
Textiles — Détermination de l'activité virucide de produits textiles

Textiles — Determination of antiviral activity of textile products

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 18184:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b106b05f-45e1-42e0-b63f-a44b2b04aea2/iso-18184-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b106b05f-45e1-42e0-b63f-a44b2b04aea2/iso-18184-2019>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 18184:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b106b05f-45e1-42e0-b63f-a44b2b04aea2/iso-18184-2019>



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 |
| Introduction..... | vi |
| 1 Domaine d'application | 1 |
| 2 Références normatives | 1 |
| 3 Termes et définitions | 1 |
| 4 Principe | 3 |
| 5 Virus et cellule hôte | 3 |
| 6 Avertissement | 3 |
| 7 Appareillage | 3 |
| 8 Stérilisation de l'appareillage | 6 |
| 9 Réactif et milieu de culture | 6 |
| 10 Préparation | 11 |
| 10.1 Restauration de la cellule hôte cryoconservée..... | 11 |
| 10.2 Sous-culture de cellules hôtes..... | 12 |
| 10.3 Culture cellulaire pour détermination du titre infectieux d'une suspension virale..... | 13 |
| 10.4 Préparation du virus à soumettre à essai..... | 13 |
| 10.4.1 Généralités..... | 13 |
| 10.4.2 Virus Influenza..... | 13 |
| 10.4.3 Calicivirus félin..... | 14 |
| 10.4.4 Titre infectieux des virus soumis à essai..... | 15 |
| 10.5 Préparation des éprouvettes..... | 16 |
| 10.5.1 Tissu témoin..... | 16 |
| 10.5.2 Préparation des éprouvettes..... | 16 |
| 10.5.3 Stérilisation des éprouvettes..... | 16 |
| 10.6 Essai témoin..... | 17 |
| 10.6.1 Généralités..... | 17 |
| 10.6.2 Vérification de la cytotoxicité par la sensibilité des cellules au virus et l'inactivation de l'activité virucide..... | 17 |
| 11 Mode opératoire d'essai | 17 |
| 11.1 Préparation des éprouvettes..... | 17 |
| 11.2 Dépôt du virus dans les éprouvettes..... | 17 |
| 11.3 Durée de contact..... | 18 |
| 11.4 Élimination du virus immédiatement après dépôt..... | 18 |
| 11.5 Élimination du virus après la durée de contact..... | 18 |
| 12 Préparation pour dilutions en série de la suspension virale | 18 |
| 13 Détermination du titre infectieux | 19 |
| 13.1 méthode des plages de lyse..... | 19 |
| 13.2 Méthode DICT ₅₀ | 19 |
| 14 Calcul du titre infectieux | 19 |
| 14.1 Méthode des plages de lyse..... | 19 |
| 14.2 Méthode DICT ₅₀ | 19 |
| 14.2.1 Méthode de Behrens et Kärber..... | 19 |
| 14.2.2 Exemple de calcul..... | 20 |
| 14.3 Résultat d'essai..... | 22 |
| 14.3.1 Vérification de cet essai..... | 22 |
| 14.3.2 Calcul de la valeur de l'activité virucide..... | 22 |
| 15 Rapport d'essai | 22 |

| | |
|--|-----------|
| Annexe A (informative) Souches virales et cellules hôtes | 23 |
| Annexe B (normative) Détermination du titre infectieux: méthode des plages de lyse | 24 |
| Annexe C (normative) Détermination du titre infectieux: méthode DICT₅₀ | 26 |
| Annexe D (informative) Composition des milieux | 27 |
| Annexe E (informative) Méthode d'essai avec des œufs de poule fécondés exempts d'agents pathogènes (SPF) | 30 |
| Annexe F (informative) Efficacité virucide — Performances virucides des produits | 35 |
| Annexe G (informative) Résultats des essais interlaboratoires (1) | 36 |
| Annexe H (informative) Résultats des essais interlaboratoires (2) | 38 |
| Bibliographie | 41 |

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 18184:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b106b05f-45e1-42e0-b63f-a44b2b04aea2/iso-18184-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b106b05f-45e1-42e0-b63f-a44b2b04aea2/iso-18184-2019>

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.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 38, *Textiles*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 18184:2014), qui a fait l'objet d'une révision technique. Les principales modifications par rapport à l'édition précédente sont les suivantes:

- l'[Article 1](#) a été mis à jour;
- à l'[Article 5](#), les virus et les cellules hôtes mentionnés dans le présent document ont été remplacés par des exemples d'espèces;
- en [10.6](#), « Vérification de l'effet cytotoxique » a été supprimé;
- en [11.1](#), « Préparation des éprouvettes » a été mis à jour;
- en [14.3.2](#), « Calcul de la valeur de l'activité virucide » a été mis à jour;
- l'[Annexe E](#) (Autre virus: virus de la poliomyélite) a été supprimée.

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 <https://www.iso.org/fr/members.html>.

Introduction

Au cours de ces dernières années, le niveau de vie de la population mondiale a connu une nette amélioration et les consommateurs tendent aujourd'hui à rechercher des produits de soin ou de protection de la santé. Cette tendance s'accompagne d'un intérêt accru de la population pour la protection contre des maladies épidémiques, notamment dans les trains de banlieue bondés que les voyageurs empruntent quotidiennement, dans les hôpitaux, dans les maisons médicalisées, etc.

Grâce à la récente accélération du développement de techniques ultra performantes pour le traitement des produits textiles, les produits d'hygiène et de protection de la santé occupent une place de plus en plus importante sur le marché.

Ces produits relativement nouveaux ont bénéficié des avancées techniques réalisées dans le domaine des technologies textiles et les fabricants ont individuellement développé des méthodes d'essai afin d'évaluer les performances des produits. Cependant, aucune méthode d'essai unifiée n'a été élaborée et les consommateurs et les fabricants ne disposent à ce jour d'aucune information claire sur ces produits hautement fonctionnels.

Les produits à propriétés virucides figurent parmi ces produits et intègrent les domaines techniques des technologies textiles et des biotechnologies.

Dans ce contexte, la nécessité d'élaborer une Norme internationale s'impose aux consommateurs, distributeurs, fabricants ou autres intervenants, en tant que parties prenantes de ce marché.

Les produits textiles à propriétés virucides sont des textiles capables de réduire le nombre de virus infectieux qui entrent en contact avec leur surface. Le présent document établit une méthode d'essai quantitative permettant d'évaluer les performances virucides de ces produits.

Les données objectives obtenues grâce au présent document permettent à tous les acteurs (consommateurs, fabricants, distributeurs, etc.) de déterminer de manière correcte la performance des produits textiles antiviraux.

Deux méthodes permettent de quantifier le nombre de virus infectieux (titre infectieux dans le présent document): la méthode directe des plages de lyse et la méthode DICT₅₀. La méthode utilisée peut être choisie en fonction de l'expertise et des capacités techniques de chaque centre d'essai. Tout système cellulaire approprié peut être utilisé et il convient de consigner les conditions d'essai dans le rapport d'essai.

Voir l'[Annexes G](#) et [H](#) pour les résultats des essais interlaboratoires.

Textiles — Détermination de l'activité virucide de produits textiles

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie des méthodes d'essai permettant d'évaluer l'activité virucide des produits textiles contre des virus spécifiés. En raison des différences de sensibilité, les résultats obtenus avec un virus d'essai ne peuvent pas être transposés à d'autres virus.

Les produits textiles incluent les tissus, les tricotés, les fibres, les fils, les tresses, etc.

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 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.

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

virus

entité biologique originale qui possède un unique type d'acide nucléique (ADN ou ARN), une structure spécifique qui oppose le virus aux organismes vivants possédant une structure cellulaire (procaryotes et eucaryotes) et qui se reproduit par réplication à partir de son matériel génétique à l'intérieur de la cellule hôte pour conduire à un parasitisme intracellulaire absolu

Note 1 à l'article: La particule virale infectieuse est appelée virion.

3.2

activité virale

capacité d'un virus à se répliquer dans les cellules hôtes sensibles et permissives

3.3

activité virucide

propriété de toute substance (chimique ou non) entraînant une modification d'un des éléments de la structure du virion qui induit l'incapacité de ce dernier à se répliquer

Note 1 à l'article: Il s'agit d'une propriété qui réduit l'activité virale, généralement par une modification morphologique ou une altération structurelle de la surface protéique du virus.

Note 2 à l'article: La modification de la réponse antigénique ou la modification d'un élément constitutif n'implique pas nécessairement une diminution de la virulence d'un virus.

3.4

substances chimiques virucides

substances chimiques inorganiques ou organiques capables de réduire l'*activité virale* (3.2)

Note 1 à l'article: Les substances chimiques virucides organiques modifient la surface protéique du virus par adsorption chimique. Les substances virucides métalliques inorganiques détruisent ou modifient la morphologie du virus par arrachement d'un atome d'hydrogène de la protéine virale, grâce à des radicaux OH générés par réaction radicalaire.

3.5

tissu témoin

tissu utilisé pour vérifier la stabilité du virus soumis à essai sur une étoffe textile

Note 1 à l'article: Il convient d'utiliser les tissus avant traitement virucide comme tissu témoin dans les mêmes conditions que celles décrites en 3.5.

Note 2 à l'article: En l'absence de tissu témoin comme décrit dans la Note 1, il convient d'utiliser le tissu 100 % coton décrit dans l'ISO 105-F02 sans traitement chimique (blanchiment optique, etc.).

3.6

essai témoin

essai destiné à vérifier qu'une éprouvette n'a aucune influence sur la cellule hôte

Note 1 à l'article: Cet essai est effectué dans les mêmes conditions que l'essai réel, mais sans le virus.

Note 2 à l'article: Également appelé essai témoin d'une éprouvette.

3.7

effet cytopathogène

effet cytopathogène (ECP) du virus

effet qui se manifeste sous la forme d'une altération morphologique ou d'une destruction des cellules hôtes provoquée par la multiplication des virus [ISO 18184:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b106b05f-45e1-42e0-b63f-a44b2b04aca2/iso-18184-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b106b05f-45e1-42e0-b63f-a44b2b04aca2/iso-18184-2019>

3.8

titre infectieux du virus

nombre de particules virales infectieuses présent par unité de volume dans un lysat cellulaire ou dans une suspension virale

3.9

plage de lyse

surface de cellules lysées dans une culture cellulaire monocouche

3.10

unité formant plaque

UFP

unité exprimée en concentration de virus infectieux par unité de volume

3.11

méthode des plages de lyse

méthode destinée à déterminer le *titre infectieux du virus* (3.8) à partir du nombre d'UFP en utilisant des dilutions successives

3.12

DICT₅₀

dose infectieuse à 50 % d'une suspension virale de rinçage ou d'une dilution de suspension virale qui induit un ECP dans 50 % des cultures cellulaires

Note 1 à l'article: Voir 3.7.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

3.13**méthode DICT₅₀**

méthode destinée à déterminer le *titre infectieux du virus* (3.8) à partir de la DICT₅₀ en utilisant des dilutions successives

3.14**cytotoxicité**

altération morphologique des cellules et/ou leur destruction ou la réduction de leur sensibilité à la multiplication de virus induite par un produit

4 Principe

Les virus sont déposés sur une éprouvette. Une fois le temps de contact écoulé, la quantité restante du virus infectieux est déterminée et le taux de réduction est calculé en comparant l'éprouvette d'essai du produit virucide et l'éprouvette témoin sur une échelle logarithmique décimale. Deux méthodes permettent de quantifier le titre infectieux d'un virus. La première est la méthode des plages de lyse et l'autre la méthode DICT₅₀. Le choix de la méthode est fonction de l'expertise et des capacités du centre d'essai.

5 Virus et cellule hôte

L'[Annexe A](#) donne des exemples d'espèces virales et de cellules hôtes.

Il est possible d'employer d'autres espèces virales et d'autres cellules hôtes après validation appropriées car le virus important peut changer en fonction de l'application cible. Si d'autres espèces sont utilisées, le nom de l'espèce et la raison spécifique de son utilisation doivent être consignés dans le rapport d'essai.

NOTE La liste des virus de référence est donnée dans l'EN 14476 et dans l'EN 14675.

[ISO 18184:2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b106b05f-45e1-42e0-b63f-a44b2b04aea2/iso-18184-2019)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b106b05f-45e1-42e0-b63f-a44b2b04aea2/iso-18184-2019>

6 Avertissement

Le présent document nécessite l'utilisation de virus infectieux ou de substances et/ou modes opératoires qui peuvent être préjudiciables à la santé et à l'environnement si les conditions appropriées ne sont pas respectées. Elle se réfère uniquement à l'aptitude technique et ne dispense nullement l'utilisateur de satisfaire, à tout moment, aux obligations légales en matière de santé, de sécurité et d'environnement.

L'avertissement est également applicable aux éléments suivants. Le virus utilisé dans le cadre de la présente norme doit être un virus de niveau de sécurité biotechnologique de classe II, désigné comme tel par les directives de l'OMS. L'utilisateur du présent document doit disposer de connaissances et d'une expertise suffisantes en matière de microbiologie. Par ailleurs, les utilisateurs doivent rigoureusement se conformer à la norme de sécurité des fabricants et à la réglementation locale applicable.

7 Appareillage

7.1 Stérilisateur sous vapeur à haute pression: autoclave capable de fonctionner à une température de (121 ± 2) °C.

NOTE L'autoclave est décrit dans l'EN 12353.

7.2 Stérilisateur à chaleur sèche: fours capables de fonctionner à des températures de (180 ± 2) °C et de (160 ± 2) °C.

NOTE Les fours à air chaud sont décrits dans l'EN 12353.

7.3 Fiole jaugée d'une capacité de 1 l.

- 7.4 **Balance** offrant une plage de mesure de 0,01 g à 100 g avec une précision de 1,0 %.
- 7.5 **Pipettes** de différents volumes avec une précision de 10 % du volume nominal.
- 7.6 **Machine à laver.**
- 7.7 **Pipeteur** capable de recevoir les pipettes en verre ou en plastique.
- 7.8 **Micropipette** de volume parfaitement adapté à chaque utilisation, à extrémité en verre ou en plastique, avec une tolérance inférieure ou égale à 0,5 %.
- 7.9 **Bain-marie** capable de maintenir des températures de $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$, $(50 \pm 1) ^\circ\text{C}$ et $(56 \pm 1) ^\circ\text{C}$.
- 7.10 **Agitateur de type Vortex®¹⁾** utilisé pour les essais microbiens.
- 7.11 **Congélateur** réglable à une température de $(-80 \pm 2) ^\circ\text{C}$ ou $(-20 \pm 2) ^\circ\text{C}$.
- 7.12 **Bain d'azote liquide** pour la conservation à $-196 ^\circ\text{C}$ environ.
- 7.13 **Appareil de filtration sur membrane** avec un diamètre de pore de 0,22 μm .
- 7.14 **Réfrigérateur** réglable à une température comprise entre $2 ^\circ\text{C}$ et $8 ^\circ\text{C}$.
- 7.15 **pH-mètre** avec incertitude d'étalonnage $\pm 0,1$ unité de pH à $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$.
- NOTE Les pH-mètres sont décrits dans l'EN 12353.
- 7.16 **Microscope inversé** pour l'observation des cultures cellulaires.
- 7.17 **Pinces stérilisables.**
- 7.18 **Centrifugeuse** réglable à une température de $(4 \pm 2) ^\circ\text{C}$ et générant une force centrifuge relative d'environ 1 000 g.
- 7.19 **Poste de sécurité biologique** de classe II.
- 7.20 **Flacon** d'une capacité de 30 ml avec bouchon à vis. Le joint est en tétrafluoroéthylène ou en silicone, et le bouchon en polypropylène.
- 7.21 **Microplaque à 96 puits à stérilisation par rayonnement gamma** pour la méthode DICT₅₀.

Des microplaques à 96 puits avec d'autres traitements de stérilisation peuvent être utilisées après validation appropriée de la croissance cellulaire. Voir la [Figure 1](#).

1) Ces informations sont données aux utilisateurs du présent document à titre indicatif et ne constituent en aucun cas une recommandation de l'ISO pour les produits concernés.

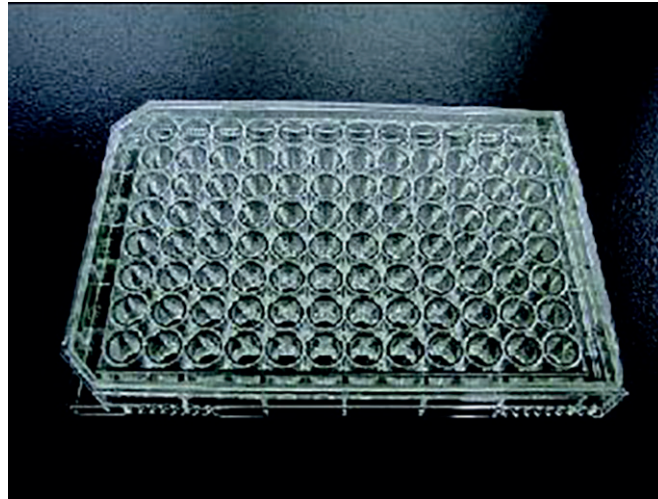


Figure 1 — Microplaques à 96 puits pour la méthode DICT50

7.22 Plaque en plastique à 6 puits à stérilisation par rayonnement gamma pour la méthode des plages de lyse.

Des plaques à 6 puits avec d'autres traitements de stérilisation peuvent être utilisées après validation appropriée de la croissance cellulaire. Voir la [Figure 2](#).



Figure 2 — Plaque en plastique à 6 puits pour la méthode des plages de lyse

7.23 Fiole pour la culture cellulaire, stérilisée aux rayonnements gamma, traitée pour faciliter l'adhérence cellulaire, avec une zone de culture cellulaire de 75 cm² et un bouchon d'aération. Le bouchon d'aération peut laisser passer de l'air sans bactéries par un filtre à pores de 0,2 µm. Voir la [Figure 3](#).

Une fiole avec d'autres traitements de stérilisation peut être utilisée après validation appropriée de la croissance cellulaire.

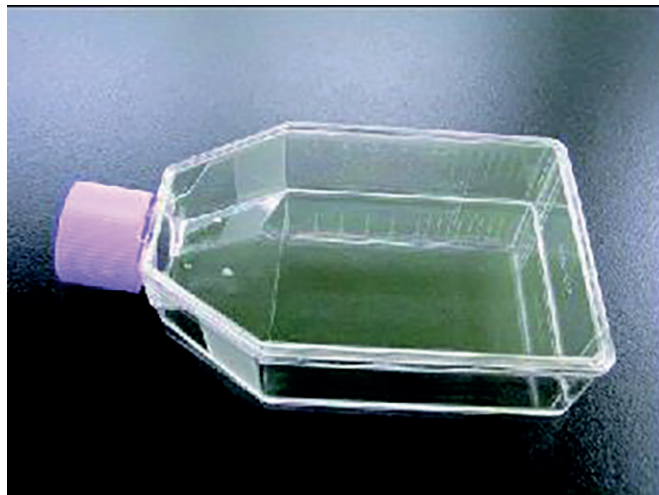


Figure 3 — Fiole pour culture cellulaire

7.24 Incubateur à CO₂ capable de maintenir une atmosphère contenant 5 % de CO₂ à une température de (34 ± 1) °C et de (37 ± 1) °C.

NOTE Certains incubateurs à CO₂ sont décrits dans l'EN 12353.

7.25 Incubateur capable de maintenir une température de (25 ± 1) °C, (35 ± 1) °C et (37 ± 1) °C.

NOTE Certains incubateurs sont décrits dans l'EN 12353.

7.26 Tube à centrifuger. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b106b05f-45e1-42e0-b63f-a44b2b04aea2/iso-18184-2019>

7.27 Boîte de culture cellulaire.

7.28 Tube à essai.

7.29 Bécher.

8 Stérilisation de l'appareillage

Stériliser tous les équipements destinés à entrer en contact avec les cellules, les substances chimiques ou les éprouvettes. La stérilisation doit être effectuée à la vapeur d'eau ou par chaleur sèche.

- Stérilisation à la vapeur d'eau: en autoclave (7.1) à une température de 121 °C et une pression de 103 kPa pendant 15 min.
- Stérilisation par chaleur sèche: en stérilisateur à chaleur sèche (7.2) à une température de 180 °C pendant 30 min ou à 160 °C pendant 2 h.

Pour les produits en plastique, des articles résistants à la chaleur ou stérilisés peuvent être utilisés.

9 Réactif et milieu de culture

Tous les réactifs doivent être d'une qualité adaptée aux besoins virologiques, c'est-à-dire sans substance toxique pour les essais microbiens. Certains milieux de culture sont disponibles dans le commerce.

9.1 Eau qui doit être de qualité analytique pour la préparation de milieux de culture microbiologiques, qui est fraîchement distillée ou traitée par échange d'ions, par ultrafiltration ou par osmose inverse ou toute combinaison de ces méthodes.

9.2 Milieu minimum essentiel de Eagle (EMEM), milieu du Roswell Park Memorial Institute (RPMI), disponible dans le commerce. La composition de ce milieu est décrite à l'[Annexe D](#). Si des composants du milieu sont manquants, les ajouter conformément au tableau présentant la composition.

9.3 Solution de bicarbonate de sodium à 7,5 %.

9.3.1 Stériliser à l'autoclave 75 g de bicarbonate de sodium dans une boîte de culture cellulaire fermée par un bouchon étanche.

9.3.2 Stériliser également l'eau à l'autoclave.

9.3.3 Dissoudre correctement le bicarbonate de sodium dans 1 000 ml d'eau stérilisée.

Une autre préparation (remplaçant [9.3.1](#), [9.3.2](#) et [9.3.3](#)) est possible comme suit. Préparer la solution de bicarbonate de sodium à 7,5 % par dissolution de 75 g de bicarbonate sodium dans 1 000 ml d'eau. Stériliser la solution par filtration sur membrane de 0,22 µm.

9.4 Solution de formaldéhyde.

Préparer une solution aqueuse de formaldéhyde à 3,7 %.

L'autre solution de fixation cellulaire peut être utilisée après validation appropriée de la fixation cellulaire.

9.5 Solution de bleu de méthylène.

9.5.1 Préparer une fiole jaugée ([7.3](#)) de 1 l puis y ajouter les substances suivantes:

- eau, 1 000 ml;
- bleu de méthylène, 0,375 g;
- solution d'hydroxyde de sodium à 1 mol/l, 62,5 µl.

9.5.2 Dissoudre et bien mélanger.

9.6 Sérum de veau fœtal (SVF) inactivé

9.6.1 Plonger le sérum de veau fœtal congelé cryoconservé, encore dans son emballage, dans un bain-marie ([7.9](#)) maintenu à 37 °C, jusqu'à décongélation.

9.6.2 Relever ensuite la température du bain-marie à 56 °C et maintenir pendant 30 min pour inactiver.

9.6.3 Répartir le sérum dans plusieurs tubes. Placer les tubes dans le congélateur ([7.11](#)) à une température inférieure à -20 °C jusqu'à l'utilisation pour les essais.

9.6.4 Juste avant utilisation, placer le sérum dans un bain-marie à 37 °C et l'y maintenir jusqu'à décongélation.