

EQUIVALENCE DDN 9

Formula code	FRANKLAB Designation	Packaging	FRANKLAB Commercial reference
F010449V1	DDN 9	5L can	1044920
		1L dosing bottle	1044916
		25mL dose	1044947

Louisa KDYEM
Regulatory Affairs Manager



PROCES-VERBAL NORME NF EN 13727 + A2 (2015)**Laboratoire ayant réalisé l'essai**

Laboratoire d'Hygiène Hospitalière
Centre de Biologie 6ème étage,
CHU de Clermont-Ferrand
63003 CLERMONT-FERRAND

Client

FRANKLAB
BP 63
78185 Saint-Quentin en Yvelines

Identification de l'échantillon de désinfectant

Nom du produit : DDN-9
Fabricant : Franklab
Diluant du produit dont l'utilisation est recommandée par le fabricant : Eau potable
Substance(s) active(s) : Non spécifié
Date de livraison du produit : 11/01/2016
Date de péremption : Non renseigné
Période d'analyse : Du 1/05/2016 au 29/06/2016

-Résultats pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103.467**Résultats d'essai (Répétition n°1)**

EN : 13727 + A2 (Phase 2, étape 1)

Nom du produit : DDN-9
N° Lot : 5068
Fabricant : Franklab
Aspect du produit : Liquide, Incolore
Conditions de stockage (température, etc.) : Obscurité, température ambiante

Méthode par dilution-neutralisation:

Raisons du choix de la méthode : Méthode recommandée par la norme EN 13727 + A2
Neutralisant utilisé : Polysorbate 80 : 30g, Lécithine d'œuf : 3g, Histidine HCl : 1g, Peptone pancréatique de caséine : 1g, Chlorure de sodium : 4,3g, Phosphate monopotassique : 3,6g, Phosphate disodique dihydraté : 7,2g, Thiosulfate de sodium : 5g, Eau purifiée : qsp 1L
Température d'essai : 20°C ± 1°C
Substances interférentes : Conditions de Saleté (3 g/l d'albumine bovine et 3 ml/l de GRM)
Souche d'essai : *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103.467
Température d'incubation : 37°C ± 1°C
Date de l'essai : 17/05/2016
Diluant utilisé pour les solutions d'essai du produit : Eau dure
Aspect des dilutions du produit : Liquide, Incolore
Aspect du produit lors de l'essai : Présence de précipité à 0,5%

Validation et témoins

Suspension de validation (N _{vo})			Témoin des conditions expérimentales (A)			Témoin de toxicité du neutralisant (B)			Validation de la méthode (C)		
V _{c1}	67	$\bar{x} = 72$	V _{c1}	75	$\bar{x} = 75$	V _{c1}	78	$\bar{x} = 81$	V _{c1}	72	$\bar{x} = 69$
V _{c2}	77		V _{c2}	75		V _{c2}	83		V _{c2}	66	
30 ≤ \bar{x} de N _{vo} ≤ 160 ?			\bar{x} de A est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ?			\bar{x} de B ≥ 0,0005 × N _{VB}			\bar{x} de C est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ?		
Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>		
Suspension de validation (N _{VB}), 10 ⁻³			V _{c1}	99	$\bar{x} = 93$	30 ≤ \bar{x} de N _{VB} / 1000 ≤ 160 ?					
			V _{c2}	87		Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>					

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries. Inc : Incomptable
 Comme indiqué dans la norme, la concentration du produit utilisée pour valider la norme est la concentration la plus élevée étudiée soit ici 0,5%.

Suspension d'essai et Essai

Suspension d'essai (N et N ₀)	N	V _{c1}	V _{c2}	$N = (297 + 376 + 52 + 42) / 2,2 \times 10^{-6} = 8,60 \log$ $N_0 = N/10 = 7,60 \log$ N_0 est compris entre 7,17 et 7,70	Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
	10 ⁻⁶	297	376		
	10 ⁻⁷	52	42		

Concentration / temps de contact	Facteur de dilution	V _{c1}	V _{c2}	N _a = $\bar{x} \times 10$	Log N _a	Log R (N ₀ = 7,60)
0,5% 5 minutes	10 ⁰	52*	44*	480	2,68	4,92
	10 ⁻¹	0	6			
0,5% 10 minutes	10 ⁰	11*	6*	<140	<2,15	>5,45
	10 ⁻¹	1	1			
0,25% 5 minutes	10 ⁰	8*	2*	<140	<2,15	>5,45
	10 ⁻¹	0	1			
0,125% 5 minutes	10 ⁰	335*	275*	3104	3,49	4,11
	10 ⁻¹	38*	35*			

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries. Inc : Incomptable

Contrôle des moyennes pondérées : $D = [(297 + 376) / 2] / [(52 + 42) / 2] = 7,16$
 7,16 est compris entre 5 et 15.

Remarques à propos des résultats

- ✓ Tous les témoins et le mélange de validation de la méthode donnent des valeurs comprises à l'intérieur des limites de base.
- ✓ Une concentration du produit au moins présenté une réduction logarithmique d'au moins 5 log.

Résultats d'essai (Répétition n°2)

EN : 13727 + A2 (Phase 2, étape 1)

Nom du produit : DDN-9

N° Lot : 5068

Fabricant : Franklab

Aspect du produit : Liquide, Incolore

Conditions de stockage (température, etc.) : Obscurité, température ambiante

Méthode par dilution-neutralisation:

Raisons du choix de la méthode : Méthode recommandée par la norme EN 13727 + A2

Neutralisant utilisé : Polysorbate 80 : 30g, Lécithine d'œuf : 3g, Histidine HCl : 1g, Peptone pancréatique de caséine : 1g, Chlorure de sodium : 4,3g, Phosphate monopotassique : 3,6g, Phosphate disodique dihydraté : 7,2g,

Eau purifiée : qsp 1L

Température d'essai : 20°C ± 1°C

Substances interférentes : Conditions de Saleté (3 g/l d'albumine bovine et 3 ml/l de GRm)

Souche d'essai : *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103.467

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

Date de l'essai : 01/05/2016

Diluant utilisé pour les solutions d'essai du produit : Eau dure

Aspect des dilutions du produit: Liquide, Incolore

Aspect du produit lors de l'essai: Présence de Précipité à 0.5%

Validation et témoins

Suspension de validation (N _{vo})			Témoin des conditions expérimentales (A)			Témoin de toxicité du neutralisant (B)			Validation de la méthode (C)		
V _{c1}	62	$\bar{x} = 66$	V _{c1}	74	$\bar{x} = 66$	V _{c1}	64	$\bar{x} = 60$	V _{c1}	58	$\bar{x} = 56$
V _{c2}	69		V _{c2}	58		V _{c2}	56		V _{c2}	53	
30 ≤ \bar{x} de N _{vo} ≤ 160 ?			\bar{x} de A est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ?			\bar{x} de B ≥ 0,0005 × N _{vb}			\bar{x} de C est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ?		
Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>		
Suspension de validation (N _{vb}), 10 ⁻³			V _{c1}	65	$\bar{x} = 65$	30 ≤ \bar{x} de N _{vb} / 1000 ≤ 160 ?					
			V _{c2}	64		Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>					

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries. Inc : Incomptable
 Comme indiqué dans la norme, la concentration du produit utilisée pour valider la norme est la concentration la plus élevée étudiée soit ici 0,25%.

Suspension d'essai et Essai

Suspension d'essai (N et N ₀)	N	V _{c1}	V _{c2}	$N = (361 + 354 + 65 + 52) / 2,2 \times 10^{-6} = 8,58 \log$ $N_0 = N/10 = 7,58 \log$ N_0 est compris entre 7,17 et 7,70	Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
	10 ⁻⁶	361	354		
	10 ⁻⁷	65	52		

Concentration / temps de contact	Facteur de dilution	V _{c1}	V _{c2}	N _a = $\bar{x} \times 10$	Log N _a	Log R (N ₀ = 7,58)
0,5% 5 minutes	10 ⁰	20*	26*	230	2,36	5,22
	10 ⁻¹	4	2			
0,5% 10 minutes	10 ⁰	12*	13*	<140	<2,15	>5,43
	10 ⁻¹	0	0			
0,25% 5 minutes	10 ⁰	39*	36*	375	2,57	5,01
	10 ⁻¹	6	13			
0,125% 5 minutes	10 ⁰	253*	190*	2182	3,34	4,24
	10 ⁻¹	18*	19*			

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries ; Inc : Incomptable.

Contrôle des moyennes pondérées : $D = [(361 + 354) / 2] / [(65 + 52) / 2] = 6,27$
 6,27 est compris entre 5 et 15.

Remarques à propos des résultats

- ✓ Tous les témoins et le mélange de validation de la méthode donnent des valeurs comprises à l'intérieur des limites de base.
- ✓ Une concentration du produit au moins a présenté une réduction logarithmique d'au moins 5 log.

Fiv, - EW13772-09.2016

Résultats d'essai (Répétition n°3)

EN : 13727 + A2 (Phase 2, étape 1)

Nom du produit : DDN-9

N° Lot : 5068

Fabricant : Franklab

Aspect du produit : Liquide, Incolore

Conditions de stockage (température, etc.) : Obscurité, température ambiante

Méthode par dilution-neutralisation:

Raisons du choix de la méthode : Méthode recommandée par la norme EN 13727 + A2

Neutralisant utilisé : Polysorbate 80 : 30g, Lécithine d'œuf : 3g, Histidine HCl : 1g, Peptone pancréatique de caséine : 1g, Chlorure de sodium : 4,3g, Phosphate monopotassique : 3,6g, Phosphate disodique dihydraté : 7,2g,

Eau purifiée : qsp 1L

Température d'essai : 20°C ± 1°C

Substances interférentes : Conditions de Saleté (3 g/l d'albumine bovine et 3 ml/l de GRm)

Souche d'essai : *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103.467

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

Date de l'essai : 24/05/2016

Diluant utilisé pour les solutions d'essai du produit : Eau dure

Aspect des dilutions du produit: Liquide, Incolore

Aspect du produit lors de l'essai: Présence de précipité à 0,5%

Validation et témoins

Suspension de validation (N _{vo})			Témoin des conditions expérimentales (A)			Témoin de toxicité du neutralisant (B)			Validation de la méthode (C)		
V _{c1}	82	$\bar{x} = 75$	V _{c1}	68	$\bar{x} = 69$	V _{c1}	56	$\bar{x} = 54$	V _{c1}	57	$\bar{x} = 54$
V _{c2}	68		V _{c2}	70		V _{c2}	51		V _{c2}	51	
30 ≤ \bar{x} de N _{vo} ≤ 160 ?			\bar{x} de A est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ?			\bar{x} de B ≥ 0,0005 × N _{VB}			\bar{x} de C est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ?		
Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>		
Suspension de validation (N _{VB}), 10 ⁻³			V _{c1}	78	$\bar{x} = 66$	30 ≤ \bar{x} de N _{VB} / 1000 ≤ 160 ?					
			V _{c2}	54		Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>					

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries. Inc : Incomptable
Comme indiqué dans la norme, la concentration du produit utilisée pour valider la norme est la concentration la plus élevée étudiée soit ici 0,25%.

Suspension d'essai et Essai

Suspension d'essai (N et N ₀)	N	V _{c1}	V _{c2}	N = (285 + 330 + 51 + 51) / 2,2 × 10 ⁻⁶ = 8,51 log N ₀ = N/10 = 7,51 log N ₀ est compris entre 7,17 et 7,70	Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
	10 ⁻⁶	285	330		
	10 ⁻⁷	51	51		

Concentration / temps de contact	Facteur de dilution	V _{c1}	V _{c2}	N _a = \bar{x} × 10	Log N _a	log R (N ₀ = 7,51)
0,5% 5 minutes	10 ⁰	7*	6*	<140	<2,15	>5,36
	10 ⁻¹	1	0			
0,5% 10 minutes	10 ⁰	3*	4*	<140	<2,15	>5,36
	10 ⁻¹	0	0			
0,25% 5 minutes	10 ⁰	60*	43*	515	2,71	4,80
	10 ⁻¹	3	6			
0,125% 5 minutes	10 ⁰	340*	302*	3,31.10 ³	3,52	3,99
	10 ⁻¹	53*	33*			

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries. Inc : Incomptable

Contrôle des moyennes pondérées : D = [(285 + 330) / 2] / [(51 + 51) / 2] = 8,33
8,33 est compris entre 5 et 15.

Remarques à propos des résultats

- ✓ Tous les témoins et le mélange de validation de la méthode donnent des valeurs comprises à l'intérieur des limites de base.
- ✓ Une concentration du produit au moins a présenté une réduction logarithmique d'au moins 5 log.

-Résultats pour la souche *Staphylococcus aureus* CIP 4.83

Résultats d'essai (Répétition n°1)

EN : 13727 + A2 (Phase 2, étape 1)

Nom du produit : DDN-9

N° Lot : 5068

Fabricant : Franklab

Aspect du produit : Liquide, Incolore

Conditions de stockage (température, etc.) : Obscurité, température ambiante

Méthode par dilution-neutralisation:

Raisons du choix de la méthode : Méthode recommandée par la norme EN 13727 + A2

Neutralisant utilisé : Polysorbate 80 : 30g, Lécithine d'œuf : 3g, Histidine HCl : 1g, Peptone pancréatique de caséine : 1g, Chlorure de sodium : 4,3g, Phosphate monopotassique : 3,6g, Phosphate disodique dihydraté : 7,2g,

Eau purifiée : qsp 1L

Température d'essai : 20°C ± 1°C

Substances interférentes: Conditions de Saleté (3 g/l d'albumine bovine et 3 ml/l de GRm)

Souche d'essai : *Staphylococcus aureus* CIP 4.83

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

Date de l'essai : 19/05/2016

Diluant utilisé pour les solutions d'essai du produit : Eau dure

Aspect des dilutions du produit: Liquide, Incolore

Aspect du produit lors de l'essai: Absence de précipité

Validation et témoins

Suspension de validation (N _{vo})			Témoin des conditions expérimentales (A)			Témoin de toxicité du neutralisant (B)			Validation de la méthode (C)		
V _{c1}	78	$\bar{x} = 72$	V _{c1}	60	$\bar{x} = 51$	V _{c1}	72	$\bar{x} = 73$	V _{c1}	55	$\bar{x} = 62$
V _{c2}	65		V _{c2}	41		V _{c2}	73		V _{c2}	69	
30 ≤ \bar{x} de N _{vo} ≤ 160 ?			\bar{x} de A est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ?			\bar{x} de B ≥ 0,0005 × N _{VB}			\bar{x} de C est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ?		
Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>		
Suspension de validation (N _{VB}), 10 ⁻³			V _{c1}	80	$\bar{x} = 73$	30 ≤ \bar{x} de N _{VB} / 1000 ≤ 160 ?					
			V _{c2}	66		Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>					

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries.

Comme indiqué dans la norme, la concentration du produit utilisée pour valider la norme est la concentration la plus élevée étudiée soit ici 0,25%.

Suspension d'essai et Essai

Suspension d'essai (N et N ₀)	N	V _{c1}	V _{c2}	$N = (374 + 389 + 51 + 42) / 2,2 \cdot 10^{-6} = 8,59 \log$ $N_0 = N/10 = 7,59 \log$ N_0 est compris entre 7,17 et 7,70 ?	Oui	Non
	10 ⁻⁶	374	389		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	10 ⁻⁷	51	42			

Concentration /temps de contact	Facteur de dilution	V _{c1}	V _{c2}	$N_a = \bar{x} \times 10$	Log N _a	log R (N ₀ = 7,59)
0,25% 5 minutes	10 ⁰	0*	0*	<140	<2,15	>5,44
	10 ⁻¹	0	0			
0,125% 5 minutes	10 ⁰	3*	2*	<140	<2,15	>5,44
	10 ⁻¹	0	0			
0,063% 5 minutes	10 ⁰	46*	38*	420	2,62	4,97
	10 ⁻¹	3	3			

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries. Inc : Incomptable.

Contrôle des moyennes pondérées : $D = [(374 + 389) / 2] / [(51 + 42) / 2] = 8,13$
8,13 est compris entre 5 et 15.

Remarques à propos des résultats

- ✓ Tous les témoins et le mélange de validation de la méthode donnent des valeurs comprises à l'intérieur des limites de base.
- ✓ Une concentration du produit au moins a présenté une réduction logarithmique d'au moins 5 log.

Résultats d'essai (Répétition n°2)

EN : 13727 + A2 (Phase 2, étape 1)

Nom du produit : DDN-9

N° Lot : 5068

Fabricant : Franklab

Aspect du produit : Liquide, Incolore

Conditions de stockage (température, etc.) : Obscurité, température ambiante

Méthode par dilution-neutralisation:

Raisons du choix de la méthode : Méthode recommandée par la norme EN 13727 + A2

Neutralisant utilisé : Polysorbate 80 : 30g, Lécithine d'œuf : 3g, Histidine HCl : 1g, Peptone pancréatique de caséine : 1g, Chlorure de sodium : 4,3g, Phosphate monopotassique : 3,6g, Phosphate disodique dihydraté : 7,2g,

Eau purifiée : qsp 1L

Température d'essai : 20°C ± 1°C

Substances interférentes: Conditions de Saleté (3 g/l d'albumine bovine et 3 ml/l de GRm)

Souche d'essai : *Staphylococcus aureus* CIP 4.83

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

Date de l'essai : 26/05/2016

Diluant utilisé pour les solutions d'essai du produit : Eau dure

Aspect des dilutions du produit: Liquide, Incolore

Aspect du produit lors de l'essai: Absence de précipité

Validation et témoins

Suspension de validation (N _{vo})			Témoin des conditions expérimentales (A)			Témoin de toxicité du neutralisant (B)			Validation de la méthode (C)		
V _{c1}	106	$\bar{x} = 98$	V _{c1}	99	$\bar{x} = 105$	V _{c1}	132	$\bar{x} = 133$	V _{c1}	104	$\bar{x} = 92$
V _{c2}	90		V _{c2}	110		V _{c2}	134		V _{c2}	80	
30 ≤ \bar{x} de N _{vo} ≤ 160 ? Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			\bar{x} de A est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ? Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			\bar{x} de B ≥ 0,0005 × N _{vB} ? Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			\bar{x} de C est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ? Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>		
Suspension de validation (N _{vB}), 10 ⁻³			V _{c1}	120	$\bar{x} = 108$	30 ≤ \bar{x} de N _{vB} / 1000 ≤ 160 ? Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>					
			V _{c2}	95							

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries.

Comme indiqué dans la norme, la concentration du produit utilisée pour valider la norme est la concentration la plus élevée étudiée soit ici 0,25%.

Suspension d'essai et Essai

Suspension d'essai (N et N ₀)	N	V _{c1}	V _{c2}	$N = (299 + 415 + 61 + 47) / 2,2 \cdot 10^{-6} = 8,62 \log$ $N_0 = N/10 = 7,62 \log$ N_0 est compris entre 7,17 et 7,70 ?	Oui	Non
	10 ⁻⁶	299	415		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	10 ⁻⁷	61	47			

Concentration /temps de contact	Facteur de dilution	V _{c1}	V _{c2}	$N_a = \bar{x} \times 10$	Log N _a	<i>I</i> og R (N ₀ = 6,62)
0,25% 5 minutes	10 ⁰	0*	0*	<140	<2,15	>5,47
	10 ⁻¹	0	0			
0,125% 5 minutes	10 ⁰	0*	0*	<140	<2,15	>5,47
	10 ⁻¹	0	0			
0,063% 5 minutes	10 ⁰	0*	0*	<140	<2,15	>5,47
	10 ⁻¹	0	0			
0,031% 5 minutes	10 ⁰	Inc	Inc	>66000	>4,82	<2,80
	10 ⁻¹	Inc*	Inc*			

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries. Inc : Incomptable.

Contrôle des moyennes pondérées : $D = [(299 + 415) / 2] / [(61 + 47) / 2] = 6,61$

6,61 est compris entre 5 et 15.

Remarques à propos des résultats

- ✓ Tous les témoins et le mélange de validation de la méthode donnent des valeurs comprises à l'intérieur des limites de base.
- ✓ Une concentration du produit au moins a présenté une réduction logarithmique d'au moins 5 log.
- ✓ Aucune formation de précipité durant la réalisation de l'essai.

-Résultats de la souche *Enterococcus hirae* CIP 58.55**Résultats d'essai (Répétition n°1)**

EN : 13727 + A2 (Phase 2, étape 1)

Nom du produit : DDN-9

N° Lot : 5068

Fabricant : Franklab

Aspect du produit : Liquide, Incolore

Conditions de stockage (température, etc.) : Obscurité, température ambiante

Méthode par dilution-neutralisation:

Raisons du choix de la méthode : Méthode recommandée par la norme EN 13727 + A2

Neutralisant utilisé : Polysorbate 80 : 30g, Lécithine d'œuf : 3g, Histidine HCl : 1g, Peptone pancréatique de caséine : 1g, Chlorure de sodium : 4,3g, Phosphate monopotassique : 3,6g, Phosphate disodique dihydraté : 7,2g, Eau purifiée : qsp 1L

Température d'essai : 20°C ± 1°C

Substances interférentes: Conditions de saleté (3 g/l d'albumine bovine et 3 ml/l de GRM)

Souche d'essai : *Enterococcus hirae* CIP 58.55

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

Date de l'essai : 14/06/2016

Diluant utilisé pour les solutions d'essai du produit : Eau dure

Aspect des dilutions du produit: Liquide, Incolore

Aspect du produit lors de l'essai: Absence de précipité

Validation et témoins

Suspension de validation (N _{vo})			Témoin des conditions expérimentales (A)			Témoin de toxicité du neutralisant (B)			Validation de la méthode (C)		
V _{c1}	141	$\bar{x} = 146$	V _{c1}	85	$\bar{x} = 88$	V _{c1}	154	$\bar{x} = 146$	V _{c1}	115	$\bar{x} = 113$
V _{c2}	151		V _{c2}	91		V _{c2}	137		V _{c2}	110	
30 ≤ \bar{x} de N _{vo} ≤ 160 ?			\bar{x} de A est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ?			\bar{x} de B ≥ 0,0005 × N _{vB}			\bar{x} de C est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ?		
Oui	<input checked="" type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Oui	<input checked="" type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Oui	<input checked="" type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Oui	<input checked="" type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Suspension de validation (N _{vB}), 10 ⁻³			V _{c1}	104	$\bar{x} = 109$	30 ≤ \bar{x} de N _{vB} / 1000 ≤ 160 ?					
			V _{c2}	113		Oui	<input checked="" type="checkbox"/>	Non	<input type="checkbox"/>		

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries.

Comme indiqué dans la norme, la concentration du produit utilisée pour valider la norme est la concentration la plus élevée étudiée soit ici 0,25%.

Suspension d'essai et Essai

Suspension d'essai (N et N ₀)	N	V _{c1}	V _{c2}	N = (524 + 466 + 51 + 59) / 2,2.10 ⁻⁶ = 8,70 log N ₀ = N/10 = 7,70 log N ₀ est compris entre 7,17 et 7,70 ?	Oui	Non
	10 ⁻⁶	524	466		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	10 ⁻⁷	51	59			

Concentration /temps de contact	Facteur de dilution	V _{c1}	V _{c2}	N _a = $\bar{x} \times 10$	Log N _a	log R (N ₀ = 7,70)
0,25% 5 minutes	10 ⁰	0*	0*	<140	<2,15	>5,55
	10 ⁻¹	0	0			
0,125% 5 minutes	10 ⁰	0*	0*	<140	<2,15	>5,55
	10 ⁻¹	0	0			
0,063% 5 minutes	10 ⁰	0*	0*	<140	<2,15	>5,55
	10 ⁻¹	0	0			
0,031% 5 minutes	10 ⁰	>660	>660	22700	4,36	3,34
	10 ⁻¹	220*	234*			

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries. Inc : Incomptable.

Contrôle des moyennes pondérées : D = [(524 + 466)/2] / [(51 + 59)/2] = 9

9 est compris entre 5 et 15.

Remarques à propos des résultats

- ✓ Tous les témoins et le mélange de validation de la méthode donnent des valeurs comprises à l'intérieur des limites de base.
- ✓ Une concentration du produit au moins a présenté une réduction logarithmique d'au moins 5 log.
- ✓ Aucune formation de précipité durant la réalisation de l'essai.

Résultats d'essai (Répétition n°2)

EN : 13727 + A2 (Phase 2, étape 1)

Nom du produit : DDN-9

N° Lot : 5068

Fabricant : Franklab

Aspect du produit : Liquide, Incolore

Conditions de stockage (température, etc.) : Obscurité, température ambiante

Méthode par dilution-neutralisation:

Raisons du choix de la méthode : Méthode recommandée par la norme EN 13727 + A2

Neutralisant utilisé : Polysorbate 80 : 30g, Lécithine d'œuf : 3g, Histidine HCl : 1g, Peptone pancréatique de caséine : 1g, Chlorure de sodium : 4,3g, Phosphate monopotassique : 3,6g, Phosphate disodique dihydraté : 7,2g, Eau purifiée : qsp 1L

Température d'essai : 20°C ± 1°C

Substances interférentes : Conditions de saleté (3 g/l d'albumine bovine et 3 ml/l de GRM)

Souche d'essai : *Enterococcus hirae* CIP 58.55

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

Date de l'essai : 27/06/2016

Diluant utilisé pour les solutions d'essai du produit : Eau dure

Aspect des dilutions du produit : Liquide, Incolore

Aspect du produit lors de l'essai : Absence de précipité

Validation et témoins

Suspension de validation (N _{vo})			Témoin des conditions expérimentales (A)			Témoin de toxicité du neutralisant (B)			Validation de la méthode (C)		
V _{c1}	107	$\bar{x} = 103$	V _{c1}	65	$\bar{x} = 71$	V _{c1}	120	$\bar{x} = 115$	V _{c1}	83	$\bar{x} = 90$
V _{c2}	99		V _{c2}	77		V _{c2}	109		V _{c2}	96	
30 ≤ \bar{x} de N _{vo} ≤ 160 ? Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			\bar{x} de A est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ? Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			\bar{x} de B ≥ 0,0005 × N _{vB} ? Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>			\bar{x} de C est ≥ 0,5 × \bar{x} de N _{vo} ? Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>		
Suspension de validation (N _{vB}), 10 ⁻³			V _{c1}	101	$\bar{x} = 89$	30 ≤ \bar{x} de N _{vB} / 1000 ≤ 160 ? Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>					
			V _{c2}	76							

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries.

Comme indiqué dans la norme, la concentration du produit utilisée pour valider la norme est la concentration la plus élevée étudiée soit ici 0,25%.

Suspension d'essai et Essai

Suspension d'essai (N et N ₀)	N	V _{c1}	V _{c2}	N = (389 + 422 + 44 + 47) / 2,2.10 ⁻⁶ = 8,61 log N ₀ = N/10 = 7,61 log N ₀ est compris entre 7,17 et 7,70 ?	<input checked="" type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
	10 ⁻⁶	389	422		
	10 ⁻⁷	44	47		

Concentration /temps de contact	Facteur de dilution	V _{c1}	V _{c2}	N _a = \bar{x} x 10	Log N _a	log R (N ₀ = 7,61)
0,25% 5 minutes	10 ⁰	0*	0*	<140	<2,15	>5,46
	10 ⁻¹	0	0			
0,125% 5 minutes	10 ⁰	0*	0*	<140	<2,15	>5,46
	10 ⁻¹	0	0			
0,063% 5 minutes	10 ⁰	0*	0*	<140	<2,15	>5,46
	10 ⁻¹	0	0			
0,031% 5 minutes	10 ⁰	>660	>660	50900	4,71	2,90
	10 ⁻¹	496*	522*			

V_c : Nombre d'UFC comptées/ml ; N : Nombre d'UFC dans la suspension d'essai ; N₀ : Nombre d'UFC dans le mélange d'essai ; N_a : Nombre d'UFC dénombrées après contact avec le produit ; N_{vo} : Nombre d'UFC/ml dans la dilution de la suspension de validation ; R : Réduction du nombre de bactéries. Inc : Incomptable.

Contrôle des moyennes pondérées : D = [(389 + 422)/2] / [(44 + 47)/2] = 8,9

8,9 est compris entre 5 et 15.

Remarques à propos des résultats

- ✓ Tous les témoins et le mélange de validation de la méthode donnent des valeurs comprises à l'intérieur des limites de base.
- ✓ Une concentration du produit au moins a présenté une réduction logarithmique d'au moins 5 log.
- ✓ Aucune formation de précipité durant la réalisation de l'essai.

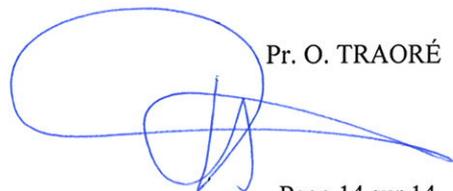
Conclusion

Des tests ont été effectués sur les souches référencées *Staphylococcus aureus* CIP 4.83, *Enterococcus hirae* CIP 58.55, *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103.467. Les essais ont été effectués deux fois (sauf *P.aeruginosa* trois fois). La moyenne de la réduction avec la souche d'essai limitante *P.aeruginosa* en 5 minutes à 0,5% est de 1,48.10⁵ soit 5,17 log.

Conformément à la norme **EN 13727 + A2 (2015)**, le lot **5068** du produit **DDN-9**, lorsqu'il est concentré à **0,5% (V/V)** dans de l'eau dure (Produit utilisé dilué), présente une activité **bactéricide en 5 minutes à 20°C**, dans les **conditions de saleté** (3 g/l d'albumine bovine et 3 ml/l de globules rouges de mouton), vis-à-vis de la souche référencée *P.aeruginosa*, pour une activité de désinfection des dispositifs médicaux.

Clermont-Ferrand, le 18/07/2016.

Pr. O. TRAORÉ



Page 14 sur 14

RAPPORT D'ESSAI

**DETERMINATION DE L'ACTIVITE BACTERICIDE DU PRODUIT
DDN9 SELON LA NORME EN 14561**

Délivré à Mme CHAKCHOUK

Pour: **FRANKLAB**
3 avenue des Frênes
78180 MONTIGNY LE BRETONNEUX
FRANCE



Demande d'essai du: 12/05/2015

Références du dossier d'analyses: n°140D10-2015-06

ESSAIS DE BACTERICIDIE :

Selon la méthodologie de la norme européenne NF EN 14561 (Mars 2007) – antiseptiques et désinfectants chimiques – essais quantitatifs de porte germes pour l'évaluation de l'activité bactéricide pour instruments utilisés en médecine humaine.

Essais sur 3 souches de référence : *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus hirae* et *Staphylococcus aureus*.

Ce rapport comporte 17 pages et ne concerne que l'échantillon étudié.

Date d'émission : 24/06/2015

Stephanie MOROT-BIZOT
Docteur en microbiologie
Chargée de l'étude

Professeur Georges HERBEIN
Professeur des Universités Médecin Hospitalier
Expert scientifique

APEX BIOSOLUTIONS
18, rue Alain SAVARY
25000 Besançon
Tél : 03 81 25 09 04 Fax : 03 81 25 53 51
info@apexbiosolutions.com
N° SIRET 517 860 532 00012 – RCS Besançon
N° TVA intra FR 23517860532
SARL au capital de 10 000 €

SOMMAIRE

- LABORATOIRE AYANT REALISE LES ESSAIS
- IDENTIFICATION COMPLETE DE L'ECHANTILLON
- CONDITIONS EXPERIMENTALES
- VALIDATION DE LA METHODE ET RESULTATS PROPREMENT DITS
- CONCLUSIONS
- FEUILLES DE RESULTATS
- ANNEXE TECHNIQUE

1. LABORATOIRE AYANT RÉALISÉ LES IDENTIFICATIONS

APEX BIOSOLUTIONS
18, rue Alain SAVARY
25000 BESANÇON

2. IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS

Echantillon	N° lot
DDN9	4227B02

Echantillons reçus au laboratoire le 22/05/2015.

Date limite d'utilisation optimale: non précisé

Fabricant: FRANKLAB

Date de fabrication: non précisé

Conditions de stockage: Température ambiante et obscurité

Composants actifs: ammoniums quaternaires.

Aspect: liquide transparent

Diluant préconisé par le fabricant: eau potable.

Période de l'étude: du 25/05/2015 au 01/06/2015

3. CONDITIONS EXPERIMENTALES

1. Concentrations du produit soumis à l'essai : 0,5%.
2. Méthode employée: dilution-neutralisation
3. Temps de contact: 10 min – 15 min – 60 min
4. Température d'essai: 20°C
5. Substance interférente: albumine bovine (3g/l) et érythrocytes de mouton (3 mL/L), conditions de saleté.
6. Diluant des suspensions bactériennes et des essais : solution tryptone sel stérile.
7. Souches bactériennes utilisées: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 799 lot 0413(ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* DSM 939 lot 0413 (ATCC 15442) et *Enterococcus hirae* DSM 3320 lot 0511 (ATCC 10541) – DSMZ.

8. Conditions de culture des bactéries : sur géloses TSA (Tryptone Soja Agar), à 37°C ± 1°C.
9. Technique d'arrêt de l'action bactéricide : transfert du porte germe dans 10 ml de neutralisant à base de polysorbate 80 (30g/l) et de jaune d'œuf (5%) dans de l'eau distillée.

4. RESULTATS PROPREMENT DITS

Voir feuilles de résultats.

SYNTHESE RESULTATS

Le produit DDN9 est bien actif vis-à-vis des souches de référence utilisées, car la réduction moyenne obtenue est supérieure à 5 log pour les cellules bactériennes viables :

Sur produit à 0.5% pour 15 min de contact :

- pour *P. aeruginosa*, R > 5,17
- pour *E. hirae*, R > 5,22
- pour *S. aureus*, R > 5,25

5. CONCLUSION

Conformément à la norme EN 14561 (Mars 2007), le produit DDN9 lot n°4227B02:

- a une activité bactéricide sur les trois souches bactériennes de référence lorsqu'employé à 0.5%, pour 15 min de contact à 20°C, en conditions de saleté (3 g/l d'albumine bovine et 3 mL/L érythrocytes de mouton).



Suspension d'essai et essai

Suspension d'essai (N)			log N
10 ⁻⁷	282	299	9,46
10 ⁻⁸	28	29	
9,17 ≤ N ≤ 9,70?			
x oui □ non			

Témoïn eau (Nw)			log Nw
10 ⁻⁴	201	203	7,31
7,15 ≤ Nw ≤ lg N-1,3?			
x oui □ non			

	Essais					
	0.5% 10 min		0.5% 15 min		0.5% 60 min	
10 ⁰	38	39	0	0	0	0
10 ⁻¹	5	3	0	0	0	0
10 ⁻²	1	0	0	0	0	0
10 ⁻³	0	0	0	0	0	0
log Na	2,59		<2,15		<2,15	
log R = log Nw - log Na	4,72		>5,16		>5,16	

Vérifications de la méthodologie:

- N est compris entre 1,5 x 10⁹ UFC/ml et 5,0 x 10⁹ UFC/ml
- Nw est compris entre 1,4 x 10⁶ UFC/ml et lg N-1,3
- Nv0 est compris entre 30 et 160 UFC/ml
- A, B et C sont égaux ou supérieurs à 0,5 x Nv0
- Le quotient des dénombrements moyennés pondérés est compris entre 5 et 15

Légende :

- Vc = dénombrement par ml
- \bar{x} = moyenne de Vc1 et Vc2
- N = nombre d'UFC/ml dans la suspension d'essai
- Nv = nombre d'UFC/ml dans la suspension de validation
- A = nombre d'UFC/ml dans l'essai de validation des conditions expérimentales
- B = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de la toxicité du neutralisant
- C = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de l'inactivation par dilution-neutralisation
- Na = nombre d'UFC/ml des survivants après essai
- R = réduction (lg R = lg N0 - lg Na)

Fina - EN 14561 - stab - 11.2015

Suspension d'essai et essai

Suspension d'essai (N)			log N
10 ⁻⁷	293	296	9,46
10 ⁻⁸	29	22	
9,17 ≤ N ≤ 9,70?			
x oui □ non			

Témoin eau (Nw)			log Nw
10 ⁻⁴	212	213	7,33
7,15 ≤ Nw ≤ lg N-1,3?			
x oui □ non			

	Essais					
	0.5% 10 min		0.5% 15 min		0.5% 60 min	
10 ⁰	33	38	0	0	0	0
10 ⁻¹	4	3	0	0	0	0
10 ⁻²	0	0	0	0	0	0
10 ⁻³	0	0	0	0	0	0
log Na	2,55		<2,15		<2,15	
log R = log Nw - log Na	4,78		>5,18		>5,18	

Vérifications de la méthodologie:

- N est compris entre 1,5 x 10⁹ UFC/ml et 5,0 x 10⁹ UFC/ml
- Nw est compris entre 1,4 x 10⁶ UFC/ml et lg N-1,3
- Nv0 est compris entre 30 et 160 UFC/ml
- A, B et C sont égaux ou supérieurs à 0,5 x Nv0
- Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

Légende :

- Vc = dénombrement par ml
- \bar{x} = moyenne de Vc1 et Vc2
- N = nombre d'UFC/ml dans la suspension d'essai
- Nv = nombre d'UFC/ml dans la suspension de validation
- A = nombre d'UFC/ml dans l'essai de validation des conditions expérimentales
- B = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de la toxicité du neutralisant
- C = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de l'inactivation par dilution-neutralisation
- Na = nombre d'UFC/ml des survivants après essai
- R = réduction (lg R = lg N0 - lg Na)

Suspension d'essai et essai

Suspension d'essai (N)			log N
10 ⁻⁷	275	276	9,44
10 ⁻⁸	27	26	
9,17 ≤ N ≤ 9,70?			
x oui □ non			

Témoin eau (Nw)			log Nw
10 ⁻⁴	271	263	9,43
7,15 ≤ Nw ≤ lg N-1,3?			
x oui □ non			

	Essais					
	0.5% 10 min		0.5% 15 min		0.5% 60 min	
10 ⁰	27	28	2	5	0	0
10 ⁻¹	3	2	0	0	0	0
10 ⁻²	0	0	0	0	0	0
10 ⁻³	0	0	0	0	0	0
log Na	2,44		<2,15		<2,15	
log R = log Nw - log Na	4,94		>5,23		>5,23	

Vérifications de la méthodologie:

- N est compris entre 1,5 x 10⁹ UFC/ml et 5,0 x 10⁹ UFC/ml
- Nw est compris entre 1,4 x 10⁶ UFC/ml et lg N-1,3
- Nv0 est compris entre 30 et 160 UFC/ml
- A, B et C sont égaux ou supérieurs à 0,5 x Nv0
- Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

Légende :

- Vc = dénombrement par ml
- \bar{x} = moyenne de Vc1 et Vc2
- N = nombre d'UFC/ml dans la suspension d'essai
- Nv = nombre d'UFC/ml dans la suspension de validation
- A = nombre d'UFC/ml dans l'essai de validation des conditions expérimentales
- B = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de la toxicité du neutralisant
- C = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de l'inactivation par dilution-neutralisation
- Na = nombre d'UFC/ml des survivants après essai
- R = réduction (lg R = lg N0 - lg Na)

Suspension d'essai et essai

Suspension d'essai (N)			log N
10^{-7}	270	269	9,43
10^{-8}	27	26	
9,17 ≤ N ≤ 9,70?			
x oui □ non			

Témoin eau (Nw)			log Nw
10^{-4}	225	229	7,36
7,15 ≤ Nw ≤ lg N-1,3?			
x oui □ non			

	Essais					
	0.5% 10 min		0.5% 15 min		0.5% 60 min	
10^0	30	27	12	8	0	0
10^{-1}	6	2	0	0	0	0
10^{-2}	1	0	0	0	0	0
10^{-3}	0	0	0	0	0	0
log Na	2,45		<2,15		<2,15	
log R = log Nw - log Na	4,90		>5,21		>5,21	

Vérifications de la méthodologie:

- N est compris entre $1,5 \times 10^9$ UFC/ml et $5,0 \times 10^9$ UFC/ml
- Nw est compris entre $1,4 \times 10^6$ UFC/ml et lg N-1,3
- Nv0 est compris entre 30 et 160 UFC/ml
- A, B et C sont égaux ou supérieurs à $0,5 \times Nv0$
- Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

Légende :

Vc = dénombrement par ml

 \bar{x} = moyenne de Vc1 et Vc2

N = nombre d'UFC/ml dans la suspension d'essai

Nv = nombre d'UFC/ml dans la suspension de validation

A = nombre d'UFC/ml dans l'essai de validation des conditions expérimentales

B = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de la toxicité du neutralisant

C = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de l'inactivation par dilution-neutralisation

Na = nombre d'UFC/ml des survivants après essai

R = réduction (lg R = lg N0 - lg Na)

Suspension d'essai et essai

Suspension d'essai (N)			log N
10^{-7}	294	290	9,46
10^{-8}	29	25	
$9,17 \leq N \leq 9,70?$ x oui <input type="checkbox"/> non			

Témoin eau (Nw)			log Nw
10^{-4}	221	220	7,34
$7,15 \leq Nw \leq \lg N - 1,3?$ x oui <input type="checkbox"/> non			

	Essais					
	0.5% 10 min		0.5% 15 min		0.5% 60 min	
10^0	20	27	0	0	0	0
10^{-1}	2	0	0	0	0	0
10^{-2}	0	0	0	0	0	0
10^{-3}	0	0	0	0	0	0
log Na	2,37		<2,15		<2,15	
log R = log Nw - log Na	4,97		>5,20		>5,20	

Vérifications de la méthodologie:

- N est compris entre $1,5 \times 10^9$ UFC/ml et $5,0 \times 10^9$ UFC/ml
- Nw est compris entre $1,4 \times 10^6$ UFC/ml et $\lg N - 1,3$
- Nv0 est compris entre 30 et 160 UFC/ml
- A, B et C sont égaux ou supérieurs à $0,5 \times Nv0$
- Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

Légende :

- Vc = dénombrement par ml
- \bar{x} = moyenne de Vc1 et Vc2
- N = nombre d'UFC/ml dans la suspension d'essai
- Nv = nombre d'UFC/ml dans la suspension de validation
- A = nombre d'UFC/ml dans l'essai de validation des conditions expérimentales
- B = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de la toxicité du neutralisant
- C = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de l'inactivation par dilution-neutralisation
- Na = nombre d'UFC/ml des survivants après essai
- R = réduction ($\lg R = \lg N0 - \lg Na$)

Fv11 - EN14561 - stab - 11/2015

Suspension d'essai et essai

Suspension d'essai (N)			log N
10 ⁻⁷	300	307	9,48
10 ⁻⁸	31	31	
9,17 ≤ N ≤ 9,70?			
x oui □ non			

Témoin eau (Nw)			log Nw
10 ⁻⁴	288	270	7,45
7,15 ≤ Nw ≤ lg N-1,3?			
x oui □ non			

	Essais					
	0.5% 10 min		0.5% 15 min		0.5% 60 min	
10 ⁰	35	38	0	5	0	0
10 ⁻¹	0	3	0	0	0	0
10 ⁻²	0	0	0	0	0	0
10 ⁻³	0	0	0	0	0	0
log Na	2,56		<2,15		<2,15	
log R = log Nw - log Na	4,88		>5,30		>5,30	

Vérifications de la méthodologie:

- N est compris entre 1,5 x 10⁹ UFC/ml et 5,0 x 10⁹ UFC/ml
- Nw est compris entre 1,4 x 10⁶ UFC/ml et lg N-1,3
- Nv0 est compris entre 30 et 160 UFC/ml
- A, B et C sont égaux ou supérieurs à 0,5 x Nv0
- Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

Légende :

- Vc = dénombrement par ml
- \bar{x} = moyenne de Vc1 et Vc2
- N = nombre d'UFC/ml dans la suspension d'essai
- Nv = nombre d'UFC/ml dans la suspension de validation
- A = nombre d'UFC/ml dans l'essai de validation des conditions expérimentales
- B = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de la toxicité du neutralisant
- C = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de l'inactivation par dilution-neutralisation
- Na = nombre d'UFC/ml des survivants après essai
- R = réduction (lg R = lg N0 - lg Na)

ANNEXE TECHNIQUE

Milieux de culture utilisés, stérilisés par autoclavage :

TSA (Tryptone Soja agar), Dominique Dutscher, réf. 777410, lot n°409161

SUBSTANCES INTERFÉRENTES :

Sérum Albumine Bovine en poudre, Fraction V, Dominique Dutscher, réf.P6154, lot M10637P6154

Sang de mouton, Analytic Lab, réf. 08449, lot n°bcbj3984V.

DILUANT

Solution Tryptone-Sel (TS)

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée :

- Tryptone, Dominique Dutscher, réf. 777472, lot n° 090633 -----1,00 g/l
- Chlorure de sodium, Grosseron, ref 9020401, lot n° FR08 085 793 -----8,50 g/l

pH final après autoclavage à 25°C : 7,0 ± 0,2

NEUTRALISANT

Ingrédients par litre d'eau distillée stérile :

- Polysorbate 80, Sigma Aldrich, ref 59924, lot BCBJ6978V----- 30g/l
- Jaune d'œuf, 5% ----- 50g/l

Stérilisé par autoclavage (sans jaune d'œuf)

EAU DURE

Solution A: - MgCl₂ anhydre, réf. M8266, lot n° 108K0068, SIGMA ALDRICH

- CaCl₂ anhydre, réf. C1016, lot n° 059K0030, SIGMA ALDRICH

Solution B: - NaHCO₃, réf. S6014, lot n°059K0052, SIGMA ALDRICH

pH final après filtration: 7,0 ± 0,2 à 25°C.

PORTE-GERMES EN VERRE – lames de verre dépoli 15 x 60 mm, 1 mm d'épaisseur – Thermo scientific/ Menzel-Gläser – réf. 100 OTM, lot n°01 1794389.

