

Sainghin en Mélantois, le 24 septembre 2018

Sainghin en Mélantois, on the September 24th 2018

1. Objet de la demande (Study Number) n° 37330

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité sporicide vis-à-vis de *Clostridium difficile* R027 de la formule **FC 913019** dans le domaine médical. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 - étape 1) pr EN 17126 (juillet 2017). Application aux désinfectants chimiques.

Méthode par dilution neutralisation.

*Chemical antiseptics and disinfectants. Quantitative suspension test for the evaluation of the sporicidal activity against Clostridium difficile R027 of the formula **FC 913019** in the medical area. Test method and prescriptions (phase 2 - step 1) according to pr EN 17126 (July 2017). Application to chemical disinfectants.*

Method by dilution neutralisation.

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

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

Ce document comporte 11 pages numérotées dont 1 annexe de 4 pages

This report is made of 11 numbered pages including 1 annex of 4 pages

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

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

2. Sommaire (*Summary*)

1.	Objet de la demande (<i>Study Number</i>) n° 37330	1
2.	Sommaire (<i>Summary</i>)	2
3.	Introduction (<i>Introduction</i>)	3
4.	Identification de l'échantillon (<i>Sample Identification</i>)	3
5.	Méthode expérimentale (<i>Experimental Method</i>)	4
5.1.	Conditions expérimentales (<i>Experimental conditions</i>)	4
5.2.	Méthode par dilution neutralisation (<i>Method by dilution neutralisation</i>)	4
6.	Résultats (<i>Results</i>)	5
6.1.	Essais de validation des conditions expérimentales (<i>Validation tests</i>)	5
6.2.	Essais d'activité (<i>Evaluation of activity</i>)	6
7.	Conclusion (<i>Conclusion</i>)	6
8.	Annexe - Données expérimentales (<i>Experimental Data</i>)	7

3. Introduction (*Introduction*)

L'essai a été réalisé selon la méthode d'essai décrite dans la norme européenne PR EN 17126 « Désinfectants chimiques et antiseptiques- Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité sporicide dans le domaine médical (phase 2 /Etape 1) » .

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

The test was realised according to the test method described in the European standard PR EN 17126 « Chemical disinfectants and antiseptics- Quantitative suspension test for the evaluation of sporicidal activity in the medical area».

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

L'essai a été réalisé dans un laboratoire accrédité selon la norme EN 17025. Ce rapport ne peut pas être délivré dans le cadre de cette accréditation, car la norme qui a été suivie (prEN 17126) était encore en projet au moment des tests. Néanmoins, le test a été exécuté sous le système de qualité selon l'accréditation des laboratoires.

The test was performed in a laboratory accredited to EN 17025. This report cannot be issued under this accreditation, because the standard that was followed (prEN 17126) was still a draft at the time of testing. Nevertheless, the test was run under the quality system according to the laboratories accreditation.

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

Code formule	FC 913019
Code formula	
Numéro d'identification de l'échantillon	5614 18 09 17126
Identification of the sample	
Numéro de lot	2446FM0410
Batch number	
Fabricant	Ecolab Deutschland GmbH
Manufacturer	
Date de réception au laboratoire	Le 31/07/18
Receipt date at the laboratory	On the 31/07/18
Conditions de stockage au laboratoire	T° ambiante et obscurité
Storage conditions at the laboratory	Room temperature and darkness
Substances actives	Solution à 20g/L : > 1000 ppm acide peracetique (CAS 79-21-0)
Activ substances	Solution of 20g/L : > 1000 ppm peracetic acid (CAS 79-21-0)
Période d'essai	Du 11/09/18 au 21/09/18
Period of analysis	From 11/09/18 to 21/09/18

5. Méthode expérimentale (Experimental Method)

5.1. Conditions expérimentales (Experimental conditions)

Température de l'essai	20°C ± 1°C
<i>Test temperature</i>	
Temps de contact	15 minutes ± 10s
<i>Contact Time</i>	
Diluant de la formule lors des essais	Eau dure
<i>Diluent of the formula used during the test</i>	<i>Hard water</i>
Apparence de la formule et de ses dilutions	Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai
<i>Appearance formula dilutions</i>	<i>Preparation physically homogeneous and stable during test</i>
Souche testée	○ <i>Clostridium difficile</i> R027 (DSM 27147)
<i>Tested strain</i>	
Substance interférente	Albumine bovine à 3g/l + 3ml/l érythrocytes
<i>Interfering substance</i>	<i>3 g/l BSA + 3ml/l erythrocytes</i>
Stabilité du mélange formule et substances interférentes	Absence de précipité pendant l'essai
<i>Stability of the mixture (formula and interfering substance)</i>	<i>Precipitate absent throughout the test</i>
Température d'incubation	30°C ± 1°C
<i>Incubation temperature</i>	<i>30°C ± 1°C</i>

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

Nature du neutralisant utilisé	○ Formule : F002
<i>Nature of the neutralizer agent used</i>	○ <i>Formula : F002</i>
Neutralisant ajouté au milieu de dénombrement	10%
<i>Neutralizer agent added to the counting medium</i>	<i>10%</i>

6. Résultats (Results)

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

Vérification de la méthodologie et validation de la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **500 ppm** de la formule **FC 913019** soumise à l'essai.

*Checking of the method and validation of the method by dilution neutralisation for the **500 ppm** test concentration of the formula **FC 913019** to be tested.*

	Nombre de cellules viables (UFC/ml) (Number of viable cells(CFU/ml))							
Souche testée	Suspension d'essai	Suspension d'essai / 10	Suspension de validation	Suspension de validation / 10	Suspension de validation B	Validation conditions expérimentales	Non toxicité du neutralisant	Inactivation par dilution neutralisation
Tested strain	Test suspension	Test suspension / 10	Validation suspension	Validation suspension / 10	Validation suspension B	Experimental conditions control	Neutralizer toxicity control	Dilution neutralization control
	N	N ₀	N _v	N _{v0}	N _{vB}	A	B	C
Clostridium difficile	1,9.10 ⁷	1,9.10 ⁶	9,7.10 ²	9,7.10 ¹	8,4.10 ⁴	7,4.10 ¹	7,7.10 ¹	7,0.10 ¹

Pour la souche soumise à l'essai - For the tested strain.

N est compris entre 1,5 x 10⁷ UFC/ml et 5 x 10⁷ UFC/ml
is comprised between 1.5 x 10⁷ CFU/ml and 5 x 10⁷ CFU/ml

N₀ est compris entre 1,5 x 10⁶ UFC/ml et 5 x 10⁶ UFC/ml
is comprised between 1.5 x 10⁶ CFU/ml and 5 x 10⁶ CFU/ml

N_v est compris entre 3 x 10² UFC/ml et 1.6 x 10³ UFC/ml
is comprised between 3 x 10² CFU/ml and 1.6 x 10³ CFU/ml

N_{v0} est compris entre 3 x 10¹ UFC/ml et 1.6 x 10² UFC/ml
is comprised between 3 x 10¹ CFU/ml and 1.6 x 10² CFU/ml

N_{vB} est compris entre 3 x 10⁴ UFC/ml et 1.6 x 10⁵ UFC/ml
is comprised between 3 x 10⁴ CFU/ml and 1.6 x 10⁵ CFU/ml

B est supérieur ou égal à 0,0005 x N_{vB}
are higher or equal to 0,0005 x N_{vB}

A,C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x N_{v0}
are higher or equal to 0.5 x N_{v0}

La neutralisation est validée avec la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **500 ppm** de la formule **FC 913019** et pour la souche soumise à l'essai.

The neutralization is validated with the method by dilution neutralisation for the **500 ppm** test concentration of the formula **FC 913019** and for the tested strain.

6.2. Essais d'activité (*Evaluation of activity*)

Souche testée	Nombre de cellules viables (UFC/ml) pour le mélange d'essai (Na) pour les concentrations de : ppm(v/v)		
Tested strain	Number of the viable cells (CFU/ml) for the test mixture (Na) for the concentrations of : ppm(v/v)		
	10	100	500
Clostridium difficile	$>3,3.10^4$	$>3,3.10^4$	$<1,4.10^2$

	Réduction du nombre de cellule viables à la concentration d'essai. $R = \text{Log } N_0 - \text{Log } N_a$		
	Reduction of the number of viable cells at the test concentration. $R = \text{Log } N_0 - \text{Log } N_a$		
	10	100	500
Clostridium difficile	$< 1,8$	$< 1,8$	$> 4,2$

7. Conclusion (*Conclusion*)

Selon la norme pr EN 17126 (juillet 2017), la formule **FC 913019**, lorsqu'elle est diluée à la concentration de 500 ppm (v/v) dans de l'eau dure , présente une activité sporicide en 15 minutes de contact à 20°C en conditions de saleté , pour la désinfection des dispositifs médicaux vis-à-vis de la souche de référence : ***Clostridium difficile* R027**.

*According to the European standard pr EN 17126 (July 2017), the formula **FC 913019**, when diluted at the concentration of 500 ppm (v/v) in hard water, presents a sporicidal activity in a 15 minute contact time at 20°C in dirty conditions, for the medical devices disinfection against the referenced strain: ***Clostridium difficile* R027**.*

8. Annexe - Données expérimentales (Experimental Data)

Dosage de la solution testée selon IS63DPA / *Check of tested solution according to IS63DPA.*

Certificate of analysis 19/09/2018 – Study N° 37317.18/297ANA

Date	Dosage H2O2 – <i>H2O2 dosage</i>	Dosage APA en ppm – <i>APA dosage in ppm</i>
19/09/2018	0,11%	2630 ppm

Clostridium difficile - 15 minutes

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
prEN17126 méthode par dilution-neutralisation
Mai 2017

Réf : FS473B
Date :01/06/18

Número d'identification: 5614 18 09 17126
Méthode utilisée : Classique

Date : 19.09.18

Dénombrement de la suspension bactérienne:

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC/boîte			
	Dilution -5	Dilution -6	Dilution -5	Dilution -6
Clostridium difficile DSM 27147			186	24
			191	21
Lecture à 5 jours				

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 422
n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution 2
n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution 2
d : facteur de dilution correspondant à la première dilution prise en compte :10⁵
Moyenne pondérée : $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = 1,9E+07$ UFC/ml N0=N/10= 1,9E+06
 $5 < Q = \frac{\bullet \text{ dil} - 5 / 2}{\bullet \text{ dil} - 6 / 2} < 15 = \frac{188,5}{22,5} = 8,4$

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
prEN17126 méthode par dilution-neutralisation
Mai 2017

Réf : FS473B
Date :01/06/18

Número d'identification:

Nv	C			Nv0=	
	1930	=	9,7E+02	9,7E+01	UFC/mL
NvB	168000	=	8,4E+04		UFC/mL
A	148	=	7,4E+01		UFC/mL
B	153	=	7,7E+01		UFC/mL
C	139	=	7,0E+01		UFC/mL

Interprétation :

N est compris entre 1,5.10⁷ UFC/ml et 5.10⁷ UFC/ml 1,9E+07 Oui
Nv est compris entre 3.10⁴ et 1,6.10⁵ 9,7E+02 Oui
NvB est compris entre 3.10⁴ et 1,6.10⁵ 8,4E+04 Oui
Nv0 est compris entre 3.10¹ et 1,6.10² 9,7E+01 Oui
A et C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x Nv0 7,4E+01 et 7,0E+01 Oui
B est supérieur ou égal à 0,0005 x NvB 7,7E+01 Oui
La neutralisation est validée : Oui

Essai de validation :

Temps de contact : KP 15'

Essai :

Temps de contact : KP 15'

	14 à 330 UFC/boîte	Volume pipeté de produit pour fiole de 100 ml				10ml de fiole à 100 ppm		20 ml de fiole à 500 ppm		23,77ml de fiole à 2629 ppm			
		Concentration produit ppm		10	100	500							
Nv : témoin suspension	92 101												
NvB : témoin suspension B	81 87												
A : témoin des conditions expérimentales	75 73												
B : témoin de non-toxicité du neutralisant	78 75												
C : essai de l'inactivation par dilution neutralisation à 500 ppm	71 68												
Lecture à 5 jours													
		Na = $\frac{C \times 10}{n} \times \text{dilution}$	>	3,3E+04	>	3,3E+04	<	1,4E+02					
		Log N0 = 6,3 Log Na = 4,5		4,5		4,5		2,1					
		Calcul de réduction = Log Np - Log Na = Log R	<	1,8	<	1,8	>	4,2					

Calculs

$Nv = \frac{c \times 10}{n}$ (en UFC/ml). $Nv0, A, B, C = \frac{c}{n}$ (en UFC/ml).

$NvB = \frac{c \times 1000}{n}$ (en UFC/ml).

C : somme des valeurs Vc prises en compte n : nombre de boîtes considérées

SUITE A DONNER :

VISA : Conforme

Demande n° 37330

Laboratoires ANIOS
Laboratoire de Microbiologie

Study n° 37330 GB

Page 8 of 11

La sensibilité de la souche testée lors de l'essai a été réalisée selon les recommandations du § 5.4.1.3.3 du projet de norme prEN 17126.

Le produit de référence utilisé est une solution d'acide peracétique (5/25) à la concentration la plus faible recommandée pour cette souche.

Soit :

Clostridium difficile RO27 : concentration en APA dans le test : 0.01% soit 0.2% d'une solution commerciale d'APA (5/25) : réduction de Log attendue : < 1,5 Log

Les dosages de la solution d'acide peracétique 5/25 utilisée sont :

APA : 4,93%

H₂O₂ : 25,7%

Ci après les données de sensibilité de la souche pendant l'essai.

The susceptibility of the tested strain during the test was carried out according to the recommendations of the § 5.4.1.3.3 of the draft standard prEN 17126.

The reference product used is a solution of peracetic acid (5/25) at the lowest concentration requested for this strain.

The recommendations are as follows:

***Clostridium difficile** RO27 : concentration of APA in the test: 0.01% or 0.2% of a commercial solution of APA (5/25): expected log reduction: < 1,5 Log*

The dosages of the 5/25 peracetic acid solution used are:

APA: 4.93%

H₂O₂: 25.7%

Below the susceptibility data of the strain during the test.

Sensibilité de la souche de *Clostridium difficile* RO27 pendant le test – Susceptibility of the strain *clostridium difficile* RO27 during the test :

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS prEN17126 méthode par dilution-neutralisation Mai 2017

Réf : FS473B
Date : 01/06/18

Numéro d'identification: **5614 18 09 17126** Date : **19.09.18**
Méthode utilisée : **Sensibilité Souches**

Dénombrement de la suspension bactérienne:

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC/boîte			
	Dilution -4	Dilution -5	Dilution -4	Dilution -5
Clostridium difficile O27			165	18
			171	24
Lecture à 5 jours				

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 378
n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution 2
n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution 2
d : facteur de dilution correspondant à la première dilution prise en compte :10
Moyenne pondérée : $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = 1,7E+06$ UFC/ml $N_0 = N/10 = 1,7E+05$

$$5 < Q = \frac{\bullet \text{ dil} - 4 / 2}{\bullet \text{ dil} - 5 / 2} < 15 = \frac{168}{21} = 8,0$$

Essai de validation :

Temps de contact : **KP** **15'**

Essai :

Temps de contact : **KP** **15'**

		14 à 330 UFC/boîte		Volume pipeté de produit pour fiole de 100 ml		0,25							
				Concentration produit %		0,2							
Nv :	témoin suspension	80											
		91											
NvB :	témoin suspension B	75											
		69											
A :	témoin des conditions expérimentales	45											
		61											
B :	témoin de non-toxicité du neutralisant	67		Lecture à 5 jours de 14 à 330 UFC par boîte	0	+	+						
		73											
C :	essai de l'inactivation par dilution neutralisation	63			-1	+	+						
		64											
à 0,2 %				Na = $\frac{C \times 10}{n}$ x dilution		>	3,3E+04						
				Log N0 = 5,2		Log Na =		4,5					
				Calcul de réduction = Log N0 - Log Na = Log R		<	0,7						

Calculs	Nv = $\frac{C \times 10}{n}$	(en UFC/ml).	Nv0, A , B , C = $\frac{C}{n}$	(en UFC/ml).
---------	------------------------------	--------------	--------------------------------	--------------

Calculs Nv = $\frac{c \times 10}{n}$ (en UFC/ml). $N_0, A, B, C = \frac{c}{n}$ (en UFC/ml).

NvB = $\frac{c \times 1000}{n}$ (en UFC/ml).

C : somme des valeurs Vc prises en compte n : nombre de boîtes considérées

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie

Durée : Illimitée

Collecté par : TL

Responsable archivage : RLM

Classement & indexage : Par produit

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 01/06/2018

Page 3/4

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS prEN17126 méthode par dilution-neutralisation Mai 2017

Réf : FS473B
Date : 01/06/18

Numéro d'identification:

Nv	C	$\frac{1710}{2}$	=	8,6E+02	$N_{00} = 8,6E+01$	UFC/mL
NvB	C	$\frac{144000}{2}$	=	7,2E+04		UFC/mL
A	C	$\frac{106}{2}$	=	5,3E+01		UFC/mL
B	C	$\frac{140}{2}$	=	7,0E+01		UFC/mL
C	C	$\frac{127}{2}$	=	6,4E+01		UFC/mL

Interprétation :

N est compris entre $1,5 \cdot 10^4$ et $5 \cdot 10^4$ UFC/ml **1,7E+06** Oui
Nv est compris entre $3 \cdot 10^4$ et $1,6 \cdot 10^5$ **8,6E+02** Oui
NvB est compris entre $3 \cdot 10^4$ et $1,6 \cdot 10^5$ **7,2E+04** Oui
Nv0 est compris entre $3 \cdot 10^4$ et $1,6 \cdot 10^5$ **8,6E+01** Oui
A et C sont supérieurs ou égaux à $0,5 \times Nv0$ **5,3E+01** et **6,4E+01** Oui
B est supérieur ou égal à $0,0005 \times NvB$ **7,0E+01** Oui
La neutralisation est validée : **Oui**

SUITE A DONNER :

VISA : **Conforme**

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie

Durée : Illimitée

Collecté par : TL

Responsable archivage : RLM

Classement & indexage : Par produit

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 01/06/2018

Page 4/4

Direction Scientifique

Liste des signataires du document



Nom_utilisateur : Chrystele Pluchart
Titre : Responsable Laboratoire de Microbiologie
Date : lundi, 15 octobre 2018, 09:44 Paris
Signification : Validation de document

=====



Nom_utilisateur : Sophie Loeffert
Titre : Responsable Microbiologie
Date : lundi, 15 octobre 2018, 10:21 Paris
Signification : Validation de document

=====



Nom_utilisateur : Gaetan Rauwel
Titre : Directeur RD&E Innovation Healthcare
Date : mardi, 16 octobre 2018, 08:41 Paris
Signification : Validation de document

=====

=====

N Demande :	37330
Rapport d'essai :	00000

Etude :	autres travaux sporicides
---------	---------------------------

Date du document :	24/09/2018
--------------------	------------

=====