

**DETERMINATION DE L'ACTIVITE SPORICIDE DU
PRODUIT F1031V2 SELON LA NORME EN 17126**

Délivré à Mme CHAKCHOUK

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



Demande d'essai du : 08/10/2019

Références du dossier d'analyses : n°233D33-2019-04

ESSAIS SPORICIDES :

Selon la méthodologie de la norme européenne NF EN 17126 (Décembre 2018) – antiseptiques et désinfectants chimiques – essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité sporicide des désinfectants utilisés pour les instruments en médecine (phase 2, étape 1).

Essai sur deux souches : *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*.

Ce rapport comporte 9 pages et ne concerne que les échantillons étudiés.

Date d'émission : 16/12/2019

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





APEX BIOSOLUTIONS
4, rue des grandes pièces
25770 Serre les sapins

tél 09 62 52 91 87 - info@apexlabo.com
n° SIRET 517 860 532 00012
n° TVA intra FR 2351 7860532

SOMMAIRE

1	LABORATOIRE AYANT REALISE LES ESSAIS	3
2	IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS	3
3	CONDITIONS EXPERIMENTALES	3
4	CONCLUSIONS	4
5	VALIDATIONS ET FEUILLES DE RESULTATS	4
6	FEUILLE DE RESULTATS – <i>BACILLUS SUBTILIS</i> ESSAI	5
7	FEUILLE DE RESULTATS – <i>BACILLUS SUBTILIS</i> REPETITION	6
8	FEUILLE DE RESULTATS – <i>BACILLUS CEREUS</i> ESSAI	7
9	FEUILLE DE RESULTATS – <i>BACILLUS CEREUS</i> REPETITION	8
10	ANNEXE TECHNIQUE	9

Editor	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Mrs Stephanie MOROT-BIZOT, Director
	

Study n °: 233D33-2019-04

Client : FRANKLAB

Page 3 sur 9

1 LABORATOIRE AYANT REALISE LES ESSAIS

APEX BIOSOLUTIONS
4, rue des Grandes pièces
Zone EURESPACE
25770 SERRE LES SAPINS
France

2 IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS

Reference	Lot N°
F1031V2	708281

Date limite d'utilisation optimale : non communiquée

Fabricant : FRANKLAB

Date de fabrication : non communiquée

Conditions de stockage : Température ambiante et obscurité.

Composants actifs : éthanol, isopropanol, amine tertiaire

Aspect : liquide transparent

Précautions d'emploi : aucune

Diluant préconisé par le fabricant : aucun, produit prêt à l'emploi

Date de réception au laboratoire : 17/10/2019

Période de l'étude : du 22/11/2019 au 13/12/2019

3 CONDITIONS EXPERIMENTALES

Concentration testée : produit pur (80% dans l'essai)

Méthode employée : EN 17126

Temps de contact : 2 min - 5 min – 10 min – 15 min



Température d'essai : 20°C

Substance interférente : albumine bovine (0,3g/L), conditions de propreté.

Diluant des suspensions bactériennes et des essais : solution tryptone sel

Souches utilisées : *Bacillus subtilis subsp. Spizizenii* réf 52.62 lot n° 17510 (ATCC 6633) et *Bacillus cereus* réf. 105151 lot 6210 (ATCC 12826) – Institut Pasteur.

Milieux et conditions de culture : TSA (Trypton Soy Agar), à 37°C ± 1°C.

Editor	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Mrs Stephanie MOROT-BIZOT, Director
	

Study n °: 233D33-2019-04

Client : FRANKLAB

Page 4 sur 9

Technique d'arrêt de l'action sporicide : neutralisant à base de polysorbate 80 (30g/l) et de jaune d'œuf (5%) dans de l'eau distillée.

Stabilité du produit en présence de substances interférentes : bonne

4 CONCLUSIONS

Conformément à la norme EN 17126 (Décembre 2018), le produit F1031V2:

- a une activité sporicide sur les souches *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* lorsqu'employé pur, pour 15 min de contact à 20°C, en conditions de propreté (albumine bovine à 0,3g/L).
- a une activité sporicide sur la souche *Bacillus subtilis* lorsqu'employé pur, pour 10 min de contact à 20°C, en conditions de propreté (albumine bovine à 0,3g/L).

5 VALIDATIONS ET FEUILLES DE RESULTATS

Voir ci-après.

- *Bacillus cereus*, R = 4,22 pour 15 min de contact
- *Bacillus subtilis*, R = 4,15 pour 10 min de contact

Vérifications de la méthodologie:

- $30 \text{ UFC/ml} < N_{v0} < 160 \text{ UFC/ml}$
- $1,5 \cdot 10^7 \text{ UFC/ml} < N < 5 \cdot 10^7 \text{ UFC/ml}$
- $6,17 \leq \lg N_0 \leq 6,70$
- $A \geq 0,5 \times N_{v0}$
- $B \geq 0,5 \times N_{v0}$
- $C \geq 0,5 \times N_{v0}$

Légende :

Vc = dénombrement par ml

\bar{x} = moyenne de Vc1 et Vc2

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

Nv0 = nombre d'UFC/ml dans la suspension de validation



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

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

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

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



Log R = logarithme de la réduction obtenue ($\lg R = \lg N_0 - \lg N_a$)

Editor	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Mrs Stephanie MOROT-BIZOT, Director
	

6 FEUILLE DE RESULTATS – BACILLUS SUBTILIS ESSAI

SOUCHE	Suspension de validation (Nv0)		Validation A		Validation B		Validation C	
	<i>Bacillus subtilis</i>	99	96	90	93	97	98	88
	\bar{x}	97,5	\bar{x}	91,5	\bar{x}	97,5	\bar{x}	90,0
	30 ≤ Nv0 ≤ 160 ? x oui <input type="checkbox"/> non		A ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non		B ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non		C ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non	



SOUCHE	Suspension d'essai		2 min		5 min		10 min		15 min	
	<i>Bacillus subtilis</i>	1.10 ⁻⁵	244	248	Vc		Vc		Vc	
	1.10 ⁻⁶	25	26	1.10 ⁰	167	149	1.10 ⁰	18	1.10 ⁰	5
	N	2,47.10 ⁷	38	1.10 ⁻¹	18	16	1.10 ⁻¹	2	1.10 ⁻¹	0
	Log N0	6,39	>3300	Na	1590,91	Na	Na	160,00	Na	<35,00
	6,17 ≤ lg N0 ≤ 6,70 ? x oui <input type="checkbox"/> non		>3,52	Log Na	3,20	Log Na	Log Na	2,20	Log Na	<1,54
			<2,87	Lg R = logN0-logNa	3,19	Lg R = logN0-logNa	4,19	Lg R = logN0-logNa	>4,85	

Editor	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Mrs Stephanie MOROT-BIZOT, Director
	

7 FEUILLE DE RESULTATS – BACILLUS SUBTILIS REPETITION

SOUCHE	Suspension de validation (Nv0)		Validation A		Validation B		Validation C	
<i>Bacillus subtilis</i>	94	99	96	96	98	103	89	91
	\bar{X}	96,5	\bar{X}	96,0	\bar{X}	100,5	\bar{X}	90,0
	30 ≤ Nv0 ≤ 160 ? x oui <input type="checkbox"/> non		A ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non		B ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non		C ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non	



SOUCHE	Suspension d'essai		2 min		5 min		10 min		15 min		
	1.10 ⁻⁵	277	290	ESSAI	Vc	ESSAI	Vc	ESSAI	Vc	ESSAI	Vc
<i>Bacillus subtilis</i>	1.10 ⁻⁶	31	30	1.10 ⁰	296	299	1.10 ⁰	25	21	1.10 ⁰	10
	N	2,85.10 ⁷		1.10 ⁻¹	33	31	1.10 ⁻¹	3	2	1.10 ⁻¹	1
	Log NO	6,46		Na	2995,45		Na	1759,09		Na	<95,00
6,17 ≤ lg NO ≤ 6,70 ? x oui <input type="checkbox"/> non				Log Na	3,48		Log Na	3,25		Log Na	<1,98
				Lg R = logNO-logNa	2,98		Lg R = logNO-logNa	3,21		Lg R = logNO-logNa	>4,48

Editor	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Mrs Stephanie MOROT-BIZOT, Director
	

8 FEUILLE DE RESULTATS – BACILLUS CEREUS ESSAI

SOUCHE	Suspension de validation (Nv0)		Validation A		Validation B		Validation C	
<i>Bacillus cereus</i>	101	96	95	92	98	98	93	90
	\bar{X}	98,5	\bar{X}	93,5	\bar{X}	98,0	\bar{X}	91,5
	30 ≤ Nv0 ≤ 160 ? x oui <input type="checkbox"/> non		A ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non		B ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non		C ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non	

SOUCHE	Suspension d'essai		ESSAI		ESSAI		ESSAI		ESSAI				
	1.10 ⁵	273	266	Vc		Vc		Vc		15 min			
<i>Bacillus cereus</i>	1.10 ⁶	29	27	1.10 ⁰	>330	134	128	1.10 ⁰	34	37	1.10 ⁰	18	18
	N	2,70.10 ⁷		1.10 ⁻¹	28	16	14	1.10 ⁻¹	4	4	1.10 ⁻¹	3	2
	Log NO	6,43		Na	>3268,18	1327,27		Na	355,00		Na	180,00	
	6,17 ≤ lg NO ≤ 6,70 ? x oui <input type="checkbox"/> non		>3,51		Log Na	3,12		Log Na	2,55		Log Na	2,26	
		Lg R = logNO-logNa		<2,92		3,31		Lg R = logNO-logNa		3,88		Lg R = logNO-logNa	
												4,17	

Editor	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Mrs Stephanie MOROT-BIZOT, Director
	

9 FEUILLE DE RESULTATS – BACILLUS CEREUS REPETITION

SOUCHE	Suspension de validation (Nv0)		Validation A		Validation B		Validation C	
<i>Bacillus cereus</i>	103	111	104	100	99	96	90	95
	\bar{X}	107,0	\bar{X}	102,0	\bar{X}	97,5	\bar{X}	92,5
	30 ≤ Nv0 ≤ 160 ? x oui <input type="checkbox"/> non		A ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non		B ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non		C ≥ 0,5 * Nv0 ? x oui <input type="checkbox"/> non	

SOUCHE	Suspension d'essai		ESSAI		2 min		ESSAI		5 min		ESSAI		10 min		ESSAI		15 min		
	1.10 ⁻⁵	288	284	Vc	1.10 ⁰	>330	201	208	201	208	1.10 ⁰	60	45	60	45	1.10 ⁰	16	16	
<i>Bacillus cereus</i>	1.10 ⁻⁶	30	29	Vc	1.10 ⁻¹	38	34	22	21	22	21	7	5	7	5	1.10 ⁻¹	2	2	
	N	2,87.10 ⁷			Na	>3327,27	Na	2054,55	Na	525,00	Na	525,00	Na	160,00	Na	160,00	Na	160,00	
	Log N0	6,46			Log Na	>3,52	Log Na	3,31	Log Na	2,72	Log Na	2,72	Log Na	2,20	Log Na	2,20	Log Na	2,20	
	6,17 ≤ lg N0 ≤ 6,70 ? x oui <input type="checkbox"/> non			Lg R = logNO-logNa	<2,94	Lg R = logNO-logNa	3,15	Lg R = logNO-logNa	3,74	Lg R = logNO-logNa	3,74	Lg R = logNO-logNa	4,26	Lg R = logNO-logNa	4,26	Lg R = logNO-logNa	4,26	Lg R = logNO-logNa	4,26

Editor		Supervisor	
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician		Mrs Stephanie MOROT-BIZOT, Director	

10 ANNEXE TECHNIQUE

Milieux:

TSA (Trypton Soy Agar), Dominique DUTSCHER, réf. 777410, lot n° 806051

SUBSTANCES INTERFÉRENTES :

Sérum Albumine Bovine en poudre, Fraction V, Dominique Dutscher, réf.P6154, lot D1304039

DILUANT Solution Tryptone-Sel (TS)

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

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

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

NEUTRALISANT

Ingrédients par litre d'eau distillée:

Polysorbate 80, SIGMA ALDRICH, réf. 59924, lot n° BCBJ6978V ----- 30 g

Jaune d'œuf frais ----- 50 ml

Stérilisé par filtration sur filtre 0,45 µm ; pH à 25°C : 7,4 ± 0,1

EAU DURE

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

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

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

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

Editor	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Mrs Stephanie MOROT-BIZOT, Director
