

RAPPORT D'ESSAI

N°181/0214-3

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 : Selon la méthodologie de la **NORME EUROPEENNE NF EN 14347 (août 2005)** : désinfectants et antiseptiques chimiques - Activité sporicide de base.

Méthode d'essai et prescriptions (phase 1).

Ce rapport comporte 9 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 10 avril au 22 mai 2014.

Identification des souches de spores bactériennes obligatoires :

<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> DSM 347	incubation entre 4 et 7 jours à $37 \pm 1^\circ\text{C}$
<i>Bacillus cereus</i> CIP 105151	incubation entre 4 et 7 jours à $37 \pm 1^\circ\text{C}$

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

Temps de contact produit-inoculum obligatoire : 30 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 utilisé pour l'essai sur *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* DSM 347 :

Composition : solution en eau distillée stérile de 0,05% (m/v) de tween 80

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

Neutralisant utilisé pour l'essai sur *Bacillus cereus* CIP 105151 :

Composition : solution en eau distillée stérile de 0,1% (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

1. Essai de validation sur *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* DSM 347

Suspension d'essai : N1			Suspension d'essai : N2			Suspension de validation : Nv		
	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		Vc1	Vc2
10^{-6}	+	+	10^0	+	+	10^{-2}	+	+
10^{-7}	33	35	10^{-1}	33	35	10^{-3}	33	35
10^{-8}	7	4	10^{-2}	7	4	10^{-4}	7	4
N1 = $3,4 \times 10^8$ UFC/ml log N1 = 8,53			N2 = $3,4 \times 10^2$ UFC/ml log N2 = 2,53			Nv = $3,4 \times 10^4$ UFC/ml log Nv = 4,53		
Vc : dénombrement par boîte + : > 330 UFC : Unité Formant Colonie								

Contrôle du TCS neutralisant : B			TCS sans neutralisant			TCS avec neutralisant		
			Concentration du produit : 80%(v/v)			Concentration du produit : 80%(v/v)		
	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		Vc1	Vc2
10^{-2}	+	+	TNO	+	+	TNO	+	+
10^{-3}	326	298	10^{-1}	31	30	10^{-1}	28	32
10^{-4}	28	26	10^{-2}	1	1	10^{-2}	5	1
B = $3,1 \times 10^7$ UFC/ml log B = 7,49			C 80%(v/v) = $3,1 \times 10^4$ UFC/ml Log 80%(v/v) = 4,49			C 80%(v/v) = $3,0 \times 10^4$ UFC/ml Log 80%(v/v) = 4,48		
Contrôle de la toxicité à long terme en présence de neutralisant : croissance visible								
Vc : dénombrement par boîte + : > 330 TNO : tubes de neutralisant originaux UFC : Unité Formant Colonie								

TCS sans neutralisant			TCS avec neutralisant		
Concentration du produit : 40%(v/v)			Concentration du produit : 40%(v/v)		
	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2
TNO	+	+	TNO	+	+
10^{-1}	39	27	10^{-1}	30	32
10^{-2}	7	3	10^{-2}	1	2
C 40%(v/v) = $3,3 \times 10^4$ UFC/ml Log 40%(v/v) = 4,52			C 40%(v/v) = $3,1 \times 10^4$ UFC/ml Log 40%(v/v) = 4,49		
Contrôle de la toxicité à long terme en présence de neutralisant : croissance visible					
Vc : dénombrement par boîte + : > 330 TNO : tubes de neutralisant originaux UFC : Unité Formant Colonie					

Limites fondamentales

N1 est compris entre 3×10^8 et 1×10^9 UFC/ml ($8,48 \leq \log N1 \leq 9,00$)

N2 est compris entre 3×10^2 et 1×10^3 UFC/ml ($2,48 \leq \log N2 \leq 3,00$)

Nv est compris entre 3×10^4 et 1×10^5 UFC/ml ($4,48 \leq \log Nv \leq 5,00$)

*Nw est compris entre 3×10^7 et 1×10^8 UFC/ml ($7,48 \leq \log Nw \leq 8,00$)

B est supérieur ou égal à Nw

C est compris entre 3×10^4 et 1×10^5 UFC/ml (valeur de Nv)

Le TNO présente une croissance après inoculation

* cette valeur se situe en page 8.

2. Essai de validation sur *Bacillus cereus* CIP 105151

Suspension d'essai : N1			Suspension d'essai : N2			Suspension de validation : Nv		
	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		Vc1	Vc2
10^{-6}	+	+	10^0	+	+	10^{-2}	+	+
10^{-7}	58	66	10^{-1}	58	66	10^{-3}	58	66
10^{-8}	8	7	10^{-2}	8	7	10^{-4}	8	7
N1 = $6,2 \times 10^8$ UFC/ml log N1 = 8,79			N2 = $6,2 \times 10^2$ UFC/ml log N2 = 2,79			Nv = $6,2 \times 10^4$ UFC/ml log Nv = 4,79		
Vc : dénombrement par boîte + : > 330 UFC : Unité Formant Colonie								

Contrôle du TCS neutralisant : B			TCS sans neutralisant			TCS avec neutralisant		
			Concentration du produit : 80%(v/v)			Concentration du produit : 80%(v/v)		
	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		Vc1	Vc2
10^{-2}	+	+	TNO	+	+	TNO	+	+
10^{-3}	+	+	10^{-1}	80	60	10^{-1}	70	80
10^{-4}	66	76	10^{-2}	10	11	10^{-2}	8	9
B = $7,1 \times 10^7$ UFC/ml log B = 7,85			C 80%(v/v) = $7,0 \times 10^4$ UFC/ml Log 80%(v/v) = 4,85			C 80%(v/v) = $7,5 \times 10^4$ UFC/ml Log 80%(v/v) = 4,88		
Contrôle de la toxicité à long terme en présence de neutralisant : croissance visible								
Vc : dénombrement par boîte + : > 330 TNO : tubes de neutralisant originaux UFC : Unité Formant Colonie								

TCS sans neutralisant			TCS avec neutralisant		
Concentration du produit : 40%(v/v)			Concentration du produit : 40%(v/v)		
	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2
TNO	+	+	TNO	+	+
10^{-1}	68	64	10^{-1}	43	55
10^{-2}	12	12	10^{-2}	8	3
C 40%(v/v) = $6,6 \times 10^4$ UFC/ml Log 40%(v/v) = 4,82			C 40%(v/v) = $4,9 \times 10^4$ UFC/ml Log 40%(v/v) = 4,69		
Contrôle de la toxicité à long terme en présence de neutralisant : croissance visible					
Vc : dénombrement par boîte + : > 330 TNO : tubes de neutralisant originaux UFC : Unité Formant Colonie					

Limites fondamentales

N1 est compris entre 3×10^8 et 1×10^9 UFC/ml ($8,48 \leq \log N1 \leq 9,00$)

N2 est compris entre 3×10^2 et 1×10^3 UFC/ml ($2,48 \leq \log N2 \leq 3,00$)

Nv est compris entre 3×10^4 et 1×10^5 UFC/ml ($4,48 \leq \log Nv \leq 5,00$)

*Nw est compris entre 3×10^7 et 1×10^8 UFC/ml ($7,48 \leq \log Nw \leq 8,00$)

B est supérieur ou égal à Nw

C est compris entre 3×10^4 et 1×10^5 UFC/ml (valeur de Nv)

Le TNO présente une croissance après inoculation

* cette valeur se situe en page 8

V. RESULTATS DES ESSAIS

1. Résultats sur *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* DSM 347

Témoins eau : Nw			Résultats à la concentration m% (v/v)								
			m = 80%			m = 40%			m = 25%		
	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		Vc1	Vc2
10^{-2}	+	+	TNO	0	0	TNO	6	3	TNO	+	+
10^{-3}	340	288	10^{-1}	0	0	10^{-1}	0	0	10^{-1}	+	+
10^{-4}	33	28	10^{-2}	0	0	10^{-2}	0	0	10^{-2}	95	88
Nw = $3,1 \times 10^7$ UFC/ml Log Nw = 7,49			10^{-3}	0	0	10^{-3}	0	0	10^{-3}	11	10
			Log Na < 3,15 R > 4,34			Log Na < 3,15 R > 4,34			Log Na = 5,96 R = 1,53		
R = log Nw – log Na UFC : Unité Formant Colonie + : > 330 TNO : tubes de neutralisant originaux											

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

2. Résultats sur *Bacillus cereus* CIP 105151

Témoins eau : Nw			Résultats à la concentration m% (v/v)								
			m = 80%			m = 40%			m = 25%		
	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		Vc1	Vc2
10^{-2}	+	+	TNO	0	0	TNO	+	+	TNO	+	+
10^{-3}	+	+	10^{-1}	0	0	10^{-1}	+	+	10^{-1}	+	+
10^{-4}	44	46	10^{-2}	0	0	10^{-2}	60	62	10^{-2}	+	+
Nw = $4,5 \times 10^7$ UFC/ml Log Nw = 7,65			10^{-3}	0	0	10^{-3}	6	9	10^{-3}	+	+
			Log Na < 3,15 R > 4,50			Log Na = 5,79 R = 1,86			Log Na > 7,52 R < 0,13		
R = log Nw – log Na UFC : Unité Formant Colonie + : > 330 TNO : tubes de neutralisant originaux											

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

VI. CONCLUSION

L'essai montre que le produit **ANAQUA** est sporicide sur les spores de la souche de référence *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* DSM 347 à la concentration de 40% (v/v) et sur *Bacillus cereus* CIP 105151 à la concentration de 80% (v/v) selon la méthodologie de la norme européenne NF EN 14347 (juin 2005) pour un temps de contact obligatoire de 30 minutes, à une température de 20°C.

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

Le produit a donc démontré une activité sporicide de base sur les souches de référence *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* DSM 347 et *Bacillus cereus* CIP 105151 mais la norme « n'évalue pas l'activité d'un produit pour une utilisation prévue » (chap.1).

Dans l'introduction de la norme on peut lire : « L'acceptabilité d'un produit en tant qu'antiseptique ou désinfectant chimique pour un but défini ne peut pas être déterminée à partir de cette méthode d'essai. Les antiseptiques et les désinfectants chimiques sont soumis à d'autres essais appropriés conformément à des normes européennes pour évaluer leur activité dans des conditions adaptées à leur utilisation prévue».

FIN DU RAPPORT D'ESSAI
