

# ASEPTANIOS AD

## MICROBIOLOGICAL DATA *MICROBIOLÓGIA*

Efficacy of the ASEPTANIOS AD - AEROSEPT 500 process according to application standard NF T 72-281:

Bactericide and yeasticide in 30 min - 7ml/m<sup>3</sup> - 55°C.

Mycobactericide in 60 min - 7ml/m<sup>3</sup> - 55°C.

Fungicide and sporicide in 120 min - 7ml/m<sup>3</sup> - 55°C.

Viricide in 60 min - 7ml/m<sup>3</sup> - 55°C.

*Eficacia del procedimiento ASEPTANIOS AD - AEROSEPT 500 según la norma de aplicación NF T 72-281:*

*Bactericida y levaduricida en 30min - (7ml/m<sup>3</sup>) - 55°C.*

*Micobactericida en 60 min - 7ml/m<sup>3</sup> - 55 °C.*

*Fungicida y esporicida en 120min - (7ml/m<sup>3</sup>) - 55°C.*

*Virucida en 60min - 7ml/m<sup>3</sup> - 55 °C.*

# ASEPTANIOS AD

## MICROBIOLOGICAL DATA *MICROBIOLÓGIA*

Study number <i>Número de estudio</i>	Microbiological activity <i>Actividad microbiológica</i>	Results <i>Resultados</i>	
		Contact time <i>Tiempo de contacto</i>	Dosage <i>Dosificación</i>
<b>BACTERICIDAL ACTIVITY</b> <i>Actividad bactericida</i>			
32215, 32216	NF T 72-281	30 min	7 ml/m <sup>3</sup>
<b>YEASTICIDAL ACTIVITY</b> <i>Actividad levaduricida</i>			
32215, 32216	NF T 72-281	15 min	7 ml/m <sup>3</sup>
<b>MYCOBACTERICIDAL ACTIVITY</b> <i>Actividad micobactericida</i>			
32547	NF T 72-281	60 min	7 ml/m <sup>3</sup>
<b>FUNGICIDAL ACTIVITY</b> <i>Actividad fungicida</i>			
32215, 32216	NF T 72-281	120 min	7 ml/m <sup>3</sup>
<b>SPORICIDAL ACTIVITY</b> <i>Actividad esporicida</i>			
32215, 32216	NF T 72-281	120 min	7 ml/m <sup>3</sup>
<b>VIRUCIDAL ACTIVITY</b> <i>Actividad virucida</i>			
32409	NF T 72-281 (Poliovirus)	60 min	7 ml/m <sup>3</sup>
32410	NF T 72-281 (Adenovirus)	60 min	7 ml/m <sup>3</sup>
32411	NF T 72-281 (Norovirus)	60 min	7 ml/m <sup>3</sup>

SAINGHIN EN MELANTOIS, le 17 aout 2017

SAINGHIN EN MÉLANTOIS, on the August 17<sup>th</sup> 2017

1 ère edition le 11/02/2015

First edition : 11/02/2015

Rapport N° : A 15 11 281 M

Test report N° : A 15 11 281 M

## 1. Objet de la demande (*Study Number*) n° 32215

**Aerosept 500**, procédé de désinfection des surfaces par voie aérienne.

Détermination de l'activité bactéricide, levuricide, fongicide et sporicide de la formule **2122000** selon la norme NF T 72-281 (novembre 2014).

**Aerosept 500**, process of airborne disinfection of surfaces.

Determination of the bactericidal, yeasticidal, fungicidal and sporicidal activity of the formula **2122000** according to the standard NF T 72-281 (November 2014)

Annule et remplace le rapport A 15 11 281 du 11 février 2015.

*Annul and replace the report A 15 11 281 of 11<sup>th</sup> February 2015*

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci après) soumis à l'essai.

*This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval*

Ce document comporte 24 pages numérotées et 1 annexe de 16 pages

*This report is made of numbered 24 pages and 1 annex of 16 pages*

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

*The reproduction of this trial report is authorized only under the shape of complete photographic reproduction*

*Only the electronic version is valid.*

## 2. Sommaire (Summary)

1. Objet de la demande ( <i>Study Number</i> ) n° 32215	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
6. Résultats ( <i>Results</i> )	6
6.1. Essai préliminaire ( <i>Preliminary test</i> )	6
6.2. Essai proprement dit ( <i>Actual test</i> )	7
7. Conclusion ( <i>Conclusion</i> )	8
8. Annexe	9

### 3. Introduction (*Introduction*)

L'essai a été réalisé selon le protocole décrit dans la norme française homologuée NF T 72.281 " PROCÉDE DE DESINFECTION PAR VOIE AERIENNE ".

Détermination de l'activité bactéricide, levuricide, fongicide ,sporicide.

*The test is performed according to the protocol determined by the French experimental standard T 72-281 "PROCESS OF AIRBORNE DISINFECTION OF SURFACES ".*

*Determination of the bactericidal, yeasticidal, fungicidal , sporicidal activity.*

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

Code formule	<b>2122000</b>
<i>Code formula</i>	
Numéro d'identification de l'échantillon	<b>7095 14 12 281</b>
<i>Identification of the sample</i>	
Numéro de lot	<b>S 287-80</b>
<i>Batch number</i>	
Fabricant	<b>Laboratoires ANIOS</b>
<i>Manufacturer</i>	
Date de réception au laboratoire	Le 08/12/14
<i>Receipt date at the laboratory</i>	<i>On the 08/12/14</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	Acide péracétique (N° CAS 79-21-0) : +/- 1200 ppm
<i>Activ substances</i>	<i>Peracetic acid (N° CAS 79-21-0) : +/- 1200 ppm</i>
Période d'essai	Du 10/12/14 au 14/12/14
<i>Period of analysis</i>	<i>From 10/12/14 to 14/12/14</i>

## 5. Méthode expérimentale (Experimental Method)

### 5.1. Conditions expérimentales (Experimental conditions)

Appareil Apparatus	<b>AEROSEPT 500</b> <b>Lot (Batch) ASP0017 du 10/10/14</b>	
Code formule testée Tested code formula	<b>2122000</b>	
Dosage Assay	<b>7 ml / m<sup>3</sup></b>	
Quantité de produit utilisé lors de l'essai Quantity of product used during the test	536 ml	
Temps de diffusion du produit Time of diffusion of the product	30 min	
Dimension du local d'essai Test room size	L (l) : 5,15 m / 5.5 m l (w) : 4,86m /4,50 m h (h) : 2,8 m	
Surface totale / Volume Total surface/ Volume	1,49	
Volume du local d'essai (Volume of the test room )	Exigence obligatoire / Obligatory Requirements 30 à (to) 150 m <sup>3</sup>	76 m <sup>3</sup>
Température Temperature	Avant essai (Before testing) : (20°C ± 2°C)	Avant essai (Before testing) : 21,5°C Après essai (After testing) :15,1°C
Hygrométrie Humidity	Avant essai (Before testing) : 40 à (to) 80%	Avant essai (Before testing) : 49,5% Après essai (After testing) : 53,3%
Nature du support ( Nature of the carrier)	inox 4 cm de diameter (stainless steel – 4 cm diameter)	
Distance par rapport à la source Distance to the source	3.9 m sur hauteur comprise entre 1 m et 1m50 (Cf Annexe B – T 72 281 – nov 2014)  9 m in height between 1 m and 1.50 m (See Appendix B - T 72281 - Nov. 2014)	

Temps d'exposition des supports d'essais	30 min : bactéries (bacteria) 15 min : <i>Candida albicans</i>
<i>Exposure time of the carriers</i>	120 minutes : <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Aspergillus brasiliensis</i>
Souches testées	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ <b>Pseudomonas aeruginosa CIP 103 467 (equivalent ATCC 15442)</b></li> <li>○ <b>Escherichia coli CIP 24 127 (equivalent ATCC 105 36)</b></li> <li>○ <b>Staphylococcus aureus CIP 4.83 (equivalent ATCC 6538)</b></li> <li>○ <b>Enterococcus hirae CIP 58 55 (equivalent ATCC 10541)</b></li> </ul>
<i>Tested strains</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ <b>Candida albicans DSM 1386 (equivalent ATCC 10231)</b></li> <li>○ <b>Aspergillus brasiliensis ATCC 16404</b></li> <li>○ <b>Bacillus subtilis CIP 5262 (equivalent ATCC 6633)</b></li> </ul>
Substance interférente	Condition de propreté : Lait 1/20ème
<i>Interfering substance</i>	<i>Clean conditiosn : Milk 1/20ème</i>
Liquide de rinçage et de récupération	Solution de tryptone sel Tween
<i>Rinsing and recovery liquid</i>	<i>Tween Tryptone salt solution</i>
Volume du liquide de récupération	100 ml
<i>Recovery Liquid volume</i>	
Agitation + grattage des supports	1 min
<i>Shaking + scrapping of the support</i>	
Nature des membranes	MILLIPORE HAWG en ester de cellulose, 0.45 µm , stérile
<i>Nature of the membranes</i>	<i>MILLIPORE HAWG made of cellulose ester, 0.45µm, sterile</i>
Nombre de rinçage ( <i>Rinsing steps</i> )	3
Volume utilisé pour chaque rinçage	50 ml
<i>Volume used for each rinsing</i>	

## 6. Résultats ( Results )

### 6.1. Essai préliminaire (Preliminary test)

Recherche d'un effet inhibiteur sur support, en gélose et sur membrane filtrante éventuellement dû aux restes de désinfectant transportés par les supports.

*Searching of an inhibiting effect on carrier, agar and on filter membrane possibly due to the residues of disinfectant transported by the carriers.*

Souches test	Nombre de cellules viables (UFC/ml) (Number of viable cells(CFU/ml))				
	Suspension d'essai Dénombrement par inclusion	Suspension d'essai Dénombrement par filtration	Recherche effet inhibiteur en gélose	Recherche effet inhibiteur sur membrane	Recherche effet inhibiteur du support en gélose
Tested strains	<i>Test suspension Counting by pour method</i>	<i>Test suspension Counting by filtration</i>	<i>Searching for the inhibiting effect on agar</i>	<i>Searching for the inhibiting effect on membrane</i>	<i>Searching for the inhibiting effect due to the carriers</i>
	<i>N1</i>	<i>N2</i>	<i>n1</i>	<i>n2</i>	<i>n3</i>
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	2,3 10 <sup>8</sup>	2,4 10 <sup>8</sup>	2,2 10 <sup>8</sup>	2,1 10 <sup>8</sup>	2,3 10 <sup>8</sup>
<b>Escherichia coli</b>	2,1 10 <sup>8</sup>	2,6 10 <sup>8</sup>	2,2 10 <sup>8</sup>	2,0 10 <sup>8</sup>	2,1 10 <sup>8</sup>
<b>Enterococcus hirae</b>	2.2 10 <sup>8</sup>	2.3 10 <sup>8</sup>	2.2 10 <sup>8</sup>	2.4 10 <sup>8</sup>	2.2 10 <sup>8</sup>
<b>Staphylococcus aureus</b>	1.9 10 <sup>8</sup>	2,1 10 <sup>8</sup>	2,0 10 <sup>8</sup>	1,9 10 <sup>8</sup>	2,0 10 <sup>8</sup>
<b>Candida albicans</b>	2.1 10 <sup>7</sup>	2.3 10 <sup>7</sup>	2.2 10 <sup>7</sup>	2,4 10 <sup>7</sup>	2.3 10 <sup>7</sup>
<b>Aspergillus brasiliensis</b>	8,7 10 <sup>6</sup>	8,5 10 <sup>6</sup>	9,5 10 <sup>6</sup>	8,4 10 <sup>6</sup>	9,1 10 <sup>6</sup>
<b>Bacillus subtilis</b>	2,3 10 <sup>5</sup>	2,2 10 <sup>5</sup>	2,4 10 <sup>5</sup>	2,4 10 <sup>5</sup>	2,3 10 <sup>5</sup>

### Interprétation :

Pour les bactéries : N est compris entre 5 10<sup>7</sup> et 2 10<sup>9</sup> UFC / ml  
*For bacteria : N is comprised between 5 10<sup>7</sup> and 2 10<sup>9</sup> UFC / ml*

Pour les levures : N est compris entre 1 10<sup>7</sup> et 2 10<sup>8</sup> UFC / ml  
*For yeasts: N is comprised between 1 10<sup>7</sup> and 2 10<sup>8</sup> UFC / ml*

Pour les moisissures : N compris entre à 5 10<sup>6</sup> et 1 10<sup>7</sup> UFC / ml UFC / ml  
*For moulds: N is comprised between 5 10<sup>6</sup> and 1 10<sup>7</sup> UFC / ml*

Pour les spores de bactéries : N est compris entre à 2 10<sup>5</sup> et 5 10<sup>5</sup> UFC / ml  
*For spores of bacteria : N is comprised between 2 10<sup>5</sup> and 5 10<sup>5</sup> UFC / ml*

Si n1 > 0.5 N1, n3 > 0.5 N1 et n2 > 0.5 N2, les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

*If n1 > 0.5 N1, n3 > 0.5 N1 et n2 > 0.5 N2, the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.*



## 6.2. Essai proprement dit (*Actual test*)

	Nombre de cellules viables (UFC/ml ou support) ( <i>Number of viable cells(CFU/ml or carrier)</i> )			
Souches test	Dénombrement des microorganismes sur les supports	Dénombrement moyen des microorganismes survivants dans 100ml de liquide de reprise	Dénombrement moyen des microorganismes par inclusion du porte germes essai	Taux de reduction $d = \log T - \log (n'1 + n'2)$
<i>Tested strains</i>	<i>Counting microorganisms on carriers</i>	<i>Average counting surviving microorganisms in 100ml of recovery liquid</i>	<i>Average counting microorganisms by inclusion carrier test</i>	<i>Reduction rate <math>d = \log T - \log (n'1 + n'2)</math></i>
	<i>T</i>	<i>n'1</i>	<i>n'2</i>	<i>d</i>
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	1.7 10 <sup>6</sup>	0	0	6,2 log
<b>Escherichia coli</b>	2.1 10 <sup>6</sup>	11	0	5,3 log
<b>Enterococcus hirae</b>	5.6 10 <sup>6</sup>	0	0	6,8 log
<b>Staphylococcus aureus</b>	5.8 10 <sup>6</sup>	0	0	6,8 log
<b>Candida albicans</b>	6,7 10 <sup>5</sup>	0	0	5,8 log
<b>Aspergillus brasiliensis</b>	9,6 10 <sup>5</sup>	0	0	6 log
<b>Bacillus subtilis</b>	4,2 10 <sup>5</sup>	26	0	3,2 log

Pour les souches soumises à l'essai (*For the strains to be tested*)

T doit être de 1 Log au dessus des réductions logarithmiques des souches testées (Annexe D – NF T 72-281 (novembre 2014))

*must be 1 log above the log reductions for the tested strains (Appendix D - NF T 72-281 (November 2014))*

n'1 Dénombrement moyen des microorganismes survivants dans 100 ml de liquide de récupération

*Average counting of surviving microorganisms in 100ml of recovery liquid*

n'2 Dénombrement moyen des microorganismes survivants par inclusion du porte germe en gélose

*Average counting of surviving microorganisms by carrier inclusion in agar*

## Interprétation : *Interpretation*

Taux de réduction minimum sur les bactéries (activité bactéricide) :  $d \geq 5$

*Minimal reduction rate on bacteria (bactericidal activity):  $d \geq 5$*

Taux de réduction minimum sur les levures et moisissures (activité levuricide et fongicide) :  
 $d \geq 4$

*Minimal reduction rate on yeasts and moulds (yeasticidal and fungicidal activity):  $d \geq 4$*

Taux de réduction minimum sur les spores de bactéries (activité sporicide) :  $d \geq 3$

*Minimal reduction rate on bacteria spores (sporicidal activity):  $d \geq 3$*

## 7. Conclusion (*Conclusion*)

Le procédé **AEROSEPT 500** associé à la formule **2122000** à **7 ml/m<sup>3</sup>** présente une activité bactéricide. vis-à-vis des souches : ***Pseudomonas aeruginosa***, ***Escherichia coli***, ***Enterococcus hirae***, ***Staphylococcus aureus*** en **30 minutes** de contact selon la norme NF T 72-281 (novembre 2014) dans les conditions obligatoires de la norme.

*The process **AEROSEPT 500** with the formula **2122000** at **7ml/m<sup>3</sup>** presents a bactericidal activity against : ***Pseudomonas aeruginosa***, ***Escherichia coli***, ***Enterococcus hirae***, ***Staphylococcus aureus*** after a **30 minute** contact time according to the standard NF T 72-281 (November 2014) in the obligatory conditions of the standard.*

Le procédé **AEROSEPT 500** associé à la formule **2122000** à **7ml/m<sup>3</sup>** présente une activité levuricide vis-à-vis de la souche : ***Candida albicans*** en **15 minutes** de contact selon la norme NF T 72-281 (novembre 2014) dans les conditions obligatoires de la norme.

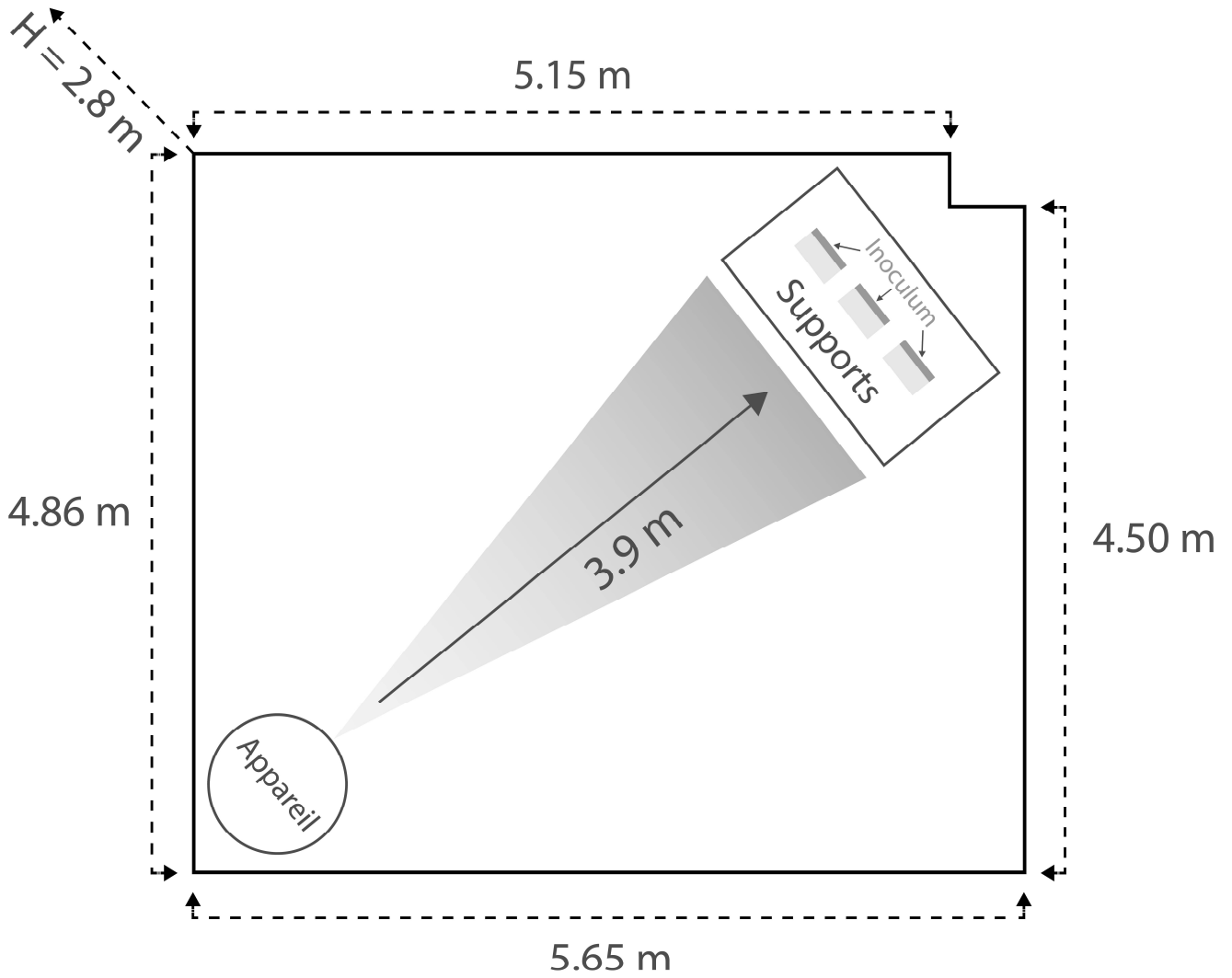
*The process **AEROSEPT 500** with the formula **2122000** at **7ml/m<sup>3</sup>** presents a yeasticidal activity against: ***Candida albicans*** after a **15 minute** contact time according to the standard NF T 72-281 (November 2014) in the obligatory conditions of the standard.*

Le procédé **AEROSEPT 500** associé à la formule **2122000** à **7ml/m<sup>3</sup>** présente une activité sporicide et fongicide vis-à-vis des souches : ***Bacillus subtilis*** et ***Aspergillus brasiliensis*** en **120 minutes** de contact selon la norme NF T 72-281 (novembre 2014) dans les conditions obligatoires de la norme.

*The process **AEROSEPT 500** with the formula **2122000** at **7ml/m<sup>3</sup>** presents a sporicidal and fungicidal activity against : ***Bacillus subtilis*** and ***Aspergillus brasiliensis*** after a **120 minute** contact time according to the standard NF T 72-281 (November 2014) in the obligatory conditions of the standard.*

## 8. Annexe

Schéma de la salle : *Diagram of the room*



## Données expérimentales – Experimental data

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
NORME T 72-281  
(Novembre 2014)

Réf: FS64K  
Date : 10/12/14

### Annexe 1 : Bactéries Staphylococcus aureus

	Inclusion ( N1 )		Filtration ( N2 )		Calcul de N1 et N2
	-6	-7	-6	-7	
					$N1 = \left( \frac{177+209+16+13}{2,2} \right) \times 10^6 = 1,9E+08 \text{ germes/ml}$ $5.10^7 \text{ UFC/ml} > N1 > 2.10^8 \text{ UFC/ml} \rightarrow \text{Conforme}$
24 heures	177	16	+	18	$N2 = \left( \frac{18+24}{2} \right) \times 10^7 = 2.1E+08 \text{ germes/ml}$ $5.10^7 \text{ UFC/ml} > N2 > 2.10^8 \text{ UFC/ml} \rightarrow \text{Conforme}$
	209	13	+	24	
48 heures	177	16	+	18	
	209	13	+	24	

	Support 1		Support 2		Support1		Support2		Calcul de n1, n2, n3
	-6	-7	-6	-7	-6	-7	-6	-7	
									$n1 = 2,0E+08 \text{ UFC / mL}$ $n1 > 0,5 N1 \rightarrow \text{Conforme}$
24 heures	186	25	197	21	+	19	193	22	$n2 = 1,9E+08 \text{ UFC / mL}$ $n2 > 0,5 N2 \rightarrow \text{Conforme}$
48 heures	186	25	197	21	+	19	193	22	$n3 = 2,0E+08 \text{ UFC / mL}$ $n3 > 0,5 N1 \rightarrow \text{Conforme}$
	n1				n2		n3		

	T1		T2		T moyen
	-2	-3	-2	-3	
					$T = \left( \frac{48+68}{2} \right) \times 1000 \times 100 = 5,8E+06 \text{ germes/support}$
24 heures	+	44	+	72	$\text{Log T moyen} = 6,8$ $T \geq 1.10^6 \text{ UFC / support}$
	+	51	+	64	
48 heures	+	44	+	72	$\text{Conforme}$
	+	51	+	64	

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i 1						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 2						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 3						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moy en } ) - \text{Log} ( n^1 \text{ moy en } + n^2 \text{ moy en } )$$

$$n^1 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$n^2 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 6,8 - 0 = 6,8 \text{ Log}$$

Conforme

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
NORME T 72-281  
(Novembre 2014)

Réf: FS64K  
Date : 10/12/14

Annexe 1 : Bactéries Escherichia coli

	Inclusion ( N1 )		Filtration ( N2 )			Calcul de N1 et N2	
	-6	-7	-6	-7			
						$N1 = \left( \frac{217+201+23+26}{2,2} \right) \times 10^6 = 2,1E+08$ germes/ml $5 \cdot 10^7 \text{ UFC/mL} > N1 > 2 \cdot 10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>	
24 heures	217 201	23 26	+	24 28			
48 heures	217 201	23 26	+	24 28		$N2 = \left( \frac{18+24}{2} \right) \times 10^7 = 2,6E+08$ germes/ml $5 \cdot 10^7 \text{ UFC/mL} > N2 > 2 \cdot 10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>	

	Support 1		Support 2			Support 1		Support 2			
	-6	-7	-6	-7		-6	-7	-6	-7		
						n1 =	2,2E+08	UFC / mL		n1 > 0,5 N1	<b>Conforme</b>
24 heures	209 24	221 23	+	20 21		n2 =	2,0E+08	UFC / mL		n2 > 0,5 N2	<b>Conforme</b>
48 heures	209 24	221 23	+	20 21		n3 =	2,1E+08	UFC / mL		n3 > 0,5 N1	<b>Conforme</b>
	n1		n2		n3						

	T1		T2			T moyen	
	-2	-3	-2	-3			
						$T = \left( \frac{169+28+32}{1,2} \right) \times 100 \times 100 = 2,1E+06$ germes/support	
24 heures	160 177	30 25	+	41 23		Log T moyen	
48 heures	160 177	30 25	+	41 23		<b>6,3</b>	T ≥ 1.10 <sup>6</sup> UFC / support <b>Conforme</b>

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i						
24 heures		0	0	0	0	11	0
48 heures		0	0	0	0	11	0
	1						
24 heures		0	0	0	0	17	0
48 heures		0	0	0	0	17	0
	2						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	3						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moy en } ) - \text{Log} ( n^1 \text{ moy en } + n^2 \text{ moy en } )$$

$$n^1 \text{ moy en } = ( 13 + 20 + 0 ) / 3 = 11$$

$$n^2 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 6,3 - 1 = 5,3 \text{ Log}$$

Conforme

**FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS**  
**NORME T 72-281**  
*(Novembre 2014)*

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

**Annexe 1 : Bactéries Pseudomonas aeruginosa**

	Inclusion ( N1 )		Filtration ( N2 )		Calcul de N1 et N2	
	-6	-7	-6	-7		
					$N1 = \left( \frac{223+241+22+27}{2.2} \right) \times 10^6 = 2.3E+08$ germes/ml $5.10^7 \text{ UFC/mL} > N1 > 2.10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>	
24 heures	223	22	+	23		
	241	27	+	25		
48 heures	223	22	+	23		
	241	27	+	25	$N2 = \left( \frac{23+25}{2} \right) \times 10^7 = 2.4E+08$ germes/ml $5.10^7 \text{ UFC/mL} > N2 > 2.10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>	

	Support 1		Support 2		Support1	Support2	Support1	Support2	
	-6	-7	-6	-7	-6	-7	-6	-7	
									$n1 = 2.2E+08 \text{ UFC / mL}$ $n1 > 0.5 N1$ <b>Conforme</b>
24 heures	220	26	207	23	+	21	231	25	
									$n2 = 2.1E+08 \text{ UFC / mL}$ $n2 > 0.5 N2$ <b>Conforme</b>
48 heures	220	26	207	23	+	21	231	25	
	n1		n2		n3				$n3 = 2.3E+08 \text{ UFC / mL}$ $n3 > 0.5 N1$ <b>Conforme</b>

	T1		T2		T moyen	
	-2	-3	-2	-3		
					$T = \left( \frac{184+18+152+20}{2.2} \right) \times 100 \times 100 = 1.7E+06$ germes/support	
24 heures	174	18	143	17		
	194	18	161	22		
48 heures	174	18	143	17		
	194	18	161	22	$6,2$	$T \geq 1.10^6 \text{ UFC / support}$ <b>Conforme</b>



		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i 1						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 2						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 3						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moy en } ) - \text{Log} ( n'1 \text{ moy en } + n'2 \text{ moy en } )$$

$$n'1 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$n'2 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 6,2 - 0 = 6,2 \text{ Log}$$

Conforme

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
 NORME T 72-281  
 (Novembre 2014)

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

Annexe 1 : Bactéries *Enterococcus hirae*

	Inclusion ( N1 )		Filtration ( N2 )			Calcul de N1 et N2	
	-6	-7	-6	-7		N1	N2
						$N1 = \left( \frac{221+210+21+25}{2.2} \right) \times 10^6 = 2.2E+08 \text{ germes/ml}$	$5.10^7 \text{ UFC/mL} > N1 > 2.10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>
24 heures	221 210	21 25	+	24 22		$N2 = \left( \frac{24+22}{2} \right) \times 10^7 = 2.3E+08 \text{ germes/ml}$	$5.10^7 \text{ UFC/mL} > N2 > 2.10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>
48 heures	221 210	21 25	+	24 22			

	Support 1		Support 2		Support 1		Support 2		
	-6	-7	-6	-7	-6	-7	-6	-7	
									$n1 = 2.2E+08 \text{ UFC/ mL}$ $n1 > 0.5 N1$ <b>Conforme</b>
24 heures	231 22	214 16	+	24 223	21				$n2 = 2.4E+08 \text{ UFC/ mL}$ $n2 > 0.5 N2$ <b>Conforme</b>
48 heures	231 22	214 16	+	24 223	21				$n3 = 2.2E+08 \text{ UFC/ mL}$ $n3 > 0.5 N1$ <b>Conforme</b>
	n1		n2		n3				

	T 1		T 2		T moyen	
	-2	-3	-2	-3	T	Log T moyen
					$T = \left( \frac{50+62}{2} \right) \times 1000 \times 100 = 5.6E+06 \text{ germes/support}$	
24 heures	+	48 51	+	64 60	6,8	$T \geq 1.10^6 \text{ UFC/ support}$ <b>Conforme</b>
48 heures	+	48 51	+	64 60		

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i 1						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 2						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 3						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moyen } ) - \text{Log} ( n'1 \text{ moyen } + n'2 \text{ moyen } )$$

$$n'1 \text{ moyen} = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$n'2 \text{ moyen} = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 6,8 - 0 = 6,8 \text{ Log}$$

Conforme

**FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS**  
**NORME T 72-281**  
*(Novembre 2014)*

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

**Annexe 2 : Levures Candida albicans**

	Inclusion ( N1 )		Filtration ( N2 )			Calcul de N1 et N2	
	-5	-6	-5	-6			
						$N1 = \left( \frac{209+204+20+23}{2.2} \right) \times 10^5 = 2.1E+07 \text{ germes/ml}$	$2.10^7 \text{ UFC/mL} > N1 > 1.10^4 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>
24 heures	209 214	20 23	+	22 24		$N2 = \left( \frac{22+24}{2} \right) \times 10^5 = 2.3E+07 \text{ germes/ml}$	$2.10^7 \text{ UFC/mL} > N2 > 1.10^4 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>
48 heures	209 214	20 23	+	22 24			

	Support 1		Support 2			Support1	Support2	Support1	Support2	
	-5	-6	-5	-6						
										$n1 = 2.2E+07 \text{ UFC / mL}$ $n1 > 0.5 N1$ <b>Conforme</b>
24 heures	212 24	226 22	+	24	231	20				$n2 = 2.4E+07 \text{ UFC / mL}$ $n2 > 0.5 N2$ <b>Conforme</b>
48 heures	212 24	226 22	+	24	231	20				$n3 = 2.3E+07 \text{ UFC / mL}$ $n3 > 0.5 N1$ <b>Conforme</b>
	n1		n2		n3					

	T1		T2			T moyen	
	-1	-2	-1	-2			
						$T = \left( \frac{71+63}{2} \right) \times 100 \times 100 = 6.7E+05 \text{ germes/support}$	
24 heures	+	67 74	+	60 66			
48 heures	+	67 74	+	60 66			
					<b>5,8</b>	$T \geq 1.10^4 \text{ UFC / support}$ <b>Conforme</b>	

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i						
24 heures		0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i						
24 heures		0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i						
24 heures		0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moy en } ) - \text{Log} ( n'1 \text{ moyen } + n'2 \text{ moy en } )$$

$$n'1 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$n'2 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 5,8 - 0 = 5,8 \text{ Log}$$

Conforme

**FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS**  
**NORME T 72-281**  
*(Novembre 2014)*

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

**Annexe 3 : Bactéries sporulées Bacillus subtilis**

	Inclusion ( N1 )		Filtration ( N2 )			Calcul de N1 et N2	
	-3	-4	-3	-4		N1	N2
						$N1 = \left( \frac{228+234+24+20}{2.2} \right) \times 10^3 = 2.3E+05$ germes/ml $2 \cdot 10^2 \text{ UFC/mL} > N1 > 5 \cdot 10^2 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>	
48 heures	228	24	+	23		$N2 = \left( \frac{23+21}{2} \right) \times 10^3 = 2.2E+05$ germes/ml $2 \cdot 10^2 \text{ UFC/mL} > N2 > 5 \cdot 10^2 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>	
	234	20	+	21			
72 heures	228	24	+	23			
	234	20	+	21			

	Support 1		Support 2			Support1		Support2		
	-3	-4	-3	-4		-3	-4	-3	-4	
										n1 = 2.4E+05 UFC/ mL n1 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>
48 heures	231	23	248	22	+	24	230	20		n2 = 2.4E+05 UFC/ mL n2 > 0,5 N2 <b>Conforme</b>
72 heures	231	23	248	22	+	24	230	20		n3 = 2.3E+05 UFC/ mL n3 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>
	n1					n2		n3		

	T1		T2			T moyen	
	0	-1	0	-1		T	
						$T = \left( \frac{42+42}{2} \right) \times 1 \times 100 = 4.2E+05$ germes/s support	
48 heures	+	40	+	37		<b>4,6</b>	
	+	43	+	46			
72 heures	+	40	+	37			
	+	43	+	46			
						<b>Log T moyen</b>	$T \geq 1.10^4 \text{ UFC/ support}$ <b>Conforme</b>

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i 1						
48 heures		0	0	0	0	10	0
72 heures		0	0	0	0	10	0
	E s s a i 2						
48 heures		0	0	0	1	24	0
72 heures		0	0	0	1	24	0
	E s s a i 3						
48 heures		0	0	0	2	35	0
72 heures		0	0	0	2	35	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moyen } ) - \text{Log} ( n^1 \text{ moyen } + n^2 \text{ moyen } )$$

$$n^1 \text{ moyen} = ( 11 + 28 + 40 ) / 3 = 26$$

$$n^2 \text{ moyen} = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 4,6 - 1,4 = 3,2 \text{ Log}$$

Conforme

**FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS**  
**NORME T 72-281**  
*(Novembre 2014)*

Réf : FS64K  
 Date : 10/12/14

**Annexe 4 : Moisissures *Aspergillus brasiliensis***

	-5	-6	-5	-6		
42 à 48 heures	84	8	40	43	4	3
	90	6	45	41	3	5
66 à 72 heures	84	8	40	43	4	3
	90	6	45	41	3	5
86 à 96 heures	84	8	40	43	4	3
	90	6	45	41	3	5

N1	$\left( \frac{92+100}{2} \right) \times 10^5 = 8,7E+06$ germes/ml
	$5 \cdot 10^4 \text{ UFC/ml} > N1 > 1 \cdot 10^7 \text{ UFC/ml} \rightarrow$ <b>Conforme</b>
N2	$\left( \frac{40+45+43+41}{2} \right) \times 10^5 = 8,5E+06$ germes/ml
	$5 \cdot 10^4 \text{ UFC/ml} > N2 > 1 \cdot 10^7 \text{ UFC/ml} \rightarrow$ <b>Conforme</b>

	Support 1		Support 2		Support1		Support2		
	-5	-6	-5	-6	-5	-5	-5	-6	
42 à 48 heures	92	10	98	9	40	44	91	8	n1 = 9,5E+06 UFC/ mL n1 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>
66 à 72 heures	92	10	98	9	40	44	91	8	n2 = 8,4E+06 UFC/ mL n2 > 0,5 N2 <b>Conforme</b>
86 à 96 heures	92	10	98	9	40	44	91	8	n3 = 9,1E+06 UFC/ mL n3 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>
	n1		n2		n3				

	T1		T2		T moyen	
	-1	-2	-1	-2		
42 à 48 heures	+	96	+	102	$T = \left( \frac{92+100}{2} \right) \times 100 \times 100 = 9,6E+05$ germes/support	
	+	88	+	97		
66 à 72 heures	+	96	+	102	Log T moyen	
	+	88	+	97	6	T $\geq$ 1.10 <sup>6</sup> UFC/ support <b>Conforme</b>
86 à 96 heures	+	96	+	102		
	+	88	+	97		



		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
42 à 48 heures	E s s a i 1	0	0	0	0	0	0
66 à 72 heures		0	0	0	0	0	0
86 à 96 heures		0	0	0	0	0	0
42 à 48 heures	E s s a i 2	0	0	0	0	0	0
66 à 72 heures		0	0	0	0	0	0
86 à 96 heures		0	0	0	0	0	0
42 à 48 heures	E s s a i 3	0	0	0	0	0	0
66 à 72 heures		0	0	0	0	0	0
86 à 96 heures		0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moyen } ) - \text{Log} ( n'1 \text{ moyen } + n'2 \text{ moyen } )$$

$$n'1 \text{ moyen} = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$n'2 \text{ moyen} = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 6 - 0 = 6 \text{ Log}$$

Conforme

# Direction Scientifique

## Liste des signataires du document



Nom\_utilisateur : Chrystèle Pluchart  
Titre : Responsable Laboratoire de Microbiologie  
Date : jeudi, 24 août 2017, 07:29 Paris  
Signification : Validation de document



Nom\_utilisateur : Gaetan Rauwel  
Titre : Directeur Recherche et Développement  
Date : jeudi, 24 août 2017, 08:08 Paris  
Signification : Validation de document

=====  
N Demande : 32215  
Rapport d'essai : A 15 11 281 M  
  
Etude : NF T 72-281  
  
Date du document : 17/08/2017  
=====

SAINGHIN EN MELANTOIS, le 17 août 2017

SAINGHIN EN MÉLANTOIS, on the August 17<sup>th</sup> 2017

1ère édition : 11/02/2015

First edition : 11/02/2015

Rapport N° : A 15 12 281 M

Test report N° : A 15 12 281 M

## 1. Objet de la demande (*Study Number*) n° 32216

**Aerosept 500**, procédé de désinfection des surfaces par voie aérienne.

Détermination de l'activité bactéricide, levuricide, fongicide et sporicide de la formule **2122000** selon la norme NF T 72-281 (novembre 2014).

**Aerosept 500**, process of airborne disinfection of surfaces.

Determination of the bactericidal, yeasticidal, fungicidal and sporicidal activity of the formula **2122000** according to the standard NF T 72-281 (November 2014)

Annule et remplace le rapport A 15 12 281 du 11 février 2015.

*Annul and replace the report A 15 12 281 of 11<sup>th</sup> February 2015*

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci après) soumis à l'essai.

*This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval*

Ce document comporte 24 pages numérotées et 1 annexe de 16 pages

*This report is made of numbered 24 pages and 1 annex of 16 pages*

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

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

## 2. Sommaire (*Summary*)

1. Objet de la demande ( <i>Study Number</i> ) n° 32216	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
6. Résultats ( <i>Results</i> )	6
6.1. Essai préliminaire ( <i>Preliminary test</i> )	6
6.2. Essai proprement dit ( <i>Actual test</i> )	7
7. Conclusion ( <i>Conclusion</i> )	8
8. Annexe	9

### 3. Introduction (*Introduction*)

L'essai a été réalisé selon le protocole décrit dans la norme française homologuée NF T 72.281 " PROCEDE DE DESINFECTION PAR VOIE AERIENNE ".

Détermination de l'activité bactéricide, levuricide, fongicide ,sporicide.

*The test is performed according to the protocol determined by the French experimental standard T 72-281 "PROCESS OF AIRBORNE DISINFECTION OF SURFACES ".*

*Determination of the bactericidal, yeasticidal, fungicidal , sporicidal activity.*

Les résultats obtenus avec les conditions obligatoires sont reportés dans le rapport N° 32215.

*The results obtained with the obligatory conditions were carried out in the expert report N° 32215.*

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

Code formule	<b>2122000</b>
<i>Code formula</i>	
Numéro d'identification de l'échantillon	<b>7246 14 12 281</b>
<i>Identification of the sample</i>	
Numéro de lot	<b>S 309-80</b>
<i>Batch number</i>	
Fabricant	<b>Laboratoires ANIOS</b>
<i>Manufacturer</i>	
Date de réception au laboratoire	Le 08/12/14
<i>Receipt date at the laboratory</i>	<i>On the 08/12/14</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	Acide péracétique (N° CAS 79-21-0) : +/- 1200 ppm
<i>Activ substances</i>	<i>Peracetic acid (N° CAS 79-21-0) : +/- 1200 ppm</i>
Période d'essai	Du 17/12/14 au 22/12/14
<i>Period of analysis</i>	<i>From 17/12/14 to 22/12/14</i>

## 5. Méthode expérimentale (Experimental Method)

### 5.1. Conditions expérimentales (Experimental conditions)

Appareil Apparatus	<b>AEROSEPT 500</b> <b>Lot (Batch) ASP0017 du 10/10/14</b>	
Code formule testée Tested code formula	<b>2122000</b>	
Dosage Assay	<b>7 ml / m3</b>	
Quantité de produit utilisé lors de l'essai Quantity of product used during the test	2123 ml	
Temps de diffusion du produit Time of diffusion of the product	120 min	
Dimension du local d'essai Test room size	L(l) : 13,80 m ; l(w) :8m ; h (h)2,72 m	
Surface totale / Volume Total surface/ Volume	1,06	
Volume du local d'essai (Volume of the test room )	Essais complémentaires : volume > 150 m <sup>3</sup>  Additional tests: volume> 150 m3	300 m <sup>3</sup>
Température Temperature	Avant essai (Before testing) : (20°C ± 2°C)	Avant essai (Before testing) : 21,7°C Après essai (After testing) :19,9°C
Hygrométrie Humidity	Avant essai (Before testing) : 40 à (to) 80%	Avant essai (Before testing) : 57,3% Après essai (After testing) : 67,4%
Nature du support ( Nature of the carrier)	inox 4 cm de diameter (stainless steel – 4 cm diameter)	
Distance par rapport à la source Distance to the source	3.9 m sur hauteur comprise entre 1 m et 1m50 (Cf Annexe B – T 72 281 – nov 2014)  9 m in height between 1 m and 1.50 m (See Appendix B - T 72281 - Nov. 2014)	

Temps d'exposition des supports d'essais	30 min : bactéries (bacteria) 15 min : <i>Candida albicans</i>
<i>Exposure time of the carriers</i>	120 minutes : <i>Bacillus subtilis, Aspergillus brasiliensis</i>
Souches testées	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ <b>Pseudomonas aeruginosa CIP 103 467 (equivalent ATCC 15442)</b></li> <li>○ <b>Escherichia coli CIP 24 127 (equivalent ATCC 105 36)</b></li> <li>○ <b>Staphylococcus aureus CIP 4.83 (equivalent ATCC 6538)</b></li> <li>○ <b>Enterococcus hirae CIP 58 55 (equivalent ATCC 10541)</b></li> </ul>
<i>Tested strains</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ <b>Candida albicans DSM 1386 (equivalent ATCC 10231)</b></li> <li>○ <b>Aspergillus brasiliensis ATCC 16404</b></li> <li>○ <b>Bacillus subtilis CIP 5262 (equivalent ATCC 6633)</b></li> </ul>
Substance interférente	Condition de propreté : Lait 1/20ème
<i>Interfering substance</i>	<i>Clean conditiosn : Milk 1/20ème</i>
Liquide de rinçage et de récupération	Solution de tryptone sel Tween
<i>Rinsing and recovery liquid</i>	<i>Tween Tryptone salt solution</i>
Volume du liquide de récupération	100 ml
<i>Recovery Liquid volume</i>	
Agitation + grattage des supports	1 min
<i>Shaking + scrapping of the support</i>	
Nature des membranes	MILLIPORE HAWG en ester de cellulose, 0.45 µm , stérile
<i>Nature of the membranes</i>	<i>MILLIPORE HAWG made of cellulose ester, 0.45µm, sterile</i>
Nombre de rinçage ( <i>Rinsing steps</i> )	3
Volume utilisé pour chaque rinçage	50 ml
<i>Volume used for each rinsing</i>	

## 6. Résultats ( Results )

### 6.1. Essai préliminaire (Preliminary test)

Recherche d'un effet inhibiteur sur support, en gélose et sur membrane filtrante éventuellement dû aux restes de désinfectant transportés par les supports.

*Searching of an inhibiting effect on carrier, agar and on filter membrane possibly due to the residues of disinfectant transported by the carriers.*

Souches test	Nombre de cellules viables (UFC/ml) (Number of viable cells(CFU/ml))				
	Suspension d'essai Dénombrement par inclusion	Suspension d'essai Dénombrement par filtration	Recherche effet inhibiteur en gélose	Recherche effet inhibiteur sur membrane	Recherche effet inhibiteur du support en gélose
Tested strains	<i>Test suspension Counting by pour method</i>	<i>Test suspension Counting by filtration</i>	<i>Searching for the inhibiting effect on agar</i>	<i>Searching for the inhibiting effect on membrane</i>	<i>Searching for the inhibiting effect due to the carriers</i>
	<i>N1</i>	<i>N2</i>	<i>n1</i>	<i>n2</i>	<i>n3</i>
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	4,0 10 <sup>8</sup>	3,8 10 <sup>8</sup>	4,1 10 <sup>8</sup>	4,3 10 <sup>8</sup>	4,1 10 <sup>8</sup>
<b>Escherichia coli</b>	2,9 10 <sup>8</sup>	3,3 10 <sup>8</sup>	3,0 10 <sup>8</sup>	3,6 10 <sup>8</sup>	3,0 10 <sup>8</sup>
<b>Enterococcus hirae</b>	2.0 10 <sup>8</sup>	2.2 10 <sup>8</sup>	2.1 10 <sup>8</sup>	2.4 10 <sup>8</sup>	2.0 10 <sup>8</sup>
<b>Staphylococcus aureus</b>	2,0 10 <sup>8</sup>	2,2 10 <sup>8</sup>	2,0 10 <sup>8</sup>	2,4 10 <sup>8</sup>	2,0 10 <sup>8</sup>
<b>Candida albicans</b>	1,6 10 <sup>7</sup>	1,6 10 <sup>7</sup>	1,6 10 <sup>7</sup>	1,6 10 <sup>7</sup>	1,6 10 <sup>7</sup>
<b>Aspergillus brasiliensis</b>	9,1 10 <sup>6</sup>	8,7 10 <sup>6</sup>	8,9 10 <sup>6</sup>	8,2 10 <sup>6</sup>	9,0 10 <sup>6</sup>
<b>Bacillus subtilis</b>	2,3 10 <sup>5</sup>	2,3 10 <sup>5</sup>	2,3 10 <sup>5</sup>	2,6 10 <sup>5</sup>	2,3 10 <sup>5</sup>

### Interprétation :

Pour les bactéries : N est compris entre 5 10<sup>7</sup> et 2 10<sup>9</sup> UFC / ml  
*For bacteria : N is comprised between 5 10<sup>7</sup> and 2 10<sup>9</sup> UFC / ml*

Pour les levures : N est compris entre 1 10<sup>7</sup> et 2 10<sup>8</sup> UFC / ml  
*For yeasts: N is comprised between 1 10<sup>7</sup> and 2 10<sup>8</sup> UFC / ml*

Pour les moisissures : N compris entre à 5 10<sup>6</sup> et 1 10<sup>7</sup> UFC / ml UFC / ml  
*For moulds: N is comprised between 5 10<sup>6</sup> and 1 10<sup>7</sup> UFC / ml*

Pour les spores de bactéries : N est compris entre à 2 10<sup>5</sup> et 5 10<sup>5</sup> UFC / ml  
*For spores of bacteria : N is comprised between 2 10<sup>5</sup> and 5 10<sup>5</sup> UFC / ml*

Si n1 > 0.5 N1, n3 > 0.5 N1 et n2 > 0.5 N2, les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

*If n1 > 0.5 N1, n3 > 0.5 N1 et n2 > 0.5 N2, the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.*



## 6.2. Essai proprement dit (*Actual test*)

	Nombre de cellules viables (UFC/ml ou support) ( <i>Number of viable cells(CFU/ml or carrier)</i> )			
Souches test	Dénombrement des microorganismes sur les supports	Dénombrement moyen des microorganismes survivants dans 100ml de liquide de reprise	Dénombrement moyen des microorganismes par inclusion du porte germes essai	Taux de reduction $d = \log T - \log (n'1 + n'2)$
<i>Tested strains</i>	<i>Counting microorganisms on carriers</i>	<i>Average counting surviving microorganisms in 100ml of recovery liquid</i>	<i>Average counting microorganisms by inclusion carrier test</i>	<i>Reduction rate <math>d = \log T - \log (n'1 + n'2)</math></i>
	<i>T</i>	<i>n'1</i>	<i>n'2</i>	<i>d</i>
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	2,3 10 <sup>6</sup>	0	0	6,4 log
<b>Escherichia coli</b>	2,2 10 <sup>6</sup>	0	0	6,3 log
<b>Enterococcus hirae</b>	4,4 10 <sup>6</sup>	0	0	6,6 log
<b>Staphylococcus aureus</b>	4,1 10 <sup>6</sup>	3,3	0	6,1 log
<b>Candida albicans</b>	1,1 10 <sup>6</sup>	0	0	6,0 log
<b>Aspergillus brasiliensis</b>	1,1 10 <sup>6</sup>	20	0	4,7 log
<b>Bacillus subtilis</b>	3,1 10 <sup>4</sup>	0	0	4,5 log

Pour les souches soumises à l'essai (*For the strains to be tested*)

T doit être de 1 Log au dessus des réductions logarithmiques des souches testées (Annexe D – NF T 72-281 (novembre 2014))

*must be 1 log above the log reductions for the tested strains (Appendix D - NF T 72-281 (November 2014))*

n'1 Dénombrement moyen des microorganismes survivants dans 100 ml de liquide de récupération

*Average counting of surviving microorganisms in 100ml of recovery liquid*

n'2 Dénombrement moyen des microorganismes survivants par inclusion du porte germe en gélose

*Average counting of surviving microorganisms by carrier inclusion in agar*

### Interprétation : *Interpretation*

Taux de réduction minimum sur les bactéries (activité bactéricide) :  $d \geq 5$

*Minimal reduction rate on bacteria (bactericidal activity):  $d \geq 5$*

Taux de réduction minimum sur les levures et moisissures (activité levuricide et fongicide) :

$d \geq 4$

*Minimal reduction rate on yeasts and moulds (yeasticidal and fungicidal activity):  $d \geq 4$*

Taux de réduction minimum sur les spores de bactéries (activité sporicide) :  $d \geq 3$

*Minimal reduction rate on bacteria spores (sporicidal activity):  $d \geq 3$*

## 7. Conclusion (Conclusion)

Le procédé **AEROSEPT 500** associé à la formule **2122000** à **7 ml/m<sup>3</sup>** présente une activité bactéricide vis-à-vis des souches : ***Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus hirae*, *Staphylococcus aureus*** en **30 minutes** de contact selon la norme NF T 72-281 (novembre 2014) dans les conditions complémentaires obligatoires de la norme. Les résultats sont conformes aux exigences requises dans les conditions expérimentales obligatoires (Cf : Rapport : 32215) et dans les conditions complémentaires obligatoires.

*The process **AEROSEPT 500** with the formula **2122000** at **7ml/m<sup>3</sup>** presents a bactericidal activity against : ***Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterococcus hirae*, *Staphylococcus aureus*** after a **30 minute** contact time according to the standard NF T 72-281 (November 2014) in the obligatory complementary conditions of the standard.*

*The results are consistent with the requirements in the obligatory experimental conditions (See: Report: 32215) and in the obligatory additional conditions.*

Le procédé **AEROSEPT 500** associé à la formule **2122000** à **7ml/m<sup>3</sup>** présente une activité levuricide vis-à-vis de la souche : ***Candida albicans*** en **15 minutes** de contact selon la norme NF T 72-281 (novembre 2014) dans les conditions complémentaires obligatoires de la norme. Les résultats sont conformes aux exigences requises dans les conditions expérimentales obligatoires (Cf : Rapport : 32215) et dans les conditions complémentaires obligatoires.

*The process **AEROSEPT 500** with the formula **2122000** at **7ml/m<sup>3</sup>** presents a yeasticidal activity against: ***Candida albicans*** after a **15 minute** contact time according to the standard NF T 72-281 (November 2014) in the obligatory complementary conditions of the standard.*

*The results are consistent with the requirements in the obligatory experimental conditions (See: Report: 32215) and in the obligatory additional conditions.*

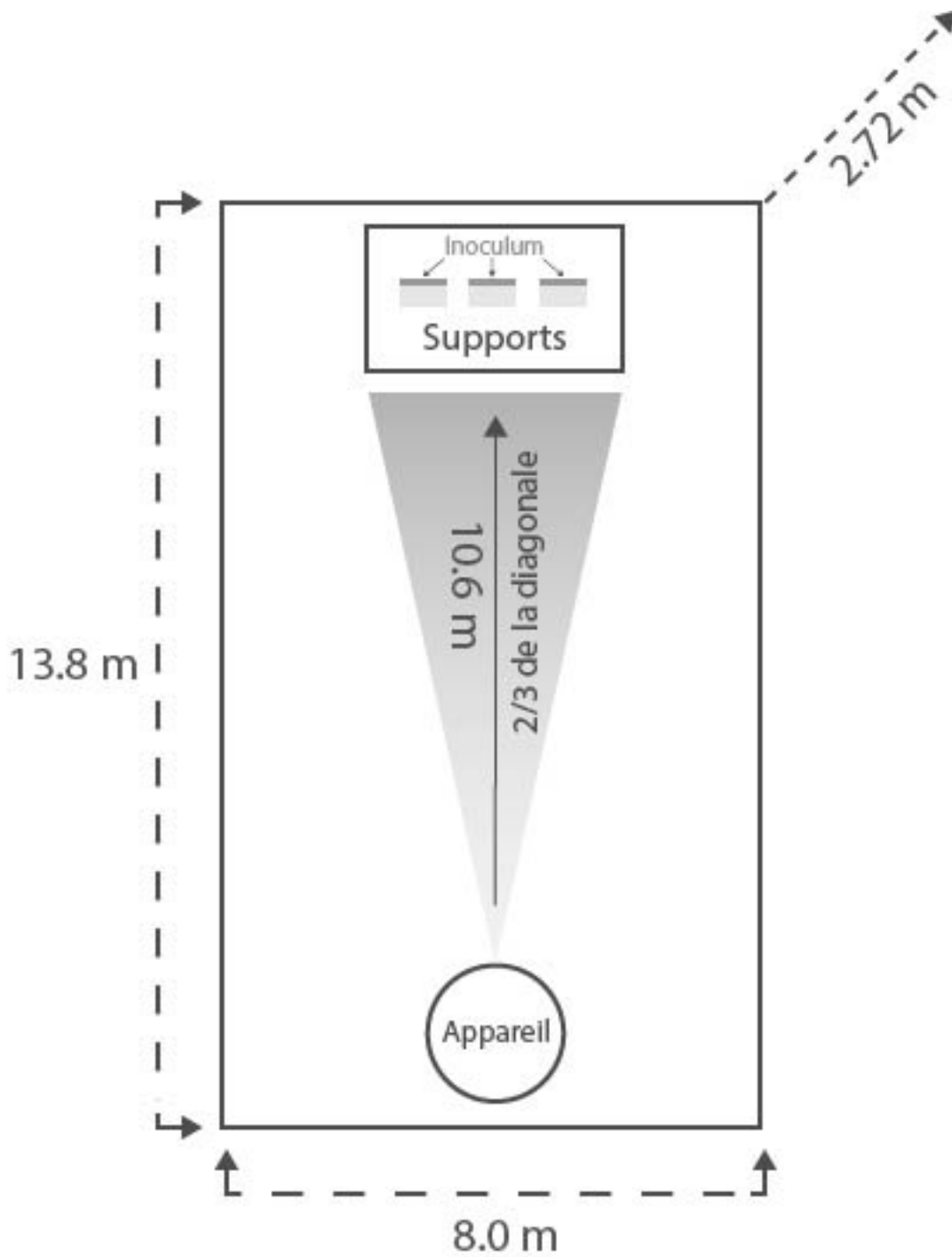
Le procédé **AEROSEPT 500** associé à la formule **2122000** à **7ml/m<sup>3</sup>** présente une activité sporicide et fongicide vis-à-vis des souches : ***Bacillus subtilis* et *Aspergillus brasiliensis*** en **120 minutes** de contact selon la norme NF T 72-281 (novembre 2014) dans les conditions complémentaires obligatoires de la norme. Les résultats sont conformes aux exigences requises dans les conditions expérimentales obligatoires (Cf : Rapport : 32215) et dans les conditions complémentaires obligatoires.

*The process **AEROSEPT 500** with the formula **2122000** at **7ml/m<sup>3</sup>** presents a sporicidal and fungicidal activity against : ***Bacillus subtilis* and *Aspergillus brasiliensis*** after a **120 minute** contact time according to the standard NF T 72-281 (November 2014) in the obligatory complementary conditions of the standard.*

*The results are consistent with the requirements in the obligatory experimental conditions (See: Report: 32215) and in the obligatory additional conditions.*

## 8. Annexe

Schéma de la salle : *Diagram of the room*



## Données expérimentales – Experimental data

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
NORME T 72-281  
(Novembre 2014)

Réf: FS64K  
Date : 10/12/14

### Annexe 1 : Bactéries Enterococcus hirae

	Inclusion ( N1 )		Filtration ( N2 )			Calcul de N1 et N2	
	-6	-7	-6	-7		N1	N2
						$N1 = \left( \frac{202+187+18+24}{2.2} \right) \times 10^6 = 2.0E+08 \text{ germes/ml}$	$5.10^7 \text{ UFC/mL} > N1 > 2.10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow \text{Conforme}$
24 heures	202	18	>165	23		$N2 = \left( \frac{23+20}{2} \right) \times 10^7 = 2.2E+08 \text{ germes/ml}$	$5.10^7 \text{ UFC/mL} > N2 > 2.10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow \text{Conforme}$
	187	24	>165	20			
48 heures	202	18	>165	23			
	187	24	>165	20			

	Support 1		Support 2			Support 1		Support 2			
	-6	-7	-6	-7		-6	-7	-6	-7		
						n1 = 2,1E+08 UFC/ mL	n1 > 0,5 N1			Conforme	
24 heures	207	23	217	21	>165	24	201	22	n2 = 2,4E+08 UFC/ mL	n2 > 0,5 N2	Conforme
48 heures	207	23	217	21	>165	24	201	22	n3 = 2,0E+08 UFC/ mL	n3 > 0,5 N1	Conforme
						n1	n2	n3			

	T1		T2			T moyen	
	-2	-3	-2	-3		T	Log T moyen
						$T = \left( \frac{46+42}{2} \right) \times 1000 \times 100 = 4.4E+06 \text{ germes/support}$	
24 heures	+	41	+	38		6,6	$T \geq 1.10^6 \text{ UFC/ support}$
	+	50	+	46			
48 heures	+	41	+	38			Conforme
	+	50	+	46			

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
 NORME T 72-281  
 (Novembre 2014)

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i 1						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 2						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 3						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moy en } ) - \text{Log} ( n^1 \text{ moy en } + n^2 \text{ moy en } )$$

$$n^1 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$n^2 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 6,6 - 0 = 6,6 \text{ Log}$$

Conforme

**FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS**  
**NORME T 72-281**  
*(Novembre 2014)*

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

**Annexe 1 : Bactéries Staphylococcus aureus**

	-6	-7	-6	-7	
					$N1 = \left( \frac{193+198+22+22}{2,2} \right) \times 10^6 = 2,0E+08$ germes/ml $5 \cdot 10^7 \text{ UFC/mL} > N1 > 2 \cdot 10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>
24 heures	193	22	+	20	
	198	22	+	23	
48 heures	193	22	+	20	
	198	22	+	23	$N2 = \left( \frac{23+20}{2} \right) \times 10^7 = 2,2E+08$ germes/ml $5 \cdot 10^7 \text{ UFC/mL} > N2 > 2 \cdot 10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>

	Support 1		Support 2		Support1	Support2	Support1	Support2	
	-6	-7	-6	-7	-6	-7	-6	-7	
									n1 = 2,0E+08 UFC / mL n1 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>
24 heures	186	21	198	26	+	24	204	21	n2 = 2,4E+08 UFC / mL n2 > 0,5 N2 <b>Conforme</b>
48 heures	186	21	198	26	+	24	204	21	n3 = 2,0E+08 UFC / mL n3 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>
	n1				n2		n3		

	T1		T2		T moyen	
	-2	-3	-2	-3		
					$T = \left( \frac{42+39}{2} \right) \times 1000 \times 100 = 4,1E+06$ germes/support	
24 heures	+	40	+	37	Log T moyen	
	+	44	+	41	6,6	$T \geq 1 \cdot 10^6 \text{ UFC / support}$ <b>Conforme</b>
48 heures	+	40	+	37		
	+	44	+	41		

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
 NORME T 72-281  
 (Novembre 2014)

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i 1						
24 heures		0	0	0	0	9	0
48 heures		0	0	0	0	9	0
	E s s a i 2						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 3						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moyen } ) - \text{Log} ( n^1 \text{ moyen } + n^2 \text{ moyen } )$$

$$n^1 \text{ moyen } = ( 10 + 0 + 0 ) / 3 = 3,33$$

$$n^2 \text{ moyen } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 6,6 - 0,5 = 6,1 \text{ Log}$$

Conforme

**FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS**  
**NORME T 72-281**  
*(Novembre 2014)*

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

**Annexe 1 : Bactéries Escherichia coli**

	Inclusion ( N1 )		Filtration ( N2 )			Calcul de N1 et N2	
	-6	-7	-6	-7		N1	N2
						$N1 = \left( \frac{286+299+27+35}{2.2} \right) \times 10^6 = 2,9E+08$ germes/ml $5.10^7 \text{ UFC/mL} > N1 > 2.10^6 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>	
24 heures	286 299	27 35	+	28 38		$N2 = \left( \frac{28+38}{2} \right) \times 10^7 = 3,3E+08$ germes/ml $5.10^7 \text{ UFC/mL} > N2 > 2.10^6 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>	
48 heures	286 299	27 35	+	28 38			

	Support 1		Support 2			Support1		Support2		
	-6	-7	-6	-7		-6	-7	-6	-7	
						n1 = 3,0E+08	UFC / mL	n1 > 0,5 N1	<b>Conforme</b>	
24 heures	303 307	28 31	+	36 33	302 33	n2 = 3,6E+08	UFC / mL	n2 > 0,5 N2	<b>Conforme</b>	
48 heures	303 307	28 31	+	36 33	302 33	n3 = 3,0E+08	UFC / mL	n3 > 0,5 N1	<b>Conforme</b>	
	n1		n2		n3					

	T1		T2			T moyen	
	-2	-3	-2	-3		T	Log T moyen
						$T = \left( \frac{215+20+227+22}{2.2} \right) \times 100 \times 100 = 2,2E+06$ germes/support	
24 heures	209 221	22 18	236 217	24 20		<b>6,3</b>	T ≥ 1.10 <sup>6</sup> UFC / support
48 heures	209 221	22 18	236 217	24 20			<b>Conforme</b>



**FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS**  
**NORME T 72-281**  
*(Novembre 2014)*

**Réf: FS64K**  
**Date : 10/12/14**

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i						
24 heures	1	0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i						
24 heures	2	0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i						
24 heures	3	0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0

$R = \text{Log} ( T \text{ moy en } ) - \text{Log} ( n^1 \text{ moy en } + n^2 \text{ moy en } )$

$n^1 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$   
 $n^2 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$

$R = 6,3 - 0 = 6,3 \text{ Log}$

**Conforme**

**FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS**  
**NORME T 72-281**  
*(Novembre 2014)*

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

**Annexe 1 : Bactéries *Pseudomonas aeruginosa***

	Inclusion ( N1 )		Filtration ( N2 )		Calcul de N1 et N2
	-6	-7	-6	-7	
					$N1 = \left( \frac{42+38}{2} \right) \times 10^{-7} = 4,0E+08 \text{ germes/ml}$ $5 \cdot 10^7 \text{ UFC/mL} > N1 > 2 \cdot 10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow \text{Conforme}$
24 heures	+	42	+	36	$N2 = \left( \frac{36+40}{2} \right) \times 10^{-7} = 3,8E+08 \text{ germes/ml}$ $5 \cdot 10^7 \text{ UFC/mL} > N2 > 2 \cdot 10^8 \text{ UFC/mL} \rightarrow \text{Conforme}$
	+	38	+	40	
48 heures	+	42	+	36	
	+	38	+	40	

	Support 1		Support 2		Support1		Support2		Calcul
	-6	-7	-6	-7	-6	-7	-6	-7	
									$n1 = 4,1E+08 \text{ UFC / mL}$ $n1 > 0,5 N1 \rightarrow \text{Conforme}$
24 heures	+	44	+	37	+	43	+	41	$n2 = 4,3E+08 \text{ UFC / mL}$ $n2 > 0,5 N2 \rightarrow \text{Conforme}$
48 heures	+	44	+	37	+	43	+	41	$n3 = 4,1E+08 \text{ UFC / mL}$ $n3 > 0,5 N1 \rightarrow \text{Conforme}$
	n1				n2		n3		

	T 1		T2		T moyen	
	-2	-3	-2	-3		
					$T = \left( \frac{232+24+227+25}{2,2} \right) \times 100 \times 100 = 2,3E+06 \text{ germes/support}$	
24 heures	221	21	216	22	<b>Log T moyen</b> <div style="font-size: 2em; font-weight: bold; text-align: center;">6,4</div> $T \geq 1 \cdot 10^6 \text{ UFC / support}$ Conforme	
	243	26	237	28		
48 heures	221	21	216	22		
	243	26	237	28		

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i 1						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 2						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 3						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moy en } ) - \text{Log} ( n'1 \text{ moy en } + n'2 \text{ moy en } )$$

$$n'1 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$n'2 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 6,4 - 0 = 6,4 \text{ Log}$$

Conforme

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
NORME T 72-281  
(Novembre 2014)

Réf: FS64K  
Date : 10/12/14

Annexe 2 : Levures *Candida albicans*

	-5	-6	-5	-6	
					$N1 = \left( \frac{162+151+16+20}{2.2} \right) \times 10^5 = 1.6E+07$ germes/ml $2.10^7 \text{ UFC/mL} > N1 > 1.10^6 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>
24 heures	162	16	156	17	
	151	20	163	15	
48 heures	162	16	156	17	
	151	20	163	15	$N2 = \left( \frac{156+163+17+15}{2.2} \right) \times 10^5 = 1.6E+07$ germes/ml $2.10^7 \text{ UFC/mL} > N2 > 1.10^6 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>

	Support 1		Support 2		Support 1		Support 2		
	-5	-6	-5	-6	-5	-6	-5	-6	
									$n1 = 1.6E+07 \text{ UFC / mL}$ $n1 > 0.5 N1$ <b>Conforme</b>
24 heures	153	18	166	15	157	18	166	15	$n2 = 1.6E+07 \text{ UFC / mL}$ $n2 > 0.5 N2$ <b>Conforme</b>
48 heures	153	18	166	15	157	18	166	15	$n3 = 1.6E+07 \text{ UFC / mL}$ $n3 > 0.5 N1$ <b>Conforme</b>
	n1				n2		n3		

	T1		T2		T moyen	
	-1	-2	-1	-2		
					$T = \left( \frac{109+109}{2} \right) \times 100 \times 100 = 1.1E+06$ germes/support	
24 heures	+	101	+	96	Log T moyen	
	+	117	+	121	6,0	$T \geq 1.10^6 \text{ UFC / support}$ <b>Conforme</b>
48 heures	+	101	+	96		
	+	117	+	121		

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
 NORME T 72-281  
 (Novembre 2014)

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i 1						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 2						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0
	E s s a i 3						
24 heures		0	0	0	0	0	0
48 heures		0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moy en } ) - \text{Log} ( n^1 \text{ moy en } + n^2 \text{ moy en } )$$

$$n^1 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$n^2 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 6,0 - 0,0 = 6,0 \text{ Log}$$

Conforme

**FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS**  
**NORME T 72-281**  
*(Novembre 2014)*

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

**Annexe 3 : Bactéries sporulées Bacillus subtilis**

	Inclusion ( N1 )		Filtration ( N2 )			Calcul de N1 et N2	
	-3	-4	-3	-4			
						$N1 = \left( \frac{228+232+25+27}{2.2} \right) \times 10^2 = 2,3E+05$ germes/ml $2.10^2 \text{ UFC/mL} > N1 > 5.10^2 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>	
48 heures	228 232	25 27	>165 >165	22 24		$N2 = \left( \frac{22+24}{2} \right) \times 10^4 = 2,3E+05$ germes/ml $2.10^2 \text{ UFC/mL} > N2 > 5.10^2 \text{ UFC/mL} \rightarrow$ <b>Conforme</b>	
72 heures	228 232	25 27	>165 >165	22 24			

	Support 1		Support 2		Support1		Support2		
	-3	-4	-3	-4	-3	-4	-3	-4	
									n1 = 2,3E+05 UFC / mL n1 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>
48 heures	227 232	24 28	232 >165	28 26	>165 26	229 26	26 26		n2 = 2,6E+05 UFC / mL n2 > 0,5 N2 <b>Conforme</b>
72 heures	227 232	24 28	232 >165	28 26	>165 26	229 26	26 26		n3 = 2,3E+05 UFC / mL n3 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>
	n1		n2		n3				

	T 1		T 2		T moyen	
	0	-1	0	-1		
					$T = \left( \frac{308+314+28+33}{2.2} \right) \times 1 \times 100 = 3,1E+04$ germes/support	
48 heures	306 310	23 33	311 317	32 34		
72 heures	206 310	23 33	311 317	32 34	Log T moyen 4,5	$T \geq 1.10^4 \text{ UFC / support}$ <b>Conforme</b>

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
 NORME T 72-281  
 (Novembre 2014)

Réf : FS64K  
 Date : 10/12/14

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i						
48 heures		0	0	0	0	0	0
72 heures	1	0	0	0	0	0	0
		0	0	0			
	E s s a i						
48 heures		0	0	0	0	0	0
72 heures	2	0	0	0	0	0	0
		0	0	0			
	E s s a i						
48 heures		0	0	0	0	0	0
72 heures	3	0	0	0	0	0	0
		0	0	0			

$$R = \text{Log} ( T \text{ moy en } ) - \text{Log} ( n^1 \text{ moy en } + n^2 \text{ moy en } )$$

$$n^1 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$n^2 \text{ moy en } = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 4,5 - 0 = 4,5 \text{ Log}$$

Conforme

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
 NORME T 72-281  
 (Novembre 2014)

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

Annexe 4 : Moisissures *Aspergillus brasiliensis*

	-5	-6	-5	-6		
42 à 48 heures	88 93	9 7	46 44	43 41	4 3	5 4
66 à 72 heures	88 93	9 7	46 44	43 41	4 3	5 4
86 à 96 heures	88 93	9 7	46 44	43 41	4 3	5 4

N1 = $\left( \frac{88+93}{2} \right) \times 10^5 = 9,1E+06$ germes/ml
$5 \cdot 10^6$ UFC/mL > N1 > $1 \cdot 10^7$ UFC/mL → Conforme
N2 = $\left( \frac{46+44+43+41}{2} \right) \times 10^5 = 8,7E+06$ germes/ml
$5 \cdot 10^6$ UFC/mL > N2 > $1 \cdot 10^7$ UFC/mL → Conforme

	Support 1		Support 2		Support1	Support2	Support1	Support2	
	-5	-6	-5	-6	-5	-5	-5	-6	
42 à 48 heures	91	7	87	8	40	42	90	9	n1 = 8,9E+06 UFC / mL n1 > 0,5 N1 → Conforme
66 à 72 heures	91	7	87	8	40	42	90	9	n2 = 8,2E+06 UFC / mL n2 > 0,5 N2 → Conforme
86 à 96 heures	91	7	87	8	40	42	90	9	n3 = 9,0E+06 UFC / mL n3 > 0,5 N1 → Conforme

	T 1		T2		T moyen	
	-1	-2	-1	-2		
42 à 48 heures	+	109	+	102	T = $\left( \frac{112+105}{2} \right) \times 100 \times 100 = 1,1E+06$ germes/support	
66 à 72 heures	+	109	+	102	Log T moyen	
86 à 96 heures	+	109	+	102	6,0	
	+	114	+	107	T ≥ 1.10 <sup>5</sup> UFC / support → Conforme	



FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
 NORME T 72-281  
 (Novembre 2014)

Réf: FS64K  
 Date : 10/12/14

		Dilution			Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 ml	87 ml	
42 à 48 heures	E s s a i 1	0	0	0	0	0	0
66 à 72 heures		0	0	0	0	0	0
86 à 96 heures		0	0	0	0	0	0
42 à 48 heures	E s s a i 2	0	0	0	0	0	0
66 à 72 heures		0	0	0	0	0	0
86 à 96 heures		0	0	0	0	0	0
42 à 48 heures	E s s a i 3	0	0	0	0	51	1
66 à 72 heures		0	0	0	0	51	1
86 à 96 heures		0	0	0	0	51	1

$$R = \text{Log} ( T \text{ moyen } ) - \text{Log} ( n'1 \text{ moyen } + n'2 \text{ moyen } )$$

$$n'1 \text{ moyen} = ( 0 + 0 + 59 ) / 3 = 20$$

$$n'2 \text{ moyen} = ( 0 + 0 + 1 ) / 3 = 0$$

$$R = 6,0 - 1,3 = 4,7 \text{ Log}$$

Conforme

# Direction Scientifique

## Liste des signataires du document



Nom\_utilisateur : Chrystèle Pluchart  
Titre : Responsable Laboratoire de Microbiologie  
Date : jeudi, 24 août 2017, 15:32 Paris  
Signification : Validation de document



Nom\_utilisateur : Gaetan Rauwel  
Titre : Directeur Recherche et Développement  
Date : jeudi, 24 août 2017, 18:48 Paris  
Signification : Validation de document

=====  
N Demande : 32216  
Rapport d'essai : A 15 12 281  
  
Etude : NF T 72-281  
  
Date du document : 11/02/2015  
=====

SAINGHIN EN MELANTOIS, le 17 août 2017

*SAINGHIN EN MÉLANTOIS, on the August 17<sup>th</sup> 2017*

*1ère edition : 22/05/2015*

*First edition : 22/05/2015*

Rapport N° : A 15 31 281 M

*Test report N° : A 15 31 281 M*

## 1. **Objet de la demande (Study Number) n° 32547**

**Aerosept 500**, procédé de désinfection des surfaces par voie aérienne.

Détermination de l'activité mycobactéricide de la formule **2122000** selon la norme NF T 72-281 (novembre 2014).

***Aerosept 500**, process of airborne disinfection of surfaces.*

*Determination of the mycobactéricidal activity of the formula **2122000** according to the standard NF T 72-281 (November 2014)*

Annule et remplace le rapport A 15 31 281 du 22 mai 2015.

*Annul and replace the report A 15 31 281 of 22<sup>th</sup> May 2015*

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci après) soumis à l'essai.

*This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval*

Ce document comporte 13 pages numérotées et 1 annexe de 6 pages

*This report is made of numbered 13 pages and 1 annex of 6 pages*

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

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

## 2. Sommaire (Summary)

1. Objet de la demande ( <i>Study Number</i> ) n° 32547	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
6. Résultats ( <i>Results</i> )	6
6.1. Essai préliminaire ( <i>Preliminary test</i> )	6
6.2. Essai proprement dit ( <i>Actual test</i> )	7
7. Conclusion ( <i>Conclusion</i> )	7
8. Annexe	8

### 3. Introduction (*Introduction*)

L'essai a été réalisé selon le protocole décrit dans la norme française homologuée NF T 72.281 " PROCEDE DE DESINFECTION PAR VOIE AERIENNE ".

Détermination de l'activité bactéricide, levuricide, fongicide ,sporicide.

*The test is performed according to the protocol determined by the French experimental standard T 72-281 "PROCESS OF AIRBORNE DISINFECTION OF SURFACES ".*

*Determination of the bactericidal, yeasticidal, fungicidal , sporicidal activity.*

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

Code formule	<b>2122000</b>
<i>Code formula</i>	
Numéro d'identification de l'échantillon	<b>1526 15 03 281</b>
<i>Identification of the sample</i>	
Numéro de lot	<b>S 047-80</b>
<i>Batch number</i>	
Fabricant	<b>Laboratoires ANIOS</b>
<i>Manufacturer</i>	
Date de réception au laboratoire	Le 16/03/2015
<i>Receipt date at the laboratory</i>	<i>On the 16/03/2015</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	Acide péraétique (N° CAS 79-21-0) : +/- 1200 ppm
<i>Activ substances</i>	<i>Peracetic acid (N° CAS 79-21-0) : +/- 1200 ppm</i>
Période d'essai	Du 17/03/2015 au 14/04/2015
<i>Period of analysis</i>	<i>From 17/03/2015 to 14/04/2015</i>

## 5. Méthode expérimentale (Experimental Method)

### 5.1. Conditions expérimentales (Experimental conditions)

Appareil ----- Apparatus	<b>AEROSEPT 500</b> <b>Lot (Batch) ASP0017 du 10/10/14</b>	
Code formule testée ----- Tested code formula	<b>2122000</b>	
Dosage ----- Assay	<b>7 ml / m3</b>	
Quantité de produit utilisé lors de l'essai ----- Quantity of product used during the test	543 ml	
Temps de diffusion du produit ----- Time of diffusion of the product	30 min	
Dimension du local d'essai ----- Test room size	L (l) : 5,15 m / 5.5 m l (w) : 4,86m /4,50 m h (h) : 2,8 m	
Surface totale / Volume ----- Total surface/ Volume	1,49	
Volume du local d'essai (Volume of the test room )	Exigence obligatoire / Obligatory Requirements  30 à (to) 150 m <sup>3</sup>	76 m <sup>3</sup>
Température ----- Temperature	Avant essai (Before testing) : (20°C ± 2°C)	Avant essai (Before testing) : 20,4°C Après essai (After testing) :17,1°C
Hygrométrie ----- Humidity	Avant essai (Before testing) : 40 à (to) 80%	Avant essai (Before testing) : 49,8% Après essai (After testing) : 54,7%
Nature du support ( Nature of the carrier)	inox 4 cm de diameter (stainless steel – 4 cm diameter)	
Distance par rapport à la source ----- Distance to the source	3.9 m sur hauteur comprise entre 1 m et 1m50 (Cf Annexe B – T 72 281 – nov 2014)  9 m in height between 1 m and 1.50 m (See Appendix B - T 72281 - Nov. 2014)	

Temps d'exposition des supports d'essais	60 min
<i>Exposure time of the carriers</i>	
Souches testées	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ <b><i>Mycobacterium terrae</i> CIP 104 321 (equivalent ATCC 157 55)</b></li> <li>○ <b><i>Mycobacterium avium</i> CIP 105415 (equivalent ATCC 15769)</b></li> </ul>
<i>Tested strains</i>	
Substance interférente	Condition de propreté : Lait 1/20ème
<i>Interfering substance</i>	<i>Clean conditions : Milk 1/20ème</i>
Liquide de rinçage et de récupération	Solution de tryptone sel Tween
<i>Rinsing and recovery liquid</i>	<i>Tween Trypton salt solution</i>
Volume du liquide de récupération	100 ml
<i>Recovery Liquid volume</i>	
Agitation + grattage des supports	1 min
<i>Shaking + scrapping of the support</i>	
Nature des membranes	MILLIPORE HAWG en ester de cellulose, 0.45 µm , stérile
<i>Nature of the membranes</i>	<i>MILLIPORE HAWG made of cellulose ester, 0.45µm, sterile</i>
Nombre de rinçage ( <i>Rinsing steps</i> )	3
Volume utilisé pour chaque rinçage	50 ml
<i>Volume used for each rinsing</i>	

## 6. Résultats ( Results )

### 6.1. Essai préliminaire (Preliminary test)

Recherche d'un effet inhibiteur sur support, en gélose et sur membrane filtrante éventuellement dû aux restes de désinfectant transportés par les supports.

*Searching of an inhibiting effect on carrier, agar and on filter membrane possibly due to the residues of disinfectant transported by the carriers.*

	Nombre de cellules viables (UFC/ml) (Number of viable cells(CFU/ml))				
Souches test	Suspension d'essai Dénombrement par inclusion	Suspension d'essai Dénombrement par filtration	Recherche effet inhibiteur en gélose	Recherche effet inhibiteur sur membrane	Recherche effet inhibiteur du support en gélose
Tested strains	<i>Test suspension Counting by pour method</i>	<i>Test suspension Counting by filtration</i>	<i>Searching for the inhibiting effect on agar</i>	<i>Searching for the inhibiting effect on membrane</i>	<i>Searching for the inhibiting effect due to the carriers</i>
	N1	N2	n1	n2	n3
<b>Mycobacterium terrae</b>	3,2 10 <sup>7</sup>	3,2 10 <sup>7</sup>	3,1 10 <sup>7</sup>	3,3 10 <sup>7</sup>	3,0 10 <sup>7</sup>
<b>Mycobacterium avium</b>	2,6 10 <sup>7</sup>	2,7 10 <sup>7</sup>	2,5 10 <sup>7</sup>	2,5 10 <sup>7</sup>	2,4 10 <sup>7</sup>

### Interprétation :

Pour les mycobactéries : N est compris entre 1,0 10<sup>7</sup> et 1,0 10<sup>8</sup> UFC / ml  
*For mycobacteria : N is comprised between 1,0 10<sup>7</sup> and 1,0 10<sup>8</sup> UFC / ml*

Si n1 > 0.5 N1, n3 > 0.5 N1 et n2 > 0.5 N2, les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

*If n1 > 0.5 N1, n3 > 0.5 N1 et n2 > 0.5 N2, the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.*



## 6.2. Essai proprement dit (*Actual test*)

	Nombre de cellules viables (UFC/ml ou support) ( <i>Number of viable cells(CFU/ml or carrier)</i> )			
Souches test	Dénombrement des microorganismes sur les supports	Dénombrement moyen des microorganismes survivants dans 100ml de liquide de reprise	Dénombrement moyen des microorganismes par inclusion du porte germes essai	Taux de reduction $d = \log T - \log (n'1 + n'2)$
<i>Tested strains</i>	<i>Counting microorganisms on carriers</i>	<i>Average counting surviving microorganisms in 100ml of recovery liquid</i>	<i>Average counting microorganisms by inclusion carrier test</i>	<i>Reduction rate <math>d = \log T - \log (n'1 + n'2)</math></i>
	<i>T</i>	<i>n'1</i>	<i>n'2</i>	<i>d</i>
<b>Mycobacterium terrae</b>	2,1 10 <sup>6</sup>	0	0	6,3 log
<b>Mycobacterium avium</b>	1,5 10 <sup>6</sup>	0	0	6,2 log

Pour les souches soumises à l'essai (*For the strains to be tested*)

T doit être de 1 Log au dessus des réductions logarithmiques des souches testées (Annexe D – NF T 72-281 (novembre 2014)

*must be 1 log above the log reductions for the tested strains (Appendix D - NF T 72-281 (November 2014)*

n'1 Dénombrement moyen des microorganismes survivants dans 100 ml de liquide de récupération  
*Average counting of surviving microorganisms in 100ml of recovery liquid*

n'2 Dénombrement moyen des microorganismes survivants par inclusion du porte germe en gélose  
*Average counting of surviving microorganisms by carrier inclusion in agar*

## Interprétation : *Interpretation*

Taux de réduction minimum sur les mycobactéries (activité mycobactéricide) :  $d \geq 4$

*Minimal reduction rate on mycobacteria (mycobactericidal activity):  $d \geq 4$*

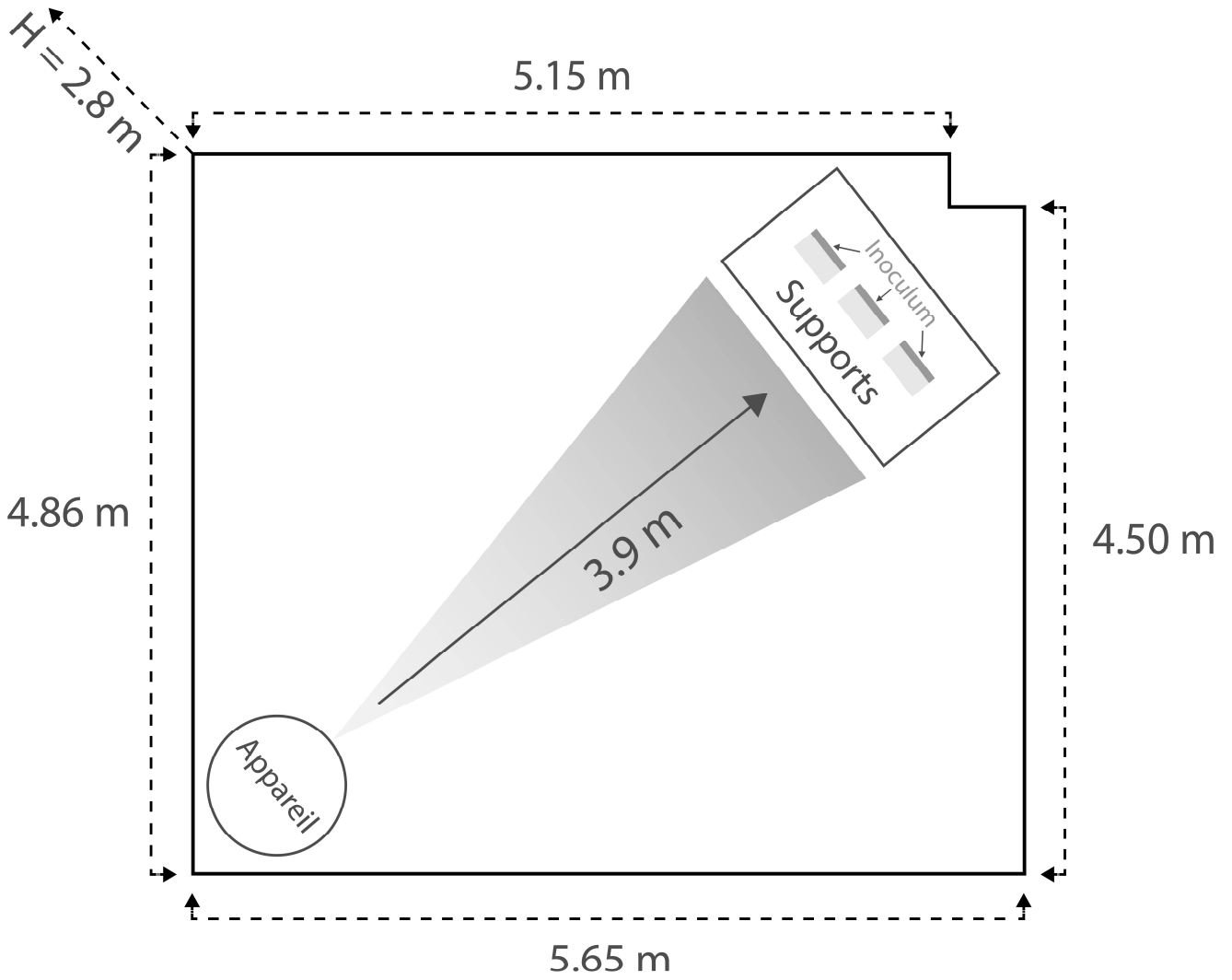
## 7. Conclusion (*Conclusion*)

Le procédé **AEROSEPT 500** associé à la formule **2122000** à **7 ml/m<sup>3</sup>** présente une activité mycobactéricide. vis-à-vis des souches : ***Mycobacterium terrae*** et ***Mycobacterium avium*** en **60minutes** de contact selon la norme NF T 72-281 (*novembre 2014*) dans les conditions obligatoires de la norme.

*The process **AEROSEPT 500** with the formula **2122000** at **7ml/m<sup>3</sup>** presents a mycobactericidal activity against : ***Mycobacterium terrae*** and ***Mycobacterium avium*** after a **60 minute** contact time according to the standard NF T 72-281 (November 2014) in the obligatory conditions of the standard.*

## 8. Annexe

### Schéma de la salle : *Diagram of the room*



Données expérimentales – Experimental data

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
NORME T 72-281  
(Novembre 2014)

Réf : FS64L  
Date : 20/01/15

Annexe 5 : M.avium 60'

	Inclusion ( N1 )				Filtration ( N2 )				Calcul de N1 et N2
	-5		-6		-5		-6		
									$N1 = \left[ \frac{575}{2,2} \right] \times 10^5 = 2,6E+07$ germes/ml 1.10 <sup>7</sup> UFC/mL > N1 > 1.10 <sup>8</sup> UFC/mL <b>Conforme</b>
21 jours	124	134	13	12	133	141	12	14	$N2 = \left[ \frac{586}{2,2} \right] \times 10^5 = 2,7E+07$ germes/ml 1.10 <sup>7</sup> UFC/mL > N2 > 1.10 <sup>8</sup> UFC/mL <b>Conforme</b>
	119	145	12	16	127	129	15	15	
28 jours	124	134	13	12	133	141	12	14	
	119	145	12	16	127	129	15	15	

	Support 1		Support 2		Support1	Support2	Support1	Support2	
	-5	-6	-5	-6	-5	-6	-5	-5	
									n1 = 2,5E+07 UFC / ml n1 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>
21 jours	124	12	117	10	+	25	117	121	n2 = 2,5E+07 UFC / ml n2 > 0,5 N2 <b>Conforme</b>
	133	11	124	13					
28 jours	124	12	117	10	+	25	117	121	n3 = 2,4E+07 UFC / ml n3 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>
	133	11	124	13					
	n1				n2		n3		

	T1				T2				T moyen
	-1		-2		-1		-2		
									$T = \left[ \frac{151 + 141}{2} \right] \times 100 \times 10^0 = 1,5E+06$ germes/support
21 jours	+	+	83	74	+	+	70	69	<b>6,2</b>
	+	+	75	70	+	+	80	62	
28 jours	+	+	83	74	+	+	70	69	T = 1.10 <sup>5</sup> UFC / support <b>Conforme</b>
	+	+	75	70	+	+	80	62	

Annexe 5 : M.avium 60'

		Dilution					Filtration		Support	
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 ml	87 ml		
	E s s a i 1									
14 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0			
21 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E s s a i 2									
14 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0			
21 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E s s a i 3									
14 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0			
21 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moyen } ) - \text{Log} ( n'1 \text{ moyen } + n'2 \text{ moyen } )$$

$$n'1 \text{ moyen} = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$n'2 \text{ moyen} = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 6,2 - 0 = 6,2 \text{ Log}$$

**Conforme**

**FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS**  
**NORME T 72-281**  
*(Novembre 2014)*

**Réf : FS64L**  
**Date : 20/01/15**

**Annexe 5 : M.terrae 60'**

	Inclusion ( N1 )				Filtration ( N2 )				Calcul de N 1 et N 2	
	-5	-6	-5	-6	-5	-6	-5	-6		
									$N1 = \left( \frac{699}{2,2} \right) \times 10^5 = 3,2E+07$ germes/ml 1.10 <sup>7</sup> UFC/mL > N1 > 1.10 <sup>6</sup> UFC/mL <b>Conforme</b>	
21 jours	154	160	15	16	155	162	14	16	$N2 = \left( \frac{701}{2,2} \right) \times 10^5 = 3,2E+07$ germes/ml 1.10 <sup>7</sup> UFC/mL > N2 > 1.10 <sup>6</sup> UFC/mL <b>Conforme</b>	
	150	172	17	15	164	160	15	15		
28 jours	154	160	15	16	155	162	14	16		
	150	172	17	15	164	160	15	15		

	Support 1		Support 2		Support1	Support2	Support1	Support2		
	-5	-6	-5	-6	-5	-6	-5	-5		
									n1 = 3,1E+07 UFC / ml	
									n1 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>	
21 jours	155	16	163	14	+	33	155	149	n2 = 3,3E+07 UFC / ml	
	144	18	146	15					n2 > 0,5 N2 <b>Conforme</b>	
28 jours	155	16	163	14	+	33	155	149	n3 = 3,0E+07 UFC / ml	
	144	18	146	15					n3 > 0,5 N1 <b>Conforme</b>	
	n1				n2		n3			

	T 1		T2		T moyen					
	-1	-2	-1	-2						
									$T = \left( \frac{213 + 214}{2} \right) \times 100^{x100} = 2,1E+06$ germes/support	
21 jours	+	+	99	108	+	+	100	104	<b>6,3</b>	Log T moyen T ≥ 1.10 <sup>5</sup> UFC / support <b>Conforme</b>
	+	+	102	117	+	+	97	127		
28 jours	+	+	99	108	+	+	100	104		
	+	+	102	117	+	+	97	127		

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS  
NORME T 72-281  
(Novembre 2014)

Réf : FS64L  
Date : 20/01/15

**Annexe 5 : M. terrae 60'**

		Dilution						Filtration		Support
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 ml	87 ml	
	E s s a i 1									
14 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0
21 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E s s a i 2									
14 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0
21 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E s s a i 3									
14 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0	0	0	0	0	0	0	0	0
21 jours		0	0	0	0	0	0	0	0	0

$$R = \text{Log} ( T \text{ moyen} ) - \text{Log} ( n'1 \text{ moyen} + n'2 \text{ moyen} )$$

$$n'1 \text{ moyen} = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$n'2 \text{ moyen} = ( 0 + 0 + 0 ) / 3 = 0$$

$$R = 6,3 - 0 = 6,3 \text{ Log}$$

**Conforme**

# Direction Scientifique

## Liste des signataires du document



Nom\_utilisateur : Chrystèle Pluchart  
Titre : Responsable Laboratoire de Microbiologie  
Date : jeudi, 24 août 2017, 15:32 Paris  
Signification : Validation de document



Nom\_utilisateur : Gaetan Rauwel  
Titre : Directeur Recherche et Développement  
Date : jeudi, 24 août 2017, 18:47 Paris  
Signification : Validation de document

=====  
N Demande : 32547  
Rapport d'essai : A 15 31 281 M  
  
Etude : NF T 72-281  
  
Date du document : 17/08/2017  
=====

Laboratoire de Virologie – UPRES EA3610  
CHRU de Lille – Université de Lille 2  
Hôpital A. Calmette, Bat. Paul Boulanger  
Bd du Pr Jules Leclerc  
59037 Lille Cedex  
France  
Tel : (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30  
Fax : (33) 03.20.44.48.95  
Email : didier.hober@chru-lille.fr

N° de rapport : 2015/32409  
Date d'édition : 20/04/2015

**RAPPORT D'ESSAI**  
**Détermination de l'activité virucide de la formule 2122**  
**associée au procédé AEROSEPT 500**

**Selon la Norme NF T 72-281 (Novembre 2014)**  
**Vis à vis de l'Enterovirus Polio type 1**

**TESTING REPORT**  
***Evaluation of the virucidal effect of the formula 2122***  
***with the process AEROSEPT 500***

***Test method according to the standard NF T 72-281 (November 2014)***  
***Against Enterovirus Polio type 1***

**Rapport pour / Report submitted to:**

**LABORATOIRES ANIOS**  
**Pavé du moulin**  
**59260 Lille Hellemmes**  
**France**

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci-après) soumis à l'essai.  
*This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval*

Ce document comporte 9 pages numérotées et 1 annexe de 3 pages  
*This report is made of 9 numbered pages and 1 annex of 3 pages*

La reproduction de ce rapport d'essai n'est autorisée que sous la forme de fac-simile photographique  
intégral  
*The reproduction of this trial report is authorized only under the shape of complete photographic reproduction*



## **I- Introduction / Introduction**

A la demande de la société ANIOS, l'activité virucide de la formule **2122** diffusé par voie aérienne à l'aide du procédé **AEROSEPT 500**, a été évaluée vis-à-vis de la souche SABIN Lsc-2ab du Poliovirus type 1. L'essai a été effectué selon la norme NF T 72-281 : Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne – Détermination de l'activité bactéricide, fongicide, levuricide, mycobactéricide, tuberculocide, sporicide et virucide incluant les bactériophages – Novembre 2014.

*As requested by the ANIOS Society, the virucidal activity of the formula **2122** diffused by airborne methods using the process **AEROSEPT 500**, was evaluated against Poliovirus type 1 SABIN Lsc-2ab strain. The testing was carried out in accordance with the standard NF T 72-281: Methods of airborne disinfection of surfaces – determination of bacterial, fungicidal, yeasticial, mycobactericidal, tuberculicidal, sporicidal and virucidal activity including bacteriophages – November 2014*

## **II- Identification du produit / Identification of sample**

- Code formule / Code Formula : **2122**
- N° de lot – N° de formule / Lot N° - Formula N° : **S30980**
- Fabricant / Manufacturer : **Laboratoires ANIOS**
- Application / Use : Désinfection des surfaces par voie aérienne / Disinfection of surfaces by airborne
- Aspect du produit / Appearance of product : Liquide limpide et incolore / Clear and colourless liquid
- pH du produit / pH Value : Non Dilué (20°C) pH=1,50 / Undiluted (20°C) pH=1.50
- Conditions de stockage / Conditions of storage : Température ambiante, à l'abri de la lumière / Room temperature in the dark

### III- Conditions expérimentales / Experimental conditions

- Période d'essai / *Period of analysis* : du 27/03/15 au 08/04/15 / Through 27/03/15 to 08/04/15
- Appareil / *Apparatus* : **AEROSEPT 500**
- Code formule testée / *Code formula tested* : **2122**
- Dosage / *Concentration* :  $\approx 7 \text{ ml/m}^3$
- Quantité de produit utilisé lors de l'essai / *Quantity of product used during the test* : **542 ml**
- Temps de diffusion du produit / *Time of diffusion of the product* : 30 minutes / *minutes*
- Dimension du local d'essai / *Test room size* : L (*l*) : 5.15 m / 5.50 m, l (*w*) : 4.86 m / 4.50 m, h (*h*) : 2.80 m
- Surface totale / Volume / *Total surface / Volume* : 1.49
- Volume du local d'essai / *Volume of the test room* : 76 m<sup>3</sup>  
(Exigences / *Requirements* : 30 à / to 150 m<sup>3</sup>)
- Température d'essai / *Test temperature* : (Exigences avant essai / *Requirements before testing* : 20°C  $\pm$  2°C)
  - Avant essai / *Before testing* : **21.7°C**
  - Après essai / *After testing* : **19.1°C**
- Hygrométrie / *Humidity* : (Exigences avant essai / *Requirements before testing* : 40 à / to 80%)
  - Avant essai / *Before testing* : **54% HR**
  - Après essai / *After testing* : **64.6% HR**
- Nature du support / *Nature of the carrier* : inox - 4 cm de diameter / *stainless steel – 4 cm diameter*
- Distance par rapport à la source / *Distance to the source* : 3.90 m sur hauteur comprise entre / *on height between* 1 m et 1.50 m (cf Annexe / *Annex B – T 72-281 – Novembre / November 2014*)
- Temps d'exposition des supports d'essais / *Exposure time of the carriers* : 60 minutes / *minutes*
- Substances interférentes / *Interfering substances* : Conditions de propreté : Solution de sérum albumine bovine sérique (SAB) à la concentration finale dans l'essai de 0,3 g de SAB par litre / *Clean conditions :Bovine serum albumin (BSA) at final concentration of 0.3 g of BSA per liter in test*
  - Liquide de récupération / *recovery liquid* : Milieu de culture / *Culture medium*
  - Volume du liquide de récupération / *Recovery liquid volume* : 20 ml
  - Méthode de récupération / *Recovery method* : Agitation + grattage des supports pendant 1 minute / *Shaking + scrapping of the support during 1 minute*

## **IV- Matériel et Méthodes / Material and methods**

### **1- Matériel / Material**

#### **a) Virus / Virus**

La souche SABIN LSc-2ab de poliovirus type 1, provient de la société Eurovir Hygiene-Institut (Luckenwalde, Allemagne).

*The poliovirus type 1 strain SABIN LSc-2ab was obtained from the Eurovir Hygiene-Institut (Luckenwalde, Deutschland).*

#### **b) Lignée cellulaire / Cell line**

La lignée cellulaire Vero (ATCC CCL-81) utilisée pour cultiver Poliovirus type 1 provient de l'European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

*The Vero cell line (ATCC CCL-81) used with the Poliovirus type 1 was obtained from the European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).*

### **2- Méthodes d'essai / Methods**

#### **a) Titrage viral / Determination of infectivity**

Les suspensions virales récupérées des supports traitées ou non traitées par le produit à tester sont diluées en série de  $10^{-1}$  à  $10^{-8}$ , dans du Milieu MEM de Eagle modifié Dulbecco (DMEM, Invitrogen, France) avec 2% de sérum de veau foetal (SVF, Invitrogen, France) glacé. 0,1 ml de chaque dilution est ensuite transféré dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules Vero, en commençant par la dilution la plus élevée. Après une heure d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO<sub>2</sub>, 0,1 ml de milieu de culture est additionné à chaque puits. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait au microscope inversé après 5 et 7 jours d'incubation. Le calcul du titre de l'infectivité virale ( $\log_{10}$  DICT<sub>50</sub>/ml) est déterminé par la méthode Spearman-Karber.

*The viral suspensions recovered from carriers treated or non-treated with the product were diluted from  $10^{-1}$  to  $10^{-8}$  in ice-cold Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Invitrogen, France) containing 2% fetal calf serum (FCS, Invitrogen, France). 0.1 ml of each dilution was transferred, beginning with the highest dilution, into six wells of a 96 wells microtitre plate with an established Vero monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytopathic effect (CPE) was read by using an inverted microscope after 5 and 7 days in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere. Calculation of estimated virus concentration ( $\log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/ml) was carried out by the Spearman-Karber method.*

#### **b) Mesure de l'activité virucide du produit / Determination of virucidal activity**

Les essais consistent à déposer 50µl de suspension virale composée de 9 volumes de virus mélangés avec 1 volume de substance interférente sur trois supports en inox (P1, P2 et P3), puis à laisser sécher les supports à 20°C +/- 2°C sous une hotte à flux laminaire.

Les supports secs sont ensuite exposés au produit diffusé par voie aérienne à l'aide de l'appareil AEROSEPT 500. Deux témoins virus (T1 et T2) sont réalisés en laissant les supports sous la hotte à flux laminaire. Après le temps de contact à une température de 20°C +/- 2°C, les supports sont prélevés de la salle d'essai et les virus sont récupérés dans 20 ml de milieu de culture après agitation + grattage pendant 1 minute. La quantité de virus résiduel dans le filtrat est évaluée par la technique de titrage sur cellule Vero.

L'activité virucide du produit test est mesurée en calculant la chute du titre viral obtenu après traitement par comparaison avec les témoins de titrage obtenus en absence de désinfectant. Le résultat est exprimé en facteur de réduction (FR).

*The tests consist to drop 50µl of virus suspension composed with 9 parts by volume of virus and 1 part by volume of interfering substances on three stainless steel carriers (P1, P2 and P3) and to dry the carriers at 20°C +/- 2°C under a laminar flow safety cabinet. Then the dry carriers are exposed to the product by airborne method using the apparatus AEROSEPT 500. Two virus controls (T1 and T2) are obtained by leaving carriers under the safety cabinet. After the contact times at a temperature of 20 ° C +/- 2 ° C, carriers are collected from the test room and the virus are recovered from the carriers in 20 ml of culture medium by Shaking + scrapping of the support during 1 minute. The quantity of residual virus in the filtrate is evaluated by titration on Vero cell.*

*The virucidal activity of the test disinfectant was evaluated by calculating the decrease in titre in comparison with the 2 control titration without disinfectant. The results are expressed as reduction factor (RF).*

#### c) Sensibilité des cellules au virus / Cell sensitivity to virus

L'essai consiste à déposer 50µl de milieu de culture contenant 1 volume de substance interférente sur deux supports en inox (S1 et S2), puis à laisser sécher les supports à 20°C +/- 2°C sous une hotte à flux laminaire. Les supports secs sont ensuite exposés au produit diffusé par voie aérienne à l'aide de l'appareil AEROSEPT 500. Après le temps de contact à une température de 20°C +/- 2°C, les supports sont prélevés de la salle d'essai et transférés dans 20 ml de milieu de culture afin de neutraliser l'action du désinfectant sur le support. Après agitation + grattage pendant 1 minute, 0,1 ml des solutions S1, S2 ou du PBS est distribué dans 8 x 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules. Après 1 h à 37°C en présence de 5% de CO<sub>2</sub>, le milieu de culture est éliminé des puits et 0,1 ml de virus dilués de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-8</sup> dans du milieu à 2% de SVF, est distribué en parallèle sur les cellules traitées ou non traitées. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait après 5 et 7 jours d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO<sub>2</sub> et l'infektivité virale est calculée.

*The test consists to drop 50µl of culture medium with 1 part by volume of interfering substances on two stainless steel carriers (S1 and S2) and to dry the carriers at 20°C +/- 2°C under a laminar flow safety cabinet. Then the dry carriers are exposed to the product by airborne method using the apparatus AEROSEPT 500. After the contact times at a temperature of 20 ° C +/- 2 ° C, carriers are collected from the test room and transferred in 20 ml of culture medium to neutralized the disinfectant activity on the carrier. After shaking + scrapping of the support during 1 minute, 0.1 ml of the solution S1, S2 or PBS are distributed onto 8 x 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established cell monolayer. After 1 h at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere, culture medium is removed from the wells and 0.1 ml of virus diluted from 10<sup>-1</sup> to 10<sup>-8</sup> with culture medium containing 2% FCS was added on treated or untreated cells in parallel. The cytopathic effect (CPE) was read after incubation during 5 and 7 days at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere and estimated virus concentration was carried out.*

d) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of efficiency for suppression of disinfectant activity*

Un volume de suspension virale composée de 9 volumes de virus mélangés avec 1 volume de substance interférente est additionné à 1 volume des solutions S1 ou S2 précédentes ou à 1 volume d'eau distillée. Les mélanges sont ensuite incubés pendant 30 min à 20°C, puis sont dilués de  $10^{-1}$  à  $10^{-8}$  dans du milieu de culture glacé et la quantité de virus résiduel est évaluée par la technique de titrage sur cellule Vero.

*One part by volume of virus suspension composed with 9 parts by volume of virus and 1 part by volume of interfering substances are mixed with 1 part by volume of the previous solutions S1 or S2 or 1 part by volume of distilled water. Then the mixtures are leaved during 30 min at 20°C and were diluted from  $10^{-1}$  to  $10^{-8}$  in ice-cold culture medium and the quantity of residual virus was evaluated by titration on Vero cell.*

## V- Résultats / Results

### 1) Essai préliminaire / Preliminary test :

Recherche d'un effet inhibiteur sur support, éventuellement dû aux restes de désinfectant transportés par les supports.

*Searching of an inhibiting effect on carrier, possibly due to the residues of disinfectant transported by the carriers.*

### a) Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la formule 2122 / Evaluation of Cell sensitivity to virus after treatment with the formula 2122

	$\text{Log}_{10} \text{ DICT}_{50} \text{ (FR)}/$ $\text{Log}_{10} \text{ TCID}_{50} \text{ (RF)}$
Cellules non traitées <i>/ Non treated cells</i>	6.83
Cellules traitées avec la solution S1 <i>/ Treated cells with S1 solution</i>	6.50 <b>(0.33)</b>
Cellules traitées avec la solution S2 <i>/ Treated cells with S2 solution</i>	6.50 <b>(0.33)</b>

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / *Reducing factor (log)*

### Interprétation / Interpretation

Si  $\text{FR} < 1 \log_{10}$ , les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

*If  $\text{FR} < 1 \log_{10}$ , the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.*

### b) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of efficiency for suppression of disinfectant activity

Produit / <i>Product</i>	Solution / <i>Solution</i>	$\text{Log}_{10} \text{ DICT}_{50} \text{ (FR)}/$ $\text{Log}_{10} \text{ TCID}_{50} \text{ (RF)}$
Témoin virus / <i>Virus control</i>	n.a.	6.83
Formule 2122 / <i>Formula 2122</i>	S1	6.66 <b>(0.17)</b>
Formule 2122 / <i>Formula 2122</i>	S2	6.66 <b>(0.17)</b>

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / *Reducing factor (log)*

### Interprétation / Interpretation

Si  $\text{FR} < 0,5 \log_{10}$ , les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

*If  $\text{FR} < 0.5 \log_{10}$ , the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.*

2) Evaluation de l'effet virucide de la formule 2122 / Evaluation of virucidal activity of the formula 2122 :

Tableau des résultats de virucidie de la formule 2122 par voie aérienne sur le Poliovirus type 1 SABIN Lsc-2ab en conditions de propreté

Table on virucidal activity of the formula 2122 in airborne conditions on Poliovirus type 1 SABIN Lsc-2ab in clean conditions

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Support / Carrier	Log <sub>10</sub> DICT <sub>50</sub> après xx min (FR) / Log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> after xx min (RF)		>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			60	Moy. / Mean	
Témoin virus / Virus control		T1	5.16	5.08	n.a.
		T2	5.00		n.a.
Formule 2122 / Formula 2122	0,3 g/l SAB / 0.3 g/l BSA	P1	0.50 (4.58*)	n.a.	≥60 min
		P2	0.50 (4.58*)	n.a.	≥60 min
		P3	0.50 (4.58*)	n.a.	≥60 min

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

\* : FR calculé à partir de la moyenne des témoins virus / RF evaluated using the mean of the virus control

**Interprétation / Interpretation**

Taux de réduction minimum sur les virus (activité virucide) : FR ≥ 4 log<sub>10</sub>

Minimal reduction rate on virus (virucidal activity): FR ≥ 4 log<sub>10</sub>

## VI- Conclusion / Conclusion

Le procédé **AEROSEPT 500** associé à la formule **2122** à 7 ml/m<sup>3</sup> présente une activité virucide vis-à-vis de la souche SABIN Lsc-2ab du Poliovirus type 1 en **60 minutes** de contact, selon la norme NF T 72-281 (Novembre 2014) dans les conditions obligatoires de la norme.

*The process **AEROSEPT 500** with the formula **2122** at 7 ml/m<sup>3</sup> presents a virucidal activity against the Poliovirus type 1 SABIN Lsc-2ab strain after 60 minutes of exposure time, according to the standard NF T 72-281 (November 2015) in the obligatory conditions of the standard.*

**Lille, le 20 avril 2015**

Responsable technique



Dr. P. E. LOBERT

Chef de Service

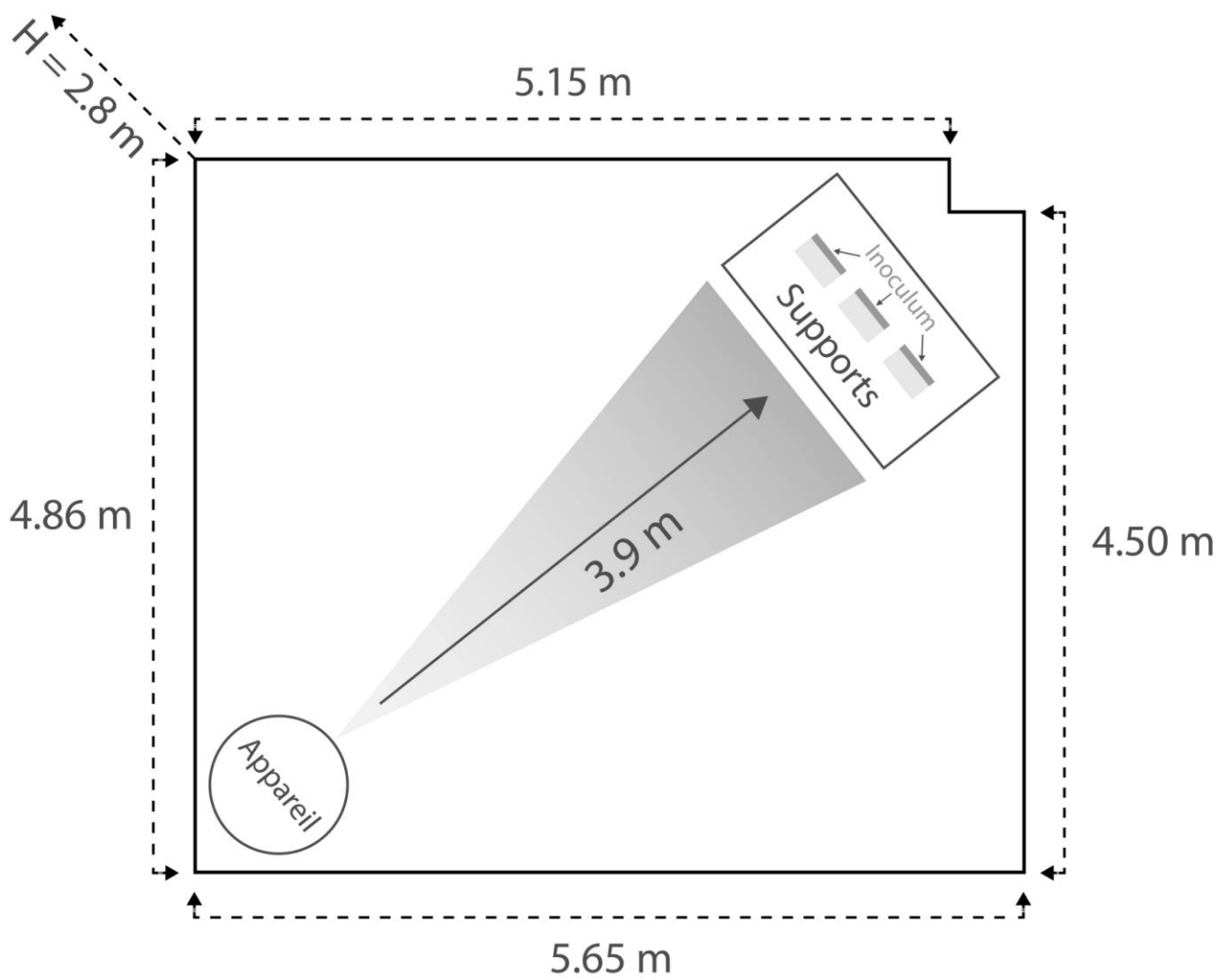


Pr. D. HOBER



## Annexe / Annex

Schéma de la salle / Diagram of the room



Données expérimentales / Experimental data

- Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la formule 2122 /  
Evaluation of Cell sensitivity to virus after treatment with the formula 2122

Méthode / Method	Dilution (log) <sup>(a)</sup>							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Cellules non traitées / Non treated cells	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Cellules traitées avec la solution S1 / Treated cells with S1 solution	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Cellules traitées avec la solution S2 / Treated cells with S2 solution	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration  
0 : aucun virus présent.

- Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of efficiency for suppression of disinfectant activity

Produit / Product	Solution / Solution	Dilution (log) <sup>(a)</sup>							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Témoin virus / Virus control	n.a.	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	3 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
Formule 2122 / Formula 2122	S1	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
Formule 2122 / Formula 2122	S2	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration  
0 : aucun virus présent.

- Evaluation de l'effet virucide de la formule 2122 / Evaluation of virucidal activity of the formula 2122

Produit / Product	Support / Carrier	Dilution (log) <sup>(a)</sup>							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	T1	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	T2	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Formule 2122 / Formula 2122	P1	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	P2	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	P3	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration

0 : aucun virus présent.

Laboratoire de Virologie – UPRES EA3610  
CHRU de Lille – Université de Lille 2  
Institut Hippocrate, Parc Eurasanté  
152 rue du Dr Yersin  
59120 Loos lez Lille  
France  
Tel : (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30  
Fax : (33) 03.20.44.48.95  
Email : didier.hober@chru-lille.fr

N° de rapport : 2015/32410  
Date d'édition : 20/04/2015

**RAPPORT D'ESSAI**  
**Détermination de l'activité virucide de la formule 2122**  
**associée au procédé AEROSEPT 500**

**Selon la Norme NF T 72-281 (Novembre 2014)**  
**Vis à vis de l'Adénovirus Humain de type 5**

**TESTING REPORT**  
***Evaluation of the virucidal effect of the formula 2122***  
***with the process AEROSEPT 500***

***Test method according to the standard NF T 72-281 (November 2014)***  
***Against Human Adenovirus type 5***

**Rapport pour / Report submitted to:**

**LABORATOIRES ANIOS**  
**Pavé du moulin**  
**59260 Lille Hellemmes**  
**France**

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci-après) soumis à l'essai.  
*This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval*

Ce document comporte 9 pages numérotées et 1 annexe de 3 pages  
*This report is made of 9 numbered pages and 1 annex of 3 pages*

La reproduction de ce rapport d'essai n'est autorisée que sous la forme de fac-simile photographique  
intégral

*The reproduction of this trial report is authorized only under the shape of complete photographic reproduction*

## **I- Introduction / Introduction**

A la demande de la société ANIOS, l'activité virucide de la formule **2122** diffusé par voie aérienne à l'aide du procédé **AEROSEPT 500**, a été évaluée vis-à-vis de l'Adénovirus Humain de type 5. L'essai a été effectué selon la norme NF T 72-281 : Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne – Détermination de l'activité bactéricide, fongicide, levuricide, mycobactéricide, tuberculocide, sporicide et virucide incluant les bactériophages – Novembre 2014.

*As requested by the ANIOS Society, the virucidal activity of the formula **2122** diffused by airborne methods using the process **AEROSEPT 500**, was evaluated against Human Adenovirus type 5. The testing was carried out in accordance with the standard NF T 72-281: Methods of airborne disinfection of surfaces – determination of bacterial, fungicidal, yeasticidal, mycobactericidal, tuberculicidal, sporicidal and virucidal activity including bacteriophages – November 2014*

## **II- Identification du produit / Identification of sample**

- Code formule / Code Formula : **2122**
- N° de lot – N° de formule / Lot N° - Formula N° : **S30980**
- Fabricant / Manufacturer : **Laboratoires ANIOS**
- Application / Use : Désinfection des surfaces par voie aérienne / Disinfection of surfaces by airborne.
- Aspect du produit / Appearance of product : Liquide limpide et incolore / Clear and colourless liquid
- pH du produit / pH Value : Non Dilué (20°C) pH=1,50 / Undiluted (20°C) pH=1.50
- Conditions de stockage / Conditions of storage : Température ambiante, à l'abri de la lumière / Room temperature in the dark

### III- Conditions expérimentales / Experimental conditions

- Période d'essai / *Period of analysis* : du 26/03/15 au 11/04/15 / Through 26/03/15 to 11/04/15
- Appareil / *Apparatus* : **AEROSEPT 500**
- Code formule testée / *Code formula tested* : **2122**
- Dosage / *Concentration* :  $\approx 7 \text{ ml/m}^3$
- Quantité de produit utilisé lors de l'essai / *Quantity of product used during the test* : **540 ml**
- Temps de diffusion du produit / *Time of diffusion of the product* : 30 minutes / *minutes*
- Dimension du local d'essai / *Test room size* : L (*l*) : 5.15 m / 5.50 m, l (*w*) : 4.86 m / 4.50 m, h (*h*) : 2.80 m
- Surface totale / Volume / *Total surface / Volume* : 1.49
- Volume du local d'essai / *Volume of the test room* : 76 m<sup>3</sup>  
(Exigences / *Requirements* : 30 à / to 150 m<sup>3</sup>)
- Température d'essai / *Test temperature* : (Exigences avant essai / *Requirements before testing* : 20°C  $\pm$  2°C)
  - Avant essai / *Before testing* : **21.8°C**
  - Après essai / *After testing* : **18.9°C**
- Hygrométrie / *Humidity* : (Exigences avant essai / *Requirements before testing* : 40 à / to 80%)
  - Avant essai / *Before testing* : **43.3% HR**
  - Après essai / *After testing* : **72% HR**
- Nature du support / *Nature of the carrier* : inox - 4 cm de diameter / *stainless steel – 4 cm diameter*
- Distance par rapport à la source / *Distance to the source* : 3.90 m sur hauteur comprise entre / *on height between* 1 m et 1.50 m (cf Annexe / *Annex B – T 72-281 – Novembre / November 2014*)
- Temps d'exposition des supports d'essais / *Exposure time of the carriers* : 60 minutes / *minutes*
- Substances interférentes / *Interfering substances* : Conditions de propreté : Solution de sérum albumine bovine sérique (SAB) à la concentration finale dans l'essai de 0,3 g de SAB par litre / *Clean conditions :Bovine serum albumin (BSA) at final concentration of 0.3 g of BSA per liter in test*
  - Liquide de récupération / *recovery liquid* : Milieu de culture / *Culture medium*
  - Volume du liquide de récupération / *Recovery liquid volume* : 20 ml
  - Méthode de récupération / *Recovery method* : Agitation + grattage des supports pendant 1 minute / *Shaking + scrapping of the support during 1 minute*

## **IV- Matériel et Méthodes / Material and methods**

### **1- Matériel / Material**

#### **a) Virus / Virus**

L'Adénovirus type 5 (ATCC VR-5) a été fourni par la Société LGC Promochem (Molsheim, France).

*The adenovirus type 5 (ATCC VR-5) was obtained from LGC Promochem (Molsheim, France).*

#### **b) Lignée cellulaire / Cell line**

La lignée cellulaire Hep 2 (ATCC CCL-23) utilisée avec l'Adénovirus type 5 provient de l'European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

*The Hep2 cell line (ATCC CCL-23) used with Adenovirus type 5 was obtained from the European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).*

### **2- Méthodes d'essai / Methods**

#### **a) Titrage viral / Determination of infectivity**

Les suspensions virales récupérées des supports traitées ou non traitées par le produit à tester sont diluées en série de  $10^{-1}$  à  $10^{-8}$ , dans du Milieu MEM de Eagle (EMEM, Invitrogen, France) avec 2% de sérum de veau foetal (SVF, Invitrogen, France) glacé. 0,1 ml de chaque dilution est ensuite transféré dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules Hep2, en commençant par la dilution la plus élevée. Après une heure d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO<sub>2</sub>, 0,1 ml de milieu de culture est additionné à chaque puits. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait au microscope inversé après 5 et 7 jours d'incubation. Le calcul du titre de l'infectivité virale ( $\log_{10}$  DICT<sub>50</sub>/ml) est déterminé par la méthode Spearman-Karber.

*The viral suspensions recovered from carriers treated or non-treated with the product were diluted from  $10^{-1}$  to  $10^{-8}$  in ice-cold Eagle's Medium (EMEM, Invitrogen, France) containing 2% fetal calf serum (FCS, Invitrogen, France). 0.1 ml of each dilution was transferred, beginning with the highest dilution, into six wells of a 96 wells microtitre plate with an established Hep2 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytopathic effect (CPE) was read by using an inverted microscope after 5 and 7 days in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere. Calculation of estimated virus concentration ( $\log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/ml) was carried out by the Spearman-Karber method.*

#### **b) Mesure de l'activité virucide du produit / Determination of virucidal activity**

Les essais consistent à déposer 50µl de suspension virale composée de 9 volumes de virus mélangés avec 1 volume de substance interférente sur trois supports en inox (P1, P2 et P3), puis à laisser sécher les supports à 20°C +/- 2°C sous une hotte à flux laminaire. Les supports secs sont ensuite exposés au produit diffusé par voie aérienne à l'aide de l'appareil AEROSEPT 500. Deux témoins virus (T1 et T2) sont réalisés en laissant les

supports sous la hotte à flux laminaire. Après le temps de contact à une température de 20°C +/- 2°C, les supports sont prélevés de la salle d'essai et les virus sont récupérés dans 20 ml de milieu de culture après agitation + grattage pendant 1 minute. La quantité de virus résiduel dans le filtrat est évaluée par la technique de titrage sur cellule Hep2.

L'activité virucide du produit test est mesurée en calculant la chute du titre viral obtenu après traitement par comparaison avec les témoins de titrage obtenus en absence de désinfectant. Le résultat est exprimé en facteur de réduction (FR).

*The tests consist to drop 50µl of virus suspension composed with 9 parts by volume of virus and 1 part by volume of interfering substances on three stainless steel carriers (P1, P2 and P3) and to dry the carriers at 20°C +/- 2°C under a laminar flow safety cabinet. Then the dry carriers are exposed to the product by airborne method using the apparatus AEROSEPT 500. Two virus controls (T1 and T2) are obtained by leaving carriers under the safety cabinet. After the contact times at a temperature of 20 ° C + / - 2 ° C, carriers are collected from the test room and the virus are recovered from the carriers in 20 ml of culture medium by Shaking + scrapping of the support during 1 minute. The quantity of residual virus in the filtrate is evaluated by titration on Hep2 cell.*

*The virucidal activity of the test disinfectant was evaluated by calculating the decrease in titre in comparison with the 2 control titration without disinfectant. The results are expressed as reduction factor (RF).*

#### c) Sensibilité des cellules au virus / Cell sensitivity to virus

L'essai consiste à déposer 50µl de milieu de culture contenant 1 volume de substance interférente sur deux supports en inox (S1 et S2), puis à laisser sécher les supports à 20°C +/- 2°C sous une hotte à flux laminaire. Les supports secs sont ensuite exposés au produit diffusé par voie aérienne à l'aide de l'appareil AEROSEPT 500. Après le temps de contact à une température de 20°C +/- 2°C, les supports sont prélevés de la salle d'essai et transférés dans 20 ml de milieu de culture afin de neutraliser l'action du désinfectant sur le support. Après agitation + grattage pendant 1 minute, 0,1 ml des solutions S1, S2 ou du PBS est distribué dans 8 x 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules. Après 1 h à 37°C en présence de 5% de CO<sub>2</sub>, le milieu de culture est éliminé des puits et 0,1 ml de virus dilués de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-8</sup> dans du milieu à 2% de SVF, est distribué en parallèle sur les cellules traitées ou non traitées. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait après 5 et 7 jours d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO<sub>2</sub> et l'infectivité virale est calculée.

*The test consists to drop 50µl of culture medium with 1 part by volume of interfering substances on two stainless steel carriers (S1 and S2) and to dry the carriers at 20°C +/- 2°C under a laminar flow safety cabinet. Then the dry carriers are exposed to the product by airborne method using the apparatus AEROSEPT 500. After the contact times at a temperature of 20 ° C + / - 2 ° C, carriers are collected from the test room and transferred in 20 ml of culture medium to neutralized the disinfectant activity on the carrier. After shaking + scrapping of the support during 1 minute, 0.1 ml of the solution S1, S2 or PBS are distributed onto 8 x 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established cell monolayer. After 1 h at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere, culture medium is removed from the wells and 0.1 ml of virus diluted from 10<sup>-1</sup> to 10<sup>-8</sup> with culture medium containing 2% FCS was added on treated or untreated cells in parallel. The cytopathic effect (CPE) was read after incubation during 5 and 7 days at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere and estimated virus concentration was carried out.*



d) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of efficiency for suppression of disinfectant activity*

Un volume de suspension virale composée de 9 volumes de virus mélangés avec 1 volume de substance interférente est additionné à 1 volume des solutions S1 ou S2 précédentes ou à 1 volume d'eau distillée. Les mélanges sont ensuite incubés pendant 30 min à 20°C, puis sont dilués de  $10^{-1}$  à  $10^{-8}$  dans du milieu de culture glacé et la quantité de virus résiduel est évaluée par la technique de titrage sur cellule Hep2.

*One part by volume of virus suspension composed with 9 parts by volume of virus and 1 part by volume of interfering substances are mixed with 1 part by volume of the previous solutions S1 or S2 or 1 part by volume of distilled water. Then the mixtures are leaved during 30 min at 20°C and were diluted from  $10^{-1}$  to  $10^{-8}$  in ice-cold culture medium and the quantity of residual virus was evaluated by titration on Hep2 cell.*

## V- Résultats / Results

### 1) Essai préliminaire / Preliminary test :

Recherche d'un effet inhibiteur sur support, éventuellement dû aux restes de désinfectant transportés par les supports.

*Searching of an inhibiting effect on carrier, possibly due to the residues of disinfectant transported by the carriers.*

### a) Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la formule 2122 / Evaluation of Cell sensitivity to virus after treatment with the formula 2122

	$\text{Log}_{10} \text{ DICT}_{50} \text{ (FR)}/$ $\text{Log}_{10} \text{ TCID}_{50} \text{ (RF)}$
Cellules non traitées <i>/ Non treated cells</i>	7.83
Cellules traitées avec la solution S1 <i>/ Treated cells with S1 solution</i>	7.66 <b>(0.17)</b>
Cellules traitées avec la solution S2 <i>/ Treated cells with S2 solution</i>	7.50 <b>(0.33)</b>

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / *Reducing factor (log)*

### Interprétation / Interpretation

Si  $\text{FR} < 1 \log_{10}$ , les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

*If  $\text{FR} < 1 \log_{10}$ , the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.*

### b) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of efficiency for suppression of disinfectant activity

Produit / <i>Product</i>	Solution / <i>Solution</i>	$\text{Log}_{10} \text{ DICT}_{50} \text{ (FR)}/$ $\text{Log}_{10} \text{ TCID}_{50} \text{ (RF)}$
Témoin virus / <i>Virus control</i>	n.a.	7.00
Formule 2122 / <i>Formula 2122</i>	S1	7.00 <b>(0.00)</b>
Formule 2122 / <i>Formula 2122</i>	S2	7.00 <b>(0.00)</b>

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / *Reducing factor (log)*

### Interprétation / Interpretation

Si  $\text{FR} < 0,5 \log_{10}$ , les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

*If  $\text{FR} < 0.5 \log_{10}$ , the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.*

2) Evaluation de l'effet virucide de la formule 2122 / Evaluation of virucidal activity of the formula 2122 :

Tableau des résultats de virucidie de la formule 2122 par voie aérienne sur l'Adénovirus Humain de type 5 en conditions de propreté

*Table on virucidal activity of the formula 2122 in airborne conditions on Human Adenovirus type 5 in clean conditions*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Support / Carrier	Log <sub>10</sub> DICT <sub>50</sub> après xx min (FR) / Log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> after xx min (RF)		>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			60	Moy. / Mean	
Témoin virus / Virus control		T1	4.66	4.66	n.a.
		T2	4.66		n.a.
Formule 2122 / Formula 2122	0,3 g/l SAB / 0.3 g/l BSA	P1	0.50 (4.16*)	n.a.	≥60 min
		P2	0.50 (4.16*)	n.a.	≥60 min
		P3	0.50 (4.16*)	n.a.	≥60 min

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

\* : FR calculé à partir de la moyenne des témoins virus / RF evaluated using the mean of the virus control

**Interprétation / Interpretation**

Taux de réduction minimum sur les virus (activité virucide) :  $FR \geq 4 \log_{10}$

*Minimal reduction rate on virus (virucidal activity):  $FR \geq 4 \log_{10}$*

## VI- Conclusion / Conclusion

Le procédé **AEROSEPT 500** associé à la formule **2122** à 7 ml/m<sup>3</sup> présente une activité virucide vis-à-vis de l'Adénovirus Humain de type 5 en **60 minutes** de contact, selon la norme NF T 72-281 (Novembre 2014) dans les conditions obligatoires de la norme.

*The process **AEROSEPT 500** with the formula **2122** at 7 ml/m<sup>3</sup> presents a virucidal activity against the Human Adenovirus type 5 after 60 minutes of exposure time, according to the standard NF T 72-281 (November 2015) in the obligatory conditions of the standard.*

**Lille, le 20 avril 2015**

Responsable technique



Dr. P. E. LOBERT

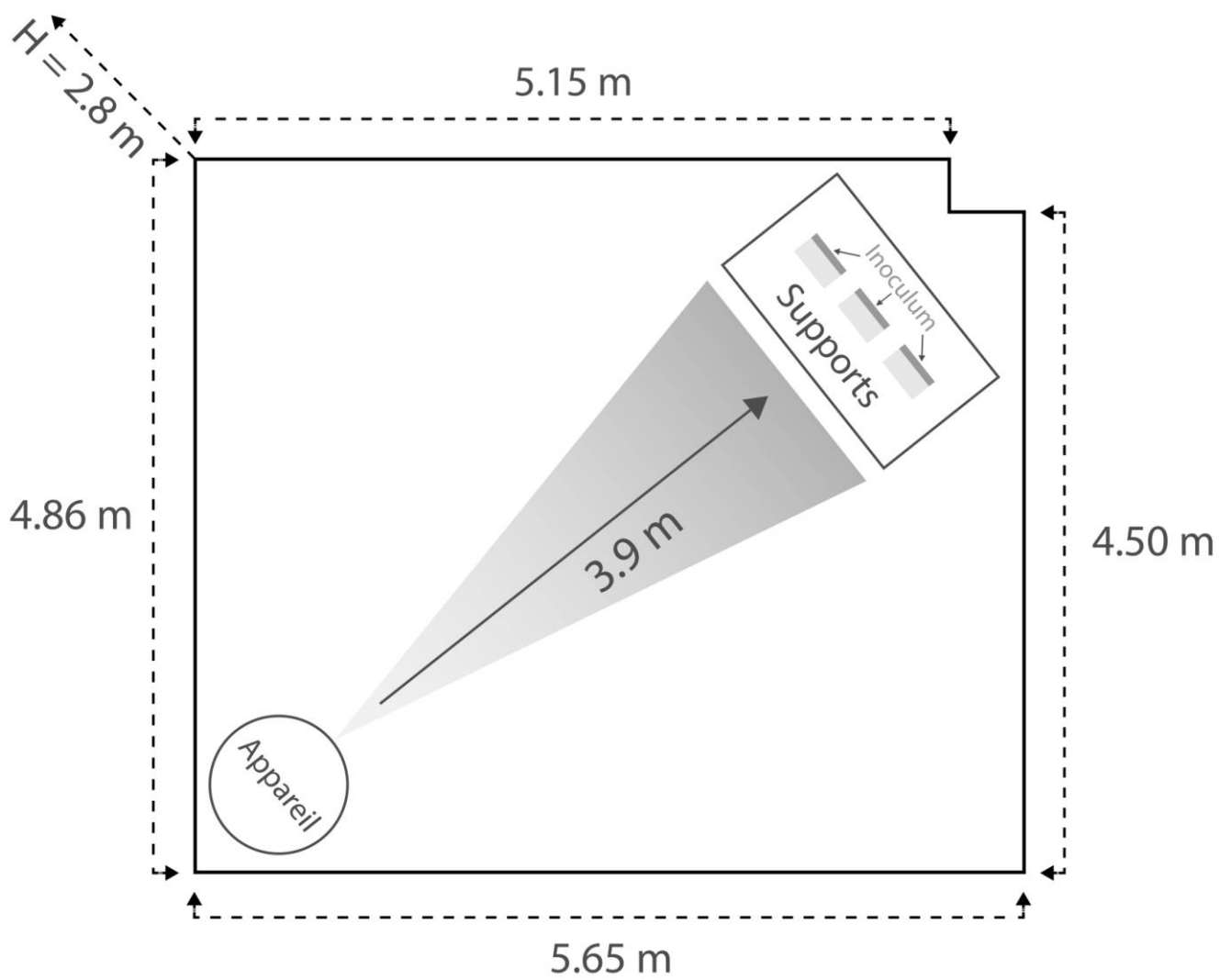
Chef de Service



Pr. D. HOBER

## Annexe / Annex

Schéma de la salle / Diagram of the room



Données expérimentales / Experimental data

- Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la formule 2122 /  
Evaluation of Cell sensitivity to virus after treatment with the formula 2122

Méthode / Method	Dilution (log) <sup>(a)</sup>							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Cellules non traitées / Non treated cells	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 4 0 0 4	0 0 0 0 0 0
Cellules traitées avec la solution S1 / Treated cells with S1 solution	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 4 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Cellules traitées avec la solution S2 / Treated cells with S2 solution	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0

Légende / legend :

- (a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration  
0 : aucun virus présent.

- Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of efficiency for suppression of disinfectant activity

Produit / Product	Solution / Solution	Dilution (log) <sup>(a)</sup>							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Témoin virus / Virus control	n.a.	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
Formule 2122 / Formula 2122	S1	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	4 0	0 0
Formule 2122 / Formula 2122	S2	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0

Légende / legend :

- (a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration  
0 : aucun virus présent.

- Evaluation de l'effet virucide de la formule 2122 / Evaluation of virucidal activity of the formula 2122

Produit / Product	Support / Carrier	Dilution (log) <sup>(a)</sup>							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	T1	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	T2	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Formule 2122 / Formula 2122	P1	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	P2	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	P3	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration

0 : aucun virus présent.

Laboratoire de Virologie – UPRES EA3610  
CHRU de Lille – Université de Lille 2  
Institut Hippocrate, Parc Eurasanté  
152 rue du Dr Yersin  
59120 Loos lez Lille  
France  
Tel : (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30  
Fax : (33) 03.20.44.48.95  
Email : didier.hober@chru-lille.fr

N° de rapport : 2015/32411  
Date d'édition : 20/04/2015

**RAPPORT D'ESSAI**  
**Détermination de l'activité virucide de la formule 2122**  
**associée au procédé AEROSEPT 500**

**Selon la Norme NF T 72-281 (Novembre 2014)**  
**Vis à vis du Norovirus Murin**

**TESTING REPORT**  
***Evaluation of the virucidal effect of the formula 2122***  
***with the process AEROSEPT 500***

***Test method according to the standard NF T 72-281 (November 2014)***  
***Against Murin Norovirus***

**Rapport pour / Report submitted to:**

**LABORATOIRES ANIOS**  
**Pavé du moulin**  
**59260 Lille Hellemmes**  
**France**

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci-après) soumis à l'essai.  
*This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval*

Ce document comporte 9 pages numérotées et 1 annexe de 3 pages  
*This report is made of 9 numbered pages and 1 annex of 3 pages*

La reproduction de ce rapport d'essai n'est autorisée que sous la forme de fac-simile photographique  
intégral

*The reproduction of this trial report is authorized only under the shape of complete photographic reproduction*



## **I- Introduction / Introduction**

A la demande de la société ANIOS, l'activité virucide de la formule **2122** diffusé par voie aérienne à l'aide du procédé **AEROSEPT 500**, a été évaluée vis-à-vis de la souche S-99 du Norovirus Murin. L'essai a été effectué selon la norme NF T 72-281 : Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne – Détermination de l'activité bactéricide, fongicide, levuricide, mycobactéricide, tuberculocide, sporicide et virucide incluant les bactériophages – Novembre 2014.

*As requested by the ANIOS Society, the virucidal activity of the formula **2122** diffused by airborne methods using the process **AEROSEPT 500** was evaluated against Murin Norovirus S-99 strain. The testing was carried out in accordance with the standard NF T 72-281: Methods of airborne disinfection of surfaces – determination of bacterial, fungicidal, yeasticidal, mycobactericidal, tuberculicidal, sporicidal and virucidal activity including bacteriophages – November 2014*

## **II- Identification du produit / Identification of sample**

- Code formule / Code Formula : **2122**
- N° de lot – N° de formule / Lot N° - Formula N° : **S30980**
- Fabricant / Manufacturer : **Laboratoires ANIOS**
- Application / Use : Désinfection des surfaces par voie aérienne / Disinfection of surfaces by airborne.
- Aspect du produit / Appearance of product : Liquide limpide et incolore / Clear and colourless liquid
- pH du produit / pH Value : Non Dilué (20°C) pH=1,50 / Undiluted (20°C) pH=1.50
- Conditions de stockage / Conditions of storage : Température ambiante, à l'abri de la lumière / Room temperature in the dark

### III- Conditions expérimentales / Experimental conditions

- Période d'essai / *Period of analysis* : du 26/03/15 au 03/04/15 / Through 26/03/15 to 03/04/15
- Appareil / *Apparatus* : **AEROSEPT 500**
- Code formule testée / *Code formula tested* : **2122**
- Dosage / *Concentration* : **≈7 ml/m<sup>3</sup>**
- Quantité de produit utilisé lors de l'essai / *Quantity of product used during the test* : **540 ml**
- Temps de diffusion du produit / *Time of diffusion of the product* : 30 minutes / *minutes*
- Dimension du local d'essai / *Test room size* : L (*l*) : 5.15 m / 5.50 m, l (*w*) : 4.86 m / 4.50 m, h (*h*) : 2.80 m
- Surface totale / Volume / *Total surface / Volume* : 1.49
- Volume du local d'essai / *Volume of the test room* : 76 m<sup>3</sup>  
(Exigences / *Requirements* : 30 à / to 150 m<sup>3</sup>)
- Température d'essai / *Test temperature* : (Exigences avant essai / *Requirements before testing* : 20°C ± 2°C)
  - Avant essai / *Before testing* : **21.8°C**
  - Après essai / *After testing* : **18.9°C**
- Hygrométrie / *Humidity* : (Exigences avant essai / *Requirements before testing* : 40 à / to 80%)
  - Avant essai / *Before testing* : **43.3% HR**
  - Après essai / *After testing* : **72% HR**
- Nature du support / *Nature of the carrier* : inox - 4 cm de diameter / *stainless steel – 4 cm diameter*
- Distance par rapport à la source / *Distance to the source* : 3.90 m sur hauteur comprise entre / *on height between* 1 m et 1.50 m (cf Annexe / *Annex B – T 72-281 – Novembre / November 2014*)
- Temps d'exposition des supports d'essais / *Exposure time of the carriers* : 60 minutes / *minutes*
- Substances interférentes / *Interfering substances* : Conditions de propreté : Solution de sérum albumine bovine sérique (SAB) à la concentration finale dans l'essai de 0,3 g de SAB par litre / *Clean conditions :Bovine serum albumin (BSA) at final concentration of 0.3 g of BSA per liter in test*
  - Liquide de récupération / *recovery liquid* : Milieu de culture / *Culture medium*
  - Volume du liquide de récupération / *Recovery liquid volume* : 20 ml
  - Méthode de récupération / *Recovery method* : Agitation + grattage des supports pendant 1 minute / *Shaking + scrapping of the support during 1 minute*

## **IV- Matériel et Méthodes / Material and methods**

### **1- Matériel / Material**

#### **a) Virus / Virus**

La souche S-99 de Norovirus Murin, provient du Friedrich-Loeffler Institut (Greifswald-Insel Riems, Allemagne).

*The Murin Norovirus strain S-99 was obtained from the Friedrich-Loeffler Institut (Greifswald-Insel Riems, Deutschland).*

#### **b) Lignée cellulaire / Cell line**

La lignée cellulaire Raw 264.7 (ATCC TIB-71) utilisée pour cultiver le Norovirus Murin provient de l'European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

*The Raw 264.7 cell line (ATCC TIB-71) used with the Murin Norovirus was obtained from the European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).*

### **2- Méthodes d'essai / Methods**

#### **a) Titrage viral / Determination of infectivity**

Les suspensions virales récupérées des supports traitées ou non traitées par le produit à tester sont diluées en série de  $10^{-1}$  à  $10^{-8}$ , dans du Milieu MEM de Eagle modifié Dulbecco (DMEM, Invitrogen, France) avec 2% de sérum de veau foetal (SVF, Invitrogen, France) glacé. 0,1 ml de chaque dilution est ensuite transféré dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules Raw 264.7, en commençant par la dilution la plus élevée. Après une heure d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO<sub>2</sub>, 0,1 ml de milieu de culture est additionné à chaque puits. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait au microscope inversé après 5 et 7 jours d'incubation. Le calcul du titre de l'infectivité virale ( $\log_{10}$  DICT<sub>50</sub>/ml) est déterminé par la méthode Spearman-Karber.

*The viral suspensions recovered from carriers treated or non-treated with the product were diluted from  $10^{-1}$  to  $10^{-8}$  in ice-cold Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Invitrogen, France) containing 2% fetal calf serum (FCS, Invitrogen, France). 0.1 ml of each dilution was transferred, beginning with the highest dilution, into six wells of a 96 wells microtitre plate with an established Raw 264.7 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytopathic effect (CPE) was read by using an inverted microscope after 5 and 7 days in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere. Calculation of estimated virus concentration ( $\log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/ml) was carried out by the Spearman-Karber method.*

#### **b) Mesure de l'activité virucide du produit / Determination of virucidal activity**

Les essais consistent à déposer 50µl de suspension virale composée de 9 volumes de virus mélangés avec 1 volume de substance interférente sur trois supports en inox (P1, P2 et P3), puis à laisser sécher les supports à 20°C +/- 2°C sous une hotte à flux laminaire.

Les supports secs sont ensuite exposés au produit diffusé par voie aérienne à l'aide de l'appareil AEROSEPT 500. Deux témoins virus (T1 et T2) sont réalisés en laissant les supports sous la hotte à flux laminaire. Après le temps de contact à une température de 20°C +/- 2°C, les supports sont prélevés de la salle d'essai et les virus sont récupérés dans 20 ml de milieu de culture après agitation + grattage pendant 1 minute. La quantité de virus résiduel dans le filtrat est évaluée par la technique de titrage sur cellule Raw 264.7.

L'activité virucide du produit test est mesurée en calculant la chute du titre viral obtenu après traitement par comparaison avec les témoins de titrage obtenus en absence de désinfectant. Le résultat est exprimé en facteur de réduction (FR).

*The tests consist to drop 50µl of virus suspension composed with 9 parts by volume of virus and 1 part by volume of interfering substances on three stainless steel carriers (P1, P2 and P3) and to dry the carriers at 20°C +/- 2°C under a laminar flow safety cabinet. Then the dry carriers are exposed to the product by airborne method using the apparatus AEROSEPT 500. Two virus controls (T1 and T2) are obtained by leaving carriers under the safety cabinet. After the contact times at a temperature of 20 ° C +/- 2 ° C, carriers are collected from the test room and the virus are recovered from the carriers in 20 ml of culture medium by Shaking + scrapping of the support during 1 minute. The quantity of residual virus in the filtrate is evaluated by titration on Raw 264.7 cell.*

*The virucidal activity of the test disinfectant was evaluated by calculating the decrease in titre in comparison with the 2 control titration without disinfectant. The results are expressed as reduction factor (RF).*

#### c) Sensibilité des cellules au virus / Cell sensitivity to virus

L'essai consiste à déposer 50µl de milieu de culture contenant 1 volume de substance interférente sur deux supports en inox (S1 et S2), puis à laisser sécher les supports à 20°C +/- 2°C sous une hotte à flux laminaire. Les supports secs sont ensuite exposés au produit diffusé par voie aérienne à l'aide de l'appareil AEROSEPT 500. Après le temps de contact à une température de 20°C +/- 2°C, les supports sont prélevés de la salle d'essai et transférés dans 20 ml de milieu de culture afin de neutraliser l'action du désinfectant sur le support. Après agitation + grattage pendant 1 minute, 0,1 ml des solutions S1, S2 ou du PBS est distribué dans 8 x 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules. Après 1 h à 37°C en présence de 5% de CO<sub>2</sub>, le milieu de culture est éliminé des puits et 0,1 ml de virus dilués de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-8</sup> dans du milieu à 2% de SVF, est distribué en parallèle sur les cellules traitées ou non traitées. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait après 5 et 7 jours d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO<sub>2</sub> et l'infectivité virale est calculée.

*The test consists to drop 50µl of culture medium with 1 part by volume of interfering substances on two stainless steel carriers (S1 and S2) and to dry the carriers at 20°C +/- 2°C under a laminar flow safety cabinet. Then the dry carriers are exposed to the product by airborne method using the apparatus AEROSEPT 500. After the contact times at a temperature of 20 ° C +/- 2 ° C, carriers are collected from the test room and transferred in 20 ml of culture medium to neutralized the disinfectant activity on the carrier. After shaking + scrapping of the support during 1 minute, 0.1 ml of the solution S1, S2 or PBS are distributed onto 8 x 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established cell monolayer. After 1 h at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere, culture medium is removed from the wells and 0.1 ml of virus diluted from 10<sup>-1</sup> to 10<sup>-8</sup> with culture medium containing 2% FCS was added on treated or untreated cells in parallel. The cytopathic effect (CPE) was read after incubation during 5 and 7 days at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub>-atmosphere and estimated virus concentration was carried out.*

d) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of efficiency for suppression of disinfectant activity*

Un volume de suspension virale composée de 9 volumes de virus mélangés avec 1 volume de substance interférente est additionné à 1 volume des solutions S1 ou S2 précédentes ou à 1 volume d'eau distillée. Les mélanges sont ensuite incubés pendant 30 min à 20°C, puis sont dilués de  $10^{-1}$  à  $10^{-8}$  dans du milieu de culture glacé et la quantité de virus résiduel est évaluée par la technique de titrage sur cellule Raw 264.7.

*One part by volume of virus suspension composed with 9 parts by volume of virus and 1 part by volume of interfering substances are mixed with 1 part by volume of the previous solutions S1 or S2 or 1 part by volume of distilled water. Then the mixtures are leaved during 30 min at 20°C and were diluted from  $10^{-1}$  to  $10^{-8}$  in ice-cold culture medium and the quantity of residual virus was evaluated by titration on Raw 264.7 cell.*

## V- Résultats / Results

### 1) Essai préliminaire / Preliminary test :

Recherche d'un effet inhibiteur sur support, éventuellement dû aux restes de désinfectant transportés par les supports.

*Searching of an inhibiting effect on carrier, possibly due to the residues of disinfectant transported by the carriers.*

### a) Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la formule 2122 / Evaluation of Cell sensitivity to virus after treatment with the formula 2122

	$\text{Log}_{10} \text{ DICT}_{50} \text{ (FR)}/$ $\text{Log}_{10} \text{ TCID}_{50} \text{ (RF)}$
Cellules non traitées / Non treated cells	8.50
Cellules traitées avec la solution S1 / Treated cells with S1 solution	8.50 <b>(0.00)</b>
Cellules traitées avec la solution S2 / Treated cells with S2 solution	8.50 <b>(0.00)</b>

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

### Interprétation / Interpretation

Si  $\text{FR} < 1 \log_{10}$ , les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

*If  $\text{FR} < 1 \log_{10}$ , the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.*

### b) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of efficiency for suppression of disinfectant activity

Produit / Product	Solution / Solution	$\text{Log}_{10} \text{ DICT}_{50} \text{ (FR)}/$ $\text{Log}_{10} \text{ TCID}_{50} \text{ (RF)}$
Témoin virus / Virus control	n.a.	7.50
Formule 2122 / Formula 2122	S1	7.50 <b>(0.00)</b>
Formule 2122 / Formula 2122	S2	7.66 <b>(0.00)</b>

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

### Interprétation / Interpretation

Si  $\text{FR} < 0,5 \log_{10}$ , les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

*If  $\text{FR} < 0.5 \log_{10}$ , the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.*

2) Evaluation de l'effet virucide de la formule 2122 / Evaluation of virucidal activity of the formula 2122 :

Tableau des résultats de virucidie de la formule 2122 par voie aérienne sur le Norovirus Murin S-99 en conditions de propreté

Table on virucidal activity of the formula 2122 in airborne conditions on Murin Norovirus S-99 in clean conditions

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Support / Carrier	Log <sub>10</sub> DICT <sub>50</sub> après xx min (FR) / Log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> after xx min (RF)		>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			60	Moy. / Mean	
Témoin virus / Virus control		T1	6.16	6.00	n.a.
		T2	5.83		n.a.
Formule 2122 / Formula 2122	0,3 g/l SAB / 0.3 g/l BSA	P1	0.50 (5.50*)	n.a.	≥60 min
		P2	0.50 (5.50*)	n.a.	≥60 min
		P3	0.50 (5.50*)	n.a.	≥60 min

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

\* : FR calculé à partir de la moyenne des témoins virus / RF evaluated using the mean of the virus control

**Interprétation / Interpretation**

Taux de réduction minimum sur les virus (activité virucide) : FR ≥ 4 log<sub>10</sub>

Minimal reduction rate on virus (virucidal activity): FR ≥ 4 log<sub>10</sub>

## VI- Conclusion / Conclusion

Le procédé **AEROSEPT 500** associé à la formule **2122** à 7 ml/m<sup>3</sup> présente une activité virucide vis-à-vis du Norovirus Murin S-99 en **60 minutes** de contact, selon la norme NF T 72-281 (Novembre 2014) dans les conditions obligatoires de la norme.

*The process **AEROSEPT 500** with the formula **2122** at 7 ml/m<sup>3</sup> presents a virucidal activity against the Murin Norovirus S-99 after 60 minutes of exposure time, according to the standard NF T 72-281 (November 2015) in the obligatory conditions of the standard.*

**Lille, le 20 avril 2015**

Responsable technique



Dr. P. E. LOBERT

Chef de Service

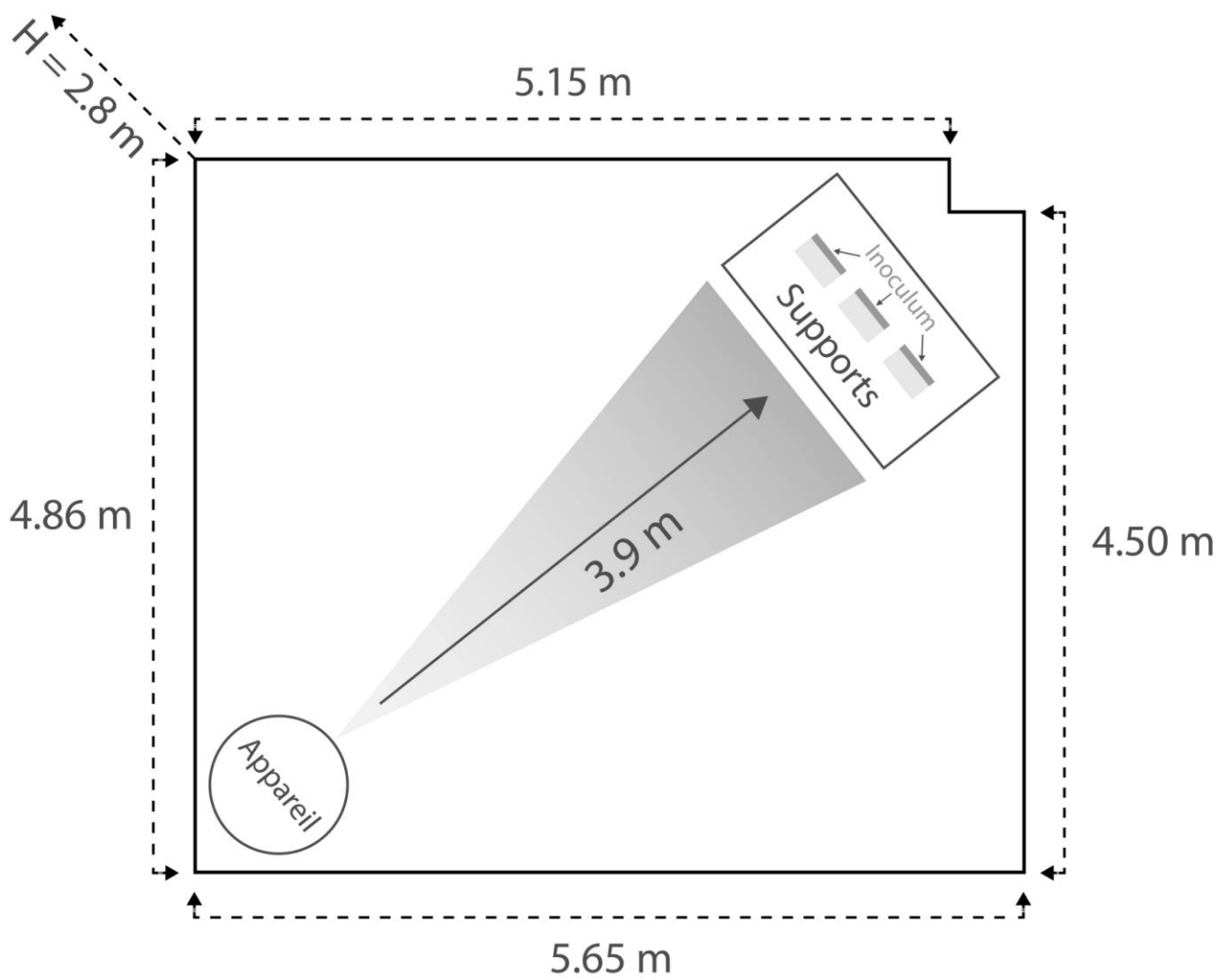


Pr. D. HOBER



## Annexe / Annex

Schéma de la salle / Diagram of the room



Données expérimentales / Experimental data

- Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la formule 2122 /  
Evaluation of Cell sensitivity to virus after treatment with the formula 2122

Méthode / Method	Dilution (log) <sup>(a)</sup>								
	2	3	4	5	6	7	8	9	
Cellules non traitées / Non treated cells	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0
Cellules traitées avec la solution S1 / Treated cells with S1 solution	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0
Cellules traitées avec la solution S2 / Treated cells with S2 solution	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration  
0 : aucun virus présent.

- Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of efficiency for suppression of disinfectant activity

Produit / Product	Solution / Solution	Dilution (log) <sup>(a)</sup>							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Témoin virus / Virus control	n.a.	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0
Formule 2122 / Formula 2122	S1	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
Formule 2122 / Formula 2122	S2	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration  
0 : aucun virus présent.

- Evaluation de l'effet virucide de la formule 2122 / Evaluation of virucidal activity of the formula 2122

Produit / Product	Support / Carrier	Dilution (log) <sup>(a)</sup>							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	T1	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0
	T2	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0	0 0 0
Formule 2122 / Formula 2122	P1	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	P2	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	P3	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration

0 : aucun virus présent.