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

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

Sample Document

get full document from standards.iteh.ai



Sample Document

get full document from standards.iteh.ai



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2015, 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
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Mise en garde	1
3 Références normatives	1
4 Termes et définitions	1
5 Principe	3
6 Appareillage et équipement	3
7 Réactifs	4
8 Échantillonnage	6
9 Méthodes d'essai	7
9.1 Généralités.....	7
9.2 Découpage de l'échantillon.....	7
9.3 Extraction de l'ADN.....	7
9.4 Purification de l'ADN.....	7
9.5 Amplification de l'ADN.....	8
9.5.1 Composition de la solution de réaction.....	8
9.5.2 Paramètres de la machine d'amplification PCR pour l'amplification de l'ADN.....	9
9.5.3 Méthode d'essai d'amplification de l'ADN.....	9
9.6 Détection et confirmation de l'amplification d'ADN.....	9
9.6.1 Préparation.....	9
9.6.2 Essai de migration électrophorétique.....	10
10 Vérification	10
10.1 Généralités.....	10
10.2 Vérification d'absence d'amplification après le processus d'extraction (vérification négative).....	10
10.3 Vérification d'amplification après le processus d'extraction (vérification positive).....	10
10.4 Vérification d'amplification après le processus de PCR.....	11
10.5 Vérification d'absence d'amplification après le processus de PCR.....	11
10.6 Vérification d'amplification de la solution de réaction PCR.....	11
11 Évaluation	12
12 Fidélité	12
13 Rapport d'essai	13
Annexe A (informative) Amplification du fragment d'ADN de longueur constante par la méthode PCR	14
Annexe B (informative) Purification complémentaire de l'ADN	16
Annexe C (informative) Répétabilité et reproductibilité	18
Annexe D (informative) Application pratique à divers produits textiles	23
Bibliographie	24

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'OMC concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant : [Avant-propos — Informations supplémentaires](#).

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 38, *Textiles*.

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.[3] Il s'agit actuellement de la seule méthode permettant 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, des opérateurs, même expérimentés, peuvent rencontrer des difficultés dans l'identification de fibres, car les produits textiles présentent une grande diversité de couleurs et de traitements d'ennoblissement, et parce qu'il existe 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, car il engendre de plus grandes quantités.

Sample Document

get full document from standards.iteh.ai

Sample Document

get full document from standards.iteh.ai

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

AVERTISSEMENT — L'utilisation de la présente Norme internationale peut impliquer des matériaux, opérations et équipements dangereux. La présente Norme internationale n'a pas pour objectif de traiter l'ensemble des problèmes de sécurité associés à son utilisation. L'utilisateur de la présente Norme internationale 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 yack et leurs mélanges au moyen d'une extraction, d'une amplification par la méthode PCR (réaction par polymérisation en chaîne) et de procédés de détection de l'ADN.

La présente Norme internationale s'applique au cachemire, au yack, 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. Dans le cas où des produits textiles sont sujets à des contaminations par d'autres espèces, telles que la présence de suint de cachemire sur des fibres de laine, cette situation peut trouver une solution par une vérification utilisant les techniques de microscopie.

3 Références normatives

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à 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 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

ISO 8655-2, *Appareils volumétriques à piston — Partie 2: Pipettes 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)

Note 1 à l'article: à l'article : Chaque fibre animale possède une séquence d'ADN identique qui lui est propre.

4.2

fibres animales

fibres de cachemire, de laine ou de yack

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 1 à l'article: à l'article : Le procédé d'amplification du fragment d'ADN de longueur constante est expliqué à l'Annexe A.

4.7

ADN polymérase pour la méthode PCR

ADN polymérase thermostable, sans la fonction de correction sur éprouves, spécifiée pour la méthode PCR

4.8

amorces

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 avec la réaction direction sens et anti-sens

4.10

amorces pour le cachemire

amorces présentant une séquence de bases identique à l'ADN mitochondrial du cachemire

Note 1 à l'article: à l'article : La séquence de bases pour les amorces sera déposée auprès de la base de données publique.

Note 2 à l'article:

4.11

amorces pour la laine

amorces présentant une séquence de bases identique à l'ADN mitochondrial de la laine

4.12**amorce pour le yack**

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

Note 1 à l'article: à l'article : 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 yack et la laine sont respectivement soumises à essai. Si l'échantillon est constitué de cachemire, seule l'amorce de cachemire permet d'amplifier les fragments d'ADN de longueur constante. Ensuite, les fragments d'ADN de longueur constante sont détectés 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 équipement

6.1 Pipettes, permettant de mesurer et de prélever (0 à 20) μl ($\pm 0,20 \mu\text{l}$), (20 à 200) μl ($\pm 1,60 \mu\text{l}$), (200 à 1 000) μl ($\pm 8 \mu\text{l}$) dans la limite des erreurs systématiques définies dans l'ISO 8655-2.

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 vibrant avec dispositif chauffant, 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/min 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.