



## RAPPORT D'ESSAI

N°181/0214-1

**DELIVRE A :** ACTALYS SARL  
Z.I. du Haut des Tappes  
BP 70065  
54310 HOMECOURT

**PRODUIT :** ANAQUA

**DEMANDE D'ESSAI DU :** 14 février 2014

**REFERENCE PRODUIT :** 181/0214

**ESSAI :** NORME EUROPEENNE NF EN 1275 (avril 2006) : Antiseptiques et désinfectants chimiques –  
essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide ou levuricide de base  
des antiseptiques et désinfectants chimiques.

Méthode d'essai et prescriptions (phase 1).

Méthode par dilution neutralisation.

Ce rapport comporte 5 pages

Il ne concerne que le produit soumis à l'essai

Date d'émission : 18 juin 2014

Philippe STROHL  
Docteur Vétérinaire  
Directeur Scientifique

## I. IDENTIFICATION DE L'ECHANTILLON

### Nom du produit : ANAQUA

- Numéro du lot : 04514
- Fabricant : **ACTALYS SARL**  
Z.I. du Haut des Tappes  
BP 70065  
54310 HOMECOURT
- Date de péremption : juillet 2014, telle qu'indiquée dans la fiche échantillon transmise par le client, datée du 14 février 2014.
- Diluant de produit dont l'utilisation est recommandée : aucun (produit prêt à l'emploi)
- Aspect du produit et de ses dilutions : liquide limpide incolore
- Substances actives et concentrations telles qu'indiquées dans la fiche échantillon transmise par le client, datée du 14 février 2014 :
  - Ion hypochlorite (CAS n°7681-52-9) à 0,05%
  - Acide Hypochloreux (CAS n°7782-50-5) à 0,05%
  - Chlorure de sodium (CAS n°7647-14-5) à 0,26%

Date de réception : 18 février 2014

Conditions de stockage : à température ambiante, susceptible d'être exposé à la lumière

## II. CONDITIONS EXPERIMENTALES

Période d'analyse : du 04 mars au 07 avril 2014

Identification des souches obligatoires :

*Candida albicans* DSM 1386

incubation 48 heures à  $30 \pm 1^\circ\text{C}$

*Aspergillus niger* DSM 1988

incubation 72 heures à  $30 \pm 1^\circ\text{C}$

Nombre de réplification par micro-organisme d'essai : 1

Température d'essai obligatoire :  $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$

Temps de contact produit-inoculum obligatoire : 15 min  $\pm$  10 sec

Diluant de produit utilisé pendant l'essai : eau distillée stérile

Stabilité du mélange produit-diluant : absence de précipité au cours de l'essai

Méthode de dénombrement : dénombrement par inclusion en milieu gélosé

### III. MODE OPERATOIRE POUR LES ESSAIS PRELIMINAIRES

Neutralisant :

**Composition :** solution en eau distillée stérile de : 10% (m/v) de tween 80, 10% (m/v) de sodium pyruvate et 3% (m/v) de thiosulfate de sodium

**Mode de préparation :** dissolution des différents ingrédients et stérilisation par autoclavage 122°C/15 minutes.

Neutralisants ajoutés au milieu de dénombrement et concentrations : néant

Autres additions au milieu de dénombrement : néant

Milieux de dénombrement particuliers : néant

IV. RESULTATS DES ESSAIS DE VALIDATION

Souche d'essai	Concentration testée m% (v/v)	Suspension d'essai	Essais de validation			
			Suspension de validation	Conditions expérimentales	Non toxicité du neutralisant	Inactivation par dilution-neutralisation
<i>Candida albicans</i> DSM 1386	25	$10^{-5}$ : 282 296 $10^{-6}$ : 26 26 N = $2,9 \times 10^7$ N <sub>0</sub> = $2,9 \times 10^6$	68 64 Nv = 660 Nv <sub>0</sub> = 66	63 81 A = 72	62 54 B = 58	59 63 C = 61
<i>Aspergillus niger</i> DSM 1988	80	$10^{-5}$ : > 165 > 165 $10^{-6}$ : 22 17 N = $2,0 \times 10^7$ N <sub>0</sub> = $2,0 \times 10^6$	41 35 Nv = 380 Nv <sub>0</sub> = 38	35 31 A = 33	36 38 B = 37	32 37 C = 34,5

N : nombre d'UFC/ml de la suspension d'essai  
 N<sub>0</sub> : N/10  
 Nv : nombre d'UFC/ml de la suspension de validation  
 Nv<sub>0</sub> : Nv/10  
 A : nombre d'UFC/ml dans l'essai de validation des conditions expérimentales  
 B : nombre d'UFC/ml dans l'essai de validation de la non-toxicité du neutralisant  
 C : nombre d'UFC/ml dans l'essai de validation de l'inactivation par dilution - neutralisation  
 UFC : Unité Formant Colonie

La méthode est validée si :

- N est compris entre  $1,5 \cdot 10^7$  UFC/ml et  $5 \cdot 10^7$  UFC/ml
- N<sub>0</sub> est compris entre  $1,5 \cdot 10^6$  UFC/ml et  $5 \cdot 10^6$  UFC/ml
- Nv<sub>0</sub> est compris entre 30 UFC/ml et 160 UFC/ml, soit Nv est compris entre  $3,0 \cdot 10^2$  UFC/ml et  $1,6 \cdot 10^3$  UFC/ml
- Le quotient des dénombrements obtenus par moyenne pondérée est compris entre 5,0 et 15,0
- A, B et C sont supérieurs ou égaux à  $0,5 \times Nv_0$

La méthode de neutralisation est validée dans les conditions décrites pour une concentration en produit **ANAQUA** de :

- 25% (v/v) sur la souche *Candida albicans* DSM 1386
- 80% (v/v) sur la souche *Aspergillus niger* DSM 1988

**V. RESULTATS DES ESSAIS**

Souche d'essai	Suspension d'essai	Résultats à la concentration						
		m% (v/v)						
					m = 25	m = 6	m = 2,5	
<i>Candida albicans</i> DSM 1386	10 <sup>-5</sup> :	282	296	Vc =	0	0	> 330	> 330
	10 <sup>-6</sup> :	26	26	Na =	< 140	< 140	> 3300	> 3300
	N =	2,9 x 10 <sup>7</sup>		R =	> 2,1 x 10 <sup>4</sup>	> 2,1 x 10 <sup>4</sup>	< 8,8 x 10 <sup>2</sup>	< 8,8 x 10 <sup>2</sup>
	N <sub>0</sub> =	2,9 x 10 <sup>6</sup>		Log R =	<u>&gt; 4,32</u>	<u>&gt; 4,32</u>	< 2,94	< 2,94
					m = 80	m = 60	m = 25	
<i>Aspergillus niger</i> DSM 1988	10 <sup>-5</sup> :	> 165	> 165	Vc	12	10	> 165	> 165
	10 <sup>-6</sup> :	22	17	Na	< 140	885	> 1650	> 1650
	N =	2,0 x 10 <sup>7</sup>		R =	> 1,4 x 10 <sup>4</sup>	2,3 x 10 <sup>3</sup>	< 1,2 x 10 <sup>3</sup>	< 1,2 x 10 <sup>3</sup>
	N <sub>0</sub> =	2,0 x 10 <sup>6</sup>		Log R =	<u>&gt; 4,15</u>	3,35	< 3,08	< 3,08

N : nombre d'UFC/ml de la suspension d'essai  
N<sub>0</sub> : N/10  
Vc : nombre de colonies comptées sur les boîtes  
Na : nombre d'UFC/ml dans le mélange d'essai  
R : réduction du nombre de cellules viables  
Log R : réduction logarithmique du nombre de cellules viables  
UFC : Unité Formant Colonie

**Remarques spéciales :**

Tous les témoins et le mélange de validation de méthode donnent des valeurs comprises à l'intérieur des limites de base.  
Une concentration du produit au moins a présenté une réduction logarithmique de moins de 4 log.

**Sont fongicides les concentrations qui entraînent une réduction logarithmique décimale d'au moins 4.**

**VI. CONCLUSION**

Le produit **ANAQUA** est fongicide sur la souche de référence *Candida albicans* DSM 1386 à la concentration de 6% (v/v) et sur la souche de référence *Aspergillus niger* DSM 1988 à la concentration de 80% (v/v) selon la norme européenne NF EN 1275 (avril 2006) pour un temps de contact obligatoire de 15 minutes, à une température obligatoire de 20°C.

**VII. AVIS SUR L'EXPLOITATION DES RESULTATS D'ESSAI**

Le produit a donc démontré une activité fongicide de base sur les souches de référence *Candida albicans* DSM 1386 et *Aspergillus niger* DSM 1988, mais la norme « n'évalue pas l'activité d'un produit pour un usage déterminé » (chap.1).

Dans l'introduction de la norme on peut lire : « il n'est pas possible, à partir de cette méthode d'essai, de déterminer l'acceptabilité pour une utilisation donnée. Par conséquent, le produit est soumis à une évaluation complémentaire au moyen d'essais appropriés décrits dans les normes européennes et destinés à étudier leur activité dans les conditions qui correspondent à l'usage auquel ils sont destinés ».

FIN DU RAPPORT D'ESSAI