
**Textiles — Détermination de l'activité
antifongique des produits textiles —**

**Partie 1:
Méthode par luminescence**

Textiles — Determination of antifungal activity of textile products —

Part 1: Luminescence method

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

ISO 13629-1:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/198645c4-c10b-467e-89dd-beae866af984/iso-13629-1-2012>



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 13629-1:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/198645c4-c10b-467e-89dd-beae866af984/iso-13629-1-2012>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2012

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

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Mesures de sécurité	2
6 Champignons de référence	2
7 Appareillage	2
8 Réactifs et milieux de culture	4
8.1 Généralités	4
8.2 Eau pure	4
8.3 Tensio-actif anionique	4
8.4 Réactifs luminescents, réactifs et solutions tampons	4
8.5 Milieu de culture	6
9 Conservation et utilisation du champignon	7
9.1 Conservation du champignon	7
9.2 Utilisation du champignon	7
10 Suspension de spores	7
10.1 Suspension de spores dans des milieux de culture	8
10.2 Collecte et dispersion de la suspension de spores à partir d'un milieu de culture	8
10.3 Filtration pour éliminer les hyphes et les filaments de spore	8
10.4 Utilisation de la séparation centrifuge et re-suspension pour éliminer le liquide surnageant	9
10.5 Confirmation de la concentration de la suspension de spores	9
10.6 Ajustement de la suspension de spores pour les essais	9
11 Préparation de la courbe d'étalonnage de l'ATP	9
12 Méthode d'essai	10
12.1 Préparation des éprouvettes et inoculation	10
12.2 Incubation	12
13 Mesurage de l'intensité de la luminescence	13
13.1 Méthode d'absorption	13
13.2 Méthode de transfert	14
14 Calcul	14
14.1 Évaluation de l'efficacité de l'essai	14
14.2 Calcul de la valeur d'activité antifongique	14
15 Rapport d'essai	15
Annexe A (normative) Champignons utilisés dans la présente partie de l'ISO 13629	16
Annexe B (informative) Efficacité antifongique	17
Bibliographie	18

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 13629-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 38, *Textiles*.

L'ISO 13629 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Textiles — Détermination de l'activité antifongique des produits textiles*:

— *Partie 1: Méthode par luminescence*

La partie suivante est en cours d'élaboration:

— *Partie 2: Méthode par dénombrement sur plaque de gélose*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/198645c4-c10b-467e-89dd-beae866af984/iso-13629-1-2012>

Introduction

L'utilisation de produits spécialisés dans les textiles antimicrobiens se développe d'année en année pour diverses applications. Ces produits contribuent certainement à la prévention de la détérioration des matériaux et à l'amélioration de l'environnement et de la qualité de vie.

Pour ces raisons, l'ISO/TC 38/GT 23 a élaboré l'ISO 20743 en 2007 et continue à étudier une méthode d'essai portant sur l'activité antifongique des produits textiles sous la forme d'une série de Normes internationales.

La présente partie de l'ISO 13629 adopte une méthode par luminescence de l'ATP (adénosine triphosphate) comme base pour la détermination quantitative de l'activité antifongique.

Les caractéristiques de la méthode par luminescence sont les suivantes:

- marge d'erreur extrêmement faible comparativement à la méthode par dénombrement de colonies;
- élimination du temps de culture pour la formation des colonies et, par conséquent, obtention d'un temps d'essai plus court;
- simplification du déroulement de l'essai.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 13629-1:2012](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/198645c4-c10b-467e-89dd-beae866af984/iso-13629-1-2012)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/198645c4-c10b-467e-89dd-beae866af984/iso-13629-1-2012>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 13629-1:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/198645c4-c10b-467e-89dd-beae866af984/iso-13629-1-2012>

Textiles — Détermination de l'activité antifongique des produits textiles —

Partie 1: Méthode par luminescence

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 13629 spécifie une méthode d'essai pour la détermination quantitative de l'activité antifongique en mesurant l'intensité de la luminescence produite par une réaction enzymatique [méthode de l'ATP (adénosine triphosphate)].

La présente partie de l'ISO 13629 s'applique aux différents types de produits textiles, tels que les fibres, les fils, les étoffes, les vêtements, les couvertures et les draps, les tissus d'ameublement et divers autres types d'articles.

En fonction de l'application prévue et de l'environnement dans lequel le produit textile est utilisé, l'utilisateur peut choisir la méthode d'évaluation qui convient le mieux parmi les suivantes, avant le dénombrement avec la méthode de l'ATP:

- a) la méthode d'absorption (méthode d'évaluation dans laquelle la suspension de champignons d'essai est inoculée directement sur les éprouvettes);
- b) la méthode de transfert (méthode d'évaluation dans laquelle les champignons d'essai sont placés sur une boîte de gélose avant d'être imprimés sur les éprouvettes).

[ISO 13629-1:2012](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/198645c4-c10b-467e-89dd-beae866af984/iso-13629-1-2012)

2 Références normatives

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/198645c4-c10b-467e-89dd-beae866af984/iso-13629-1-2012>

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 105-F02, *Textiles — Essais de solidité des teintures — Partie F02: Spécifications pour les tissus témoins en coton et en viscose*

3 Termes et définitions

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

3.1

épreuve témoin

épreuve utilisée pour confirmer la croissance du champignon d'essai

NOTE L'épreuve témoin peut être issue des mêmes produits textiles que ceux soumis à essai mais sans traitement antifongique. Si une telle épreuve n'est pas disponible, une épreuve 100 % coton sans azurant optique ou autre apprêt, conforme aux exigences de l'ISO 105-F02, est utilisée comme épreuve témoin après 10 cycles de lavage de 10 min à une température de 60 °C sans détergents ni azurants et un double rinçage de 5 min conformément à l'ISO 6330.

3.2

agent antifongique

agent servant à empêcher ou à atténuer la croissance de champignons ou à réduire leur nombre

3.3

traitement antifongique

traitement servant à empêcher ou à atténuer la croissance de champignons ou à réduire leur nombre

- 3.4 suspension de spores**
liquide contenant des spores fongiques uniformément réparties dans de l'eau stérilisée contenant un tensio-actif anionique (8.3)
- 3.5 ATP**
adénosine triphosphate, nucléotide multifonctionnel présent dans les champignons vivants
- 3.6 activité antifongique**
activité servant à empêcher ou à atténuer la croissance de champignons, exprimée sous forme de différence de la valeur de croissance en logarithme de l'ATP entre l'éprouvette témoin et l'éprouvette d'essai
- 3.7 méthode par luminescence**
méthode dans laquelle la quantité d'ATP contenue dans les cellules fongiques est mesurée en moles d'ATP

4 Principe

Une éprouvette d'essai et une éprouvette témoin sont inoculées avec une suspension de spores d'un champignon de référence et incubées à 25 °C pendant 42 h.

Dans la présente partie de l'ISO 13629, la croissance fongique ou l'activité antifongique sont déterminées de manière quantitative, par comparaison avec le résultat obtenu avec une éprouvette témoin, en mesurant l'intensité de la luminescence de l'ATP intracellulaire.

5 Mesures de sécurité

Les méthodes d'essai spécifiées ici nécessitent l'utilisation de champignons

Cet essai doit être réalisé exclusivement par un personnel ayant reçu une formation et ayant de l'expérience dans les techniques microbiologiques.

Toutes les réglementations, règles et recommandations concernant les mesures de sécurité à prendre dans le pays concerné doivent être consultées et suivies.

6 Champignons de référence

Les champignons à utiliser doivent être choisis dans le Tableau A.1.

Des types de champignons équivalents obtenus auprès d'autres agences de la Fédération mondiale des collections de cultures (World Federation for Culture Collections — WFCC) peuvent être utilisés sous réserve d'un accord entre les parties intéressées.

Le numéro de conservation et la provenance de la souche du champignon utilisé doivent être mentionnés dans le rapport d'essai.

7 Appareillage

Matériel de laboratoire courant et, en particulier, ce qui suit.

- 7.1 Gaze**, pour les essais biochimiques ou laine de verre (spécification FR).
- 7.2 Boîtes de Petri**, d'un diamètre intérieur d'environ 90 mm et de 55 mm à 60 mm.
- 7.3 Stérilisateur à sec**, pouvant maintenir la température entre 160 °C et 180 °C.

- 7.4 Autoclave**, pouvant maintenir la température à (121 ± 2) °C (équivalent à 103 kPa).
- 7.5 Poste de sécurité microbiologique**, pour les essais biochimiques ou offrant des performances équivalentes.
- 7.6 Anse d'ensemencement en platine**, de 2 mm à 4 mm de diamètre.
- 7.7 Fil d'ensemencement en platine en forme de L.**
- 7.8 Incubateur**, pouvant maintenir la température cible dans une plage comprise entre 20 °C et 37 °C avec une tolérance de ± 2 °C.
- 7.9 Flacon**, à bouchon à vis de 30 ml en verre, avec un joint en polytétrafluoroéthylène ou en silicone et un bouchon en polypropylène.
- 7.10 Baguette de verre**, d'un diamètre compris entre 5 mm et 18 mm et d'une masse comprise entre 1 g et 50 g.
- 7.11 Entonnoir en verre.**
- 7.12 Pipettes**, d'une capacité de 0,05 ml, 0,1 ml, 0,2 ml, 1 ml, 5 ml et 10 ml avec une tolérance de 5,0 %.
- 7.13 Pipette Pasteur**, pour les essais microbiologiques.
- 7.14 Fiole conique**, d'une capacité comprise entre 100 ml et 500 ml.
- 7.15 Pincés.**
- 7.16 Tube à essai en plastique**, spécialement conçu pour le luminomètre.
- 7.17 Agitateur pour tubes à essai.**
- 7.18 Séparateur centrifuge**, ayant une accélération centrifuge d'environ 2 000g.
- 7.19 Tube à centrifuger**, utilisé dans un séparateur centrifuge.
- 7.20 Hématimètre**, permettant de réaliser des mesures entre 1×10^6 /ml et 3×10^6 /ml.
- 7.21 Microscope**, d'un grossissement $\times 200$.
- 7.22 Nettoyeur à ultrasons**, compact, pour les outils d'expérimentation, ayant une fréquence d'environ 30 kHz à 50 kHz.
- 7.23 Luminomètre**, mesurant à une longueur d'onde comprise entre 300 nm et 650 nm, et permettant de réaliser des mesures de l'ATP entre 1×10^{-8} mol/l et 1×10^{-5} mol/l, dans les conditions d'essai définies en 8.4 et à l'Article 11.
- 7.24 pH-mètre**, d'une précision de $\pm 0,1$ à 25 °C.
- 7.25 Réfrigérateur**, pouvant maintenir la température entre 2 °C et 10 °C.

7.26 Deux congélateurs, l'un étant réglable à une température inférieure à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ et l'autre à une température inférieure à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Les tubes à essai, flacons, fioles, pipettes et pinces, doivent être soigneusement lavés dans un détergent alcalin ou neutre, rincés, séchés et traités par stérilisation à sec ou par stérilisation à la vapeur sous haute pression avant utilisation.

8 Réactifs et milieux de culture

8.1 Généralités

Les réactifs utilisés lors des essais doivent être de qualité analytique et/ou adaptés pour les essais microbiologiques.

Il est recommandé d'utiliser des produits déshydratés disponibles dans le commerce pour la préparation des milieux de culture, en respectant scrupuleusement les instructions du fabricant.

8.2 Eau pure

Eau de qualité analytique pour la préparation des milieux microbiologiques et des réactifs, fraîchement distillée et/ou passée sur résine échangeuse d'ions et/ou ultra-filtrée et/ou filtrée par osmose inverse (OI). Elle doit être exempte de substances toxiques ou inhibitrices pour les champignons.

8.3 Tensio-actif anionique

Sulfosuccinate de dioctyle et de sodium pour préparer la suspension de spores.

8.4 Réactifs luminescents, réactifs et solutions tampons

8.4.1 Généralités

Utiliser des réactifs et des solutions tampons préparés comme indiqué en 8.4.2 à 8.4.8. Des produits préparés du commerce peuvent être utilisés après une validation appropriée.

8.4.2 Solution étalon mère d'ATP ($1 \times 10^{-3}\text{ mol/l}$) appelée «étalon ATP» ci-après

Adénosine-5'triphosphate disodique trihydraté ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_{13}\text{P}_3\text{Na}_2, 3\text{H}_2\text{O}$)	60,5 mg
Eau pure (8.2)	100 ml (volume final)

Placer la solution préparée dans un récipient hermétiquement fermé et congeler à une température de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ou inférieure pour une conservation pendant 6 mois au maximum.

NOTE Il n'est pas recommandé de recongeler et/ou de réutiliser une solution ayant été décongelée.

8.4.3 Solution tampon pour réactif luminescent ATP

N-[Tris(hydroxyméthyl)méthyl] glycine	1 117 mg
Sel disodique de l'acide éthylènediaminetétraacétique dihydraté	183 mg
Acétate de magnésium tétrahydraté	808 mg
DL-dithiothreitol	6,7 mg
Dextrine	25 000 mg

Sucrose	925 mg
Eau pure	250 ml (volume final)
pH	7,5 ± 0,2

8.4.4 Réactif luminescent ATP

Les réactifs luminescents ATP doivent permettre à un luminomètre (7.23) de mesurer l'ATP entre 1×10^{-8} mol/l et 1×10^{-5} mol/l, dans les conditions d'essai définies en 8.4 et à l'Article 11.

Luciférase	0,7 mg
D-luciférine	12,6 mg
Albumine de sérum bovin	56 mg
Solution tampon (voir 8.4.3)	30 ml

Après dissolution complète, laisser reposer à température ambiante pendant 15 min avant utilisation. Utiliser dans les 3 h qui suivent la préparation.

8.4.5 Réactif d'extraction de l'ATP

Les réactifs d'extraction de l'ATP doivent permettre d'extraire l'ATP intracellulaire à partir du champignon incubé avec une efficacité d'au moins 80 %.

N-[Tris(hydroxyméthyl)méthyl] glycine	45 mg
Chlorure de benzalkonium, solution aqueuse à 10 %	0,2 ml
Eau pure	9,8 ml
pH (utiliser de l'hydroxyde de sodium pour ajuster le pH)	12,0 ± 0,5

L'utilisation de tout agent d'extraction non spécifié dans la composition doit être enregistrée.

8.4.6 Réactif d'élimination de l'ATP

Les réactifs d'élimination de l'ATP doivent réduire la teneur en ATP du milieu de culture à moins de 10^{-11} mol/l dans les 15 min lorsqu'un dixième du réactif en quantité est ajouté au milieu de culture (défini en 8.5.1).

Utiliser dans les 8 h qui suivent la préparation.

La composition est la suivante:

Apyrase (CE: 3.6.1.5)	4,6 unités internationales/ml
Désaminase d'adénosine phosphate (CE: 3.5.4.6 ou 3.5.4.17)	46 unités internationales/ml
Sucrose	37 mg
Albumine de sérum bovin	20 mg
Solution tampon à 0,05 mol/l d'acide 2-morpholinoéthanesulfonique monohydraté	10 ml
pH	6,0 ± 0,5

Lorsqu'un réactif d'élimination différent est utilisé, sa composition doit être enregistrée.