
**Méthodes horizontales d'analyse
moléculaire de biomarqueurs —
Méthodes d'analyse pour la détection
des organismes génétiquement
modifiés et des produits dérivés —**

Partie 5:
iT Standards
**Méthode de criblage par PCR en temps
réel pour la détection de la séquence
ADN du promoteur FMV (P-FMV)**
Document Preview

*Horizontal methods for molecular biomarker analysis — Methods
of analysis for the detection of genetically modified organisms and
derived products —
Part 5: Real-time PCR based screening method for the detection of the
FMV promoter (P-FMV) DNA sequence*



Numéro de référence
ISO/TS 21569-5:2016(F)

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

[ISO/TS 21569-5:2016](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/4eadf37f-8548-4abc-8143-5a25f64ee05d/iso-ts-21569-5-2016)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/4eadf37f-8548-4abc-8143-5a25f64ee05d/iso-ts-21569-5-2016>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2016, Publié en Suisse

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland
Tel. +41 22 749 01 11
Fax +41 22 749 09 47
copyright@iso.org
www.iso.org

Sommaire

Page

Avant-propos	iv	
1	Domaine d'application	1
2	Références normatives	1
3	Termes et définitions	1
4	Principe	2
5	Réactifs et matériaux	2
5.1	Généralités	2
5.2	Réactifs PCR	2
6	Appareillage	3
7	Mode opératoire	3
7.1	Préparation de l'échantillon pour essai	3
7.2	Préparation des extraits d'ADN	3
7.3	Réaction PCR	3
7.4	Programme d'amplification	4
8	Critères d'acceptation/rejet	4
8.1	Généralités	4
8.2	Identification	5
9	État de validation et critères de performance	5
9.1	Généralités	5
9.2	Robustesse	5
9.3	Essai interlaboratoires	5
9.4	Sensibilité	7
9.5	Spécificité	8
10	Rapport d'essai	9
Annexe A (informative) Détection du cadre ouvert de lecture VII du virus de la mosaïque de la scrofulaire (FMV)		10
Bibliographie		11

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 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. 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 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.html

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 16, *Méthodes horizontales pour l'analyse moléculaire de biomarqueurs*. www.iso.org/iso/iso-ts-21569-5-2016

Une liste de toutes les parties de l'ISO/TS 21569 est disponible sur le site de l'ISO.

Méthodes horizontales d'analyse moléculaire de biomarqueurs — Méthodes d'analyse pour la détection des organismes génétiquement modifiés et des produits dérivés —

Partie 5:

Méthode de criblage par PCR en temps réel pour la détection de la séquence ADN du promoteur FMV (P-FMV)

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode pour la détection d'une séquence d'ADN utilisée dans des plantes génétiquement modifiées, au moyen d'une PCR (réaction de polymérisation en chaîne) en temps réel. La méthode détecte un long segment comprenant 78 paires de bases de la séquence d'ADN du promoteur 34S du *virus de la mosaïque de la scrofulaire*. Ce segment est indiqué comme promoteur FMV (P-FMV) dans certaines plantes génétiquement modifiées, alors que dans d'autres plantes génétiquement modifiées, ce segment est indiqué comme amplificateur FMV (E-FMV).

La méthode a été élaborée et validée pour l'analyse de l'ADN extrait de produits alimentaires. Elle peut également être utilisée pour analyser d'autres produits tels que des aliments pour animaux et des semences. La méthode exige qu'une quantité adéquate d'ADN amplifiable de qualité appropriée soit extraite de l'échantillon pour essai.

La séquence d'ADN amplifiée par la méthode spécifique à l'élément P-FMV peut être détectée dans des échantillons contenant l'ADN du *virus de la mosaïque de la scrofulaire* présent dans la nature. Pour cette raison, il est nécessaire de confirmer un résultat positif de criblage. D'autres analyses sont nécessaires au moyen de méthodes spécifiques aux construits ou spécifiques aux événements.

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 21569, *Produits alimentaires — Méthodes d'analyse pour la détection des organismes génétiquement modifiés et des produits dérivés — Méthodes qualitatives basées sur l'utilisation des acides nucléiques*

ISO 21570, *Produits alimentaires — Méthodes d'analyse pour la détection des organismes génétiquement modifiés et des produits dérivés — Méthodes quantitatives basées sur l'utilisation des acides nucléiques*

ISO 21571:2005, *Produits alimentaires — Méthodes d'analyse pour la détection des organismes génétiquement modifiés et des produits dérivés — Extraction des acides nucléiques*

ISO 24276, *Produits alimentaires — Méthodes d'analyse pour la détection des organismes génétiquement modifiés et des produits dérivés — Exigences générales et définitions*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions donnés dans l'ISO 16577 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:

- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <http://www.iso.org/obp>

4 Principe

L'ADN est extrait de la prise d'essai en appliquant une méthode appropriée (voir l'ISO 21571). L'analyse de l'ADN comprend deux parties:

- a) vérification de la quantité, de la qualité et de l'amplificabilité de l'ADN extrait, par exemple au moyen d'une PCR spécifique pour un taxon (conformément à l'ISO 21569 et à l'ISO 21570), voir également la Référence [1];
- b) détection de la séquence d'ADN P-FMV par une PCR en temps réel, voir la Référence [2].

5 Réactifs et matériaux

5.1 Généralités

Pour les besoins du présent document, seules des substances chimiques et de l'eau de qualité analytique reconnue, appropriées pour la biologie moléculaire, doivent être utilisées. Sauf indication contraire, il convient de préparer les solutions par dissolution des réactifs correspondants dans l'eau et par traitement à l'autoclave. Pour toutes les opérations nécessitant le port de gants, il convient de s'assurer que ceux-ci ne sont pas poudrés. Pour éviter toute contamination croisée, il est recommandé d'utiliser des embouts de pipette protégés contre les aérosols.

5.2 Réactifs PCR

ISO/TS 21569-5:2016

5.2.1 ADN polymérase thermostable (pour PCR «à démarrage à chaud»).

<https://standards.iec.ch/catalog/standards/60/4ead1371-8348-4ac8-8143-3125f64ee05d/iso-ts-21569-5-2016>

5.2.2 Solution tampon pour PCR (contenant du chlorure de magnésium et des désoxyribonucléosides triphosphates, dNTP).

Il est possible d'utiliser des mélanges de réactifs ou des mélanges de composants individuels prêts à l'emploi. Des réactifs et des polymérases conduisant à des résultats équivalents ou meilleurs peuvent également utilisés.

5.2.3 Oligonucléotides (voir [Tableau 1](#))¹⁾.

1) Lors de l'essai interlaboratoires réalisé pour la séquence P-FMV, les participants ont reçu des aliquotes séchées (par 50 réactions) de mélanges d'amorces/sondes (devant être conservés dans l'obscurité jusqu'au démarrage de l'essai interlaboratoires). Pour chaque aliquote, on a ajouté 375 µl d'eau de qualité PCR et laissé décanter.