

Sainghin en Mélantois, le 29 septembre 2017  
*Sainghin en Mélantois, on the September 29<sup>th</sup> 2017*

## 1. Objet de la demande (*Study Number*) n° 36106

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Méthode d'essai quantitative pour l'évaluation de l'activité bactéricide et levuricide sur des surfaces non poreuses, avec action mécanique à l'aide de lingettes dans le domaine médicale (Essai à 4 zones), de la formule **1917**. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 - étape 2) NF EN 16615 (Mai 2015).  
Indice de classement T 72-615.  
Méthode par dilution neutralisation.

*Chemical antiseptics and disinfectants. Quantitative test method for the evaluation of the bactericidal and yeasticidal activity on non-porous surfaces with mechanical action employing wipes in the medical area (4 fields test) of the formula **1917**. Test method and prescriptions (phase 2 - step 2) according to NF EN 16615 (May 2015).*

*Classification index T 72-615.*

*Method by dilution neutralisation.*

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 10 pages numérotées dont 1 annexe de 2 pages

*This report is made of 10 numbered pages including 1 annex of 2 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.*

## Laboratoires ANIOS SAS

Adresse : Pavé du moulin – 59260 Lille-Hellemmes  
Tél. +33 3 20 67 67 67 – Fax : + 33 3 20 67 67 68  
SIREN : 823 326 061 – SIRET : 823 326 061 00020  
VAT : FR71823326061 – Capital Social : 773 630 132 euros

Version B du 21/09/2017

## **2. Sommaire (*Summary*)**

1. Objet de la demande ( <i>Study Number</i> ) n° 36106	1
2. Sommaire ( <i>Summary</i> )	2
3. Introduction ( <i>Introduction</i> )	3
4. Identification de l'échantillon ( <i>Sample Identification</i> )	3
5. Méthode expérimentale ( <i>Experimental Method</i> )	4
5.1. Conditions expérimentales ( <i>Experimental conditions</i> )	4
5.2. Méthode par dilution neutralisation ( <i>Method by dilution neutralisation</i> )	4
5.3. Quantité de liquide libérée ( <i>amount of liquid released</i> )	5
6. Résultats ( <i>Results</i> )	6
6.1. Essais de validation des conditions expérimentales ( <i>Validation tests</i> )	6
6.2. Essais d'activité bactéricide (Evaluation of bactericidal activity)	7
7. Conclusion (Conclusion)	7
8. Annexes	8
8.1. Schéma	8
8.2. Données expérimentales (Experimental Data)	9

### **3. Introduction (*Introduction*)**

L'essai a été réalisé selon la méthode d'essai décrite dans la norme européenne EN 16615 « Désinfectants chimiques et antiseptiques- Essai quantitatif pour l'évaluation de l'activité bactéricide sur des surfaces non poreuses, avec action mécanique à l'aide de lingettes dans le domaine médical (phase 2 /Etape 2) » .

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

*The test was realised according to the test method described in the European standard EN 16615 « Chemical disinfectants and antiseptics- Quantitative test method for the evaluation of bactericidal activity on non-porous surfaces with mechanical action employing wipes in the medical area – Phase 2 – Step 2».*

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

L'essai décrit ci après a été effectué avec des conditions additionnelles.

*The test described below has been performed with additional conditions.*

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

Code formule <i>Code formula</i>	<b>1917</b>
Numéro d'identification de l'échantillon <i>Identification of the sample</i>	<b>5797 17 09 16615</b>
Numéro de lot <i>Batch number</i>	<b>U 301 09</b>
Fabricant <i>Manufacturer</i>	<b>Laboratoires ANIOS SAS</b>
Date de réception au laboratoire <i>Receipt date at the laboratory</i>	Le 04/07/17 On the 04/07/17
Conditions de stockage au laboratoire <i>Storage conditions at the laboratory</i>	T° ambiante et obscurité Room temperature and darkness
Substances actives <i>Activ substances</i>	Chlorure de didécylidiméthylammonium (CAS :7173-51-5) : 0,3% (p/p) Didecyldimethylammonium chloride (CAS :7173-51-5) : 0,3% (w/w)
Période d'essai <i>Period of analysis</i>	Du 22/09/17 au 29/09/17 From 22/09/17 to 29/09/17

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

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

Température de l'essai <i>Test temperature</i>	20°C ± 1°C
Temps de contact <i>Contact Time</i>	15 minutes ± 10s
Diluant de la formule lors des essais <i>Diluent of the formula used during the test</i>	Eau dure <i>Hard water</i>
Nature du support <i>Nature of the support</i>	PVC <i>Polyvinyl Chloride</i>
Temps de séchage des porte germes <i>Time of drying of the germ carriers</i>	13 min <i>13 min</i>
Apparence de la formule et de ses dilutions <i>Appearance formula dilutions</i>	Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai <i>Preparation physically homogeneous and stable during test</i>
Micro - organismes d'essai <i>Test micro - organisms</i>	• <i>Serratia marcescens</i>
Substance interférente <i>Interfering substance</i>	Albumine bovine à 3g/l + 3ml/l érythrocytes <i>3 g/l BSA + 3 ml/l erythrocytes</i>
Type de lingette utilisée <i>Type of wipe used</i>	Lingette (55% pate de bois + 45% PET) (175 x 280 mm) <i>Wipe (55% pulp + 45% PET) (175 x 280 mm)</i>
Quantité de liquide imbibée (g ou ml) <i>Amount of liquid soaked (g or ml)</i>	16 ml <i>16 ml</i>
Température d'incubation des boîtes de Pétri <i>Incubation temperature of Petri dishes</i>	37 °C ± 1 °C <i>37 °C ± 1 °C</i>

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

Nature du neutralisant utilisé <i>Nature of the neutralizer agent used</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Formule : F004</li> <li>○ Formula : F004</li> </ul>
Neutralisant ajouté au milieu de dénombrement <i>Neutralizer agent added to the counting medium</i>	∅
	∅

### 5.3. Quantité de liquide libérée (amount of liquid released)

<i>Serratia marcescens</i>			
	Poids de la lingette avant essuyage (g)	Poids de la lingette après essuyage (g)	Liquide libéré (g)
	<i>Weight of the wipe before wiping (g)</i>	<i>Weight of the wipe after wiping (g)</i>	<i>Liquid released (g)</i>
Nw	18,44	17,74	0,70
0,25 %	18,56	17,80	0,76

## 6. Résultats (Results)

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

#### Sur les bactéries (on bacteria) :

Vérification de la méthodologie et validation de la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de 0,25% de la formule **1917** soumise à l'essai.

*Checking of the method and validation of the method by dilution neutralisation for the 0,25% test concentration of the formula **1917** to be tested.*

Souche testée <i>Tested strain</i>	Nombre de cellules viables (UFC/ml) (Number of viable cells(CFU/ml))									
	Suspension d'essai /20 <i>Test suspension /20</i>	Suspension de validation /20 <i>Validation suspension /20</i>	Suspension de validation /10 <i>Validation suspension /10</i>	Témoin séchage à t0 <i>drying control to t0</i>	Témoin séchage à t <i>drying control to t</i>	Témoin eau <i>water control</i>	Non toxicité du neutralisa <i>Neutralizer toxicity control</i>	Inactivation par dilution <i>Dilution neutralizatio n control</i>	B	C
	N <i>N</i>	N <sub>0</sub> <i>N<sub>0</sub></i>	N <sub>v</sub> <i>N<sub>v</sub></i>	N <sub>v0</sub> <i>N<sub>v0</sub></i>	Dc <sub>0</sub> <i>Dc<sub>0</sub></i>	Dc <sub>t</sub> <i>Dc<sub>t</sub></i>	Nw <i>Nw</i>			
<b>Serratia marcescens</b>	1,9.10 <sup>9</sup>	9,5.10 <sup>7</sup>	4,4.10 <sup>2</sup>	44	8,2.10 <sup>6</sup>	7,6.10 <sup>6</sup>	1774	5,2.10 <sup>1</sup>	4,9.10 <sup>1</sup>	

Pour les bactéries à l'essai - For the bacteria.

N est compris entre  $1,5 \times 10^9$  UFC/ml et  $5 \times 10^9$  UFC/ml  
*is comprised between  $1,5 \times 10^9$  CFU/ml and  $5 \times 10^9$  CFU/ml*

N<sub>0</sub> est compris entre  $7,5 \times 10^7$  UFC/ml et  $2,5 \times 10^8$  UFC/ml  
*is comprised between  $7,5 \times 10^7$  CFU/ml and  $2,5 \times 10^8$  CFU/ml*

N<sub>v</sub> est compris entre  $3 \times 10^2$  UFC/ml et  $1,6 \times 10^3$  UFC/ml  
*is comprised between  $3 \times 10^2$  CFU/ml and  $1,6 \times 10^3$  CFU/ml*

N<sub>v0</sub> est compris entre  $3 \times 10^1$  UFC/ml et  $1,6 \times 10^2$  UFC/ml  
*is comprised between  $3 \times 10^1$  CFU/ml and  $1,6 \times 10^2$  CFU/ml*

B,C sont supérieurs ou égaux à  $0,5 \times N_{v0}$

*is higher or equal to  $0,5 \times N_{v0}$*

Dc<sub>0</sub> est compris entre  $7,5 \times 10^6$  UFC/ml et  $2,5 \times 10^8$  UFC/ml  
*is comprised between  $7,5 \times 10^6$  CFU/ml and  $2,5 \times 10^8$  CFU/ml*

Dc<sub>t</sub> est compris entre  $7,5 \times 10^6$  UFC/ml et  $2,5 \times 10^8$  UFC/ml  
*is comprised between  $7,5 \times 10^6$  CFU/ml and  $2,5 \times 10^8$  CFU/ml*

N<sub>w</sub> est en moyenne supérieur à 10 UFC/25cm<sup>2</sup> sur les zones 2 à 4  
*is on average greater than 10 UFC/25cm<sup>2</sup> on the areas 2 to 4*

La neutralisation est validée avec la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de 0,25% de la formule **1917** et pour la souche de *Serratia marcescens*.

*The neutralization is validated with the method by dilution neutralisation for the 0,25% test concentration of the formula 1917 and for *Serratia marcescens*.*

## 6.2. Essais d'activité bactéricide (Evaluation of bactericidal activity)

Souche testée	Nombre de cellules viables (Log) pour le mélange d'essai (Na) pour les concentrations de : % (v/v)
Tested strain	Number of the viable cells (Log) for the test mixture (Na) for the concentrations of : % (v/v)
	0,25
<b>Serratia marcescens</b>	1,9

Souche testée	Réduction du nombre de cellule viables à la concentration d'essai. $R = \log N_0 - \log Na$
Tested strain	Reduction of the number of viable cells at the test concentration. $R = \log N_0 - \log Na$
	0,25
<b>Serratia marcescens</b>	<u>5,0</u>

Pour la zone 1, le taux de réduction sur les bactéries (activité bactéricide) : R est  $\geq 5 \log$

Le dénombrement des zones 2 à 4 satisfait aux exigences : < 50 UFC pour 25 cm<sup>2</sup> (voir données expérimentales en annexe)

For the zone 1, the reduction rate on bacteria (bactericidal activity): R est  $\geq 5 \log$

The Counting of the zones 2-4 meet requirements : <50 CFU for 25 cm<sup>2</sup> (see experimental data attached)

## 7. Conclusion (Conclusion)

Selon la norme NF EN 16615 (mai 2015), la formule **1917**, lorsqu'elle est diluée à la concentration de 0,25 % (v/v) dans de l'eau dure, présente une activité bactéricide en **15 minutes** de contact à 20°C en conditions de saleté pour la désinfection des surfaces non-poreuses avec action mécanique à l'aide de lingettes, vis-à-vis de la souche testée: **Serratia marcescens**.

According to the European standard NF EN 16615 ( may 2015), the formula **1917**,when diluted at the concentration of 0,25% (v/v) in hard water, presents a bactericidal activity in a 15 minutes contact time at 20°C in dirty conditions according to the requirements for non-porous surfaces disinfection with mechanical action using wipes against the tested strain: **Serratia marcescens**.

## 8. Annexes

### 8.1. Schéma

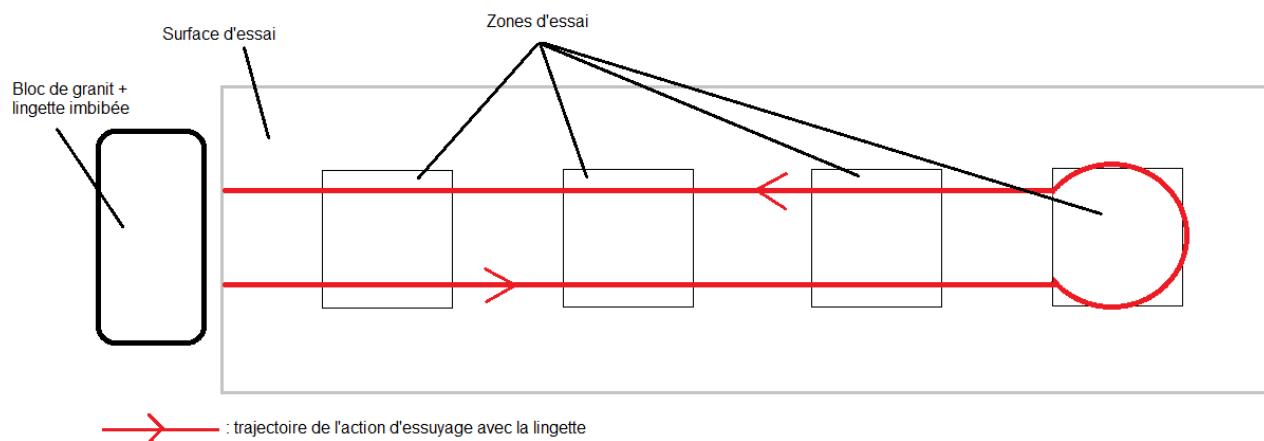


Figure - Représentation schématique des zones d'essai et du mouvement d'essuyage sur les quatre zones d'essai tracées sur la surface d'essai

## 8.2. Données expérimentales (Experimental Data)

### Serratia marcescens - 15 minutes

FICHE DE RESULTATS D'ESSAI  
Norme NF EN 16615 (Bactéricidie) Mai 2015

Réf :FS405C  
Date :24/11/15

Date :

22.09.17

Numéro d'identification : 5797 17 09 16615

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC par boîte			
	Dilution -7	Dilution -8	Dilution -7	Dilution -8
Serratia marcescens	184	20	184	20
	192	16	192	16

Lecture 20 à 24 heures      Lecture 40 à 48 heures

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 412  
 n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution..... 2  
 n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution..... 2  
 d : facteur de dilution correspondant à la première dilution..... -7

$$\text{Moyenne pondérée : } \frac{C}{(n_1 + 0,1 \times n_2) \times d} = 1,9E+09 \text{ UFC/ml}$$

$$5 < Q = \frac{\text{dil - 7 / 2}}{\text{dil - 8 / 2}} < 15 = \frac{188}{18} = 10,4 \quad N_0 = 9,5E+07 \text{ UFC/ml}$$

Essai de validation : Temps de contact : NL 15'

Dc <sub>0</sub> :	De 14 à 330 UFC par boîte			De 14 à 330 UFC par boîte		
	Témoin séchage au temps t <sub>0</sub>	-5	80	83	80	83
Dc <sub>t</sub> :	-6	12	8	12	8	
Nw:	Témoin séchage au temps t <sub>t</sub>	-5	75	76	75	76
	-6	6	5	6	5	
Nw : Témoin eau	Z2	Z3	Z4	Z2	Z3	Z4
	+	+	119	+	+	119
	+	+	128	+	+	128
	-1	58	32	6	58	32
Nv <sub>0</sub> : Témoin suspension	63	36	10	63	36	10
	41	41	41	41	41	41
	46	46	46	46	46	46
B:	Témoin de non-toxicité du neutralisant	50	50	50	50	50
		54	54	54	54	54
C:	Essai de l'inactivation par dilution	45	45	45	45	45
	à 0,25 %	53	53	53	53	53
Lecture 20 à 24 heures			Lecture 40 à 48 heures			

Calcul :  $Nv = \frac{c \times 10}{n}$    B, C =  $\frac{c}{n}$    Dc<sub>0</sub>, Dc<sub>t</sub> =  $\frac{c}{n \times 10^{-5}}$  (en UFC/ml)

c : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes

n : nombre de boîtes prises en compte

$$Nw (Z2, Z3, Z4) = \frac{c}{n} \times 5 \text{ (en UFC/25cm²)}$$

FICHE DE RESULTATS D'ESSAI  
Norme NF EN 16615 (Bactéricidie) Mai 2015

Réf: FS405C  
Date :24/11/15

Numéro d'identification : 5797 17 09 16615

Dc <sub>0</sub>	C = $\frac{163}{2,00E-05} = 8,2E+06$	Dc <sub>t</sub>	$\frac{151}{2,0E-05} = 7,6E+06$	UFC/ml
Nw	moyenne =		1774	UFC/25cm <sup>2</sup>
Nv <sub>0</sub>	C = $\frac{87}{2} = 44$	Nv	44 X 10 = 4,4E+02	UFC/ml
B	C = $\frac{104}{2} = 5,2E+01$			UFC/ml
C	C = $\frac{2}{2} = 4,9E+01$			UFC/ml

Interprétation:

Dc<sub>0</sub> et Dc<sub>t</sub> sont compris entre 7,5.10<sup>3</sup> et 2,5.10<sup>6</sup>      8,2E+06 et 7,6E+06      Oui  
 Nw est en moyenne supérieur à 10 UFC/25cm<sup>2</sup> sur les zones 2 à 4      1774      Oui  
 Nv<sub>0</sub> est entre 30 et 160 UFC/ml soit Nv entre 3,0.10<sup>2</sup> et 1,6.10<sup>3</sup>      44 et 4,4E+02      Oui  
 B et C sont égaux ou supérieurs à 0,5 X Nv<sub>0</sub>      5,2E+01 et 4,9E+01      Oui

La neutralisation est validée :

Oui

Log Dc<sub>0</sub> = 6,9      Log

Temps de contact : NL 15'

Volume pipeté de produit pour une fiole de 100ml	Concentration (%)	Zone 1		Zone 2		Zone 3		Zone 4		$\frac{\text{Log}(\text{Na})}{\text{Log}((\text{C} \times 5) / (2 \times \text{X}))}$	Zone 2 à 4			
		0	-1	Zone 1	Zone 2	Zone 3	Zone 4	Zone 1	Zone 2					
0,25	0,25	84	10	20	12	3				1,9	49			
		86	7	11	12	1								
48h		84	10	20	12	3				Log Na =				
		86	7	11	12	1								
	Concentration	Log R = Log Dc <sub>0</sub> - Log Na												
		Log R = 6,9 - 1,9 = 5 Log												
	Zone 2 à 4	= 49 UFC/25cm <sup>2</sup> OK												
		Zone 2 à 4 =										UFC/25cm <sup>2</sup>		

$$Na = \frac{c}{n} \text{ (en UFC/ml)} \quad Na (Z2, Z3, Z4) = \frac{c}{n} \times 5 \text{ (en UFC/25cm<sup>2</sup>)}$$

Suite à donner:  
VISA : Conforme

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 24/11/2015

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 24/11/2015

Durée : Illimitée

Durée : Illimitée

Collecté par : TL

Collecté par : TL

Responsable archivage : RLM

Responsable archivage : RLM

Classement & indexage : Par produit

Classement & indexage : Par produit

Page 3/4

Page 4/4

Demande n° 36106

**Laboratoires ANIOS SAS**  
Laboratoire de Microbiologie

Study n° 36106 GB

# Direction Scientifique

## Liste des signataires du document

Nom\_utilisateur : Chrystèle Pluchart  
Titre : Responsable Laboratoire de Microbiologie  
Date : jeudi, 05 octobre 2017, 17:15 Paris  
Signification : Validation de document

Nom\_utilisateur : Gaetan Rauwel  
Titre : Directeur Recherche et Développement  
Date : jeudi, 05 octobre 2017, 17:31 Paris  
Signification : Validation de document

=====

N Demande : 36106  
Rapport d'essai : 00000

Etude : NF EN 16615

Date du document : 05/10/2017

=====