

RAPPORT D'ESSAI

**DETERMINATION DE L'ACTIVITE BACTERICIDE DU  
PRODUIT ENZYMEX P SELON LA NORME EN 13727**

Pour: **FRANKLAB**  
**3 avenue des Frênes**  
**78180 MONTIGNY LE BRETONNEUX**  
**BP 63 – ST QUENTIN EN YVELINES CEDEX**  
**France**



Demande d'essai du: 12/04/2017

Références du dossier d'analyses: n°061D04-2017-08

**ESSAIS DE BACTERICIDIE :**

Selon la méthodologie de la norme européenne NF EN 13727 (Décembre 2015) – antiseptiques et désinfectants chimiques – essais quantitatifs de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide des désinfectants chimiques pour les instruments utilisés en médecine

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

Ce rapport comporte 17 pages et ne concerne que les échantillons étudiés.

Date d'émission : 10/06/2017

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

Professeur Georges HERBEIN  
Professeur des Universités Médecin Hospitalier  
Expert scientifique

**APEX BIOSOLUTIONS**

18, rue Alain SAVARY  
25000 Besançon

Tél : 03 81 25 09 04 Fax : 03 81 25 53 51

info@apexbiosolutions.com

N° SIRET 517 860 532 00012 – RCS Besançon

N° TVA intra FR 23517860532

SARL au capital de 10 000 €

## SOMMAIRE

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

**LABORATOIRE AYANT RÉALISÉ LES ESSAIS**

APEX BIOSOLUTIONS  
4, rue des Grandes Pièces  
25770 SERRE LES SAPINS  
FRANCE

**IDENTIFICATION COMPLETE DES ECHANTILLONS****ENZYMEX P**

- Numéro de lot: n° 5570
- Date d'expiration: non précisé
- Fabricant: FRANKLAB
- Date de fabrication: non précisé
- Conditions de stockage: selon les indications fournies par le fabricant
- Composants actifs: ammoniums quaternaires
- Aspect: poudre blanche
- Diluant préconisé par le fabricant: eau potable
- Date de réception au laboratoire: 18/04/2017
- Période de l'étude: 18/05/2017 au 05/06/2017

**CONDITIONS EXPERIMENTALES**

- Concentration du produit soumis à l'essai : 0,5% finaux
- Méthode employée: EN 13727
- Temps de contact: 1 min - 5 min – 60 min
- Température d'essai: 20°C
- Substance interférente: albumine bovine (3g/l) et érythrocytes de mouton (3 mL/L), conditions de saleté.
- Diluant des suspensions bactériennes et des essais : solution tryptone sel stérile pour les dénombrements et neutralisant pour les essais.
- Souches bactériennes utilisées : *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 799 lot 0413(ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* DSM 939 lot 0413 (ATCC 15442) et *Enterococcus hirae* DSM 3320 lot 0511 (ATCC 10541) – DSMZ.

- Technique d'arrêt de l'action bactéricide : Dilution-Neutralisation

## RESULTATS PROPUREMENT DITS

Voir feuilles de résultats.

## SYNTHESE RESULTATS

Le produit ENZYMEX P est bien actif vis-à-vis des souches de référence utilisées, car la réduction moyenne obtenue est d'au moins 5 log pour les cellules bactériennes viables :

- pour *E. hirae*, R = 5,15 (5 min - 0.5%)
- pour *S. aureus*, R = 5,09 (5 min - 0.5%)
- pour *P. aeruginosa*, R = 5,09 (5 min - 0.5%)

## CONCLUSION

### Conformément à la norme EN 13727 (Décembre 2015), le produit ENZYMEX P:

- a une activité bactéricide sur les souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus hirae* lorsqu'employé à 0.5%, pour 5 min de contact à 20°C, en conditions de saleté (albumine bovine à 3g/L et érythrocytes de mouton à 3 mL/L).



FEUILLE 1 DE RESULTATS DES ESSAIS <i>Enterococcus hirae</i> (essai)
--

Norme employée : EN 13727, phase 2 étape 1

Nom du produit : ENZYMEX P

N° de lot : 4451B02

Méthode par dilution-neutralisation  dénombrement en profondeur dénombrement en surface nombre de boîtes/ml : 1

Neutralisant : polysorbate 80 (30 g/l) ; saponine (30 g/l), jaune d'œuf frais (5%).

Température d'essai : 20°C.

Substance interférente : albumine bovine (3g/L) et érythrocytes de mouton (3 mL/L)

Micro-organisme d'essai : *Enterococcus hirae* ATCC 10541

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

N° de l'essai 061D04-2017-08

Date de l'essai : 20/05/2017

Personne responsable : Stephanie MOROT-BIZOT

Signature

:



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

Aspect des solutions d'essai du produit : limpide

**Validation et contrôles**

	Suspension de validation Nv0		Témoin des conditions expérimentales A		Témoin du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB	
		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$
Vc1	47	$\bar{x}$	44	$\bar{x}$	45	$\bar{x}$	39	$\bar{x}$	38	$\bar{x}$
Vc2	41	44	44	44	40	43	38	39	38	38
	30 ≤ $\bar{x}$ de Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de A est ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de B ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de NvB x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de C ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		30 ≤ $\bar{x}$ de NvB ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non	

**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N	log N0
$10^{-6}$	255	264	8,42	7,42
$10^{-7}$	27	29		
7,17 ≤ log N0 ≤ 7,70?				
x oui □ non				

	Essais					
	0.5% 1 min		0.5% 5 min		0.5% 60 min	
Vc1/Vc2	70	74	12	18	0	0
Vc1/Vc2 $10^{-1}$	9	7	3	1	0	0
Na	720,00		150,00		<140,00	
log Na	2,86		2,18		<2,15	
log R = log N0 - log Na	4,56		<b>5,24</b>		<b>&gt;5,27</b>	

**Légende :**

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N0 - \lg Na$ )

Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

FEUILLE 2 DE RESULTATS DES ESSAIS <i>Enterococcus hirae</i> (répétition)
---

Norme employée : EN 13727, phase 2 étape 1

Nom du produit : ENZYMEX P

N° de lot : 4451B02

Méthode par dilution-neutralisation  dénombrement en profondeur  
 dénombrement en surface  
 nombre de boîtes/ml : 1

Neutralisant : polysorbate 80 (30 g/l) ; saponine (30 g/l), jaune d'œuf frais (5%).

Température d'essai : 20°C.

Substance interférente : albumine bovine (3g/L) et érythrocytes de mouton (3 mL/L)

Micro-organisme d'essai : *Enterococcus hirae* ATCC 10541

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

N° de l'essai 061D04-2017-08

Date de l'essai : 02/06/2017

Personne responsable : Stephanie MOROT-BIZOT

Signature :



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

Aspect des solutions d'essai du produit : limpide

**Validation et contrôles**

	Suspension de validation Nv0		Témoin des conditions expérimentales A		Témoin du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB	
Vc1	43	$\bar{x}$	40	$\bar{x}$	46	$\bar{x}$	40	$\bar{x}$	48	$\bar{x}$
Vc2	45	44	47	44	43	45	40	40	49	49
	30 ≤ $\bar{x}$ de Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de A est ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de B ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de NvB x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de C ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		30 ≤ $\bar{x}$ de NvB ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non	

**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N	log N0
$10^{-6}$	280	277	8,44	7,44
$10^{-7}$	25	30		
7,17 ≤ log N0 ≤ 7,70?				
x oui □ non				

	Essais					
	0.5% 1 min		0.5% 5 min		0.5% 60 min	
Vc1/Vc2	77	78	25	23	0	0
Vc1/Vc2 $10^{-1}$	11	8	2	4	0	0
Na	775,00		240,00		<140,00	
log Na	2,89		2,38		<2,15	
log R = log N0 - log Na	4,56		<b>5,06</b>		<b>&gt;5,30</b>	

**Légende :**

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N0 - \lg Na$ )

Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

FEUILLE 3 DE RESULTATS DES ESSAIS <i>Staphylococcus aureus</i> (essai)
---

Norme employée : EN 13727, phase 2 étape 1

Nom du produit : ENZYMEX P

N° de lot : 4451B02

Méthode par dilution-neutralisation  dénombrement en profondeur  
 dénombrement en surface  
 nombre de boîtes/ml : 1

Neutralisant : polysorbate 80 (30 g/l) ; saponine (30 g/l), jaune d'œuf frais (5%).

Température d'essai : 20°C.

Substance interférente : albumine bovine (3g/L) et érythrocytes de mouton (3 mL/L)

Micro-organisme d'essai : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

N° de l'essai 061D04-2017-08

Date de l'essai : 20/05/2017

Personne responsable : Stephanie MOROT-BIZOT

Signature :



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

Aspect des solutions d'essai du produit : limpide

**Validation et contrôles**

	Suspension de validation Nv0		Témoin des conditions expérimentales A		Témoin du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB	
		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$
Vc1	59	$\bar{x}$	33	$\bar{x}$	45	$\bar{x}$	48	$\bar{x}$	48	$\bar{x}$
Vc2	52	56	39	36	41	43	40	44	44	46
	$30 \leq \bar{x} \text{ de Nv0} \leq 160$ x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x} \text{ de A est } \geq 0,5 \times \bar{x} \text{ de Nv0}$ x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x} \text{ de B } \geq 0,5 \times \bar{x} \text{ de NvB}$ x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x} \text{ de C } \geq 0,5 \times \bar{x} \text{ de Nv0}$ x oui <input type="checkbox"/> non		$30 \leq \bar{x} \text{ de NvB} \leq 160$ x oui <input type="checkbox"/> non	

**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N	log N0
$10^{-6}$	249	253	8,40	7,40
$10^{-7}$	23	25		
7,17 ≤ log N0 ≤ 7,70?				
x oui □ non				

	Essais					
	0.5% 1 min		0.5% 5 min		0.5% 60 min	
Vc1/Vc2	77	81	20	20	0	0
Vc1/Vc2 $10^{-1}$	7	7	2	1	0	0
Na	790,00		200,00		<140,00	
log Na	2,90		2,30		<2,15	
log R = log N0 - log Na	4,50		<b>5,10</b>		<b>&gt;5,25</b>	

**Légende :**

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N0 - \lg Na$ )

Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

FEUILLE 4 DE RESULTATS DES ESSAIS <i>Staphylococcus aureus</i> (répétition)
--

Norme employée : EN 13727, phase 2 étape 1

Nom du produit : ENZYMEX P

N° de lot : 4451B02

Méthode par dilution-neutralisation  dénombrement en profondeur  
 dénombrement en surface  
 nombre de boîtes/ml : 1

Neutralisant : polysorbate 80 (30 g/l) ; saponine (30 g/l), jaune d'œuf frais (5%).

Température d'essai : 20°C.

Substance interférente : albumine bovine (3g/L) et érythrocytes de mouton (3 mL/L)

Micro-organisme d'essai : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

N° de l'essai 061D04-2017-08

Date de l'essai : 02/06/2017

Personne responsable : Stephanie MOROT-BIZOT

Signature :



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

Aspect des solutions d'essai du produit : limpide

**Validation et contrôles**

	Suspension de validation Nv0		Témoin des conditions expérimentales A		Témoin du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB	
		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$
Vc1	55	$\bar{x}$	40	$\bar{x}$	49	$\bar{x}$	38	$\bar{x}$	50	$\bar{x}$
Vc2	55	55	47	44	50	50	39	39	52	51
	30 ≤ $\bar{x}$ de Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de A est ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de B ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de NvB x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de C ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		30 ≤ $\bar{x}$ de NvB ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non	

**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N	log N0
$10^{-6}$	277	281	8,45	7,45
$10^{-7}$	28	29		
7,17 ≤ log N0 ≤ 7,70?				
x oui □ non				

	Essais					
	0.5% 1 min		0.5% 5 min		0.5% 60 min	
Vc1/Vc2	88	88	24	22	0	0
Vc1/Vc2 $10^{-1}$	10	12	2	2	0	0
Na	880,00		230,00		<140,00	
log Na	2,94		2,36		<2,15	
log R = log N0 - log Na	4,50		<b>5,08</b>		<b>&gt;5,30</b>	

**Légende :**

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N0 - \lg Na$ )

Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

FEUILLE 5 DE RESULTATS DES ESSAIS <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (essai)
--

Norme employée : EN 13727, phase 2 étape 1

Nom du produit : ENZYMEX P

N° de lot : 4451B02

Méthode par dilution-neutralisation  dénombrement en profondeur  
 dénombrement en surface  
 nombre de boîtes/ml : 1

Neutralisant : polysorbate 80 (30 g/l) ; saponine (30 g/l), jaune d'œuf frais (5%).

Température d'essai : 20°C.

Substance interférente : albumine bovine (3g/L) et érythrocytes de mouton (3 mL/L)

Micro-organisme d'essai : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

N° de l'essai 061D04-2017-08

Date de l'essai : 20/05/2017

Personne responsable : Stephanie MOROT-BIZOT

Signature :



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

Aspect des solutions d'essai du produit : limpide

**Validation et contrôles**

	Suspension de validation Nv0		Témoin des conditions expérimentales A		Témoin du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB	
		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$		$\bar{x}$
Vc1	49	$\bar{x}$	55	$\bar{x}$	54	$\bar{x}$	51	$\bar{x}$	50	$\bar{x}$
Vc2	49	49	58	57	60	57	56	54	51	51
	30 ≤ $\bar{x}$ de Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de A est ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de B ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de NvB x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de C ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		30 ≤ $\bar{x}$ de NvB ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non	

**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N	log N0
10 <sup>-6</sup>	301	296	8,47	7,47
10 <sup>-7</sup>	28	30		
7,17 ≤ log N0 ≤ 7,70?				
x oui □ non				

	Essais					
	0.5% 1 min		0.5% 5 min		0.5% 60 min	
Vc1/Vc2	80	88	22	25	0	0
Vc1/Vc2 10 <sup>-1</sup>	11	8	0	2	0	0
Na	840,00		235,00		<140,00	
log Na	2,92		2,37		<2,15	
log R = log N0 - log Na	4,55		<b>5,10</b>		<b>&gt;5,33</b>	

**Légende :**

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N0 - \lg Na$ )

Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

**FEUILLE 6 DE RESULTATS DES ESSAIS**  
***Pseudomonas aeruginosa* (répétition)**

Norme employée : EN 13727, phase 2 étape 1

Nom du produit : ENZYMEX P

N° de lot : 4451B02

Méthode par dilution-neutralisation  dénombrement en profondeur  
 dénombrement en surface  
 nombre de boîtes/ml : 1

Neutralisant : polysorbate 80 (30 g/l) ; saponine (30 g/l), jaune d'œuf frais (5%).

Température d'essai : 20°C.

Substance interférente : albumine bovine (3g/L) et érythrocytes de mouton (3 mL/L)

Micro-organisme d'essai : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Température d'incubation : 37°C ± 1°C

N° de l'essai 061D04-2017-08

Date de l'essai : 02/06/2017

Personne responsable : Stephanie MOROT-BIZOT

Signature :



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

Aspect des solutions d'essai du produit : limpide

**Validation et contrôles**

	Suspension de validation Nv0		Témoin des conditions expérimentales A		Témoin du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB	
	55	$\bar{x}$	60	$\bar{x}$	69	$\bar{x}$	58	$\bar{x}$	60	$\bar{x}$
Vc1	55	$\bar{x}$	60	$\bar{x}$	69	$\bar{x}$	58	$\bar{x}$	60	$\bar{x}$
Vc2	56	56	60	60	65	67	51	55	59	60
	30 ≤ $\bar{x}$ de Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de A est ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de B ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de NvB x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de C ≥ 0,5 × $\bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		30 ≤ $\bar{x}$ de NvB ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non	

**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N	log N0
$10^{-6}$	310	302	8,49	7,49
$10^{-7}$	32	33		
7,17 $\leq$ log N0 $\leq$ 7,70? x oui <input type="checkbox"/> non				

	Essais					
	0.5% 1 min		0.5% 5 min		0.5% 60 min	
Vc1/Vc2	101	85	25	26	0	0
Vc1/Vc2 $10^{-1}$	12	11	3	2	0	0
Na	930,00		255,00		<140,00	
log Na	2,97		2,41		<2,15	
log R = log N0 - log Na	4,52		<b>5,08</b>		<b>&gt;5,34</b>	

**Légende :**

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N0 - \lg Na$ )

Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

**ANNEXE TECHNIQUE****MILIEUX DE CULTURE UTILISES, stérilisés par autoclavage :**

TSA (Tryptone Soja Agar), Dominique Dutscher, réf. 777410, lot n°403401

**SUBSTANCES INTERFÉRENTES :**

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

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

Stérilisation par filtration

**DILUANT**

Solution Tryptone-Sel (TS)

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

- Tryptone, Laboratoires CONDA, réf. 1612, lot n° 091229 -----1,00 g/L
- Chlorure de sodium, MOLECULAR BIOLOGY, ref n° 19032391, lot n° 808211-----8,50 g/L

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

**NEUTRALISANT**Ingrédients par litre d'eau distillée (q.s.p 1 L):

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

Jaune d'œuf frais ----- 50 mL

Saponine, Analytic Lab, réf. 84510, lot n° BCBL6449V ----- 30 g

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

**EAU DURE**

Solution A: - MgCl<sub>2</sub> anhydre, réf. M8266, lot n° 108K0068, SIGMA ALDRICH

- CaCl<sub>2</sub> anhydre, réf. C1016, lot n° 059K0030, SIGMA ALDRICH

Solution B: - NaHCO<sub>3</sub>, réf. S6014, lot n°059K0052, SIGMA ALDRICH

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

4, rue des Grandes Pièces, zone Eurespace, 25 770 SERRE LES SAPINS ■ Tel: 03.81.25.09.04 ■ Fax: 03.81.25.53.51  
 ■ SARL au capital de 10 000 € ■ RCS BESANÇON ■ N° SIRET 51786053200012 ■ N° TVA intra FR 23517860532 ■  
 info@apexlabo.com



## RAPPORT D'ESSAI

**DETERMINATION DE L'ACTIVITE BACTERICIDE DU  
PRODUIT F010436V6 SELON LA NORME EN 13727**

Délivré à Mme CHAKCHOUK

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



Demande d'essai du : 18/10/2018

Références du dossier d'analyses : n°268D25-2018-12

### ESSAIS DE BACTERICIDIE :

Selon la méthodologie de la norme européenne NF EN 13727 (Décembre 2015) – antiseptiques et désinfectants chimiques – essais quantitatifs de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide des désinfectants chimiques pour les instruments utilisés en médecine

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

Ce rapport comporte 17 pages et ne concerne que les échantillons étudiés.

Date d'émission : 24/12/2018

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

Professeur Georges HERBEIN  
Professeur des Universités Praticien Hospitalier  
Expert scientifique



**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 RÉALISÉ LES IDENTIFICATIONS .....3

2. IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS .....3

3. CONDITIONS EXPERIMENTALES .....3

4. RESULTATS PROPREMENT DITS.....4

5. CONCLUSION .....4

6. FEUILLES DE RESULTATS .....4

7. *Staphylococcus aureus* - ESSAI.....5

8. *Staphylococcus aureus* - REPETITION.....7

9. *Enterococcus hirae* - ESSAI .....9

10. *Enterococcus hirae* - REPETITION ..... 11

11. *Pseudomonas aeruginosa* - ESSAI ..... 13

12. *Pseudomonas aeruginosa* - REPETITION..... 15

13. ANNEXE TECHNIQUE .....17

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**1. LABORATOIRE AYANT RÉALISÉ LES IDENTIFICATIONS**

APEX BIOSOLUTIONS  
 4, rue des Grandes Pièces  
 Zone EURESPACE  
 25 770 SERRE LES SAPINS  
 FRANCE

**2. IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS**

Echantillon	N° lot
F010436V6	5411

Date limite d'utilisation optimale : non communiquée

Fabricant : FRANKLAB

Date de fabrication : non communiquée

Conditions de stockage : Température ambiante et obscurité.

Composants actifs : ammonium quaternaire

Aspect : poudre blanche

Précautions d'emploi : aucune

Diluant préconisé par le fabricant : eau potable, 1 dose de 20 g dans 5 L d'eau potable

Date de réception au laboratoire : 24/10/2018

Période de l'étude : du 09/11/2018 au 05/12/2018

**3. CONDITIONS EXPERIMENTALES**

- Concentration du produit soumis à l'essai : 0.4%.
- Méthode employée: EN 13727
- Temps de contact: 5 min, 10 min, 15 min
- Température d'essai: 20°C
- Substance interférente: albumine bovine (3g/L) et érythrocytes de mouton (3 mL/L), conditions de saleté.
- Diluant des suspensions bactériennes et des essais : solution tryptone sel stérile pour les dénombrements et neutralisant pour les essais.
- Souches bactériennes utilisées : *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 799 lot 0413(ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* DSM 939 lot 0413 (ATCC 15442), et *Enterococcus hirae* DSM 3320 lot 0511 (ATCC 10541) – DSMZ.

Rédacteur	Superviseur
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

- Technique d'arrêt de l'action bactéricide : Dilution-Neutralisation

#### 4. RESULTATS PROPUREMENT DITS

Le produit F010436V6 est bien actif vis-à-vis des souches de référence utilisées, car la réduction obtenue est supérieure à 5 log :

Voir feuilles de résultats.

- actif sur *Staphylococcus aureus* dès 10 min de contact car R = 5,23 log
- actif sur *Enterococcus hirae* dès 10 min de contact car R > 5,32 log
- actif sur *Pseudomonas aeruginosa* dès 10 min de contact car R = 5,26 log

#### 5. CONCLUSION

Conformément à la norme EN 13727 (Décembre 2015), le produit F010436V6, lot n° 5411 :

- a une activité bactéricide sur les souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus hirae* lorsqu'employé à 0.4%, pour 10 min de contact à 20°C, en conditions de saleté (albumine bovine à 3g/L et érythrocytes de mouton à 3 mL/L).

#### 6. FEUILLES DE RESULTATS

Voir ci-après.

Rédacteur	Superviseur
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**7. Staphylococcus aureus - ESSAI**Vérifications de la méthodologie:Les essais sont validés si :

- $3 \cdot 10^2$  UFC/ml <  $N_v$  <  $1,6 \cdot 10^3$  UFC/ml
- $1,5 \cdot 10^8$  UFC/ml <  $N$  <  $5 \cdot 10^8$  UFC/ml
- $A \geq 0,5 \times N_{v0}$
- $B \geq 0,5 \times N_{v0}$
- $C \geq 0,5 \times N_{v0}$

Légende :

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N_0 - \lg N_a$ )

Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

Norme: EN 13727 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-12 Date des essais : 20/11/2018	Méthode: <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

<u>Rédacteur</u>	<u>Superviseur</u>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

	Suspension de validation Nv0		Témoins des conditions expérimentales A		Témoins du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB	
	60	$\bar{X}$	69	$\bar{X}$	64	$\bar{X}$	63	$\bar{X}$	70	$\bar{X}$
Vc1	60	$\bar{X}$	69	$\bar{X}$	64	$\bar{X}$	63	$\bar{X}$	70	$\bar{X}$
Vc2	59	60	72	71	66	65	60	62	68	69
	$30 \leq \bar{x}$ de Nv0 $\leq 160$ x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de A est $\geq 0,5 \times \bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de B $\geq 0,5 \times \bar{x}$ de NvB x oui <input type="checkbox"/> non		$\bar{x}$ de C $\geq 0,5 \times \bar{x}$ de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		$30 \leq \bar{x}$ de NvB $\leq 160$ x oui <input type="checkbox"/> non	

Suspension d'essai (N)	log N	log N0
$10^{-6}$	300	312
$10^{-7}$	31	31
$7,17 \leq N0 \leq 7,70?$ x oui <input type="checkbox"/> non	8,49	7,49

	Essais					
	5 min		10 min		15 min	
$10^0$	55	59	21	20	2	8
$10^{-1}$	7	6	2	2	0	0
Na	570,00		205,00		<140,00	
log Na	2,76		2,31		<2,15	
log R = log N0 - log Na	4,73		5,18		>5,34	

<b>Rédacteur</b> Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	<b>Superviseur</b> Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**8. Staphylococcus aureus - REPETITION**

Vérifications de la méthodologie:

Les essais sont validés si :

- $3 \cdot 10^2$  UFC/ml < Nv <  $1,6 \cdot 10^3$  UFC/ml
- $1,5 \cdot 10^8$  UFC/ml < N <  $5 \cdot 10^8$  UFC/ml
- $A \geq 0,5 \times Nv_0$
- $B \geq 0,5 \times Nv_0$
- $C \geq 0,5 \times Nv_0$

Légende :

- Vc = dénombrement par ml
- $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2
- N = nombre d'UFC/ml dans la suspension d'essai
- Nv = nombre d'UFC/ml dans la suspension de validation
- A = nombre d'UFC/ml dans l'essai de validation des conditions expérimentales
- B = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de la toxicité du neutralisant
- C = nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai de validation de l'inactivation par dilution-neutralisation
- Na = nombre d'UFC/ml des survivants après essai
- R = réduction ( $\lg R = \lg N_0 - \lg Na$ )
- Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

Norme: EN 13727 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-12 Date des essais : 27/11/2018	Méthode: <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

Suspension de validation Nv0		Témoin des conditions expérimentales A		Témoin du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB		
Vc1	59	$\bar{x}$	55	$\bar{x}$	54	$\bar{x}$	55	$\bar{x}$	58	$\bar{x}$
Vc2	57	58	58	51	51	53	52	54	62	60
30 ≤ x de Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		x de A est ≥ 0,5 x x de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		x de B ≥ 0,5 x x de NvB x oui <input type="checkbox"/> non		x de C ≥ 0,5 x x de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		30 ≤ x de NvB ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		

Suspension d'essai (N)		log N	log N0
10 <sup>-6</sup>	290	8,47	7,47
10 <sup>-7</sup>	30		30
7,17 ≤ N0 ≤ 7,70? x oui <input type="checkbox"/> non			

	Essais					
	5 min		10 min		15 min	
	10 <sup>0</sup>	49	53	16	16	0
10 <sup>-1</sup>	5	5	2	2	0	0
10 <sup>-2</sup>	0	0	0	0	0	0
Na	510,00		160,00		<140,00	
log Na	2,71		2,20		<2,15	
log R = log N0 - log Na	4,76		5,27		>5,32	

<b>Rédacteur</b> Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	<b>Superviseur</b> Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**9. *Enterococcus hirae* - ESSAI**Vérifications de la méthodologie:

Les essais sont validés si :

- $3 \cdot 10^2$  UFC/ml < Nv <  $1,6 \cdot 10^3$  UFC/ml
- $1,5 \cdot 10^8$  UFC/ml < N <  $5 \cdot 10^8$  UFC/ml
- A ≥ 0,5 x Nv<sub>0</sub>
- B ≥ 0,5 x Nv<sub>0</sub>
- C ≥ 0,5 x Nv<sub>0</sub>

Légende :

Vc = dénombrement par ml

$\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N_0 - \lg N_a$ )

Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

Norme: EN 13727 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-12 Date des essais : 20/11/2018	Méthode: <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

	Suspension de validation Nv0		Témoins des conditions expérimentales A		Témoins du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB	
	50	$\bar{x}$	55	$\bar{x}$	52	$\bar{x}$	48	$\bar{x}$	57	$\bar{x}$
Vc1	50	50	55	55	52	56	48	48	57	56
Vc2	49	50	55	55	59	56	48	48	55	56
	30 ≤ x de Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		x de A est ≥ 0,5 x x de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		x de B ≥ 0,5 x x de NvB x oui <input type="checkbox"/> non		x de C ≥ 0,5 x x de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		30 ≤ x de NvB ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non	

Suspension d'essai (N)		log N	log N0
10 <sup>-6</sup>	294	8,47	7,47
10 <sup>-7</sup>	31		
7,17 ≤ N0 ≤ 7,70? x oui <input type="checkbox"/> non			

	Essais					
	5 min		10 min		15 min	
10 <sup>0</sup>	44	42	14	14	1	1
10 <sup>-1</sup>	5	4	1	2	0	0
10 <sup>-2</sup>	0	0	0	0	0	0
Na	430,00		<140,00		<140,00	
log Na	2,63		<2,15		<2,15	
log R = log N0 - log Na	4,84		>5,32		>5,32	

	<b>Superviseur</b> Mme Stéphanie MOROT-BIZOT, directrice
<b>Rédacteur</b> Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	

**10. Enterococcus hirae - REPETITION**

Vérifications de la méthodologie:

Les essais sont validés si :

- $3 \cdot 10^2$  UFC/ml <  $N_v$  <  $1,6 \cdot 10^3$  UFC/ml
- $1,5 \cdot 10^8$  UFC/ml <  $N$  <  $5 \cdot 10^8$  UFC/ml
- $A \geq 0,5 \times N_{v0}$
- $B \geq 0,5 \times N_{v0}$
- $C \geq 0,5 \times N_{v0}$

Légende :

Vc = dénombrement par ml

$\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N_0 - \lg N_a$ )

Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

Norme: EN 13727 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-12 Date des essais : 27/11/2018	Méthode: <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

	Suspension de validation Nv0		Témoins des conditions expérimentales A		Témoins du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB	
Vc1	47	$\bar{x}$	51	$\bar{x}$	50	$\bar{x}$	49	$\bar{x}$	52	$\bar{x}$
Vc2	48	<b>48</b>	50	<b>51</b>	50	<b>50</b>	53	<b>51</b>	50	<b>51</b>
	30 ≤ x de Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		x de A est ≥ 0,5 x x de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		x de B ≥ 0,5 x x de NvB x oui <input type="checkbox"/> non		x de C ≥ 0,5 x x de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		30 ≤ x de NvB ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non	

Suspension d'essai (N)	log N	log N0
10 <sup>-6</sup>	288	290
10 <sup>-7</sup>	30	29
7,17 ≤ N0 ≤ 7,70? x oui <input type="checkbox"/> non		

	Essais					
	5 min		10 min		15 min	
10 <sup>0</sup>	33	39	12	8	0	0
10 <sup>-1</sup>	3	5	1	1	0	0
10 <sup>-2</sup>	0	0	0	0	0	0
Na	360,00		<140,00		<140,00	
log Na	2,56		<2,15		<2,15	
log R = log N0 - log Na	<b>4,90</b>		<b>&gt;5,31</b>		<b>&gt;5,31</b>	

<b>Rédacteur</b>		<b>Superviseur</b>	
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire		Mme Stéphanie MOROT-BIZOT, directrice	
			

**11. *Pseudomonas aeruginosa* - ESSAI**Vérifications de la méthodologie:Les essais sont validés si :

- $3 \cdot 10^2$  UFC/ml  $< N_v < 1,6 \cdot 10^3$  UFC/ml
- $1,5 \cdot 10^8$  UFC/ml  $< N < 5 \cdot 10^8$  UFC/ml
- $A \geq 0,5 \times N_{v0}$
- $B \geq 0,5 \times N_{v0}$
- $C \geq 0,5 \times N_{v0}$

Légende :

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N_0 - \lg N_a$ )

Le quotient des dénombrements moyennés pondérés est compris entre 5 et 15

Norme: EN 13727 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-12 Date des essais : 20/11/2018	Méthode: <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

	Suspension de validation Nv0		Témoins des conditions expérimentales A		Témoins du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB	
Vc1	57	$\bar{x}$	65	$\bar{x}$	60	$\bar{x}$	59	$\bar{x}$	65	$\bar{x}$
Vc2	58	<b>58</b>	65	<b>65</b>	67	<b>64</b>	62	<b>61</b>	64	<b>65</b>
	30 ≤ x de Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		x de A est ≥ 0,5 x x de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		x de B ≥ 0,5 x x de NvB x oui <input type="checkbox"/> non		x de C ≥ 0,5 x x de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		30 ≤ x de NvB ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non	

Suspension d'essai (N)	log N	log N0
10 <sup>-6</sup>	298	300
10 <sup>-7</sup>	30	30
7,17 ≤ N0 ≤ 7,70? x oui <input type="checkbox"/> non		

	Essais					
	5 min		10 min		15 min	
10 <sup>0</sup>	48	47	16	14	0	0
10 <sup>-1</sup>	6	5	3	1	0	0
10 <sup>-2</sup>	0	0	0	0	0	0
Na	475,00		150,00		<140,00	
log Na	2,68		2,18		<2,15	
log R = log N0 - log Na	<b>4,80</b>		<b>5,30</b>		<b>&gt;5,33</b>	

<b>Rédacteur</b> Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	<b>Superviseur</b> Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**12. Pseudomonas aeruginosa - REPETITION**Vérifications de la méthodologie:

Les essais sont validés si :

- $3 \cdot 10^2$  UFC/ml  $< N_v < 1,6 \cdot 10^3$  UFC/ml
- $1,5 \cdot 10^8$  UFC/ml  $< N < 5 \cdot 10^8$  UFC/ml
- $A \geq 0,5 \times N_{v0}$
- $B \geq 0,5 \times N_{v0}$
- $C \geq 0,5 \times N_{v0}$

Légende :

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N_0 - \lg N_a$ )

Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

Norme: EN 13727 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-12 Date des essais : 27/11/2018	Méthode: <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

**Rédacteur**

Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire


**Superviseur**

Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice



	Suspension de validation Nv0		Témoïn des conditions expérimentales A		Témoïn du neutralisant B		Validation de la méthode C		Suspension de validation NvB	
	60	$\bar{x}$	68	$\bar{x}$	64	$\bar{x}$	60	$\bar{x}$	67	$\bar{x}$
Vc1	60		68		64		60		67	
Vc2	59	60	63	66	63	64	59	60	66	67
	30 ≤ x de Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		x de A est ≥ 0,5 x x de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		x de B ≥ 0,5 x x de NvB x oui <input type="checkbox"/> non		x de C ≥ 0,5 x x de Nv0 x oui <input type="checkbox"/> non		30 ≤ x de NvB ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non	

Suspension d'essai (N)		log N	log N0
10 <sup>-6</sup>	302	300	8,48
10 <sup>-7</sup>	31	33	7,48
7,17 ≤ N0 ≤ 7,70?			
x oui <input type="checkbox"/> non			

	Essais					
	5 min		10 min		15 min	
10 <sup>0</sup>	52	50	18	19	0	1
10 <sup>-1</sup>	5	5	2	2	0	0
10 <sup>-2</sup>	0	0	0	0	0	0
Na	510,00		185,00		<140,00	
log Na	2,71		2,27		<2,15	
log R = log N0 - log Na	4,77		5,21		>5,33	

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stéphanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**13. ANNEXE TECHNIQUE****MILIEUX DE CULTURE:**

TSA (Gélose Tryptone Soja Agar), Dominique DUTSCHER, réf. 777410, lot n° 806051

**SUBSTANCES INTERFÉRENTES :**

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

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

**DILUANT Solution Tryptone-Sel (TS)**Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée :

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

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

**NEUTRALISANT**Ingrédients par litre d'eau distillée:

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: - MgCl<sub>2</sub> anhydre, réf. M8266, lot n° 108K0068, SIGMA ALDRICH- CaCl<sub>2</sub> anhydre, réf. C1016, lot n° 059K0030, SIGMA ALDRICHSolution B: - NaHCO<sub>3</sub>, réf. S6014, lot n°059K0052, SIGMA ALDRICH

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

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	



RAPPORT D'ESSAI

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

Délivré à Mme CHAKCHOUK

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



Demande d'essai du: 17/07/2014

Références du dossier d'analyses: n°295D11-2014-15

**ESSAIS DE BACTERICIDIE :**

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

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

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

Date d'émission : 31/12/2014

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

Professeur Georges HERBEIN  
Professeur des Universités  
Médecin Hospitalier  
Expert scientifique

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

## SOMMAIRE

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

**1. LABORATOIRE AYANT RÉALISÉ LES IDENTIFICATIONS**

APEX BIOSOLUTIONS  
18, rue Alain SAVARY  
25000 BESANÇON

**2. IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS**

Echantillon	N° lot
ENZYMEX P	4828-03

Echantillons reçus au laboratoire le 28/11/2014.

Date limite d'utilisation optimale: non précisé

Fabricant: FRANKLAB

Date de fabrication: non précisé

Conditions de stockage: Température ambiante et obscurité

Composants actifs: ammoniums quaternaires.

Aspect: poudre blanche

Diluant préconisé par le fabricant: eau potable, une dose de 20g dans 4 L d'eau.

Période de l'étude: du 30/12/2014 au 31/12/2014

**3. CONDITIONS EXPERIMENTALES**

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

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

#### 4. RESULTATS PROPREMENT DITS

Voir feuilles de résultats.

#### SYNTHESE RESULTATS

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

Sur produit pur, pour 5 min de contact :

- pour *S. aureus*,  $R > 5,12$
- pour *P. aeruginosa*,  $R > 5,05$
- pour *E. hirae*,  $R > 5,06$

#### 5. CONCLUSION

**Conformément à la norme EN 14561 (Mars 2007), le produit ENZYMEX P:**

- a une activité bactéricide sur les trois souches bactériennes de référence lorsqu'employé pur, pour 5 min de contact à  $20^{\circ}\text{C}$ , en conditions de saleté (3 g/l d'albumine bovine et 3 mL/L érythrocytes de mouton).





**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N
$10^{-7}$	231	216	9,35
$10^{-8}$	24	24	
$9,17 \leq N \leq 9,70?$ x oui □ non			

Témoin eau (Nw)			log Nw
$10^{-4}$	171	154	7,21
$7,15 \leq Nw \leq \lg N - 1,3?$ x oui □ non			

Vérifications de la méthodologie:

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

	Essais							
	100% 5 min		100% 10 min		100% 15 min		10% 15 min	
$10^0$	0	0	0	0	0	0	>330	>330
$10^{-1}$	0	0	0	0	0	0	>330	>330
$10^{-2}$	0	0	0	0	0	0	102	98
$10^{-3}$	0	0	0	0	0	0	0	0
log Na	<2,15		<2,15		<2,15		>5,00	
log R = log Nw - log Na	<b>&gt;5,06</b>		<b>&gt;5,06</b>		<b>&gt;5,06</b>		<b>&lt;2,21</b>	

Légende :

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



**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N
10 <sup>-7</sup>	208	237	9,35
10 <sup>-8</sup>	28	23	
9,17 ≤ N ≤ 9,70?			
x oui □ non			

Témoin eau (Nw)			log Nw
10 <sup>-4</sup>	184	200	7,28
7,15 ≤ Nw ≤ lg N-1,3?			
x oui □ non			

Vérifications de la méthodologie:

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

	Essais							
	100% 5 min		100% 10 min		100% 15 min		10% 15 min	
10 <sup>0</sup>	1	3	0	0	0	0	>330	>330
10 <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	>330	>330
10 <sup>-2</sup>	0	0	0	0	0	0	30	30
10 <sup>-3</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0
log Na	<2,15		<2,15		<2,15		>4,48	
log R = log Nw - log Na	>5,13		>5,13		>5,13		<2,81	

Légende :

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

6480-0098-5001



**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N
$10^{-7}$	244	288	9,43
$10^{-8}$	31	29	
9,17 ≤ N ≤ 9,70?			
x oui □ non			

Témoin eau (Nw)			log Nw
$10^{-4}$	172	174	7,24
7,15 ≤ Nw ≤ lg N-1,3?			
x oui □ non			

Vérifications de la méthodologie:

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

	Essais							
	100% 5 min		100% 10 min		100% 15 min		10% 15 min	
$10^0$	1	2	0	0	0	0	>330	>330
$10^{-1}$	0	0	0	0	0	0	201	211
$10^{-2}$	0	0	0	0	0	0	21	23
$10^{-3}$	0	0	0	0	0	0	0	0
log Na	<2,15		<2,15		<2,15		4,32	
log R = log Nw - log Na	>5,09		>5,09		>5,09		2,92	

Légende :

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction (lg R = lg N0 - lg Na)



**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N
$10^{-7}$	231	216	9,35
$10^{-8}$	24	24	
9,17 ≤ N ≤ 9,70?			
x oui □ non			

Témoin eau (Nw)			log Nw
$10^{-4}$	160	163	7,21
7,15 ≤ Nw ≤ lg N-1,3?			
x oui □ non			

Vérifications de la méthodologie:

- N est compris entre  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml et  $5,0 \times 10^9$  UFC/ml
- Nw est compris entre  $1,4 \times 10^6$  UFC/ml et lg N-1,3
- Nv0 est compris entre 30 et 160 UFC/ml
- A, B et C sont égaux ou supérieurs à  $0,5 \times Nv0$
- Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

	Essais							
	100% 5 min		100% 10 min		100% 15 min		10% 15 min	
$10^0$	0	0	0	0	0	0	>330	>330
$10^{-1}$	0	0	0	0	0	0	>330	>330
$10^{-2}$	0	0	0	0	0	0	77	81
$10^{-3}$	0	0	0	0	0	0	0	0
log Na	<2,15		<2,15		<2,15		>4,90	
log R = log Nw - log Na	>5,06		>5,06		>5,06		<2,31	

Légende :

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction (lg R = lg N0 - lg Na)



**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N
10 <sup>-7</sup>	208	237	9,35
10 <sup>-8</sup>	28	23	
9,17 ≤ N ≤ 9,70?			
x oui □ non			

Témoin eau (Nw)			log Nw
10 <sup>-4</sup>	178	177	7,25
7,15 ≤ Nw ≤ lg N-1,3?			
x oui □ non			

Vérifications de la méthodologie:

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

	Essais							
	100% 5 min		100% 10 min		100% 15 min		10% 15 min	
10 <sup>0</sup>	0	0	0	0	0	0	>330	>330
10 <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	>330	>330
10 <sup>-2</sup>	0	0	0	0	0	0	43	69
10 <sup>-3</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0
log Na	<2,15		<2,15		<2,15		>4,75	
log R = log Nw - log Na	>5,10		>5,10		>5,10		<2,50	

Légende :

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

6480-0099-5001



**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N
10 <sup>-7</sup>	244	288	9,43
10 <sup>-8</sup>	31	29	
9,17 ≤ N ≤ 9,70?			
x oui □ non			

Témoïn eau (Nw)			log Nw
10 <sup>-4</sup>	147	138	7,15
7,15 ≤ Nw ≤ lg N-1,3?			
x oui □ non			

Vérifications de la méthodologie:

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

	Essais							
	100% 5 min		100% 10 min		100% 15 min		10% 15 min	
10 <sup>0</sup>	0	0	0	0	0	0	>330	>330
10 <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	239	247
10 <sup>-2</sup>	0	0	0	0	0	0	33	27
10 <sup>-3</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0
log Na	<2,15		<2,15		<2,15		4,39	
log R = log Nw - log Na	<b>&gt;5,01</b>		<b>&gt;5,01</b>		<b>&gt;5,01</b>		2,76	

Légende :

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

6480 - 0099 - 5001

### ANNEXE TECHNIQUE

#### Milieux de culture utilisés, stérilisés par autoclavage :

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

#### SUBSTANCES INTERFÉRENTES :

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

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

#### DILUANT

Solution Tryptone-Sel (TS)

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

- Tryptone, Dominique Dutscher, réf. 777472, lot n° 090633 -----1,00 g/l

- Chlorure de sodium, Grosseron, ref 9020401, lot n° FR08 085 793 -----8,50 g/l

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

#### NEUTRALISANT

#### Ingrédients par litre d'eau distillée stérile :

- Polysorbate 80, Sigma Aldrich, ref 59924, lot BCBJ6978V----- 30g/l

- Jaune d'œuf, 5% ----- 50g/l

Stérilisé par autoclavage (sans jaune d'œuf)

#### EAU DURE

Solution A: - MgCl<sub>2</sub> anhydre, réf. M8266, lot n° 108K0068, SIGMA ALDRICH

- CaCl<sub>2</sub> anhydre, réf. C1016, lot n° 059K0030, SIGMA ALDRICH

Solution B: - NaHCO<sub>3</sub>, réf. S6014, lot n°059K0052, SIGMA ALDRICH

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

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



## RAPPORT D'ESSAI

**DETERMINATION DE L'ACTIVITE BACTERICIDE DU PRODUIT  
F010436V6 SELON LA NORME EN 14561**

Délivré à Mme CHAKCHOUK

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



Demande d'essai du : 18/10/2018

Références du dossier d'analyses : n°268D25-2018-14

### ESSAIS DE BACTERICIDIE :

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

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

Ce rapport comporte 17 pages et ne concerne que les échantillons étudiés.

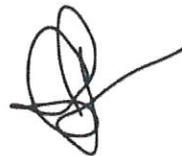
Date d'émission : 24/12/2018

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

Professeur Georges HERBEIN  
Professeur des Universités Praticien Hospitalier  
Expert scientifique



**APEX**  
**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 RÉALISÉ LES IDENTIFICATIONS .....3

2. IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS .....3

3. CONDITIONS EXPERIMENTALES .....3

4. RESULTATS PROPREMENT DITS.....4

5. CONCLUSION .....4

6. FEUILLES DE RESULTATS .....4

7. *Staphylococcus aureus* - ESSAI.....5

8. *Staphylococcus aureus* - REPETITION .....7

9. *Enterococcus hirae* - ESSAI .....9

10. *Enterococcus hirae* - REPETITION ..... 11

11. *Pseudomonas aeruginosa* - ESSAI .....13

12. *Pseudomonas aeruginosa* - REPETITION .....15

13. ANNEXE TECHNIQUE .....17

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**1. LABORATOIRE AYANT RÉALISÉ LES IDENTIFICATIONS**

APEX BIOSOLUTIONS  
 4, rue des Grandes Pièces  
 Zone EURESPACE  
 25 770 SERRE LES SAPINS  
 FRANCE

**2. IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS**

Echantillon	N° lot
F010436V6	5411

Date limite d'utilisation optimale : non communiquée

Fabricant : FRANKLAB

Date de fabrication : non communiquée

Conditions de stockage : Température ambiante et obscurité.

Composants actifs : ammonium quaternaire

Aspect : poudre blanche

Précautions d'emploi : aucune

Diluant préconisé par le fabricant : eau potable, 1 dose de 20 g dans 5 L d'eau

Date de réception au laboratoire : 24/10/2018

Période de l'étude : du 29/11/2018 au 25/12/2018

**3. CONDITIONS EXPERIMENTALES**

- Concentration du produit soumis à l'essai : 0.4%.
- Méthode employée: EN 14561
- Temps de contact: 5 min, 10 min, 15 min
- Température d'essai: 20°C
- Substance interférente: albumine bovine (3g/L) et érythrocytes de mouton (3 mL/L), conditions de saleté.
- Diluant des suspensions bactériennes et des essais : solution tryptone sel stérile pour les dénombrements et neutralisant pour les essais.
- Souches bactériennes utilisées : *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* DSM 799 lot 0413(ATCC 6538), *Pseudomonas aeruginosa* DSM 939 lot 0413 (ATCC 15442), et *Enterococcus hirae* DSM 3320 lot 0511 (ATCC 10541) – DSMZ.

Rédacteur	Superviseur
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

- Technique d'arrêt de l'action bactéricide : transfert du porte germe dans 10 ml de neutralisant à base de polysorbate 80 (30g/l) et de jaune d'œuf (5%) dans de l'eau distillée.

#### 4. RESULTATS PROPREMENT DITS

Le produit F010436V6 est bien actif vis-à-vis des souches de référence utilisées, car la réduction obtenue est supérieure à 5 log :

Voir feuilles de résultats.

- actif sur *Staphylococcus aureus* dès 10 min de contact car R = 5,04 log
- actif sur *Enterococcus hirae* dès 10 min de contact car R > 5,27 log
- actif sur *Pseudomonas aeruginosa* dès 10 min de contact car R = 5,05 log

#### 5. CONCLUSION

Conformément à la norme EN 14561 (Mars 2007), le produit F010436V6, lot n° 5411 :

- a une activité bactéricide sur les souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus hirae* lorsqu'employé à 0.4%, pour 10 min de contact à 20°C, en conditions de saleté (albumine bovine à 3g/L et érythrocytes de mouton à 3 mL/L).

#### 6. FEUILLES DE RESULTATS

Voir ci-après.

Rédacteur	Superviseur
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**7. Staphylococcus aureus - ESSAI**

Vérifications de la méthodologie:

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

Légende :

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

Norme: EN 14561 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-14 Date des essais : 20/12/2018	Méthode: <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

Suspension de validation		Validation A		Validation B		Validation C		Suspension d'essai		Témoins eau		Mode opératoire aux concentrations (v/v)							
VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	Nc		5 min		10 min		15 min			
90	84	88	82	85	87	81	83	330	330	1.10 <sup>-7</sup>	1.10 <sup>-4</sup>	299	275	128	109	29	27	5	8
$\bar{X}$	87,0	$\bar{X}$	85,0	$\bar{X}$	86,0	$\bar{X}$	82,0	39	48	1.10 <sup>-8</sup>	1.10 <sup>-5</sup>	30	30	13	11	3	3	0	1
30 ≤ Nv0 ≤ 160		A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0		Σ	747	Σ	634	Σ	237	Σ	56	Σ	<14		
x oui <input type="checkbox"/> non		x oui <input type="checkbox"/> non		x oui <input type="checkbox"/> non		x oui <input type="checkbox"/> non		n1	2	n1	2	n1	2	n1	2	n1	2	0	0
								n2	2	n2	2	n2	0	n2	0	n2	0	0	0
								Log N	9,53	Log Nw	7,46	Log Na	3,07	Log R	4,39	2,45	<2,15	>5,31	

Staphylococcus aureus

<b>Rédacteur</b>		<b>Superviseur</b>	
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire		Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice	
			

**8. Staphylococcus aureus - REPETITION**Vérifications de la méthodologie:

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

Légende :

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N0 - \lg Na$ )

Norme: EN 14561 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-14 Date des essais : 24/12/2018	Méthode: <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

Staphylococcus aureus	Suspension de validation		Validation A		Validation B		Validation C		Suspension d'essai		Témoins eau		Mode opératoire aux concentrations (v/v)						
	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	5 min		10 min		15 min		
	85	81	79	93	81	82	75	76	295	291	1.10 <sup>-4</sup>	260	268	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2
	$\bar{X}$	83,0	$\bar{X}$	86,0	$\bar{X}$	81,5	$\bar{X}$	75,5	28	30	1.10 <sup>-8</sup>	26	29	18	14	4	3	1	1
	30 ≤ Nv0 ≤ 160		A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0		Σ	644	Σ	583		Σ	295	46		<14	
	x oui <input type="checkbox"/> non		x oui <input type="checkbox"/> non		x oui <input type="checkbox"/> non		x oui <input type="checkbox"/> non		n1	2	n1	2		n1	2	2		0	
									n2	2	n2	2		n2	2	0		0	
									Log N	9,47	Log Nw	7,42		Log Na	3,13	2,36		<2,15	
														Log R	4,29	5,06		>5,27	

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**9. Enterococcus hirae - ESSAI**Vérifications de la méthodologie:

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

Légende :

Vc = dénombrement par ml

$\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N0 - \lg Na$ )

Norme: EN 14561 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-14 Date des essais : 20/12/2018	Méthode: <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

Suspension de validation	Validation A		Validation B		Validation C		Suspension d'essai		Témoins eau		Mode opératoire aux concentrations (v/v)						
	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	Nc		5 min		10 min		15 min		
77	79	81	74	73	64	66	249	264	1.10 <sup>-7</sup>	1.10 <sup>-4</sup>	249	253	88	80	14	12	0
$\bar{X}$ 75,0	$\bar{X}$ 80,0	$\bar{X}$ 73,5	$\bar{X}$ 65,0	$\bar{X}$ 65,0	$\bar{X}$ 65,0	$\bar{X}$ 65,0	25	27	1.10 <sup>-8</sup>	1.10 <sup>-5</sup>	25	25	10	10	1	2	0
30 ≤ Nv0 ≤ 160	A ≥ 0,5 * Nv0	B ≥ 0,5 * Nv0	C ≥ 0,5 * Nv0	Σ	565	Σ	552	Σ	168	Σ	168	<14	<14	<14			
x oui <input type="checkbox"/> non	n1	2	n1	2	n1	2	n1	2	1	1	0						
							n2	2	n2	2	n2	2	n2	0	0	0	0
							Log N	9,41	Log Nw	7,40	Log Na	2,92	Log Na	2,92	<2,15	<2,15	<2,15
											Log R	4,48	Log R	4,48	>5,25	>5,25	>5,25

*Enterococcus hirae*

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**10. Enterococcus hirae - REPETITION**

Vérifications de la méthodologie:

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

Légende :

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

Norme: EN 14561 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-14 Date des essais : 24/12/2018	Méthode: <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

Suspension de validation			Validation A		Validation B		Validation C		Suspension d'essai		Témoins eau		Mode opératoire aux concentrations (v/v)						
VC1	VC2		VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	Nc		5 min		10 min		15 min		
79	68		77	79	75	79	71	79	289	274	1.10 <sup>-4</sup>	259	271	78	79	12	8	0	0
$\bar{X}$	<b>73,5</b>		$\bar{X}$	<b>78,0</b>	$\bar{X}$	<b>77,0</b>	$\bar{X}$	<b>75,0</b>	32	28	1.10 <sup>-5</sup>	29	27	11	9	2	0	0	0
30 ≤ Nv0 ≤ 160			A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0		Σ	623	Σ	586		Σ	157	<14	<14	<14	<14
x oui <input type="checkbox"/> non			x oui <input type="checkbox"/> non		x oui <input type="checkbox"/> non		x oui <input type="checkbox"/> non		n1	2	n1	2		n1	2	0	0	0	0
									n2	2	n2	2		n2	0	0	0	0	0
									Log N	<b>9,45</b>	Log Nw	<b>7,43</b>		Log Na	2,89	<2,15	<2,15	<2,15	<2,15
														Log R	<b>4,54</b>	<b>&gt;5,28</b>	<b>&gt;5,28</b>	<b>&gt;5,28</b>	<b>&gt;5,28</b>

*Enterococcus hirae*

<b>Rédacteur</b>		<b>Superviseur</b>	
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire		Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice	
			

**11. Pseudomonas aeruginosa - ESSAI**Vérifications de la méthodologie:

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

Légende :

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N0 - \lg Na$ )

Norme: EN 14561 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-14 Date des essais : 20/12/2018	Méthode:  <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

Rev. + 2014 561-02-2018

Suspension de validation		Validation A		Validation B		Validation C		Suspension d'essai		Témoins eau		Mode opératoire aux concentrations (v/v)					
		VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	Nc		5 min		10 min		15 min	
VC1	VC2	81	85	80	80	77	81	>330	>330	1.10 <sup>-4</sup>	295	154	142	25	29	2	0
$\bar{X}$	<b>90,0</b>	$\bar{X}$	<b>83,0</b>	$\bar{X}$	<b>80,0</b>	$\bar{X}$	<b>79,0</b>	30	31	1.10 <sup>-5</sup>	33	15	15	3	3	0	0
30 ≤ Nv0 ≤ 160		A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0		Σ	721	Σ	648	326	54	<14			
x oui <input type="checkbox"/> non		x oui <input type="checkbox"/> non		x oui <input type="checkbox"/> non		x oui <input type="checkbox"/> non		n1	2	n1	2	2	2	0			
								n2	2	n2	2	2	0	0			
								Log N	<b>9,52</b>	Log Nw	<b>7,47</b>	Log Na	3,17	2,43	<2,15		
												Log R	<b>4,30</b>	<b>5,04</b>	<b>&gt;5,32</b>		

*Pseudomonas aeruginosa*

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**12. Pseudomonas aeruginosa - REPETITION**

Vérifications de la méthodologie:

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

Légende :

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

Norme: EN 14561 Produit : <b>F010436V6</b> Lot N° : 5411 Etude N° : 268D25-2018-14 Date des essais : 24/12/2018	Méthode: <input checked="" type="checkbox"/> Ensemencement dans la masse <input type="checkbox"/> Ensemencement en surface <input checked="" type="checkbox"/> Nombre de boîtes de Pétri/mL : 2	Neutralisant : polysorbate 80 (30g/L) + jaune d'œuf 5% Température des essais : 20°C Substance interférente : 3 g/L BSA + 3 mL/L érythrocytes de mouton Température d'incubation : 37°C ± 1°C Diluant : eau dure stérile
---	--	--

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire 	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice 

Suspension de validation		Validation A		Validation B		Validation C		Suspension d'essai		Témoins eau Nc		Mode opératoire aux concentrations (v/v)							
VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	VC1	VC2	5 min		10 min		15 min			
84	83	78	75	77	77	63	68	330	330	1.10 <sup>-7</sup>	1.10 <sup>-4</sup>	277	280	141	139	27	22	13	13
$\bar{X}$	<b>83,5</b>	$\bar{X}$	<b>76,5</b>	$\bar{X}$	<b>77,0</b>	$\bar{X}$	<b>65,5</b>	25	29	1.10 <sup>-8</sup>	1.10 <sup>-5</sup>	33	29	15	15	3	3	1	1
30 ≤ Nv0 ≤ 160 × oui □ non		A ≥ 0,5 * Nv0 × oui □ non		B ≥ 0,5 * Nv0 × oui □ non		C ≥ 0,5 * Nv0 × oui □ non		Σ	714	Σ	619	Σ	310	Σ	49	Σ	<14		
								n1	2	n1	2	n1	2	n1	2	n1	2	0	0
								n2	2	n2	2	n2	2	n2	2	n2	0	0	0
								Log N	<b>9,51</b>	Log Nw	<b>7,45</b>	Log Na	3,15	Log R	<b>4,30</b>	2,39	<2,15	<2,15	
																<b>5,06</b>	<b>&gt;5,30</b>		

*Pseudomonas aeruginosa*

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stéphanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**13. ANNEXE TECHNIQUE**

**MILIEUX DE CULTURE:**

TSA (Gélose Tryptone Soja Agar), Dominique DUTSCHER, réf. 777410, lot n° 806051

**SUBSTANCES INTERFÉRENTES :**

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

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

**DILUANT Solution Tryptone-Sel (TS)**

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

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

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

**NEUTRALISANT**

Ingrédients par litre d'eau distillée:

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: - MgCl<sub>2</sub> anhydre, réf. M8266, lot n° 108K0068, SIGMA ALDRICH

- CaCl<sub>2</sub> anhydre, réf. C1016, lot n° 059K0030, SIGMA ALDRICH

Solution B: - NaHCO<sub>3</sub>, réf. S6014, lot n°059K0052, SIGMA ALDRICH

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

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

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	



RAPPORT D'ESSAI

**DETERMINATION DE L'ACTIVITE LEVURICIDE DU  
PRODUIT ENZYMEX P SELON LA NORME EN 13624**

Délivré à Mme CHAKCHOUK

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



Demande d'essai du: 12/04/2017

Références du dossier d'analyses: n°061D04-2017-07

ESSAI DE LEVURICIDIE:

Selon la méthodologie de la norme européenne NF EN 13624 (Novembre 2013) – antiseptiques et désinfectants chimiques – essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide des désinfectants utilisés pour les instruments en médecine.

Essai sur une souche : *Candida albicans*.

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

Date d'émission : 10/06/2017

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

Professeur Georges HERBEIN  
Professeur des Universités Médecin Hospitalier  
Expert scientifique

**APEX BIOSOLUTIONS**

18, rue Alain SAVARY  
25000 Besançon

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

## SOMMAIRE

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

## LABORATOIRE AYANT RÉALISÉ LES ESSAIS

APEX BIOSOLUTIONS  
4, rue des Grandes Pièces  
25770 SERRE LES SAPINS  
FRANCE

## IDENTIFICATION COMPLETE DES ECHANTILLONS

### ENZYMEX P

- Numéro de lot: n° 5570
- Date d'expiration: non précisé
- Fabricant: FRANKLAB
- Date de fabrication: non précisé
- Conditions de stockage: selon les indications fournies par le fabricant
- Composants actifs: ammoniums quaternaires
- Aspect: poudre blanche
- Diluant préconisé par le fabricant: eau potable
- Date de réception au laboratoire: 18/04/2017
- Période de l'étude: 12/05/2017 au 01/06/2017

## CONDITIONS EXPERIMENTALES

- Concentration du produit soumis à l'essai : 0,5% finaux
- Méthode employée: EN 13624
- Temps de contact: 1 min - 5 min – 60 min
- Température d'essai: 20°C
- Substance interférente: albumine bovine (3g/l) et érythrocytes de mouton (3 mL/L), conditions de saleté.
- Diluant des suspensions fongiques et des essais : solution tryptone sel stérile pour les dénombrements et neutralisant pour les essais.

- Souche utilisée : *Candida albicans* CIP 48.72 lot 265.09
- Conditions de culture: sur GEM (Gélose à l'Extrait de Malt), à 30°C ± 1°C.
- Technique d'arrêt de l'action levuricide: transfert du porte germe dans 10 ml de neutralisant à base de polysorbate 80, de saponine et de jaune d'œuf (composition en annexe).

## RESULTATS PROPREMENT DITS

Voir feuilles de résultats.

### SYNTHESE RESULTATS

Le produit **ENZYMEX P** est bien actif vis-à-vis des souches de référence utilisées, car la réduction moyenne obtenue est supérieure à 4 log pour les cellules bactériennes viables :

- Pour *C.albicans*, R = 4,15 à 0,5% de produit pur pour 5 min de contact

## CONCLUSION

**Conformément à la norme EN 13624 (Novembre 2013), le produit ENZYMEX P lot n°5570:**

- a une activité levuricide sur la souche de référence lorsqu'employé à 0,5%, pour 5 min de contact à 20°C, en conditions de saleté (3 g/l d'albumine bovine finaux + érythrocytes de mouton).





**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N	Log N0
$10^{-5}$	288	301	7,47	6,47
$10^{-6}$	33	29		
$6,17 \leq \log N0 \leq 6,70?$ x oui <input type="checkbox"/> non				

Vérifications de la méthodologie:

- N est compris entre  $1,5 \times 10^7$  UFC/ml et  $5,0 \times 10^7$  UFC/ml
- Nv0 est compris entre 30 et 160 UFC/ml
- A, B et C sont égaux ou supérieurs à  $0,5 \times Nv0$
- Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

	Essais 0,5%					
	1 min		5 min		60 min	
$10^0$	59	53	21	18	0	0
$10^{-1}$	7	5	1	1	0	0
$10^{-2}$	1	0	0	0	0	0
$10^{-3}$	0	0	0	0	0	0
log Na	2,75		2,29		<2,15	
log R = log Nw - log Na	3,72		<b>4,18</b>		<b>&gt;4,33</b>	

Légende :

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



**Suspension d'essai et essai**

Suspension d'essai (N)			log N	Log N0
$10^{-6}$	290	298	7,47	6,47
$10^{-7}$	29	33		
6,17 ≤ log N0 ≤ 6,70?				
x oui □ non				

Vérifications de la méthodologie:

- N est compris entre  $1,5 \times 10^7$  UFC/ml et  $5,0 \times 10^7$  UFC/ml
- Nv0 est compris entre 30 et 160 UFC/ml
- A, B et C sont égaux ou supérieurs à  $0,5 \times Nv0$
- Le quotient des dénombrements moyens pondérés est compris entre 5 et 15

	Essais 0,5%					
	1 min		5 min		60 min	
$10^0$	66	68	23	23	0	0
$10^{-1}$	8	5	1	2	0	0
$10^{-2}$	0	0	0	0	0	0
$10^{-3}$	0	0	0	0	0	0
log Na	2,83		2,36		<2,15	
log R = log Nw - log Na	3,64		4,11		>4,32	

Légende :

Vc = dénombrement par ml

 $\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction ( $\lg R = \lg N0 - \lg Na$ )

**ANNEXE TECHNIQUE****Milieux de culture utilisés, stérilisés par autoclavage :**

GEM (Gélose à l'extrait de Malt), Dominique DUTSCHER, réf. 777304, lot n° 402241

**SUBSTANCES INTERFÉRENTES :**

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

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

**DILUANT Solution Tryptone-Sel (TS)**Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée :

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

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

**NEUTRALISANT**Ingrédients par litre d'eau distillée:

Polysorbate 80, SIGMA ALDRICH, réf. 59924, lot n° BCBJ6978V ----- 30 g  
Jaune d'œuf frais ----- 50 ml  
Saponine, Analytic Lab, réf. 84510, lot n° BCBL6449V ----- 30 g  
Tampon PBS 0,25 M, Dominique Dutscher, réf. 091591, lot n° 903711 ----- q.s.p 1 L

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

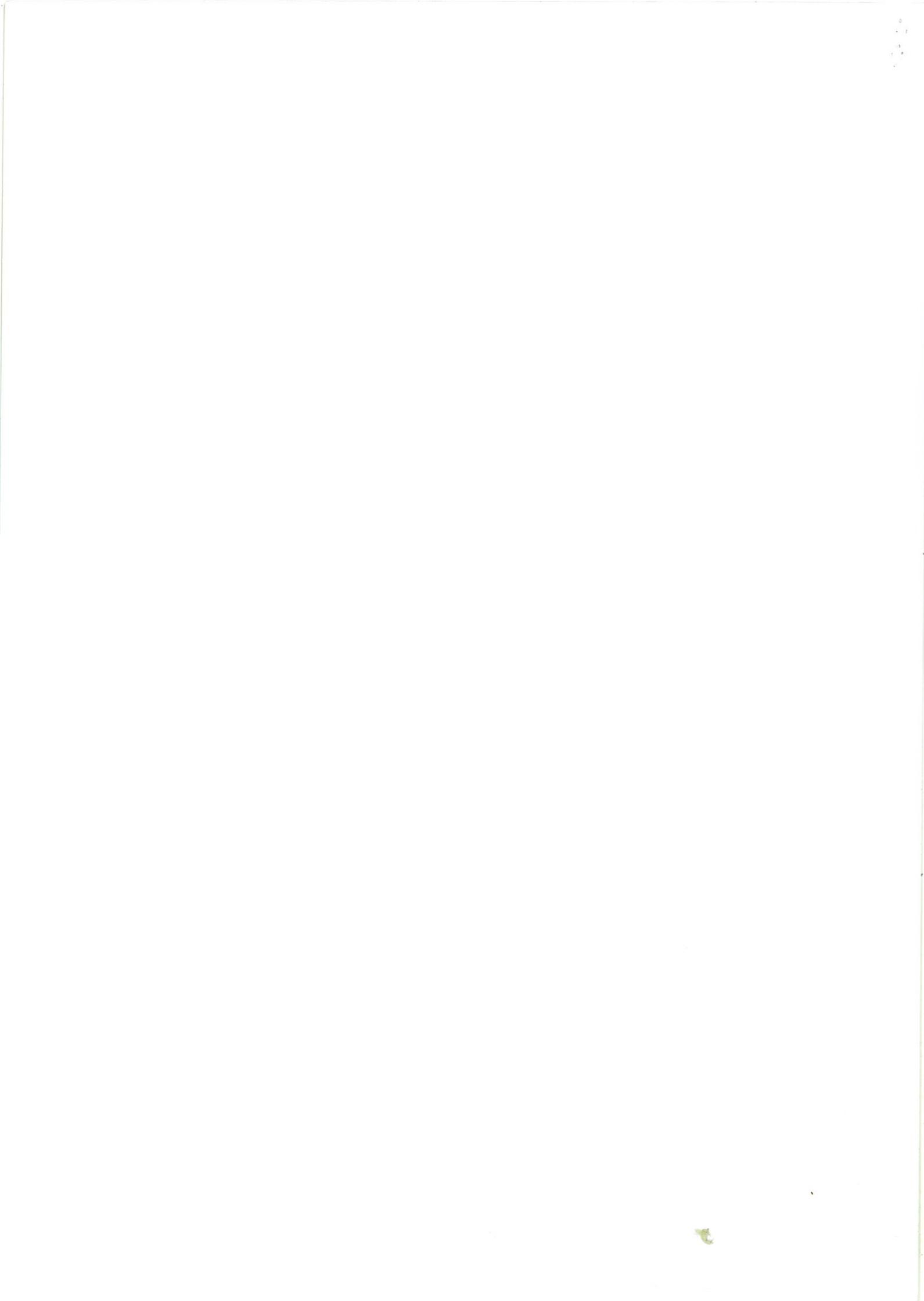
**EAU DURE**

Solution A: - MgCl<sub>2</sub> anhydre, réf. M8266, lot n° 108K0068, SIGMA ALDRICH  
- CaCl<sub>2</sub> anhydre, réf. C1016, lot n° 059K0030, SIGMA ALDRICH

Solution B: - NaHCO<sub>3</sub>, réf. S6014, lot n°059K0052, SIGMA ALDRICH

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

4, rue des Grandes Pièces, zone Eurespace, 25 770 SERRE LES SAPINS ■ Tel: 03.81.25.09.04 ■ Fax: 03.81.25.53.51  
■ SARL au capital de 10 000 € ■ RCS BESANÇON ■ N° SIRET 51786053200012 ■ N° TVA intra FR 23517860532 ■  
info@apexlabo.com



## RAPPORT D'ESSAI

**DETERMINATION DE L'ACTIVITE LEVURICIDE DU  
PRODUIT F010436V6 SELON LA NORME EN 13624**

Délivré à Mme CHAKCHOUK

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



Demande d'essai du: 18/10/2018

Références du dossier d'analyses: n°268D25-2018-13

### ESSAI DE LEVURICIDIE:

Selon la méthodologie de la norme européenne NF EN 13624 (Novembre 2013) – antiseptiques et désinfectants chimiques – essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide des désinfectants utilisés pour les instruments en médecine.

Essai sur une souche : *Candida albicans*.

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

Date d'émission : 24/12/2018

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

Professeur Georges HERBEIN  
Professeur des Universités Praticien Hospitalier  
Expert scientifique



**APEX**  
**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 RÉALISÉ LES IDENTIFICATIONS .....3

2. IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS .....3

3. CONDITIONS EXPERIMENTALES .....3

4. RESULTATS PROPREMENT DITS.....4

5. CONCLUSION.....4

6. FEUILLES DE RESULTATS .....4

7. FEUILLE DE RESULTATS DES ESSAIS - *Candida albicans*.....5

8. FEUILLE DE RESULTATS DES REPETITIONS - *Candida albicans*.....7

9. ANNEXE TECHNIQUE .....9

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

**1. LABORATOIRE AYANT RÉALISÉ LES IDENTIFICATIONS**

APEX BIOSOLUTIONS  
 4, rue des Grandes Pièces  
 Zone EURESPACE  
 25 770 SERRE LES SAPINS  
 FRANCE

**2. IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS**

Echantillon	N° lot
F010436V6	5411

Date limite d'utilisation optimale : non communiquée

Fabricant : FRANKLAB

Date de fabrication : non communiquée

Conditions de stockage : Température ambiante et obscurité.

Composants actifs : ammonium quaternaire

Aspect : poudre blanche

Précautions d'emploi : aucune

Diluant préconisé par le fabricant : eau potable, 1 dose de 20 g dans 5 L d'eau

Date de réception au laboratoire : 24/10/2018

Période de l'étude : du 09/11/2018 au 05/12/2018

**3. CONDITIONS EXPERIMENTALES**

- Concentration du produit soumis à l'essai : 0.4%
- Méthode employée: EN 13624
- Temps de contact : 5 min - 10 min – 15 min
- Température d'essai: 20°C
- Substances interférentes : albumine bovine (3g/l) et érythrocytes de mouton (3 mL/L), conditions de saleté.
- Diluant des suspensions fongiques et des essais : solution tryptone sel stérile pour les dénombrements et neutralisant pour les essais.
- Souche utilisée : *Candida albicans* CIP 48.72 lot 265.09
- Conditions de culture: sur GEM (Gélose à l'Extrait de Malt), à 30°C ± 1°C.

Rédacteur	Superviseur
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

- Technique d'arrêt de l'action levuricide: transfert du porte germe dans 10 ml de neutralisant à base de polysorbate 80 et de jaune d'œuf (composition en annexe).

#### 4. RESULTATS PROPREMENT DITS

Le produit F010436V6 est actif vis-à-vis des souches de référence utilisées, car la réduction moyenne obtenue est supérieure à 4 log pour les cellules fongiques viables :

- pour *C. albicans*, R > 4,20 pour 15 min de contact

#### 5. CONCLUSION

**Conformément à la norme EN 13624 (Novembre 2013), le produit F010436V6 lot n°5411:**

- a une activité levuricide sur la souche de référence lorsqu'employé à 0.4%, pour 15 min de contact à 20°C, en conditions de saleté (3 g/L d'albumine bovine finaux + 3 mL/L érythrocytes de mouton).

#### 6. FEUILLES DE RESULTATS

Voir ci-après.

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	



Micro-organisme d'essai	Suspension de validation Nv		Suspension de validation NvB		Validation A		Validation B		Validation C	
<i>Candida albicans</i>	38	42	35	39	44	42	40	40	45	37
	$\bar{x}$	40,0	37,0		$\bar{x}$	43,0	$\bar{x}$	40,0	$\bar{x}$	41,0
	30 ≤ Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		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	

Micro-organisme d'essai	Suspension d'essai		Essai		Essai		Essai		Essai		
<i>Candida albicans</i>	1.10 <sup>-5</sup>	229	217	Vc	108	121	Vc	59	70	Vc	0
	1.10 <sup>-6</sup>	26	22	Na	1145,00		Na	645,00		Na	<140
	N	2,25.10 <sup>7</sup>		Log Na	3,06		Log Na	2,81		Log Na	<2,15
	Log N <sub>0</sub>	6,35		Log R = log N <sub>0</sub> -log Na	3,29		Log R = log N <sub>0</sub> -log Na	3,54		Log R = log N <sub>0</sub> -log Na	>4,20

Légende :

Vc = dénombrement par ml

$\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction (lg R = lg N<sub>0</sub> - lg Na)

Rédacteur	Superviseur
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stéphanie MOROT-BIZOT, directrice
	



Micro-organisme d'essai	Suspension de validation Nv		Suspension de validation NvB		Validation A		Validation B		Validation C	
<i>Candida albicans</i>	53	57	41	48	51	56	55	50	49	49
	$\bar{x}$	55,0	44,5		$\bar{x}$	53,5	$\bar{x}$	52,5	$\bar{x}$	49,0
	30 ≤ Nv0 ≤ 160 x oui <input type="checkbox"/> non		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	

Micro-organisme d'essai	Suspension d'essai		Essai		Essai		Essai		Essai	
<i>Candida albicans</i>	1.10 <sup>-5</sup>	218	222	Vc	119	113	Vc	45	48	Vc
	1.10 <sup>-6</sup>	26	24	Na	1160,00		Na	465,00		Na
	N	2,23.10 <sup>7</sup>		Log Na	3,06		Log Na	2,67		Log Na
	Log N <sub>0</sub>	6,35		Log R = log N <sub>0</sub> -log Na	3,29		Log R = log N <sub>0</sub> -log Na			Log R = log N <sub>0</sub> -log Na
										3,68

Légende :

Vc = dénombrement par ml

$\bar{x}$  = moyenne de Vc1 et Vc2

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

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

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

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

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

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

R = réduction (lg R = lg N<sub>0</sub> - lg Na)

Rédacteur	Superviseur
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stéphanie MOROT-BIZOT, directrice
	

### 9. ANNEXE TECHNIQUE

**Milieux de culture utilisés, stérilisés par autoclavage :**

GEM (Gélose à l'extrait de Malt), Dominique DUTSCHER, réf. 777304, lot n° 402241

**SUBSTANCES INTERFÉRENTES :**

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

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

**DILUANT Solution Tryptone-Sel (TS)**

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

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

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

**NEUTRALISANT**

Ingrédients par litre d'eau distillée:

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

<b>Rédacteur</b>	<b>Superviseur</b>
Mme Emilie CANTREL, technicienne de laboratoire	Mme Stephanie MOROT-BIZOT, directrice
	

