

ISO/TC 34/SC 9 22174:2024(fr)

~~Seconde~~Deuxième édition

2024-08

Date ~~de~~ : 2024-08-10-07

ISO 22174:2024(F)

ISO/TC 34/SC 9

Secrétariat : ~~AFNOR~~

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche et la quantification de micro-organismes — Exigences générales et définitions

Microbiology of the food chain — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection and quantification of microorganisms — General requirements and definitions

(<https://standards.iteh.ai>)

Document Preview

ISO 22174:2024

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/09061f1c-a5d9-4f72-b7eb-4e27bc123320/iso-22174-2024>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2024

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en ~~œuvre~~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~~CP 401 • Ch. de Blandonnet 8

CH-1214 Vernier, ~~Genève~~Geneva

~~Tel.~~Phone: + 41 22 749 01 11

E-mail: copyright@iso.org

~~Web~~Website: www.iso.org

Publié en Suisse

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

ISO 22174:2024

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/09061f1c-a5d9-4f72-b7eb-4e27bc123320/iso-22174-2024>

Sommaire ~~Page~~

Avant-propos	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
3.1 Termes généraux	2
3.2 Termes relatifs à l'extraction et à la purification de l'ADN/ARN	4
3.3 Termes relatifs à la transcription inverse de l'ARN en ADN	4
3.4 Termes relatifs à l'amplification de l'ADN par PCR/RT-PCR	4
3.5 Termes relatifs aux témoins	6
3.6 Termes relatifs à la qPCR	7
3.7 Termes relatifs à la dPCR	8
4 Principe	9
4.1 Généralités	9
4.2 Échantillon pour laboratoire	10
4.3 Échantillonnage, transport et stockage	10
4.4 Préparation de l'échantillon pour essai	10
5 Enrichissement microbien et concentration virale	10
5.1 Enrichissement microbien	10
5.2 Concentration virale	11
6 Préparation de l'acide nucléique	11
6.1 Généralités	11
6.2 Prévention de l'amplification de l'ADN provenant de cellules mortes	11
6.3 Extraction, libération et purification des acides nucléiques	11
6.4 Qualité et quantité d'acide nucléique	12
7 Amplification par PCR	12
8 Détection et confirmation des amplicons	13
9 Exigences générales pour l'environnement de laboratoire	13
9.1 Généralités	13
9.2 Configuration du laboratoire	14
10 Réactifs et consommables	16
11 Équipement	17
12 Mode opératoire	18
12.1 Enrichissement et traitement des échantillons	18
12.2 Amplification	18
12.3 Évaluation	22
12.4 Rapport d'essai	24
13 Caractéristiques de performance des méthodes basées sur la PCR	24
14 Validation et vérification des méthodes basées sur la PCR	24
14.1 Généralités	24
14.2 Validation	25
14.3 Vérification	25
Annexe A (informative) Signaux de fluorescence et courbe d'amplification	26
Bibliographie	29

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'ISO attire l'attention sur le fait que la mise en application du présent document peut entraîner l'utilisation d'un ou de plusieurs brevets. L'ISO ne prend pas position quant à la preuve, à la validité et à l'applicabilité de tout droit de ~~propriété~~~~brevet~~ revendiqué à cet égard. À la date de publication du présent document, l'ISO n'avait pas reçu notification qu'un ou plusieurs brevets pouvaient être nécessaires à sa mise en application. Toutefois, il y a lieu d'avertir les responsables de la mise en application du présent document que des informations plus récentes sont susceptibles de figurer dans la base de données de brevets, disponible à l'adresse www.iso.org/brevets. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié tout ou partie de tels droits de ~~brevet~~~~propriété~~.

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 TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 9, *Microbiologie*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 463, *Microbiologie de la chaîne alimentaire*, du Comité européen de normalisation (CEN), conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Cette deuxième édition annule et remplace l'ISO 22174:2005, l'ISO 20837:2006, l'ISO 20838:2006 et l'ISO 22119:2011, qui ont fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications sont les suivantes:

- ajout d'exigences pour la mise en œuvre de la PCR digitale;
- ajout d'exigences relatives à la surveillance des flux de laboratoire, y compris la surveillance environnementale pour la PCR;
- extension du [paragraphe 12.2.2](#) Témoins de réaction, avec description des différents témoins;
- modification du [paragraphe 12.3](#) pour inclure l'évaluation quantitative;
- ajout de [l'Article 14](#) sur la validation et la vérification.

ISO 22174:2024(fr)

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.

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

ISO 22174:2024

<https://standards.itih.ai/catalog/standards/iso/09061f1c-a5d9-4f72-b7eb-4e27bc123320/iso-22174-2024>

Microbiologie de la chaîne alimentaire — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche et la quantification de micro-organismes — Exigences générales et définitions

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie les exigences générales relatives à l'amplification *in vitro* des séquences d'acide nucléique (ADN ou ARN).

Le présent document s'applique aux essais pour la détection de micro-organismes et de virus issus de la chaîne alimentaire en faisant appel à la réaction de polymérisation en chaîne (PCR). Le présent document, ou certaines de ses parties, s'applique(nt) à d'autres domaines de diagnostic par PCR sur la base d'une évaluation au cas par cas.

Les exigences minimales déclarées dans le présent document sont destinées à garantir l'obtention de résultats comparables et reproductibles dans des laboratoires différents.

Le présent document a été conçu pour les micro-organismes issus de la chaîne alimentaire et s'applique aux:

- produits destinés à la consommation humaine;
- produits destinés à l'alimentation animale;
- échantillons environnementaux prélevés dans des zones de production et de manipulation de produits alimentaires et d'aliments pour animaux;
- échantillons de production primaire.

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils 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 6887 (toutes les parties), *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique*

ISO 7218, *Microbiologie des aliments de la chaîne alimentaire — Exigences générales et recommandations pour les examens microbiologiques*

ISO 20836, *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) pour la recherche de micro-organismes — Essais de performance thermique des thermocycleurs*

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 <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>

3.1 Termes généraux

3.1.1

échantillon pour laboratoire

échantillon dans l'état de préparation où il est envoyé au laboratoire et destiné à être utilisé pour un contrôle ou pour des essais

[SOURCE: ISO 7002:1986, A.19]

3.1.2

échantillon pour essai

échantillon préparé à partir de l'*échantillon pour laboratoire* (3.1.1) selon le mode opératoire spécifié dans la méthode d'essai, et à partir duquel les *prises d'essai* (3.1.3) sont prélevées

3.1.3

prise d'essai

échantillon représentatif mesuré (volume ou masse) prélevé sur l'*échantillon pour laboratoire* (3.1.1)

[SOURCE: ISO 6887-1:2017, 3.5, modifié — «pour servir à la préparation de la suspension mère» et la Note 1 à l'article ont été supprimés.]

3.1.4

matériau de référence

matériau, suffisamment homogène et stable quant à une ou plusieurs propriétés spécifiées, qui a été préparé pour être adapté à son utilisation prévue dans un processus de mesure

Note 1 à l'article: Les fournisseurs de matériaux de référence qui satisfont aux exigences de l'ISO 17034 sont considérés comme étant compétents.

[SOURCE: ~~ISO~~ Guide ~~ISO~~ 30:2015, 2.1.1, modifié — Les notes à l'article ont été supprimées et une nouvelle Note 1 à l'article a été ajoutée.] <https://www.iso.org/standards/iso/09061/f1c-a5d9-4f72-b7eb-4e27bc123320/iso-22174-2024>

3.1.5

matrice

ensemble des composants de l'échantillon

[SOURCE: ISO 16140-1:2016, 2.38, modifié — «(produit)» a été supprimé dans le terme.]

3.1.6

acide désoxyribonucléique

ADN

polymère de désoxyribonucléotides se présentant sous la forme de double brin (ADNdb) ou de brin simple (ADNsb)

3.1.7

désoxyribonucléase

DNase

enzyme qui dégrade l'*acide désoxyribonucléique* (ADN) (3.1.6)

3.1.8

amplicon

acide désoxyribonucléique (ADN) (3.1.6) amplifié par *réaction de polymérisation en chaîne* (PCR) (3.1.17)

3.1.9

acide ribonucléique

ARN

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

3.1.10

ribonucléase

RNase

enzyme qui dégrade l'*acide ribonucléique (ARN)* ([3.1.9](#))

3.1.11

acide nucléique

polymère de désoxyribonucléotides ou de ribonucléotides

3.1.12

séquence d'acide nucléique cible

séquence d'acide nucléique utilisée pour l'amplification

3.1.13

séquence endogène

séquence d'acide nucléique naturellement présente dans la *matrice* ([3.1.5](#)) soumise à essai

3.1.14

séquence exogène

séquence d'acide nucléique naturellement absente de la *matrice* ([3.1.5](#)) soumise à essai

3.1.15

détection du produit de la réaction de polymérisation en chaîne

détection de l'amplicon

procédé permettant de reconnaître la présence d'un *amplicon* ([3.1.8](#))

3.1.16

confirmation du produit de la réaction de polymérisation en chaîne

confirmation de l'amplicon

procédé apportant la preuve que l'*amplicon* ([3.1.8](#)) est issu de la *séquence d'acide nucléique cible* ([3.1.12](#))

3.1.17

réaction de polymérisation en chaîne

PCR

méthode enzymatique permettant l'amplification in vitro de l'*acide désoxyribonucléique (ADN)* ([3.1.6](#))

3.1.18

réaction de polymérisation en chaîne en point final

PCR en point final

mode opératoire utilisant l'amplification par PCR suivie d'une détection séparée des *amplicons* ([3.1.8](#)) après la fin de la PCR

3.1.19

réaction de polymérisation en chaîne en temps réel

PCR en temps réel

mode opératoire qui combine l'amplification par PCR avec la détection et/ou la quantification d'*amplicons* ([3.1.8](#)) spécifiques pendant le processus d'amplification

3.1.20

réaction de polymérisation en chaîne multiplexe

PCR multiplexe

PCR (3.1.17) permettant la détection de plusieurs cibles simultanément dans un seul tube réactionnel, où plusieurs jeux d'amorces (et sondes) sont utilisés dans un *mélange maître* (3.4.4)

3.2 Termes relatifs à l'extraction et à la purification de l'ADN/ARN

3.2.1

extraction de l'acide nucléique

préparation d'un échantillon pour la libération des *acides nucléiques* (3.1.11)

3.2.2

purification de l'acide nucléique

méthode permettant de réduire la quantité d'inhibiteurs de *réaction de polymérisation en chaîne (PCR)* (3.1.17) dans l'éluat

3.3 Termes relatifs à la transcription inverse de l'ARN en ADN

3.3.1

transcriptase inverse

enzyme qui catalyse la *transcription inverse* (3.3.2) de l'*acide ribonucléique (ARN)* (3.1.9) en acide désoxyribonucléique complémentaire (ADNc) monocaténaire

3.3.2

transcription inverse

RT (Reverse Transcription)

processus de synthèse de l'acide désoxyribonucléique complémentaire (ADNc) monocaténaire à partir d'une matrice d'acide ribonucléique (ARN) utilisant une *transcriptase inverse* (3.3.1)

3.3.3

réaction de polymérisation en chaîne à transcription inverse

RT-PCR

méthode consistant en deux réactions, à savoir une *transcription inverse (RT)* (3.3.2) de l'*acide ribonucléique (ARN)* (3.1.9) en acide désoxyribonucléique complémentaire (ADNc) monocaténaire, suivie d'une PCR (3.1.17)

Note 1 à l'article: La RT-PCR en une étape est réalisée dans un seul tube.

Note 2 à l'article: Les deux réactions de la RT-PCR en deux étapes peuvent être réalisées l'une après l'autre, dans un seul tube ou dans deux tubes différents.

3.4 Termes relatifs à l'amplification de l'ADN par PCR/RT-PCR

3.4.1

acide désoxyribonucléique polymérase

ADN polymérase

enzyme thermostable permettant la synthèse d'*ADN* (3.1.6)

Note 1 à l'article: L'ADN polymérase peut également cliver une molécule d'acide nucléique hybridée en utilisant son activité exonucléasique 5'-3'. Celle-ci dépend du type d'enzyme et peut se manifester par exemple avec les polymérases Taq, Tth et Tfl.

3.4.2**désoxyribonucléoside triphosphate****dNTP**

solution composée de désoxyadénosine triphosphate (dATP), désoxycytidine triphosphate (dCTP), désoxyguanosine triphosphate (dGTP), désoxythymidine triphosphate (dTTP) et/ou désoxyuridine triphosphate (dUTP)

3.4.3**thermocycleur**

appareil automatique qui réalise les cycles de chauffage et de refroidissement utilisables pour la *réaction de polymérisation en chaîne (PCR)* ([3.1.17](#)) ou la *PCR en temps réel* ([3.1.19](#)) ou la *PCR digitale* ([3.7.1](#))

Note 1 à l'article: Le thermocycleur peut être un thermocycleur à bloc ou à chambre de réaction (individuelle).

[SOURCE: ISO 20836:2021, 3.2.1, modifié — «ou la PCR digitale» a été ajouté.]

3.4.4**mélange maître**

mélange des réactifs nécessaires à l'amplification d'acide nucléique, à l'exception de la *séquence d'acide nucléique cible* ([3.1.12](#))

[SOURCE: ISO 17822:2020, 3.27, modifié — «matrice d'ADN cible et des témoins» a été remplacé par «séquence d'acide nucléique cible».]

3.4.5**amorçe**

oligonucléotide de longueur et de séquence définies, complémentaire d'un segment de la *séquence d'acide nucléique cible* ([3.1.12](#)), utilisé pour signaler le point de départ de l'acide désoxyribonucléique (ADN) polymérase pour étendre le nouveau brin d'ADN

3.4.6**sonde fluorescente**

oligonucléotide d'une séquence définie associée à une ou plusieurs molécules fluorescentes

Note 1 à l'article: Tout système émettant un signal de fluorescence après hybridation spécifique à la *séquence d'acide nucléique cible* ([3.1.12](#)) qui peut être détecté par l'équipement spécifique peut être utilisé comme sonde fluorescente.

3.4.7**bruit de fond de fluorescence****bruit de fond**

niveau intrinsèque de fluorescence résultant des réactifs, des consommables et des instruments utilisés

3.4.8**balise moléculaire**

sonde fluorescente constituée de trois parties différentes: une partie centrale complémentaire de la *séquence d'acide nucléique cible* ([3.1.12](#)), plus une partie 5' et une partie 3' complémentaires l'une de l'autre, et où le reporter (donneur) est fixé sur un bras de la molécule, l'extrémité de l'autre bras portant le quencher (capteur)

3.4.9**sonde d'hybridation**

système de deux sondes fluorescentes associées chacune à une molécule fluorescente, dans lequel une molécule sert de donneur FRET (transfert d'énergie de fluorescence par résonance) et l'autre d'accepteur FRET