

---

---

**Champs chirurgicaux, casaques  
et tenues de bloc, utilisés en tant  
que dispositifs médicaux, pour  
les patients, le personnel et les  
équipements — Méthode d'essai  
de résistance à la pénétration de la  
barrière bactérienne à l'état humide**

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

*Surgical drapes, gowns and clean air suits, used as medical devices,  
for patients, clinical staff and equipment — Test method to determine  
the resistance to wet bacterial penetration*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ca1dde2-6197-4005-be3a-70beb71b9a2d/iso-22610-2018>



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

ISO 22610:2018

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ca1dde2-6197-4005-be3a-70beb71b9a2d/iso-22610-2018>



### DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2018

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](mailto:copyright@iso.org)  
Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
<b>1</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>4</b> <b>Principe</b> .....	<b>2</b>
<b>5</b> <b>Appareillage, réactifs et matériaux</b> .....	<b>3</b>
<b>6</b> <b>Appareillage et accessoires d'essai</b> .....	<b>5</b>
<b>7</b> <b>Préparation des boîtes de gélose</b> .....	<b>6</b>
<b>8</b> <b>Inoculum bactérien</b> .....	<b>6</b>
<b>9</b> <b>Mode opératoire</b> .....	<b>7</b>
9.1 Généralités.....	7
9.2 Préparation des boîtes de gélose de 14 cm de diamètre.....	7
9.2.1 Séchage des boîtes.....	7
9.2.2 Détermination de la distance entre la gélose et le bord.....	7
9.3 Ensemencement du donneur.....	8
9.4 Matériau d'essai.....	8
9.5 Préparation de l'assemblage d'essai.....	9
9.6 Mode opératoire d'essai.....	10
9.7 Boîtes témoins.....	12
9.7.1 Contrôles environnementaux.....	12
9.7.2 Contamination bactérienne.....	12
<b>10</b> <b>Évaluation</b> .....	<b>13</b>
10.1 Conditions requises pour un essai valide.....	13
10.2 Détermination du nombre de colonies de <i>Bacillus atropheus</i> .....	13
<b>11</b> <b>Expression des résultats</b> .....	<b>14</b>
<b>12</b> <b>Fidélité</b> .....	<b>14</b>
12.1 Matériau de référence.....	14
12.2 Matériau d'échantillon.....	14
<b>13</b> <b>Rapport d'essai</b> .....	<b>15</b>
<b>Annexe A</b> (normative) <b>Milieus</b> .....	<b>16</b>
<b>Annexe B</b> (normative) <b>Appareillage et accessoires d'essai</b> .....	<b>17</b>
<b>Annexe C</b> (normative) <b>Appareillage et contrôle de performance du laboratoire</b> .....	<b>20</b>
<b>Annexe D</b> (informative) <b>Estimation de la contamination bactérienne sur la partie supérieure de l'éprouvette et de la charge bactérienne résiduelle sur le donneur</b> .....	<b>21</b>
<b>Annexe E</b> (informative) <b>Transmission d'agents infectieux au cours d'interventions chirurgicales invasives</b> .....	<b>22</b>
<b>Annexe F</b> (informative) <b>Fidélité de l'essai de pénétration bactérienne à l'état humide</b> .....	<b>23</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>26</b>

## 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](http://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](http://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](http://www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html).

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 94, *Sécurité individuelle – Équipement de protection individuelle*, sous-comité SC 13, *Vêtements de protection*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 22610:2006), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Bien que les principes qui s'appliquent soient les mêmes que ceux de l'ISO 22610:2006, il convient de considérer que la présente méthode d'essai révisée constitue techniquement une nouvelle méthode d'essai.

Les principales différences entre le présent document et l'ISO 22610:2006 sont les suivantes:

- une souche d'espèce bactérienne différente;
- une description plus détaillée de l'appareillage, des réactifs et des matériaux;
- des tolérances plus strictes concernant les exigences relatives à l'appareillage;
- des tolérances plus strictes concernant le (pré-)traitement, la préparation des boîtes de gélose, l'inoculum bactérien et le donneur;
- un protocole rigoureux pour le mode opératoire d'essai.

## Introduction

Il existe de nombreux exemples de situations dans lesquelles les bactéries transportées par un liquide peuvent migrer à travers une barrière à l'état humide. La pénétration à l'état humide de la flore de la peau à travers un matériau couvrant pourrait en être un exemple (voir [Annexe E](#)).

La réglementation européenne en matière de dispositifs médicaux impute expressément au fabricant la responsabilité d'éviter les infections liées aux dispositifs. Il est nécessaire d'utiliser des méthodes d'essai internationales harmonisées et reconnues afin de démontrer la conformité à cette exigence et de décrire un produit pour l'utilisateur.

La méthode d'essai décrite dans la présente Norme internationale utilise des techniques de microbiologie et ce sont donc uniquement des laboratoires ayant l'expérience de ces travaux et l'équipement requis qui se chargent de sa mise en œuvre.

L'ISO 22610:2006 a fait l'objet d'une révision importante afin d'améliorer la fidélité de la méthode d'essai.

La principale différence entre le présent document et l'ISO 22610:2006 est que le présent document spécifie une souche d'espèce bactérienne différente et des tolérances plus strictes concernant la manipulation du matériau et le mode opératoire, se traduisant par une amélioration de la reproductibilité et de l'exactitude des mesurages.

Pour obtenir des résultats exacts, répétables et reproductibles, non seulement l'appareillage doit satisfaire aux exigences spécifiées dans le présent document, mais la manipulation du matériau et le mode opératoire d'essai doivent également être respectés avec précision et constance. De faibles écarts par rapport aux exigences relatives à l'appareillage, au mode opératoire et/ou à la manipulation de l'éprouvette peuvent entraîner une perte considérable de répétabilité, de reproductibilité et d'exactitude du mesurage.

[ISO 22610:2018](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ca1dde2-6197-4005-be3a-70beb71b9a2d/iso-22610-2018>

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

ISO 22610:2018

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ca1dde2-6197-4005-be3a-70beb71b9a2d/iso-22610-2018>

# Champs chirurgicaux, casaques et tenues de bloc, utilisés en tant que dispositifs médicaux, pour les patients, le personnel et les équipements — Méthode d'essai de résistance à la pénétration de la barrière bactérienne à l'état humide

**AVERTISSEMENT** — L'utilisation du présent document peut impliquer l'emploi de produits et la mise en œuvre de modes opératoires et d'appareillages à caractère dangereux. Le présent document n'a pas pour but d'aborder tous les problèmes de sécurité liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur du présent document d'établir, avant de l'appliquer, des pratiques d'hygiène et de sécurité appropriées et de se conformer aux exigences légales applicables.

**IMPORTANT** — La présente méthode d'essai a fait l'objet d'une importante révision technique et éditoriale. L'appareillage doit satisfaire aux exigences spécifiées dans le présent document et les mesurages doivent être effectués dans les conditions spécifiées, en portant une attention particulière au (pré-)traitement de l'éprouvette et en suivant rigoureusement le mode opératoire spécifié dans le présent document. De faibles écarts par rapport aux exigences relatives à l'appareillage, au mode opératoire et/ou à la manipulation de l'éprouvette peuvent entraîner une perte considérable de répétabilité, de reproductibilité et d'exactitude du mesurage.

## 1 Domaine d'application (standards.iteh.ai)

Le présent document spécifie une méthode d'essai, avec un appareillage d'essai associé, utilisée pour déterminer la résistance d'un matériau à la pénétration de bactéries véhiculées par un liquide, lorsque ce matériau est soumis à un frottement mécanique.

## 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 11607-1, *Emballages des dispositifs médicaux stérilisés au stade terminal — Partie 1: Exigences relatives aux matériaux, aux systèmes de barrière stérile et aux systèmes d'emballage*

ISO/IEC 17025, *Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais*

ISO 17665-1, *Stérilisation des produits de santé — Chaleur humide — Partie 1: Exigences pour le développement, la validation et le contrôle de routine d'un procédé de stérilisation des dispositifs médicaux*<sup>1)</sup>

## 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 <https://www.electropedia.org/>

1) En cours d'élaboration. Stade au moment de la publication ISO/CD 17665-1:2018.

- 3.1 matériau support**  
matériau (feuille de papier) utilisé pour supporter le donneur (film de polyuréthane) pendant la production et la préparation
- 3.2 donneur**  
matériau constitué d'un film de polyuréthane ensemencé par un nombre connu de spores viables d'une souche définie d'une bactérie d'essai
- 3.3 film de protection**  
matériau en PEHD utilisé pour recouvrir le donneur et l'éprouvette pendant l'essai
- 3.4 doigt**  
partie de l'appareillage d'essai de résistance à la pénétration de la barrière bactérienne à l'état humide, utilisée pour mettre le donneur et l'éprouvette en contact avec la surface d'une boîte de gélose
- 3.5 essai répliqué**  
évaluation complète d'une seule éprouvette, découpée dans l'échantillon (par exemple casaques, champs chirurgicaux), comprenant cinq dénombrements de boîtes de gélose directement en contact avec le donneur
- 3.6 éprouvette**  
morceau de matériau sur lequel est déterminée la résistance à la pénétration de la barrière bactérienne à l'état humide
- 3.7 matériau de référence**  
matériau normalisé destiné à évaluer la fidélité du laboratoire lors de l'essai de résistance à la pénétration de la barrière bactérienne à l'état humide
- 3.8 résistance à la pénétration de la barrière bactérienne à l'état humide**  
résistance d'un matériau barrière à la pénétration de bactéries, véhiculées par un donneur, lorsqu'il est soumis à un frottement mécanique et à une humidification
- 3.9 contamination bactérienne**  
nombre de spores par millilitre de suspension de *Bacillus atrophaeus* utilisée pour l'ensemencement du matériau donneur
- 3.10 inoculum bactérien**  
suspension de *Bacillus atrophaeus* avec une concentration vérifiée

Note 1 à l'article: La concentration est comprise entre  $5,0 \times 10^3$  et  $1,5 \times 10^4$  spores/ml.

## 4 Principe

Une feuille du matériau donneur, de mêmes dimensions que l'éprouvette et porteuse des bactéries, est placée sur l'éprouvette, face contaminée vers le bas, puis recouverte d'une feuille du film de protection en PEHD. Deux anneaux métalliques coniques, s'adaptant étroitement l'un dans l'autre, maintiennent les trois feuilles ensemble. L'assemblage des matériaux est placé sur une boîte de gélose, les anneaux métalliques pendant librement à l'extérieur du bord, en exerçant une force de traction. Un doigt résistant à l'abrasion est placé sur le dessus des matériaux en exerçant une force spécifiée et met l'éprouvette en contact avec la surface de la gélose. Le doigt est déplacé sur toute la surface de la boîte en moins de



15 min à l'aide d'un levier pivotant déplacé par une came excentrique. L'assemblage des matériaux, étiré par la masse des anneaux métalliques, garantit que seule une petite surface de l'éprouvette est mise à tout moment en contact avec la surface de la gélose. L'effet combiné du frottement et de la migration de liquide de la surface de la gélose permet aux bactéries de passer du matériau donneur à la surface de la gélose en traversant l'éprouvette.

L'essai est réalisé pendant 15 min. Au terme des 15 min, la boîte de gélose est remplacée et l'essai répété avec le même assemblage, c'est-à-dire le même donneur et la même éprouvette. Cinq essais consécutifs sont réalisés avec le même assemblage, permettant ainsi d'avoir une estimation de la pénétration en fonction du temps.

Une estimation de la contamination bactérienne sur la partie supérieure de l'éprouvette et de la charge bactérienne résiduelle sur le matériau donneur peut être déterminée en employant la même technique.

Les boîtes de gélose sont incubées pour faire développer les colonies bactériennes qui sont ensuite dénombrées.

Les résultats sont exprimés en pourcentage (%) de pénétration par rapport à la charge bactérienne initialement inoculée sur le donneur.

Si le matériau soumis à essai contient une substance antimicrobienne, il convient de l'inactiver avant l'essai. S'il n'est pas possible d'inactiver la substance antimicrobienne ou si l'on suppose que le matériau contient une substance antimicrobienne, il convient de déterminer, en plus, l'activité antibactérienne résiduelle. Il convient que les informations concernant tout traitement antimicrobien, les résultats de l'essai de pénétration et de l'essai supplémentaire soient consignés dans le rapport.

iTeh STANDARD PREVIEW

## 5 Appareillage, réactifs et matériaux (standards.iteh.ai)

Un appareillage, des réactifs et des matériaux courants de laboratoire, ainsi que les suivants, doivent être utilisés.

ISO 22610:2018

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ca1dde2-6197-4005-be3a->

Les réactifs doivent être de qualité analytique et/ou convenir pour les techniques de microbiologie.

Les équipements/matériaux à usage unique constituent une alternative acceptable au matériel en verre et en plastique réutilisable, s'ils ont des spécifications appropriées.

### 5.1 Poste de sécurité microbiologique de classe II.

5.2 **Incubateurs**, permettant de maintenir la température à  $(56 \pm 2)$  °C et  $(37 \pm 2)$  °C.

5.3 **Réfrigérateur**, permettant de maintenir la température à  $(5 \pm 3)$  °C.

5.4 **Bain-marie**, permettant de maintenir la température à  $(45 \pm 2)$  °C.

5.5 **Suspension de souche bactérienne**, spores purifiées de *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372 en suspension dans de l'éthanol à 90 % à une concentration d'environ  $10^9$  spores/ml<sup>2)</sup>. Il est possible d'utiliser d'autres titres, mais la concentration maximale en éthanol après dilution doit être inférieure à 0,02 %.

5.6 **Eau purifiée**, 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 bactéries.

2) Il est possible de se procurer la suspension de spores dans de l'alcool auprès de SIMICON GmbH – Munich. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO recommande l'emploi exclusif de ce produit.

**5.7 Eau peptonée**, 10 g de peptone, 5 g de NaCl et 1 g de Polysorbate 80 dans de l'eau purifiée, complétée à 1 000 ml, stérilisée à la vapeur d'eau pendant 15 min à une température d'autoclave de  $(121 \text{ }^{+3}_0)$  °C.

**5.8 Gélose TGE (TGEA)**, 3 g d'extrait de bœuf, 5 g de tryptone, 1 g de dextrose, 15 g de gélose dans de l'eau purifiée, complétée à 1 000 ml, stérilisée à la vapeur d'eau pendant 15 min à  $(121 \text{ }^{+3}_0)$  °C (voir [Annexe A](#)).

**5.9 Boîtes de Petri**, stériles, de 14 cm et 9 cm de diamètre, avec couvercle.

**5.10 Matériau donneur**, cinq morceaux de ~25 cm × 25 cm de film de polyuréthane (PU) sur un support en papier siliconé, épaisseur du film 25 µm à 30 µm, chaque morceau étant emballé dans un sachet de stérilisation et stérilisé à la vapeur d'eau à  $(121 \text{ }^{+3}_0)$  °C pendant 15 min<sup>3)</sup>.

NOTE Recommandations pour sélectionner un matériau donneur approprié: film de polyuréthane (PU) produit par coulée dans un solvant, mouillable, de 25 µm à 30 µm maximum d'épaisseur, reposant sur du papier siliconé. Le matériau a une masse volumique de 1,12 g/cm<sup>3</sup> (selon l'ISO 1183-1, Méthode A), une dureté (Shore A) de 87 ± 1 (selon l'ISO 7619-1), un point de fusion compris entre 160 °C et 175 °C (selon Kofler), une résistance au déchirement de (40 ± 10) MPa (mesurée sur des films de 50 µm d'épaisseur, mesurage selon l'ISO 527-1 et l'ISO 527-3) et un allongement à la rupture de 500 ± 125 % (mesuré sur des films de 50 µm d'épaisseur, mesurage selon l'ISO 527-1 et l'ISO 527-3).

**5.11 Film couvrant**, cinq morceaux de film de polyéthylène haute densité (PEHD) de ~25 cm × 25 cm ou de ~25 cm de diamètre, de  $(12 \pm 2)$  µm d'épaisseur, de  $(0,95 \pm 0,095)$  g/cm<sup>3</sup> de masse volumique<sup>4)</sup>.

NOTE Un ou deux morceaux supplémentaires sont nécessaires si les essais sont également effectués pour obtenir une estimation de la contamination bactérienne sur la partie supérieure de l'éprouvette et/ou de la charge bactérienne résiduelle sur le donneur (voir [Article 7](#), [Annexe D](#)).

**5.12 Matériau de référence**, «Matériau de référence 400.1.0.6-ISO-22610»<sup>5)</sup>. [http://www.iso.org/iso/iso\\_catalogue/catalogue\\_tc/catalogue\\_detail.htm?csnumber=70beb71b9a2d/iso-22610-2018](http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=70beb71b9a2d/iso-22610-2018)

- Construction: armure toile en polyester (PES);
- Poids du tissu: (110 à 120) g/m<sup>2</sup>;
- Finition: aucun traitement chimique;
- Teinture: non teint;
- Perméabilité à l'air: ~10 mm/s selon l'ISO 9237:1995 à 0,1 KPa;
- Résistivité de surface: 1 011 Ω au maximum selon l'DIN 54345-1:1992;
- Stérilisable à la vapeur d'eau.

3) Un matériau donneur approprié est disponible auprès de Gerlinger Industries GmbH, Schwarzhammermühle, D-08491 Netzschkau, Allemagne (référence : 4220M ou 4220). Le matériau peut être également commandé chez Schuett-biotec GmbH, Rudolf-Wissell-Str. 13, D-37079 Göttingen, en tant que partie d'un kit d'essai. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO recommande l'emploi exclusif de ce produit.

4) Un film couvrant approprié est disponible auprès de, par exemple, Mo Industri AB, Stråkenvägen 3, SE-56576 Bottnaryd, Suède (référence : 1623-001). Le matériau peut être également commandé chez Schuett-biotec GmbH, Rudolf-Wissell-Str. 13, D-37079 Göttingen, en tant que partie d'un kit d'essai. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO recommande l'emploi exclusif de ce produit.

5) Disponible auprès de Rotecno AG, Via Vite 3, CH-6855 Stabio, Suisse. Le matériau peut être également commandé chez Schuett-biotec GmbH, Rudolf-Wissell-Str. 13, D-37079 Göttingen. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO recommande l'emploi exclusif de ce produit.

Un autre matériau de référence approprié peut également être utilisé s'il est prouvé que la WBP se situe dans la même plage et si la fidélité de la méthode d'essai, en utilisant ce matériau, est au moins égale ou supérieure à celle obtenue avec le matériau de référence spécifié dans le présent document.

**5.13 Pipettes**, 1 ml et 10 ml.

**5.14 Micropipettes**, 1 000 µl et 100 µl, munies d'embouts stériles appropriés.

**5.15 Tubes de dilution stériles**, 10 ml.

**5.16 Râteau**, en forme de L ou de triangle avec un côté horizontal de 3 cm.

**5.17 Éprouvettes**, cinq morceaux du matériau barrière à soumettre à l'essai, de ~25 cm × 25 cm ou d'environ 25 cm de diamètre.

## 6 Appareillage et accessoires d'essai

**6.1 Appareillage**, tel que représenté à l'[Annexe B](#)<sup>6)</sup>.

L'appareillage d'essai est représenté schématiquement à la [Figure B.1](#). L'appareillage se compose d'un plateau tournant électrique, régulé par une minuterie, pouvant contenir une boîte de gélose de 14 cm de diamètre. Un levier horizontal muni d'un doigt vertical en acier à son extrémité est fixé sur un pivot, ce qui permet un mouvement latéral du doigt du centre vers la périphérie de la boîte de gélose en rotation ( $60 \pm 1$ ) r/min et inversement. Un poids peut être glissé le long du levier afin de régler la force exercée par le doigt sur l'assemblage de matériaux. Le déplacement du levier est guidé par une came excentrique en rotation à ( $5,6 \pm 0,1$ ) r/min. Le doigt en acier, ayant une extrémité semi-sphérique polie de 11 mm de rayon, est amovible et doit être désinfecté entre les essais.

NOTE L'extrémité du doigt en acier peut s'aplatir du fait de l'abrasion. L'extrémité du doigt en acier doit être contrôlée régulièrement pour vérifier si elle n'est pas aplatie et pour remplacer le doigt si nécessaire.

La force exercée par le doigt sur les matériaux doit être de ( $3,00 \pm 0,05$ ) N; elle est mesurée à l'aide d'un dynamomètre fixé sur le levier ou d'une balance posée sur le plateau tournant et, si nécessaire, ajustée à l'aide du poids pouvant glisser (voir [Annexe B](#)).

À tout moment donné, le matériau soumis à essai doit uniquement être en contact avec la gélose en un seul point. Afin de garantir que le doigt se déplace sur toute la surface, il doit être régulièrement contrôlé selon la méthode décrite dans l'[Annexe C](#). Un enregistrement qualité doit être conservé.

**6.2 Objet cylindrique**, en acier inoxydable, ou en tout autre matériau approprié pour la stérilisation, d'environ 9 cm de diamètre et de 4 cm de hauteur.

**6.3 Anneaux métalliques coniques**, de ( $800 \pm 1$ ) g au total, pour la fixation de l'assemblage de matériaux (voir [Annexe B](#)).

**6.4 Dynamomètre** permettant de mesurer une force de ( $3,00 \pm 0,05$ ) N.

6) Disponible auprès de Schuett-biotec GmbH, Rudolf-Wissell-Str. 13, D-37079 Göttingen, Allemagne. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO recommande l'emploi exclusif de ce produit.

## 7 Préparation des boîtes de gélose

Des boîtes de Petri standard, de 9 cm de diamètre, sont utilisées pour la détermination de la contamination bactérienne sur le donneur (voir 9.7), le contrôle de la concentration de l'inoculum (voir Article 8) et les contrôles environnementaux (voir 9.7).

Préparer les boîtes de gélose suivantes pour une éprouvette:

- 5 boîtes de Petri, de 14 cm de diamètre, par essai (voir 9.2);
- 1 boîte de Petri, de 14 cm de diamètre, pour le mesurage de la distance entre la gélose et le bord (voir 9.2.2).

Les boîtes de gélose de 14 cm de diamètre doivent être préparées sur une surface horizontale et remplies de gélose TGE, préparée selon l'Annexe A, jusqu'à  $(3,0 \pm 0,5)$  mm du bord en utilisant le mode opératoire suivant.

NOTE 1 Pour les boîtes de 9 cm de diamètre, il n'est pas nécessaire que la distance entre la gélose et le bord soit de  $(3,0 \pm 0,5)$  mm. Un volume normalisé de TGEA peut être utilisé.

NOTE 2 Si plusieurs essais sont effectués au cours d'un cycle, le contrôle de la concentration de l'inoculum et le mesurage de la distance entre la gélose et le bord ne sont effectués qu'une seule fois et le nombre de boîtes de Petri peut donc être diminué en conséquence.

La hauteur des boîtes de Petri peut varier d'un fournisseur à l'autre et/ou d'un lot à l'autre. Le volume, ou la masse, de gélose obtenu(e) dans chaque boîte remplie à la bonne distance du bord doit préalablement être déterminé(e) en mesurant la hauteur et le diamètre.

Verser la quantité déterminée de gélose TGE dans un flacon en verre approprié et stériliser à  $(121 \pm 3_0)$  °C pendant 15 min. Des méthodes volumétriques ou gravimétriques doivent être employées pour verser la gélose dans les boîtes de Petri.

Les flacons contenant la gélose TGE peuvent être conservés au réfrigérateur à  $(5 \pm 3)$  °C pendant une période maximale de 3 mois; toutefois, il est préférable d'utiliser de la gélose fraîchement préparée.

Si une gélose TGE non fraîchement préparée est utilisée, la gélose TGE est reliquéfiée en réchauffant les flacons dans de l'eau bouillante, dans un four à micro-ondes ou par un autre moyen approprié. Éviter toute surchauffe et retirer directement lorsque le milieu est liquéfié.

Refroidir ensuite la gélose TGE liquide à environ 45 °C et la verser dans les boîtes de Petri; veiller à éviter les bulles d'air et les irrégularités à la surface. La surface de la gélose solidifiée doit être aussi plane que possible. En cas de litige, de la gélose fraîchement préparée doit être utilisée.

On laisse ensuite sécher chaque boîte, sans son couvercle, à température ambiante dans un poste de sécurité microbiologique de classe II pendant 20 min. Aucun fluide visible (condensat) ne doit être présent à la surface de la gélose. Les boîtes sont fermées et conservées dans le poste de sécurité microbiologique ou dans un sachet en plastique aseptique fermé, et utilisées dans les  $(24 \pm 4)$  h qui suivent.

## 8 Inoculum bactérien

L'inoculum est préparé selon le mode opératoire suivant:

- la veille de l'essai, 1 ml de la suspension mère contenant  $10^9$  spores/ml de *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372, conservée au réfrigérateur, est dilué avec 9 ml d'éthanol à 96 %. Cette suspension diluée au 10<sup>ème</sup> est conservée au réfrigérateur jusqu'au lendemain. Sa concentration est contrôlée en effectuant un comptage des bactéries viables par des techniques de microbiologie normalisées, c'est-à-dire une dilution en série de la suspension dans de l'eau peptonée et l'étalement de 100 µl sur des boîtes de TGEA de 9 cm de diamètre;
- incuber les boîtes à  $(37 \pm 2)$  °C pendant 16 h à 24 h. Les colonies sur la boîte ne doivent pas confluer;