



**Norme
internationale**

ISO 16187

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

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

**Deuxième édition
2025-02**

ISO Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 16187:2025](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/0f732e3b-a94a-4e3a-93e6-cd86d67d33d9/iso-16187-2025)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/0f732e3b-a94a-4e3a-93e6-cd86d67d33d9/iso-16187-2025>

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 16187:2025](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/0f732e3b-a94a-4e3a-93e6-cd86d67d33d9/iso-16187-2025)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/0f732e3b-a94a-4e3a-93e6-cd86d67d33d9/iso-16187-2025>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2025

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
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 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 Bouillon nutritif (NB).....	3
7.3.1 Composition.....	3
7.3.2 Préparation.....	3
7.4 Gélose nutritive (NA).....	4
7.4.1 Composition.....	4
7.4.2 Préparation.....	4
7.5 Bouillon tryptone soja (TSB).....	4
7.5.1 Composition.....	4
7.5.2 Préparation.....	4
7.6 Gélose tryptone soja (TSA).....	5
7.6.1 Composition.....	5
7.6.2 Préparation.....	5
7.7 Bouillon d'hydrolysats de caséine et de soja avec lécithine et polyoxyéthylène (SCDLP).....	5
7.7.1 Composition.....	5
7.7.2 Préparation.....	5
7.8 Solution de chlorure de sodium (sérum physiologique).....	6
7.8.1 Composition.....	6
7.8.2 Préparation.....	6
8 Micro-organismes d'essai	6
8.1 Souches d'essai.....	6
8.2 Conservation des souches.....	6
9 Préparation des inoculums d'essai	6
10 Préparation des échantillons pour essai	7
10.1 Généralités.....	7
10.2 Éprouvette.....	7
10.3 Prétraitement de l'éprouvette.....	7
11 Mode opératoire d'essai	7
12 Expression des résultats	8
12.1 Calcul du nombre de bactéries viables.....	8
12.2 Évaluation de l'efficacité de l'essai.....	8
12.3 Calcul du taux d'activité antibactérienne.....	9
13 Rapport d'essai	9
Annexe A (normative) Test d'épreuve statique	11
Annexe B (normative) Méthode du film de contact	12
Annexe C (normative) Test d'épreuve dynamique	14
Bibliographie	15

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'ISO attire l'attention sur le fait que la mise en application du présent document peut entraîner l'utilisation d'un ou de plusieurs brevets. L'ISO ne prend pas position quant à la preuve, à la validité et à l'applicabilité de tout droit de brevet revendiqué à cet égard. À la date de publication du présent document, l'ISO n'avait pas reçu notification qu'un ou plusieurs brevets pouvaient être nécessaires à sa mise en application. Toutefois, il y a lieu d'avertir les responsables de la mise en application du présent document que des informations plus récentes sont susceptibles de figurer dans la base de données de brevets, disponible à l'adresse www.iso.org/brevets. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié tout ou partie de tels droits de brevet.

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 www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 216, *Chaussure*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 309, *Chaussure*, du Comité européen de normalisation (CEN), conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 16187:2013), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications sont les suivantes:

- ajout d'un nouveau terme, «neutralisant», et de sa définition;
- ajout d'un nouvel [Article 4](#);
- remplacement de la référence AS par la référence CGMCC;
- ajout de l'intensité lumineuse d'une lampe à rayons UV;
- révision et mise à jour des références normatives et de la bibliographie;
- ajout d'autres milieux de culture, la gélose tryptone soja (TSA) et le bouillon tryptone soja (TSB), à utiliser en cas d'indisponibilité de la gélose nutritive (NA) et du bouillon nutritif (NB);
- suppression de l'Annexe D.

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.

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

ATTENTION — 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.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie des méthodes d'essai quantitatives permettant d'évaluer l'activité antibactérienne de chaussures et de leurs composants.

Le présent document s'applique à tous les types de chaussures et de composants de chaussure faisant l'objet de traitements antibactériens non migrants.

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 7218, *Microbiologie de la chaîne alimentaire — Exigences générales et recommandations pour les examens microbiologiques*

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

3.1 activité antibactérienne

efficacité d'un matériau ou d'un apprêt dont l'utilisation vise à empêcher ou à atténuer 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

3.3 neutralisant

agent chimique servant à désactiver, neutraliser ou stopper les propriétés antibactériennes des agents antibactériens

4 Principe

Les éprouvettes et les éprouvettes témoins sont ensemencées avec une suspension bactérienne d'une souche d'essai choisie, spécifiée ou revendiquée dans des essais indépendants, contenant un organisme bactérien d'essai gram-positif et un organisme bactérien d'essai gram-négatif.

Il existe trois méthodes d'essai pour évaluer l'activité antibactérienne dans le cadre d'un mode opératoire de test d'épreuve dans des conditions statiques ou dynamiques.

Les performances antibactériennes sont déterminées quantitativement en dénombrant les cellules viables et en calculant le taux d'activité antibactérienne.

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 reporter aux codes de bonnes pratiques d'hygiène personnelle, de désinfection et de stérilisation du pays concerné.

Il convient que les personnes effectuant l'essai consultent l'Annexe A de l'IEC 60068-2-10:2005/AMD1:2018 ainsi que l'ISO 7218.

6 Appareillage

Un appareillage jetable répondant aux spécifications appropriées est une alternative acceptable à la verrerie et au plastique réutilisables.

L'appareillage comprend du matériel courant de laboratoire microbiologique conforme à l'ISO 7218 et, en particulier, ce qui suit.

6.1 Poste de sécurité biologique.

6.2 Incubateur, permettant de maintenir une température de (37 ± 2) °C.

6.3 Autoclave de stérilisation à la vapeur, permettant de maintenir une température de (121 ± 2) °C et une pression de (103 ± 5) kPa, à utiliser conformément à l'ISO 7218.

6.4 Chambre en atmosphère humide, permettant de maintenir une température de (37 ± 2) °C et une humidité relative de (85 ± 5) %.

6.5 Lampe à rayons ultraviolets, pouvant émettre une intensité lumineuse de $100\,000 \mu\text{Ws}/\text{cm}^2$.

6.6 Récipients à large ouverture, d'une contenance de 100 ml, munis d'un bouchon, pouvant être utilisés en autoclave (6.3).

6.7 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 convient d'utiliser un film d'épaisseur comprise entre 0,05 mm et 0,10 mm. Utiliser, par exemple, des sachets jetables adaptés à un usage en autoclave (6.3).

6.8 Agitateur vortex.

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

6.10 Bain-marie à agitation pour cultures, permettant de maintenir une température de (37 ± 2) °C et une fréquence de rotation de (120 ± 10) r/min.

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.

Cette préparation peut être effectuée conformément à l'ISO 11133 ou à des normes nationales si aucune réglementation nationale ne s'applique.

Il est possible d'utiliser des produits déshydratés disponibles dans le commerce pour préparer les milieux de culture. Il convient que les instructions d'utilisation du fabricant relatives à la préparation de ces produits soient strictement suivies.

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

7.2 Eau

L'eau utilisée dans les essais doit être exempte de toute substance toxique ou inhibitrice de micro-organismes et doit être de qualité analytique pour la préparation des milieux microbiologiques; cette eau est fraîchement distillée et/ou permutée et/ou ultrafiltrée et/ou filtrée par osmose inverse.

NOTE L'eau de qualité 3 selon l'ISO 3696 peut être utilisée.

7.3 Bouillon nutritif (NB)

7.3.1 Composition

Extrait de bœuf	ISO 16187 3,0 g
Peptone	5,0 g
Chlorure de sodium, NaCl	5,0 g
Eau	1 000 ml

7.3.2 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 à ébullition jusqu'à dissolution complète des composants. Stériliser à l'autoclave (6.3) à (121 ± 2) °C pendant 15 min.

7.4 Gélose nutritive (NA)

7.4.1 Composition

Extrait de bœuf	5,0 g
Peptone	10,0 g
Chlorure de sodium, NaCl	5,0 g
Gélose	15,0 g
Eau	1 000 ml

NOTE En cas de solidification insuffisante, il est possible d'utiliser 15 g à 18 g de gélose.

7.4.2 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 à ébullition jusqu'à dissolution complète des composants. Stériliser à l'autoclave (6.3) à (121 ± 2) °C pendant 15 min. Faire refroidir, bien agiter la solution et la verser dans les boîtes de Petri.

7.5 Bouillon tryptone soja (TSB)

7.5.1 Composition

Tryptone, hydrolysate pancréatique de caséine	17,0 g
Peptone de soja, hydrolysate papainique de soja	3,0 g
Chlorure de sodium, NaCl	5,0 g
Glucose	2,5 g
Hydrogénophosphate dipotassique, K_2HPO_4	2,5 g
Eau	1 000 ml

7.5.2 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 à ébullition jusqu'à dissolution complète des composants. Stériliser à l'autoclave (6.3) à (121 ± 2) °C pendant 15 min.

NOTE En cas d'indisponibilité du NB, le TSB peut être choisi comme milieu de culture.

7.6 Gélose tryptone soja (TSA)

7.6.1 Composition

Tryptone, hydrolysats pancréatique de caséine	15,0 g
Peptone de soja, hydrolysats papainique de soja	5,0 g
Chlorure de sodium, NaCl	5,0 g
Gélose	15,0 g
Eau	1 000 ml

7.6.2 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 à ébullition jusqu'à dissolution complète des composants. Stériliser à l'autoclave (6.3) à (121 ± 2) °C pendant 15 min. Faire refroidir, bien agiter la solution et la verser dans les boîtes de Petri.

NOTE En cas d'indisponibilité de la NA, la TSA peut être choisie comme milieu de culture.

7.7 Bouillon d'hydrolysats de caséine et de soja avec lécithine et polyoxyéthylène (SCDLP)

7.7.1 Composition

Peptone, hydrolysats de caséine	17,0 g
Peptone, hydrolysats de soja	3,0 g
Chlorure de sodium, NaCl	5,0 g
Dihydrogénophosphate de potassium, KH_2PO_4	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 admis d'ajuster la teneur en polysorbate 80 ou en lécithine, ou d'ajouter un autre agent 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.

7.7.2 Préparation

Après avoir bien mélangé les composants, ajuster le pH à $(7,2 \pm 0,2)$ (à température ambiante) et stériliser à l'autoclave (6.3) à (121 ± 2) °C pendant 15 min.

7.8 Solution de chlorure de sodium (sérum physiologique)

7.8.1 Composition

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

7.8.2 Préparation

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

8 Micro-organismes d'essai

8.1 Souches d'essai

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

- Staphylococcus aureus* CGMCC¹⁾ 1.89, ATCC® 6538^{TM2)} ou WDCM 00032.
- Klebsiella pneumoniae* CGMCC 1.1736, ATCC® 4352^{TM2)} ou WDCM 00192.

Si nécessaire, d'autres souches ou d'autres espèces peuvent être utilisées. Néanmoins, parmi les micro-organismes choisis, il doit y en avoir 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 souches bactériennes et leur provenance doivent être consignées dans le rapport d'essai.

8.2 Conservation des souches

Ensemencer les souches dans la gélose nutritive (NA) (7.4) ou dans la gélose tryptone soja (TSA) (7.6) et incubé à (37 ± 2) °C pendant 24 h. Conserver à (5 ± 3) °C (pendant un mois maximum) et garder en tant que culture mère des souches. Transférer et incubé une fois par mois.

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

9 Préparation des inoculum d'essai

À l'aide d'une anse d'ensemencement stérile, transférer une colonie (8.2) dans 20 ml de bouillon nutritif (NB) (7.3) ou de bouillon tryptone soja (TSB) (7.5) et incubé dans le bain-marie à agitation pour cultures (6.10) à (37 ± 2) °C pendant environ 16 h (culture nocturne). Estimer le nombre de bactéries par observation au microscope ou par d'autres méthodes. Préparer une solution de sérum physiologique (7.8) avec du bouillon nutritif (NB) (7.3) ou du bouillon tryptone soja (TSB) (7.5) à 1 %. Utiliser ce milieu pour préparer une suspension ayant une concentration en bactéries comprise entre $2,5 \times 10^5$ UFC/ml et 10×10^5 UFC/ml comme inoculum d'essai.

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

1) Le sigle CGMCC correspond au China General Microbiological Culture Collection Centre, le sigle ATCC® à l'American Type Culture Collection, et le sigle WDCM au World Data Centre for Microorganisms (se reporter au WDCM et à son site Web: <http://refs.wdcm.org>).

2) Les références ATCC® 6538TM et ATCC® 4352TM sont des exemples de produits appropriés disponibles sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi des produits ainsi désignés.