
**Chaussures et composants de
chaussure — Méthode de test
d'épreuve quantitatif pour évaluer
l'activité antifongique**

*Footwear and footwear components — Quantitative challenge test
method to assess antifungal activity*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 20150:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f0e47c9a-4680-4bca-a0d7-52ad0f5cfe35/iso-20150-2019>



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 20150:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f0e47c9a-4680-4bca-a0d7-52ad0f5cfe35/iso-20150-2019>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en 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 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +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.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Sécurité	2
6 Appareillage	2
7 Réactifs et milieu de culture	3
7.1 Généralités.....	3
7.2 Eau.....	3
7.3 Milieu à l'extrait de malt.....	4
7.3.1 Composition.....	4
7.3.2 Préparation.....	4
7.4 Milieu de gélose à l'extrait de malt (MEA).....	4
7.4.1 Composition.....	4
7.4.2 Préparation.....	4
7.5 Solution physiologique (solution de chlorure de sodium).....	4
7.5.1 Composition.....	4
7.5.2 Préparation.....	4
7.6 Agent mouillant (tensioactif non ionique).....	5
7.7 Solution tampon.....	5
7.7.1 Solution tampon mère.....	5
7.7.2 Préparation de la solution tampon mère.....	5
7.7.3 Préparation de la solution tampon.....	5
8 Micro-organismes d'essai	5
9 Préparation des inoculum d'essai	6
9.1 Indications relatives à l'utilisation des souches.....	6
9.2 Préparation des inoculum de <i>Candida albicans</i>	6
9.3 Préparation de la suspension de spores d'essai de micromycètes filamenteux.....	7
10 Préparation des éprouvettes d'essai	7
10.1 Généralités.....	7
10.2 Éprouvette d'essai.....	7
10.3 Prétraitement des éprouvettes d'essai.....	8
11 Mode opératoire d'essai	8
11.1 Résumé des méthodes d'essai.....	8
11.2 Tests d'épreuve dynamiques.....	8
11.2.1 Inoculation.....	8
11.2.2 Neutralisation et élution après inoculation (temps zéro).....	8
11.2.3 Incubation.....	9
11.2.4 Neutralisation et élution après incubation (temps 24 h).....	9
11.2.5 Détermination du nombre de micromycètes viables.....	9
11.3 Test d'épreuve statique.....	9
11.3.1 Inoculation.....	9
11.3.2 Neutralisation et élution après inoculation (temps zéro).....	9
11.3.3 Incubation.....	10
11.3.4 Neutralisation et élution après incubation (temps 24 h).....	10
11.3.5 Détermination du nombre de micromycètes viables.....	10
12 Expression des résultats	10
12.1 Calcul du nombre de micromycètes viables.....	10
12.2 Jugement de l'efficacité de l'essai.....	10

12.3	Calcul du taux d'activité antifongique.....	11
13	Rapport d'essai.....	11
	Bibliographie.....	13

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 20150:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f0e47c9a-4680-4bca-a0d7-52ad0f5cfe35/iso-20150-2019>

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 attirée 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 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 le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 216, *Chaussure*.

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 STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 20150:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f0e47c9a-4680-4bca-a0d7-52ad0f5cfe35/iso-20150-2019>

Chaussures et composants de chaussure — Méthode de test d'épreuve quantitatif pour évaluer l'activité antifongique

PRÉCAUTIONS — Les méthodes d'essai spécifiées dans le présent document nécessitent l'utilisation de micromycètes. Ces essais doivent être réalisés exclusivement dans des installations comportant des dispositifs de confinement adaptés à la manipulation des micro-organismes et par des personnes formées et expérimentées dans la mise en œuvre des techniques microbiologiques.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie des méthodes de test d'épreuve quantitatif permettant d'évaluer l'activité antifongique des chaussures et de leurs composants.

Le présent document n'est applicable qu'aux chaussures et composants de chaussures pour lesquels des propriétés antifongiques (antimycotiques) ou antimicrobiennes sont revendiquées.

Deux méthodes peuvent être appliquées. Le choix de la méthode dépend des propriétés du matériau et des micro-organismes d'essai. La méthode de test d'épreuve dynamique peut être appliquée à tous types de matériaux. Pour les matériaux absorbants non combinés, il est recommandé d'appliquer la méthode de test d'épreuve statique. Des descriptions succinctes de ces méthodes figurent en [11.2](#) et [11.3](#).

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 7218, *Microbiologie des aliments — Exigences générales et recommandations*

ISO 19952, *Chaussures — Vocabulaire*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et les définitions de l'ISO 19952 ainsi que les 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 <http://www.electropedia.org/>

3.1

activité antifongique

activité antimycotique

efficacité d'un matériau ou d'un apprêt servant à empêcher ou à limiter la croissance des micromycètes, à réduire leur nombre ou à les tuer

3.2

épreuve témoin

matériau identique au matériau d'essai mais n'ayant pas subi de traitement antifongique

Note 1 à l'article: À défaut d'épreuve témoin, une fiole conique stérilisée peut être utilisée en tant que telle.

3.3

neutralisant

agents chimiques servant à inactiver, neutraliser ou stopper les propriétés antifongiques des agents antifongiques

[SOURCE: ISO 20743:2013, 3.7, modifiée — le terme «antibactérien(ne)s» a été remplacé par «antifongiques».]

4 Principe

Des éprouvettes d'essai et des éprouvettes témoins sont ensemencées avec une suspension de spores provenant d'une souche d'essai sélectionnée de micromycètes spécifiés ou revendiqués. Deux méthodes d'essai sont disponibles afin d'évaluer l'activité antifongique.

L'efficacité antifongique est déterminée quantitativement en procédant au comptage des micromycètes viables et en calculant le taux d'activité antifongique.

5 Sécurité

La manipulation de micro-organismes qui sont potentiellement dangereux nécessite un haut degré de compétence technique et peut être soumise à la législation et aux réglementations nationales en vigueur. Il convient que seul le personnel formé aux techniques microbiologiques puisse effectuer de tels essais.

NOTE Se référer aux codes nationaux de bonne pratique relatifs à l'hygiène personnelle, à la désinfection et à la stérilisation.

Il convient que la personne réalisant les essais consulte l'IEC 60068-2-10:2005, Annexe A, et l'ISO 7218.

6 Appareillage

6.1 Généralités

Un appareillage jetable constitue une variante acceptable à la verrerie et au plastique réutilisables, si ledit appareillage présente les spécifications appropriées.

Utiliser l'équipement de laboratoire microbiologique courant, conformément à l'ISO 7218, et notamment les éléments suivants.

6.2 Poste de sécurité biologique.

6.3 Incubateur, permettant de maintenir une température de (28 ± 2) °C.

6.4 Autoclave, permettant de maintenir une température de (121 ± 2) °C et une pression de (103 ± 5) kPa, pour stérilisation humide, utilisé conformément à l'ISO 7218.

6.5 Chambre en atmosphère humide, permettant de maintenir une température de (28 ± 2) °C et une humidité relative de (85 ± 5) %.

6.6 Lampe à ultraviolets.

6.7 Récipients à large ouverture, d'une contenance de 100 ml, munis d'un bouchon, pouvant être utilisés en autoclave (6.4).

6.8 Agitateur vortex.

6.9 Centrifugeuse, 2 000 × *g*.

6.10 Agitateur, bidimensionnel ou tridimensionnel, pouvant être réglé à 50 r/min.

6.11 Incubateur à agitation, permettant de maintenir une température de (28 ± 2) °C et une fréquence de rotation de (120 ± 10) r/min.

6.12 Billes de verre, d'un diamètre compris entre 2 mm et 3 mm, entre 10 billes et 15 billes par fiole conique, utilisées pour la préparation des solutions de spores fongiques.

6.13 Laine de verre ou gaze médicale (double couche), utilisée pour la préparation des solutions de spores fongiques.

6.14 Four, pour stérilisation à sec.

6.15 pH-mètre, permettant de mesurer à ± 0,2 unités près.

6.16 Balance, permettant de peser à ± 0,01 g près.

6.17 Spectrophotomètre, permettant de mesurer aux longueurs d'ondes comprises entre 500 nm et 660 nm, ou néphélomètre de McFarland.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f0e47c9a-4680-4bca-a0d7-2e2121212121/iso-20150-2019>

6.18 Boîtes de Petri, en verre ou en plastique stérilisées et dont le diamètre est compris entre 90 mm et 100 mm ou entre 55 mm et 60 mm.

6.19 Pipette, présentant le volume le mieux adapté pour chaque utilisation.

7 Réactifs et milieu de culture

7.1 Généralités

Le milieu de culture doit être fraîchement préparé avant l'essai de manière à garantir la qualité de la mise en culture.

NOTE Pour ce faire, il est possible de procéder selon l'ISO 11133 ou selon des normes ou réglementations nationales.

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

7.2 Eau

L'eau utilisée lors des essais doit être de qualité analytique pour la préparation des milieux microbiologiques; cette eau est fraîchement distillée et/ou déionisée et/ou ultrafiltrée et/ou filtrée par osmose inverse.

Elle doit être exempte de toute substance toxique ou inhibitrice de micro-organismes.

7.3 Milieu à l'extrait de malt

7.3.1 Composition

Extrait de malt	30,0 g
Peptone de soja	3,0 g
Eau	1 000 ml

7.3.2 Préparation

Dissoudre les quantités de composants indiquées dans l'eau distillée, agiter et ajuster le pH à $(5,5 \pm 0,2)$ à température ambiante. Stériliser à (121 ± 2) °C pendant 15 min en autoclave (6.4) à vapeur d'eau saturée.

7.4 Milieu de gélose à l'extrait de malt (MEA)

7.4.1 Composition

Extrait de malt	30,0 g
Peptone de soja	3,0 g
Agar-agar	15,0 g
Eau	1 000 ml

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

7.4.2 Préparation

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f0e47c9a-4680-4bca-a0d7-52ad0f5cfe35/iso-20150-2019>

Après mélange, agiter et ajuster le pH à $(5,5 \pm 0,2)$ à température ambiante. Tout en agitant, chauffer sur une plaque chauffante ou dans un bain-marie jusqu'à complète dissolution des composants. Stériliser à (121 ± 2) °C pendant 15 min en autoclave (6.4) à vapeur d'eau saturée. Refroidir, bien agiter et verser dans les boîtes de Petri.

NOTE La gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA) peut également constituer un milieu de culture complet pour la croissance de micromycètes. Le milieu PDA standard peut être obtenu dans le commerce, ce qui permet de se dispenser des étapes préparatoires de cuisson et d'éviter les écarts liés à la composition des différentes espèces de pommes de terre. Le milieu PDA du commerce, de composition standard, peut être utilisé pour prévenir les influences dues à la composition des pommes de terre et à leur mode de préparation et de cuisson. Le milieu de gélose à l'extrait de malt (MEA) peut également être obtenu dans le commerce.

7.5 Solution physiologique (solution de chlorure de sodium)

7.5.1 Composition

Chlorure de sodium, NaCl	8,5 g
Eau	1 000 ml

7.5.2 Préparation

Après avoir bien mélangé, ajuster le pH à $(6,9 \pm 0,2)$ à température ambiante et stériliser à (121 ± 2) °C pendant 15 min.

7.6 Agent mouillant (tensioactif non ionique)

Utilisé pour la récolte des spores, il est nécessaire qu'il ne réagisse pas avec d'autres réactifs et qu'il n'entraîne ni augmentation ni réduction du nombre de micromycètes; par exemple: polysorbate 80 (TWEEN 80), N-méthyltauride, Triton™ X-100¹⁾, éther polyglycolique, etc.

NOTE L'agent mouillant (tensioactif non ionique) peut être utilisé lorsque l'éprouvette est enduite.

7.7 Solution tampon

7.7.1 Solution tampon mère

Dihydrogénophosphate de potassium, KH ₂ PO ₄	34,0 g
Eau	1 000 ml

7.7.2 Préparation de la solution tampon mère

Préparer une solution tampon phosphatée en introduisant 34,0 g de dihydrogénophosphate de potassium dans une fiole jaugée de 1 000 ml. Ajouter 500 ml d'eau et mélanger jusqu'à dissolution. Ajuster le pH à (7,2 ± 0,2), à température ambiante, avec de l'hydroxyde de sodium. Ajouter de l'eau distillée pour compléter au volume de 1 000 ml.

7.7.3 Préparation de la solution tampon

Transférer 1 ml de solution tampon mère et 0,08 g d'agent mouillant (tensioactif non ionique) (7.6), soit 0,01 %, et diluer à 800 ml avec de l'eau distillée. Après avoir bien mélangé, stériliser à (121 ± 2) °C pendant 15 min.

NOTE Si l'agent mouillant (tensioactif non ionique) n'est pas nécessaire, il est possible de s'en passer.

8 Micro-organismes d'essai

Les souches utilisées doivent être consignées dans le rapport d'essai.

Les espèces devant être utilisées pour les essais d'activité antifongique sont listées au [Tableau 1](#).

1) Triton™ X-100 est l'appellation commerciale d'un produit distribué par SIGMA-ALDRICH. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.