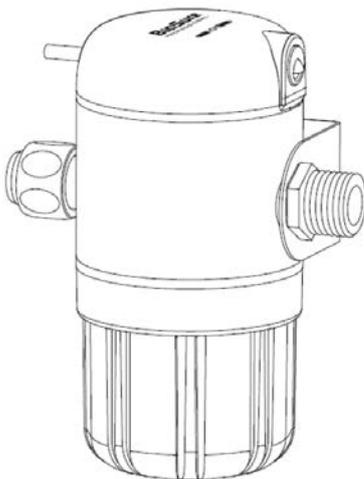


CARACTÉRISATION DE LA COMPOSITION DE L'EAU OZONISÉE

RÉALISATION D'ESSAIS UNE-EN POUR CERTIFIER LA CAPACITÉ BACTÉRICIDE, FONGICIDE/LEVURICIDE ET VIRUCIDE DE L'EAU OZONISÉE GÉNÉRÉE À L'AIDE DE L'ÉQUIPEMENT EOS7211-BX /WS1200X

Équipement: EOS7211-BX /WS1200X



Objectif

L'objectif de la réalisation de ces analyses et essais est **d'évaluer et prouver l'activité bactéricide, fongicide/levuricide et virucide de l'eau ozonisée** générée sur place à l'aide de l'équipement qui sera testé.

Les normes qui seront mises en place sont les suivantes:

- La Norme UNE-EN 14476: 2019+A2 - Essai quantitatif de suspension virucide des antiseptiques et désinfectants chimiques utilisés en médecine (phase 2/étape 1).
- La norme UNE-EN 16777:2019 - Essai quantitatif de superficie non poreuse sans action mécanique pour l'évaluation de l'activité virucide des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine médical (phase 2/étape 2).
- La norme UNE-EN 13727:2012+A2:2015 - Essai quantitatif de superficie pour l'évaluation de l'activité bactéricide dans le domaine médical (phase 2/ étape 1).
- La norme UNE-EN 13624:2015 - Essai quantitatif de superficie pour l'évaluation de l'activité fongicide ou levuricide en médecine (phase 2/ étape 1).
- La norme UNE-EN 13697:2015+A1:2020 - Essai quantitatif de superficie non poreuse pour l'évaluation de l'activité bactéricide et fongicide des désinfectants chimiques utilisées dans les produits alimentaires, dans l'industrie, au foyer et dans la collectivité (phase 2/ étape 2).

De plus, la norme UNE-EN 13727:2012+A2:2015 et la norme UNE-EN 13697:2015+A1:2020 comprennent outre les souches bactériennes indiquées dans ces dernières, *Salmonella* et *Listeria monocytogenes*, spécialement intéressantes dans le domaine de l'industrie alimentaire.

L'équipement chargé de générer l'eau ozonisée fournie par l'entreprise AVET AG a été le modèle **EOS7211-BX / WS1200X** (N° de serie: 7211BXNA1101 – Production: 2023).

CARACTÉRISATION DE LA COMPOSITION DE L'EAU OZONISÉE

Réalisation de l'essai: 15/02/2024

Rapport analytique: I-3937/24

Méthodologie

Un échantillon d'eau ozonisée générée sur place avec l'équipement fourni par AVET AG [modelo **EOS7211-BX / WS1200X** (N° de série: 7211BXNA1101 – Production: 2023)] a été recueilli à partir de l'eau froide du réseau dans le même laboratoire où elle sera analysée.

La mesure de la concentration en ozone et du potentiel REDOX est effectuée immédiatement après la génération de l'eau ozonée.

La méthode employée pour déterminer chaque paramètre est le suivant:

- Concentration d'ozone: spectrophotométrie UV-VIS (trisulfonate d'indigo de potassium – longueur d'onde 600 nm).
- Potentiel REDOX: potentiométrie (eau ozonée en circulation).

Résultat

Équipe	Paramètres	Résultats
EOS7211-BX / WS1200X (N° de série: 7211BXNA1101 – Production: 2023)	Concentration d'ozone dissout	1,62 mg/L
	Potentiel REDOX	921 mv

À Oviedo, le 23 Février 2024



Daniel Cepedal Macías
Directeur technique
inoQua | Institut de Santé Alimentaire

ESSAI ACTIVITÉ VIRUCIDE

Norme UNE-EN 14476:2019 + A2:2020

Essai quantitatif de suspension virucide des antiseptiques et désinfectants chimiques utilisés en médecine (phase 2/ étape 1)

Réalisation de l'essai: 26/02/2024 – 09/03/2024

Rapport analytique: 5052/24

Méthodologie

La méthode stipulée dans ladite norme pour évaluer l'activité virucide de l'eau ozonisée est fondée sur le calcul de la réduction de l'infectivité des différents virus qui ont été soumis à l'action de l'eau ozonisée.

Pour ce faire, une solution est préparée avec plusieurs types de virus avec des substances qui interfèrent qui doit être appliquée sur l'échantillon d'eau ozonisée pure et/ou diluée avec de l'eau dure (300 mg/Kg CaCO₃).

L'eau ozonée est un liquide transparent et incolore, soluble dans l'eau dure normalisée. Les concentrations d'eau ozonée choisies pour mener l'essai étaient de 100%, 90% et 30%, et ce sont celles auxquelles nous nous référerons dans les tableaux de résultats. Cependant, il convient de noter qu'en raison des processus de dilution lors de l'incorporation de la solution contenant les virus et les substances interférentes pendant le développement expérimental, la concentration maximale du produit pouvant être testée selon la procédure standard est de 80%.

Le mélange est maintenu à une température spécifique et au long d'une période de temps définie. Une fois écoulée la durée de contact, une aliquote du mélange est prise, ce qui neutralise immédiatement l'action virucide de l'eau ozonisée en utilisant une méthode valable (dilution de l'échantillon dans un milieu qui conserve les cellules à la température de la glace).

Les différentes dilutions sont transférées aux cultures cellulaires (plaques pétri, tubes, ou cuvettes de plaques microtitre) que ce soit en monocouche ou en suspension cellulaire. Les essais d'infectivité sont effectués soit à travers des essais à la plaque soit à travers des essais quantales.

Suite à l'incubation, et à l'usage de la méthode de Spearman-Kärber ou les décomptes à la plaque, les titres d'infectivité sont calculés et évalués.

La réduction de l'infectivité du virus est calculée à partir des différences des logarithmes des titres viraux avant (contrôle du virus) et suite au traitement avec de l'eau ozonisée.

Les souches de virus utilisées ont été:

- Poliovirus type 1. LSc-2ab (Picornavirus) passe 3
- Murine norovirus, souche S99 Berlin passe 2
- Adénovirus type 5, souche Adenoid 75, ATCC VR-5 passe 1
- Virus vaccina ATCC VR-1508 passe 2

Les lignes cellulaires utilisées ont été:

- Vero, réf FTVE, aliquote 2, passes 7, 9, 11
- Raw 264.7, aliquote 3, passes 4, 6, 8

La substance interférente utilisée sous des conditions sales est une solution aqueuse d'albumine bovine et d'érythrocytes ovins dans une concentration de 3g/L et 3ml/L, respectivement. Sous des conditions propres la solution aqueuse est faite à base d'albumine bovine dans une concentration de 0,3g/L.

L'essai a été réalisé à une température de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Le temps de contact a été 1 minute \pm 10 secondes.

Les températures d'incubation ont été de $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Résultats et conclusion

Résultats de l'activité du produit avec **Poliovirus type 1** sous des **conditions sales**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min
				0 min	1 min	30 min	60 min	
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3g/L	0,5		0,5			$\geq 6,64 \pm 0,34$
	90%		0,5		0,5			$\geq 5,50 \pm 0,32$
	30%		0,5		6,74			$0,43 \pm 0,45$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	7,07	7,02			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	5	3,07	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	7,08	ND	ND	6,91	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT

Essai de titrage avec **Poliovirus type 1** sous des **conditions sales**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a										
				1	2	3	4	5	6	7	8			
equipo AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
	90%		1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
30%	1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3202	0010	0000	0000	0000		
		4444	4444	4444	4444	4444	4444	3223	0201	0000				
		4444	4444	4444	4444	4444	4444	0332	0012	0000				
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1020	0000		
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	2200	0120		
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1000	0000		
			1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3343	1020	0000		
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	2332	3020	0000		
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	3312	1010	0000		
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	4444	4444	3332	0220	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4333	1003	0000	0000	0000			
				4444	4444	4444	3443	0101	0000	0000	0000			
			60 min	4444	4444	0201	0001	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	0020	1000	0000	0000	0000	0000			
				4444	4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000			
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Résultats de l'activité du produit avec Adénovirus type 5 sous des conditions sales.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				*
				0 min	1 min	30 min	60 min	
ÉquipE AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3g/L	0,5		0,5			$\geq 5,67 \pm 0,31$
	90%		0,5		0,5			$\geq 5,24 \pm 0,32$
	30%		0,5		5,66			$0,33 \pm 0,41$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	6,08	6,18			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	2,58	1,33	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	6,07	ND	ND	5,91	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT * Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min

Essai de titrage avec Adénovirus type 5 sous des conditions sales.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a										
				1	2	3	4	5	6	7	8			
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
	90%		1 min	4444	4444	4444	4444	3023	0120	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	4444	4444	3302	0011	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	4444	4444	3323	0020	0000	0000	0000	ND	
30%	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND			
		0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND			
		0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND			
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	0322	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	4444	0102	0100	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	4444	2020	0000	0000	ND		
			1 min	4444	4444	4444	4444	4213	3001	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	4332	2002	1000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	4211	1002	0000	0000	ND		
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	3323	2001	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	2333	0010	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	2033	2000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
			60 min	0302	2100	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				2030	0001	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				2020	0200	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Résultats de l'activité du produit avec **Norovirus murin** sous des **conditions sales**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				*
				0 min	1 min	30 min	60 min	
equipo AVET AG - Modelo EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3g/L	0,5		0,5			≥ 5,57 ± 0,31
	95%		0,5		0,5			≥ 5,28 ± 0,30
	30%		0,5		5,57			0,41 ± 0,37
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	5,99	6,03			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	3,16	1,74	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	6	ND	ND	5,82	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT * Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min

Essai de titrage avec **Norovirus murin** sous des **conditions sales**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a										
				1	2	3	4	5	6	7	8			
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
	90%		1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
30%	1 min	4444	4444	4444	4444	2113	0011	0000	0000	0000	0000	ND		
		4444	4444	4444	4444	2322	2000	0000	0000	0000				
		4444	4444	4444	4444	2321	0000	0000	0000	0000				
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	0210	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	4444	2012	2000	0000			
				4444	4444	4444	4444	4444	1000	0010	0000			
			1 min	4444	4444	4444	4444	3324	3011	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	3333	2002	0000	0000			
				4444	4444	4444	4444	2334	3022	0000	0000			
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	0110	1000	0000	0000	0000	0000			
				4444	4444	3002	2000	0000	0000	0000	0000			
			60 min	4444	1000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	0200	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Résultats de l'activité du produit avec **Virus vaccina** sous des **conditions sales**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min
				0 min	1 min	30 min	60 min	
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3g/L	0,5		0,5			$\geq 6,70 \pm 0,35$
	90%		0,5		0,5			$\geq 6,25 \pm 0,29$
	30%		0,5		6,73			$0,36 \pm 0,41$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	7,07	7,02			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	5	3,07	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	7,08	ND	ND	6,91	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT

Essai de titrage avec **Virus vaccina** sous des **conditions sales**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a										
				1	2	3	4	5	6	7	8			
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
	90%		1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
30%	1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3202	0010	0000	0000		
		4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3220	0202	0000	0000		
		4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	0313	1012	0000	0000		
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1020	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	2201	0120	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1000	0000	0000	0000
			1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3343	1020	0000	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	2332	3020	0000	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	3312	1010	0000	0000	0000
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	4444	4444	3332	0220	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4333	1003	0000	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	4444	3443	0101	0000	0000	0000	0000	ND	
			60 min	4444	4444	0201	0001	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	0020	1000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Validation des résultats de l'essai sous des conditions sales

Poliovirus type 1

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-7,19}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,55}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-6,64}$

Adénovirus type 5

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-6,19}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,52}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-5,67}$

Norovirus murin

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-6,15}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,58}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-5,57}$

Virus vaccina

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-7,25}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,55}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-6,70}$

Preuve de référence (formaldéhyde 1,4 %)

Niveau de cytotoxicité du formaldéhyde à 0,7 %: $\log 10^{-0,5}$

Quantification virale dans la preuve de référence (formaldéhyde) après 60 minutes et avec

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-3,16}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-1,25}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-1,73}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-3,18}$

Intervalle de Confiance

Titration du virus avec un intervalle de confiance de 95 % (60 secondes)

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-6,72 \pm 0,34}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-6,14 \pm 0,31}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,44 \pm 0,29}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-7,06 \pm 0,30}$

Contrôle d'interférence de la susceptibilité cellulaire :

Titration de la suspension virale avec des cellules non traitées par la solution d'essai du désinfectant

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-6,88}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-6,21}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,18}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-6,91}$

Titration de la suspension virale avec des cellules traitées par la solution d'essai du désinfectant

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-6,47}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-5,55}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-5,56}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-6,54}$

Contrôle de l'efficacité de suppression de l'activité du produit:

Titration de la suspension virale après 30 minutes d'incubation dans un bain de glace, sans contact du virus avec le désinfectant.

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-7,22}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-5,72}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,13}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-7,14}$

Titration de la suspension virale en exposant le virus au désinfectant et incubation pendant 30 minutes dans un bain de glace.

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-6,61}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-5,74}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-5,65}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-6,65}$

En guise de **conclusion**, il faut indiquer que l'eau ozonisée générée **grâce à l'équipement EOS7211-BX / WS1200X** (N° de serie: 7211BXNA1101 – Production: 2023) **respecte la norme UNE-EN-14476: 2019+A2** sous des conditions sales aux **concentrations de 100% (1,62ppm) et 90% (1,46ppm)** à un **temps de contact d'1 minute** en faisant preuve au moins d'une réduction logarithmique décimale de 4 de l'infektivité des virus suivants:

- Poliovirus type 1, avec une réduction de $\geq 6,64 \pm 0,34$ TCID50
- Adénovirus type 5, avec une réduction de $\geq 5,67 \pm 0,31$ TCID50
- Norovirus murin, avec une réduction de $\geq 5,57 \pm 0,31$ TCID50
- Virus vaccina, avec une réduction de $\geq 6,70 \pm 0,35$ TCID50

Tous les contrôles et validations se trouvent dans les limites acceptées.

À Oviedo, le 16 mars 2024




Daniel Cepedal Macías
Directeur technique
inoQua | Institut de Santé Alimentaire

Résultats de l'activité du produit avec **Poliovirus type 1** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min
				0 min	1 min	30 min	60 min	
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3g/L	0,5		0,5			$\geq 6,65 \pm 0,31$
	90%		0,5		0,5			$\geq 5,31 \pm 0,27$
	30%		0,5		6,72			$0,36 \pm 0,32$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	7,07	7,02			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	5	3,07	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	7,08	ND	ND	6,91	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT

 Essai de titrage avec **Poliovirus type 1** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a									
				1	2	3	4	5	6	7	8		
équipo AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
	90%		1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
30%	1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3211	0010	0000	0000		
		4444	4444	4444	4444	4444	4444	3221	0202	0000	0000		
		4444	4444	4444	4444	4444	4444	0332	0012	0000	0000		
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1021	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	2201	0120	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1000	0000	
			1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3343	1020	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	2332	3020	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	3312	1012	0000	
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	4444	4444	3332	0220	0000	0000	0000		
				4444	4444	4444	4333	1003	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	3443	0101	0000	0000	ND		
			60 min	4444	4444	0201	0001	0000	0000	0000	0000		
				4444	4444	0020	1000	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	2001	0000	0000	0000	0000	ND		
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Résultats de l'activité du produit avec **Adénovirus type 5** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				*
				0 min	1 min	30 min	60 min	
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3g/L	0,5		0,5			$\geq 5,71 \pm 0,32$
	90%		0,5		0,5			$\geq 5,49 \pm 0,32$
	30%		0,5		5,66			$0,40 \pm 0,37$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	6,08	6,18			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	2,58	1,33	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	6,07	ND	ND	5,91	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT * Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min

Essai de titrage avec **Adénovirus type 5** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a										
				1	2	3	4	5	6	7	8			
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
	90%		1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
30%	1 min	4444	4444	4444	4444	3023	0120	0000	0000	0000	ND			
		4444	4444	4444	4444	3302	2011	0000	0000					
		4444	4444	4444	4444	3323	3220	0000	0000					
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	0322	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	4444	0103	0100				
				4444	4444	4444	4444	4444	2020	0000				
			1 min	4444	4444	4444	4444	4213	3001	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	4332	2032	1000	0000			
				4444	4444	4444	4444	4211	1002	0000	0000			
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	3323	2001	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	2333	0010	0000	0000	0000	0000	0000			
				4444	2033	2000	0000	0000	0000	0000	0000			
			60 min	0302	2100	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				2030	0001	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				2020	0200	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Résultats de l'activité du produit avec **Norovirus murin** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				*
				0 min	1 min	30 min	60 min	
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3g/L	0,5		0,5			$\geq 5,60 \pm 0,32$
	90%		0,5		0,5			$\geq 5,32 \pm 0,21$
	30%		0,5		5,56			$0,43 \pm 0,39$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	5,99	6,04			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	3,15	1,74	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	6	ND	ND	5,82	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT * Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min

 Essai de titrage avec **Norovirus murin** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a										
				1	2	3	4	5	6	7	8			
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
	90%	0,3 g/L	1 min	4444	4444	4444	4444	2213	0021	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	2322	2001	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	4444	4444	2321	0000	0000	0000	0000	ND	
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	0210	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	4444	2212	2000	0000	0000	ND	
				4444	4444	4444	4444	4444	1000	0010	0000	0000	ND	
	1 min	0,3 g/L	1 min	4444	4444	4444	4444	3324	3011	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	3332	2302	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	4444	4444	2334	3022	0000	0000	0000	ND	
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	0110	1000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	3002	2000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
	60 min	NA	60 min	4444	1000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	0200	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Résultats de l'activité du produit avec **Virus vaccina** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min
				0 min	1 min	30 min	60 min	
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3g/L	0,5		0,5			$\geq 6,65 \pm 0,30$
	90%		0,5		0,5			$\geq 6,40 \pm 0,32$
	30%		0,5		6,74			$0,36 \pm 0,32$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	7,07	7,02			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	5	3,07	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	7,08	ND	ND	6,91	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT

Essai de titrage avec **Virus vaccina** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a										
				1	2	3	4	5	6	7	8			
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
	90%		1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3202	0010	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	3003	0201	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	0432	0012	0000	0000	ND
30%	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
		0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
		0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1020	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	2202	0120	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1000	0000	0000	0000
			1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3343	1020	0000	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	2332	3020	0000	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	3312	1010	0000	0000	0000
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	4444	4444	3332	0220	0000	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	4444	4333	1003	0000	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	4444	3443	0101	0000	0000	0000	0000	ND	
			60 min	4444	4444	0201	0001	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				4444	4444	0020	1000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				4444	4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Validation des résultats de l'essai sous des conditions propres

Poliovirus type 1

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-7,21}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,56}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-6,65}$

Adénovirus type 5

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-6,23}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,52}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-5,71}$

Norovirus murin

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-6,12}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,52}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-5,60}$

Virus vaccina

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-7,18}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,53}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-6,65}$

Preuve de référence (formaldéhyde 1,4 %)

Niveau de cytotoxicité du formaldéhyde à 0,7 %: $\log 10^{-0,5}$

Quantification virale dans la preuve de référence (formaldéhyde) après 60 minutes et avec

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-3,14}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-1,50}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-1,54}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-3,16}$

Intervalle de Confiance

Titration du virus avec un intervalle de confiance de 95 % (60 secondes)

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-7,11 \pm 0,34}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-6,22 \pm 0,28}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,16 \pm 0,26}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-7,14 \pm 0,33}$

Contrôle d'interférence de la susceptibilité cellulaire :

Titration de la suspension virale avec des cellules non traitées par la solution d'essai du désinfectant

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-6,94}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-6,21}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,12}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-6,93}$

Titration de la suspension virale avec des cellules traitées par la solution d'essai du désinfectant

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-6,43}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-5,52}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-5,61}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-6,42}$

Contrôle de l'efficacité de suppression de l'activité du produit:

Titration de la suspension virale après 30 minutes d'incubation dans un bain de glace, sans contact du virus avec le désinfectant.

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-7,13}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-5,78}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,11}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-7,14}$

Titration de la suspension virale en exposant le virus au désinfectant et incubation pendant 30 minutes dans un bain de glace.

- **Poliovirus type 1:** $\log 10^{-6,69}$
- **Adénovirus type 5:** $\log 10^{-5,74}$
- **Norovirus murin:** $\log 10^{-5,59}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-6,89}$

En guise de **conclusion**, il faut indiquer que l'eau ozonisée générée **grâce à l'équipement EOS7211-BX / WS1200X** (N° de série: 7211BXNA1101 – Production: 2023) **respecte la norme UNE-EN-14476: 2019+A2** sous des conditions propres aux **concentrations de 100% (1,62ppm) et 90% (1,46ppm)** à un **temps de contact d'1 minute** en faisant preuve au moins d'une réduction logarithmique décimale de 4 de l'infektivité des virus suivants:

- Poliovirus type 1, avec une réduction de $\geq 6,65 \pm 0,31$ TCID50
- Adénovirus type 5, avec une réduction de $\geq 5,71 \pm 0,32$ TCID50
- Norovirus murin, avec une réduction de $\geq 5,60 \pm 0,32$ TCID50
- Virus vaccina, avec une réduction de $\geq 6,65 \pm 0,30$ TCID50

Tous les contrôles et validations se trouvent dans les limites acceptées.

À Oviedo, le 16 mars 2024



inoQua Instituto
de SALUD ALIMENTARIA
Daniel Cepedal Macías
Directeur technique
inoQua | Institut de Santé Alimentaire

ESSAI ACTIVITÉ VIRUCIDE

Norme UNE-EN 16777:2019

Essai quantitatif de superficie non poreuse sans action mécanique pour l'évaluation de l'activité virucide des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine médical (phase 2/étape 2)

Réalisation de l'essai: 26/02/2024 – 06/03/2024

Rapport analytique: 5052/24

Méthodologie

La méthode stipulée dans ladite norme pour évaluer l'activité virucide de l'eau ozonisée sur des surfaces est fondée dans la détermination de la réduction de l'infectivité des virus suite à l'action de cette dernière du fait de l'appliquer sur une surface préalablement contaminée.

Pour ce faire, une solution est préparée avec les virus stipulés de pair avec les substances interférentes à appliquer sur une surface en acier inoxydable en formant un film qui est séché postérieurement.

Ensuite, l'eau ozonisée qui fait l'objet de l'étude est appliquée à plusieurs concentrations de sorte à couvrir le film sec en maintenant une température spécifique et au long d'une période de temps déterminé.

L'eau ozonée est un liquide transparent et incolore, soluble dans l'eau dure normalisée. Les concentrations d'eau ozonée choisies pour mener l'essai étaient: 100%, 90% et 30%.

Après que le temps de contact se soit écoulé, les surfaces d'essai sont transférées dans un récipient et le milieu de culture est ajouté sans FCS refroidi dans la glace (milieu essentiel minimum Eagle (MEM) ou milieu Eagle modifié de Dulbecco (DMEM), en fonction de la ligne cellulaire utilisée. Il est mélangé au long du temps nécessaire jusqu'à ce que nous n'observions aucun inocule sec pour suspendre à nouveau le virus.

Tout de suite après l'élution, les dilutions en série à la dixième partie de la suspension du virus sont préparées dans le milieu de conservation (MEM + 2 % FCS) refroidi à la température du mélange eau glace. Les pointes de pipette sont changées suite à chaque dilution afin d'éviter d'entraîner le virus.

Les dilutions sont inoculées dans la culture cellulaire. Suite à l'incubation, le titrage du virus est calculé.

Parallèlement, il est déterminé de même le nombre de virus récupérés sur une superficie traitée avec de l'eau dure (300mg/Kg CaCo3) au lieu de l'eau ozonisée, et il est calculé par différence la réduction du titrage du virus assignée au produit.

La substance interférente utilisée sous des conditions sales est une solution aqueuse d'albumine bovine et d'érythrocytes ovins dans une concentration de 3g/L et 3ml/L, respectivement. Sous des conditions propres la solution aqueuse est faite à base d'albumine bovine dans une concentration de 0,3g/L.

Les souches de virus utilisées ont été :

- Norovirus murino, cepa S99 Berlin passe 3
- Virus vaccina ATCC VR-1508 passe 2
- Adenovirus tipo 5 ATCC VR-5 passe 3

Les lignes cellulaires utilisées ont été :

- Vero, ref FTVE, alícuota 2, passes 7, 9, 11
- Raw 264.7, alícuota 3, passes 4, 6, 8

L'essai a été réalisé à une température de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Le temps de contact a été 1 minute \pm 10 secondes.

La température d'incubation a été de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Résultats et conclusion

Résultats de l'activité du produit avec **Norovirus murin** sous des **conditions sales**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min
				0 min	1 min	30 min	60 min	
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3g/L	0,5		0,5			$\geq 6,69 \pm 0,33$
	90%		0,5		0,5			$\geq 6,41 \pm 0,34$
	30%		0,5		6,74			$0,37 \pm 0,41$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	7,07	7,02			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	5	3,07	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	7,08	ND	ND	6,91	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT

Essai de titrage avec **Norovirus murin** sous des **conditions sales**

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a										
				1	2	3	4	5	6	7	8			
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
	90%		1 min	4444	4444	4444	4444	4444	3202	0010	0000	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	0000	0000	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	3223	0201	0000	0000	ND
30%	1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	0332	0012	0000	0000	ND		
		4444	4444	4444	4444	4444	4444	0332	0012	0000	0000	ND		
		4444	4444	4444	4444	4444	4444	0332	0012	0000	0000	ND		
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1020	0000	ND	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	2200	0120	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1000	0000	0000	ND
			1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3343	1020	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	2332	3020	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	3312	1010	0000	0000	ND
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	4444	4444	3332	0220	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4333	1003	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	3443	0101	0000	0000	0000	ND		
			60 min	4444	4444	0201	0001	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	0020	1000	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Résultats de l'activité du produit avec **Virus vaccina** sous des **conditions sales**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				*
				0 min	1 min	30 min	60 min	
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3g/L	0,5		0,5			$\geq 5,79 \pm 0,31$
	90%		0,5		0,5			$\geq 5,47 \pm 0,31$
	30%		0,5		5,66			$0,34 \pm 0,36$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	6,08	6,18			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	2,58	1,33	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	6,07	ND	ND	5,91	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT * Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min

Essai de titrage avec **Virus vaccina** sous des **conditions sales**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a								
				1	2	3	4	5	6	7	8	
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
	90%		1 min	4444	4444	4444	4444	3023	0120	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	3302	0011	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	3323	0020	0000	0000	ND
30%	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
		0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
		0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	0322	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	0102	0100	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	2020	0000	0000	ND
			1 min	4444	4444	4444	4444	4213	3001	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4332	2002	1000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4211	1002	0000	0000	ND
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	3323	2001	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				4444	2333	0010	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				4444	2033	2000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
			60 min	0302	2100	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				2030	0001	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				2020	0200	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Résultats de l'activité du produit avec **Adénovirus type 5** sous des **conditions sales**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				*
				0 min	1 min	30 min	60 min	
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3g/L	0,5		0,5			$\geq 5,61 \pm 0,36$
	90%		0,5		0,5			$\geq 5,41 \pm 0,31$
	30%		0,5		5,57			$0,39 \pm 0,41$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	5,99	6,03			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	3,16	1,74	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	6	ND	ND	5,82	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT * Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min

Essai de titrage avec **Adénovirus type 5** sous des **conditions sales**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a									
				1	2	3	4	5	6	7	8		
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
	90%		1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000
30%	1 min	4444	4444	4444	4444	2113	0011	0000	0000	0000	0000	ND	
		4444	4444	4444	4444	2322	2000	0000	0000	0000			
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	0210	0000	0000	ND	
				4444	4444	4444	4444	4444	2012	2000	0010		
			1 min	4444	4444	4444	4444	3324	3011	0000	0000	ND	
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	0110	1000	0000	0000	0000			
			60 min	4444	1000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	4444	0200	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Validation des résultats de l'essai sous des conditions sales

Norovirus murin

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-7,13}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,44}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-6,69}$

Virus vaccina

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes) : $\log 10^{-6,33}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,54}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-5,79}$

Adenovirus type 5

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-6,15}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,54}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-5,61}$

Preuve de référence (formaldéhyde 1,4 %)

Niveau de cytotoxicité du formaldéhyde à 0,7 %: $\log 10^{-0,5}$

Quantification virale dans la preuve de référence (formaldéhyde) après 60 minutes et avec

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-3,12}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-1,34}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-1,73}$

Intervalle de Confiance

Titration du virus avec un intervalle de confiance de 95 % (60 secondes)

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-7,11 \pm 0,34}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-6,10 \pm 0,16}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-6,44 \pm 0,35}$

Contrôle d'interférence de la susceptibilité cellulaire :

Titration de la suspension virale avec des cellules non traitées par la solution d'essai du désinfectant

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,93}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-6,18}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-6,14}$

Titration de la suspension virale avec des cellules traitées par la solution d'essai du désinfectant

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,41}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-5,43}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-5,44}$

Contrôle de l'efficacité de suppression de l'activité du produit:

Titration de la suspension virale après 30 minutes d'incubation dans un bain de glace, sans contact du virus avec le désinfectant.

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-7,14}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-5,84}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-6,12}$

Titration de la suspension virale en exposant le virus au désinfectant et incubation pendant 30 minutes dans un bain de glace.

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,72}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-5,73}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-5,48}$

En guise de **conclusion**, il faut indiquer que l'eau ozonisée générée **grâce à l'équipement EOS7211-BX / WS1200X** (N° de serie: 7211BXNA1101 – Production: 2023) **respecte la norme UNE-EN-16777:2019** sous des conditions sales aux **concentrations de 100% (1,62ppm) et 90% (1,46ppm)** à un **temps de contact d'1 minute** en faisant preuve au moins d'une réduction logarithmique décimale de 4 de l'infectivité des virus suivants:

- Norovirus murin, avec une réduction de $\geq 6,69 \pm 0,33$ TCID50
- Virus vaccina, avec une réduction de $\geq 5,79 \pm 0,31$ TCID50
- Adenovirus type 5, avec une réduction de $\geq 5,61 \pm 0,36$ TCID50

Tous les contrôles et validations se trouvent dans les limites acceptées.

À Oviedo, le 16 mars 2024



inoQua Instituto
de SALUD ALIMENTARIA
Daniel Cepedal Macías
Directeur technique
inoQua | Institut de Santé Alimentaire

Résultats de l'activité du produit avec **Norovirus murin** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min
				0 min	1 min	30 min	60 min	
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3g/L	0,5		0,5			$\geq 6,62 \pm 0,34$
	90%		0,5		0,5			$\geq 6,51 \pm 0,33$
	30%		0,5		6,73			$0,36 \pm 0,44$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	7,07	7,02			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	5	3,07	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	7,08	ND	ND	6,91	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT

Essai de titrage avec **Norovirus murin** sous des **conditions propres**

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^a										
				1	2	3	4	5	6	7	8			
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
	90%		1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3202	0011	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	3223	0201	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	0332	1012	0000	0000	ND
30%	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
		0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
		0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1020	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	2201	0120	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1001	0000	0000	ND
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1020	0000	ND	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	2201	0120	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	1001	0000	0000	ND
			1 min	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3343	1020	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	2332	3021	0000	0000	ND
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	3312	1010	0000	0000	ND
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	4444	4444	3332	0221	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4332	1003	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	3343	0101	0000	0000	0000	ND		
			60 min	4444	4444	0201	0101	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	0020	1001	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Résultats de l'activité du produit avec **Virus vaccina** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				*
				0 min	1 min	30 min	60 min	
AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3g/L	0,5		0,5			≥ 5,60 ± 0,34
	90%		0,5		0,5			≥ 5,59 ± 0,39
	30%		0,5		5,65			0,37 ± 0,40
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	6,08	6,18			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	2,58	1,33	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	6,07	ND	ND	5,91	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT * Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min

Essai de titrage avec **Virus vaccina** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^d										
				1	2	3	4	5	6	7	8			
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
	90%		1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
30%	1 min	4444	4444	4444	4444	3023	0120	0000	0000	0000	0000	ND		
		4444	4444	4444	4444	3312	1011	0000	0000					
		4444	4444	4444	4444	3323	0022	0000	0000					
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	0322	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	4444	0102	0100	0000			
				4444	4444	4444	4444	4444	2020	0000	0000			
			1 min	4444	4444	4444	4444	4213	3001	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	4032	2002	1000	0000			
				4444	4444	4444	4444	4211	1002	0000	0000			
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	3323	2001	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	2333	0010	0000	0000	0000	0000	0000			
				4444	2033	2000	0000	0000	0000	0000	0000			
			60 min	0302	2100	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				2030	0001	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				2020	0200	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Résultats de l'activité du produit avec **Adenovirus type 5** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	Niveau cytotoxicité	Log10 TCID50 passés...				*
				0 min	1 min	30 min	60 min	
AVET AG EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3g/L	0,5		0,5			$\geq 5,66 \pm 0,33$
	90%		0,5		0,5			$\geq 5,52 \pm 0,31$
	30%		0,5		5,59			$0,39 \pm 0,25$
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	NA	5,99	6,02			NA
Formaldéhyde	0,70%	NA	0,5	ND	ND	3,16	1,74	NA
Contrôle virus du Formaldéhyde	0,70%	NA	NA	6	ND	ND	5,82	NA

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT * Réduction de l'intervalle de confiance de 95 % après 1 min

Essai de titrage avec **Adenovirus type 5** sous des **conditions propres**.

Échantillon	Concentration	Substance interférente	temps de contact	Dilutions (log10) ^d										
				1	2	3	4	5	6	7	8			
équipe AVET AG - EOS 7211-BX / WDS1200X	100%	0,3 g/L	1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND	
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
	90%		1 min	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000			
30%	1 min	4444	4444	4444	4444	2113	0011	0000	0000	0000	ND			
		4444	4444	4444	4444	2322	2000	0000	0000					
		4444	4444	4444	4444	2321	0000	0000	0000					
Cytotoxicité	1%	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				
Contrôle virus	NA	0,3 g/L	0	4444	4444	4444	4444	4444	0213	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	4444	2042	2000				
				4444	4444	4444	4444	4444	1020	0010				
			1 min	4444	4444	4444	4444	3324	3011	0000	0000	ND		
				4444	4444	4444	4444	3333	2102	0000				
				4444	4444	4444	4444	2334	3022	0000				
Formaldéhyde	0,7	NA	30 min	4444	4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	4444	0110	1000	0000	0000	0000				
				4444	4444	3002	2000	0000	0000	0000				
			60 min	4444	1000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND		
				4444	0200	0000	0000	0000	0000	0000				
				4444	2001	0000	0000	0000	0000	0000				
Contrôle cytotoxicité du Formaldéhyde	0,7	0,3 g/L	NA	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	ND			
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				
				0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000				

NA: NON APPLICABLE ; ND : CELA N'A PAS ÉTÉ FAIT ; 1 à 4, virus présent et degré d'effet cytopathique sur 12 unités de culture cellulaire, ou degré de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité ; 0 = virus non présent, ou absence de lésion cellulaire faisant preuve de cytotoxicité

Validation des résultats de l'essai sous des conditions propres

Norovirus murin

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-7,15}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,53}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-6,62}$

Virus vaccina

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes) : $\log 10^{-6,14}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,54}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-5,60}$

Adenovirus type 5

Titration de la suspension virale pour le virus contrôle (60 secondes): $\log 10^{-6,22}$

Niveau de cytotoxicité: $\log 10^{-0,56}$

Maximum détectable d'inactivation virale: $\log 10^{-5,66}$

Preuve de référence (formaldéhyde 1,4 %)

Niveau de cytotoxicité du formaldéhyde à 0,7 %: $\log 10^{-0,5}$

Quantification virale dans la preuve de référence (formaldéhyde) après 60 minutes et avec

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-3,15}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-1,34}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-1,77}$

Intervalle de Confiance

Titration du virus avec un intervalle de confiance de 95 % (60 secondes)

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-7,14 \pm 0,42}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-6,15 \pm 0,35}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-6,74 \pm 0,33}$

Contrôle d'interférence de la susceptibilité cellulaire :

Titration de la suspension virale avec des cellules non traitées par la solution d'essai du désinfectant

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,94}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-6,16}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-6,17}$

Titration de la suspension virale avec des cellules traitées par la solution d'essai du désinfectant

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,41}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-5,41}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-5,54}$

Contrôle de l'efficacité de suppression de l'activité du produit:

Titration de la suspension virale après 30 minutes d'incubation dans un bain de glace, sans contact du virus avec le désinfectant.

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-7,15}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-5,93}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-6,16}$

Titration de la suspension virale en exposant le virus au désinfectant et incubation pendant 30 minutes dans un bain de glace.

- **Norovirus murin:** $\log 10^{-6,74}$
- **Virus vaccina:** $\log 10^{-5,71}$
- **Adenovirus type 5:** $\log 10^{-5,55}$

En guise de **conclusion**, il faut indiquer que l'eau ozonisée générée **grâce à l'équipement EOS7211-BX / WS1200X** (N° de serie: 7211BXNA1101 – Production: 2023) **respecte la norme UNE-EN-16777:2019** sous des conditions propres aux **concentrations de 100% (1,62ppm) et 90% (1,46ppm)** à un **temps de contact d'1 minute** en faisant preuve au moins d'une réduction logarithmique décimale de 4 de l'infektivité des virus suivants:

- Norovirus murin, avec une réduction de $\geq 6,62 \pm 0,34$ TCID50
- Virus vaccina, avec une réduction de $\geq 5,60 \pm 0,34$ TCID50
- Adenovirus type 5, avec une réduction de $\geq 5,66 \pm 0,33$ TCID50

Tous les contrôles et validations se trouvent dans les limites acceptées.

À Oviedo, le 16 mars 2024



inoQua Instituto
de SALUD ALIMENTARIA
Daniel Cepedal Macías
Directeur technique
inoQua | Institut de Santé Alimentaire

ESSAI ACTIVITÉ BACTÉRICIDE DANS LA ZONE MÉDICALE

Norme UNE-EN 13727:2012+A2:2015

Essai quantitatif de superficie pour l'évaluation de l'activité bactéricide dans le domaine médical (phase 2, étape 1)

Réalisation de l'essai: 26/02/2024 – 09/03/2024

Rapport analytique: 5052/24

Méthodologie

La méthode établie dans ladite norme, pour évaluer et prouver l'activité bactéricide de l'eau ozonisée dans les 4 activités du domaine médicale mentionnés, est fondée sur la détermination des microorganismes survivants à l'action de l'eau ozonisée à travers un procédé de dilution – neutralisation.

Pour ce faire, on ajoute l'échantillon d'eau ozonisée à une suspension en essai de bactéries dans une solution d'une substance interférente. Le mélange est conservé à la température et aux durées de contact spécifiées sur le tableau en fonction de l'activité dont il s'agisse.

L'eau ozonée est un liquide transparent et incolore, soluble dans l'eau dure normalisée. Les concentrations d'eau ozonée choisies pour mener l'essai étaient de 100%, 90% et 30%, et ce sont celles auxquelles nous nous référerons dans les tableaux de résultats. Cependant, il convient de noter qu'en raison des processus de dilution lors de l'incorporation de la solution contenant les virus et les substances interférentes pendant le développement expérimental, la concentration maximale du produit pouvant être testée selon la procédure standard est de 80%.

La substance interférente utilisée sous des conditions sales est une solution aqueuse d'albumine bovine et d'érythrocytes ovins dans une concentration de 3g/L et 3ml/L, respectivement. Sous des conditions propres la solution aqueuse est faite à base d'albumine bovine dans une concentration de 0,3g/L.

Les souches bactériennes qui composent la suspension ont été celles qui sont stipulées dans la norme. À savoir:

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15 442
- *Escherichia coli* K12 CECT 433
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- *Enterococcus hirae* ATCC 10 541
- *Enterococcus faecium* ATCC 700221

De plus, 2 souches bactériennes ayant un intérêt dans le domaine de la sécurité alimentaire sont incorporées:

- *Listeria monocytogenes* ATCC 35152
- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC 35664

Sur le tableau suivant sont détaillées les souches utilisées et les températures auxquelles les essais ont été réalisés en fonction de l'activité d'application et des temps de contact.

ACTIVITÉS D'APPLICATION	Traitement hygiénique des mains par friction et lavage hygiénique des mains	Traitement chirurgical des mains par frictions et lavage chirurgical des mains	Désinfection des instruments	Désinfection de surfaces
Souches bactériennes	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus hirae</i> <i>Escherichia coli</i> K12 <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus hirae</i> <i>Escherichia coli</i> K12 <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus hirae</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus hirae</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>
Température d'essai	20°C	20°C	20°C (70°C <i>Enterococcus faecium</i>)	20°C
Temps de contact	60 secondes	1 minute	15 minutes	1 minute

Écoulée la durée du contact, l'action bactéricide et/ou bactériostatique est neutralisée ou supprimée immédiatement à l'aide d'une solution neutralisante préalablement validée. Dans ce cas-là, les neutralisateurs employés ont été Lécithine (3g/l) ; Tween 80 (30ml/l) ; Tiosulfate sodique (5g/l) ; L-histidine (1 g/l) ; En tampon phosphate 0,0025N.

Parallèlement, il est déterminé de même le nombre de bactéries récupérées sur une superficie traitée avec de l'eau dure (300mg/Kg CaCo3) au lieu de l'eau ozonisée, et il est calculé par différence la réduction des décomptes viables assignés au produit.

Finalement, il est déterminé quantitativement le nombre de microorganismes survivants pouvant être récupérés suite à la suspension. Le moyen de culture utilisé pour l'ensemencement est TSA (Agar de soja Triptone) et la température d'incubation de ces derniers a été de 36°C.

Résultats et conclusion

Sur le tableau suivant sont indiqués les **résultats** de l'essai :

- **Traitement hygiénique des mains par friction et lavage hygiénique des mains** (T° 20°C – 60 secondes de contact)

Conditions sales

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai		Procédé d'essai à la concentration % (V/V)			
	Nv et Nv0		NvB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA METHODE (C)				100%	90%	30%	
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2				
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15 442	100	97	96	91	96	94	94	91	78	74			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
													N=4,2X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
													Log N = 8,63	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
													N0=4,55X10 ⁷	Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = <3,09
Staphylococcus aureus ATCC 6538	39	36	41	38	41	39	38	36	39	34			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
													N=3,3X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
													Log N = 8,50	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
													N0=3,6X10 ⁷	Log R = >5,36	Log R = >5,36	Log R = <2,99
Enterococcus hirae ATCC 10 541	103	101	98	94	98	96	98	89	75	71			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
													N=4,1X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
													Log N = 8,62	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
													N0=4,5X10 ⁷	Log R = >5,46	Log R = >5,46	Log R = <3,09
Escherichia coli K12 CECC 433	41	38	41	36	41	37	38	35	38	33			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
													N=3,1X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
													Log N = 8,52	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
													N0=3,5X10 ⁷	Log R = >5,41	Log R = >5,41	Log R = <2,99
Salmonella enterica ATCC 35664	100	95	96	91	96	91	93	91	77	73			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
													N=4,7X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
													Log N = 8,63	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
													N0=4,4X10 ⁷	Log R = >5,50	Log R = >5,50	Log R = <3,13
Listeria monocytogenes ATCC 35152	104	100	96	92	96	94	93	90	78	73			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
													N=3,2X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
													Log N = 8,51	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
													N0=3,6X10 ⁷	Log R = >5,36	Log R = >5,36	Log R = <2,99

Vc : décomptes obtenus sur plaque.

N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.

N0 : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.

Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.

Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.

NvB : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100

Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.

A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.

B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.

C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.

Log R : réduction logarithmique.

➤ **Traitement hygiénique des mains par friction et lavage hygiénique des mains** (T° 20°C – 60 secondes de contact)

Conditions propres

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai		Procédé d'essai à la concentration % (V/V)			
	Nv et Nv0		NvB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPERIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA METHODE (C)				100%	90%	30%	
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2				
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15 442	103	99	96	94	96	94	94	92	74	72			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	NV=10,1x10 ⁸		NVB=9,5x10 ⁸		A=95		B=93		C=73		10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,2X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300
	Log N = 8,63		Na = <1,4x10 ²		Log Na = <2,15		Log R = >5,46		Log R = >5,50				Log Na = >3,3x10 ⁴			
	Nv0=10,1x10 ⁷										10 ⁻⁷	44	42	N0=4,3X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
Staphylococcus aureus ATCC 6538	41	39	42	40	42	38	41	37	41	39			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	NV=4x10 ⁷		NVB=4,1x10 ⁸		A=40		B=39		C=40		10 ⁻⁶	>330	>330	N=3,3X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300
	Log N = 8,50		Na = <1,4x10 ²		Log Na = <2,15		Log R = >5,46		Log R = >5,50				Log Na = >3,3x10 ⁴			
	Nv0=4x10 ⁷										10 ⁻⁷	34	34	N0=3,4X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
Enterococcus hirae ATCC 10 541	104	102	98	93	98	93	91	86	77	72			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	NV=10,3x10 ⁷		NVB=9,55x10 ⁸		A=95,5		B=88,5		C=74,5		10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,1X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300
	Log N = 8,62		Na = <1,4x10 ²		Log Na = <2,15		Log R = >5,46		Log R = >5,50				Log Na = >3,3x10 ⁴			
	Nv0=10,3x10 ⁷										10 ⁻⁷	43	46	N0=4,45X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
Escherichia coli K12 CECT 433	38	34	39	35	39	37	42	39	40	38			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	NV=3,6x10 ⁷		NVB=3,7x10 ⁸		A=38		B=40,5		C=39		10 ⁻⁶	>330	>330	N=3,1X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300
	Log N = 8,52		Na = <1,4x10 ²		Log Na = <2,15		Log R = >5,46		Log R = >5,50				Log Na = >3,3x10 ⁴			
	Nv0=3,6x10 ⁷										10 ⁻⁷	36	36	N0=3,6X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
Salmonella enterica ATCC 35664	102	100	96	93	96	94	91	86	73	69			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	NV=10,3x10 ⁷		NVB=9,45x10 ⁸		A=95		B=88,5		C=71		10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,7X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300
	Log N = 8,63		Na = <1,4x10 ²		Log Na = <2,15		Log R = >5,46		Log R = >5,50				Log Na = >3,3x10 ⁴			
	Nv0=10,1x10 ⁷										10 ⁻⁷	44	46	N0=4,5X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
Listeria monocytogenes ATCC 35152	101	96	98	93	98	96	92	87	74	72			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	NV=9,85x10 ⁷		NVB=9,55x10 ⁸		A=97		B=89,5		C=73		10 ⁻⁶	>330	>330	N=3,2X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300
	Log N = 8,51		Na = <1,4x10 ²		Log Na = <2,15		Log R = >5,46		Log R = >5,50				Log Na = >3,3x10 ⁴			
	Nv0=9,85x10 ⁷										10 ⁻⁷	36	34	N0=3,5X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52

- Vc : décomptes obtenus sur plaque.
- N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.
- N0 : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.
- Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.
- Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.
- NvB : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100
- Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.
- A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.
- B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.
- C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.
- Log R : réduction logarithmique.

➤ **Traitement chirurgical des mains par friction et lavage chirurgical des mains** (T° 20°C – 1 minute de contact)

Conditions sales

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai		Procédé d'essai à la concentration % (V/V)				
	Nv et Nv0		NvB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA METHODE (C)				100%	90%	30%		
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2					
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15 442	103	98	96	92	96	91	93	88	74	72			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300		
	NV=10,05x10 ⁹		NVB=9,4x10 ⁴		A=93,5		B=90,5		C=73		10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,2X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	Log N = 8,63		Log Na = <2,15		Log Na = <2,15		Log Na = >4,52		Log R = <3,09		10 ⁻⁷	44	46	NO=4,5X10 ⁷	Log R = >5,46	Log R = >5,46	Log R = <3,09
Staphylococcus aureus ATCC 6538	39	37	42	38	42	38	40	37	41	39			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300		
	NV=3,8x10 ⁸		NVB=4x10 ⁴		A=40		B=38,5		C=40		10 ⁻⁶	>330	>330	N=3,3X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	Log N = 8,50		Log Na = <2,15		Log Na = <2,15		Log Na = >4,52		Log R = <2,99		10 ⁻⁷	35	34	NO=3,45X10 ⁷	Log R = >5,36	Log R = >5,36	Log R = <2,99
Enterococcus hirae ATCC 10 541	100	96	99	94	99	94	91	89	76	71			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300		
	NV=9,8x10 ⁸		NVB=9,65x10 ⁴		A=96,5		B=90		C=73,5		10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,1X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	Log N = 8,62		Log Na = <2,15		Log Na = <2,15		Log Na = >4,52		Log R = <2,99		10 ⁻⁷	42	46	NO=4,4X10 ⁷	Log R = >5,46	Log R = >5,46	Log R = <3,09
Escherichia coli K12 CECT 433	41	36	41	39	41	39	38	36	42	39			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300		
	NV=3,85x10 ⁸		NVB=4x10 ⁴		A=40		B=37		C=40,5		10 ⁻⁶	>330	>330	N=3,1X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	Log N = 8,52		Log Na = <2,15		Log Na = <2,15		Log Na = >4,52		Log R = <2,99		10 ⁻⁷	35	34	NO=3,45X10 ⁷	Log R = >5,41	Log R = >5,41	Log R = <2,99
Salmonella enterica ATCC 35664	103	99	99	96	99	96	92	88	77	73			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300		
	NV=10,1x10 ⁸		NVB=9,75x10 ⁴		A=97,5		B=90		C=75		10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,7X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	Log N = 8,63		Log Na = <2,15		Log Na = <2,15		Log Na = >4,52		Log R = <3,13		10 ⁻⁷	43	44	NO=4,35X10 ⁷	Log R = >5,50	Log R = >5,50	Log R = <3,13
Listeria monocytogenes ATCC 35152	102	99	96	91	96	93	92	87	74	71			10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300		
	NV=10,05x10 ⁸		NVB=9,35x10 ⁴		A=94,5		B=89,5		C=72,5		10 ⁻⁶	>330	>330	N=3,2X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	Log N = 8,51		Log Na = <2,15		Log Na = <2,15		Log Na = >4,52		Log R = <2,99		10 ⁻⁷	36	37	NO=3,65X10 ⁷	Log R = >5,36	Log R = >5,36	Log R = <2,99

- Vc : décomptes obtenus sur plaque.
 N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.
 NO : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.
 Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.
 Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.
 NvB : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100
 Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.
 A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.
 B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.
 C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.
 Log R : réduction logarithmique.

➤ **Traitement chirurgical des mains par friction et lavage chirurgical des mains** (T° 20°C – 1 minute de contact)

Conditions propres

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai		Procédé d'essai à la concentration % (V/V)					
	Nv et Nv0		NvB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA METHODE (C)				100%	90%	30%			
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2						
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15 442	101	97	98	95	98	93	93	89	75	71	10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,2X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														Log N = 8,63	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴	
															NO=4,55X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
															Log NO = 7,62	Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = < 3,09
Staphylococcus aureus ATCC 6538	39	36	42	38	42	37	39	35	38	34	10 ⁻⁶	>330	>330	N=3,3X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														Log N = 8,50	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴	
															NO=3,6X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
															Log NO = 7,53	Log R = >5,36	Log R = >5,36	Log R = < 2,99
Enterococcus hirae ATCC 10 541	102	100	96	94	96	92	92	90	75	72	10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,1X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														Log N = 8,62	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴	
															NO=4,45X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
															Log NO = 7,61	Log R = >5,46	Log R = >5,46	Log R = < 3,09
Escherichia coli K12 CECT 433	42	37	39	35	39	37	40	35	40	36	10 ⁻⁶	>330	>330	N=3,1X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														Log N = 8,52	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴	
															NO=3,6X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
															Log NO = 7,52	Log R = >5,41	Log R = >5,41	Log R = < 2,99
Salmonella enterica ATCC 35664	100	96	96	92	96	94	93	89	78	76	10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,7X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														Log N = 8,63	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴	
															NO=4,25X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
															Log NO = 7,66	Log R = >5,50	Log R = >5,50	Log R = < 3,13
Listeria monocytogenes ATCC 35152	102	98	99	94	99	95	93	89	78	75	10 ⁻⁶	>330	>330	N=3,2X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														Log N = 8,51	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴	
															NO=3,5X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
															Log NO = 7,51	Log R = >5,36	Log R = >5,36	Log R = < 2,99

Vc : décomptes obtenus sur plaque.

N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.

NO : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.

Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.

Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.

NvB : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100

Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.

A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.

B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.

C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.

Log R : réduction logarithmique.

➤ **Désinfection des instruments** (T° 20°C – 15 minutes de contact)

Conditions sales

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai		Procédé d'essai à la concentration % (V/V)				
	Nv et Nv0		NvB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA MÉTHODE (C)				100%	90%	30%		
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15 442	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	10 ⁻⁶	>330	>330	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300	
	103	98	99	95	99	97	94	92	78	74				N=4,2X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	NV=10,05x10 ⁹		NVB=9,7x10 ⁴		A=98		B=93		C=76		10 ⁻⁷	44	43	Log N = 8,63	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = <4,52
	Nv0=10,05x10 ⁹													Log N0 = 7,62	Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = <3,09
Staphylococcus aureus ATCC 6538	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	10 ⁻⁶	>330	>330	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300	
	40	35	38	35	38	33	41	36	38	35				N=3,3X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	NV=3,75x10 ⁹		NVB=3,65x10 ⁴		A=35,5		B=38,5		C=36,5		10 ⁻⁷	34	35	Log N = 8,50	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
	Nv0=3,75x10 ⁹													Log N0 = 7,53	Log R = >5,36	Log R = >5,36	Log R = <2,99
Enterococcus hirae ATCC 10 541	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	10 ⁻⁶	>330	>330	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300	
	101	97	98	95	98	96	91	88	77	73				N=4,1X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	NV=9,9x10 ⁹		NVB=9,65x10 ⁴		A=97		B=89,5		C=75		10 ⁻⁷	42	42	Log N = 8,62	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
	Nv0=9,9x10 ⁹													Log N0 = 7,61	Log R = >5,46	Log R = >5,46	Log R = <3,09
Salmonella enterica ATCC 35664	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	10 ⁻⁶	>330	>330	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300	
	102	97	97	93	97	95	91	89	78	73				N=4,7X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	NV=9,95x10 ⁹		NVB=9,5x10 ⁴		A=96		B=90		C=75,5		10 ⁻⁷	43	46	Log N = 8,63	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
	Nv0=9,95x10 ⁹													Log N0 = 7,66	Log R = >5,50	Log R = >5,50	Log R = <3,13
Listeria monocytogenes ATCC 35152	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	10 ⁻⁶	>330	>330	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300	
	102	100	98	96	98	96	91	89	76	72				N=3,2X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	NV=10,1x10 ⁹		NVB=9,7x10 ⁴		A=97		B=90		C=74		10 ⁻⁷	37	37	Log N = 8,51	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
	Nv0=10,1x10 ⁹													Log N0 = 7,51	Log R = >5,36	Log R = >5,36	Log R = <2,99
Enterococcus faecium ATCC 700221	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	10 ⁻⁶	>330	>330	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300	
	101	97	99	95	99	95	92	88	76	71				N=4,2X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	NV=9,9x10 ⁹		NVB=9,7x10 ⁴		A=97		B=90		C=73,5		10 ⁻⁷	42	45	Log N = 8,63	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,54
	Nv0=9,9x10 ⁹													Log N0 = 7,62	Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = <3,08

Vc : décomptes obtenus sur plaque.

N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.

NO : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.

Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.

Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.

NvB : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100

Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.

A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.

B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.

C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.

Log R : réduction logarithmique.

➤ **Désinfection des instruments** (T° 20°C – 15 minutes de contact)

Conditions propres

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai		Procédé d'essai à la concentration % (V/V)				
	Nv et Nv0		Nvb		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA MÉTHODE (C)				100%	90%	30%		
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2					
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15 442	102	97	96	91	96	94	91	86	75	73				10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														N=4,2X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁶
														Log N = 8,63	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														NV=9,95x10 ³	NVB=9,35x10 ⁴	A=95	B=88,5
Staphylococcus aureus ATCC 6538	41	38	39	34	39	34	42	39	41	38				10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														N=3,3X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁶
														Log N = 8,50	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														NV=3,95x10 ³	NVB=3,65x10 ⁴	A=36,5	B=40,5
Enterococcus hirae ATCC 10 541	104	101	96	91	96	94	92	90	74	69				10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														N=4,1X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁶
														Log N = 8,62	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														NV=10,25x10 ³	NVB=9,35x10 ⁴	A=95	B=91
Salmonella enterica ATCC 35664	101	98	96	92	96	93	91	86	77	72				10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														N=4,7X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁶
														Log N = 8,63	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														NV=9,95x10 ³	NVB=9,4x10 ⁴	A=94,5	B=88,5
Listeria monocytogenes ATCC 35152	104	100	98	94	98	96	92	89	78	76				10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														N=3,2X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁶
														Log N = 8,51	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														NV=10,2x10 ³	NVB=9,6x10 ⁴	A=97	B=90,5
Enterococcus faecium ATCC 700221	102	98	97	95	97	94	91	86	73	69				10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														N=4,2X10 ⁸	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁶
														Log N = 8,63	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														NV=10x10 ³	NVB=9,6x10 ⁴	A=95,5	B=88,5

- Vc : décomptes obtenus sur plaque.
 N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.
 NO : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.
 Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.
 Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.
 Nvb : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100
 Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.
 A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.
 B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.
 C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.
 Log R : réduction logarithmique.

- **Désinfection des instruments** (T° 70°C para E. faecium – 15 minutes de contact)

Conditions sales

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai			Procédé d'essai à la concentration %(V/V)			
	Nv et Nv0		NVB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPERIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA METHODE (C)					100%	90%	30%	
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2				
Enterococcus faecium ATCC 700221	101	97	99	95	99	95	92	88	76	71	10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,2X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300
														Log N = 8,63	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
														N0=4,35X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,54
														Log N0 = 7,62	Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = <3,08

- **Désinfection des instruments** (T° 70°C para E. faecium – 15 minutes de contact)

Conditions propres

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai			Procédé d'essai à la concentration %(V/V)			
	Nv et Nv0		NVB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPERIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA METHODE (C)					100%	90%	30%	
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2				
Enterococcus faecium ATCC 700221	102	98	97	95	97	94	91	86	73	69	10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,2X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300
														Log N = 8,63	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
														N0=4,3X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														Log N0 = 7,62	Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = <3,09

Vc : décomptes obtenus sur plaque.

N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.

N0 : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.

Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.

Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.

NvB : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100

Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.

A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.

B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.

C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.

Log R : réduction logarithmique.

➤ **Désinfection de superficies** (T° 20°C – 1 minute de contact)

Conditions sales

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai		Procédé d'essai à la concentration % (V/V)				
	Nv et Nv0		NvB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPERIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA METHODE (C)				100%	90%	30%		
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15 442	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2	10 ⁰ : 0 ; 0	10 ⁰ : 0 ; 0	10 ⁰ : >300 ; >300	
	100	98	97	95	97	93	93	90	77	74		>330	>330	N=4,2X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0 ; 0	10 ⁻¹ : >300 ; >300	
	NV=9,9x10 ³		NVB=9,6x10 ⁴		A=95		B=91,5		C=75,5					Log N = 8,63	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	Nv0=9,9x10 ³											10 ⁻⁷	46	46	N0=4,6X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15
Staphylococcus aureus ATCC 6538	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2	10 ⁰ : 0 ; 0	10 ⁰ : 0 ; 0	10 ⁰ : >300 ; >300	
	41	36	41	38	41	37	39	35	40	38		>330	>330	N=3,3X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0 ; 0	10 ⁻¹ : >300 ; >300	
	NV=3,85x10 ³		NVB=3,95x10 ⁴		A=39		B=37		C=39					Log N = 8,50	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	Nv0=3,85x10 ³											10 ⁻⁷	35	35	N0=3,5X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15
Enterococcus hirae ATCC 10 541	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2	10 ⁰ : 0 ; 0	10 ⁰ : 0 ; 0	10 ⁰ : >300 ; >300	
	104	102	96	92	96	93	93	91	77	72		>330	>330	N=4,1X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0 ; 0	10 ⁻¹ : >300 ; >300	
	NV=10,3x10 ³		NVB=9,4x10 ⁴		A=94,5		B=92		C=74,5					Log N = 8,62	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	Nv0=10,3x10 ³											10 ⁻⁷	45	44	N0=4,45X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15
Salmonella enterica ATCC 35664	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2	10 ⁰ : 0 ; 0	10 ⁰ : 0 ; 0	10 ⁰ : >300 ; >300	
	104	100	98	94	98	93	91	87	73	68		>330	>330	N=4,7X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0 ; 0	10 ⁻¹ : >300 ; >300	
	NV=10,2x10 ³		NVB=9,6x10 ⁴		A=95,5		B=89		C=70,5					Log N = 8,63	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	Nv0=10,2x10 ³											10 ⁻⁷	45	45	N0=4,5X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15
Listeria monocytogenes ATCC 35152	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2	10 ⁰ : 0 ; 0	10 ⁰ : 0 ; 0	10 ⁰ : >300 ; >300	
	100	96	96	94	96	92	93	89	76	72		>330	>330	N=3,2X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0 ; 0	10 ⁻¹ : >300 ; >300	
	NV=9,8x10 ³		NVB=9,5x10 ⁴		A=94		B=91		C=74					Log N = 8,51	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	Nv0=9,8x10 ³											10 ⁻⁷	35	36	N0=3,55X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15

Vc : décomptes obtenus sur plaque.

N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.

N0 : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.

Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.

Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.

NvB : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100

Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.

A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.

B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.

C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.

Log R : réduction logarithmique.

En guise de **conclusion** il faut indiquer que l'**eau ozonisée utilisée dans l'essai, générée sur place avec l'équipement EOS7211-BX / WS1200X** (N° de serie: 7211BXNA1101 – Production: 2023), **respecte la Norme UNE-EN 13727:2012+A2:2015, sous des conditions propres et sales, pour les concentrations 100% (1,62ppm) y 90% (1,46ppm)** face aux souches de référence *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15 442, *Escherichia coli* K12 CECT 433, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterococcus hirae* ATCC 10541, *Enterococcus faecium* ATCC 700221, *Listeria monocytogenes* CECT 935 et *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC 35664, **en faisant preuve au moins d'une réduction logarithmique de 5 log** dans les activités suivantes applicables dans le domaine médical :

- **Traitement hygiénique des mains par friction et lavage hygiénique des mains** (T 20°C – 60 secondes de contact)
- **Traitement chirurgical des mains par friction et lavage chirurgical des mains** (T 20°C – 1 minute de contact)
- **Désinfection des instruments** (T 20°C (70°C pour *Enterococcus faecium*) - 15 minutes de contact)
- **Désinfection des surfaces** (T° 20°C – 1 minute de contact)

À Oviedo, le 16 Mars 2024



Daniel Cepedal Macías
Directeur technique
inoQua | Institut de Santé Alimentaire

ESSAI ACTIVITÉ FONGICIDE/LEVURICIDE DANS LA ZONE MÉDICALE

Norme UNE-EN 13624:2014

Essai quantitatif de superficie pour l'évaluation de l'activité fongicide ou levuricide en médecine (phase 2, étape 1)

Réalisation de l'essai: 26/02/2024 – 09/03/2024

Rapport analytique: 5052/24

Méthodologie

La méthode établie dans ladite norme, pour évaluer et prouver l'activité fongicide/levuricide de l'eau ozonisée dans les 4 activités du domaine médical mentionnées, est fondée sur la détermination des microorganismes survivants à l'action de l'eau ozonisée à travers un procédé de dilution – neutralisation.

Pour ce faire, on ajoute l'échantillon d'eau ozonisée à une suspension d'essai de champignons (cellules de levure et spores de mois) dans une solution d'une substance interférente. Le mélange est conservé à la température et aux durées de contact spécifiées sur le tableau 1 en fonction de l'activité dont il s'agisse.

L'eau ozonée est un liquide transparent et incolore, soluble dans l'eau dure normalisée. Les concentrations d'eau ozonée choisies pour mener l'essai étaient de 100%, 90% et 30%, et ce sont celles auxquelles nous nous référerons dans les tableaux de résultats. Cependant, il convient de noter qu'en raison des processus de dilution lors de l'incorporation de la solution contenant les virus et les substances interférentes pendant le développement expérimental, la concentration maximale du produit pouvant être testée selon la procédure standard est de 80%.

La substance interférente utilisée sous des conditions sales est une solution aqueuse d'albumine bovine et d'érythrocytes ovins dans une concentration de 3g/L et 3ml/L, respectivement. Sous des conditions propres la solution aqueuse est faite à base d'albumine bovine dans une concentration de 0,3g/L.

Les souches fongiques utilisées ont été:

- *Candida albicans* ATCC 10 231
- *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404

Sur le tableau suivant sont détaillées les souches utilisées et les températures auxquelles les essais ont été réalisés en fonction de l'activité d'application et des temps de contact.

ACTIVITÉS D'APPLICATION	Traitement hygiénique des mains par friction et lavage hygiénique des mains	Traitement chirurgical des mains par frictions et lavage chirurgical des mains	Désinfection des instruments	Désinfection de surfaces
Souches fongiques	<i>Candida albicans</i> (cellules végétatives)	<i>Candida albicans</i> (cellules végétatives)	<i>Candida albicans</i> (cellules végétatives) <i>Aspergillus brasiliensis</i> (conidiospores)	<i>Candida albicans</i> (cellules végétatives) <i>Aspergillus brasiliensis</i> (conidiospores)
Température d'essai	20°C	20°C	20°C	20°C
Temps de contact	60 secondes	1 minute	15 minutes	1 minute

Écoulée la durée du contact, l'action fongicide et/ou fongistatique est neutralisée ou supprimée immédiatement à l'aide d'une solution neutralisante préalablement validée. Dans ce cas-là, les neutralisateurs employés ont été Lécithine (3g/l) ; Tween 80 (30ml/l) ; Tiosulfate sodique (5g/l) ; L-histidine (1 g/l) ; En tampon phosphate 0,0025N.

Parallèlement, il est déterminé de même le nombre de champignons sur une superficie traitée avec de l'eau dure (300mg/Kg CaCo3) au lieu de l'eau ozonisée, et il est calculé par différence la réduction des décomptes viables assignée au produit.

Finalement, il est déterminé quantitativement le nombre de microorganismes survivants pouvant être récupérés suite à la suspension. Le moyen de culture utilisé pour l'ensemencement est MEA (Agar extrait de malte) et la température d'incubation de ces derniers a été de 30°C.

Résultats et conclusion

Sur le tableau suivant sont indiqués les **résultats** de l'essai:

- **Traitement hygiénique des mains par friction et lavage hygiénique des mains** (T° 20°C – 60 secondes de contact)

Conditions sales

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai			Procédé d'essai à la concentration % (V/V)			
	Nv et Nv0		NvB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA MÉTHODE (C)					100%	90%	30%	
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2				
Candida albicans ATCC 10 231	101	98	96	94	96	92	91	86	73	69	10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,2X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300
	NV=9,95x10 ³		NVB=9,5x10 ⁴		A=94		B=88,5		C=71						Log N = 8,64	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,5x10 ²
	NV0=9,95x10 ²										10 ⁻⁷	43	46	NO=4,45X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														Log NO = 7,62	Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = <3,08
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	41	36	41	38	41	36	38	35	42	37	10 ⁻⁶	>330	>330	N=3,3X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300
	NV=3,85x10 ²		NVB=3,95x10 ⁴		A=38,5		B=36,5		C=39,5						Log N = 8,51	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²
	NV0=3,85x10										10 ⁻⁷	35	34	NO=3,45X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														Log NO = 7,53	Log R = >5,37	Log R = >5,34	Log R = <2,98

Conditions propres

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai			Procédé d'essai à la concentration % (V/V)			
	Nv et Nv0		NvB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA MÉTHODE (C)					100%	90%	30%	
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2				
Candida albicans ATCC 10 231	101	96	97	92	97	95	94	89	73	70	10 ⁻⁶	>330	>330	N=4,2X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300
	NV=9,85x10 ³		NVB=9,45x10 ⁴		A=96		B=91,5		C=71,5						Log N = 8,64	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,5x10 ²
	NV0=9,85x10 ²										10 ⁻⁷	45	46	NO=4,55X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														Log NO = 7,62	Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = <3,08
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	38	36	41	38	41	37	42	40	42	40	10 ⁻⁶	>330	>330	N=3,3X10 ⁸	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ : >300; >300
	NV=3,7x10 ²		NVB=3,95x10 ⁴		A=39		B=41		C=41						Log N = 8,51	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²
	NV0=3,7x10										10 ⁻⁷	34	34	NO=3,4X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														Log NO = 7,53	Log R = >5,37	Log R = >5,34	Log R = <2,98

Vc : décomptes obtenus sur plaque.

N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.

NO : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.

Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.

Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.

NvB : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100

Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.

A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.

B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.

C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.

Log R : réduction logarithmique.

➤ **Traitement chirurgical des mains par friction et lavage chirurgical des mains** (T° 20°C – 1 minute de contact)

Conditions sales

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai		Procédé d'essai à la concentration % (V/V)					
	Nv et Nv0		Nvb		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA MÉTHODE (C)				100%	90%	30%			
Candida albicans ATCC 10 231	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	103	99	99	95	99	97	91	89	74	72		>330	>330		N=4,2X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300	
	NV=10,1x10 ⁹		NVB=9,7x10 ⁴		A=98		B=90		C=73						Log N = 8,64	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,5x10 ²	Na = >3,7x10 ⁴
	NV0=10,1x10 ⁹											10 ⁻⁷	44	42	Log N0 = 7,62	Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = < 3,08
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	38	36	38	35	38	36	42	37	41	36		>330	>330		N=3,3X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300	
	NV=3,7x10 ⁹		NVB=3,65x10 ⁴		A=37		B=39,5		C=38,5						Log N = 8,51	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	NV0=3,7x10											10 ⁻⁷	35	36	Log N0 = 7,53	Log R = >5,37	Log R = >5,34	Log R = < 2,98

Conditions propres

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai		Procédé d'essai à la concentration % (V/V)					
	Nv et Nv0		Nvb		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA MÉTHODE (C)				100%	90%	30%			
Candida albicans ATCC 10 231	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	104	99	97	93	97	95	94	90	77	72		>330	>330		N=4,2X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300	
	NV=10,15x10 ⁹		NVB=9,5x10 ⁴		A=96		B=92		C=74,5						Log N = 8,64	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,5x10 ²	Na = >3,7x10 ⁴
	NV0=10,15x10 ⁹											10 ⁻⁷	44	46	Log N0 = 7,62	Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = < 3,08
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2		Vc1	Vc2		10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	40	37	40	36	40	35	40	35	38	34		>330	>330		N=3,3X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300	
	NV=3,85x10 ⁹		NVB=3,8x10 ⁴		A=37,5		B=37,5		C=36						Log N = 8,51	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
	NV0=3,85x10											10 ⁻⁷	37	36	Log N0 = 7,53	Log R = >5,37	Log R = >5,34	Log R = < 2,98

Vc : décomptes obtenus sur plaque.

N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.

NO : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.

Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.

Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.

Nvb : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100

Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.

A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.

B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.

C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.

Log R : réduction logarithmique.

➤ **Désinfection des instruments** (T° 20°C – 15 minutes de contact)

Conditions sales

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai			Procédé d'essai à la concentration % (V/V)			
	Nv et Nv0		Nvb		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA MÉTHODE (C)					100%	90%	30%	
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2					
Candida albicans ATCC 10 231	102	100	97	95	97	93	91	88	73	69				10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														N=4,2X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300
														Log N = 8,64	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,5x10 ²	Na = >3,7x10 ⁴
														N0=4,5X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404														10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														N=3,3X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300
														Log N = 8,51	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
														N0=3,65X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														Log N0 = 7,53	Log R = >5,37	Log R = >5,34	Log R = <2,98

Conditions propres

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai			Procédé d'essai à la concentration % (V/V)			
	Nv et Nv0		Nvb		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA MÉTHODE (C)					100%	90%	30%	
	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2					
Candida albicans ATCC 10 231	101	98	99	97	99	95	92	88	78	76				10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														N=4,2X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300
														Log N = 8,64	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,5x10 ²	Na = >3,7x10 ⁴
														N0=4,3X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404														10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
														N=3,3X10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300
														Log N = 8,51	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = >3,3x10 ⁴
														N0=3,5X10 ⁷	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
														Log N0 = 7,53	Log R = >5,37	Log R = >5,34	Log R = <2,98

Vc : décomptes obtenus sur plaque.

N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.

N0 : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.

Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.

Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.

Nvb : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100

Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.

A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.

B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.

C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.

Log R : réduction logarithmique.

➤ **Désinfection de superficies** (T° 20°C – 1 minute de contact)

Conditions sales

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai		Procédé d'essai à la concentration % (V/V)				
	Nv et Nv0		NvB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA MÉTHODE (C)				100%	90%	30%		
Candida albicans ATCC 10 231	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	10 ⁻⁶	Vc1	Vc2	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	104	102	99	95	99	96	92	89	75	70		>330	>330	N=4,2X10 ⁸ Log N = 8,64	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300
	NV=10,3x10 ³		NVB=9,7x10 ⁴		A=97,5		B=90,5		C=72,5		10 ⁻⁷	43	42	NO=4,25X10 ⁷ Log NO = 7,62	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >3,7x10 ⁴
	NV0=10,3x10 ²														Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = < 3,08
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	10 ⁻⁶	Vc1	Vc2	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	38	33	42	37	42	40	40	37	42	40		>330	>330	N=3,3X10 ⁸ Log N = 8,51	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300
	NV=3,55x10 ³		NVB=3,95x10 ⁴		A=41		B=38,5		C=41		10 ⁻⁷	36	37	NO=3,65X10 ⁷ Log NO = 7,53	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
	NV0=3,55x10 ²														Log R = >5,37	Log R = >5,34	Log R = < 2,98

Conditions propres

Organisme de l'essai	Suspension de validation				Essai de validation						Suspension de l'essai		Procédé d'essai à la concentration % (V/V)				
	Nv et Nv0		NvB		CONTRÔLE DES CONDITIONS EXPÉRIMENTALES (A)		CONTRÔLE DU NEUTRALISATEUR (B)		VALIDATION DE LA MÉTHODE (C)				100%	90%	30%		
Candida albicans ATCC 10 231	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	10 ⁻⁶	Vc1	Vc2	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	101	97	99	95	99	96	94	91	78	73		>330	>330	N=4,2X10 ⁸ Log N = 8,64	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300
	NV=9,9x10 ³		NVB=9,7x10 ⁴		A=97,5		B=92,5		C=75,5		10 ⁻⁷	44	42	NO=4,3X10 ⁷ Log NO = 7,62	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
	NV0=9,9x10 ²														Log R = >5,46	Log R = >5,50	Log R = < 3,08
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	Vc1	Vc2	10 ⁻⁶	Vc1	Vc2	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :0; 0	10 ⁰ :>300; >300	
	42	39	40	36	40	38	39	36	41	36		>330	>330	N=3,3X10 ⁸ Log N = 8,51	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : >300; >300
	NV=4,05x10 ³		NVB=3,8x10 ⁴		A=39		B=37,5		C=38,5		10 ⁻⁷	37	35	NO=3,6X10 ⁷ Log NO = 7,53	Log Na = <2,15	Log Na = <2,15	Log Na = >4,52
	NV0=4,05x10 ²														Log R = >5,37	Log R = >5,34	Log R = < 2,98

Vc : décomptes obtenus sur plaque.

N : nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai.

NO : nombre de cellules par ml au début du temps de contact.

Nv : nombre de cellules par ml dans la suspension de validation.

Nv0 : nombre de cellules par ml dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact.

NvB : (méthode dilution) nombre de cellules par ml suite à une dilution 1:100

Na : nombre de survivants par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact.

A : nombre de survivants dans le contrôle des conditions de l'expérience A.

B : nombre de survivants dans le contrôle de neutralisateur ou filtrage B.

C : nombre de survivants dans la validation de la méthode C.

Log R : réduction logarithmique.



En guise de **conclusion** il faut indiquer que l'**eau ozonisée utilisée dans l'essai, générée sur place avec l'équipement EOS7211-BX / WS1200X** (N° de serie: 7211BXNA1101 – Production: 2023), **respecte la Réglementation UNE-EN 13624:2014, sous des conditions propres et sales, pour les concentrations 100% (1,62ppm) et 90% (1,42ppm),** aux souches de référence *Candida albicans* ATCC 10 231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, **faisant preuve au moins d'une réduction logarithmique de 4 log** dans les activités suivantes applicables dans le domaine médical :

- **Traitement hygiénique des mains par friction et lavage hygiénique des mains** (T° 20°C – 60 secondes de contact)
- **Traitement chirurgical des mains par friction et lavage chirurgical des mains** (T° 20°C – 1 minute de contact)
- **Désinfection des instruments** (T° 20°C – 15 minutes de contact)
- **Désinfection des surfaces** (T° 20°C – 1 minutes de contact)

À Oviedo, le 16 mars 2024


inoQua Instituto
de SALUD ALIMENTARIA
Daniel Cepedal Macías
Directeur technique
inoQua | Institut de Santé Alimentaire

ESSAI ACTIVITÉ BACTÉRICIDE et FONGICIDE

Norme UNE-EN 13697:2015+A1:2020

Essai quantitatif de superficie non poreuse pour l'évaluation de l'activité bactéricide et fongicide des désinfectants chimiques utilisées dans les produits alimentaires, dans l'industrie, au foyer et dans la collectivité (phase 2, étape 2).

Réalisation de l'essai: 26/02/2024 – 09/03/2024

Rapport analytique: 5052/24

Méthodologie

La méthode stipulée dans ladite norme pour évaluer l'activité bactéricide et fongicide de l'eau ozonisée sur les surfaces est fondée sur la détermination des microorganismes survivant à l'action de cette dernière après l'avoir appliqué sur une surface contaminée préalablement.

Pour ce faire, une solution est préparée avec des bactéries et des champignons de pair avec des substances qui interfèrent et qui doit être appliquée sur une surface en acier inoxydable formant un film qui sèchera postérieurement.

Il est appliqué ensuite l'eau ozonisée qui fait l'objet d'étude dans plusieurs concentrations de sorte à recouvrir le film sec en maintenant une température spécifique et pendant une période de temps définie.

L'eau ozonée est un liquide transparent et incolore, soluble dans l'eau dure normalisée. Les concentrations d'eau ozonée choisies pour mener l'essai étaient: 100%, 95% et 30%.

L'étape suivante consiste à transférer la surface à un moyen de neutralisation préalablement validé de sorte à ce que l'action désinfectante de l'eau ozonisée soit neutralisée immédiatement.

Enfin, le nombre de micro-organismes survivants pouvant être récupérés de la surface est déterminé quantitativement.

Le moyen de culture utilisée pour l'ensemencement est TSA (Agar de soja triptone) dans le cas des souches bactériennes et MEA (Agar extrait de malte) dans le cas des souches fongiques. Les températures d'incubation ont été de 36°C et 30°C, respectivement.

Parallèlement, il est déterminé de même le nombre de bactéries et de champignons récupérés sur une superficie traitée avec de l'eau dure (300mg/Kg CaCo₃) au lieu de l'eau ozonisée, et il est calculé par différence la réduction des décomptes viables assignée au produit.

La substance interférente utilisée sous des conditions sales est une solution aqueuse d'albumine bovine et d'érythrocytes ovins dans une concentration de 3g/L et 3ml/L, respectivement. Sous des conditions propres la solution aqueuse est faite à base d'albumine bovine dans une concentration de 0,3g/L.

Les neutralisateurs employés ont été la Lécithine (3g/l) ; Tween 80 (30ml/l) ; Tiosulfate sodique (5g/l); L-histidine (1 g/l) ; En tampon phosphate 0,0025N.

Les souches bactériennes et fongiques qui composent la suspension ont été celles qui sont stipulées dans la norme:

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15 442
- *Escherichia coli* ATCC 10 536
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6 538
- *Enterococcus hirae* ATCC 10 541
- *Candida albicans* ATCC 10 231
- *Aspergillus niger* ATCC 16 404

De plus, 2 souches bactériennes ayant un intérêt dans le domaine de la sécurité alimentaire sont incorporés:

- *Listeria monocytogenes* CECT 935
- *Salmonella enterica subsp. enterica* ATCC 35664

L'essai a été réalisé à une température comprise entre 20°C ± 1°C.

Les temps de contact dans le cas des souches bactériennes ont été de 5 minutes ± 10 secondes et les températures d'incubation 37°C ± 1°C.

Dans le cas des souches fongiques, les temps de contact ont été de 15 minutes ± 10 secondes et les températures d'incubation de 30°C ± 1°C.

Résultats et conclusion

Sur le tableau suivant sont indiqués les **résultats** de l'essai:

Conditions sales

Microorganisme	Suspension bactérienne	Essai validation		Contrôle eau Nc	Procédé d'essai à la concentration %		
		NT	NC		100,00	90,00	30,00
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15 442	(10-6) 227,225	(10-3) 105,108	(10-3) 121,117	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 24,24	(10-4) 11,7	(10-4) 12,15	10-4 135, 122	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 135, 122
	N:6,75	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 13, 13	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 13, 13
		NT:6,03	NT:6,08	Nc: 7,11 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,01	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,01	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5
Escherichia coli ATCC 10 536	(10-6) 209,210	(10-3) 104,104	(10-3) 105,102	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 21,17	(10-4) 9,13	(10-4) 10,13	10-4 152, 157	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 163, 162
	N:6,72	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 15,14	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 15, 14
		NT:6,02	NT:6,01	Nc: 7,19 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,09	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,09	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5
Staphylococcus aureus ATCC 6 538	(10-6) 262,265	(10-3) 124,126	(10-3) 119,122	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 23,26	(10-4) 12,13	(10-4) 12,13	10-4 163, 162	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 148, 145
	N:6,82	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 15, 14	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 13, 13
		NT:6,1	NT:6,08	Nc: 7,21 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,11	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,11	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5
Enterococcus hirae ATCC 10 541	(10-6) 251,251	(10-3) 107,110	(10-3) 116,118	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 23,19	(10-4) 12,13	(10-4) 9,13	10-4 148, 145	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 135, 122
	N:6,79	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 13, 13	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 13, 13
		NT:6,04	NT:6,07	Nc: 7,16 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,06	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,06	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5
Microorganisme	Suspension bactérienne	Essai validation		Contrôle eau Nc	Procédé d'essai à la concentration %		
		NT	NC		100,00	90,00	30,00
Listeria monocytogenes CECT 935	(10-6) 218,214	(10-3) 98,100	(10-3) 100,97	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 22,19	(10-4) 13,10	(10-4) 11,10	10-4 136, 124	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 133, 124
	N:6,73	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 13, 13	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 13, 12
		NT:6	NT:5,99	Nc: 7,11 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,01	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,01	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5
Salmonella enterica ATCC 35664	(10-6) 217,213	(10-3) 117,116	(10-3) 98,98	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 24,26	(10-4) 10,7	(10-4) 9,9	10-4 153, 154	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 160, 161
	N:6,74	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 15,14	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 15, 14
		NT:6,07	NT:5,99	Nc: 7,19 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,09	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,09	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5

Conditions propres

Microorganisme	Suspension bactérienne	Essai validation		Contrôle eau Nc	Procédé d'essai à la concentration %		
		NT	NC		100,00	90,00	30,00
Pseudomonas aeruginosa ATCC 15 442	(10-6) 253,257	(10-3) 121,117	(10-3) 101,104	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 23,21	(10-4) 9,5	(10-4) 13,9	10-4 135, 120	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 135, 122
	N:6,8	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 13, 12	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 13, 13
		NT:6,08	NT:6,01	Nc: 7,11 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,01	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,01	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5
Escherichia coli ATCC 10 536	(10-6) 239,237	(10-3) 113,109	(10-3) 120,116	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 20,18	(10-4) 9,9	(10-4) 12,13	10-4 152, 157	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 163, 162
	N:6,77	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 15,14	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 15, 14
		NT:6,05	NT:6,07	Nc: 7,19 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,09	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,09	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5
Staphylococcus aureus ATCC 6 538	(10-6) 217,219	(10-3) 107,103	(10-3) 121,124	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 20,17	(10-4) 12,12	(10-4) 11,13	10-4 163, 162	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 148, 145
	N:6,73	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 15, 14	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 13, 13
		NT:6,02	NT:6,09	Nc: 7,21 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,11	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,11	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5
Enterococcus hirae ATCC 10 541	(10-6) 223,227	(10-3) 112,110	(10-3) 117,119	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 20,23	(10-4) 12,12	(10-4) 13,17	10-4 144, 145	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 135, 122
	N:6,75	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 13, 13	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 13, 13
		NT:6,05	NT:6,07	Nc: 7,16 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,06	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,06	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5

Microorganisme	Suspension bactérienne	Essai validation		Contrôle eau Nc	Procédé d'essai à la concentration %		
		NT	NC		100,00	90,00	30,00
Listeria monocytogenes CECT 935	(10-6) 266,269	(10-3) 112,112	(10-3) 119,119	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 24,26	(10-4) 9,10	(10-4) 12,10	10-4 136, 124	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 133, 124
	N:6,82	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 13, 13	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 13, 12
		NT:6,05	NT:6,08	Nc: 7,11 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,01	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,01	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5
Salmonella enterica ATCC 35664	(10-6) 249,251	(10-3) 104,104	(10-3) 105,106	10-3 >300, >300	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-7) 25,21	(10-4) 9,10	(10-4) 13,14	10-4 153, 154	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 160, 161
	N:6,79	10-5 0, 0	10-5 0, 0	10-5 15,14	10-2 0, 0	10-2 0, 0	10-5 15, 14
		NT:6,02	NT:6,02	Nc: 7,19 Nts: >100	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,09	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,09	Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5

N : logarithme décimal du n° d'ufc par 0.05 ml de la suspension d'essai.
 NT logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai de l'essai de neutralisation.
 NC : logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai du contrôle de neutralisation.
 Nc : logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai pour le contrôle de l'eau.
 Nd : logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai pour l'essai du désinfectant.
 R : effet microbicide.

Conditions sales

Microorganisme	Suspension fongique	Essai validation		Contrôle eau Nc	Procédé d'essai à la concentration %		
		NT	NC		100	90	30
Candida albicans ATCC 10 231	(10-5) 210,214	(10-3) 119,115	(10-3) 124,128	10-3 88,87	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-6) 24,23	(10-4) 10,9	(10-4) 13,11	10-4 7, 6	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 135, 133
	N:5,81	NT:5,99	NT: 5,86	10-5 0, 0 Nc: 5,93 Nts: >100	10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83	10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83	10-5 13, 13 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5
Aspergillus niger ATCC 16 404	(10-5) 210,214	(10-3) 119,115	(10-3) 124,128	10-3 86, 84	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-6) 26,24	(10-4) 10,9	(10-4) 9,13	10-4 8, 8	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 163, 159
	N:5,73	NT:6,07	NT:6,1	10-5 0, 0 Nc: 5,93 Nts: >100	10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83	10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83	10-5 15, 14 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5

N : logarithme décimal du n° d'ufc par 0.05 ml de la suspension d'essai.

NT logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai de l'essai de neutralisation.

NC : logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai du contrôle de neutralisation.

Nc : logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai pour le contrôle de l'eau.

Nd : logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai pour l'essai du désinfectant.

R : effet microbicide.

Conditions propres

Microorganisme	Suspensión fungicida	Ensayo validación		Control agua Nc	Procedimiento de ensayo a la concentración %		
		NT	NC		100	90	30
Candida albicans ATCC 10 231	(10-5) 227,226	(10-3) 123,125	(10-3) 106,104	10-3 88,85	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-6) 26,28	(10-4) 11,13	(10-4) 11,11	10-4 7, 8	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 135, 129
	N:5,8	NT:6,05	NT: 5,86	10-5 0, 0 Nc: 5,93 Nts: >100	10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83	10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83	10-5 13, 13 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5
Aspergillus niger ATCC 16 404	(10-5) 227,226	(10-3) 123,125	(10-3) 106,104	10-3 83, 84	10-0 0, 0	10-0 0, 0	10-3 >300, >300
	(10-6) 25,23	(10-4) 11,13	(10-4) 9,9	10-4 8, 8	10-1 0, 0	10-1 0, 0	10-4 164, 161
	N:5,76	NT:6,09	NT:6,02	10-5 0, 0 Nc: 5,93 Nts: >100	10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83	10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83	10-5 15, 14 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: < 3,5

N : logarithme décimal du n° d'ufc par 0.05 ml de la suspension d'essai.

NT logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai de l'essai de neutralisation.

NC : logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai du contrôle de neutralisation.

Nc : logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai pour le contrôle de l'eau.

Nd : logarithme décimal du n° d'ufc par surface d'essai pour l'essai du désinfectant.

R : effet microbicide.

En guise de **conclusion**, il faut indiquer que l'eau ozonisée générée **grâce à l'équipement EOS7211-BX / WS1200X** (N° de serie: 7211BXNA1101 – Production: 2023):

- **Respecte la norme UNE-EN-13697** (bactéricide) sous des conditions sales et propres, aux concentrations de **100% (1,62ppm) et 90% (1,42ppm)** pour un **temps de contact de 5 minutes** face à : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Enterococcus hirae*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella entérica* **faisant preuve au moins d'une réduction logarithmique de 4 log.**
- **Respecte la norme UNE-EN-13697** (fongicide) sous des conditions sales et propres, aux concentrations de **100% (1,62ppm) et 90% (1,42ppm)** pour un **temps de contact de 15 minutes** face à : *Candida albicans* et *Aspergillus niger* **faisant preuve au moins d'une réduction logarithmique de 3 log.**

À Oviedo, le 16 mars 2024



Daniel Cepedal Macías
Directeur technique
inoQua | Institut de Santé Alimentaire

Notes:

- Les résultats de cette étude ne font foi que des échantillons analysés.
- La reproduction totale ou partielle du présent rapport n'est pas permise sans l'autorisation écrite préalable de son auteur.
- Les échantillons ont été analysés dans un laboratoire agréé par le Ministère régional de la Santé et Services Sanitaires de la Principauté des Asturies, comme laboratoire privé indépendant d'analyse et contrôle sanitaire d'aliments, eaux et boissons, sous le numéro de registre 05/O, à compter du mois de février 1997, certifié par l'ENAC, conformément à la réglementation UNE-EN ISO/IEC 17025, pour la réalisation d'essais dans le secteur environnemental, selon ce qui a été indiqué dans le certificat numéro 780/LE1514, depuis mars 2010 et par l'entité collaboratrice de l'Administration Hydraulique en matière de contrôle et surveillance de qualité des eaux et de gestion des déversements dans le domaine public hydraulique à l'abri de l'Ordre MAM/985/2006.
- Les normes UNE-EN 14476 et 13697 entrent dans le cadre de la certification de qualité ISO 9001:2015 détenue par la société LABORATORIOS INNOAGRAL, S.L. propriétaire du laboratoire où les échantillons ont été analysés (Référence 9899-E).