

Sainghin en Mélançois, le 22 mars 2023

*Sainghin en Mélançois, on the March 22<sup>th</sup> 2023*

Rapport d'essai : N° A 23 84 17126

*Test report : N° A 23 84 17126*

## 1. Objet de la demande (Study Number) n° 41807

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité sporicide vis-à-vis de *Clostridioides difficile* R027 de la formule **913019** dans le domaine médical. Méthode d'essai et exigences (phase 2 - étape 1) NF EN 17126 (décembre 2018). Application aux désinfectants chimiques pour la désinfection des surfaces.

Indice de classement T 72-208.

Méthode par dilution neutralisation.

*Chemical antiseptics and disinfectants. Quantitative suspension test for the evaluation of the sporicidal activity against Clostridioides difficile R027 of the formula 913019 in the medical area. Test method and requirements (phase 2 - step 1) according to NF EN 17126 (December 2018). Application to chemical disinfectants.*

Classification index T 72-208.

*Method by dilution neutralisation.*

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci-après) soumis à l'essai tel qu'il a été reçu.  
Les informations relatives à l'identification de l'échantillon et à ses caractéristiques sont de la responsabilité du client

*This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval, as it has been received.  
The Information relating to the identification of the sample and its characteristics are the responsibility of the customer*

Ce document comporte 11 pages numérotées dont 1 annexe de 4 pages

*This report is made of 11 numbered pages including 1 annex of 4 pages.*

La reproduction de ce rapport d'essai n'est autorisée que sous la forme de fac- similé photographique intégral. Seule la version française et électronique fait foi.

*The reproduction of this trial report is authorized only under the shape of complete photographic reproduction  
Only the French and electronic version is valid.*

\* Les données fournies par le client sont identifiées par un astérisque.

*\* Data provided by the customer are identified with an asterisk.*

### Laboratoires ANIOS SAS

Adresse : 1 rue de l'espoir – 59260 Lezennes  
Tél. +33 3 20 67 67 67 – Fax : + 33 3 20 67 67 68  
SIREN : 823 326 061 – SIRET : 823 326 061 00046  
TVA : FR71823326061 – Capital Social : 656 204 591 euros

Version J du 29/08/2022

## 2. Sommaire (*Summary*)

1.	Objet de la demande ( <i>Study Number</i> ) n° 41882	1
2.	Sommaire ( <i>Summary</i> )	2
3.	Introduction ( <i>Introduction</i> )	3
4.	Identification de l'échantillon ( <i>Sample Identification</i> )	3
5.	Méthode expérimentale ( <i>Experimental Method</i> )	4
5.1.	Conditions expérimentales ( <i>Experimental conditions</i> )	4
5.2.	Méthode par dilution neutralisation ( <i>Method by dilution neutralisation</i> )	4
6.	Résultats ( <i>Results</i> )	5
6.1.	Essais de validation des conditions expérimentales ( <i>Validation tests</i> )	5
6.2.	Essais d'activité sporicide ( <i>Evaluation of sporicidal activity</i> )	6
7.	Conclusion ( <i>Conclusion</i> )	6
8.	Annexe - Données expérimentales ( <i>Experimental Data</i> )	7

### 3. Introduction (*Introduction*)

L'essai a été réalisé selon la méthode d'essai décrite dans la norme européenne NF EN 17126 « Désinfectants chimiques et antiseptiques- Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité sporicide dans le domaine médical (phase 2 /Etape 1) » .

Détermination de l'activité sporicide dans les conditions de laboratoire définies par la présente norme européenne .

*The test was realised according to the test method described in the European standard NF EN 17126 « Chemical disinfectants and antiseptics- Quantitative suspension test for the evaluation of sporicidal activity in the medical area».*

*Determination of the sporicidal activity in the laboratory conditions defined in the present European standard .*

### 4. Identification de l'échantillon (*Sample Identification*)

Code formule*	<b>913019</b>
<i>Code formula*</i>	
Numéro d'identification de l'échantillon	<b>3029 22 09 17126</b>
<i>Identification of the sample</i>	
Numéro de lot*	<b>1081FM0615</b>
<i>Batch number*</i>	
Nom du client*	<b>Chloé GUY</b>
<i>Customer's name*</i>	
Fabricant*	<b>Ecolab Deutschland GmbH</b>
<i>Manufacturer*</i>	
Date de réception au laboratoire	Le 28/06/2022
<i>Receipt date at the laboratory</i>	<i>On the 28/06/2022</i>
Description de l'échantillon*	Poudre blanche
<i>Description of the sample*</i>	<i>White powder</i>
Conditions de stockage au laboratoire*	T° ambiante et obscurité
<i>Storage conditions at the laboratory*</i>	<i>Room temperature and darkness</i>
Substances actives*	in 2% dilution: Peracetic acid ( CAS 79-21-0 )
<i>Activ substances*</i>	≥ 1000 ppm
Période d'essai	Du 22/09/2022 au 27/09/2022
<i>Period of analysis</i>	<i>From 22/09/2022 to 27/09/2022</i>

## 5. Méthode expérimentale (*Experimental Method*)

### 5.1. Conditions expérimentales (*Experimental conditions*)

Température de l'essai	20°C ± 1°C
<i>Test temperature</i>	
Temps de contact	15 minutes ± 10s
<i>Contact Time</i>	
Diluant de la formule lors des essais*	Eau dure
<i>Diluent of the formula used during the test*</i>	<i>Hard water</i>
Apparence de la formule et de ses dilutions	Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai
<i>Appearance formula and dilutions</i>	<i>Preparation physically homogeneous and stable during test</i>
pH des concentrations	0,01% : 7,40 / 1% : 7,60 / 2% : 7,60
<i>pH of concentrations</i>	
Souche testée	○ <i>Clostridioides difficile</i> R027 DSM 27147
<i>Tested strain</i>	
Date de collecte des spores	18/07/2022
<i>Date of spores collecting</i>	
Substance interférente	Albumine bovine à 3g/l + 3ml/l érythrocytes
<i>Interfering substance</i>	3 g/l BSA + 3ml/l erythrocytes
Stabilité du mélange formule et substances interférentes	Absence de précipité pendant l'essai
<i>Stability of the mixture formula and interfering substance</i>	<i>Precipitate absent throughout the test</i>
Température d'incubation	37°C ± 1°C
<i>Incubation temperature</i>	37°C ± 1°C

### 5.2. Méthode par dilution neutralisation (*Method by dilution neutralisation*)

Nature du neutralisant utilisé	○ Formule : F002
<i>Nature of the neutralizer agent used</i>	○ <i>Formula : F002</i>
Neutralisant ajouté au milieu de dénombrement	10%
<i>Neutralizer agent added to the counting medium</i>	10%

## 6. Résultats (Results)

### 6.1. Essais de validation des conditions expérimentales (Validation tests)

Vérification de la méthodologie et validation de la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **2%** de la formule **913019** soumise à l'essai.

*Checking of the method and validation of the method by dilution neutralisation for the **2%** test concentration of the formula **913019** to be tested.*

	Nombre de cellules viables (UFC/ml) (Number of viable cells(CFU/ml))							
Souche testée	Suspension d'essai	Suspension d'essai / 10	Suspension de validation	Suspension de validation / 10	Suspension de validation B	Validation conditions expérimentales	Non toxicité du neutralisant	Inactivation par dilution neutralisation
<i>Tested strain</i>	<i>Test suspension</i>	<i>Test suspension / 10</i>	<i>Validation suspension</i>	<i>Validation suspension / 10</i>	<i>Validation suspension B</i>	<i>Experimental conditions control</i>	<i>Neutralizer toxicity control</i>	<i>Dilution neutralization control</i>
	N	N <sub>0</sub>	N <sub>v</sub>	N <sub>v0</sub>	N <sub>vB</sub>	A	B	C
<b>Clostridioides difficile R027</b>	1,55.10 <sup>7</sup>	1,55.10 <sup>6</sup>	4,00.10 <sup>2</sup>	4,00.10 <sup>1</sup>	3,65.10 <sup>4</sup>	4,60.10 <sup>1</sup>	3,15.10 <sup>1</sup>	4,25.10 <sup>1</sup>

Pour la souche soumise à l'essai - *For the tested strain.*

N est compris entre 1,5 x 10<sup>7</sup> UFC/ml et 5 x 10<sup>7</sup> UFC/ml  
*is comprised between 1.5 x 10<sup>7</sup> CFU/ml and 5 x 10<sup>7</sup> CFU/ml*

N<sub>0</sub> est compris entre 1,5 x 10<sup>6</sup> UFC/ml et 5 x 10<sup>6</sup> UFC/ml  
*is comprised between 1.5 x 10<sup>6</sup> CFU/ml and 5 x 10<sup>6</sup> CFU/ml*

N<sub>v</sub> est compris entre 3 x 10<sup>2</sup> UFC/ml et 1.6 x 10<sup>3</sup> UFC/ml  
*is comprised between 3 x 10<sup>2</sup> CFU/ml and 1.6 x 10<sup>3</sup> CFU/ml*

N<sub>v0</sub> est compris entre 3 x 10<sup>1</sup> UFC/ml et 1.6 x 10<sup>2</sup> UFC/ml  
*is comprised between 3 x 10<sup>1</sup> CFU/ml and 1.6 x 10<sup>2</sup> CFU/ml*

N<sub>vB</sub> est compris entre 3 x 10<sup>4</sup> UFC/ml et 1.6 x 10<sup>5</sup> UFC/ml  
*is comprised between 3 x 10<sup>4</sup> CFU/ml and 1.6 x 10<sup>5</sup> CFU/ml*

B est supérieur ou égal à 0,0005 x N<sub>vB</sub>  
*is higher or equal to 0,0005 x N<sub>vB</sub>*

A,C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x N<sub>v0</sub>  
*are higher or equal to 0.5 x N<sub>v0</sub>*

La neutralisation est validée avec la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **2%** de la formule **913019** et pour la souche soumise à l'essai.

*The neutralization is validated with the method by dilution neutralisation for the **2%** test concentration of the formula **913019** and for the tested strain.*

## 6.2. Essais d'activité sporicide (*Evaluation of sporicidal activity*)

Souche testée	Nombre de cellules viables (UFC/ml) pour le mélange d'essai (Na) pour les concentrations de : %(v/v)		
Tested strain	Number of the viable cells (CFU/ml) for the test mixture (Na) for the concentrations of : %(v/v)		
	0,01	1	2
<b>Clostridioides difficile R027</b>	$>3,30.10^4$	$8,00.10^1$	$<1,00.10^1$

	Réduction du nombre de cellule viables à la concentration d'essai. $R = \text{Log } N_0 - \text{Log } N_a$		
	Reduction of the number of viable cells at the test concentration. $R = \text{Log } N_0 - \text{Log } N_a$		
	0,01	1	2
<b>Clostridioides difficile R027</b>	$< 1,67$	4,29	$> 5,19$

### Interprétation :

Taux de réduction minimum sur les spores de bactéries (activité sporicide) :  $d \geq 4 \log$

*Minimal reduction rate on bacteria spores (sporicidal activity):  $d \geq 4 \log$*

## 7. Conclusion (*Conclusion*)

Selon la norme européenne NF EN 17126 (décembre 2018), la formule **913019**, lorsqu'elle est diluée à la concentration de **1%** (m/v) dans de l'eau dure, présente une activité sporicide en **15 minutes** de contact à 20°C en conditions de saleté, pour la désinfection des surfaces vis-à-vis de la souche de référence : ***Clostridioides difficile R027***.

*According to the European standard NF EN 17126 (December 2018), the formula **913019**, when diluted at the concentration of **1%** (w/v) in hard water, presents a sporicidal activity in a **15 minute** contact time at 20°C in dirty conditions, for the surface disinfection against the referenced strain: ***Clostridioides difficile R027***.*

## 8. Annexe - Données expérimentales ( *Experimental Data* )

Dosage des concentrations testées selon MON66 / Check of tested concentrations according to MON66

Numéro d'étude / Study number: 22/245ANA

Numéro de demande	41273		
Date	Dosage APA en ppm – PAA dosage in ppm		
22/09/2022	1% (900 ppm) x1,25*	1185 ppm	Soit 948 ppm en final dans le test ( <i>in final in the test</i> )
	2%(1500ppm) x1,25*	1709 ppm	Soit 1367 ppm en final dans le test ( <i>in final in the test</i> )

\*La solution d'essai du produit doit être concentré à 1,25 fois la concentration d'essai souhaitée (concentration d'essai réelle) car elle est diluée à 80% au cours de l'essai et lors de la validation de la méthode.

*\*The concentration of the product test solution shall be 1,25 times the desired test concentration (real test concentration) because it is diluted to 80% during the test and the method validation*

Clostridioides difficile R027 - 15 minutes

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
NF EN 17126  
Méthode par dilution-neutralisation décembre 2018

Réf : FS473E  
Date : 25/02/22

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
NF EN 17126  
Méthode par dilution-neutralisation décembre 2018

Réf : FS473E  
Date : 25/02/22

Numéro d'identification: 3029 22 09 17126  
Méthode utilisée : Classique

Date : 22.09.22

Dénombrement de la suspension bactérienne:

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC/boîte			
	Dilution -5	Dilution -6	Dilution -5	Dilution -6
Clostridioides difficile R027 DSM 27147			151	15
			157	17
Lecture à 5 jours				

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 340  
n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution ..... 2  
n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution ..... 2  
d : facteur de dilution correspondant à la première dilution prise en compte : .....10<sup>5</sup>  
Moyenne pondérée :  $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = 1,55E+07$  UFC/ml N0=N/10= 1,55E+06

Interprétation :  
N est compris entre 1,5.10<sup>7</sup> UFC/ml et 5.10<sup>7</sup> UFC/ml  
Nv est compris entre 3.10<sup>4</sup> et 1,6.10<sup>5</sup>  
NvB est compris entre 3.10<sup>4</sup> et 1,6.10<sup>5</sup>  
Nv0 est compris entre 3.10<sup>4</sup> et 1,6.10<sup>5</sup>  
A et C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x Nv0  
B est supérieur ou égal à 0,0005 x NvB  
La neutralisation est validée : Oui

5 < Q =  $\frac{\sum dil - 5 / 2}{\sum dil - 6 / 2} < 15 = \frac{154}{16} = 9,63$

Essai de validation : Temps de contact : MN 15'

Essai : Temps de contact : MN 15'

Nv :	témoins suspension	14 à 330 UFC/boîte		Volume pipeté de produit pour fiole de 100 ml	dil 1/100e de 1%		1,25		2,5				
					0,01		1		2				
NvB :	témoins suspension B	46	34										
A :	témoins des conditions expérimentales	42	50										
B :	témoins de non-toxicité du neutralisant	32	31	Lecture à 5 jours de 14 à 330 UFC par boîte	0	+	+	6	10	0	0		
					-1	+	+	0	0	0	0		
C :	essai de l'inactivation par dilution neutralisation	42	43	Na = $\frac{C \times 10}{n} \times dilution$	>	3,30E+04		8,00E+01		<		1,00E+01	
		Lecture à 5 jours		Log N0 = 6,19	Log Na =	4,52	1,90	1,00					
				Calcul de réduction = Log N0 - Log Na = Log R	<	1,67	4,29	>	5,19				

Calculs Nv =  $\frac{c \times 10}{n}$  (en UFC/ml). Nv0, A, B, C =  $\frac{c}{n}$  (en UFC/ml).  
NvB =  $\frac{c \times 1000}{n}$  (en UFC/ml).  
C : somme des valeurs Vc prises en compte n : nombre de boîtes considérées

SUITE A DONNER :  
VISA : Conforme

Demande n° 41807

Laboratoires ANIOS  
Laboratoire de Microbiologie

Study n° 41807 GB

Page 8 of 11



La sensibilité de la souche testée lors de l'essai a été réalisée selon les recommandations du § 5.4.1.3.3 du projet de norme NF EN 17126.

Le produit de référence utilisé est une solution d'acide peracétique (5/25) à la concentration la plus faible recommandée pour cette souche.

Soit :

*Clostridioides difficile* R027 : concentration en APA dans le test : 0.01% soit 0.2% d'une solution commerciale d'APA (5/25) : réduction de Log attendue : < 1,5 Log

Les dosages de la solution d'acide peracétique 5/25 utilisée sont :

APA : 5,06 %

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : 25,23 %

Ci-après les données de sensibilité de la souche pendant l'essai.

*The susceptibility of the tested strain during the test was carried out according to the recommendations of the § 5.4.1.3.3 of the draft standard NF EN 17126.*

*The reference product used is a solution of peracetic acid (5/25) at the lowest concentration requested for this strain.*

*The recommendations are as follows:*

*Clostridioides difficile* R027 : concentration of APA in the test: 0.01% or 0.2% of a commercial solution of APA (5/25): expected log reduction: < 1,5 Log

*The dosages of the 5/25 peracetic acid solution used are:*

*APA: 5,06 %*

*H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 25,23 %*

*Below the susceptibility data of the strain during the test.*

# Sensibilité de la souche de *Clostridioides difficile* R027 pendant le test – Susceptibility of the strain *Clostridioides difficile* R027 during the test :

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
NF EN 17126  
Méthode par dilution-neutralisation décembre 2018

Réf : FS473E  
Date : 25/02/22

Numéro d'identification: **3029 22 09 17126**  
Méthode utilisée : Sensibilité Souches

Date : **22.09.22**

Dénombrement de la suspension bactérienne:

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC/boîte			
	Dilution -4	Dilution -5	Dilution -4	Dilution -5
Clostridioides difficile R027 DSM 27147			151	15
			157	17
	Lecture à 5 jours			

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 340  
n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution ..... 2  
n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution ..... 2  
d : facteur de dilution correspondant à la première dilution prise en compte : ..... 4  
Moyenne pondérée :  $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = \frac{1,55E+06}{(2 + 0,1 \times 2) \times 4} = 1,55E+06$  UFC/ml N0=N/10= 1,55E+05

$$5 < Q = \frac{\sum dil - 4 / 2}{\sum dil - 5 / 2} < 15 = \frac{154}{16} = 9,63$$

Essai de validation :

Temps de contact : **MN 15'**

Essai :

Temps de contact : **MN 15'**

		14 à 330 UFC/boite		Volume pipeté de produit pour fiole de 100 ml		0,25								
Nv :	témoin suspension		46		Concentration produit %		0,2							
			34											
NvB :	témoin suspension B	32												
		41												
A :	témoin des conditions expérimentales	40												
		44												
B :	témoin de non-toxicité du neutralisant	43	Lecture à 5 jours de 14 à 330 UFC par boîte	0	+	+								
		47		-1	+	+								
C :	essai de l'inactivation par dilution neutralisation à 0,2 %	56	Na = $\frac{C \times 10}{n} \times \text{dilution}$	>	3,30E+04									
		43		Log N0 = 5,19	Log Na = 4,52									
				Lecture à 5 jours										

## Scientific Department

### List of document signatories




Nom\_utilisateur : Chrystele Pluchart

Titre : Lead Microbiologist

Date : jeudi, 27 avril 2023, 17:31 Paris

Signification : Document validation



Nom\_utilisateur : Sophie Bouvaine

Titre : Laboratory Technologist

Date : vendredi, 28 avril 2023, 09:47 Paris

Signification : Document validation

End of report

Application number: 41807

Test report: A 23 84 17126

Study: NF EN 17126

Document date: 24/04/2023