
Chaussure et composants de chaussure — Méthode d'essai pour évaluer l'activité antibactérienne

*Footwear and footwear components — Test method to assess
antibacterial activity*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 16187:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7ad29953-74a9-4c59-b329-b1fc23130282/iso-16187-2013)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7ad29953-74a9-4c59-b329-
b1fc23130282/iso-16187-2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7ad29953-74a9-4c59-b329-b1fc23130282/iso-16187-2013)



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 16187:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7ad29953-74a9-4c59-b329-b1fc23130282/iso-16187-2013>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2013

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
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
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Sécurité	1
5 Appareillage et matériaux	2
6 Réactifs et milieu de culture	2
6.1 Principe	2
6.2 Bouillon nutritif.....	2
6.3 Gélose nutritive	3
6.4 Bouillon de peptone de caséine et de soja avec lécithine et polyoxyéthylène (SCDLP)	3
6.5 Solution de chlorure de sodium (sérum physiologique)	4
7 Souches de référence	4
7.1 Souches.....	4
7.2 Conservation des souches.....	4
8 Préparation des inoculum d'essai	4
9 Préparation des échantillons pour essai	5
9.1 Généralités.....	5
9.2 Éprouvette.....	5
9.3 Prétraitement de l'éprouvette.....	5
10 Mode opératoire d'essai	5
11 Expression des résultats	6
12 Rapport d'essai	6
Annexe A (normative) Test d'épreuve statique	8
Annexe B (normative) Méthode du film de contact	10
Annexe C (normative) Test d'épreuve dynamique	13
Annexe D (informative) Récapitulatif des résultats des essais interlaboratoires	15
Bibliographie	17

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 procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/CEI, 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/CEI, Partie 2, 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 sur la liste ISO des déclarations de brevets reçues, www.iso.org/patents.

Les éventuelles appellations commerciales utilisées dans le présent document sont données pour information à l'intention des utilisateurs et ne constituent pas une approbation ou une recommandation.

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 216, *Chaussure*.

ISO 16187:2013
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7ad29953-74a9-4c59-b329-b1fc23130282/iso-16187-2013>

Chaussure et composants de chaussure — Méthode d'essai pour évaluer l'activité antibactérienne

PRÉCAUTIONS — Les méthodes d'essai spécifiées dans le présent document nécessitent l'utilisation de bactéries. 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. Les mesures de sécurité appropriées doivent être prises, dans le cadre de la réglementation spécifique à chaque pays.

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie des méthodes d'essai quantitatives permettant d'évaluer l'activité antibactérienne des chaussures et de leurs composants.

La présente Norme internationale est applicable à tous les types de chaussures et de composants faisant l'objet de traitements antibactériens non migrants.

2 Références normatives

Les documents suivants, en totalité ou en partie, sont référencés de manière normative dans le présent document et sont indispensables pour son application. 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 19952, *Chaussures* — *Vocabulaire*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions donnés dans l'ISO 19952 ainsi que les suivants s'appliquent.

3.1

activité antibactérienne

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

3.2

échantillon témoin

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

4 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. Les codes de bonnes pratiques de désinfection, de stérilisation et d'hygiène personnelle doivent être strictement observés.

NOTE Il est recommandé que les travailleurs consultent la CEI 60068-2-10, Annexe A «Dangers encourus par le personnel» et l'ISO 7218.

5 Appareillage et matériaux

5.1 Matériel courant de laboratoire et matériel suivant.

5.1.1 Poste de sécurité biologique.

5.1.2 Incubateur, permettant de maintenir une température de $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$.

5.1.3 Autoclave.

5.1.4 Chambre en atmosphère humide, permettant de maintenir une température de $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$ et une humidité relative au moins égale à 90 %.

5.1.5 Lampe à ultra-violet.

5.1.6 Récipient à large ouverture, d'une contenance de 100 ml, munis d'un bouchon, pouvant être autoclave ([5.1.3](#)).

5.1.7 Film de protection, qui n'influe pas sur la croissance des bactéries et n'absorbe pas l'eau (en polyéthylène, polypropylène ou polyester [poly (éthylène téréphtalate)]). Il est recommandé d'utiliser un film d'une épaisseur comprise entre 0,05 mm et 0,10 mm. Utiliser, par exemple, des sachets jetables adaptés à l'autoclave ([5.1.3](#)).

5.1.8 Agitateur vortex.

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

5.1.10 Bain-marie à agitation pour cultures, permettant de maintenir une température de $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$ et une fréquence de rotation de $(120 \pm 10) \text{ r/min}$.

6 Réactifs et milieu de culture

ISO 16187:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7ad29953-74a9-4c59-b329-b1fc23130282/iso-16187-2013>

6.1 Principe

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/TS 11133-1, l'ISO/TS 11133-2 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.

Utiliser uniquement de l'eau de qualité 3 selon l'ISO 3696.

6.2 Bouillon nutritif

6.2.1 Composition

Extrait de bœuf, 3,0 g.

Peptone, 5,0 g.

Chlorure de sodium (NaCl), 5,0 g.

Eau, 1 000 ml.

6.2.2 Préparation

Agiter et ajuster le pH à $(7,2 \pm 0,2)$ (à température ambiante). Tout en agitant, chauffer sur une plaque chauffante ou dans un bain-marie jusqu'à ce que les composants soient complètement dissous. Stériliser à l'autoclave (5.1.3) à $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$ pendant 15 min.

6.3 Gélose nutritive

6.3.1 Composition

Extrait de bœuf, 5,0 g.

Peptone, 10,0 g.

Chlorure de sodium (NaCl), 5,0 g.

Agar, 15,0 g.

Eau, 1 000 ml.

NOTE En cas de solidification insuffisante, on peut utiliser 15 g à 18 g d'agar.

6.3.2 Préparation

Agiter et ajuster le pH à $(7,2 \pm 0,2)$ (à température ambiante). Tout en agitant, chauffer sur une plaque chauffante ou dans un bain-marie jusqu'à ce que les composants soient complètement dissous. Stériliser à l'autoclave (5.1.3) à $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$ pendant 15 min. Refroidir, bien agiter et verser dans les boîtes de Petri.

6.4 Bouillon de peptone de caséine et de soja avec lécithine et polyoxyéthylène (SCDLP)

ISO 16187:2013

6.4.1 Composition

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7ad29953-74a9-4c59-b329-b1fc23130282/iso-16187-2013>

Peptone, de caséine, 17,0 g.

Peptone, de soja, 3,0 g.

Chlorure de sodium (NaCl), 5,0 g.

Dihydrogénophosphate de potassium, 2,5 g.

Glucose, 2,5 g.

Lécithine, 1,0 g.

Polysorbate 80, 7,0 g.

Eau, 1 000 ml.

Si le pouvoir neutralisant est insuffisant, il est possible d'ajuster la teneur en polysorbate 80 ou en lécithine, ou d'ajouter un autre neutralisant. L'utilisation d'un neutralisant non spécifié doit être consignée dans le rapport, avec le nom et la concentration dudit neutralisant.

NOTE Les normes ASTM E 1054 et EN 1040 fournissent des informations concernant le choix et l'évaluation d'autres agents neutralisants antibactériens.

6.4.2 Préparation

Après avoir bien mélangé, ajuster le pH à $(7,2 \pm 0,2)$ (à température ambiante) et stériliser à l'autoclave (5.1.3) à $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$ pendant 15 min.

6.5 Solution de chlorure de sodium (sérum physiologique)

6.5.1 Composition

Chlorure de sodium (NaCl), 8,5 g.

Eau, 1 000 ml.

6.5.2 Préparation

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

7 Souches de référence

7.1 Souches

Les espèces suivantes doivent être utilisées dans tous les essais d'activité antibactérienne:

- a) *Staphylococcus aureus* AS 1.89 ou ATCC 6538;
- b) *Klebsiella pneumoniae* AS 1.1736 ou ATCC 4352.

NOTE 1 Si nécessaire, d'autres espèces ou d'autres souches peuvent être utilisées. Néanmoins, il convient que, parmi les micro-organismes choisis, il y en ait au moins un gram positif et un gram négatif car les agents antibactériens peuvent avoir des activités différentes.

Les souches d'essai doivent provenir des agences de la *World Federation of Culture Collection* (WFCC).

Les espèces de bactéries et leur provenance doivent être consignées dans le rapport d'essai.

NOTE 2 Le numéro AS est délivré par le China General Microbiological Culture Collection Center (CGMCC), le numéro ATCC par la American Type Culture Collection.

7.2 Conservation des souches

Inoculer les souches dans la gélose nutritive (NA) (6.3) et incubé à $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$ pendant 24 h. Conserver à $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ (pendant au maximum un mois) et garder en tant que culture mère des souches. Transférer et incubé une fois par mois.

Les souches peuvent être conservées conformément aux indications du fournisseur ou selon l'EN 12353.

8 Préparation des inoculums d'essai

À l'aide d'une boucle d'inoculation stérile, transférer une colonie (7.2) dans 20 ml de bouillon nutritif (6.2) et incubé dans le bain-marie à agitation (5.1.10) à $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$ pendant environ 16 h (culture nocturne). Estimer le nombre de bactéries par observation au microscope ou selon d'autres méthodes. Préparer une solution de sérum physiologique (6.5) avec du bouillon nutritif (6.2) à 1 %. Utiliser ce milieu pour préparer une suspension ayant une concentration en bactéries de $(2,5 \sim 10) \times 10^5$ UFC/ml comme inoculum d'essai.

Si nécessaire, conserver l'inoculum d'essai sur de la glace et l'utiliser dans les 4 h.

9 Préparation des échantillons pour essai

9.1 Généralités

L'essai doit seulement porter sur les composants ou matériaux réputés antibactériens. Si la chaussure entière est réputée antibactérienne, les principaux composants, notamment la tige, la doublure, la première de montage, la première de propreté, la semelle d'usure, doivent être soumis à essai séparément.

Si seul un matériau d'un composant est réputé antibactérien, il doit, si possible, être soumis à essai séparément. Dans le cas contraire, l'essai doit porter sur l'ensemble du composant.

La surface de chaque échantillon pour essai doit être au moins égale à 80 % de celle des composants ou matériaux concernés. Si un seul matériau représente moins de 80 %, prendre deux des principaux matériaux entrant dans la composition du composant.

Les échantillons peuvent être prélevés directement au niveau des matériaux constitutifs de la chaussure.

9.2 Éprouvette

Il convient que l'éprouvette ait une surface d'environ 500 mm². Pour la méthode d'essai A (voir [Annexe A](#)), la surface de l'éprouvette doit avoir une épaisseur inférieure à 2,0 mm. Sa surface et son poids doivent être consignés dans le rapport d'essai. En cas d'utilisation d'une éprouvette de taille supérieure, il convient d'augmenter en conséquence le volume de suspension bactérienne.

S'il est impossible de réduire l'épaisseur de l'éprouvette (par exemple parce que les composants sont épais et ne peuvent pas être séparés ou coupés sans que cela entraîne une modification des propriétés critiques comme la morphologie de surface ce qui pourrait influencer sur le mode d'interaction des bactéries avec la surface), l'épaisseur doit être indiquée dans le rapport d'essai.

Prélever au moins 6 éprouvettes par matériau ou composant et par souche d'essai.

9.3 Prétraitement de l'éprouvette

Le prétraitement de l'éprouvette est facultatif; il convient de l'effectuer uniquement en cas de nécessité, pour cause de biocharge élevée (contamination, etc).

Si des méthodes de stérilisation sont appliquées, elles doivent être décrites et ne pas avoir d'incidence sur les propriétés antibactériennes, ni sur le matériau lui-même.

NOTE L'échantillon pour essai et l'échantillon témoin peuvent être stérilisés à l'autoclave (5.1.3) à (121 ± 2) °C et 103 kPa pendant 15 min, ou aux rayons ultraviolets (lampe à ultraviolet (5.1.5) de 30 W, disposée à 300 mm de l'échantillon, ce dernier étant exposé une heure de chaque côté) ou selon d'autres méthodes de stérilisation appropriées.

10 Mode opératoire d'essai

Le [Tableau 1](#) indique dans quelles circonstances il convient d'appliquer chaque méthode d'essai.

Il convient d'appliquer la méthode d'essai A (voir [Annexe A](#)) uniquement aux matériaux absorbants non combinés. Il convient d'appliquer la méthode d'essai B (voir [Annexe B](#)) uniquement aux matériaux non absorbants non combinés. La méthode d'essai C (voir [Annexe C](#)) peut être appliquée aux matériaux ou aux combinaisons de matériaux, absorbants ou non absorbants.

NOTE Pour les matériaux non combinés, il est préférable d'appliquer les méthodes A et B.

Tableau 1 — Liste des méthodes d'essai

n°	Type de matériau	Méthode d'essai	Remarques
1	Absorbant	Test d'épreuve statique selon l' Annexe A	Textile et cuir
2	Non absorbant	Méthode du film de contact selon l' Annexe B	Matériau microporeux: cuir revêtu ou épais, matériaux synthétiques/artificiels, mousse EVA, mousse PU et matériau compacté: matière plastique ou revêtue
3	Absorbant et non absorbant	Test d'épreuve dynamique (essai en flacons agités) selon l' Annexe C	Composants de différents matériaux; matériaux façonnés; matériaux avec agent antibactérien fixe

11 Expression des résultats

L'efficacité antibactérienne doit être consignée séparément pour les chaussures et les composants de chaussures, selon le taux d'activité antibactérienne.

Calculer le taux d'activité antibactérienne, R , selon l'Équation 1, ou R^* selon l'Équation 2. Enregistrer le résultat, en pourcentage, avec trois chiffres significatifs.

$$R = \frac{C_t - T_t}{C_t} \times 100 \% \quad (1)$$

où

C_t est le nombre moyen de colonies de trois échantillons témoins après 24 h ou au terme de la période d'incubation spécifiée, exprimé en UFC/ml;

T_t est le nombre moyen de colonies de trois échantillons pour l'essai au bout de 24 h ou au terme de la période d'incubation spécifiée, exprimé en UFC/ml.

Si l'on ne dispose pas d'un échantillon témoin, calculer R^* en remplaçant C_t dans l'Équation (1) par T_0 à l'aide de l'Équation 2.

$$R^* = \frac{T_0 - T_t}{T_0} \times 100 \% \quad (2)$$

où

T_0 est le nombre moyen de colonies de trois échantillons immédiatement après inoculation, exprimé en UFC/ml.

12 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit comporter au moins les informations suivantes:

- une référence à la présente Norme internationale, c'est-à-dire l'ISO 16187;
- les composants d'essai traités et leur emplacement, leur surface et leur poids;
- les méthodes d'essai en fonction des matériaux;
- la préparation des éprouvettes, notamment les méthodes de prétraitement, s'il y a lieu, pour les différents échantillons (méthode de stérilisation);

- e) l'espèce, le numéro de série et le nombre de cellules viables des souches d'essai pour les différents matériaux;
- f) l'agent tensio-actif ajouté aux inoculums d'essai, et sa concentration;
- g) le jugement de l'efficacité de l'essai;
- h) le taux d'activité antibactérienne de différents matériaux ou composants;
- i) tout écart par rapport à la présente méthode.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16187:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7ad29953-74a9-4c59-b329-b1fc23130282/iso-16187-2013>