplification de l'ADN**  
amplification du fragment spécifique d'ADN par la méthode PCR

**4.6 méthode PCR**  
méthode d'amplification en chaîne par polymérase

NOTE Le procédé d'amplification du fragment d'ADN à longueur fixe est expliqué à l'Annexe A.

**4.7 ADN polymérase pour la méthode PCR**  
ADN polymérase thermostable dont il convient que le défaut d'activité de correction sur épreuves soit spécifié pour la méthode PCR

**4.8 amorce**  
fragment de courte taille d'ADN simple brin, initiateur de réaction et défini comme la séquence de 18-30 bases identique par rapport à l'ADN de la fibre animale

**4.9 jeu d'amorces**  
ensemble d'amorces

**4.10 amorce pour le cachemire**  
amorce présentant une séquence de bases identique à l'ADN mitochondrial du cachemire

NOTE La séquence de bases pour les amorces sera déposée auprès de la base de données publique.

**4.11 amorce pour la laine**  
amorce présentant une séquence de bases identique à l'ADN mitochondrial de la laine



**4.12****amorce pour le yak**

amorce d'ADN présentant une séquence de bases identique à l'ADN mitochondrial du yak

NOTE Des informations sur les amorces peuvent être obtenues auprès du secrétariat de l'ISO/TC 38.

**4.13****migration par électrophorèse sur gel**

méthode permettant de détecter les fragments d'ADN amplifié de longueur constante

**5 Principe**

L'ADN mitochondrial est extrait des échantillons de fibres animales à l'aide d'une réaction chimique et enzymatique. L'ADN extrait est purifié au moyen d'une méthode de précipitation et par centrifugation. L'ADN purifié est employé pour la réaction d'amplification de la méthode PCR. Dans la méthode PCR, des amorces pour le cachemire, le yak et la laine sont respectivement soumises à essai. Si l'échantillon est constitué de cachemire, seule l'amorce de cachemire permet d'amplifier le fragment d'ADN de longueur constante. Ensuite, le fragment d'ADN de longueur constante est détecté par la méthode de migration électrophorétique.

Les fibres sont identifiées par l'observation d'amplification ou d'absence d'amplification dans les essais effectués en utilisant successivement toutes les amorces.

**6 Appareillage et équipements**

**6.1 Pipettes**, permettant de mesurer et de prélever (0 – 20)  $\mu\text{l}$  ( $\pm 0,20 \mu\text{l}$ ), (20 – 200)  $\mu\text{l}$  ( $\pm 1,60 \mu\text{l}$ ), (200 – 1 000)  $\mu\text{l}$  ( $\pm 8 \mu\text{l}$ ) dans la limite des erreurs systématiques définies dans l'ISO 8655.

**6.2 Microtube**, capable de supporter une centrifugation de 14 000  $g$  et le séjour en autoclave. Des capacités de 2 ml et de 0,2 ml sont respectivement nécessaires pour la purification et pour la méthode PCR. Il convient que les tubes de 0,2 ml utilisés pour la méthode PCR soient conformes aux recommandations du fabricant de la machine PCR.

**6.3 Capuchon vissant**, pour le microtube.

**6.4 Bloc thermique**, muni d'orifices pour accueillir les microtubes et capable de chauffer jusqu'à environ 80 °C ( $\pm 1,0$  °C).

**6.5 Agitateur secoueur**, permettant de chauffer jusqu'à 50 °C et de maintenir cette température, ainsi que d'appliquer au microtube une agitation d'environ 500 tr/min ou plus.

**6.6 Agitateur**, permettant d'accueillir les microtubes et de les agiter environ 500 fois/minute ou plus. Cette machine peut être remplacée par un instrument équivalent, par exemple un agitateur rotatif à microtubes pouvant fonctionner à 30 tr/min ou plus.

**6.7 Centrifugeuse**, permettant de réaliser une centrifugation à 14 000  $g$  ou plus, de passer de 0 °C à la température ambiante et d'accueillir des microtubes ou des unités d'ultrafiltration par centrifugation.

**6.8 Unité d'ultrafiltration par centrifugation**, permettant de retenir les molécules présentant une masse moléculaire de 100 kDa (Dalton) ou plus.

NOTE Une unité de ce type est commercialisée sous le nom d'Amicon Ultra, etc.

**6.9 Machine PCR**, dont la température et la durée de fonctionnement sont programmables.

NOTE Une machine de ce type est commercialisée par Life Technologies Corporation. Des machines équivalentes sont disponibles auprès d'autres fournisseurs.

**6.10 Illuminateur UV**, émetteur d'UV.

**6.11 Cabine photo**

**6.12 Contenant alimentaire en plastique**

**6.13 Peigne**, utilisé pour former des puits dans le gel d'agarose employé dans l'essai de migration par électrophorèse sur gel.

**6.14 Broyeur**, utilisé pour mélanger et homogénéiser les fibres animales.

**6.15 Fiole Erlenmeyer**, de capacité 200 ml.

## 7 Réactifs

### 7.1 Eau pure

L'eau pure est de l'eau de qualité 1 au sens de l'ISO 3696. Il convient qu'elle ne présente aucune activité DNase (digestion de l'ADN), qu'elle ne contienne pas d'ADN susceptible d'être amplifié par les amorces en quantité significative et qu'elle ne présente aucun effet inhibiteur pour cette méthode d'essai.

### 7.2 Réactif chloroforme/alcool isoamylique

Concentration à 100 % de la plus haute qualité.

— Chloroforme 9,6 ml

— Alcool isoamylique 400  $\mu$ l

### 7.3 Solution de perchlorate de sodium

— Perchlorate de sodium 6,1 g

— Compléter à 10 ml avec de l'eau pure.

### 7.4 Tris (tris(hydroxyméthyl)aminométhane) à 1 mol/l – HCl

Dissoudre 12,1 g de tris(hydroxyméthyl)aminométhane dans 800 ml d'eau pure, puis ajuster le pH à une valeur de 8,0 en ajoutant du HCl et à l'aide du pH-mètre. Compléter ensuite à 1 000 ml avec de l'eau pure.

### 7.5 EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) à 500 mmol/l

Dissoudre 186,1 g d'EDTANa<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (sel disodique dihydraté d'EDTA) dans 800 ml d'eau pure, puis ajuster le pH à une valeur de 8,0 en ajoutant de la soude NaOH et à l'aide du pH-mètre. Compléter ensuite à 1 000 ml avec de l'eau pure.