



WIP ANIOS EXCEL

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Sommaire

Engagement ANIOSAFE	Page	5
Attestation composition	Page	7
Attestation composition	Page	9
Composition	Page	11
Stabilité et conditions de conservation	Page	13
Etudes et expertises		
- Microbiologie	Page	15
- Compatibilités	Page	135
Réglementaire	Page	167

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

ANIOSAFE : Notre Engagement volontaire d'Eco-conception

Depuis plusieurs années, les Laboratoires ANIOS se sont volontairement engagés dans une Démarche d'Entreprise intégrant trois valeurs fondamentales à leur système de management :

Qualité, Sécurité, Environnement (QSE).

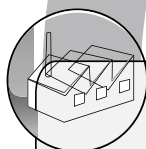
Afin de communiquer sur nos engagements, nous avons développé une charte d'entreprise ANIOSAFE qui, au-delà des obligations réglementaires, montre notre volonté de combattre le microbe en respectant l'Homme et l'Environnement.

A toutes les étapes de vie des produits ANIOS, la charte ANIOSAFE nous engage à prendre en compte l'éco-conception, soit la protection de l'environnement dans l'élaboration des produits. Au même titre, la maîtrise des effets vis-à-vis de l'Homme est incluse dans cette charte.



MATIÈRES PREMIÈRES ET FORMULATION : ECO-FORMULATION

- Eliminer les substances CMR.
- Substituer chaque fois que possible les substances allergènes et les COV*.
- Utiliser des substances d'origine végétale issues de l'oléo-chimie.
- Rechercher de nouvelles générations de principes actifs et adjuvants.



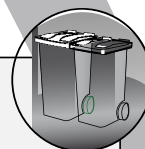
FABRICATION : UNE USINE ECO-GEREE AUX 3 CERTIFICATIONS

- Relier chaque unité de production à des stations de traitement et d'épuration.
- Optimiser la consommation des eaux de rinçage.
- Traiter les eaux de rejet en fixant un taux de pollution inférieur aux exigences nationales.
- Assurer le stockage sous rétention totale en cas de fuite ou d'écoulement de produits.



EMBALLAGES

- Privilégier les emballages recyclables.
- Supprimer les boîtiers aérosols au profit d'autres systèmes de dispensation.
- Créer des conditionnements mono-matériau favorisant le recyclage des déchets.
- Rechercher et développer de nouvelles solutions de packagings biodégradables.



UTILISATION DES PRODUITS

- Mettre à disposition des dossiers scientifiques complets reprenant l'ensemble des propriétés revendiquées des formulations.
- Proposer aux utilisateurs des formations sur site aux bonnes pratiques d'usage des produits.
- Former de manière continue nos équipes commerciales sur les produits, les connaissances techniques et scientifiques.



TRANSPORT

- Prioriser les produits sous forme concentrée permettant de réduire l'impact sur leurs transports.
- Sélectionner les transporteurs répondant à la norme EURO 4 et se préparant à la norme EURO 5 (applicable 2010).
- Utiliser des véhicules à faible émission de CO2.



'La présence de ce logo vous certifie un produit répondant à tous les critères de notre engagement.'

*Composés Organiques Volatils

ANIOSAFE : Our voluntary eco-design commitment

For several years now, **les Laboratoires ANIOS** have been committed to a voluntary business approach involving the three core values of its management system, namely

Quality, Safety and the Environment (QSE)

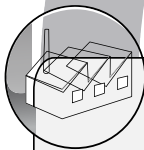
In order to give a clearer picture of our commitments, we have developed the **ANIOSAFE** company charter which, by going beyond compulsory regulations, is proof of our determination to fight microbes whilst respecting Humans and the Environment.

At every step in the life of ANIOS products, the ANIOSAFE charter obliges us to take the protection of the environment, or eco-design, into account when manufacturing our products. Likewise, the charter also covers measures to control impact on Humans.



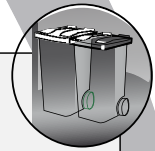
RAW MATERIALS AND FORMULATION: ECO-FORMULATION

- Eliminate CMR substances.
- Substitute wherever possible allergenic substances and (VOC)*.
- Use vegetal substances of aleochemical origin (new generation of surface tension agents).
- Look for new generations of active principles and additives.



PRODUCTION: AN ECOLOGICALLY MANAGED SITE WITH 3 CERTIFICATIONS

- Connect each production site to water treatment and purification plants.
- Optimize the consumption of rinsing water.
- Treat wastewater by fixing a pollution rate below national requirements.
- Ensure storage in a secondary containment facility in case of product leakage or discharge.



PACKAGING

- Favour recyclable packaging .
- Replace aerosols with other spray systems.
- Create single-material packaging for easier recycling.
- Research and develop new solutions for biodegradable packaging .



USE OF PRODUCTS

- Provide complete scientific documents detailing all formulation properties .
- Offer users on-site training in good practice for product usage.
- Provide on-going training for sales teams in products, as well as technical and scientific knowledge.



TRANSPORT

- Give priority to products in concentrated form so as to reduce their impact on transport.
- Select transport companies that meet the EURO 4 standard and are preparing the EURO 5 (applicable in 2010).
- Use vehicles with low CO2 emissions.



"This logo is a guarantee that the product meets
all our commitment criteria"

*Volatile Organic Compounds.

ATTESTATION / STATEMENT

Nous, soussignés Laboratoires Anios, attestons que la composition de FORMULE 2446 ou 921248 correspond qualitativement et quantitativement au produit WIP'ANIOS EXCEL.

We, undersigned Laboratoires ANIOS, hereby attest that the composition of the FORMULA 2446 or 921248 corresponds qualitatively and quantitatively with the product WIP'ANIOS EXCEL.

Fait à Sainghin-en-Mélantois,
Le 14 mars 2022.

Done in Sainghin-en-Mélantois,
March 14th, 2022.



Dr. Jean-noel Bertho
Group Leader Formulation
RD&E Healthcare Europe

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

ATTESTATION / STATEMENT



Nous soussignés Laboratoires Anios, attestons que la composition de la solution d'imprégnation du produit WIP'ANIOS EXCEL de formule 2446, est qualitativement et quantitativement, la même que la composition de la formule 2419.

We, undersigned Laboratoires Anios, attest that the composition of the impregnation solution of the product WIP'ANIOS EXCEL formula 2446, is qualitatively and quantitatively, the same as the composition of the formula 2419.

Fait à Sainghin en Mélançois
Le 19 avril 2022
*Written in Sainghin en Mélançois
On April 19th, 2022*

Dr. Jean-noel Bertho
SR RD&E
GROUP LEADER HEALTHCARE

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

WIP'ANIOS EXCEL

Composition



Principes actifs biocides de la solution d'imprégnation
Biocidal active ingredients of the impregnation solution

Chlorure de didécyldiméthylammonium (CAS 7173-51-5) : 0,3 % p/p
Didecyldimethyl ammonium chloride (CAS 7173-51-5) : 0.3 % w/w

Autres ingrédients
Other ingredients

Agents tensioactifs
Surfactants

Agent chélatant
Chelating agent

Excipient
Excipient

2446_Composition_FR-EN_29-03-2022

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

WIP'ANIOS EXCEL

Stabilité et conditions de conservation *Stability and storage conditions*

Produit prêt à l'emploi

- Stockage entre +5°C et +25°C.
- Stabilité :
 - Sachet non ouvert : 2 ans à partir de la date de production indiquée sur l'étiquette.
 - Sachet ouvert : 3 mois à la condition de bien refermer le paquet après usage, basée sur EN 16615.

Ready to use product:

- Storage between +5°C and +25°C.
- Stability:
 - Not opened pack: 2 years from the manufacturing date indicated on the label.
 - Opened pack: 3 months in condition of closing the pack after use, based on EN 16615.

Révisé le 30/05/2022
Revised on 30/05/2022

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Microbiologie

Efficacité antimicrobienne	Page	17
Certificat VAH-DGHM	Page	19
Activité bactéricide de la solution de désorption des lingettes selon la norme NF EN 13727+A2 (Décembre 2015) en conditions de saleté et 1 minute	Page	21
Activité bactéricide en 2 minutes et levuricide en 2 minutes selon la norme NF EN 16615 en conditions de saleté	Page	31
Activité tuberculocide selon la norme NF EN 14348 en conditions de saleté	Page	47
Activité levuricide de la solution de désorption des lingettes selon la norme NF EN 13624 (Novembre 2013) en conditions de saleté et 2 minutes	Page	55
Activité virucide vis-à-vis du virus SV40, virus modèle du papillomavirus, selon la norme NF EN 14476+A1 (octobre 2015) en conditions de saleté et 5 minutes	Page	63
Activité virucide vis-à-vis du Norovirus Murin MNV selon la norme NF EN 14476+A1 (octobre 2015) en conditions de saleté et 15 minutes	Page	77
Activité virucide vis-à-vis d'Adénovirus selon la norme NF EN 14476+A1 (octobre 2015) en conditions de saleté et 30 minutes	Page	91
Activité virucide vis-à-vis du virus de la Vaccine selon la norme NF EN 14476+A1 (octobre 2015) en conditions de saleté et 1 minute	Page	105
Activité virucide vis-à-vis du Rotavirus SA 11 selon la norme NF EN 14476+A1 (octobre 2015) en conditions de saleté et 30 secondes	Page	121

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

WIP'ANIOS EXCEL

Antimicrobial efficacy

Efficacy	Contact time
Bactericidal - According to: EN 13727* (1 min), EN 16615* (2 min)	2 min
Yeasticidal - According to: EN 13624* (2 min), EN 16615* (2 min)	2 min
Tuberculocidal - According to EN 14348*	60 min
effective against enveloped viruses according to EN 14476*	1 min
EN 14476* Polyomavirus SV 40	5 min
EN 14476* Rotavirus	30 sec
limited spectrum virucidal according to EN 14476*	30 min
EN 14476* Adenovirus	30 min
EN 14476* Norovirus (MNV)	15 min

*=dirty conditions

2446_Antimicrobial Efficacy_EN_06/04/2022

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Verbund für Angewandte Hygiene (VAH)
Association for Applied Hygiene

- Desinfektionsmittel-Kommission im VAH -
Disinfectant Commission in VAH

Zertifikat / Certificate

über die Konformität der Wirksamkeitsprüfungen für / for conformity of efficacy tests for

WIP' ANIOS EXCEL*

mit dem Anforderungskatalog der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) - Stand 4.2.2002 - basierend auf den Standardmethoden der DGHM - Stand 1.9.2001 - bzw. den Übergangsbestimmungen vom 4.9.2002. DGHM und VAH bestätigen die Äquivalenz mit den früher herausgegebenen DGHM-Zertifikaten.
with the Requirements issued by the German Society for Hygiene and Microbiology (DGHM) on February 4th 2002 which is based on the DGHM Standard Methods of September 1st 2001 or the transitional provisions of Sept. 4th 2002. DGHM and VAH confirm the equivalence to the former issued DGHM certificates.

ANTRAGSTELLER / APPLICANT:

**Laboratoires Anios
Pavé du Moulin
F-59260 Lille Hellemmes**

WIRKSTOFFE nach Art und Menge bezogen auf 100 g:

Quantity of active substances per 100 g:

0,30 g Didecyldiméthylammonium chloride

Hiermit wird bestätigt, dass das o.g. Produkt für die prophylaktische Desinfektion in den aufgeführten Anwendungsbereichen in folgenden Konzentrations-Zeit-Relationen als wirksam eingestuft wird:
This is to confirm that the above product was found to be effective for prophylactic disinfection in the application domains listed below at the specified concentration/contact time ratios:

Flächendesinfektion zur Prophylaxe in Krankenhaus und Praxis (Bakterizidie und Levurozidie) Surface disinfection for prophylaxis in hospital and primary healthcare (bactericidal activity and yeasticidal activity)								
Wischen Mechanical action		Organische Belastung Interfering substance		Einwirkzeit in min Contact time in min				
mit/with	ohne/without	gering/clean conditions	hoch/dirty conditions	5	15	30	60	240
X			X		konz.			

* Die Aussage zur Wirksamkeit bezieht sich nur auf die Prüfung der Wirkstofflösung und nicht auf die Kombination mit Tüchern, somit wird keine Aussage zur Wirksamkeit des Verfahrens mit Tüchern gemacht.
This confirmation is only valid for the test with the solution and not in combination with the wipes, therefore no confirmation is given for the efficacy of the procedure with wipes.

Das Zertifikat ist gültig vom 31.03.2015 bis zum 31.03.2018 (3 Jahre) /
Certificate is valid from 31.03.2015 until 31.03.2018 (3 years)

Der Antragsteller hat sich mit den Bedingungen der zum Zeitpunkt der Antragstellung gültigen Geschäftsordnung der Desinfektionsmittelkommission im VAH einverstanden erklärt und rechtsverbindlich bestätigt, dass das von ihm in Handel gebrachte Präparat in seiner Zusammensetzung identisch mit den für die Erstellung der Gutachten eingereichten Mustern ist.
The applicant has agreed to the conditions laid down in the rules of the disinfectant commission in the VAH valid at the time of application and has legally binding confirmed that the distributed product is identical with the product used for the activity testing.

Bonn, den **31.03.2015**
Place/Date

Der Vorsitzende der / The Chairman of the
Desinfektionsmittel-Kommission im VAH / Disinfectant Commission in VAH - Ident No N15/025

Desinfektionsmittel-Kommission im VAH, c/o Institut für Hygiene, Sigmund Freud-Str. 25, D-53127 Bonn, www.vah-online.de, info@vah-online.de, Tel. 0228-2871 4022

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Sainghin en Mélantois, le 24 février 2017
Sainghin en Mélantois, on the February 24th 2017

Rapport d'essai : N° A 17 19 13727
Test report : N° A 17 19 13727

1. Objet de la demande (Study Number) n° 35187

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide de la solution de désorption (formule **2419**) des lingettes WIP'ANIOS Excel. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 - étape 1) NF EN 13727 + A2 (Décembre 2015). Application aux désinfectants chimiques pour la désinfection des surfaces.

Indice de classement T 72-175.
Méthode par dilution neutralisation.

*Chemical antiseptics and disinfectants. Quantitative suspension test for the evaluation of the bactericidal activity of the desorption solution (formula **2419**) of the wipes WIP'ANIOS Excel. Test method and prescriptions (phase 2 - step 1) according to NF EN 13727 + A2 (December 2015). Application to chemical disinfectants for the surface disinfection.*

Classification index T 72-175.

Method by dilution neutralisation.

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci après) soumis à l'essai.
This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval

Ce document comporte 10 pages numérotées dont 1 annexe de 3 pages
This report is made of 10 numbered pages including 1 annex of 3 pages

La reproduction de ce rapport d'essai n'est autorisée que sous la forme de fac-similé photographique intégral. Seule la version électronique fait foi.
*The reproduction of this trial report is authorized only under the shape of complete photographic reproduction
Only the electronic version is valid.*

2. Sommaire (Summary)

1. Objet de la demande (<i>Study Number</i>) n° 35187	1
2. Sommaire (<i>Summary</i>)	2
3. Introduction (<i>Introduction</i>)	3
4. Identification de l'échantillon (<i>Sample Identification</i>)	3
5. Méthode expérimentale (<i>Experimental Method</i>)	4
5.1. Conditions expérimentales (<i>Experimental conditions</i>)	4
5.2. Méthode par dilution neutralisation (<i>Method by dilution neutralisation</i>)	4
6. Résultats (<i>Results</i>)	5
6.1. Essais de validation des conditions expérimentales (<i>Validation tests</i>)	5
6.2. Essais d'activité bactéricide (<i>Evaluation of bactericidal activity</i>)	6
7. Conclusion (<i>Conclusion</i>)	6
8. Annexe - Données expérimentales (<i>Experimental Data</i>)	7

3. Introduction (Introduction)

L'essai a été réalisé selon la méthode d'essai décrite dans la norme européenne EN 13727 + A2 « Désinfectants chimiques et antiseptiques- Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide en médecine (phase 2 /Etape 1) » .

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

The test was realised according to the test method described in the European standard EN 13727 + A2 « Chemical disinfectants and antiseptics- Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity in the medical area».

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

Les essais décrits ci après ont été réalisés sur la solution de désorption (formule 2419) des lingettes WIP'ANIOS Excel.

The tests described below were carried out on the desorption solution (formula 2419) of the wipes WIP'ANIOS Excel.

4. Identification de l'échantillon (Sample Identification)

Code formule	2419
Code formula	
Numéro d'identification de l'échantillon	1031 17 02 13727
Identification of the sample	
Numéro de lot	U 342-29 S
Batch number	
Fabricant	Laboratoires ANIOS
Manufacturer	
Date de réception au laboratoire	Le 21/02/17
Receipt date at the laboratory	On the 21/02/17
Conditions de stockage au laboratoire	T° ambiante et obscurité
Storage conditions at the laboratory	Room temperature and darkness
Substances actives	Chlorure de didécyl diméthylammonium (CAS :7173-51-5) : 0,3% (p/p)
Activ substances	Didecyl dimethylammonium chloride (CAS :7173-51-5) : 0,3% (w/w)
Période d'essai	Du 21/02/17 au 24/02/17
Period of analysis	From 21/02/17 to 24/02/17

5. Méthode expérimentale (Experimental Method)

5.1. Conditions expérimentales (Experimental conditions)

Température de l'essai	20°C ± 1°C
<i>Test temperature</i>	
Temps de contact	1 minute ± 5s
<i>Contact Time</i>	
Diluant de la formule lors des essais	Eau distillée
<i>Diluent of the formula used during the test</i>	<i>Distilled water</i>
Apparence de la formule et de ses dilutions	Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai
<i>Appearance formula dilutions</i>	<i>Preparation physically homogeneous and stable during test</i>
Souches testées	<ul style="list-style-type: none">○ Staphylococcus aureus CIP 483 (équivalent ATCC 6538)○ Pseudomonas aeruginosa CIP 103467 (équivalent ATCC 15442)○ Enterococcus hirae CIP 5855 (équivalent ATCC 10541)
<i>Tested strains</i>	
Substance interférente	Albumine bovine à 3g/l + 3ml/l érythrocytes
<i>Interfering substance</i>	<i>3 g/l BSA + 3ml/l erythrocytes</i>
Stabilité du mélange formule et substances interférentes	Absence de précipité pendant l'essai
<i>Stability of the mixture (formula and interfering substance)</i>	<i>Precipitate absent throughout the test</i>
Température d'incubation	37°C ± 1°C
<i>Incubation temperature</i>	<i>37°C ± 1°C</i>

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

Nature du neutralisant utilisé	○ Formule : F004
<i>Nature of the neutralizer agent used</i>	○ <i>Formula : F004</i>
Neutralisant ajouté au milieu de dénombrement	∅
<i>Neutralizer agent added to the counting medium</i>	<i>∅</i>

6. Résultats (Results)

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

Vérification de la méthodologie et validation de la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **80%** de la solution de désorption (formule 2419) des lingettes WIP'ANIOS Excel soumise à l'essai.

*Checking of the method and validation of the method by dilution neutralisation for the **80%** test concentration of the desorption solution (formula 2419) of the wipes WIP'ANIOS Excel to be tested.*

Souches testées	Nombre de cellules viables (UFC/ml) (Number of viable cells(CFU/ml))							
	Suspension d'essai	Suspension d'essai / 10	Suspension de validation	Suspension de validation / 10	Suspension de validation B	Validation conditions expérimentales	Non toxicité du neutralisant	Inactivation par dilution neutralisation
Tested strains	Test suspension	Test suspension / 10	Validation suspension	Validation suspension / 10	B Validation suspension	Experimental conditions control	Neutralizer toxicity control	Dilution neutralization control
	N	N ₀	N _V	N _{V0}	N _V B	A	B	C
Staphylococcus aureus	1,6.10 ⁸	1,6.10 ⁷	5,0.10 ²	5,0.10 ¹	3,6.10 ⁴	3,3.10 ¹	3,6.10 ¹	3,0.10 ¹
Pseudomonas aeruginosa	1,6.10 ⁸	1,6.10 ⁷	4,2.10 ²	4,2.10 ¹	3,4.10 ⁴	3,2.10 ¹	3,2.10 ¹	6,0.10 ¹
Enterococcus hirae	1,7.10 ⁸	1,7.10 ⁷	6,2.10 ²	6,2.10 ¹	5,0.10 ⁴	5,9.10 ¹	3,3.10 ¹	5,1.10 ¹

Pour les souches soumises à l'essai - For the tested strains.

N est compris entre 1,5 x 10⁸ UFC/ml et 5 x 10⁸ UFC/ml
is comprised between 1.5 x 10⁸ CFU/ml and 5 x 10⁸ CFU/ml

N₀ est compris entre 1,5 x 10⁷ UFC/ml et 5 x 10⁷ UFC/ml
is comprised between 1.5 x 10⁷ CFU/ml and 5 x 10⁷ CFU/ml

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

N_{V0} est compris entre 3 x 10¹ UFC/ml et 1.6 x 10² UFC/ml
is comprised between 3 x 10¹ CFU/ml and 1.6 x 10² CFU/ml

N_VB est compris entre 3 x 10⁴ UFC/ml et 1.6 x 10⁵ UFC/ml
is comprised between 3 x 10⁴ CFU/ml and 1.6 x 10⁵ CFU/ml

B est supérieur ou égal à 0,0005 x N_VB
are higher or equal to 0,0005 x N_VB

A,C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x N_{V0}
are higher or equal to 0.5 x N_{V0}

La neutralisation est validée avec la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **80%** de la solution de désorption (formule 2419) des lingettes WIP'ANIOS Excel soumise à l'essai et pour les souches soumises à l'essai.

*The neutralization is validated with the method by dilution neutralisation for the **80%** test concentration of the desorption solution (formula 2419) of the wipes WIP'ANIOS Excel and for the tested strains.*

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

Souches testées	Nombre de cellules viables (UFC/ml) pour le mélange d'essai (Na) pour les concentrations de : %(v/v)		
Tested strains	Number of the viable cells (CFU/ml) for the test mixture (Na) for the concentrations of : %(v/v)		
	20	40	80
Staphylococcus aureus	1,9.10 ⁴	1,3.10 ⁴	<1,5.10 ²
Pseudomonas aeruginosa	6,8.10 ²	3,3.10 ²	<1,4.10 ²
Enterococcus hirae	7,7.10 ²	2,9.10 ²	<1,5.10 ²

	Réduction du nombre de cellule viables à la concentration d'essai. R = Log N0 - Log Na		
	Reduction of the number of viable cells at the test concentration. R = Log N0 - Log Na		
	20	40	80
Staphylococcus aureus	2,9	3,1	≥ 5.0
Pseudomonas aeruginosa	4,4	4,7	≥ 5.1
Enterococcus hirae	4,3	4,7	≥ 5.0

7. Conclusion (Conclusion)

Selon la norme NF EN 13727 + A2 (Décembre 2015), la solution de désorption (formule 2419) des lingettes WIP'ANIOS Excel, lorsqu'elle est diluée à la concentration de **80.00 %** (v/v) dans de l'eau distillée, présente une activité bactéricide en **1 minute** de contact à 20°C en conditions de saleté, vis-à-vis des souches de référence pour la désinfection des surfaces : **Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus hirae.**

According to the European standard NF EN 13727 + A2 (December 2015), the desorption solution (formula 2419) of the wipes WIP'ANIOS Excel, when diluted at the concentration of **80,00%** (v/v) in distilled water, presents a bactericidal activity in a **1 minute** contact time at 20°C in dirty conditions against the referenced strains for the surface disinfection: **Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus hirae.**

8. Annexe - Données expérimentales (Experimental Data)

Staphylococcus aureus - 1 minute

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
NORME NF EN 13727 + A2
méthode par dilution-neutralisation Décembre 2015

Réf : FS250J
Date : 17/12/15

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
NORME NF EN 13727 + A2
méthode par dilution-neutralisation Décembre 2015

Réf : FS250J
Date : 17/12/15

Numéro d'identification: **1031 17 02 13727** Date : **21.02.17**
Type de produit testé : Surface
Méthode utilisée : Classique
Température : Inférieure à 40°C

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC par boîte			
	Dilution -6	Dilution -7	Dilution -6	Dilution -7
Staphylococcus aureus CIP 483 (équivalent ATCC 6538)	163	21	163	21
	145	21	145	21
Lecture 20 à 24 heures		Lecture 40 à 48 heures		

Numéro d'identification: 1031 17 02 13727			
Nv	C $\frac{990}{2} = 5,0E+02$	N ₀ =	5,0E+01 UFC/mL
NvB	C $\frac{72000}{2} = 3,6E+04$		UFC/mL
A	C $\frac{66}{2} = 3,3E+01$		UFC/mL
B	C $\frac{71}{2} = 3,6E+01$		UFC/mL
C	C $\frac{60}{2} = 3,0E+01$		UFC/mL

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 350
n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution 2
n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution 2
d : facteur de dilution correspondant à la première dilution prise en compte : 10
Moyenne pondérée : $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = \frac{350}{(2 + 0,1 \times 2) \times 10} = 1,6E+08$ UFC/ml N0=N10= 1,6E+07

Interprétation :
N est compris entre 1,5.10⁸ UFC/ml et 5.10⁸ UFC/ml 1,6E+08 Oui
Nv est compris entre 3.10² et 1.6.10³ 5,0E+02 Oui
NvB est compris entre 3.10¹ et 1.6.10² 3,6E+04 Oui
Nv0 est compris entre 3.10¹ et 1.6.10² 5,0E+01 Oui
A et C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x Nv0 3,3E+01 et 3,0E+01 Oui
B est supérieur ou égal à 0,0005 x NvB 3,6E+01 Oui
La neutralisation est validée : Oui

$$5 < Q = \frac{d1 - 6/2}{d1 - 7/2} < 15 = \frac{154}{21} = 7,3$$

Essai de validation : Temps de contact : **NL** - **1'** Essai : Temps de contact : **NL** - **1'**

	De 14 à 330 UFC par boîte		De 14 à 330 UFC par boîte		Volume pipeté de produit pour fiole de 100 ml			
					25	50	-	
Nv : témoin suspension	46	46	53	53	Concentration produit %			
					20	40	80	
NvB : témoin suspension B	34	34	38	38	Dénombrement à 20h/24h de 14 à 330 UFC par boîte			
					0	+	+	+
A : témoin des conditions expérimentales	33	33			183	195	139	119
					0	+	+	+
B : témoin de non-toxicité du neutralisant	34	34			183	195	139	119
					0	+	+	+
C : essai de l'inactivation par dilution neutralisation à 80 %	31	31			183	195	139	119
					0	+	+	+
	29	29			183	195	139	119
					0	+	+	+
	Lecture 20 à 24 heures		Lecture 40 à 48 heures		Na = $\frac{C \times 10}{n} \times \text{dilution}$			
					1,9E+04			
					1,3E+04			
					< 1,5E+02			
					Log N0 = 7,2			
					Log Na = 4,3			
					4,1			
					2,2			
					Calcul de réduction = Log N ₀ - Log Na = Log R			
					2,9			
					3,1			
					> 5,0			

Calculs : Nv = $\frac{C \times 10}{n}$ (en UFC/ml). N₀, A, B, C = $\frac{C}{n}$ (en UFC/ml).

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

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

SUITE A DONNER :
VISA : Conforme

Demande n° 35187

Laboratoires ANIOS
Laboratoire de Microbiologie

Study n° 35187 GB

Pseudomonas aeruginosa - 1 minute

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
NORME NF EN 13727 + A2
méthode par dilution-neutralisation Décembre 2015

Réf : FS250J
Date : 17/12/15

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
NORME NF EN 13727 + A2
méthode par dilution-neutralisation Décembre 2015

Réf : FS250J
Date : 17/12/15

Numéro d'identification: **1031 17 02 13727** Date : **21.02.17**
Type de produit testé : Surface
Méthode utilisée : Classique
Température : Inférieure à 40°C
Dénombrement de la suspension bactérienne:

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC par boîte			
	Dilution -6	Dilution -7	Dilution -6	Dilution -7
Pseudomonas aeruginosa CIP 103467 (équivalent ATCC 15442)	161 157	19 14	161 157	19 14
	Lecture 20 à 24 heures		Lecture 40 à 48 heures	

Numéro d'identification: **1031 17 02 13727**

Nv	C	$\frac{830}{2} = 4,2E+02$	N ₀	4,2E+01	UFC/mL
NvB	C	$\frac{68000}{2} = 3,4E+04$			UFC/mL
A	C	$\frac{64}{2} = 3,2E+01$			UFC/mL
B	C	$\frac{63}{2} = 3,2E+01$			UFC/mL
C	C	$\frac{120}{2} = 6,0E+01$			UFC/mL

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées 351
n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution 2
n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution 2
d : facteur de dilution correspondant à la première dilution prise en compte : 10⁶

Moyenne pondérée : $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = \frac{351}{(2 + 0,1 \times 2) \times 10^6} = 1,6E+08$ UFC/ml N0=N/10= $\frac{1,6E+08}{10} = 1,6E+07$

Interprétation :
N est compris entre 1.5.10⁸ UFC/ml et 5.10⁸ UFC/ml 1,6E+08 Oui
Nv est compris entre 3.10² et 1.6.10³ 4,2E+02 Oui
NvB est compris entre 3.10⁰ et 1.6.10⁵ 3,4E+04 Oui
Nv0 est compris entre 3.10¹ et 1.6.10² 4,2E+01 Oui
A et C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x Nv0 3,2E+01 et 6,0E+01 Oui
B est supérieur ou égal à 0,0005 x NvB 3,2E+01 Oui
La neutralisation est validée : Oui

$$5 < Q = \frac{d1 - 6/2}{d1 - 7/2} < 15 = \frac{159}{16,5} = 9,6$$

Essai de validation : Temps de contact : **NL** 1' Essai : Temps de contact : **NL** 1'

	De 14 à 330 UFC par boîte		De 14 à 330 UFC par boîte		Volume pipeté de produit pour fiole de 100 ml		Concentration produit %					
	25	50	25	50	25	50	25	50	80			
Nv : témoin suspension	46	46	37	37	0	64	71	32	34	0	0	
NvB : témoin suspension B	28	28	40	40	-1	6	7	1	2	0	0	
A : témoin des conditions expérimentales	34	34	30	30								
B : témoin de non-toxicité du neutralisant	30	30	33	33								
C : essai de l'inactivation par dilution neutralisation à 80 %	58	58	62	62								
	Lecture 20 à 24 heures		Lecture 40 à 48 heures		Dénombrement à 20h/24h de 14 à 330 UFC par boîte		Dénombrement à 40h/48h de 14 à 330 UFC par boîte		Calcul de Na = $\frac{C \times 10}{n} \times \text{dilution}$		Calcul de réduction = $\text{Log } N_0 - \text{Log } N_a = -\text{Log } R$	
									6,8E+02		3,3E+02 < 1,4E+02	
									Log N0 = 7,2		Log Na = 2,8	
									2,5		2,1	
									4,4		4,7 > 5,1	

Calculs Nv = $\frac{c \times 10}{n}$ (en UFC/ml). N₀, A, B, C = $\frac{c}{n}$ (en UFC/ml).

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

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

SUITE A DONNER :
VISA : **Conforme**

Demande n° 35187

Laboratoires ANIOS
Laboratoire de Microbiologie

Study n° 35187 GB

Enterococcus hirae - 1 minute

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
NORME NF EN 13727 + A2
méthode par dilution-neutralisation Décembre 2015

Réf : FS250J
Date : 17/12/15

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
NORME NF EN 13727 + A2
méthode par dilution-neutralisation Décembre 2015

Réf : FS250J
Date : 17/12/15

Numéro d'identification: **1031 17 02 13727** Date : **21.02.17**
Type de produit testé : Surface
Méthode utilisée : Classique
Température : Inférieure à 40°C

Numéro d'identification: **1031 17 02 13727**

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC par boîte			
	Dilution -6	Dilution -7	Dilution -6	Dilution -7
Enterococcus hirae CIP 5855 (équivalent ATCC 10541)	170	22	170	22
	169	23	169	23
	Lecture 20 à 24 heures		Lecture 40 à 48 heures	

Nv	C	$\frac{1240}{2}$	=	6,2E+02	N ₀	6,2E+01	UFC/mL
NvB	C	$\frac{99000}{2}$	=	5,0E+04			UFC/mL
A	C	$\frac{118}{2}$	=	5,9E+01			UFC/mL
B	C	$\frac{66}{2}$	=	3,3E+01			UFC/mL
C	C	$\frac{102}{2}$	=	5,1E+01			UFC/mL

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées 384
n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution 2
n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution 2
d : facteur de dilution correspondant à la première dilution prise en compte : 10⁶

Moyenne pondérée : $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = \frac{384}{(2 + 0,1 \times 2) \times 10^6} = 1,7E+08$ UFC/ml N0=N10= $1,7E+07$

Interprétation :
N est compris entre 1,5.10⁸ UFC/ml et 5.10⁸ UFC/ml **1,7E+08** Oui
Nv est compris entre 3.10² et 1,6.10³ **6,2E+02** Oui
NvB est compris entre 3.10⁰ et 1,6.10⁵ **5,0E+04** Oui
Nv0 est compris entre 3.10¹ et 1,6.10² **6,2E+01** Oui
A et C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x Nv0 **5,9E+01 et 5,1E+01** Oui
B est supérieur ou égal à 0,0005 x NvB **3,3E+01** Oui
La neutralisation est validée : **Oui**

$$5 < Q = \frac{d1 - 6/2}{d1 - 7/2} < 15 = \frac{169,5}{22,5} = 7,5$$

Essai de validation : Temps de contact : **NL** 1' Essai : Temps de contact : **NL** 1'

	De 14 à 330 UFC par boîte	De 14 à 330 UFC par boîte	Volume pipeté de produit pour fiole de 100 ml				Concentration produit %				
			25	50	-		20	40	80		
Nv : témoin suspension	55	55	0	72	81	24	33	13	15		
NvB : témoin suspension B	54	54	-1	17	8	7	3	3	1		
A : témoin des conditions expérimentales	69	69									
B : témoin de non-toxicité du neutralisant	29	29	0	72	81	24	33	13	15		
C : essai de l'inactivation par dilution neutralisation à 80 %	39	39	-1	17	8	7	3	3	1		
	Lecture 20 à 24 heures		Lecture 40 à 48 heures								

Calculs Nv = $\frac{c \times 10}{n}$ (en UFC/ml). N₀, A, B, C = $\frac{c}{n}$ (en UFC/ml).

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

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

Na = $\frac{C \times 10}{n} \times \text{dilution}$		7,7E+02	2,9E+02	<	1,5E+02
Log N0 = 7,2	Log Na =	2,9	2,5		2,2
Calcul de réduction = Log N ₀ - Log Na = Log R		4,3	4,7	>	5,0

SUITE A DONNER :
VISA : **Conforme**

Demande n° 35187

Laboratoires ANIOS
Laboratoire de Microbiologie

Study n° 35187 GB

Direction Scientifique

Liste des signataires du document



Nom_utilisateur : Chrystèle Pluchart
Titre : Responsable Laboratoire de Microbiologie
Date : vendredi, 24 février 2017, 13:52 Paris
Signification : Validation de document



Nom_utilisateur : Katharina Pegeot
Titre : Technicienne Laboratoire de Microbiologie
Date : vendredi, 24 février 2017, 13:54 Paris
Signification : Validation de document

N Demande : 35187
Rapport d'essai : A 17 19 13727
Etude : NF EN 13727
Date du document : 24/02/2017



LABORATOIRES
ANIOS
An Ecolab Company
Essais réalisés au
Laboratoire de Microbiologie
3330 Route de Lille
59262 Sainghin en Mélançois

Sainghin en Mélançois, le 20 août 2020
Sainghin en Mélançois, on the August 20th 2020

1. Objet de la demande (Study Number) n° 39342

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Méthode d'essai quantitative pour l'évaluation de l'activité bactéricide et levuricide sur des surfaces non poreuses, avec action mécanique à l'aide de lingettes dans le domaine médicale (Essai à 4 zones), de la formule **2446**. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 - étape 2) NF EN 16615* (Mai 2015).
Indice de classement T 72-615.
Méthode par dilution neutralisation.

*Chemical antiseptics and disinfectants. Quantitative test method for the evaluation of the bactericidal and yeastocidal activity on non-porous surfaces with mechanical action employing wipes in the medical area (4 fields test) of the formula **2446**. Test method and prescriptions (phase 2 - step 2) according to NF EN 16615* (May 2015).*

Classification index T 72-615.

Method by dilution neutralisation.

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci après) soumis à l'essai tel qu'il a été reçu.
This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval, as it has been received.

Ce document comporte 15 pages numérotées dont 1 annexe de 5 pages
This report is made of 15 numbered pages including 1 annex of 5 pages

La reproduction de ce rapport d'essai n'est autorisée que sous la forme de fac- similé photographique intégral. Seule la version électronique fait foi.
*The reproduction of this trial report is authorized only under the shape of complete photographic reproduction
Only the electronic version is valid.*

** Les données fournies par le client sont identifiées par un astérisque.*

** Datas provided by the customer are identified with an asterisk.*

Laboratoires ANIOS SAS

Adresse : 1 rue de l'espoir - 59260 Lezennes
Tél. +33 3 20 67 67 67 - Fax : + 33 3 20 67 67 68
SIREN : 823 326 061 - SIRET :
VAT : FR71823326061 - Capital Social : 773 630 132 euros

Version E du 03/03/2020

2. Sommaire (Summary)

1. Objet de la demande (<i>Study Number</i>) n° 39342	1
2. Sommaire (<i>Summary</i>)	2
3. Introduction (<i>Introduction</i>)	3
4. Identification de l'échantillon (<i>Sample Identification</i>)	3
5. Méthode expérimentale (<i>Experimental Method</i>)	4
5.1. Conditions expérimentales (<i>Experimental conditions</i>)	4
5.2. Méthode par dilution neutralisation (<i>Method by dilution neutralisation</i>)	4
5.3. Quantité de liquide libérée (<i>amount of liquid released</i>)	5
6. Résultats (<i>Results</i>)	6
6.1. Essais de validation des conditions expérimentales (<i>Validation tests</i>)	6
6.2. Essais d'activité bactéricide et levuricide (Evaluation of bactericidal and yeasticidal activity)	8
7. Conclusion (<i>Conclusion</i>)	9
8. Annexes	10
8.1. Schéma	10
8.2. Données expérimentales (<i>Experimental Data</i>)	11

3. Introduction (Introduction)

L'essai a été réalisé selon la méthode d'essai décrite dans la norme européenne EN 16615 « Désinfectants chimiques et antiseptiques- Essai quantitatif pour l'évaluation de l'activité bactéricide et levuricide sur des surfaces non poreuses, avec action mécanique à l'aide de lingettes dans le domaine médical (phase 2 /Etape 2) » .

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

The test was realised according to the test method described in the European standard EN 16615 « Chemical disinfectants and antiseptics- Quantitative test method for the evaluation of bactericidal and yeasticidal activity on non-porous surfaces with mechanical action employing wipes in the medical area – Phase 2 – Step 2».

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

4. Identification de l'échantillon (Sample Identification)

Code formule*	2446
Code formula*	
Numéro d'identification de l'échantillon	4193 20 07 16615
Identification of the sample	
Numéro de lot*	C061 01S
Batch number*	
Nom du client*	Gaetan RAUWEL
Customer's name*	
Fabricant*	Laboratoires ANIOS
Manufacturer*	
Date de réception au laboratoire	Le 21/07/20
Receipt date at the laboratory	On the 21/07/20
Description de l'échantillon	Lingette blanche
Description of the sample	White wipes
Conditions de stockage au laboratoire*	T° ambiante et obscurité
Storage conditions at the laboratory*	Room temperature and darkness
Substances actives*	Didecyldimethyl ammonium chloride (CAS N°7173-51-5) 3 mg/g
Activ substances*	
Période d'essai	Du 21/07/20 au 27/07/20
Period of analysis	From 21/07/20 to 27/07/20

5. Méthode expérimentale (Experimental Method)

5.1. Conditions expérimentales (Experimental conditions)

Température de l'essai*	20°C ± 1°C
<i>Test temperature*</i>	
Temps de contact*	2 minutes ± 10s
<i>Contact Time*</i>	
Diluant de la formule lors des essais	Eau distillée
<i>Diluent of the formula used during the test</i>	<i>Distilled water</i>
Nature du support	PVC
<i>Nature of the support</i>	<i>Polyvinyl Chloride</i>
Temps de séchage des porte germes	10 à 12 min en fonction des souches
<i>Time of drying of the germ carriers</i>	<i>10 to 12 min according to the strains</i>
Apparence de la formule et de ses dilutions	Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai
<i>Appearance formula dilutions</i>	<i>Preparation physically homogeneous and stable during test</i>
Micro - organismes d'essai*	<ul style="list-style-type: none">• <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467• <i>Staphylococcus aureus</i> CIP 4.83• <i>Enterococcus hirae</i> CIP 58.55• <i>Candida albicans</i> DSM 13.86
<i>Test micro – organisms*</i>	
Substance interférente*	Albumine bovine à 3g/l + 3ml/l érythrocytes
<i>Interfering substance*</i>	<i>3 g/l BSA + 3ml/l erythrocytes</i>
Type de lingette utilisée	Lingette Sawatex 2011/2611 (180x200mm) Grammage 45 g/m2
<i>Type of wipe used</i>	<i>Wipe Sawatex 2011/2611 (180 x 200 mm)</i> <i>Weight 45 g/m2</i>
Quantité de liquide imbibée (g ou ml)	300% du poids de la lingette sèche
<i>Amount of liquid soaked (g or ml)</i>	<i>300% of the weight of the dry wipes</i>
Température d'incubation des boîtes de Pétri	37 °C ± 1 °C pour les bactéries 30 °C ± 1 °C pour <i>Candida albicans</i>
<i>Incubation temperature of Petri dishes</i>	<i>37 °C ± 1 °C for bacteria</i> <i>30°C ± 1 °C for Candida albicans</i>

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

Nature du neutralisant utilisé	○ Formule : F004
<i>Nature of the neutralizer agent used</i>	○ <i>Formula : F004</i>
Neutralisant ajouté au milieu de dénombrement	∅
<i>Neutralizer agent added to the counting medium</i>	∅

5.3. Quantité de liquide libérée (amount of liquid released)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467			
	Poids de la lingette avant essuyage (g)	Poids de la lingette après essuyage (g)	Liquide libéré (g)
	<i>Weight of the wipe before wiping (g)</i>	<i>Weight of the wipe after wiping (g)</i>	<i>Liquid released (g)</i>
Nw	7,699	7,333	0,366
100%	5,673	5,381	0,292
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 4.83			
	Poids de la lingette avant essuyage (g)	Poids de la lingette après essuyage (g)	Liquide libéré (g)
	<i>Weight of the wipe before wiping (g)</i>	<i>Weight of the wipe after wiping (g)</i>	<i>Liquid released (g)</i>
Nw	7,722	7,389	0,333
100%	5,827	5,504	0,323
<i>Enterococcus hirae</i> CIP 58.55			
	Poids de la lingette avant essuyage (g)	Poids de la lingette après essuyage (g)	Liquide libéré (g)
	<i>Weight of the wipe before wiping (g)</i>	<i>Weight of the wipe after wiping (g)</i>	<i>Liquid released (g)</i>
Nw	7,873	7,545	0,328
100%	5,855	5,523	0,332
<i>Candida albicans</i> DSM 13.86			
	Poids de la lingette avant essuyage (g)	Poids de la lingette après essuyage (g)	Liquide libéré (g)
	<i>Weight of the wipe before wiping (g)</i>	<i>Weight of the wipe after wiping (g)</i>	<i>Liquid released (g)</i>
Nw	7,550	7,235	0,315
100%	5,518	5,213	0,305

6. Résultats (Results)

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

Sur les bactéries (on bacteria) :

Vérification de la méthodologie et validation de la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **100%** de la formule **2446** soumise à l'essai.

Checking of the method and validation of the method by dilution neutralisation for the **100%** test concentration of the formula **2446** to be tested.

Souches testées	Nombre de cellules viables (UFC/ml) (Number of viable cells(CFU/ml))								
	Suspension d'essai /20	Suspension d'essai /20	Suspension de validation	Suspension de validation /10	Témoin séchage à t ₀	Témoin séchage à t	Non toxicité eau neutralisée	Inactivation par dilution	
Tested strains	Test suspension	Validation suspension	Validation suspension	Validation suspension	drying control to t ₀	drying control to t	water control toxicity control	Neutralizer neutralization control	
	N	N ₀	N _v	N _{v0}	Dc ₀	Dc _t	N _w	B	C
Enterococcus hirae CIP 58.55	2,8.10 ⁹	1,4.10 ⁸	6,5.10 ²	65	1,4.10 ⁷	1,1.10 ⁷	9050	6,3.10 ¹	6,1.10 ¹
Staphylococcus aureus CIP 4.83	2,4.10 ⁹	1,2.10 ⁸	5,1.10 ²	51	1,0.10 ⁷	8,3.10 ⁶	2185	4,8.10 ¹	5,2.10 ¹
Pseudomonas aeruginosa CIP 103467	1,9.10 ⁹	9,5.10 ⁷	3,9.10 ²	39	8,6.10 ⁶	7,7.10 ⁶	480	3,9.10 ¹	3,7.10 ¹

Pour les bactéries à l'essai - For the bacteria.

N est compris entre 1,5 x 10⁹ UFC/ml et 5 x 10⁹ UFC/ml
is comprised between 1.5 x 10⁹ CFU/ml and 5 x 10⁹ CFU/ml

N₀ est compris entre 7,5 x 10⁷ UFC/ml et 2,5 x 10⁸ UFC/ml
is comprised between 7.5 x 10⁷ CFU/ml and 2.5 x 10⁸ CFU/ml

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

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

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

Dc₀ est compris entre 7,5 x 10⁶ UFC/ml et 2,5 x 10⁸ UFC/ml
is comprised between 7.5 x 10⁶ CFU/ml and 2.5 x 10⁸ CFU/ml

Dc_t est compris entre 7,5 x 10⁶ UFC/ml et 2,5 x 10⁸ UFC/ml
is comprised between 7.5 x 10⁶ CFU/ml and 2.5 x 10⁸ CFU/ml

N_w est en moyenne supérieur à 10 UFC/25cm² sur les zones 2 à 4
is on average greater than 10 UFC/25cm² on the areas 2 to 4

Sur le *Candida albicans* (for *Candida albicans*)

	Nombre de cellules viables (UFC/ml) (Number of viable cells(CFU/ml))								
Souches testées	Suspension d'essai	Suspension d'essai /20	Suspension de validation	Suspension de validation /10	Témoin séchage à t ₀	Témoin séchage à t	Témoin eau	Non toxicité du neutraliser	Inactivation par dilution
Tested strains	Test suspension	Validation suspension /20	Validation suspension	Validation suspension /10	drying control to t ₀	drying control to t	water control	Neutralizer toxicity control	Dilution neutralization control
	N	N ₀	N _v	N _{v0}	Dc ₀	Dc _t	N _w	B	C
Candida albicans DSM 1386	1,9.10 ⁸	9,5.10 ⁶	3,8.10 ²	38	8,5.10 ⁵	8,0.10 ⁵	428	3,3.10 ¹	4,2.10 ¹

Pour la levure à l'essai - For the yeast.

- N est compris entre 1,5 x 10⁸ UFC/ml et 5 x 10⁸ UFC/ml
is comprised between 1.5 x 10⁸ CFU/ml and 5 x 10⁸ CFU/ml
- N₀ est compris entre 7,5 x 10⁶ UFC/ml et 2,5 x 10⁷ UFC/ml
is comprised between 7.5 x 10⁶ CFU/ml and 2.5 x 10⁷ CFU/ml
- N_v est compris entre 3 x 10² UFC/ml et 1.6 x 10³ UFC/ml
is comprised between 3 x 10² CFU/ml and 1.6 x 10³ CFU/ml
- N_{v0} est compris entre 3 x 10¹ UFC/ml et 1.6 x 10² UFC/ml
is comprised between 3 x 10¹ CFU/ml and 1.6 x 10² CFU/ml
- B,C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x N_{v0}
is higher or equal to 0.5 x N_{v0}
- Dc₀ est compris entre 7,5 x 10⁵ UFC/ml et 2,5 x 10⁷ UFC/ml
is comprised between 7.5 x 10⁵ CFU/ml and 2.5 x 10⁷ CFU/ml
- Dc_t est compris entre 7,5 x 10⁵ UFC/ml et 2,5 x 10⁷ UFC/ml
is comprised between 7.5 x 10⁵ CFU/ml and 2.5 x 10⁷ CFU/ml
- N_w est en moyenne supérieur à 10 UFC/25cm² sur les zones 2 à 4
Is on average greater than 10 UFC/25cm² on the areas 2 to 4

La neutralisation est validée avec la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **100%** de la formule **2446** et pour les souches **Pseudomonas, Staphylococcus aureus, Enterococcus hirae, Candida albicans**.

The neutralization is validated with the method by dilution neutralisation for the 100% test concentration of the formula 2446 and for **Pseudomonas, Staphylococcus aureus, Enterococcus hirae, Candida albicans**.

6.2. Essais d'activité bactéricide et levuricide (Evaluation of bactericidal and yeasticidal activity)

Souches testées	Nombre de cellules viables (Log) pour le mélange d'essai (Na) pour les concentrations de : %(v/v)
Tested strains	Number of the viable cells (Log) for the test mixture (Na) for the concentrations of : %(v/v)
	100
Enterococcus hirae CIP 58.55	1,2
Staphylococcus aureus CIP 4.83	< 1,1
Pseudomonas aeruginosa CIP 103467	1,2
Candida albicans DSM 1386	1,5

Souches testées	Réduction du nombre de cellule viables à la concentration d'essai. $R = \text{Log } N_0 - \text{Log } N_a$
Tested strains	Reduction of the number of viable cells at the test concentration. $R = \text{Log } N_0 - \text{Log } N_a$
	100
Enterococcus hirae CIP 58.55	5,9
Staphylococcus aureus CIP 4.83	5,9
Pseudomonas aeruginosa CIP 103467	5,7
Candida albicans DSM 1386	4,4

Pour la zone 1, le taux de réduction sur les bactéries (activité bactéricide) : $R \text{ est } \geq 5 \text{ Log}$

Pour la zone 1, le taux de réduction sur le Candida albicans (activité levuricide) : $R \text{ est } \geq 4 \text{ Log}$

Le dénombrement des zones 2 à 4 satisfait aux exigences : < 50 UFC pour 25 cm² (voir données expérimentales en annexe)

For the zone 1, the reduction rate on bacteria (bactericidal activity): $R \text{ est } \geq 5 \text{ Log}$

For the zone 1, the reduction rate on Candida albicans (yeasticidal activity): $R \text{ est } \geq 4 \text{ Log}$

The Counting of the zones 2-4 meet requirements : <50 CFU for 25 cm² (see experimental data attached)

7. Conclusion (Conclusion)

Selon la norme NF EN 16615 (mai 2015), la formule **2446**, lorsqu'elle est diluée à la concentration de **100.00 %** (v/v) dans de l'eau distillée, présente une activité bactéricide et levuricide en **2 minutes** de contact à 20°C en conditions de saleté pour la désinfection des surfaces non-poreuses, vis-à-vis des souches de référence : **Pseudomonas aeruginosa CIP 103467, Staphylococcus aureus CIP 4.83, Enterococcus hirae CIP 58.55, Candida albicans DSM 13.86.**

*According to the European standard NF EN 16615 (may 2015), the formula **2446**, when diluted at the concentration of **100.00%** (v/v) in distilled water, presents a bactericidal and yeasticidal activity in a **2 minute** contact time at 20°C in dirty conditions according to the requirements for non-porous surfaces disinfection against the referenced strain: **Pseudomonas aeruginosa CIP 103467, Staphylococcus aureus CIP 4.83, Enterococcus hirae CIP 58.55, Candida albicans DSM 13.86.***

8. Annexes

8.1. Schéma

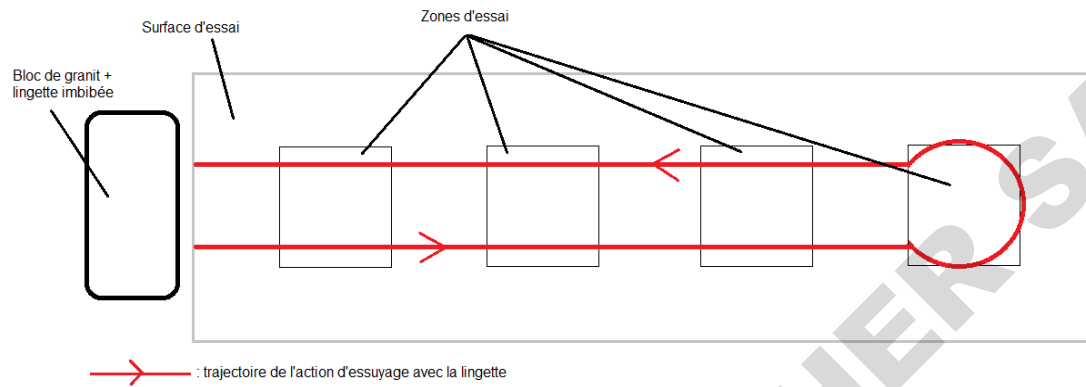


Figure - Représentation schématique des zones d'essai et du mouvement d'essuyage sur les quatre zones d'essai tracées sur la surface d'essai

8.2. Données expérimentales (Experimental Data)

Enterococcus hirae CIP 58.55 - 2 minutes

FICHE DE RESULTATS D'ESSAI
Norme NF EN 16615 (Bactéricidie) Mai 2015

Réf: FS405C
Date :24/11/15

FICHE DE RESULTATS D'ESSAI
Norme NF EN 16615 (Bactéricidie) Mai 2015

Réf: FS405C
Date :24/11/15

Date : **23.07.20** Numéro d'identification : **4193 20 07 16615**

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC par boîte			
	Dilution -7	Dilution -8	Dilution -7	Dilution -8
Enterococcus hirae CIP 58.55	274	27	274	27
	291	31	291	31
	Lecture 20 à 24 heures		Lecture 40 à 48 heures	

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 623
n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution..... 2
n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution..... 2
d : facteur de dilution correspondant à la première dilution..... -7

Moyenne pondérée : $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = \frac{623}{(2 + 0,1 \times 2) \times 10^{-7}} = 2,8E+09$ UFC/ml

5 < Q = $\frac{d \times 10^{-7}}{2} < 15 = \frac{282,5}{29} = 9,7$ $N_0 = 1,4E+08$ UFC/ml

Essai de validation : Temps de contact : **NL** **2'**

Numéro d'identification : **4193 20 07 16615**

Dc0	C = $\frac{278}{2,00E-05} = 1,4E+07$	Dc1	$\frac{219}{2,0E-05} = 1,1E+07$	UFC/ml
Nw	moyenne = 9050 UFC/25cm ²			
Nv0	C = $\frac{129}{2} = 65$	Nv	65 X 10 = 6,5E+02	UFC/ml
B	C = $\frac{126}{2} = 6,3E+01$	UFC/ml		
C	C = $\frac{121}{2} = 6,1E+01$	UFC/ml		

Interprétation:

Dc0 et Dc1 sont compris entre 7,5.10⁶ et 2,5.10⁷ 1,4E+07 et 1,1E+07 **Oui**
Nw est en moyenne supérieur à 10 UFC/25cm² sur les zones 2 à 4 9050 **Oui**
Nv0 est entre 30 et 160 UFC/ml soit Nv entre 3,0.10² et 1,6.10³ 65 et 6,5E+02 **Oui**
B et C sont égaux ou supérieurs à 0,5 X Nv 6,3E+01 et 6,1E+01 **Oui**

La neutralisation est validée : **Oui**

		De 14 à 330 UFC par boîte				De 14 à 330 UFC par boîte			
		-5	-6	-7	-8	-5	-6	-7	-8
Dc0 : Témoïn séchage au temps t ₀	-5	143	135	143	135				
	-6	13	14	13	14				
Dc1 : Témoïn séchage au temps t ₁	-5	112	107	112	107				
	-6	10	9	10	9				
Nw : Témoïn eau	0	Z2	Z3	Z4	Z2	Z3	Z4		
		+	+	+	+	+	+		
	-1	217	147	217	147				
		+	226	134	+	226	134		
Nv0 : Témoïn suspension		63			63				
		66			66				
B : Témoïn de non-toxicité du neutralisant		62			62				
		64			64				
C : Essai de l'inactivation par dilution à 100 %		60			60				
		61			61				
		Lecture 20 à 24 heures				Lecture 40 à 48 heures			

Volume pipeté de produit pour une fiole de 100ml	Concentration (%)	Zone 1				Zone 2	Zone 3	Zone 4	Log Na ou Log(c / (2 X d))	Log Na ou Log(c / (2,2 X d))	Zone 2 à 4
		0	-1								
100	24h	16	2	7	1	0	Log Na = 1,2	15			
		18	3	8	2	0					
		16	2	7	1	0					
		18	3	8	2	0					
100	48h						Log Na =				
Concentration		Log R = Log Dco - Log Na									
100	Log R = 7,1 - 1,2 = 5,9		Log								
	Zone 2 à 4 = 15		UFC/25cm ² OK								
100	Log R = 7,1 - =		UFC/25cm ²								
	Zone 2 à 4 =		UFC/25cm ²								

Calcul : $Nv = \frac{c \times 10}{d}$ $B, C = \frac{c}{d}$ $Dc0, Dc1 = \frac{c}{d \times 10^{-5}}$ (en UFC/ml)

c : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes
n : nombre de boîtes prises en compte

$Nw (Z2, Z3, Z4) = \frac{c}{n} \times 5$ (en UFC/25cm²)

$Na = \frac{c}{n}$ (en UFC/ml) $Na (Z2, Z3, Z4) = \frac{c}{n} \times 5$ (en UFC/25cm²)

Suite à donner :

VISA : Conforme

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie
Durée : illimitée
Collecté par : TL
Responsable archivage : RLM
Classement & Indexage : Par produit

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 24/11/2015

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie
Durée : illimitée
Collecté par : TL
Responsable archivage : RLM
Classement & Indexage : Par produit

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 24/11/2015

Page 3/4

Page 4/4

Demande n° 39342

Laboratoires ANIOS
Laboratoire de Microbiologie

Study n° 39342 GB

Page 11 of 15

Staphylococcus aureus CIP 4.83 - 2 minutes

FICHE DE RESULTATS D'ESSAI
Norme NF EN 16615 (Bactéricidie) Mai 2015

Réf: FS405C
Date :24/11/15

FICHE DE RESULTATS D'ESSAI
Norme NF EN 16615 (Bactéricidie) Mai 2015

Réf: FS405C
Date :24/11/15

Date : 21.07.20 Numéro d'identification : 4193 20 07 16615

Numéro d'identification : 4193 20 07 16615

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC par boîte			
	Dilution -7	Dilution -8	Dilution -7	Dilution -8
Staphylococcus aureus CIP 4.83	231 244	22 26	231 244	22 26
	Lecture 20 à 24 heures		Lecture 40 à 48 heures	

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 523
n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution..... 2
n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution..... 2
d : facteur de dilution correspondant à la première dilution..... -7

Moyenne pondérée : $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = \frac{523}{(2 + 0,1 \times 2) \times 7} = 2,4E+09$ UFC/ml

5 < Q = $\frac{d1 - 7 / 2}{d1 - 8 / 2} < 15 = \frac{237,5}{24} = 9,9$ $N_{60} = 1,2E+08$ UFC/ml

Essai de validation : Temps de contact : NL 2'

Dc ₀	Témoin séchage au temps t ₀	De 14 à 330 UFC par boîte				De 14 à 330 UFC par boîte			
		Z2	Z3	Z4	Z2	Z3	Z4		
-5	108	95	108	95	108	95			
-6	10	9	10	9	10	9			
Dc ₁	Témoin séchage au temps t ₁	82	83	82	83	82	83		
	-6	8	9	8	9	8	9		
Nw	Témoin eau	0	+	+	188	+	+	188	
		+	+	196	+	+	196		
	-1	+	74	17	+	74	17		
	+	63	15	+	63	15			
Nv ₀	Témoin suspension	50	50	50	50				
	51	51	51	51					
B	Témoin de non-toxicité du neutralisant	47	47	47	47				
	48	48	48	48					
C	Essai de l'inactivation par dilution	54	54	54	54				
	à 100 %	50	50	50	50				
		Lecture 20 à 24 heures				Lecture 40 à 48 heures			

Calcul : $Nv = \frac{c \times 10}{n}$ $B, C = \frac{c}{n}$ $Dc_0, Dc_1 = \frac{c}{n \times 10^{-d}}$ (en UFC/ml)

c : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes
n : nombre de boîtes prises en compte $Nw (Z2, Z3, Z4) = \frac{c}{n} \times 5$ (en UFC/25cm²)

Dc ₀	C = $\frac{203}{2,00E-05} = 1,0E+07$	Dc ₁	$\frac{165}{2,0E-05} = 8,3E+06$ UFC/ml
Nw	moyenne = 2185		UFC/25cm ²
Nv ₀	C = $\frac{101}{2} = 51$	Nv	51 X 10 = 5,1E+02 UFC/ml
B	C = $\frac{95}{2} = 4,8E+01$		UFC/ml
C	C = $\frac{104}{2} = 5,2E+01$		UFC/ml

Interprétation:

Dc₀ et Dc₁ sont compris entre 7,5.10⁶ et 2,5.10⁷ 1,0E+07 et 8,3E+06 Oui
Nw est en moyenne supérieur à 10 UFC/25cm² sur les zones 2 à 4 2185 Oui
Nv₀ est entre 30 et 160 UFC/ml soit Nv entre 3,0.10¹ et 1,6.10² 51 et 5,1E+02 Oui
B et C sont égaux ou supérieurs à 0,5 X Nv₀ 4,8E+01 et 5,2E+01 Oui

La neutralisation est validée : Oui

Log Dco = 7 Log

Temps de contact : NL 2'

Volume pipeté de produit pour une fiole de 100ml	Concentration (%)	Zone 1				Zone 2	Zone 3	Zone 4	Log Na ou = Log(c / (2,2 X d))	Log Na = < 1,1	Zone 2 à 4
		0	-1								
100	24h	0	0	0	0	0	0	0	Log Na =	0	
		0	0	0	0	0	0				
		0	0	0	0	0	0				
		0	0	0	0	0	0				
100	48h	0	0	0	0	0	0	Log Na =			
		0	0	0	0	0	0				
		0	0	0	0	0	0				
		0	0	0	0	0	0				
Concentration		Log R = Log Dco - Log Na									
100	Log R = 7 - 1,1 = > 5,9 Log										
	Zone 2 à 4 = 0 UFC/25cm ² OK										
100	Log R = 7 - = =										
	Zone 2 à 4 = UFC/25cm ²										

Na = $\frac{c}{n}$ (en UFC/ml) Na (Z2, Z3, Z4) = $\frac{c}{n} \times 5$ (en UFC/25cm²)

Suite à donner :
VISA : Conforme

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie
Durée : illimitée
Collecté par : TL
Responsable archivage : RLM
Classement & indexage : Par produit

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 24/11/2015

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie
Durée : illimitée
Collecté par : TL
Responsable archivage : RLM
Classement & indexage : Par produit

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 24/11/2015

Page 3/4

Page 4/4

Demande n° 39342

Laboratoires ANIOS
Laboratoire de Microbiologie

Study n° 39342 GB

Page 12 of 15

Pseudomonas aeruginosa CIP 103467 - 2 minutes

FICHE DE RESULTATS D'ESSAI
Norme NF EN 16615 (Bactéricidie) Mai 2015

Réf: FS405C
Date :24/11/15

FICHE DE RESULTATS D'ESSAI
Norme NF EN 16615 (Bactéricidie) Mai 2015

Réf: FS405C
Date :24/11/15

Date : 21.07.20 Numéro d'identification : 4193 20 07 16615

Numéro d'identification : 4193 20 07 16615

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC par boîte			
	Dilution -7	Dilution -8	Dilution -7	Dilution -8
Pseudomonas aeruginosa CIP 103467	184	20	184	20
	196	19	196	19
Lecture 20 à 24 heures		Lecture 40 à 48 heures		

Dc ₀	C = $\frac{171}{2,00E-05}$ = 8,6E+06	Dc ₁	$\frac{153}{2,0E-05}$ = 7,7E+06	UFC/ml
Nw	moyenne = 480			UFC/25cm ²
Nv ₀	C = $\frac{78}{2}$ = 39	Nv	39 X 10 = 3,9E+02	UFC/ml
B	C = $\frac{77}{2}$ = 3,9E+01	UFC/ml		
C	C = $\frac{74}{2}$ = 3,7E+01	UFC/ml		

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 419
 n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution..... 2
 n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution..... 2
 d : facteur de dilution correspondant à la première dilution..... -7
 Moyenne pondérée : $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = 1,9E+09$ UFC/ml
 5 < Q = $\frac{dil - 7 / 2}{dil - 8 / 2} < 15 = \frac{190}{19,5} = 9,7$ N₀ = 9,5E+07 UFC/ml

Interprétation:
 Dc₀ et Dc₁ sont compris entre 7,5.10⁶ et 2,5.10⁷ 8,6E+06 et 7,7E+06 Oui
 Nw est en moyenne supérieur à 10 UFC/25cm² sur les zones 2 à 4 480 Oui
 Nv0 est entre 30 et 160 UFC/ml soit Nv entre 3,0.10¹ et 1,6.10² 39 et 3,9E+02 Oui
 B et C sont égaux ou supérieurs à 0,5 X N₀ 3,9E+01 et 3,7E+01 Oui

Essai de validation : Temps de contact : NL 2'

La neutralisation est validée : Oui
 Log Dco = 6,9 Log 2'
 Temps de contact : NL 2'

Dc ₀ : Témoin séchage au temps t ₀	-5	De 14 à 330 UFC par boîte			De 14 à 330 UFC par boîte		
		87	84	87	84		
Dc ₁ : Témoin séchage au temps t ₁	-5	76	77	76	77		
	-6	7	7	7	7		
Nw : Témoin eau	0	Z2	Z3	Z4	Z2	Z3	Z4
		161	77	44	161	77	44
	-1	184	62	43	184	62	43
		19	7	4	19	7	4
Nv ₀ : Témoin suspension	0	38			38		
	-1	40			40		
B : Témoin de non-toxicité du neutralisant	0	41			41		
	-1	36			36		
C : Essai de l'inactivation par dilution à 100 %	0	35			35		
	-1	39			39		
		Lecture 20 à 24 heures			Lecture 40 à 48 heures		

Volume pipeté de produit pour une fiole de 100ml	Concentration (%)	Zone 1				Zone 2	Zone 3	Zone 4	Log Na ou = Log(c / (2 X d))	Log Na = Log(c / (2,2 X d))	Zone 2 à 4
		0	-1								
100	24h	15	1	10	4	0	Log Na = 1,2	21			
		17	1	9	2	0					
		15	1	10	4	0					
		17	1	9	2	0					
100	48h	15	1	10	4	0	Log Na =				
		17	1	9	2	0					
		15	1	10	4	0					
		17	1	9	2	0					
Concentration		Log R = Log Dco - Log Na									
100	Log R = 6,9	-	1,2	=	5,7	Log					
	Zone 2 à 4 =		21		UFC/25cm ²	OK					
100	Log R = 6,9	-		=							
	Zone 2 à 4 =				UFC/25cm ²						

Calcul : Nv = $\frac{c \times 10}{n}$ B, C = $\frac{c}{n}$ Dc₀, Dc₁ = $\frac{c}{n \times 10^{-d}}$ (en UFC/ml)
 c : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes
 n : nombre de boîtes prises en compte
 Nw (Z2, Z3, Z4) = $\frac{c}{n} \times 5$ (en UFC/25cm²)

Na = $\frac{c}{n}$ (en UFC/ml) Na (Z2, Z3, Z4) = $\frac{c}{n} \times 5$ (en UFC/25cm²)
 Suite à donner : VISA : Conforme

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie
 Durée : limitée
 Collecté par : TL
 Responsable archivage : RLM
 Classement & indexage : Par produit

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 24/11/2015

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie
 Durée : illimitée
 Collecté par : TL
 Responsable archivage : RLM
 Classement & indexage : Par produit

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 24/11/2015

Candida albicans DSM 1386 - 2 minutes

Classement & indexage : Par produit

Page 1/4

Classement & indexage : Par produit

Page 2/4

FICHE DE RESULTATS D'ESSAI
Norme NF EN 16615 (levuricide) Mai 2015

Ref:FS406C
Date :24/11/15

FICHE DE RESULTATS D'ESSAI
Norme NF EN 16615 (levuricide) Mai 2015

Ref:FS406C
Date :24/11/15

Date : 22.07.20 Numéro d'identification : 4193 20 07 16615

Numéro d'identification : 4193 20 07 16615

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC par boîte			
	Dilution -6	Dilution -7	Dilution -6	Dilution -7
Candida albicans DSM 1386	200	21	200	21
	184	18	184	18
Lecture 20 à 24 heures		Lecture 40 à 48 heures		

C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 423
 n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution..... 2
 n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution..... 2
 d : facteur de dilution correspondant à la première dilution..... -6

Moyenne pondérée : $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = \frac{423}{(2 + 0,1 \times 2) \times 10^{-6}} = 1,9E+08$ UFC/ml

$5 < Q_c = \frac{\text{dil} - 6 / 2}{\text{dil} - 7 / 2} < 15 = \frac{192}{19,5} = 9,8$ $N_p = 9,5E+06$ UFC/ml

Essai de validation : Temps de contact : NL 2'

Dc0	Témoin séchage au temps t0	De 14 à 330 UFC par boîte			
		-4	-5	-6	-7
Dc0	Témoin séchage au temps t0	84	86	84	86
		7	7	7	7
Dc1	Témoin séchage au temps t1	78	81	78	81
		6	8	6	8
Nw	Témoin eau	0	Z2	Z3	Z4
		168	62	37	168
	-1	161	57	33	161
		14	10	2	14
Nv0	Témoin suspension	40	40	35	35
		32	32	34	34
B	Témoin de non-toxicité du neutralisant	44	44	39	39
		39	39		
C	Essai de l'inactivation par dilution neutralisation à 100 %	44	44	39	39
		39	39		

Calcul : $N_v = \frac{c \times 10^d}{n}$ B, C = $\frac{c}{n}$ Dc0, Dc1 = $\frac{c}{n \times 10^d}$ (en UFC/ml)

c : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes
 n : nombre de boîtes prises en compte $N_w (Z2, Z3, Z4) = \frac{c}{n} \times 5$ (en UFC/25cm)

Dc0	C = $\frac{170}{2,0E-04} = 8,5E+05$	Dc1	$\frac{159}{2,0E-04} = 8,0E+05$	UFC/ml
Nw	moyenne = 428 UFC/25cm ²			
Nv0	C = $\frac{75}{2} = 38$	Nv	$38 \times 10 = 3,8E+02$	UFC/ml
B	C = $\frac{66}{2} = 3,3E+01$			UFC/ml
C	C = $\frac{83}{2} = 4,2E+01$			UFC/ml

Interprétation :
 Dc0 et Dc1 sont compris entre 7,5.10⁵ et 2,5.10⁷ 8,5E+05 et 8,0E+05 Oui
 Nw est en moyenne supérieur à 10 UFC/25cm² sur les zones 2 à 4 428 Oui
 Nv0 est entre 30 et 160 UFC/ml soit Nv entre 3,0.10² et 1,6.10³ 38 et 3,8E+02 Oui
 B et C sont égaux ou supérieurs à 0,5 X Nv0 3,3E+01 et 4,2E+01 Oui

La neutralisation est validée : Oui
 Log Dco = 5,9 Log
 Temps de contact : NL 2'

Volume pipeté de produit pour une fiole de 100ml	Concentration (%)	Zone 1				Log Na ou Log(c / (2 X d))	Zone 2 à 4
		0	-1	Zone 2	Zone 3		
100	100	24h	31	4	10	5	0
		48h	34	3	10	4	1
		24h	31	4	10	5	0
		48h	34	3	10	4	1
Concentration		Log R = Log Dco - Log Na					
100		Log R = 5,9 - 1,5 = 4,4				Log	
Zone 2 à 4		= 25				UFC/25cm ²	OK
Zone 2 à 4		=				UFC/25cm ²	

Na = $\frac{c}{n}$ (en UFC/ml) Na (Z2, Z3, Z4) = $\frac{c}{n} \times 5$ (en UFC/25cm²)

Suite à donner :
 VISA : Conforme

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie
 Durée : Illimitée
 Collecté par : TL
 Responsable archivage : RLM
 Classement & indexage : Par produit

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 24/11/2015

Lieu archivage : Laboratoire Microbiologie
 Durée : Illimitée
 Collecté par : TL
 Responsable archivage : RLM
 Classement & indexage : Par produit

Vérifié et approuvé par RLM et RQL le 24/11/2015

Page 3/4

Page 4/4

Demande n° 39342

Laboratoires ANIOS
 Laboratoire de Microbiologie

Study n° 39342 GB

Direction Scientifique

Liste des signataires du document



Nom_utilisateur : Katharina Pegeot
Titre : Technicienne Laboratoire de Microbiologie
Date : jeudi, 21 janvier 2021, 15:10 Paris
Signification : Validation de document



Nom_utilisateur : Sophie Loeffert
Titre : Responsable Microbiologie
Date : vendredi, 22 janvier 2021, 12:14 Paris
Signification : Validation de document

Fin de rapport

N Demande :	39342
Rapport d'essai :	00000
Etude :	NF EN 16615
Date du document :	20/08/2020

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

SAINGHIN EN MELANTOIS, le 29 Septembre 2014

SAINGHIN EN MELANTOIS, on the September 29th 2014

1^{ère} édition : 07/04/2014

First edition : 07/04/2014

1. Objet de la demande (Study Number) n°31055

Désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité tuberculocide de la formule **2419**. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 - étape 1) NF EN 14348 (Juin 2005). Application aux désinfectants chimiques utilisés en médecine, y compris les désinfectants pour instruments.

Méthode par dilution neutralisation.

*Chemical disinfectants. Quantitative suspension test for the evaluation of the tuberculocidal activity of the formula **2419**. Test method and prescriptions (phase 2 - step 1) according to NF EN 14348 (June 2005). Application to chemical disinfectants used in the medical area including instruments disinfectants.*

Method by dilution neutralisation.

Annule et remplace le rapport du 07/04/2014

Annuls and replace the report of 07/04/2014

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

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

Ce document comporte 9 pages numérotées dont 1 annexe de 1 page

This report is made of 9 numbered pages including 1 annex of 1 page

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

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

Laboratoires ANIOS

Pavé du moulin – 59260 Lille-Hellemmes

Tél. +33 3 20 67 67 67 – Fax : + 33 3 20 67 67 68

Siret N° 458 501 921 00043 – SA au capital de 232.800 €

2. Sommaire (Summary)

1. Objet de la demande (Study Number) n°31055	1
2. Sommaire (Summary)	2
3. Introduction (Introduction)	3
4. Identification de l'échantillon (Sample Identification)	3
5. Méthode expérimentale (Experimental Method)	4
5.1. Conditions expérimentales (Experimental conditions)	4
5.2. Méthode par dilution neutralisation (Dilution neutralization method)	4
6. Résultats (Results)	5
6.1. Essais de validation des conditions expérimentales (Validation tests)	5
6.2. Essais d'activité tuberculocide (Evaluation of tuberculocidal activity)	6
7. Conclusion (Conclusion)	6
8. Annexe - Données expérimentales (Experimental conditions)	7

3. Introduction (Introduction)

L'essai a été réalisé selon la méthodologie d'essai décrite dans la norme européenne EN 14348 « Désinfectants chimiques et antiseptiques » Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité tuberculocide des désinfectants chimiques utilisés en médecine (phase 2 /Etape 1) ». Détermination de l'activité tuberculocide dans les conditions de laboratoire définies par la présente norme européenne.

The test was realised according to the test method described in the European standard EN 14348 « Chemical disinfectants and antiseptics- Quantitative suspension test for the evaluation of tuberculocidal activity of chemical disinfectants used in the medical area».

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

4. Identification de l'échantillon (Sample Identification)

Code formule	2419
<i>Code formula</i>	
Numéro d'identification de l'échantillon	6938 13 12 14348
<i>Identification of the sample</i>	
Fabricant	Laboratoires ANIOS
<i>Manufacturer</i>	
Date de réception au laboratoire	Le 04/12/2013
<i>Receipt date at the laboratory</i>	<i>On the 04/12/2013</i>
Conditions de stockage au laboratoire	T° ambiante et obscurité
<i>Storage conditions at the laboratory</i>	<i>Room temperature and darkness</i>
Période d'essai	Du 04/12/13 au 26/12/13
<i>Period of analysis</i>	<i>From 04/12/13 to 26/12/13</i>

5. Méthode expérimentale (Experimental Method)

5.1. Conditions expérimentales (Experimental conditions)

Température de l'essai <i>Test temperature</i>	20°C ± 1°C
Temps de contact <i>Contact Time</i>	60 minutes ± 10s
Diluant du formule lors des essais <i>Diluent of the formula used during the test</i>	Eau distillée <i>Distilled water</i>
Apparence du formule et de ses dilutions <i>Appearance formula dilutions</i>	Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai <i>Preparation physically homogeneous and stable during test</i>
Souche testée <i>Tested strain</i>	○ <i>Mycobacterium terrae</i> CIP 104 321 (équivalent ATCC 157 55)
Substance interférente <i>Interfering substance</i>	Albumine bovine à 3 g/l + érythrocytes 3ml/l <i>3 g/l BSA + erythrocytes 3ml/l</i>
Stabilité du mélange formule et substances interférentes <i>Stability of the mixture (formula and interfering substance)</i>	Absence de précipité pendant l'essai <i>Precipitate absent throughout the test</i>

5.2. Méthode par dilution neutralisation (Dilution neutralization method)

Nature du neutralisant utilisé <i>Nature of the neutralizer agent used</i>	○ Formule : F004 ○ Formula : F004
Neutralisant ajouté au milieu de dénombrement <i>Neutralizer agent added to the counting medium</i>	10% 10%

6. Résultats (Results)

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

Vérification de la méthodologie et validation de la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **80 %** de la formule **2419** soumis à l'essai.

*Checking of the method and validation of the method by dilution neutralization for the **80%** test concentration of the formula **2419** to be tested.*

	Nombre de cellules viables (UFC/ml) (Number of viable cells(CFU/ml))					
Souche test	Suspension d'essai	Suspension d'essai /10	Suspension de validation /10	Validation des conditions expérimentales	Non Toxicité du neutralisant	Inactivation par dilution neutralisation
Tested strain	Bacterial test suspension	Bacterial test suspension /10	Validation Bacterial suspension /10	Experimental conditions control	Neutralizer toxicity control	Dilution neutralization control
	N	N ₀	N _{VO}	A	B	C
Mycobacterium terrae	2,3 10 ⁹	2,3 10 ⁸	9,2 10 ¹	9,4 10 ¹	9,9 10 ¹	1,1 10 ²

Pour la souche soumise à l'essai (For the strain to be tested)

N est compris entre 1,5 x 10⁹ UFC/ml et 5 x 10⁹ UFC/ml
is comprised between 1.5 x 10⁹ CFU/ml and 5 x 10⁹ CFU/ml

N₀ est compris entre 1,5 x 10⁸ UFC/ml et 5 x 10⁸ UFC/ml
is comprised between 1.5 x 10⁸ CFU/ml and 5 x 10⁸ CFU/ml

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

A,B,C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x N_{VO}
is higher or equal to 0.5 x N_{VO}

La neutralisation est validée avec la méthode de dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **80 %** de la formule **2419** et pour la souche soumise à l'essai.

The neutralization is validated with the dilution neutralization method for the **80%** test concentration of the formula **2419** and the tested strain.

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

Souches test	Nombre de cellules viables (UFC/ml) pour le mélange d'essai (Na) pour les concentrations de : %(v/v)		
Tested strain	Number of the viable cells (CFU/ml) for the test mixture (Na) for the concentrations of : %(v/v)		
	20	40	80
Mycobacterium terrae	> 6,6 10 ⁶	2,3 10 ⁶	3,6 10 ³
	Réduction du nombre de cellules viables à la concentration d'essai. R = Log N ₀ – Log Na		
	Reduction of the number of viable cells at the test concentration R = Log N ₀ – Log Na		
	20	40	80
Mycobacterium terrae	< 1,6 log	2 log	<u>4,8 log</u>

7. Conclusion (Conclusion)

Selon la norme NF EN 14348 (juin 2005), la formule **2419** diluée à **80%** (v/v) dans de l'eau distillée, présente une activité tuberculocide en **60 minutes** de contact à 20 °C en conditions de saleté pour la désinfection en médecine vis-à-vis de la souche de référence : ***Mycobacterium terrae***.

According to the European standard NF EN 14348 (June 2005), the formula **2419** diluted at **80%** (v/v) in distilled water, presents a tuberculocidal activity in a **60 minute** contact time at 20 °C in dirty conditions according to the requirements for the disinfection in medical area against the referenced strain : ***Mycobacterium terrae***.

8. Annexe - Données expérimentales (Experimental conditions)

Mycobacterium terrae – 60 min

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
NORME NF EN 14348
méthode par dilution-neutralisation

Réf : FS134L
Date : 22/10/12

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
NORME NF EN 14348
méthode par dilution-neutralisation

Réf : FS134L
Date : 22/10/12

Date: 04.12.13

Numéro d'identification: 6938 13 12 14348

Numéro d'identification: 6938 13 12 14348

Dénombrement de la suspension bactérienne :

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC par boîte							
	Dilution -7		dilution -8		Dilution -7		Dilution -8	
Mycob.terrae CIP 104321	120	110	11	12	120	110	11	12
	122	115	10	14	122	115	10	14
Lecture intermédiaire à 14 jours				Lecture à 21 jours				

N _y	C	$\frac{1830}{2}$	=	9,2E+02	N ₀₀	9,2E+01	UFC/mL
A	C	$\frac{188}{2}$	=	9,4E+01			UFC/mL
B	C	$\frac{198}{2}$	=	9,9E+01			UFC/mL
C	C	$\frac{213}{2}$	=	1,1E+02			UFC/mL

Interprétation :
 C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 514 N est compris entre 1,5.10⁷ UFC/ml et 5.10⁷ UFC/ml 2,3E+09 Oui
 n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution 2 N₀ est compris entre 3.10⁷ et 1.6.10⁸ 9,2E+02 Oui
 n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution 2 N₀ est compris entre 3.10⁷ et 1.6.10⁸ 9,2E+01 Oui
 d : facteur de dilution correspondant à la première dilution : 10⁷ A,B,C est supérieur ou égal à 0,5 x N₀ Oui
 Moyenne pondérée : $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = \frac{514}{(2 + 0,1 \times 2) \times 10^7} = 2,3E+09$ UFC/ml N₀ = N/10 = 2,3E+08 UFC/ml

La neutralisation est validée : Oui

$$5 < Q = \frac{\text{dil} - 7/2}{\text{dil} - 8/2} < 15 = \frac{233,5}{23,5} = 9,9$$

Essai de validation : Temps de contact : TL 60' Essai : Temps de contact : TL 60'

N _y	témoin suspension	De 14 à 330 UFC par boîte		De 14 à 330 UFC par boîte		Volume pipeté de produit pour fiole de 100 ml	25	50	100					
		46	48	46	48									
A :	témoin des conditions expérimentales	44	45	44	45	Concentration produit %	20		40		80			
		45	50	45	50		Lecture intermédiaire à 14 jours de 14 à 330 UFC par boîte	0	+	+	+	+	155	145
42	51	42	51	-1	+	+		+	+	50	45			
B :	témoin de non-toxicité du neutralisant	47	52	47	52	-2		+	+	+	+	0	0	
		48	51	48	51	-3		+	+	115	118	0	0	
C :	essai de l'inactivation par dilution neutralisation à 80 %	48	52	48	52	Dénombrement à 21 jours de 14 à 330 UFC par boîte		0	+	+	+	+	155	145
		58	55	58	55			-1	+	+	+	+	50	45
							-2	+	+	+	+	48	42	
							-3	+	+	115	118	0	0	
		Lecture intermédiaire à 14 jours		Lecture à 21 jours		Na = $\frac{C \times 10}{n} \times \text{dilution}$	>	6,6E+06	2,3E+06	3,6E+03				
						Log N ₀ = 8,4		Log Na = 6,8	6,4	3,6				
						Calcul de réduction = Log N ₀ - Log Na = Log R	<	1,6	2	4,8				

Calculs : $N_{00} = \frac{C \times 10}{n}$ (en UFC/ml). N₀, A, B, C = $\frac{C}{n}$ (en UFC/ml).

$N_{00} = \frac{C \times 10}{(n1 + 0,1n2) \times 10^d}$ (en UFC/ml).

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

SUITE A DONNER :

VISA : Conforme

Demande n° 31055

Laboratoires ANIOS
Laboratoire de Microbiologie

Study n° 31055 GB

Page 7 of 8

Direction Scientifique

Liste des signataires du document



Nom_utilisateur : Chrystèle Pluchart
Titre : Responsable Laboratoire de Microbiologie
Date : mardi, 30 septembre 2014, 15:39 Paris
Signification : Validation de document



Nom_utilisateur : Gaetan Rauwel
Titre : Directeur Recherche et Développement
Date : mardi, 30 septembre 2014, 18:59 Paris
Signification : Validation de document

N Demande :	31055
Rapport d'essai :	00000
Etude :	NF EN 14348
Date du document :	07/04/2014

Sainghin en Mélantois, le 24 février 2017
Sainghin en Mélantois, on the February 24th 2017

Rapport d'essai : N° A 17 20 13624
Test report : N° A 17 20 13624

1. Objet de la demande (Study Number) n° 35188

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité levuricide la solution de désorption (formule **2419**) des lingettes WIP'ANIOS Excel. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 - étape 1) NF EN 13624 (Novembre 2013). Application aux désinfectants chimiques pour la désinfection des surfaces.
Indice de classement T 72-600.
Méthode par dilution neutralisation.

*Chemical antiseptics and disinfectants. Quantitative suspension test for the evaluation of the yeasticidal activity of the desorption solution (formula **2419**) of the wipes WIP'ANIOS Excel. Test method and prescriptions (phase 2 - step 1) according to NF EN 13624 (November 2013). Application to chemical disinfectants for the surface disinfection.*

Classification index T 72-600.

Method by dilution neutralisation.

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci après) soumis à l'essai.
This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval

Ce document comporte 8 pages numérotées dont 1 annexe de 1 page
This report is made of 8 numbered pages including 1 annex of 1 page

La reproduction de ce rapport d'essai n'est autorisée que sous la forme de fac- similé photographique intégral. Seule la version électronique fait foi.
*The reproduction of this trial report is authorized only under the shape of complete photographic reproduction
Only the electronic version is valid.*

2. Sommaire (Summary)

1. Objet de la demande (<i>Study Number</i>) n° 35188	1
2. Sommaire (<i>Summary</i>)	2
3. Introduction (<i>Introduction</i>)	3
4. Identification de l'échantillon (<i>Sample Identification</i>)	3
5. Méthode expérimentale (<i>Experimental Method</i>)	4
5.1. Conditions expérimentales (<i>Experimental conditions</i>)	4
5.2. Méthode par dilution neutralisation (<i>Method by dilution neutralisation</i>)	4
6. Résultats (<i>Results</i>)	5
6.1. Essais de validation des conditions expérimentales (<i>Validation tests</i>)	5
6.2. Essais d'activité levuricide (<i>Evaluation of yeasticidal activity</i>)	6
7. Conclusion (<i>Conclusion</i>)	6
8. Annexe - Données expérimentales (<i>Experimental Data</i>)	7

3. Introduction (Introduction)

L'essai a été réalisé selon la méthode d'essai décrite dans la norme européenne EN 13624 « Désinfectants chimiques et antiseptiques- Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide en médecine (phase 2 /Etape 1) » .

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

The test was realised according to the test method described in the European standard EN 13624 « Chemical disinfectants and antiseptics- Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal in the medical area».

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

Les essais décrits ci après ont été réalisés sur la solution de désorption (formule 2419) des lingettes WIP'ANIOS Excel.

The tests described below were carried out on the desorption solution (formula 2419) of the wipes WIP'ANIOS Excel.

4. Identification de l'échantillon (Sample Identification)

Code formule	2419
Code formula	
Numéro d'identification de l'échantillon	1046 17 02 13624
Identification of the sample	
Numéro de lot	U 342- 29S
Batch number	
Fabricant	Laboratoires ANIOS
Manufacturer	
Date de réception au laboratoire	Le 21/02/17
Receipt date at the laboratory	On the 21/02/17
Conditions de stockage au laboratoire	T° ambiante et obscurité
Storage conditions at the laboratory	Room temperature and darkness
Substances actives	Chlorure de didécylidiméthylammonium (CAS :7173-51-5) : 0,3% (p/p)
Activ substances	Didecylidimethylammonium chloride (CAS :7173-51-5) : 0,3% (w/w)
Période d'essai	Du 22/02/17 au 24/02/17
Period of analysis	From 22/02/17 to 24/02/17

5. Méthode expérimentale (Experimental Method)

5.1. Conditions expérimentales (Experimental conditions)

Température de l'essai <i>Test temperature</i>	20°C ± 1°C
Temps de contact <i>Contact Time</i>	2 minutes ± 10s
Diluant de la formule lors des essais <i>Diluent of the formula used during the test</i>	Eau distillée <i>Distilled water</i>
Apparence de la formule et de ses dilutions <i>Appearance formula dilutions</i>	Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai <i>Preparation physically homogeneous and stable during test</i>
Souche testée <i>Tested strain</i>	○ Candida albicans DSM 1386 (équivalent ATCC 10231)
Pourcentage de spores échinulées <i>Spiny spores percentage</i>	Non concerné <i>Not concerned</i>
Substance interférente <i>Interfering substance</i>	Albumine bovine à 3g/l + 3ml/l érythrocytes <i>3 g/l BSA + 3ml/l erythrocytes</i>
Stabilité du mélange formule et substances interférentes <i>Stability of the mixture (formula and interfering substance)</i>	Absence de précipité pendant l'essai <i>Precipitate absent throughout the test</i>
Température d'incubation <i>Incubation temperature</i>	30°C ± 1°C <i>30°C ± 1°C</i>

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

Nature du neutralisant utilisé <i>Nature of the neutralizer agent used</i>	○ Formule : F004 ○ Formula : F004
Neutralisant ajouté au milieu de dénombrement <i>Neutralizer agent added to the counting medium</i>	∅ ∅

6. Résultats (Results)

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

Vérification de la méthodologie et validation de la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **80%** de la solution de désorption (formule 2419) des lingettes WIP'ANIOS Excel soumise à l'essai.

*Checking of the method and validation of the method by dilution neutralisation for the **80%** test concentration of the desorption solution (formula 2419) of the wipes WIP'ANIOS Excel to be tested.*

Souche testée	Nombre de cellules viables (UFC/ml) (Number of viable cells(CFU/ml))							
	Suspension d'essai	Suspension d'essai / 10	Suspension de validation	Suspension de validation / 10	Suspension de validation B	Validation conditions expérimentales	Non toxicité du neutralisant	Inactivation par dilution neutralisation
Tested strain	Test suspension	Test suspension / 10	Validation suspension	Validation suspension / 10	Validation suspension B	Experimental conditions control	Neutralizer toxicity control	Dilution neutralization control
	N	N ₀	N _V	N _{V0}	N _{VB}	A	B	C
Candida albicans	1,6.10 ⁷	1,6.10 ⁶	4,2.10 ²	4,2.10 ¹	4,3.10 ⁴	4,1.10 ¹	3,9.10 ¹	4,5.10 ¹

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

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

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

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

N_{V0} est compris entre 3 x 10¹ UFC/ml et 1.6 x 10² UFC/ml
is comprised between 3 x 10¹ CFU/ml and 1.6 x 10² CFU/ml

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

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

A,C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x N_{V0}
are higher or equal to 0.5 x N_{V0}

La neutralisation est validée avec la méthode par dilution neutralisation pour la concentration d'essai de **80%** de la solution de désorption (formule 2419) des lingettes WIP'ANIOS Excel soumise à l'essai et pour les souches soumises à l'essai.

*The neutralization is validated with the method by dilution neutralisation for the **80%** test concentration of the desorption solution (formula 2419) of the wipes WIP'ANIOS Excel and for the tested strains.*

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

Souche testée	Nombre de cellules viables (UFC/ml) pour le mélange d'essai (Na) pour les concentrations de : %(v/v)		
Tested strain	Number of the viable cells (CFU/ml) for the test mixture (Na) for the concentrations of : %(v/v)		
	20	40	80
Candida albicans	$>3,3.10^4$	$>3,3.10^4$	$<1,4.10^2$

	Réduction du nombre de cellule viables à la concentration d'essai. R = Log N0 - Log Na		
	Reduction of the number of viable cells at the test concentration. R = Log N0 - Log Na		
	20	40	80
Candida albicans	$< 1,7$	$< 1,7$	$\geq 4,1$

7. Conclusion (Conclusion)

Selon la norme NF EN 13624 (novembre 2013), la solution de désorption (formule **2419**) des lingettes WIP'ANIOS Excel, lorsqu'elle est diluée à la concentration de **80,00 %** (v/v) dans de l'eau distillée, présente une activité levuricide en **2 minutes** de contact à 20°C en conditions de saleté, vis-à-vis de la souche de référence pour la désinfection des surfaces : **Candida albicans**.

According to the European standard NF EN 13624 (november 2013), the desorption solution (formula **2419**) of the wipes WIP'ANIOS Excel, when diluted at the concentration of **80,00%** (v/v) in distilled water, presents a yeasticidal activity in a **2 minute** contact time at 20°C in dirty conditions against the referenced strain for the surface disinfection : **Candida albicans**.

8. Annexe - Données expérimentales (Experimental Data)

Candida albicans - 2 minutes

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
NORME EN 13624 méthode par
dilution-neutralisation Novembre 2013

Réf : FS311E
Date : 12/10/15

FICHE DE RESULTATS D'ESSAIS
NORME EN 13624 méthode par
dilution-neutralisation Novembre 2013

Réf : FS311E
Date : 12/10/15

Numéro d'identification: **1046 17 02 13624** Date : **22.02.17**
Type de produit testé : Surface
Méthode utilisée : Classique

Numéro d'identification: **1046 17 02 13624**

Nv	C	$\frac{840}{2}$	=	4,2E+02	N ₀ =	4,2E+01	UFC/mL
NvB	C	$\frac{86000}{2}$	=	4,3E+04			UFC/mL
A	C	$\frac{81}{2}$	=	4,1E+01			UFC/mL
B	C	$\frac{77}{2}$	=	3,9E+01			UFC/mL
C	C	$\frac{89}{2}$	=	4,5E+01			UFC/mL

Dénombrement de la suspension bactérienne:

Souche	Dénombrement : 14 à 330 UFC/boite			
	Dilution -5	Dilution -6	Dilution -5	Dilution -6
Candida albicans DSM 1386 (équivalent ATCC 10231)	170	14	170	14
	146	17	146	17
	Lecture intermédiaire 20 à 24 heures		Lecture 42 à 48 heures	

Interprétation:
C : somme des colonies dénombrées sur toutes les boîtes considérées..... 347 N est compris entre 1,5.10⁷ UFC/ml et 5.10⁷ UFC/ml 1,6E+07 Oui
n1 : nombre de boîtes prises en compte à la première dilution 2 Nv est compris entre 3.10² et 1.6.10³ 4,2E+02 Oui
n2 : nombre de boîtes prises en compte à la deuxième dilution 2 NvB est compris entre 3.10⁶ et 1.6.10⁵ 4,3E+04 Oui
d : facteur de dilution correspondant à la première dilution prise en compte :10⁵ Nv0 est compris entre 3.10¹ et 1.6.10² 4,2E+01 Oui
Moyenne pondérée : $\frac{C}{(n1 + 0,1 \times n2) \times d} = \frac{347}{(2 + 0,1 \times 2) \times 10^5} = 1,6E+07$ UFC/ml N0=N10= 1,6E+06 A et C sont supérieurs ou égaux à 0,5 x Nv0 4,1E+01 et 4,5E+01 Oui
B est supérieur ou égal à 0,0005 x NvB 3,9E+01 Oui
La neutralisation est validée : Oui

$$5 < Q = \frac{\bullet \text{ dil} - 5/2}{\bullet \text{ dil} - 6/2} < 15 = \frac{158}{15,5} = 10,2$$

Essai de validation : Temps de contact : **NL** 2' Essai : Temps de contact : **NL** 2'

	14 à 330 UFC/boite		14 à 330 UFC/boite		Volumé pipeté de produit pour fiole de 100 ml		25		50		-	
					Concentration produit %		20		40		80	
Nv : témoin suspension	39	45	39	45	0	+	+	+	+	0	0	
NvB : témoin suspension B	44	42	44	42	-1	+	+	+	+	0	0	
A : témoin des conditions expérimentales	39	42	39	42								
B : témoin de non-toxicité du neutralisant	38	39	38	39	0	+	+	+	+	0	0	
C : essai de l'inactivation par dilution neutralisation à 80 %	43	46	43	46	-1	+	+	+	+	0	0	
	Lecture intermédiaire 20 à 24 heures		Lecture 42 à 48 heures									
Calculs	$Nv = \frac{C \times 10}{n}$ (en UFC/ml)		$N_{v0}, A, B, C = \frac{C}{n}$ (en UFC/ml)		$Na = \frac{C \times 10}{n} \times \text{dilution}$		>	3,3E+04	>	3,3E+04	<	1,4E+02
	$NvB = \frac{C \times 1000}{n}$ (en UFC/ml)				Log N0 = 6,2	Log Na =		4,5		4,5		2,1
					Calcul de réduction = Log N _v - Log Na = Log R		<	1,7	<	1,7	>	4,1

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

SUITE A DONNER :
VISA : Conforme

Demande n° 35188

Laboratoires ANIOS
Laboratoire de Microbiologie

Study n° 35188 GB

Page 7 of 8

Direction Scientifique

Liste des signataires du document



Nom_utilisateur : Chrystèle Pluchart
Titre : Responsable Laboratoire de Microbiologie
Date : vendredi, 24 février 2017, 13:50 Paris
Signification : Validation de document



Nom_utilisateur : Katharina Pegeot
Titre : Technicienne Laboratoire de Microbiologie
Date : vendredi, 24 février 2017, 13:51 Paris
Signification : Validation de document

N Demande : 35188
Rapport d'essai : A 17 20 13624
Etude : NF EN 13624
Date du document : 24/02/2017



Laboratoire de Virologie – UPRES EA3610
CHU de Lille – Université de Lille
Centre Paul Boulanger, Hôpital A. Calmette
Bd du Pr Jules Leclercq
59037 Lille Cedex
France
Tel : (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30
Fax : (33) 03.20.44.48.95
Email : didier.hober@chru-lille.fr

N° de rapport : 2019/E026-072
Date d'édition : 18/11/2019

RAPPORT D'ESSAI / TRIAL REPORT

DETERMINATION DE L'ACTIVITE VIRUCIDE DE LA FORMULE 2419

**Selon la Norme NF EN 14476+A1 (Octobre 2015)
Vis à vis du Virus SV-40**

EVALUATION OF THE VIRUCIDAL EFFECT OF THE FORMULA 2419

**Test method according to the standard NF EN 14476+A1 (October 2015)
Against the SV-40 Virus**

Rapport pour / Report submitted to:

**LABORATOIRES ANIOS SAS
Pavé du moulin
59260 Lille Hellemmes
France**

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci-après) soumis à l'essai. Les résultats ne valent que pour l'échantillon soumis au dosage et tel qu'il a été reçu.

This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval. The results are only valid for the sample submitted to the dosage and as received.

Ce document comporte 10 pages numérotées et 2 annexes de 4 pages.
This report is made of 10 numbered pages and 2 annexes of 4 pages.

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

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

Rapport/Report n° 2019/E026-072 - Page 1/10

I- Introduction / Introduction

A la demande de la société Laboratoires ANIOS SAS, la Formule **2419** a été évaluée pour ses propriétés inactivatrices contre le Virus simien SV-40. L'essai a été effectué, sans modification, selon la norme NF EN 14476+A1 : Antiseptiques et désinfectants chimiques – Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical – Méthode d'essai et prescriptions (Phase 2/ Etape 1) – Octobre 2015.

*As requested by the Laboratoires ANIOS SAS Society, the Formula **2419** was evaluated for its virucidal inactivating properties against the Simian virus SV-40. The testing was carried out, without modification, in accordance with the standard of NF EN 14476+A1: Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (Phase 2/ Step 1) – October 2015.*

II- Identification du produit / Identification of sample

- Nom du produit / *Name of the product* : Formule 2419 / *Formula 2419*
- Fabricant / *Manufacturer* : Laboratoires ANIOS SAS
- N° de lot – N° de formule / *Batch N° - Formula N°* : B18604S
- Date d'échantillonnage (réalisé sous la responsabilité du client) / *Date of sampling (carried out under the responsibility of the customer)* : 07/2019
- Date de réception / *Date of receipt* : 16/10/2019
- Aspect du produit / *Appearance of the product* : Liquide limpide et incolore / *Clear and colourless liquid*
- Substances actives / *Active substances* :
 - Chlorure de didécylidiméthylammonium / *Didecyldimethylammonium chloride* (CAS : 7173-51-5) : 3 mg/g
- pH du produit / *pH value of the product* : Non Dilué (20°C) pH=4,80 / *Undiluted (20°C) pH=4.80*
- Conditions de stockage / *Storage conditions* : Température ambiante, à l'abri de la lumière / *Room temperature and darkness*
- Application / *Use* : Nettoyage et désinfection des surfaces et des dispositifs médicaux / *Cleaning and disinfection of surfaces and medical devices*

III- Conditions expérimentales / Experimental conditions

- Période d'essai / *Period of analysis* : du 24/10/19 au 12/11/19 / *Through 24/10/19 to 12/11/19*
- Température d'essai / *Test temperature* : 20°C +/- 1°C
- Concentrations en produit testées / *Concentrations of the test product* : 80%, 40% et / *and 1%*
- Temps de contact / *Contact times* : 5 minutes / *minutes*
- Diluant du produit / *Diluent of the product* : Eau pour préparation injectable / *Water for injection*
- Apparence de la formule et de ses dilutions / *Appearance of the formula and its dilutions* : Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai / *Preparation physically homogeneous and stable during test*
- Substances interférentes / *Interfering substances* : Solution de sérum albumine bovine sérique (SAB) et hématies de mouton à la concentration finale dans l'essai de 3 g de SAB et 3 ml d'hématies de mouton par litre / *Bovine serum albumin (BSA) and sheep erythrocytes at final concentration of 3 g of BSA and 3 ml of sheep erythrocytes per liter in test*

Rapport/Report n° 2019/E026-072 - Page 2/10

- Stabilité du mélange (formule et substances interférentes) / *Stability of the mixture (formula and interfering substance)* : Absence de précipité pendant l'essai / *Precipitate absent throughout the test*

- Méthode pour stopper l'activité du produit / *Procedure to inactivate the product* : Filtration sur gel / *Gel filtration*

IV- Matériel et Méthodes / Material and methods

1- Matériel / Material

a) Virus / Virus

Le virus simien 40 (SV-40) (ATCC VR-305) a été fourni par la société LGC Promochem (Molsheim, France).

The Simian Virus 40 (SV-40) (ATCC VR-305) was obtained from LGC Promochem (Molsheim, France).

- Numéro de lot interne / *internal lot number* : Lot 281112(1) (passage 1)
- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay supernatant* : $10^{8,00}$ DICT₅₀/ml / $10^{8,00}$ TCID₅₀/ml

b) Lignée cellulaire / Cell line

La lignée cellulaire BS-C-1 (ATCC CCL-26) utilisée pour cultiver le virus SV-40 provient de l'European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

The BS-C-1 cell line (ATCC CCL-26) used with the SV-40 Virus was obtained from the European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

- Nombre de passage / *passage number* : Subculture P69-06

2- Méthodes d'essai / Methods

a) Titrage viral / Determination of the viral infectivity

Les suspensions virales traitées ou non traitées par le produit à tester sont diluées en série de 10^{-1} à 10^{-8} , dans du Milieu MEM de Eagle modifié Dulbecco (DMEM, Invitrogen, France) avec 2% de sérum de veau fœtal (SVF, Invitrogen, France) glacé. 0,1 ml de chaque dilution est ensuite transféré dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules BS-C-1, en commençant par la dilution la plus élevée. Après une heure d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est additionné à chaque puits. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait au microscope inversé après 21 jours d'incubation. Le calcul du titre de l'infectivité virale (\log_{10} DICT₅₀/ml) est déterminé par la méthode Spearman-Karber.

The viral suspensions treated or non-treated with the product were diluted from 10^{-1} to 10^{-8} in ice-cold Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Invitrogen, France) containing 2% fetal calf serum (FCS, Invitrogen, France). 0.1 ml of each dilution was transferred, beginning with the highest dilution, into six wells of a 96 wells microtitre plate with an established BS-C-1 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytopathic effect (CPE) was read by using an inverted microscope after 21 days in a 5% CO₂-atmosphere. Calculation of estimated virus concentration (\log_{10} TCID₅₀/ml) was carried out by the Spearman-Karber method.

b) Détermination de la concentration subcytotoxique du produit / *Determination of the product cytotoxicity*

Les solutions d'essai du produit additionnées de $1/10^{\text{ème}}$ de la substance interférente et de $1/10^{\text{ème}}$ d'eau dure sont diluées de 10^{-1} à 10^{-5} dans du milieu de culture glacé avec 2% SVF. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 4 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules BS-C-1. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 7 jours en présence de 5% de CO₂.

For determination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of hard water, were diluted from 10^{-1} to 10^{-5} with ice-cold culture medium containing 2% FCS. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 4 wells of a 96 wells microtitre plate with an established BS-C-1 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after 7 days in a 5% CO₂-atmosphere.

c) Elimination de la cytotoxicité du produit / *Elimination of the product cytotoxicity*

0,1ml des solutions d'essai du produit additionnées de $1/10^{\text{ème}}$ de la substance interférente et de $1/10^{\text{ème}}$ d'eau dure, sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR (GE Healthcare). Les filtrats sont ensuite dilués de 10^{-1} à 10^{-3} dans du milieu DMEM à 2% de SVF glacé. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 4 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules BS-C-1. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture DMEM 2% est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 7 jours à 37°C en présence de 5% de CO₂.

For elimination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 0.1 ml of 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of hard water, were filtrated on Microspin S-400 HR column (GE Healthcare). Then filtrates were diluted from 10^{-1} to 10^{-3} with ice-cold DMEM + 2% FCS. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 4 wells of a 96 wells microtitre plate with an established BS-C-1 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after incubation during 7 days in a 5% CO₂-atmosphere.

d) Sensibilité des cellules au virus / *Cell sensitivity to the virus*

Un titrage comparatif du virus est réalisé sur les cellules BS-C-1 traitées ou non par le désinfectant afin de tester la réduction de sensibilité des cellules au virus en présence du produit. 0,1 ml de la plus basse dilution apparemment non cytotoxique du désinfectant ou de PBS est distribué dans 8 x 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules BS-C-1. Après 1 h à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de virus dilués de 10^{-1} à 10^{-8} dans du milieu de culture avec 2% de SVF, est distribué en parallèle sur les cellules traitées ou non traitées. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait après 21 jours d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂ et le titre viral est calculé.

A comparative virus titration is performed on BS-C-1 cells that have or have not been treated with the disinfectant to check the reduction of the cells sensitivity to the virus. 0.1 ml of the lowest apparently non-cytotoxic dilution of the disinfectant or of PBS are distributed onto 8 x 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established BS-C-1 monolayer. After 1 h at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere, 0.1 ml of virus diluted from 10^{-1} to 10^{-8} with culture medium containing 2% FCS was added on treated or untreated cells in parallel. The

cytopathic effect (CPE) was read after incubation during 21 days at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere and the virus titer was calculated.

e) *Mesure de l'activité virucide du produit / Determination of the virucidal activity*

Les essais de virucidie du produit consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 1 volume de substance interférente et 8 volumes de la solution d'essai. Après différents temps de contact à une température de 20°C +/- 1°C, 0,1ml de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat est évaluée par la technique de titrage sur cellule BS-C-1.

L'activité virucide du produit test est mesurée en calculant la chute du titre viral obtenu après traitement par comparaison avec un témoin de titrage obtenu en absence de désinfectant. La différence est exprimée en facteur de réduction (FR).

To test the virucidal activity of the product 1 part by volume of virus was incubated at 20°C +/- 1°C with 1 part by volume of interfering substances and 8 parts by volume of the solution of disinfectant. After different time of contacts, 0.1ml of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on BS-C-1 cell.

The virucidal activity of the test disinfectant was evaluated by calculating the decrease in titre in comparison with the control titration without disinfectant. The difference is given as reduction factor (RF).

f) *Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Huit Volumes des solutions d'essai du produit sont additionnés à 1 volume de suspension de virus et 1 volume de substance interférente. Immédiatement après la préparation du mélange, au temps 0, 0,1ml du mélange sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR. Les filtrats dilués au 1/10^{ème} dans du milieu de culture sont ensuite incubés pendant 30 min dans un bain de glace fondante. Puis les suspensions virales sont diluées de 10⁻² à 10⁻⁸ dans du milieu de culture glacé et la quantité de virus résiduel est évaluée par la technique de titrage sur cellule BS-C-1.

Eight parts by volume of solutions of disinfectant are mixed with 1 part by volume of interfering substances and 1 part by volume of virus. Immediately after preparation of the mixture, at time 0, 0.1ml of the mixtures are filtered on Microspin S-400 HR column. Then the filtrates are mixed with nine parts by volume of culture medium and the mixtures are leaved in an ice bath for 30 min. Then the viral suspensions were diluted from 10⁻² to 10⁻⁸ in ice-cold culture medium and the quantity of residual virus was evaluated by titration on BS-C-1 cell.

g) *Inactivation du virus au Formaldéhyde à 0,7% (m/v) / Inactivation of the virus with 0.7% (w/v) Formaldehyde*

La suspension de virus a été soumise à des essais virucides vis-à-vis du Formaldéhyde à 0,7% (m/v) comme substance de référence pour l'inactivation virale afin de contrôler l'uniformité du comportement de notre souche virale aux agents chimiques au cours du temps.

Les essais consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 4 volumes de solution tamponnée au phosphate (PBS, Invitrogen, France) et 5 volumes de Formaldéhyde à 1,4% (m/v). Après des temps de contact de 30 min et 60 min à une température de 20°C +/- 1°C, un aliquote de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat a été évaluée par la technique de titrage sur cellule BS-C-1.

The suspension of virus was subjected to virucidal tests against 0.7% (w/v) Formaldehyde solution as reference substance for viral inactivation in order to control the uniformity of the behaviour of our virus stock to the chemical agents during the time.

To test the virucidal activity 1 part by volume of virus was incubated with 4 parts by volume of phosphate buffered saline (PBS, Invitrogen, France) and 5 parts by volume of 1.4% (w/v) Formaldehyde. After incubation time of 30 min and 60 min at 20°C +/- 1°C, an aliquot of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on BS-C-1 cell.

V- Résultats / Results

1) Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule **2419** et du filtrat sur colonne Microspin / *Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula 2419 and filtrate on Microspin column :*

Méthode / Method	Dilution subcytotoxique / subcytotoxic dilution			
	Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	Formule 2419 (5%) / Formula 2419 (5%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Technique par dilution / Dilution method	1/1 000	1/1 000	1/10	1/10 000
Filtration sur Microspin / Microspin filtration	1/10	1/10	1/10	1/10

2) Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule **2419** ou le Formaldéhyde à 0,7% / *Evaluation of the cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula 2419 or 0.7% Formaldehyde*

	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)	
	Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Cellules non traitées / Non treated cells	7.33 +/- 0.27	7.33 +/- 0.27
Cellules traitées / Treated cells	7.50 +/- 0.00 (0.00 +/- 0.54)	7.50 +/- 0.00 (0.00 +/- 0.54)

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

3) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity

Produit / Product	Concentration	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR)/ Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)
Témoin virus / Virus control	n.a.	6.17 +/- 0.21
Formule 2419 / Formula 2419	80%	4.33 +/- 0.17 (1.84 +/- 0.54)
Formule 2419 / Formula 2419	40%	5.00 +/- 0.22 (1.17 +/- 0.61)
Formule 2419 / Formula 2419	1%	5.50 +/- 0.00 (0.67 +/- 0.42)
Témoin virus / Virus control	n.a.	5.83 +/- 0.21
Formaldéhyde / Formaldehyde	0.7%	6.00 +/- 0.22 (0.00 +/- 0.61)

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

4) Evaluation de l'effet virucide de la Formule 2419 / Evaluation of the virucidal activity of the Formula 2419:

Tableau des résultats de virucidie de la Formule 2419 en conditions de saleté sur le virus SV-40

Table on the virucidal activity of the Formula 2419 in dirty conditions on the SV-40 Virus

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)		>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			<0.25	5	
Témoin virus / Virus control	n.a.	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	6.33 +/- 0.17	6.33 +/- 0.27	n.a.
Formule 2419 / Formula 2419	80%		4.50 +/- 0.00 (1.83 +/- 0.33)	1.00 +/- 0.22 (5.33 +/- 0.56)	≥5 min
Formule 2419 / Formula 2419	40%		5.00 +/- 0.27 (1.33 +/- 0.63)	3.67 +/- 0.17 (2.66 +/- 0.47)	>5 min
Formule 2419 / Formula 2419	1%		5.50 +/- 0.00 (0.83 +/- 0.33)	5.50 +/- 0.00 (0.83 +/- 0.33)	>5 min

Tableau des résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% sur le virus SV-40

Table on the virucidal activity of 0.7% Formaldehyde on the SV-40 Virus

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)			>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			<0.25	30	60	
Témoin virus / Virus control	n.a.	PBS	6.00 +/- 0.27	n.t.	6.00 +/- 0.22	n.a.
Formaldéhyde / Formaldehyde	0.7%		5.83 +/- 0.21 (0.17 +/- 0.68)	5.33 +/- 0.31 (0.67 +/- 0.82)	4.83 +/- 0.21 (1.17 +/- 0.68)	>60 min

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

n.t. : non soumis à l'essai / non tested

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

VI- Conclusion / Conclusion

La Formule **2419** est active à la concentration de 80% après un temps de contact de 5 minutes à 20°C, selon la norme NF EN 14476+A1 (Octobre 2015), en conditions de saleté vis-à-vis du virus SV-40

*The Formula **2419** is active at the concentrations of 80% after 5 minutes of exposure time at 20°C, according to the standard NF EN 14476+A1 (October 2015), in dirty conditions against the SV-40 Virus.*

Lille, le 18 novembre 2019

Responsable technique

Chef de Service



Dr. P. E. LOBERT

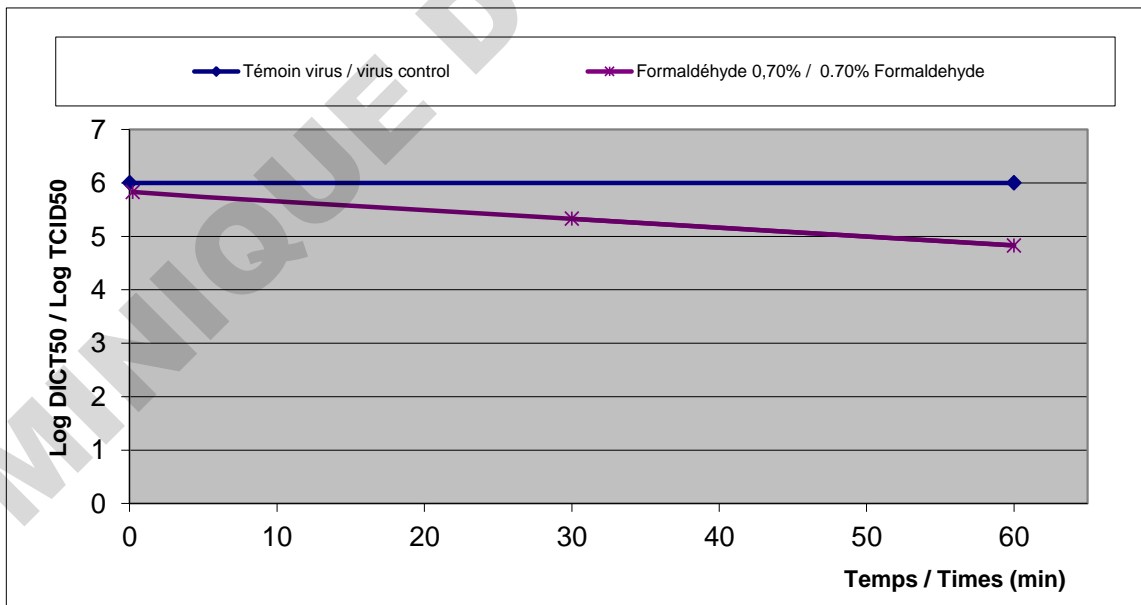
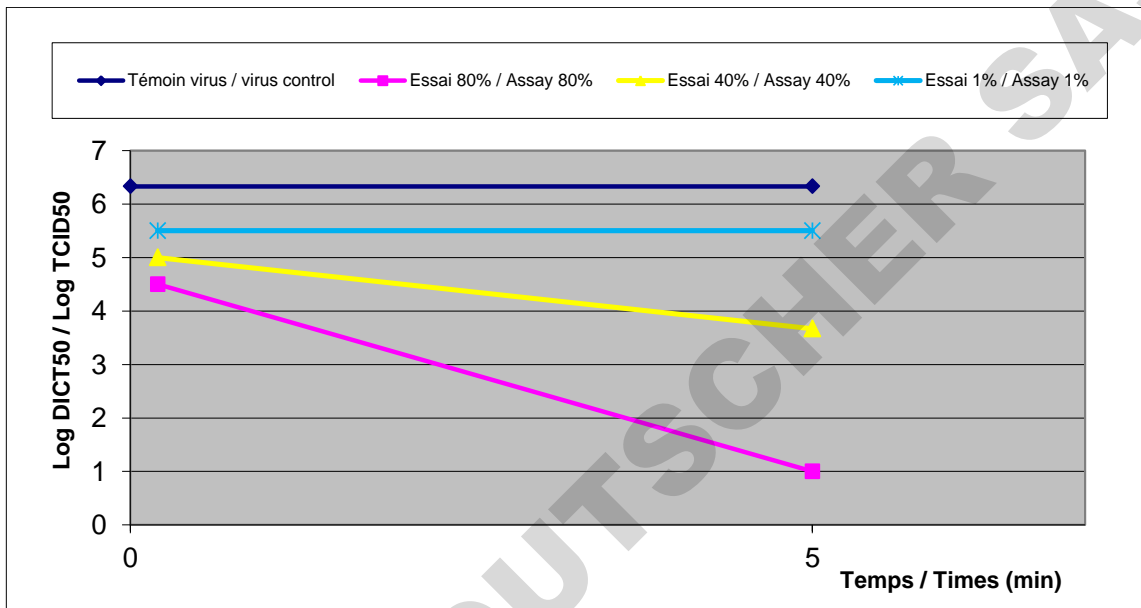
Pr. D. HOBER

Fin du rapport (complet) / *End of the report (complete)*

Annexe 1 / Annex 1 :

Représentation graphique des résultats de virucidie de la Formule **2419** en conditions de saleté et du Formaldéhyde à 0,7% vis-à-vis du virus SV-40

*Figure of the virucidal activity of the Formula **2419** in dirty conditions and 0.7% Formaldehyde against the SV-40 Virus*



Annexe 2 / Annex 2 :

Données brutes relatives aux tests réalisés
Raw data about the assays

- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay supernatant :*

Produit / <i>Product</i>	Dilution (log) ^(a)							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Suspension d'essai <i>/ essai supernatant</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0

- Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule 2419 et du filtrat sur colonne Microspin / *Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula 2419 and filtrate on Microspin column :*

Produit <i>/ Product</i>	Méthode <i>/ Method</i>	Dilution (log)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Formule 2419 (80%) <i>/ Formula 2419 (80%)</i>	Technique par dilution <i>/ Dilution method</i>	Tox.	Tox.	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin <i>/ Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formule 2419 (40%) <i>/ Formula 2419 (40%)</i>	Technique par dilution <i>/ Dilution method</i>	Tox.	Tox.	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin <i>/ Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formule 2419 (1%) <i>/ Formula 2419 (1%)</i>	Technique par dilution <i>/ Dilution method</i>	0	0	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin <i>/ Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formaldéhyde (0,7%) <i>/ Formaldehyde (0.7%)</i>	Technique par dilution <i>/ Dilution method</i>	Tox.	Tox.	Tox.	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin <i>/ Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

Légende / legend :

Tox. : Toxique / Toxic

Tox.* : Toxicité partielle / Partial toxicity

n.t. : non soumis à l'essai / non tested

- Résultats de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule 2419 ou le Formaldéhyde à 0,7% / *Cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula 2419 or 0.7% Formaldehyde*

Produit / Product	Méthode / Method	Dilution (log) ^(a)							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 3	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Produit / Product	Dilution (log) ^(a)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	3 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
Témoin virus / Virus control	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 4	0 0
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie de la Formule 2419 / *Virucidal activity of the Formula 2419*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)								
			1	2	3	4	5	6	7	8	
Témoin virus / Virus control	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0	0 0 0	
5		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 3	4 0 0	0 0 0		
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 3	0 0 0	0 0 0		
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)		<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 3	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
5		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
		4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 0	4 0 0	0 0 0	0 0 0		
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
5	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0			
	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0			
Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
5	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0			
	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0			

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% / *Virucidal activity of 0.7% Formaldehyde*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	PBS	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 4	4 0 0	0 0 0
60		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 0	0 0 0	0 0 0	
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)		<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 0	0 0 0	0 0 0
30	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 3	3 0 0	0 0 0	0 0 0		
	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 0	0 4 0	0 0 0	0 0 0		
60	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 3	0 0 0	0 0 0	0 0 0		

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.



Laboratoire de Virologie EA3610
CHU de Lille – Université de Lille
Centre Paul Boulanger, Hôpital A. Calmette
Bd du Pr Jules Leclercq
59037 Lille Cedex
France
Tel : (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30
Fax : (33) 03.20.44.48.95
Email : didier.hober@chru-lille.fr

PPA-FE-URV-009. V4 du 03/01/2019



N° de rapport : 2019/E026-067
Date d'édition : 14/11/2019

RAPPORT D'ESSAI / TRIAL REPORT

DETERMINATION DE L'ACTIVITE VIRUCIDE DE LA FORMULE 2419

**Selon la Norme NF EN 14476+A1 (Octobre 2015)
Vis à vis du Norovirus Murin**

EVALUATION OF THE VIRUCIDAL EFFECT OF THE FORMULA 2419

**Test method according to the standard NF EN 14476+A1 (October 2015)
Against the Murine Norovirus**

Rapport pour / Report submitted to:

**LABORATOIRES ANIOS SAS
Pavé du moulin
59260 Lille Hellemmes
France**

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci-après) soumis à l'essai. Les résultats ne valent que pour l'échantillon soumis au dosage et tel qu'il a été reçu.

This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval. The results are only valid for the sample submitted to the dosage and as received.

Ce document comporte 10 pages numérotées et 2 annexes de 4 pages.

This report is made of 10 numbered pages and 2 annexes of 4 pages.

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

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

Rapport/Report n° 2019/E026-067 - Page 1/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

I- Introduction / Introduction

A la demande de la société Laboratoires ANIOS SAS, la Formule **2419** a été évaluée pour ses propriétés inactivatrices contre la souche S-99 du Norovirus Murin. L'essai a été effectué, sans modification, selon la norme NF EN 14476+A1 : Antiseptiques et désinfectants chimiques – Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical – Méthode d'essai et prescriptions (Phase 2/ Etape 1) – Octobre 2015.

*As requested by the Laboratoires ANIOS SAS Society, the Formula **2419** was evaluated for its virucidal inactivating properties against Murine Norovirus S-99 strain. The testing was carried out, without modification, in accordance with the standard of NF EN 14476+A1: Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (Phase 2/ Step 1) – October 2015.*

II- Identification du produit / Identification of the sample

- Nom du produit / Name of the product : Formule 2419 / Formula 2419
- Fabricant / Manufacturer : Laboratoires ANIOS SAS
- N° de lot – N° de formule / Batch N° - Formula N° : B18604S
- Date d'échantillonnage (réalisé sous la responsabilité du client) / Date of sampling (carried out under the responsibility of the customer) : 07/2019
- Date de réception / Date of receipt : 16/10/2019
- Aspect du produit / Appearance of the product : Liquide limpide et incolore / Clear and colourless liquid
- Substances actives / Active substances :
 - Chlorure de didécylidiméthylammonium / Didecylidimethylammonium chloride (CAS : 7173-51-5) : 3 mg/g
- pH du produit / pH value of the product : Non Dilué (20°C) pH=4,80 / Undiluted (20°C) pH=4.80
- Conditions de stockage / Storage conditions : Température ambiante, à l'abri de la lumière / Room temperature and darkness
- Application / Use : Nettoyage et désinfection des surfaces et des dispositifs médicaux / Cleaning and disinfection of surfaces and medical devices

III- Conditions expérimentales / Experimental conditions

- Période d'essai / Period of analysis : du 23/10/19 au 28/10/19 / Through 10/23/19 to 10/28/19
- Température d'essai / Test temperature : 20°C +/- 1°C
- Concentrations en produit testées / Concentrations of the test product : 80%, 40% et / and 1%
- Temps de contact / Contact times : 15 et / and 30 minutes / minutes
- Diluant du produit / Diluent of the product : eau pour préparation injectable / water for injection
- Apparence de la formule et de ses dilutions / Appearance of the formula and its dilutions : Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai / Preparation physically homogeneous and stable during test
- Substances interférentes / Interfering substances : Solution de sérum albumine bovine sérique (SAB) et hématies de mouton à la concentration finale dans l'essai de 3 g de SAB

Rapport/Report n° 2019/E026-067 - Page 2/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

et 3 ml d'hématies de mouton par litre / *Bovine serum albumin (BSA) and sheep erythrocytes at final concentration of 3 g of BSA and 3 ml of sheep erythrocytes per liter in test*

- Stabilité du mélange (formule et substances interférentes) / *Stability of the mixture (formula and interfering substance)* : Absence de précipité pendant l'essai / *Precipitate absent throughout the test*

- Méthode pour stopper l'activité du produit / *Procedure to inactivate the product* : Filtration sur gel / *Gel filtration*

IV- Matériel et Méthodes / Material and methods

1- Matériel / Material

a) Virus / Virus

La souche S-99 de Norovirus Murin, provient du Friedrich-Loeffler Institut (Greifswald-Insel Riems, Allemagne).

The Murine Norovirus strain S-99 was obtained from the Friedrich-Loeffler Institut (Greifswald-Insel Riems, Deutschland).

- Numéro de lot interne / *internal lot number* : Lot 290818-01CR (passage 02)

- Titre de la suspension d'essai / *Viral titre of the assay supernatant* : $10^{9,50}$ DICT₅₀/ml / $10^{9,50}$ TCID₅₀/ml

b) Lignée cellulaire / Cell line

La lignée cellulaire Raw 264.7 (ATCC TIB-71) utilisée pour cultiver le Norovirus Murin provient de l'European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

The Raw 264.7 cell line (ATCC TIB-71) used with the Murine Norovirus was obtained from the European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

Nombre de passage / *passage number* : Subculture P19-08

2- Méthodes d'essai / Methods

a) Titrage viral / Determination of the viral infectivity

Les suspensions virales traitées ou non traitées par le produit à tester sont diluées en série de 10^{-1} à 10^{-8} , dans du Milieu MEM de Eagle (EMEM, Invitrogen, France) avec 2% de sérum de veau fœtal (SVF, Invitrogen, France) glacé. 0,1 ml de chaque dilution est ensuite transféré dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules Raw 264.7, en commençant par la dilution la plus élevée. Après une heure d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est additionné à chaque puits. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait au microscope inversé après 5 et 7 jours d'incubation. Le calcul du titre de l'infectivité virale (\log_{10} DICT₅₀/ml) est déterminé par la méthode Spearman-Kärber.

The viral suspensions treated or non-treated with the product were diluted from 10^{-1} to 10^{-8} in ice-cold Eagle's Medium (EMEM, Invitrogen, France) containing 2% fetal calf serum (FCS, Invitrogen, France). 0.1 ml of each dilution was transferred, beginning with the highest dilution, into six wells of a 96 wells microtitre plate with an established Raw 264.7 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytopathic effect (CPE) was read by using an

Rapport/Report n° 2019/E026-067 - Page 3/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

inverted microscope after 5 and 7 days in a 5% CO₂-atmosphere. Calculation of estimated virus concentration (log₁₀ TCID₅₀/ml) was carried out by the Spearman-Kärber method.

b) Détermination de la concentration subcytotoxique du produit / *Determination of the product cytotoxicity*

Les solutions d'essai du produit additionnées de 1/10^{ème} de la substance interférente et de 1/10^{ème} d'eau dure sont diluées de 10⁻¹ à 10⁻⁵ dans du milieu de culture glacé. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 4 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules Raw 264.7. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 5 et 7 jours à 37°C en présence de 5% de CO₂.

For determination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of hard water, were diluted from 10⁻¹ to 10⁻⁵ with ice-cold culture medium. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 4 wells of a 96 wells microtitre plate with an established Raw 264.7 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after 5 and 7 days at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere.

c) Elimination de la cytotoxicité du produit / *Elimination of the product cytotoxicity*

0,1ml des solutions d'essai du produit additionnées de 1/10^{ème} de la substance interférente et de 1/10^{ème} d'eau dure, sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR (GE Healthcare). Les filtrats sont ensuite dilués de 10⁻¹ à 10⁻³ dans du milieu de culture glacé. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 4 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules Raw 264.7. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 5 et 7 jours à 37°C en présence de 5% de CO₂.

For elimination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 0.1 ml of 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of hard water, were filtrated on Microspin S-400 HR column (GE Healthcare). Then filtrates were diluted from 10⁻¹ to 10⁻³ with ice-cold culture medium. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 4 wells of a 96 wells microtitre plate with an established Raw 264.7 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after 5 and 7 days at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere.

d) Sensibilité des cellules au virus / *Cell sensitivity to the virus*

Un titrage comparatif du virus est réalisé sur les cellules Raw 264.7 traitées ou non par le désinfectant afin de tester la réduction de sensibilité des cellules au virus en présence du produit. 0,1 ml de la plus basse dilution apparemment non cytotoxique du désinfectant ou de PBS est distribué dans 8 x 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules Raw 264.7. Après 1 h à 37°C en présence de 5% de CO₂, le milieu de culture est éliminé des puits et 0,1 ml de virus dilués de 10⁻¹ à 10⁻⁸ dans du milieu de culture à 2% de SVF, est distribué en parallèle sur les cellules traitées ou non traitées. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait après 5 et 7 jours d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂ et le titre viral est calculé.

A comparative virus titration is performed on Raw 264.7 cells that have or have not been treated with the disinfectant to check the reduction of the cells sensitivity to the virus. 0.1 ml of the lowest apparently non-

Rapport/Report n° 2019/E026-067 - Page 4/10

cytotoxic dilution of the disinfectant or of PBS are distributed onto 8 x 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established Raw 264.7 monolayer. After 1 h at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere, culture medium is removed from the wells and 0.1 ml of virus diluted from 10⁻¹ to 10⁻⁸ with culture medium + 2% FCS was added on treated or untreated cells in parallel. The cytopathic effect (CPE) was read after 5 and 7 days at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere and the virus titer was calculated.

e) Mesure de l'activité virucide du produit / *Determination of the virucidal activity*

Les essais de virucidie du produit consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 1 volume de substance interférente et 8 volumes de la solution d'essai. Après différents temps de contact à une température de 20°C +/- 1°C, 0,1ml de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat est évaluée par la technique de titrage sur cellule Raw 264.7.

L'activité virucide du produit test est mesurée en calculant la chute du titre viral obtenu après traitement par comparaison avec un témoin de titrage obtenu en absence de désinfectant. Le résultat est exprimé en facteur de réduction (FR).

To test the virucidal activity of the product 1 part by volume of virus was incubated at 20°C +/- 1°C with 1 part by volume of interfering substances and 8 parts by volume of the solution of disinfectant. After different incubation time, 0.1ml of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on Raw 264.7 cell.

The virucidal activity of the test disinfectant was evaluated by calculating the decrease in titre in comparison with the control titration without disinfectant. The results are expressed as reduction factor (RF).

f) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Huit Volumes des solutions d'essai du produit sont additionnés à 1 volume de suspension de virus et 1 volume de substance interférente. Immédiatement après la préparation du mélange, au temps 0, 0,1ml du mélange sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR. Les filtrats dilués au 1/10^{ème} dans du milieu de culture sont ensuite incubés pendant 30 min dans un bain de glace fondante. Puis les suspensions virales sont diluées de 10⁻² à 10⁻⁸ dans du milieu de culture glacé et la quantité de virus résiduel est évaluée par la technique de titrage sur cellule Raw 264.7.

Eight parts by volume of solutions of disinfectant are mixed with 1 part by volume of interfering substances and 1 part by volume of virus. Immediately after preparation of the mixture, at time 0, 0.1ml of the mixtures are filtered on Microspin S-400 HR column. Then the filtrates are mixed with nine parts by volume of culture medium and the mixtures are leaved in an ice bath for 30 min. Then the viral suspensions were diluted from 10⁻² to 10⁻⁸ in ice-cold culture medium and the quantity of residual virus was evaluated by titration on Raw 264.7 cell.

g) Inactivation du virus au Formaldéhyde à 0,7% (m/v) / *Inactivation of the virus with 0.7% (w/v) Formaldehyde*

La suspension de virus a été soumise à des essais virucides vis-à-vis du Formaldéhyde à 0,7% (m/v) comme substance de référence pour l'inactivation virale afin de contrôler l'uniformité du comportement de notre souche virale aux agents chimiques au cours du temps.

Les essais consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 4 volumes de solution tamponnée au phosphate (PBS, Invitrogen, France) et 5 volumes de Formaldéhyde à 1,4% (m/v). Après des temps de contact de 30 min et 60 min à une température de 20°C +/- 1°C, un aliquote de mélange est prélevé et filtré sur colonne

Rapport/Report n° 2019/E026-067 - Page 5/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat a été évaluée par la technique de titrage sur cellule Raw 264.7.

The suspension of virus was subjected to virucidal tests against 0.7% (w/v) Formaldehyde solution as reference substance for viral inactivation in order to control the uniformity of the behaviour of our virus stock to the chemical agents during the time.

To test the virucidal activity 1 part by volume of virus was incubated with 4 parts by volume of phosphate buffered saline (PBS, Invitrogen, France) and 5 parts by volume of 1.4% (w/v) Formaldehyde. After incubation time of 30 min and 60 min at 20°C +/- 1°C, an aliquot of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on Raw 264.7 cell.

Rapport/Report n° 2019/E026-067 - Page 6/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

V- Résultats / Results

1) Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule 2419 et du filtrat sur colonne Microspin / Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula 2419 and filtrate on Microspin column :

Méthode / Method	Dilution subcytotoxique / subcytotoxic dilution			
	Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Technique par dilution / Dilution method	1/10 000	1/1 000	1/10	1/10 000
Filtration sur Microspin / Microspin filtration	1/10	1/10	1/10	1/10

2) Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule 2419 ou le Formaldéhyde à 0,7% / Evaluation of the cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula 2419 or 0.7% Formaldehyde

	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)	
	Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Cellules non traitées / Non treated cells	8.50 +/- 0.00	8.50 +/- 0.00
Cellules traitées / Treated cells	8.17 +/- 0.21 (0.33 +/- 0.42)	8.50 +/- 0.00 (0.00 +/- 0.00)

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

3) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity

Produit / Product	Concentration	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR)/ Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)
Témoin virus / Virus control	n.a.	5.50 +/- 0.00
Formule 2419 / Formula 2419	80%	3.00 +/- 0.22 (2.50 +/- 0.45)
Formule 2419 / Formula 2419	40%	3.83 +/- 0.28 (1.67 +/- 0.56)
Formule 2419 / Formula 2419	1%	4.50 +/- 0.00 (1.00 +/- 0.00)

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

4) Evaluation de l'effet virucide de la Formule **2419** / *Evaluation of the virucidal activity of the Formula **2419*** :

Tableau des résultats de virucidie de la Formule 2419 en conditions de saleté sur le Norovirus Murin S-99

Table on the virucidal activity of the Formula 2419 in dirty conditions on the Murine Norovirus S-99

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)			>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			<0.25	15	30	
Témoin virus / Virus control	n.a.	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	5.83 +/- 0.21	n.t.	5.83 +/- 0.21	n.a.
Formule 2419 / Formula 2419	80%		4.00 +/- 0.22 (1.83 +/- 0.61)	0.50 +/- 0.00 (5.33 +/- 0.42)	0.50 +/- 0.00 (5.33 +/- 0.42)	≥15 min
Formule 2419 / Formula 2419	40%		4.33 +/- 0.17 (1.50 +/- 0.54)	1.50 +/- 0.00 (4.33 +/- 0.42)	0.50 +/- 0.00 (5.33 +/- 0.42)	≥15 min
Formule 2419 / Formula 2419	1%		5.00 +/- 0.22 (0.83 +/- 0.61)	n.t.	4.83 +/- 0.21 (1.00 +/- 0.60)	>30 min

Tableau des résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% sur le Norovirus Murin S-99

Table on the virucidal activity of 0.7% Formaldehyde on the Murine Norovirus S-99

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)			>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			<0.25	30	60	
Témoin virus / Virus control	n.a.	PBS	5.50 +/- 0.00	n.t.	5.50 +/- 0.00	n.a.
Formaldéhyde / Formaldehyde	0.7%		5.33 +/- 0.17 (0.17 +/- 0.33)	3.83 +/- 0.30 (1.67 +/- 0.60)	0.50 +/- 0.00 (5.00 +/- 0.00)	≥60 min

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

n.t. : non soumis à l'essai / non tested

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

VI- Conclusion / Conclusion

La Formule **2419** est active à la concentration de 80% et 40% après un temps de contact de 15 minutes à 20°C, selon la norme NF EN 14476+A1 (Octobre 2015), dans des conditions de saleté vis-à-vis du Norovirus Murin S-99.

*The Formula **2419** is active at the concentration of 80% and 40% after 15 minutes of exposure time at 20°C, according to the standard NF EN 14476+A1 (October 2015), in dirty conditions against the Murine Norovirus S-99.*

Lille, le 14 novembre 2019

Responsable technique

Chef de Service



Dr. P. E. LOBERT

Pr. D. HOBER

Fin du rapport (rapport complet) / *End of the report (complete report)*

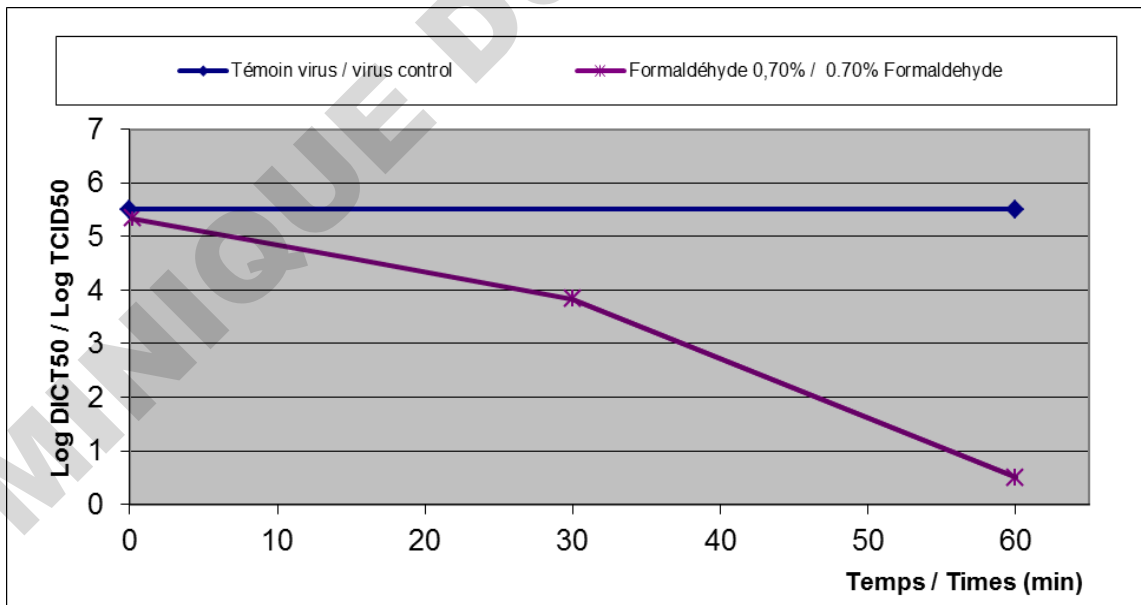
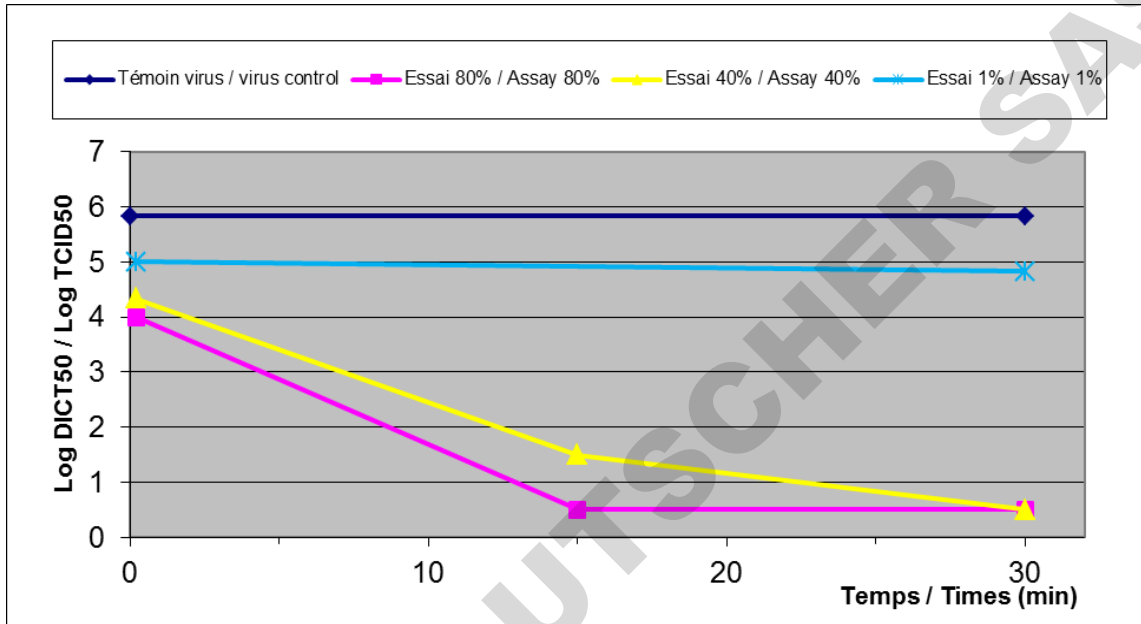
Rapport/Report n° 2019/E026-067 - Page 10/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

Annexe 1 / Annex 1 :

Représentation graphique des résultats de virucidie de la Formule **2419** en conditions de saleté et du Formaldéhyde à 0,7% vis-à-vis du Norovirus Murin S-99

Figure of the virucidal activity of the Formula **2419** in dirty conditions and 0.7% Formaldehyde against the Murine Norovirus S-99



Annexe 2 / Annex 2 :

Données brutes relatives aux tests réalisés

Raw data about the assays

- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay supernatant :*

Produit / Product	Dilution (log) ^(a)							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Suspension d'essai / <i>essai supernatant</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0

- Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule 2419 et du filtrat sur colonne Microspin / *Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula 2419 and filtrate on Microspin column*

Produit / Product	Méthode / Method	Dilution (log)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Formule 2419 (80%) / <i>Formula 2419</i> (80%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	Tox.	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formule 2419 (40%) / <i>Formula 2419</i> (40%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formule 2419 (1%) / <i>Formula 2419</i> (1%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	0	0	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formaldéhyde (0,7%) / <i>Formaldehyde</i> (0.7%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	Tox.	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

Légende / legend :

Tox. : Toxique / Toxic

Tox.* : Toxicité partielle / Partial toxicity

n.t. : non soumis à l'essai / non tested

- Résultats de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule 2419 ou le Formaldéhyde à 0,7% / *Cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula 2419 or 0.7% Formaldehyde*

Produit / Product	Méthode / Method	Dilution (log) ^(a)							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Produit / Product	Dilution (log) ^(a)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie de la Formule 2419 / *Virucidal activity of the Formula 2419*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 4	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
30		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0	0 0 0	
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)		<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
15		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
30		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)		<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
15	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
30	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
30	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration

0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% / *Virucidal activity of 0.7% Formaldehyde*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	PBS	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
60		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)		<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
30	4 4 4	4 4 4	4 4 0	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	4 4 4	4 4 4	4 4 0	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
60	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration

0 : aucun virus présent.



Laboratoire de Virologie EA3610
CHU de Lille – Université de Lille
Centre Paul Boulanger, Hôpital A. Calmette
Bd du Pr Jules Leclercq
59037 Lille Cedex
France
Tel : (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30
Fax : (33) 03.20.44.48.95
Email : didier.hober@chru-lille.fr

N° de rapport : 2019/E026-071
Date d'édition : 18/11/2019

RAPPORT D'ESSAI / TRIAL REPORT
DETERMINATION DE L'ACTIVITE VIRUCIDE
DE LA FORMULE 2419

Selon la Norme NF EN 14476+A1 (Octobre 2015)
Vis à vis de l'Adénovirus Humain de type 5

EVALUATION OF THE VIRUCIDAL EFFECT OF THE
FORMULA 2419

Test method according to the standard NF EN 14476+A1 (October 2015)
Against the Human Adenovirus type 5

Rapport pour / Report submitted to:

LABORATOIRES ANIOS SAS
Pavé du moulin
59260 Lille Hellemmes
France

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci-après) soumis à l'essai. Les résultats ne valent que pour l'échantillon soumis au dosage et tel qu'il a été reçu.

This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval. The results are only valid for the sample submitted to the dosage and as received

Ce document comporte 10 pages numérotées et 2 annexes de 4 pages

This report is made of 10 numbered pages and 2 annexes of 4 pages

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

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

Rapport/Report n° 2019/E026-071 - Page 1/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

I- Introduction / Introduction

A la demande de la société Laboratoires ANIOS SAS, la Formule **2419** a été évaluée pour ses propriétés inactivatrices contre l'Adénovirus Humain de type 5. L'essai a été effectué, sans modification, selon la norme NF EN 14476+A1 : Antiseptiques et désinfectants chimiques – Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical – Méthode d'essai et prescriptions (Phase 2/ Etape 1) – Octobre 2015.

*As requested by the Laboratoires ANIOS SAS Society, the Formula **2419** was evaluated for its virucidal inactivating properties against the Human Adenovirus type 5. The testing was carried out, without modification, in accordance with the standard of NF EN 14476+A1: Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (Phase 2/ Step 1) – October 2015.*

II- Identification du produit / Identification of the sample

- Nom du produit / *Name of the product* : Formule 2419 / *Formula 2419*
- Fabricant / *Manufacturer* : Laboratoires ANIOS SAS
- N° de lot – N° de formule / *Batch N° - Formula N°* : B18604S
- Date d'échantillonnage (réalisé sous la responsabilité du client) / *Date of sampling (carried out under the responsibility of the customer)* : 07/2019
- Date de réception / *Date of receipt* : 16/10/2019
- Aspect du produit / *Appearance of the product* : Liquide limpide et incolore / *Clear and colourless liquid*
- Substances actives / *Active substances* :
 - Chlorure de didécylidiméthylammonium / *Didecylidimethylammonium chloride* (CAS : 7173-51-5) : 3 mg/g
- pH du produit / *pH value of the product* : Non Dilué (20°C) pH=4,80 / *Undiluted (20°C) pH=4.80*
- Conditions de stockage / *Storage conditions* : Température ambiante, à l'abri de la lumière / *Room temperature and darkness*
- Application / *Use* : Nettoyage et désinfection des surfaces et des dispositifs médicaux / *Cleaning and disinfection of surfaces and medical devices*

III- Conditions expérimentales / Experimental conditions

- Période d'essai / *Period of analysis* : du 22/10/19 au 05/11/19 / *Through 10/22/19 to 11/05/19*
- Température d'essai / *Test temperature* : 20°C +/- 1°C
- Concentrations en produit testées / *Concentrations of the test product* : 80%, 40% et / *and* 1%
- Temps de contact / *Contact times* : 30 minutes / *minutes*
- Diluant du produit / *Diluent of the product* : eau pour préparation injectable / *water for injection*
- Apparence de la formule et de ses dilutions / *Appearance of the formula and its dilutions* : Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai / *Preparation physically homogeneous and stable during test*
- Substances interférentes / *Interfering substances* : Solution de sérum albumine bovine sérique (SAB) et hématies de mouton à la concentration finale dans l'essai de 3 g de SAB

Rapport/Report n° 2019/E026-071 - Page 2/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

et 3 ml d'hématies de mouton par litre / *Bovine serum albumin (BSA) and sheep erythrocytes at final concentration of 3 g of BSA and 3 ml of sheep erythrocytes per liter in test*

- Stabilité du mélange (formule et substances interférentes) / *Stability of the mixture (formula and interfering substance)* : Absence de précipité pendant l'essai / *Precipitate absent throughout the test*

- Méthode pour stopper l'activité du produit / *Procedure to inactivate the product* : Filtration sur gel / *Gel filtration*

IV- Matériel et Méthodes / Material and methods

1- Matériel / Material

a) Virus / Virus

L'Adénovirus type 5 (ATCC VR-5) a été fourni par la Société LGC Promochem (Molsheim, France).

The adenovirus type 5 (ATCC VR-5) was obtained from LGC Promochem (Molsheim, France).

- Numéro de lot interne / *internal lot number* : Lot 250518-02CR (passage 02)

- Titre de la suspension d'essai / *Viral titre of the assay supernatant* : $10^{9,50}$ DICT₅₀/ml / $10^{9,50}$ TCID₅₀/ml

b) Lignée cellulaire / Cell line

La lignée cellulaire HEp-2 (ATCC CCL-23) utilisée avec l'Adénovirus type 5 provient de l'European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

The HEp-2 cell line (ATCC CCL-23) used with the Adenovirus type 5 was obtained from the European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

Nombre de passage / *passage number* : Subculture P24-05

2- Méthodes d'essai / Methods

a) Titrage viral / Determination of the viral infectivity

Les suspensions virales traitées ou non traitées par le produit à tester sont diluées en série de 10^{-1} à 10^{-8} , dans du Milieu MEM de Eagle (EMEM, Invitrogen, France) avec 2% de sérum de veau fœtal (SVF, Invitrogen, France) glacé. 0,1 ml de chaque dilution est ensuite transféré dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules, en commençant par la dilution la plus élevée. Après une heure d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est additionné à chaque puits. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait au microscope inversé après 12 et 15 jours d'incubation. Le calcul du titre de l'infectivité virale (\log_{10} DICT₅₀/ml) est déterminé par la méthode Spearman-Kärber.

The viral suspensions treated or non-treated with the product were diluted from 10^{-1} to 10^{-8} in ice-cold Eagle's Medium (EMEM, Invitrogen, France) containing 2% fetal calf serum (FCS, Invitrogen, France). 0.1 ml of each dilution was transferred, beginning with the highest dilution, into six wells of a 96 wells microtitre plate with an established cell monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytopathic effect (CPE) was read by using an inverted microscope after incubation during 12 and 15 days in a 5% CO₂-atmosphere. Calculation of estimated virus concentration (\log_{10} TCID₅₀/ml) was carried out by the Spearman-Kärber method.

Rapport/Report n° 2019/E026-071 - Page 3/10

b) Détermination de la concentration subcytotoxique du produit / *Determination of the product cytotoxicity*

Les solutions d'essai du produit additionnées de 1/10^{ème} de la substance interférente et de 1/10^{ème} d'eau pour préparation injectable sont diluées de 10⁻¹ à 10⁻⁵ dans du milieu de culture à 2% de SVF glacé. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 4 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 5 et 7 jours en présence de 5% de CO₂.

For determination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of water for injection, were diluted from 10⁻¹ to 10⁻⁵ with ice-cold culture medium containing 2% FCS. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 4 wells of a 96 wells microtitre plate with an established cell monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after incubation during 5 or 7 days in a 5% CO₂-atmosphere.

c) Elimination de la cytotoxicité du produit / *Elimination of the product cytotoxicity*

0,1ml des solutions d'essai du produit additionnées de 1/10^{ème} de la substance interférente et de 1/10^{ème} d'eau pour préparation injectable, sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR (GE Healthcare). Les filtrats sont ensuite dilués de 10⁻¹ à 10⁻³ dans du milieu de culture à 2% de SVF glacé. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 4 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture à 2% de SVF est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 5 ou 7 jours à 37°C en présence de 5% de CO₂.

For elimination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 0.1 ml of 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of water for injection, were filtrated on Microspin S-400 HR column (GE Healthcare). Then filtrates were diluted from 10⁻¹ to 10⁻³ with ice-cold culture medium. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 4 wells of a 96 wells microtitre plate with an established cell monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after incubation during 5 and 7 days in a 5% CO₂-atmosphere.

d) Sensibilité des cellules au virus / *Cell sensitivity to the virus*

Un titrage comparatif du virus est réalisé sur les cellules HEp-2 traitées ou non par le désinfectant afin de tester la réduction de sensibilité des cellules au virus en présence du produit. 0,1 ml de la plus basse dilution apparemment non cytotoxique du désinfectant ou du PBS est distribué dans 8 x 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules. Après 1 h à 37°C en présence de 5% de CO₂, le milieu de culture est éliminé des puits et 0,1 ml de virus dilués de 10⁻¹ à 10⁻⁸ dans du milieu à 2% de SVF, est distribué en parallèle sur les cellules traitées ou non traitées. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait après 12 et 15 jours d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂ et l'infektivité virale est calculée.

A comparative virus titration is performed on HEp-2 cells that have or have not been treated with the disinfectant to check the reduction of the cells sensitivity to the virus. 0.1 ml of the lowest apparently non-cytotoxic dilution of the disinfectant or PBS are distributed onto 8 x 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established cell monolayer. After 1 h at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere, culture medium is removed from the wells and 0.1 ml of virus diluted from 10⁻¹ to 10⁻⁸ with culture medium containing 2% FCS was added on

Rapport/Report n° 2019/E026-071 - Page 4/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

treated or untreated cells in parallel. The cytopathic effect (CPE) was read after incubation during 12 and 15 days at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere and estimated virus concentration was carried out.

e) Mesure de l'activité virucide du produit / *Determination of the virucidal activity*

Les essais de virucidie du produit consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 1 volume de substance interférente et 8 volumes de la solution d'essai. Après différents temps de contact à une température de 20°C +/- 1°C, 0,1ml de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat est évaluée par la technique de titrage sur cellule HEp-2.

L'activité virucide du produit test est mesurée en calculant la chute du titre viral obtenue après traitement par rapport à un témoin de titrage obtenu en absence de désinfectant. La différence est exprimée en facteur de réduction (FR).

To test the virucidal activity of the product 1 part by volume of virus was incubated at 20°C +/- 1°C with 1 part by volume of interfering substances and 8 parts by volume of the solution of disinfectant. After different times of contact, 0.1ml of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on HEp-2 cell.

The virucidal activity of the test disinfectant was evaluated by calculating the decrease in titre in comparison with the control titration without disinfectant. The difference is given as reduction factor (RF).

f) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Huit Volumes des solutions d'essai du produit sont additionnés à 1 volume de suspension de virus et 1 volume de substance interférente. Immédiatement après la préparation du mélange, au temps 0, 0,1ml du mélange sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR. Les filtrats dilués au 1/10^{ème} dans du milieu de culture sont ensuite incubés pendant 30 min dans un bain de glace fondante. Puis les suspensions virales sont diluées de 10⁻² à 10⁻⁸ dans du milieu de culture glacé et la quantité de virus résiduel est évaluée par la technique de titrage sur cellule HEp-2.

Eight parts by volume of solutions of disinfectant are mixed with 1 part by volume of interfering substances and 1 part by volume of virus. Immediately after preparation of the mixture, at time 0, 0.1ml of the mixtures are filtered on Microspin S-400 HR column. Then the filtrates are mixed with nine parts by volume of culture medium and the mixtures are leaved in an ice bath for 30 min. Then the viral suspensions were diluted from 10⁻² to 10⁻⁸ in ice-cold culture medium and the quantity of residual virus was evaluated by titration on HEp-2 cell.

g) Inactivation du virus au Formaldéhyde à 0,7% (m/v) / *Inactivation of the virus with 0.7% (w/v) Formaldehyde*

La suspension de virus a été soumise à des essais virucides vis-à-vis du Formaldéhyde à 0,7% (m/v) comme substance de référence pour l'inactivation virale afin de contrôler l'uniformité du comportement de notre souche virale aux agents chimiques au cours du temps.

Les essais consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 4 volumes de solution tamponnée au phosphate (PBS, Invitrogen, France) et 5 volumes de Formaldéhyde à 1,4% (m/v). Après des temps de contact de 30 min et 60 min à une température de 20°C +/- 1°C, un aliquote de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat a été évaluée par la technique de titrage sur cellule HEp-2.

The suspension of virus was subjected to virucidal tests against 0.7% (w/v) formaldehyde solution as reference substance for viral inactivation in order to control the uniformity of the behaviour of our virus stock to the chemical agents during the time.

To test the virucidal activity 1 part by volume of virus was incubated with 4 parts by volume of phosphate buffered saline (PBS, Invitrogen, France) and 5 parts by volume of 1.4% (w/v) formaldehyde. After incubation time of 30 min and 60 min at 20°C +/- 1°C, an aliquot of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on HEp-2 cell.

V- Résultats / Results

1) Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule **2419** et du filtrat sur colonne Microspin / *Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula 2419 and filtrate on Microspin column :*

Méthode / Method	Dilution subcytotoxique / subcytotoxic dilution			
	Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Technique par dilution / Dilution method	1/10 000	1/1 000	1/10	1/10 000
Filtration sur Microspin / Microspin filtration	1/10	1/10	1/10	1/10

2) Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule **2419** ou le Formaldéhyde à 0,7% / *Evaluation of the cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula 2419 or 0.7% Formaldehyde*

	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)	
	Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Cellules non traitées / Non treated cells	8.50 +/- 0.00	8.50 +/- 0.00
Cellules traitées / Treated cells	8.50 +/- 0.00 (0.00 +/- 0.00)	8.50 +/- 0.00 (0.00 +/- 0.00)

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

3) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity

Produit / Product	Concentration	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR)/ Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)
Témoin virus / Virus control	n.a.	7.00 +/- 0.22
Formule 2419 / Formula 2419	80%	6.00 +/- 0.22 (1.00 +/- 0.63)
Formule 2419 / Formula 2419	40%	6.83 +/- 0.21 (0.17 +/- 0.61)
Formule 2419 / Formula 2419	1%	7.00 +/- 0.22 (0.00 +/- 0.63)

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

4) Evaluation de l'effet virucide de la Formule 2419 / *Evaluation of the virucidal activity of the Formula 2419* :

Tableau des résultats de virucidie de la Formule 2419 en conditions de saleté sur l'Adénovirus Humain de type 5

Table on the virucidal activity of the Formula 2419 in dirty conditions on the Human Adenovirus type 5

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)		>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			<0.25	30	
Témoin virus / Virus control	n.a.	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	7.17 +/- 0.21	7.33 +/- 0.17	n.a.
Formule 2419 / Formula 2419	80%		6.50 +/- 0.00 (0.67 +/- 0.42)	2.50 +/- 0.00 (4.67 +/- 0.42)	≥30 min
Formule 2419 / Formula 2419	40%		7.00 +/- 0.22 (0.17 +/- 0.61)	2.83 +/- 0.21 (4.34 +/- 0.60)	≥30 min
Formule 2419 / Formula 2419	1%		7.17 +/- 0.21 (0.00 +/- 0.60)	7.33 +/- 0.17 (0.00 +/- 0.54)	>30 min

54

Tableau des résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% sur l'Adénovirus Humain de type 5

Table on the virucidal activity of 0.7% Formaldehyde on the Human Adenovirus type 5

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)			>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			<0.25	30	60	
Témoin virus / Virus control	n.a.	PBS	7.17 +/- 0.21	n.t.	7.17 +/- 0.21	n.a.
Formaldéhyde / Formaldehyde	0.7%		6.83 +/- 0.21 (0.34 +/- 0.60)	3.50 +/- 0.24 (3.67 +/- 0.63)	2.67 +/- 0.17 (4.50 +/- 0.54)	≥60 min*

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

n.t. : non soumis à l'essai / non tested

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

VI- Conclusion / Conclusion

La Formule **2419** est active à la concentration de 80% et 40% après un temps de contact de 30 minutes à 20°C, selon la norme NF EN 14476+A1 (Octobre 2015), dans des conditions de saleté vis-à-vis de l'Adénovirus Humain de type 5.

*The Formula **2419** is active at the concentration of 80% and 40% after 30 minutes of exposure time at 20°C, according to the standard NF EN 14476+A1 (October 2015), in dirty conditions against the Human Adenovirus type 5.*

Lille, le 18 novembre 2019

Responsable technique

Chef de Service



Dr. P. E. LOBERT

Pr. D. HOBER

Fin du rapport (rapport complet) / *end of the report (complete report)*

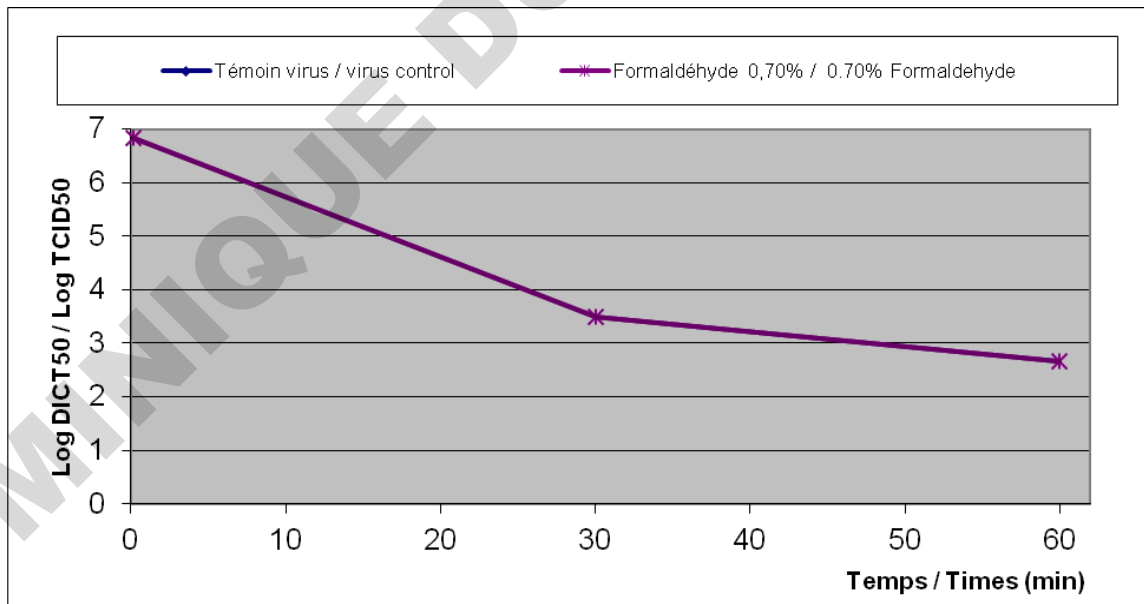
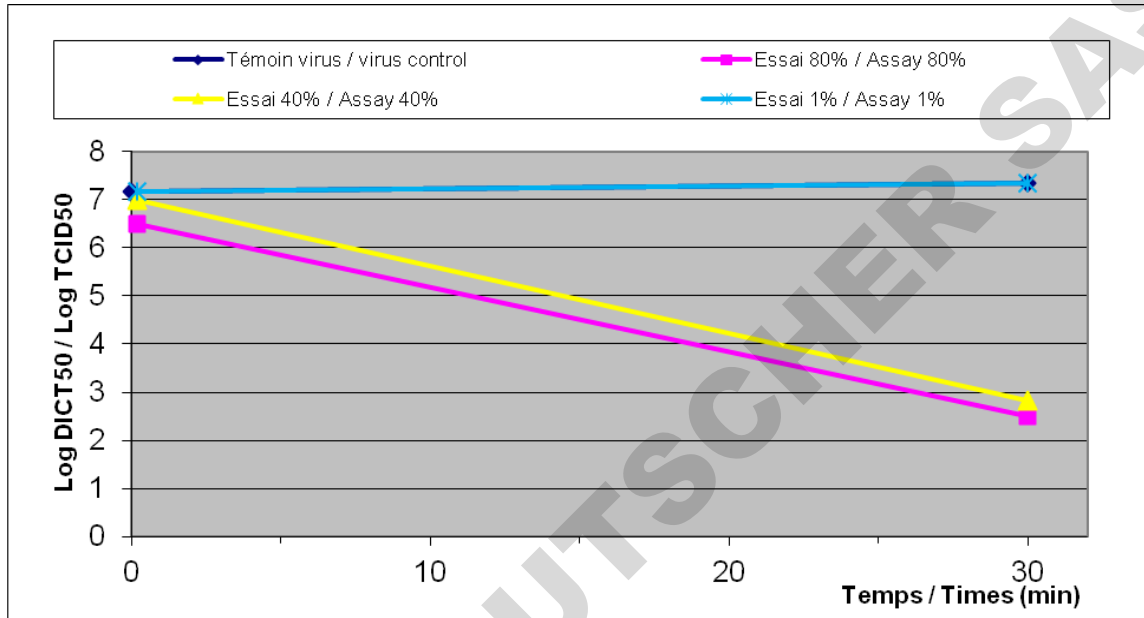
Rapport/Report n° 2019/E026-071 - Page 10/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

Annexe 1 / Annex 1 :

Représentation graphique des résultats de virucidie de la Formule **2419** en conditions de saleté et du Formaldéhyde à 0,7% vis-à-vis de l'Adénovirus Humain de type 5

Figure of the virucidal activity of the Formula **2419** in dirty conditions and 0.7% Formaldehyde against the Human Adenovirus type 5



Annexe 2 / Annex 2 :

Données brutes relatives aux tests réalisés

Raw data about the assays

- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay supernatant :*

Produit / Product	Dilution (log) ^(a)							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Suspension d'essai / <i>essai supernatant</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0

- Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule 2419 et du filtrat sur colonne Microspin / *Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula 2419 and filtrate on Microspin column :*

Produit / Product	Méthode / Method	Dilution (log)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	Tox.	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	0	0	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formaldéhyde (0,7%) / <i>Formaldehyde</i> (0.7%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	Tox.	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

Légende / legend :

Tox. : Toxique / Toxic

Tox.* : Toxicité partielle / *Partial toxicity*

n.t. : non soumis à l'essai / *non tested*

- Résultats de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule 2419 ou le Formaldéhyde à 0,7% / *Cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula 2419 or 0.7% Formaldehyde*

Produit / Product	Méthode / Method	Dilution (log) ^(a)							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Produit / Product	Dilution (log) ^(a)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0
Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie de la Formule 2419 / *Virucidal activity of the Formula 2419*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)								
			1	2	3	4	5	6	7	8	
Témoin virus / Virus control	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 4	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 0	0 0 0
30		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)		<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0
30		4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0		
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0		
30	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0			
	4 4 4	4 4 4	0 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0			
Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 0	0 0 0		
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0		
30	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0		
	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 4	0 0 0		

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% / *Virucidal activity of 0.7% Formaldehyde*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	PBS	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 4	0 0 0
60		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 4	0 0 0	
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)		<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0
30	4 4 4	4 4 4	4 0 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
60	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.



Laboratoire de Virologie EA3610
CHU de Lille – Université de Lille
Centre Paul Boulanger, Hôpital A. Calmette
Bd du Pr Jules Leclerc
59037 Lille Cedex
France
Tel : (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30
Fax : (33) 03.20.44.48.95
Email : didier.hober@chru-lille.fr

PPA-FE-URV-010, V4 du 03/01/2019



N° de rapport : 2019/E026-032
Date d'édition : 29/07/2019

RAPPORT D'ESSAI / TRIAL REPORT

DETERMINATION DE L'ACTIVITE VIRUCIDE DE LA FORMULE 2419

**Selon la Norme NF EN 14476+A1 (Octobre 2015)
Vis à vis du Virus de la Vaccine**

EVALUATION OF THE VIRUCIDAL EFFECT OF THE FORMULA 2419

**Test method according to the standard NF EN 14476+A1 (October 2015)
Against the Vaccinia Virus**

Rapport pour / Report submitted to:

**LABORATOIRES ANIOS SAS
Pavé du moulin
59260 Lille Hellemmes
France**

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci-après) soumis à l'essai. Les résultats ne valent que pour l'échantillon soumis au dosage et tel qu'il a été reçu.

This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval. The results are only valid for the sample submitted to the dosage and as received.

Ce document comporte 10 pages numérotées et 2 annexes de 5 pages.
This report is made of 10 numbered pages and 2 annexes of 5 pages.

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

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

Rapport/Report n° 2019/E026-032 - Page 1/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

I- Introduction / Introduction

A la demande de la société Laboratoires ANIOS SAS, la Formule **2419** a été évaluée pour ses propriétés inactivatrices contre la souche MVA du Virus de la Vaccine. L'essai a été effectué, sans modification, selon la norme NF EN 14476+A1 : Antiseptiques et désinfectants chimiques – Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical – Méthode d'essai et prescriptions (Phase 2/ Etape 1) – Octobre 2015.

*As requested by the Laboratoires ANIOS SAS Society, the Formula **2419** was evaluated for its virucidal inactivating properties against the Vaccinia Virus strain MVA. The testing was carried out, without modification, in accordance with the standard of NF EN 14476+A1: Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (Phase 2/ Step 1) – October 2015.*

II- Identification du produit / Identification of sample

- Nom du produit / *Name of the product* : Formule 2419 / *Formula 2419*
- Fabricant / *Manufacturer* : Laboratoires ANIOS SAS
- N° de lot – N° de formule / *Batch N° - Formula N°* : B07909S
- Date d'échantillonnage (réalisé sous la responsabilité du client) / *Date of sampling (carried out under the responsibility of the customer)* : 11/04/2019
- Date de réception / *Date of receipt* : 12/04/2019
- Aspect du produit / *Appearance of the product* : Liquide limpide et incolore / *Clear and colourless liquid*
- Substances actives / *Active substances* :
 - Chlorure de didécylidiméthylammonium / *Didecyldimethylammonium chloride* (CAS : 7173-51-5) : 3 mg/g
- pH du produit / *pH value of the product* : Non Dilué (20°C) pH=4,80 / *Undiluted (20°C) pH=4.80*
- Conditions de stockage / *Storage conditions* : Température ambiante, à l'abri de la lumière / *Room temperature and darkness*
- Application / *Use* : Nettoyage et désinfection des surfaces et des dispositifs médicaux / *Cleaning and disinfection of surfaces and medical devices*

III- Conditions expérimentales / Experimental conditions

- Période d'essai / *Period of analysis* : du 07/05/19 au 17/05/19 / *Through 05/07/19 to 05/17/19*
- Température d'essai / *Test temperature* : 20°C +/- 1°C
- Concentrations en produit testées / *Concentrations of the test product* : 80%, 40% et / *and 1%*
- Temps de contact / *Contact times* : 1 minute / *minute*
- Diluant du produit / *Diluent of the product* : eau pour préparation injectable / *water for injection*
- Apparence de la formule et de ses dilutions / *Appearance of the formula and its dilutions* : Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai / *Preparation physically homogeneous and stable during test*
- Substances interférentes / *Interfering substances* : Solution de sérum albumine bovine sérique (SAB) et hématies de mouton à la concentration finale dans l'essai de 3 g de SAB

Rapport/Report n° 2019/E026-032 - Page 2/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

et 3 ml d'hématies de mouton par litre / *Bovine serum albumin (BSA) and sheep erythrocytes at final concentration of 3 g of BSA and 3 ml of sheep erythrocytes per liter in test*

- Stabilité du mélange (formule et substances interférentes) / *Stability of the mixture (formula and interfering substance)* : Absence de précipité pendant l'essai / *Precipitate absent throughout the test*

- Méthode pour stopper l'activité du produit / *Procedure to inactivate the product* : Filtration sur gel / *Gel filtration*

IV- Matériel et Méthodes / Material and methods

1- Matériel / Material

a) Virus / Virus

La souche MVA (Modified vaccinia virus Ankara) du virus de la Vaccine (ATCC VR-1508) a été fournie par la société LGC Promochem (Molsheim, France).

The Vaccinia virus strain MVA (Modified vaccinia Virus Ankara) (ATCC VR-1508) was obtained from LGC Promochem (Molsheim, France).

- Numéro de lot interne / *internal lot number* : Lot MVA-160119-PE (passage 2)

- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay supernatant* : $10^{7,00}$ DICT₅₀/ml / $10^{7,00}$ TCID₅₀/ml

b) Lignée cellulaire / Cell line

La lignée cellulaire BHK-21 (ATCC CCL-10) utilisée pour cultiver le virus de la Vaccine provient de l'European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

The BHK-21 cell line (ATCC CCL-10) used with the Vaccinia Virus was obtained from the European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

Nombre de passage / *passage number* : Subculture P08.45

2- Méthodes d'essai / Methods

a) Titrage viral / Determination of the viral infectivity

Les suspensions virales traitées ou non traitées par le produit à tester sont diluées en série de 10^{-1} à 10^{-8} , dans du Milieu Minimum Essentiel de Eagle (EMEM, Invitrogen, France) avec 2% de sérum de veau fœtal (SVF, Invitrogen, France) glacé. 0,1 ml de chaque dilution est ensuite transféré dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules BHK-21, en commençant par la dilution la plus élevée. Après une heure d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est additionné à chaque puits. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait au microscope inversé après 12 et 15 jours d'incubation. Le calcul du titre de l'infectivité virale (\log_{10} DICT₅₀/ml) est déterminé par la méthode Spearman-Kärber.

The viral suspensions treated or non-treated with the product were diluted from 10^{-1} to 10^{-8} in ice-cold Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM, Invitrogen, France) containing 2% fetal calf serum (FCS, Invitrogen, France). 0.1 ml of each dilution was transferred, beginning with the highest dilution, into six wells of a 96 wells microtitre plate with an established BHK-21 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytopathic effect (CPE)

Rapport/Report n° 2019/E026-032 - Page 3/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

was read by using an inverted microscope after 12 and 15 days in a 5% CO₂-atmosphere. Calculation of estimated virus concentration (log₁₀ TCID₅₀/ml) was carried out by the Spearman-Kärber method.

b) Détermination de la concentration subcytotoxique du produit / *Determination of the product cytotoxicity*

Les solutions d'essai du produit additionnées de 1/10^{ème} de la substance interférente et de 1/10^{ème} d'eau dure sont diluées de 10⁻¹ à 10⁻⁵ dans du milieu de culture glacé avec 2% SVF. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 4 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules BHK-21. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 7 jours en présence de 5% de CO₂.

For determination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of hard water, were diluted from 10⁻¹ to 10⁻⁵ with ice-cold culture medium containing 2% FCS. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 4 wells of a 96 wells microtitre plate with an established BHK-21 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after 7 days in a 5% CO₂-atmosphere.

c) Elimination de la cytotoxicité du produit / *Elimination of the product cytotoxicity*

0,1ml des solutions d'essai du produit additionnées de 1/10^{ème} de la substance interférente et de 1/10^{ème} d'eau dure, sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR (GE Healthcare). Les filtrats sont ensuite dilués de 10⁻¹ à 10⁻³ dans du milieu EMEM à 2% de SVF glacé. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 4 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules BHK-21. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture DMEM 2% est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 7 jours à 37°C en présence de 5% de CO₂.

For elimination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 0.1 ml of 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of hard wate, were filtrated on Microspin S-400 HR column (GE Healthcare). Then filtrates were diluted from 10⁻¹ to 10⁻³ with ice-cold EMEM + 2% FCS. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 4 wells of a 96 wells microtitre plate with an established BHK-21 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after incubation during 7 days in a 5% CO₂-atmosphere.

d) Sensibilité des cellules au virus / *Cell sensitivity to the virus*

Un titrage comparatif du virus est réalisé sur les cellules BHK-21 traitées ou non par le désinfectant afin de tester la réduction de sensibilité des cellules au virus en présence du produit. 0,1 ml de la plus basse dilution apparemment non cytotoxique du désinfectant ou de PBS est distribué dans 8 x 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules BHK-21. Après 1 h à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de virus dilués de 10⁻¹ à 10⁻⁸ dans du milieu de culture avec 2% de SVF, est distribué en parallèle sur les cellules traitées ou non traitées. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait après 12 et 15 jours d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂ et le titre viral est calculé.

A comparative virus titration is performed on BHK-21 cells that have or have not been treated with the disinfectant to check the reduction of the cells sensitivity to the virus. 0.1 ml of the lowest apparently non-cytotoxic dilution of the disinfectant or of PBS are distributed onto 8 x 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established BHK-21 monolayer. After 1 h at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere, 0.1 ml of virus diluted from 10⁻¹

Rapport/Report n° 2019/E026-032 - Page 4/10

to 10^{-8} with culture medium containing 2% FCS was added on treated or untreated cells in parallel. The cytopathic effect (CPE) was read after incubation during 12 and 15 days at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere and the virus titer was calculated.

e) Mesure de l'activité virucide du produit / *Determination of the virucidal activity*

Les essais de virucidie du produit consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 1 volume de substance interférente et 8 volumes de la solution d'essai. Après différents temps de contact à une température de 20°C +/- 1°C, 0,1ml de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat est évaluée par la technique de titrage sur cellule BHK-21.

L'activité virucide du produit test est mesurée en calculant la chute du titre viral obtenu après traitement par comparaison avec un témoin de titrage obtenu en absence de désinfectant. La différence est exprimée en facteur de réduction (FR).

To test the virucidal activity of the product 1 part by volume of virus was incubated at 20°C +/- 1°C with 1 part by volume of interfering substances and 8 parts by volume of the solution of disinfectant. After different time of contacts, 0.1ml of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on BHK-21 cell.

The virucidal activity of the test disinfectant was evaluated by calculating the decrease in titre in comparison with the control titration without disinfectant. The difference is given as reduction factor (RF).

f) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Huit Volumes des solutions d'essai du produit sont additionnés à 1 volume de suspension de virus et 1 volume de substance interférente. Immédiatement après la préparation du mélange, au temps 0, 0,1ml du mélange sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR. Les filtrats dilués au 1/10^{ème} dans du milieu de culture sont ensuite incubés pendant 30 min dans un bain de glace fondante. Puis les suspensions virales sont diluées de 10^{-2} à 10^{-8} dans du milieu de culture glacé et la quantité de virus résiduel est évaluée par la technique de titrage sur cellule BHK-21.

Eight parts by volume of solutions of disinfectant are mixed with 1 part by volume of interfering substances and 1 part by volume of virus. Immediately after preparation of the mixture, at time 0, 0.1ml of the mixtures are filtered on Microspin S-400 HR column. Then the filtrates are mixed with nine parts by volume of culture medium and the mixtures are leaved in an ice bath for 30 min. Then the viral suspensions were diluted from 10^{-2} to 10^{-8} in ice-cold culture medium and the quantity of residual virus was evaluated by titration on BHK-21 cell.

g) Inactivation du virus au Formaldéhyde à 0,7% (m/v) / *Inactivation of the virus with 0.7% (w/v) Formaldehyde*

La suspension de virus a été soumise à des essais virucides vis-à-vis du Formaldéhyde à 0,7% (m/v) comme substance de référence pour l'inactivation virale afin de contrôler l'uniformité du comportement de notre souche virale aux agents chimiques au cours du temps.

Les essais consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 4 volumes de solution tamponnée au phosphate (PBS, Invitrogen, France) et 5 volumes de Formaldéhyde à 1,4% (m/v). Après des temps de contact de 30 min et 60 min à une température de 20°C +/- 1°C, un aliquote de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat a été évaluée par la technique de titrage sur cellule BHK-21.

The suspension of virus was subjected to virucidal tests against 0.7% (w/v) Formaldehyde solution as reference substance for viral inactivation in order to control the uniformity of the behaviour of our virus stock to the chemical agents during the time.

To test the virucidal activity 1 part by volume of virus was incubated with 4 parts by volume of phosphate buffered saline (PBS, Invitrogen, France) and 5 parts by volume of 1.4% (w/v) Formaldehyde. After incubation time of 30 min and 60 min at 20°C +/- 1°C, an aliquot of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on BHK-21 cell.

V- Résultats / Results

1) Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule 2419 et du filtrat sur colonne Microspin / Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula 2419 and filtrate on Microspin column :

Méthode / Method	Dilution subcytotoxique / subcytotoxic dilution			
	Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Technique par dilution / Dilution method	1/100	1/5 000	1/10 000	1/10 000
Filtration sur Microspin / Microspin filtration	1/10	1/10	1/10	1/10

2) Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule 2419 ou le Formaldéhyde à 0,7% / Evaluation of the cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula 2419 or 0.7% Formaldehyde

	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)	
	Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Cellules non traitées / Non treated cells	6.00 +/- 0.22	6.00 +/- 0.22
Cellules traitées / Treated cells	5.83 +/- 0.21 (0.17 +/- 0.22)	6.17 +/- 0.17 (0.00 +/- 0.22)

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

3) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity

Produit / Product	Concentration	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR)/ Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)
Témoin virus / Virus control	n.a.	4.67 +/- 0.17
Formule 2419 / Formula 2419	80%	0.50 +/- 0.00 (4.17 +/- 0.17)
Formule 2419 / Formula 2419	40%	0.50 +/- 0.00 (4.17 +/- 0.17)
Formule 2419 / Formula 2419	1%	4.33 +/- 0.17 (0.34 +/- 0.17)
Témoin virus / Virus control	n.a.	4.50 +/- 0.00
Formaldéhyde / Formaldehyde	0.7%	3.83 +/- 0.28 (0.67 +/- 0.00)

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

4) Evaluation de l'effet virucide de la Formule 2419 / Evaluation of the virucidal activity of the Formula 2419:

Tableau des résultats de virucidie de la Formule 2419 en conditions de saleté sur la souche MVA du virus de la Vaccine

Table on the virucidal activity of the Formula 2419 in dirty conditions on the Vaccinia Virus strain MVA

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)		>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			<0.25	1	
Témoin virus / Virus control	n.a.	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	4.67 +/- 0.17	4.67 +/- 0.17	n.a.
Formule 2419 / Formula 2419	80%		0.50 +/- 0.00 (4.17 +/- 0.17)	0.50 +/- 0.00 (4.17 +/- 0.17)	≥1 min
Formule 2419 / Formula 2419	40%		0.50 +/- 0.00 (4.17 +/- 0.17)	0.50 +/- 0.00 (4.17 +/- 0.17)	≥1 min
Formule 2419 / Formula 2419	1%		4.33 +/- 0.17 (0.33 +/- 0.17)	4.33 +/- 0.27 (0.33 +/- 0.17)	>1 min

Tableau des résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% sur la souche MVA du virus de la Vaccine

Table on the virucidal activity of 0.7% Formaldehyde on the Vaccinia Virus strain MVA

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)			>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			<0.25	30	60	
Témoin virus / Virus control	n.a.	PBS	4.67 +/- 0.17	n.t.	4.50 +/- 0.00	n.a.
Formaldéhyde / Formaldehyde	0.7%		4.00 +/- 0.22 (0.67 +/- 0.17)	0.50 +/- 0.00 (4.17 +/- 0.17)	0.50 +/- 0.00 (4.17 +/- 0.17)	≥30 min

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

n.t. : non soumis à l'essai / non tested

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

VI- Conclusion / Conclusion

La Formule **2419** est active à la concentration de 80% et 40% après un temps de contact de 1 minute à 20°C, selon la norme NF EN 14476+A1 (Octobre 2015), en conditions de saleté- vis-à-vis de la souche MVA du virus de la Vaccine

*The Formula **2419** is active at the concentrations of 80% and 40% after 1 minute of exposure time at 20°C, according to the standard NF EN 14476+A1 (October 2015), in dirty conditions against the Vaccinia Virus strain MVA.*

Lille, le 29 juillet 2019

Responsable technique



Dr. P. E. LOBERT

Chef de Service



Pr. D. HOBER

Fin du rapport (complet) / *End of the report (complete)*

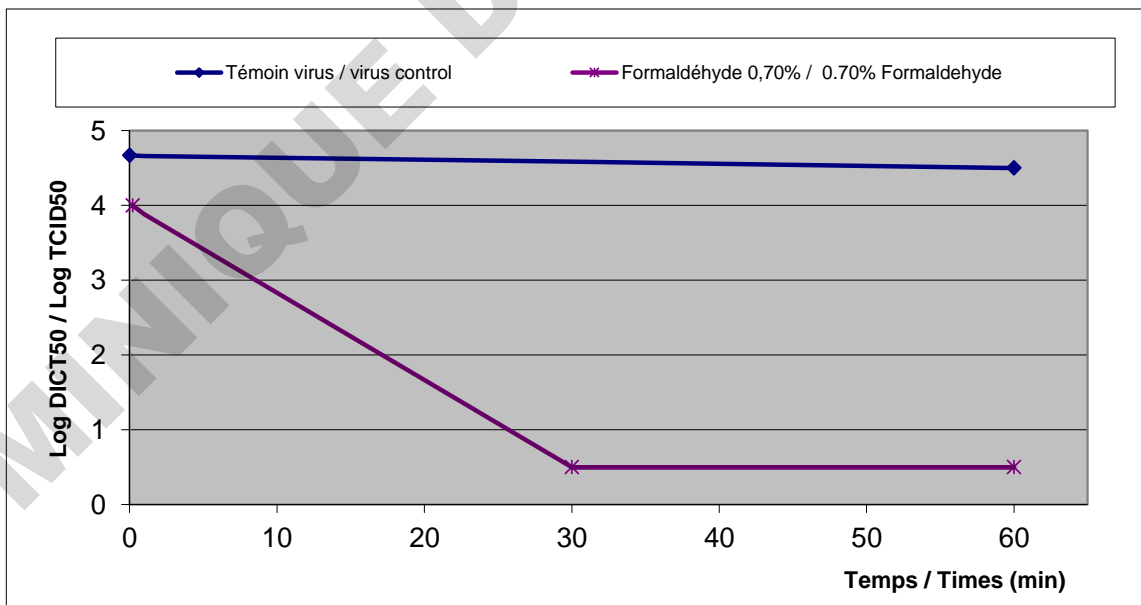
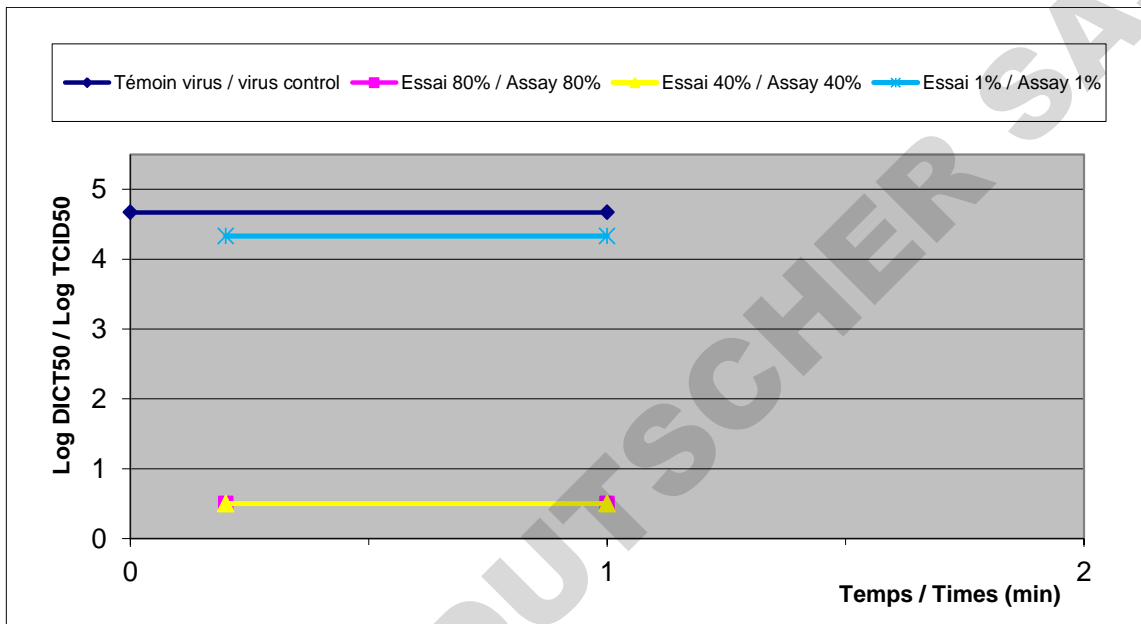
Rapport/Report n° 2019/E026-032 - Page 10/10

© Document interne, propriété C.H.U. de LILLE

Annexe 1 / Annex 1 :

Représentation graphique des résultats de virucidie de la Formule **2419** en conditions de propreté et du Formaldéhyde à 0,7% vis-à-vis du Virus de la vaccine

*Figure of the virucidal activity of the Formula **2419** in dirty conditions and 0.7% Formaldehyde against the Vaccinia Virus*



Annexe 2 / Annex 2 :

Données brutes relatives aux tests réalisés
Raw data about the assays

- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay supernatant :*

Produit / Product	Dilution (log) ^(a)							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Suspension d'essai / <i>essai supernatant</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	3 0	0 0	0 0	0 0

- Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule 2419 et du filtrat sur colonne Microspin / *Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula 2419 and filtrate on Microspin column :*

Produit / Product	Méthode / Method	Dilution (log)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	0	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	Tox.*	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	Tox.	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formaldéhyde (0,7%) / <i>Formaldehyde</i> (0.7%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	Tox.	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

Légende / legend :

Tox. : Toxique / Toxic

Tox.* : Toxicité partielle / Partial toxicity

n.t. : non soumis à l'essai / non tested

- Résultats de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule 2419 ou le Formaldéhyde à 0,7% / *Cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula 2419 or 0.7% Formaldehyde*

Produit / Product	Méthode / Method	Dilution (log) ^(a)							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	3 0	0 0	0 0	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	0 3	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	3 0	0 0	0 0	0 0
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	3 0	0 0	0 0	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 3	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Produit / Product	Dilution (log) ^(a)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	3 4	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (-40%)	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Témoin virus / Virus control	4 4	4 4	4 4	3 4	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	3 4	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)	4 4	4 4	4 4	3 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	0 4	0 3	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	3 4	0 4	0 0	0 0	0 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie de la Formule 2419 / *Virucidal activity of the Formula 2419*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	<0.25	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 3 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		1	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 3 4 4 3 4	0 4 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)		<0.25	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		1	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)		<0.25	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		1	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)		<0.25	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 0 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		1	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 0 0 4	4 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0

Légende / legend :

- (a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% / Virucidal activity of 0.7% Formaldehyde

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	PBS	<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	3 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
60		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 3 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	3 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)		<0.25	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 3 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 3	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	30	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
60	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		

Légende / legend :

- (a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

DOMINIQUE DUTSCHER SAS



Laboratoire de Virologie EA3610
CHU de Lille – Université de Lille
Centre Paul Boulanger, Hôpital A. Calmette
Bd du Pr Jules Leclercq
59037 Lille Cedex
France
Tel : (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30
Fax : (33) 03.20.44.48.95
Email : didier.hober@chru-lille.fr

N° de rapport : 2019/E026-070
Date d'édition : 22/11/2019

RAPPORT D'ESSAI / TRIAL REPORT

DETERMINATION DE L'ACTIVITE VIRUCIDE DE LA FORMULE 2419

**Selon la Norme NF EN 14476+A1 (Octobre 2015)
Vis à vis du Rotavirus SA-11**

EVALUATION OF THE VIRUCIDAL EFFECT OF THE FORMULA 2419

**Test method according to the standard NF EN 14476+A1 (October 2015)
Against the Rotavirus SA-11**

Rapport pour / Report submitted to:

**LABORATOIRES ANIOS SAS
Pavé du moulin
59260 Lille Hellemmes
France**

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci-après) soumis à l'essai. Les résultats ne valent que pour l'échantillon soumis au dosage et tel qu'il a été reçu.

This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval. The results are only valid for the sample submitted to the dosage and as received.

Ce document comporte 10 pages numérotées et 2 annexes de 4 pages

This report is made of 10 numbered pages and 2 annexes of 4 pages

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

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

Rapport/Report n° 2019/E026-070 - Page 1/10

I- Introduction / Introduction

A la demande de la société Laboratoires ANIOS SAS, la Formule 2419 a été évaluée pour ses propriétés inactivatrices contre la souche SA-11 de Rotavirus simien. L'essai a été effectué selon la norme NF EN 14476+A1 : Antiseptiques et désinfectants chimiques – Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical – Méthode d'essai et prescriptions (Phase 2/ Etape 1) – Octobre 2015.

As requested by the Laboratoires ANIOS SAS Society, the Formula 2419 was evaluated for its virucidal inactivating properties against the Simian Rotavirus strain SA-11. The testing was carried out in accordance with the standard of NF EN 14476+A1: Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (Phase 2/ Step 1) – October 2015.

II- Identification du produit / Identification of sample

- Nom du produit / Name of the product : FORMULE 2419 / FORMULA 2419
- Fabricant / Manufacturer : Laboratoires ANIOS SAS
- N° de lot – N° de formule / Batch N° - Formula N° : B18604S
- Date d'échantillonnage (réalisé sous la responsabilité du client) / Date of sampling (carried out under the responsibility of the customer) : 07/2019
- Date de réception / Date of receipt : 16/10/2019
- Aspect du produit / Appearance of the product : Liquide limpide et incolore / Clear and colourless liquid
- Substances actives / Active substances :
 - Chlorure de didécylidiméthylammonium / Didecylidimethylammonium chloride (CAS : 7173-51-5) : 3 mg/g
- pH du produit / pH value of the product : Non Dilué (20°C) pH=4,80 / Undiluted (20°C) pH=4.80
- Conditions de stockage / Storage conditions : Température ambiante, à l'abri de la lumière / Room temperature and darkness
- Application / Use : Nettoyage et désinfection des surfaces et des dispositifs médicaux / Cleaning and disinfection of surfaces and medical devices

III- Conditions expérimentales / Experimental conditions

- Période d'essai / Period of analysis : du 24/10/19 au 04/11/19 / Through 10/24/19 to 04/11/19
- Température d'essai / Test temperature : 20°C +/- 1°C
- Concentrations en produit testées / Concentrations of the test product : 80%, 40% et / and 1%
- Temps de contact / Contact times : 30 secondes / seconds et / and 1 minute / minute
- Diluant du produit / Diluent of the product : eau pour préparation injectable / water for injection
- Apparence de la formule et de ses dilutions / Appearance of the formula and its dilutions : Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai / Preparation physically homogeneous and stable during test
- Substances interférentes / Interfering substances : Solution de sérum albumine bovine sérique (SAB) et hématies de mouton à la concentration finale dans l'essai de 3 g de SAB et 3 ml d'hématies de mouton par litre / Bovine serum albumin (BSA) and sheep erythrocytes at final concentration of 3 g of BSA and 3 ml of sheep erythrocytes per liter in test

Rapport/Report n° 2019/E026-070 - Page 2/10

- Stabilité du mélange (formule et substances interférentes) / *Stability of the mixture (formula and interfering substance)* : Absence de précipité pendant l'essai / *Precipitate absent throughout the test*

- Méthode pour stopper l'activité du produit / *Procedure to inactivate the product* : Filtration sur gel / *Gel filtration*

IV- Matériel et Méthodes / Material and methods

1- Matériel / Material

a) Virus / Virus

La souche SA-11 de Rotavirus Simien (ATCC VR-1565) a été fournie par la société LGC Promochem (Molsheim, France).

The Simian Rotavirus strain SA-11 (ATCC VR-1565) was obtained from LGC Promochem (Molsheim, France).

- Numéro de lot interne / *internal lot number* : Lot 050117 (P05)
- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay supernatant* : $10^{9,50}$ DICT₅₀/ml / $10^{9,50}$ TCID₅₀/ml

b) Lignée cellulaire / Cell line

La lignée cellulaire MA-104 utilisée avec le Rotavirus SA-11 provient de l'European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

The MA-104 cell line used with the simian Rotavirus SA-11 was obtained from the European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

Nombre de passage / *passage number* : Subculture P13-15

2- Méthodes d'essai / Methods

a) Titrage viral / Determination of the viral infectivity

Les suspensions virales traitées ou non traitées par le produit à tester sont diluées en série de 10^{-1} à 10^{-8} , dans du Milieu MEM de Eagle (EMEM, Invitrogen, France) glacé avec 2µg/ml de trypsine (Sigma, France). 0,1 ml de chaque dilution est ensuite transféré dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules MA-104, en commençant par la dilution la plus élevée. Après une heure d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est additionné à chaque puits. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait au microscope inversé après 9 et 12 jours d'incubation. Le calcul du titre de l'infectivité virale (\log_{10} DICT₅₀/ml) est déterminé par la méthode Spearman-Kärber.

The viral suspensions treated or non-treated with the product were diluted from 10^{-1} to 10^{-8} in ice-cold Eagle's Medium (EMEM, Invitrogen, France) containing 2µg/ml trypsin (Sigma, France). 0.1 ml of each dilution was transferred, beginning with the highest dilution, into six wells of a 96 wells microtitre plate with an established MA-104 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytopathic effect (CPE) was read by using an inverted microscope after 9 and 12 days in a 5% CO₂-atmosphere. Calculation of estimated virus concentration (\log_{10} TCID₅₀/ml) was carried out by the Spearman-Kärber method.

b) Détermination de la concentration subcytotoxique du produit / *Determination of the product cytotoxicity*

Les solutions d'essai du produit additionnées de 1/10^{ème} de la substance interférente et de 1/10^{ème} d'eau pour préparation injectable sont diluées de 10⁻¹ à 10⁻⁵ dans du milieu EMEM glacé contenant 2µg/ml de trypsine. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 4 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules MA-104. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 7 jours à 37°C en présence de 5% de CO₂.

For determination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of water for injection, were diluted from 10⁻¹ to 10⁻⁵ with ice-cold EMEM containing 2µg/ml trypsin. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 4 wells of a 96 wells microtitre plate with an established MA-104 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after 7 days at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere.

c) Elimination de la cytotoxicité du produit / *Elimination of the product cytotoxicity*

0,1ml des solutions d'essai du produit additionnées de 1/10^{ème} de la substance interférente et de 1/10^{ème} d'eau pour préparation injectable, sont filtrés sur colonne Microspin S-400 HR (GE Healthcare). Les filtrats sont ensuite dilués de 10⁻¹ à 10⁻³ dans du milieu EMEM glacé contenant 2µg/ml de trypsine. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 4 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules MA-104. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 7 jours à 37°C en présence de 5% de CO₂.

For elimination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 0.1 ml of 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of water for injection, were filtrated on Microspin S-400 HR column (GE Healthcare). Then filtrates were diluted from 10⁻¹ to 10⁻³ with ice-cold EMEM + 2µg/ml trypsin. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 4 wells of a 96 wells microtitre plate with an established MA-104 monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after 7 days at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere.

d) Sensibilité des cellules au virus / *Cell sensitivity to the virus*

Un titrage comparatif du virus est réalisé sur les cellules MA-104 traitées ou non par le désinfectant afin de tester la réduction de sensibilité des cellules au virus en présence du produit. 0,1 ml de la plus basse dilution apparemment non cytotoxique du désinfectant ou de PBS est distribué dans 8 x 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules MA-104. Après 1 h à 37°C en présence de 5% de CO₂, le milieu de culture est éliminé des puits et 0,1 ml de virus dilués de 10⁻¹ à 10⁻⁸ dans du milieu de culture à 2% de SVF, est distribué en parallèle sur les cellules traitées ou non traitées. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait après 9 et 12 jours d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂ et le titre viral est calculé.

A comparative virus titration is performed on MA-104 cells that have or have not been treated with the disinfectant to check the reduction of the cells sensitivity to the virus. 0.1 ml of the lowest apparently non-

cytotoxic dilution of the disinfectant or of PBS are distributed onto 8 x 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established MA-104 monolayer. After 1 h at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere, culture medium is removed from the wells and 0.1 ml of virus diluted from 10⁻¹ to 10⁻⁸ with culture medium + 2µg/ml trypsin was added on treated or untreated cells in parallel. The cytopathic effect (CPE) was read after 9 and 12 days at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere and the virus titer was calculated.

e) Mesure de l'activité virucide du produit / *Determination of the virucidal activity*

Les essais de virucidie du produit consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 1 volume de substance interférente et 8 volumes de la solution d'essai. Après différents temps de contact à une température de 20°C +/- 1°C, un aliquot de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat a été évaluée par la technique de titrage sur cellule MA-104.

L'activité virucide du produit test est mesurée en calculant la chute du titre viral obtenu après traitement par comparaison avec un témoin de titrage obtenu en absence de désinfectant. Le résultat est exprimé en facteur de réduction (FR).

To test the virucidal activity of the product 1 part by volume of virus was incubated at 20°C +/- 1°C with 1 part by volume of interfering substances and 8 parts by volume of the solution of disinfectant. After different incubation time, an aliquot of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on MA-104 cell.

The virucidal activity of the test disinfectant was evaluated by calculating the decrease in titre in comparison with the control titration without disinfectant. The results are expressed as reduction factor (RF).

f) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Huit Volumes des solutions d'essai du produit sont additionnés à 1 volume de suspension de virus et 1 volume de substance interférente. Immédiatement après la préparation du mélange, au temps 0, 0,1ml du mélange sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR. Les filtrats dilués au 1/10^{ème} dans du milieu de culture sont ensuite incubés pendant 30 min dans un bain de glace fondante. Puis les suspensions virales sont diluées de 10⁻² à 10⁻⁸ dans du milieu de culture glacé et la quantité de virus résiduel est évaluée par la technique de titrage sur cellule MA-104.

Eight parts by volume of solutions of disinfectant are mixed with 1 part by volume of interfering substances and 1 part by volume of virus. Immediately after preparation of the mixture, at time 0, 0.1ml of the mixtures are filtered on Microspin S-400 HR column. Then the filtrates are mixed with nine parts by volume of culture medium and the mixtures are leaved in an ice bath for 30 min. Then the viral suspensions were diluted from 10⁻² to 10⁻⁸ in ice-cold culture medium and the quantity of residual virus was evaluated by titration on MA-104 cell.

g) Inactivation du virus au formaldéhyde à 0,7% (m/v) / *Inactivation of the virus with 0.7% (w/v) formaldehyde*

La suspension de virus a été soumise à des essais virucides vis-à-vis du formaldéhyde à 0,7% (m/v) comme substance de référence pour l'inactivation virale afin de contrôler l'uniformité du comportement de notre souche virale aux agents chimiques au cours du temps.

Les essais consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 4 volumes de solution tamponnée au phosphate (PBS, Invitrogen, France) et 5 volumes de formaldéhyde à 1,4% (m/v). Après des temps de contact de 30 et 60 min à une

température de 20°C +/- 1°C, un aliquote de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat a été évaluée par la technique de titrage sur cellule MA-104.

The suspension of virus was subjected to virucidal tests against 0.7% (w/v) formaldehyde solution as reference substance for viral inactivation in order to control the uniformity of the behaviour of our virus stock to the chemical agents during the time.

To test the virucidal activity 1 part by volume of virus was incubated with 4 parts by volume of phosphate buffered saline (PBS, Invitrogen, France) and 5 parts by volume of 1.4% (w/v) formaldehyde. After incubation time of 30 and 60 min at 20°C +/- 1°C, an aliquot of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on MA-104 cell.

V- Résultats / Results

1) Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule **2419** et du filtrat sur colonne Microspin / *Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula 2419 and filtrate on Microspin column :*

Méthode / Method	Dilution subcytotoxique / subcytotoxic dilution			
	Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Technique par dilution / Dilution method	1/1 000	1/1 000	1/10	1/10 000
Filtration sur Microspin / Microspin filtration	1/10	1/10	1/10	1/100

2) Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule **2419** ou le Formaldéhyde à 0,7% / *Evaluation of the cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula 2419 or 0.7% Formaldehyde*

	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)	
	Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Cellules non traitées / Non treated cells	8.50 +/- 0.00	8.50 +/- 0.00
Cellules traitées / Treated cells	8.50 +/- 0.00 (0.00 +/- 0.00)	8.50 +/- 0.00 (0.00 +/- 0.00)

3) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity

Produit / Product	Concentration	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)
Témoin virus /Virus control	n.a.	6.50 +/- 0.00
Formule 2419 / Formula 2419	80%	1.50 +/- 0.00 (5.00 +/- 0.00)
Formule 2419 / Formula 2419	40%	2.50 +/- 0.00 (4.00 +/- 0.00)
Formule 2419 / Formula 2419	1%	6.17 +/- 0.28 (0.33 +/- 0.56)

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

4) Evaluation de l'effet virucide de la Formule **2419** / *Evaluation of the virucidal activity of the Formula **2419*** :

Tableau des résultats de virucidie de la Formule 2419 en conditions de saleté sur la souche SA-11 de Rotavirus

Table on the virucidal activity of the Formula 2419 in dirty conditions on the Rotavirus strain SA-11

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)			>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			<0.25	0.50	1	
Témoin virus / Virus control	n.a.	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	6.17 +/- 0.21	n.t.	6.33 +/- 0.17	n.a.
Formule 2419 / Formula 2419	80%		1.50 +/- 0.00 (4.67 +/- 0.42)	0.83 +/- 0.21 (5.34 +/- 0.60)	0.50 +/- 0.00 (5.67 +/- 0.42)	≥0.5 min
Formule 2419 / Formula 2419	40%		3.17 +/- 0.21 (3.00 +/- 0.60)	n.t.	1.50 +/- 0.00 (4.67 +/- 0.42)	≥1 min
Formule 2419 / Formula 2419	1%		5.50 +/- 0.24 (0.67 +/- 0.63)	n.t.	5.33 +/- 0.17 (0.84 +/- 0.54)	>1 min

Tableau des résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% sur la souche SA-11 de Rotavirus

Table on the virucidal activity of 0.7% Formaldehyde on the Rotavirus strain SA-11

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)			>4 log réduction après xx min / >4 log reduction after xx min
			<0.25	30	60	
Témoin virus / Virus control	n.a.	PBS	6.33 +/- 0.27	n.t.	6.50 +/- 0.32	n.a.
Formaldéhyde / Formaldehyde	0.7%		6.33 +/- 0.17 (0.00 +/- 0.63)	4.83 +/- 0.24 (1.50 +/- 0.71)	4.17 +/- 0.28 (2.16 +/- 0.77)	>60 min

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

n.t. : non soumis à l'essai / non tested

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

VI- Conclusion / Conclusion

La Formule **2419** est active à la concentration de 80% après un temps de contact de 30 secondes à 20°C, selon la norme NF EN 14476+A1 (Octobre 2015), dans des conditions de saleté vis-à-vis de la souche SA-11 de Rotavirus.

La Formule **2419** est active à la concentration de 40% après un temps de contact de 1 minutes à 20°C, selon la norme NF EN 14476+A1 (Octobre 2015), dans des conditions de saleté vis-à-vis de la souche SA-11 de Rotavirus.

*The Formula **2419** is active at the concentration of 80% after 30 seconds of exposure time at 20°C, according to the standard NF EN 14476+A1 (October 2015), in dirty conditions against the Rotavirus strain SA-11.*

*The Formula **2419** is active at the concentration of 40% after 1 minute of exposure time at 20°C, according to the standard NF EN 14476+A1 (October 2015), in dirty conditions against the Rotavirus strain SA-11.*

Lille, le 22 novembre 2019

Responsable technique



Dr. P. E. LOBERT

Chef de Service



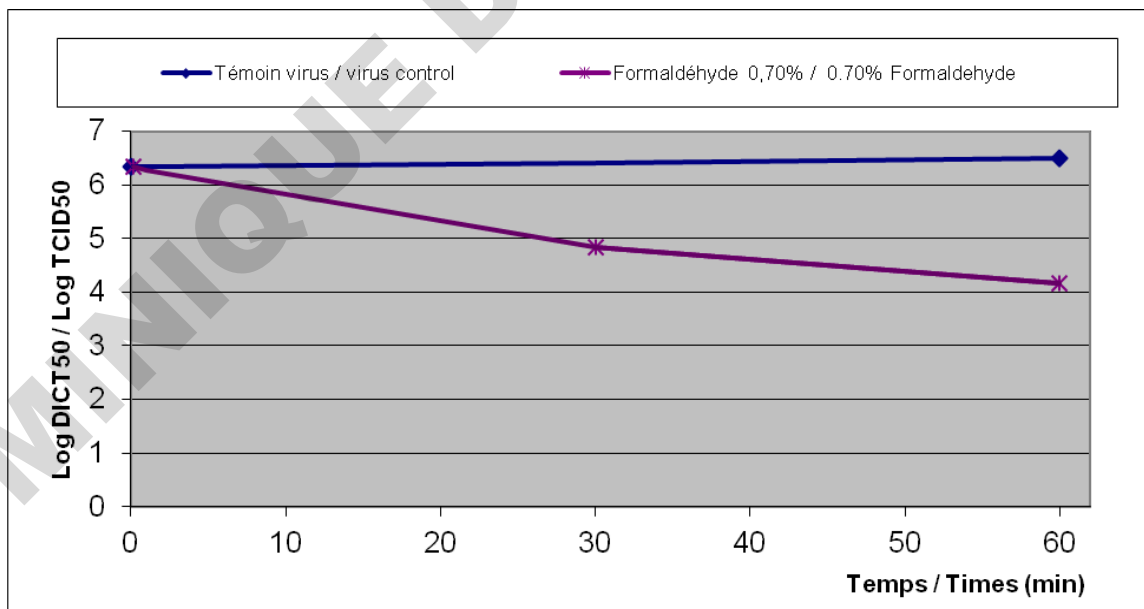
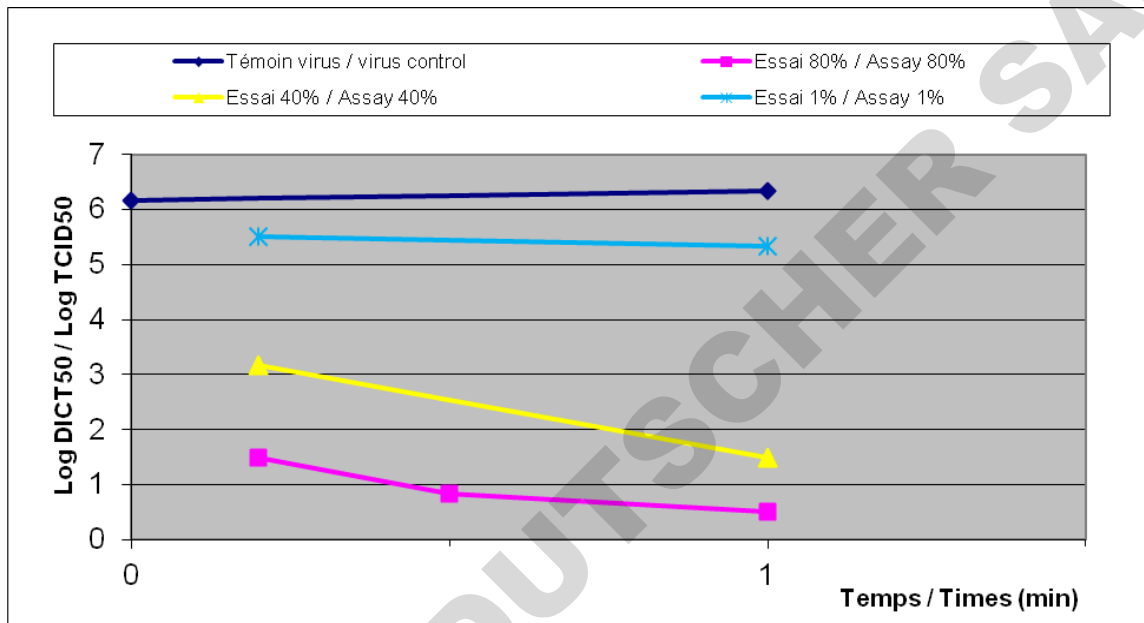
Pr. D. HOBERT

Fin du rapport (rapport complet) / end of the report (complete report)

Annexe 1 / Annex 1 :

Représentation graphique des résultats de virucidie de la Formule **2419** en conditions de saleté et du Formaldéhyde à 0,7% vis-à-vis du Rotavirus SA-11

Figure of virucidal activity of the Formula **2419** in dirty conditions and 0.7% Formaldehyde against the Rotavirus strain SA-11



Annexe 2 / Annex 2 :

Données brutes relatives aux tests réalisés

Raw data about the assays

- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay supernatant :*

Produit / <i>Product</i>	Dilution (log) ^(a)							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Suspension d'essai / <i>essai supernatant</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0

- Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule 2419 et du filtrat sur colonne Microspin / *Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula 2419 and filtrate on Microspin column :*

Produit / <i>Product</i>	Méthode / <i>Method</i>	Dilution (log)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Formule 2419 (80%) / <i>Formula 2419</i> (80%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formule 2419 (40%) / <i>Formula 2419</i> (40%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formule 2419 (1%) / <i>Formula 2419</i> (1%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	0	0	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	0	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formaldéhyde (0,7%) / <i>Formaldehyde</i> (0.7%)	Technique par dilution / <i>Dilution method</i>	Tox.	Tox.	Tox.	0	0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin / <i>Microspin filtration</i>	Tox.	0	0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

Légende / legend :

Tox. : Toxique / Toxic

Tox.* : Toxicité partielle / Partial toxicity

n.t. : non soumis à l'essai / non tested

- Résultats de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule 2419 ou le Formaldéhyde à 0,7% / *Cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula 2419 or 0.7% Formaldehyde*

Produit / Product	Méthode / Method	Dilution (log) ^(a)							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / *Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

Produit / Product	Dilution (log) ^(a)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
Formule 2419 (80%) / Formula 2419 (80%)	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Formule 2419 (40%) / Formula 2419 (40%)	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Formule 2419 (1%) / Formula 2419 (1%)	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 4	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie de la Formule 2419 / *Virucidal activity of the Formula 2419*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	<0.25	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		1	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
<0.25		4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	
0.5		0 4 0 4 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	
1		0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	
<0.25		4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 0 0 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	
1		4 4 4 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	
<0.25		4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 0 4 4 4	4 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	
1		4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 0 4 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration

0 : aucun virus présent.

- Résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% / *Virucidal activity of 0.7% Formaldehyde*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	PBS	<0.25	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 4 4 4 0 4	0 4 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0
		60	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 4 0 0 4 4	4 0 4 4 0 0	0 0 0 0 0 0
<0.25		4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 0 4 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	
30		4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 4 0 0 0	4 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	
60		4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	4 4 4 4 4 4	0 0 4 0 4 4	0 0 0 0 0 4	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	0 0 0 0 0 0	

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration

0 : aucun virus présent.

Compatibilités

Tableau de compatibilité produits/matériaux et produits/dispositifs médicaux Page 137

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

DOMINIQUE DUTSCHER SAS



LABORATOIRES CHIMIE ANALYTIQUE
ANALYTICAL CHEMISTRY LABORATORY

Responsable (*Manager*)
M. SAUTY

Sainghin-en-Mélantois, le 7 octobre 2021
Sainghin-en-Mélantois, on October 7, 2021

COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Numéro d'enregistrement : 39130
Registration Number : 39130

Numéro d'étude : 20/303ANA
Study Number : 20/303ANA

Rapport de compatibilités produit/matériaux *Compatibility report product/materials*

Tableau récapitulatif des essais de compatibilité du produit code formule 2419
vis-à-vis de différents matériaux
Summary of compatibility tests of product formula code 2419 versus various materials

Ce document comporte 29 pages numérotées et 1 annexe
This report is made of 29 numbered pages and 1 appendix

Laboratoires ANIOS SAS
1, rue de l'Espoir – 59260 Lezennes
Tél. +33 3 20 67 67 67 – Fax : + 33 3 20 67 67 68
Siret N° 823 326 061 00020 – SAS au capital de 656 204 591 €



Sommaire (Summary)

1. Objet et principe de l'étude (<i>Object and principle of the study</i>)	3
2. Information sur le donneur d'ordre et le personnel de l'étude (<i>Information on the study sponsor and study staff</i>)	3
2.1. Donneur d'ordre (<i>Study Sponsor</i>)	3
2.2. Responsable Laboratoire Chimie Analytique (<i>Analytical Chemistry Laboratory Manager</i>)	3
2.3. Technicien en charge de l'étude (<i>Study Personnel</i>)	3
3. Planification de l'étude (<i>Study timetable</i>)	4
4. Description de l'étude (<i>Study description</i>)	4
4.1. Produit utilisé (<i>Used product</i>)	4
4.2. Panel testé (<i>Panel tested</i>)	5
4.3. Conditions opératoires (<i>Operating conditions</i>)	8
4.4. Observations (<i>Observations</i>)	9
5. Résultats (<i>Results</i>)	13
6. Conclusion (<i>Conclusion</i>)	24
Annexe : Certificat d'analyse (<i>Appendix : Analysis certificate</i>)	28

1. Objet et principe de l'étude (Object and principle of the study)

L'étude décrite dans ce rapport porte sur l'évaluation de la compatibilité du détergent désinfectant de l'instrumentation dentaire, code formule 2419, vis-à-vis d'un panel de matériaux représentatif de son application.

L'évaluation de compatibilité a été évaluée par vieillissement accéléré des matériaux en contact avec le produit. Les conditions opératoires sont décrites en paragraphe 4.3.

The study described in this report evaluates the compatibility of disinfectant detergent for dental instrumentation, formula code 2419, against a range of materials representative of its application. The study is performed by total immersion using an automated system.

Compatibility evaluation was assessed by accelerated ageing of the materials in contact with the product. The operating conditions are described in section 4.3.

2. Information sur le donneur d'ordre et le personnel de l'étude (Information on the study sponsor and study staff)

2.1. Donneur d'ordre (Study Sponsor)

Laboratoires ANIOS
1 rue de l'Espoir - 59260 LEZENNES

2.2. Responsable Laboratoire Chimie Analytique (Analytical Chemistry Laboratory Manager)

Laboratoires ANIOS
3330 route de Lille - 59262 SAINGHIN EN MELANTOIS
Mathieu SAUTY
mathieu.sauty@anios.com

2.3. Technicien en charge de l'étude (Study Personnel)

Laboratoires ANIOS – Laboratoire de Chimie Analytique
3330 route de Lille - 59262 SAINGHIN EN MELANTOIS
Marion ROUSSEL
marion.rousseau@anios.com

3. Planification de l'étude (Study timetable)

Commencement de l'étude	19/06/2020
<i>Start of study</i>	<i>19/06/2020</i>
Commencement des expérimentations	19/06/2020
<i>Start of experimental phase</i>	<i>19/06/2020</i>
Fin des expérimentations	26/06/2020
<i>End of experimental phase</i>	<i>26/06/2020</i>
Rédaction du rapport	29/06/2020
<i>Writing of report</i>	<i>29/06/2020</i>
Fin d'étude	29/06/2020
<i>End of study</i>	<i>29/06/2020</i>

4. Description de l'étude (Study description)

4.1. Produit utilisé (Used product)

Code produit	2419
<i>Product code</i>	<i>2419</i>
Domaine d'application	Détergent désinfectant des surfaces et des dispositifs médicaux
<i>Scope of application</i>	<i>Disinfectant detergent for surfaces and medical devices</i>
Numéro de lot	B03028S
<i>Batch number</i>	<i>B03028S</i>
Date d'expiration	01/2021
<i>Expiration date</i>	<i>01/2021</i>
Dose d'emploi	Produit prêt à l'emploi
<i>Application rate</i>	<i>Ready to use product</i>
Aspect du produit	Liquide limpide incolore
<i>Product Aspect</i>	<i>liquid limpid colorless</i>

4.2. Panel testé (Panel tested)

L'analyse de la base de données matériaux FS513 identifie les matériaux Acrylonitrile Butadiène Styrène (ABS), Acier inoxydable, Aluminium anodisé, Polysulphone (PSU), Polyphénylsulfone (PPSU), Polyméthacrylate de méthyle (PMMA), Polypropylène (PP), Polychlorure de vinyle (PVC), silicone, Polyéthylène (PE), Polycarbonate (PC), Polyamide (PA), Polyétheréthercétone (PEEK), Polyfluorure de vinylidène (PVDF), Polytétrafluoroéthylène (PTFE), verre, Aluminium laqué, Corian, Viton, Polystyrène (PS), Polyuréthane (PU), caoutchouc, Nitrile, Polyoxyméthylène (POM), Polytéraphthalate d'éthylène (PET), Néoprène, EPDM, Nickel, Laiton chromé, Tissu enduit PU, Tissu enduit PVC/coton, tissu enduit Vinyl/PU et tissu nylon comme représentatif des surfaces et dispositifs médicaux tel que par exemple des sondes échographies ou des respirateurs.

En plus de ces matériaux les éléments Gaine endoscope PVC, revêtement en Skaï et titane sont ajoutés pour couvrir un spectre le plus large possible de matériaux.

Le tableau ci-dessous consigne la synthèse des échantillons testés :

Analysis of the FS513 material database identifies the materials Acrylonitrile Butadiene Styrene (ABS), Stainless Steel, Anodized Aluminum, Polysulphone (PSU), Polyphenylsulfone (PPSU), Polymethyl methacrylate (PMMA), Polypropylene (PP), Polyvinyl chloride (PVC), Silicone, Polyethylene (PE), Polycarbonate (PC), Polyamide (PA), Polyetheretherketone (PEEK), Polyvinylidene fluoride (PVDF), Polytetrafluoroethylene (PTFE), Glass, Lacquered aluminium, Corian, Viton, Polystyrene (PS), Polyurethane (PU), Rubber, Nitrile, Polyoxymethylene (POM), Polyethylene terephthalate (PET), Neoprene, EPDM, Nickel, Chrome-plated Brass, PU coated fabric, PVC/cotton coated fabric, Vinyl/PU coated fabric and nylon fabric as representative of medical surfaces and devices such as e.g. ultrasound probes or respirators.

In addition to these materials the elements PVC endoscope sheath, Skai and titanium coating are added to cover the widest possible spectrum of materials.

The widest possible spectrum of materials. The table below gives a summary of the samples tested:

Matériaux (Materials)	Fournisseur (Supplier)	Etat général (General aspect)
Acier inoxydable brossé	Weber	Neuf
<i>Brushed stainless steel</i>	<i>Weber</i>	<i>New</i>
Acier inoxydable brillant	Weber	Neuf
<i>Bright stainless steel</i>	<i>Weber</i>	<i>New</i>
Titane	Weber	Neuf
<i>Titanium</i>	<i>Weber</i>	<i>New</i>
Aluminium laqué	Marquage moderne	Neuf
<i>Lacquered Aluminium</i>	<i>Marquage Moderne</i>	<i>New</i>

Matériaux (Materials)	Fournisseur (Supplier)	Etat général (General aspect)
Aluminium anodisé	Trotec	Neuf
<i>Anodized Aluminium</i>	<i>Trotec</i>	<i>New</i>
PTFE	Diplatech	Neuf
<i>PTFE</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
ABS	Diplatech	Neuf
<i>ABS</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
PEHD	Diplatech	Neuf
<i>PEHD</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
PVC	Diplatech	Neuf
<i>PVC</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
PET	Diplatech	Neuf
<i>PET</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
PSU	Goodfellow	Neuf
<i>PSU</i>	<i>Goodfellow</i>	<i>New</i>
PPSU	Dräger	Neuf
<i>PPSU</i>	<i>Dräger</i>	<i>New</i>
PEEK	Diplatech	Neuf
<i>PEEK</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
PS	Sunclear	Neuf
<i>PS</i>	<i>Sunclear</i>	<i>New</i>
PA	Diplatech	Neuf
<i>PA</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
Verre	VWR	Neuf
<i>Glass</i>	<i>VWR</i>	<i>New</i>
PMMA	Diplatech	Neuf
<i>PMMA</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
Nitrile	Caquant	Neuf
<i>Nitrile</i>	<i>Caquant</i>	<i>New</i>

Matériaux (Materials)	Fournisseur (Supplier)	Etat général (General aspect)
Silicone	Caquant	Neuf
<i>Silicone</i>	<i>Caquant</i>	<i>New</i>
EPDM	Caquant	Neuf
<i>EPDM</i>	<i>Caquant</i>	<i>New</i>
Néoprène	Caquant	Neuf
<i>Neoprene</i>	<i>Caquant</i>	<i>New</i>
Viton®	Caquant	Neuf
<i>Viton®</i>	<i>Caquant</i>	<i>New</i>
Caoutchouc	Caquant	Neuf
<i>Rubber</i>	<i>Caquant</i>	<i>New</i>
PP	Diplatech	Neuf
<i>PP</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
PC	Diplatech	Neuf
<i>PC</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
POM-C	Diplatech	Neuf
<i>POM-C</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
POM-H	Diplatech	Neuf
<i>POM-H</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
HPL	Duffay	Neuf
<i>HPL</i>	<i>Duffay</i>	<i>New</i>
PU	Caquant	Neuf
<i>PU</i>	<i>Caquant</i>	<i>New</i>
PVDF	Diplatech	Neuf
<i>PVDF</i>	<i>Diplatech</i>	<i>New</i>
Laiton chromé	Delabie	Neuf
<i>Chrome-plated Brass</i>	<i>Delabie</i>	<i>New</i>
Tissu enduit PU	Clinibed	Neuf
<i>PU coated fabric</i>	<i>Clinibed</i>	<i>New</i>
Tissu Nylon	Clinibed	Neuf
<i>Nylon fabric</i>	<i>Clinibed</i>	<i>New</i>

Matériaux (Materials)	Fournisseur (Supplier)	Etat général (General aspect)
Tissu enduit PVC/Coton	Griffine	Neuf
<i>PVC/Coton coated fabric</i>	<i>Griffine</i>	<i>New</i>
Skaï	Sical	Neuf
<i>Skaï</i>	<i>Sical</i>	<i>New</i>
Tissu enduit Vinyl/PU	Spradling	Neuf
<i>Vinyl/PU coated fabric</i>	<i>Spradling</i>	<i>New</i>
Nickel	Weber	Neuf
<i>Nickel</i>	<i>Weber</i>	<i>New</i>
Corian	Corian	Neuf
<i>Corian</i>	<i>Corian</i>	<i>New</i>
Gaine endoscope PVC	Endoflex	Neuf
<i>PVC endoscope sheath</i>	<i>Endoflex</i>	<i>New</i>

4.3. Conditions opératoires (Operating conditions)

Le test de compatibilité consiste à envelopper les matériaux dans des lingettes imprégnées de produit à tester. Les lingettes sont ensuite enveloppées dans du film alimentaire pour éviter que celles-ci ne sèchent.

Les lingettes sont changées tous les 3 jours afin que les matériaux soient toujours en contact avec le produit.

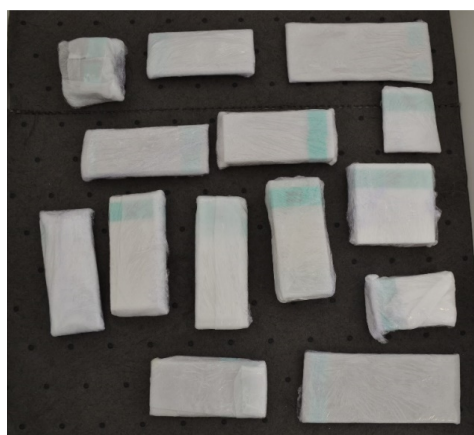
Le temps de contact maximum revendiqué pour une utilisation selon les instructions d'utilisation du produit est de 30min. En accord avec les dispositions de la procédure interne IS024, la durée totale de test est définie pour 300 x 30min, soit 150 heures arrondies à 7 jours de test.

A la fin du test, les matériaux sont rincés à l'eau courante afin d'éviter d'éventuelle traces de séchage de produit puis séchés à l'air libre.

The compatibility test consists of wrapping the materials in wipes impregnated with the product to be tested. The wipes are then wrapped in cling film to prevent them from drying out.

The wipes are changed every 3 days so that the materials are always in contact with the product.

The maximum contact time claimed for use in accordance with the product's instructions for use is 30min. In accordance with the provisions of internal procedure IS024, the total test time is defined as 300 x 30min, so 150 hours rounded up to 7 days of testing. At the end of the test, the materials are rinsed under tap water to avoid any traces of product drying and then dried in the open air.



Le tableau ci-dessous consigne la synthèse des conditions opératoires :

The table below gives a summary of the operating conditions:

Dilution	Produit prêt à l'emploi
<i>Dilution</i>	<i>Ready to use</i>
Température	Température ambiante ($20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$)
<i>Temperature</i>	<i>Room temperature ($20^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$)</i>
Temps de contact	7 jours
<i>Contact time</i>	<i>7 days</i>
Type de lingette	100% viscose
<i>Wipe type</i>	<i>100% viscose</i>
Taux d'imprégnation	300%
<i>Impregnation rate</i>	<i>300%</i>

4.4. Observations (Observations)

Une expertise complète des matériaux est effectuée toutes les semaines. Si lors des changements de lingettes tous les 3 jours, un matériau présente une modification, alors une expertise complète est déclenchée. Les matériaux sont séchés à l'air libre à température ambiante puis observés, pesés et pris en photo.

Les photos des matériaux sont effectuées à l'aide d'un microscope numérique VHX-950F (CH619) de chez KEYENCE, muni de lentilles Z0 grossissement de x5 à x50 ou Z20 grossissement de x20 à x200.

Les pesées sont effectuées à l'aide d'une balance avec une précision de lecture à 10^{-3}g (CH349).

A complete material survey is carried out every week. If during the wipes changes every 3 days and there is a change in the material, then a complete assessment is triggered. The materials are dried in the open at ambient temperature and then observed, weighed and photographed.

Photographs of the materials are taken using a KEYENCE VHX-950F (CH619) digital microscope, equipped with Z0 lenses with x5 to x50 zoom and Z20 lenses with x20 to x200 zoom. Weighing is performed using a balance with a readability of 10-3g (CH349).

Un score est ensuite attribué à chaque matériau selon la grille de lecture ci-dessous :

A score is then assigned to each material according to the reading grid below:

Score (Score)	Acier inoxydable/Titane (Stainless steel/Titanium)	Aluminium laqué (Laquered Aluminium)	Tube d'endoscope (Endoscope Tube)
1	<ul style="list-style-type: none"> Pas de modification No modification 	<ul style="list-style-type: none"> Pas de modification No modification 	<ul style="list-style-type: none"> Pas de modification No modification
2	<ul style="list-style-type: none"> Légère modification de la brillance / coloration Only slight modification of gloss/ coloration 	<ul style="list-style-type: none"> Légère modification de la brillance / coloration Only slight modification of gloss/ coloration 	<ul style="list-style-type: none"> Légère modification de la brillance / coloration Only slight modification of gloss/ coloration
3	/	<ul style="list-style-type: none"> 2 et / ou Apparition de quelques points blancs / cloques 2 and/or Apparition of few white spots/blister 	<ul style="list-style-type: none"> 2 et / ou Légère dégradation des inscriptions sans perte des informations Léger aspect collant / rugueux Modification de la masse < 2% 2 and/or Slight alteration of marks without loss of clear information Slight sticky/rough aspect Modification of mass < 2%
4	/	<ul style="list-style-type: none"> 3 et / ou Augmentation des points blancs/cloque 3 and/or Increasing of white spots/blister 	<ul style="list-style-type: none"> 3 et / ou Augmentation de dégradation des inscriptions Modifications de la flexibilité/ rigidité Modification de la brillance / coloration Modification de la masse < 5% 3 and/or Increasing of alteration of mark Modification of flexibility / rigidity Modification of gloss / coloration Modification of mass < 5%
5	<ul style="list-style-type: none"> Légère modification de masse inférieure à 0,5% Slight modification of mass less than 0,5% 	<ul style="list-style-type: none"> 4 et / ou Apparition de quelques points de corrosion 4 and/or Apparition of few pits of corrosion 	<ul style="list-style-type: none"> 4 et / ou Pertes des inscriptions Apparition de fissures Aspect collant important Modification de la masse > 5% 4 and/or Loss of marks Apparition of cracks Important Sticky Aspect Modification of mass > 5%
6	<ul style="list-style-type: none"> Points de corrosion significatifs Significant pits of corrosion 	<ul style="list-style-type: none"> 5 et / ou Augmentation de la perte de masse supérieur à 5% Nombreux points de corrosion Décollement du revêtement 5 and/or Increasing of loss of mass more than 5% Numerous pits of corrosion Coating that peels off 	<ul style="list-style-type: none"> 5 et / ou Aspect gondolé du tube Cassure de la gaine Friable / perte de l'intégrité de la matière 5 and/or Scrambled aspect of the tube Break of the tube Crumbly /Loss of integrity of the matter

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Score (Score)	Elastomère (Elastomer)	Polymère plastique (Plastic Polymer)	Aluminium Anodisé (Anodized Aluminium)
1	<ul style="list-style-type: none"> Pas de modification <i>No modification</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Pas de modification <i>No modification</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Pas de modification <i>No modification</i>
2	<ul style="list-style-type: none"> Légère modification de la brillance / coloration <i>Only slight modification of gloss/ coloration</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Légère modification de la brillance / coloration <i>Only slight modification of gloss/ coloration</i> 	<ul style="list-style-type: none"> Légère modification de la brillance / coloration <i>Only slight modification of gloss/ coloration</i>
3	<ul style="list-style-type: none"> 2 et / ou Léger aspect collant / rugueux Modification de la masse < 2% Léger aspect gonflé / rétracté <i>2 and/or</i> <i>Slight sticky/rough aspect</i> <i>Modification of mass < 2%</i> <i>Slight inflated/ retracted aspect</i> 	<ul style="list-style-type: none"> 2 et / ou Léger aspect collant / rugueux <i>2 and/or</i> <i>Slight Sticky/rough aspect</i> 	<ul style="list-style-type: none"> 2 et / ou Modification nette de la coloration Perte de masse inférieur à 0,5% <i>2 and/or</i> <i>Clear modification of coloration</i> <i>Loss of mass less than 0.5%</i>
4	<ul style="list-style-type: none"> 3 et / ou Modification de la flexibilité / rigidité Modification de la brillance / coloration Aspect gonflé / rétracté Modification de dimensions supérieures à 5 % <i>3 and/or</i> <i>Modification of flexibility / rigidity</i> <i>Modification of gloss / coloration</i> <i>Modification of mass < 5%</i> <i>Inflated/ Retracted aspect</i> <i>Modification of dimension more than 5%</i> 	<ul style="list-style-type: none"> 3 et / ou Importante modification de couleur Apparition de fissures sur les bords <i>3 and/or</i> <i>Important modification of coloration</i> <i>Apparition of cracks on the edges</i> 	<ul style="list-style-type: none"> 3 et / ou Augmentation de la perte de masse inférieur à 2% <i>3 and/or</i> <i>Increasing of loss of mass less than 2%</i>
5	<ul style="list-style-type: none"> 4 et / ou Apparition de fissures Modification de la masse >5% Aspect collant important Modification de dimensions supérieures à 10 % <i>4 and/or</i> <i>Apparition of cracks</i> <i>Modification of mass > 5%</i> <i>Important Sticky Aspect</i> <i>Modification of dimension more than 10%</i> 	<ul style="list-style-type: none"> 4 et / ou Modification de la masse >0,5% Apparition de fissures Aspect collant important <i>4 and/or</i> <i>Modification of mass < 0.5%</i> <i>Apparition of cracks</i> <i>Important Sticky Aspect</i> 	<ul style="list-style-type: none"> 4 et / ou Apparition de quelques points de corrosion Perte d'anodisation <i>4 and/or</i> <i>Apparition of few pits of corrosion</i> <i>Loss of anodization</i>
6	<ul style="list-style-type: none"> 5 et / ou Friable / perte de l'intégrité de la matière <i>5 and/or</i> <i>Crumbly / Loss of integrity of the matter</i> 	<ul style="list-style-type: none"> 5 et / ou Modification de la masse < 2% Cassure de matière <i>5 and/or</i> <i>Modification of mass < 2%</i> <i>Break of the matter</i> 	<ul style="list-style-type: none"> 5 et / ou Augmentation de la perte de masse supérieur à 5% Nombreux points de corrosion <i>5 and/or</i> <i>Increasing of loss of mass more than 5%</i> <i>Numerous pits of corrosion</i>

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

5. Résultats (Results)

Le suivi massique effectué au cours de l'étude est renseigné dans le tableau ci-dessous :
 The mass tracking carried out during the study is shown in the table below:

Matériaux (Materials)	Masse des matériaux (g) (Mass of materials (g))		
	T0	T3 jours	T7 jours
Acier inoxydable brossé (Brushed stainless steel)	12,775	12,775	12,774
Acier inoxydable brillant (Bright stainless steel)	16,139	16,137	16,138
Titane (Titanium)	9,210	9,203	9,203
Aluminium laqué (Lacquered Aluminium)	5,825	5,826	5,825
Aluminium anodisé (Anodized Aluminium)	4,252	4,251	4,251
PTFE (PTFE)	5,682	5,679	5,680
ABS (ABS)	4,548	4,557	4,549
PEHD (PEHD)	2,522	2,521	2,521
PVC (PVC)	3,250	3,251	3,249
PET (PET)	5,860	5,865	5,866
PSU (PSU)	1,875	1,879	1,875
PPSU (PPSU)	11,113	11,137	11,112
PEEK (PeeK)	15,413	15,417	15,419
Polystyrène (Polystyrene)	4,538	4,536	4,536
Polyamide (Polyamid)	2,555	2,620	2,626
Verre (Glass)	5,354	5,354	5,353
PMMA (PMMA)	5,156	5,173	5,174
Nitrile (Nitrile)	2,557	2,563	2,557
Silicone (Silicone)	2,304	2,304	2,304
EPDM (EPDM)	2,430	2,431	2,430
Néoprène (Neoprene)	2,746	2,750	2,745
Viton (Viton)	3,572	3,572	3,572
Caoutchouc (Rubber)	2,755	2,759	2,756
PP (PP)	2,052	2,053	2,051
PC (PC)	2,437	2,436	2,432
POM-C (POM-C)	3,100	3,110	3,101
POM-H (POM-H)	20,625	20,644	20,646
HPL (HPL)	142,372	142,689	142,781
PU (PU)	2,636	2,645	2,637
PVDF (PVDF)	22,674	22,674	22,674
Laiton Chromé (Chrome-plated Brass)	18,316	18,317	18,316
Tissu enduit PU (PU Coated fabric)	1,172	1,171	1,173
Tissu Nylon (Nylon tissu)	1,070	1,071	1,071
Tissu enduit PVC/Coton (PVC/Cotton Coated fabric)	5,420	5,476	5,421
Skai (Skai)	7,915	7,917	7,914
Tissu enduit Vynil PU (Vynil/ PU Coated Fabric)	5,512	5,542	5,510
Nickel (Nickel)	7,373	7,372	7,372
Corian (Corian)	32,042	32,051	32,052
Gaine endoscope (Tube endoscope)	32,031	32,050	32,036

DOCUMENT N°
 COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
 LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
 CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
 COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Matériaux (Materials)	% Variation de masse par rapport au T0 (% variation of mass in relation of T0)		
	T0	T3 jours	T7 jours
Acier inoxydable brossé (Brushed stainless steel)	0,00	0,00	-0,01
Acier inoxydable brillant (Bright stainless steel)	0,00	-0,01	-0,01
Titane (Titanium)	0,00	-0,08	-0,08
Aluminium laqué (Lacquered Aluminium)	0,00	0,02	0,00
Aluminium anodisé (Anodized Aluminium)	0,00	-0,02	-0,02
PTFE (PTFE)	0,00	-0,05	-0,04
ABS (ABS)	0,00	0,20	0,02
PEHD (PEHD)	0,00	-0,04	-0,04
PVC (PVC)	0,00	0,03	-0,03
PET (PET)	0,00	0,09	0,10
PSU (PSU)	0,00	0,21	0,00
PPSU (PPSU)	0,00	0,22	-0,01
PEEK (Peek)	0,00	0,03	0,04
Polystyrène (Polystyrene)	0,00	-0,04	-0,04
Polyamide (Polyamid)	0,00	2,54*	2,78*
Verre (Glass)	0,00	0,00	-0,02
PMMA (PMMA)	0,00	0,33	0,35
Nitrile (Nitrile)	0,00	0,23	0,00
Silicone (Silicone)	0,00	0,00	0,00
EPDM (EPDM)	0,00	0,04	0,00
Néoprène (Neoprene)	0,00	0,15	-0,04
Viton (Viton)	0,00	0,00	0,00
Caoutchouc (Rubber)	0,00	0,15	0,04
PP (PP)	0,00	0,05	-0,05
PC (PC)	0,00	-0,04	-0,21
POM-C (POM-C)	0,00	0,32	0,03
POM-H (POM-H)	0,00	0,09	0,10
HPL (HPL)	0,00	0,22	0,29
PU (PU)	0,00	0,34	0,04
PVDF (PVDF)	0,00	0,00	0,00
Laiton Chromé (Chrome-plated Brass)	0,00	0,01	0,00
Tissu enduit PU (PU Coated fabric)	0,00	-0,09	0,09
Tissu Nylon (Nylon tissu)	0,00	0,09	0,09
Tissu enduit PVC/Coton (PVC/Cotton Coated fabric)	0,00	1,03	0,02
Skai (Skai)	0,00	0,03	-0,01
Tissu enduit Vynil PU (Vynil/ PU Coated Fabric)	0,00	0,54	-0,04
Nickel (Nickel)	0,00	-0,01	-0,01
Corian (Corian)	0,00	0,03	0,03
Gaine endoscope (Tube endoscope)	0,00	0,06	0,02

* : L'absorption constatée est en accord avec les caractéristiques techniques du matériau testé (water absorption DIN ENISO62 = 2.8%)

* : The absorption observed is in compliance with the technical characteristics of the material tested (water absorption DIN ENISO62 - 2.8%)

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

DOMINIQUE DUTSCHER SAS


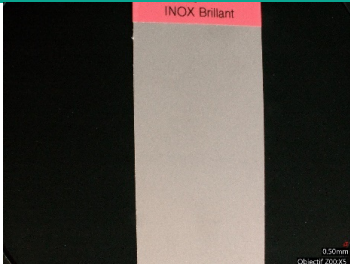
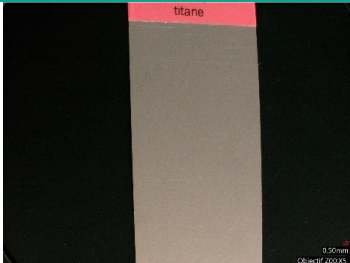
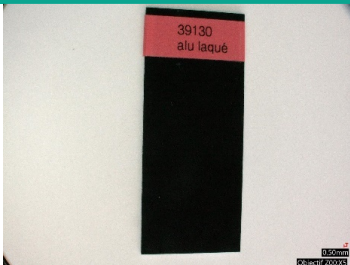
DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

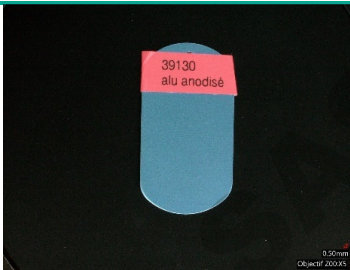
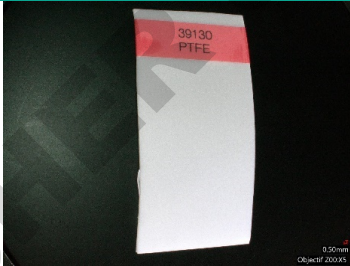

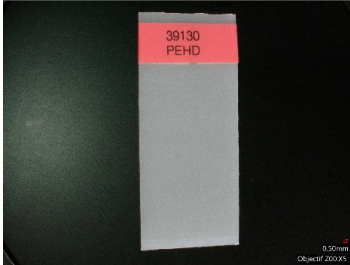
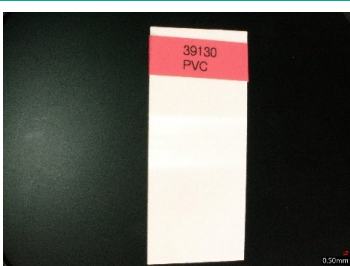
LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Les résultats obtenus au bout de 7 jours de wrapping sont renseignés dans le tableau ci-dessous :

The results obtained after 7 days of wrapping are shown in the table below:




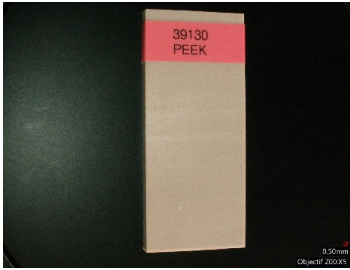

Matériaux (Materials)	Observations (Observations)	Score (Score)	Photo (Photo)
Acier inoxydable brossé	Pas de modification	1	
<i>Brushed stainless steel</i>	<i>No modification</i>		
Acier inoxydable brillant	Pas de modification	1	
<i>Bright stainless steel</i>	<i>No modification</i>		
Titane	Pas de modification	1	
<i>Titanium</i>	<i>No modification</i>		
Aluminium laqué	Pas de modification	1	
<i>Lacquered Aluminium</i>	<i>No modification</i>		

Matériaux (Materials)	Observations (Observations)	Score (Score)	Photo (Photo)
Aluminium anodisé	Pas de modification	1	
Anodized Aluminium	No modification		
PTFE	Pas de modification	1	
PTFE	No modification		
ABS	Pas de modification	1	
ABS	No modification		
PEHD	Pas de modification	1	
PEHD	No modification		
PVC	Pas de modification	1	
PVC	No modification		

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

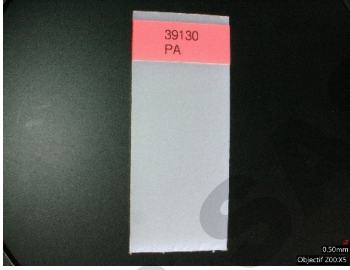

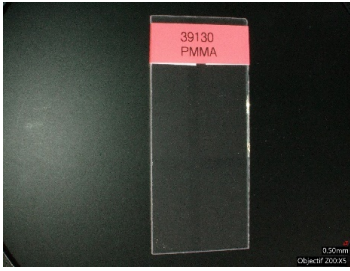


DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Matériaux (Materials)	Observations (Observations)	Score (Score)	Photo (Photo)
PET	Pas de modification	1	
PET	No modification		
PSU	Pas de modification	1	
PSU	No modification		
PPSU	Pas de modification	1	
PPSU	No modification		
PEEK	Pas de modification	1	
PEEK	No modification		
PS	Pas de modification	1	
PS	No modification		

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY





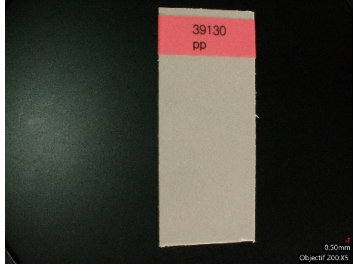
DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Matériaux (Materials)	Observations (Observations)	Score (Score)	Photo (Photo)
PA	Pas de modification	1	
PA	No modification		
Verre	Pas de modification	1	
Glass	No modification		
PMMA	Pas de modification	1	
PMMA	No modification		
Nitrile	Pas de modification	1	
Nitrile	No modification		
Silicone	Pas de modification	1	
Silicone	No modification		

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Matériaux (Materials)	Observations (Observations)	Score (Score)	Photo (Photo)
EPDM	Pas de modification	1	
EPDM	No modification		
Néoprène	Léger aspect collant	3	
Neoprene	Slightly sticky aspect		
Viton®	Pas de modification	1	
Viton®	No modification		
Caoutchouc	Léger aspect collant	3	
Rubber	Slightly sticky aspect		
PP	Pas de modification	1	
PP	No modification		

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Matériaux (Materials)	Observations (Observations)	Score (Score)	Photo (Photo)
PC	Pas de modification	1	
PC	No modification		
POM-C	Pas de modification	1	
POM-C	No modification		
POM-H	Pas de modification	1	
POM-H	No modification		
HPL	Pas de modification	1	
HPL	No modification		
PU	Pas de modification	1	
PU	No modification		

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Matériaux (Materials)	Observations (Observations)	Score (Score)	Photo (Photo)
PVDF	Pas de modification	1	
<i>PVDF</i>	<i>No modification</i>		
Laiton chromé	Pas de modification	1	
<i>Chrome-plated Brass</i>	<i>No modification</i>		
Tissu enduit PU	Pas de modification	1	
<i>PU coated fabric</i>	<i>No modification</i>		
Tissu Nylon	Pas de modification	1	
<i>Nylon fabric</i>	<i>No modification</i>		
Tissu enduit PVC/Coton	Pas de modification	1	
<i>PVC/Coton coated fabric</i>	<i>No modification</i>		

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Matériaux (Materials)	Observations (Observations)	Score (Score)	Photo (Photo)
Skaï	Pas de modification	1	
Skaï	No modification		
Tissu enduit Vinyl/PU	Pas de modification	1	
Vinyl/PU coated fabric	No modification		
Nickel	Pas de modification	1	
Nickel	No modification		
Corian	Pas de modification	1	
Corian	No modification		
Gaine endoscope PVC	Pas de modification	1	
PVC endoscope sheath	No modification		

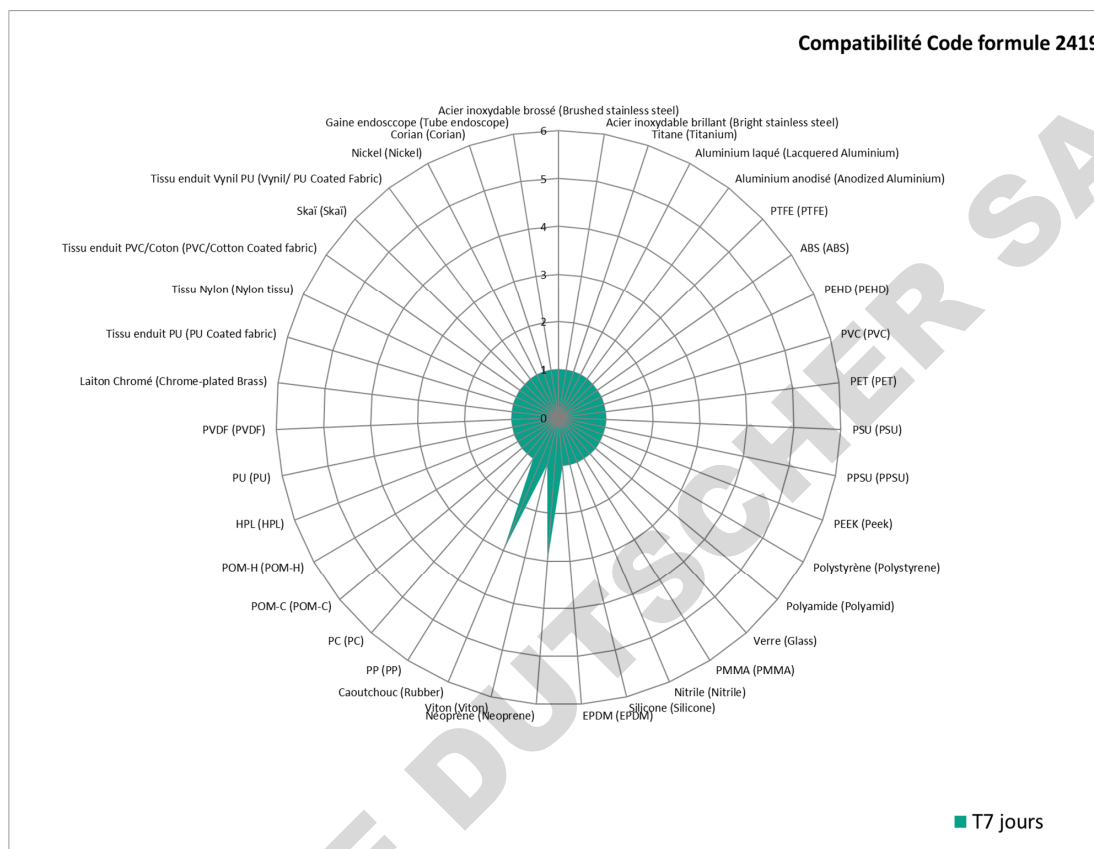
DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Les scores obtenus pour chaque matériau sont résumés dans le graphique ci-dessous :

The scores obtained for each material are summarized in the graph below:



Après 7 jours de wrapping, le néoprène et le caoutchouc présentent un léger aspect collant s'atténuant après séchage prolongé. L'analyse microscopique de la matière ne met pas en évidence d'atteinte de l'intégrité pouvant remettre en cause la compatibilité du produit avec la matière.

After 7 days of wrapping, neoprene and rubber have a slight sticky appearance that fades after prolonged drying. Microscopic analysis of the material does not reveal any compromise in integrity that could call into question the compatibility of the product with the material.

6. Conclusion (Conclusion)

Les résultats décrits dans le paragraphe 5 permettent de conclure sur la compatibilité ou non du produit code formule 2419 vis-vis du panel de matériaux représentatif du domaine d'application de celui-ci.

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

The results described in paragraph 5 make it possible to conclude whether or not product code 2419 is compatible with the panel of materials representative of its field of application.

Les conclusions sont renseignées dans le tableau ci-dessous :

The conclusions are set out in the table below:

Matériaux (Materials)	Résultats (Results)
Acier inoxydable brossé	Compatible*
<i>Brushed stainless steel</i>	<i>Compatible**</i>
Acier inoxydable brillant	Compatible*
<i>Bright stainless steel</i>	<i>Compatible**</i>
Titane	Compatible*
<i>Titanium</i>	<i>Compatible**</i>
Aluminium laqué	Compatible*
<i>Lacquered Aluminium</i>	<i>Compatible**</i>
Aluminium anodisé	Compatible*
<i>Anodized Aluminium</i>	<i>Compatible**</i>
PTFE	Compatible*
<i>PTFE</i>	<i>Compatible**</i>
ABS	Compatible*
<i>ABS</i>	<i>Compatible**</i>
PEHD	Compatible*
<i>PEHD</i>	<i>Compatible**</i>
PVC	Compatible*
<i>PVC</i>	<i>Compatible**</i>
PET	Compatible*
<i>PET</i>	<i>Compatible**</i>
PSU	Compatible*
<i>PSU</i>	<i>Compatible**</i>
PPSU	Compatible*
<i>PPSU</i>	<i>Compatible**</i>
PEEK	Compatible*
<i>PEEK</i>	<i>Compatible**</i>

Matériaux (Materials)	Résultats (Results)
PS	Compatible*
<i>PS</i>	<i>Compatible**</i>
PA	Compatible*
<i>PA</i>	<i>Compatible**</i>
Verre	Compatible*
<i>Glass</i>	<i>Compatible**</i>
PMMA	Compatible*
<i>PMMA</i>	<i>Compatible**</i>
Nitrile	Compatible*
<i>Nitrile</i>	<i>Compatible**</i>
Silicone	Compatible*
<i>Silicone</i>	<i>Compatible**</i>
EPDM	Compatible*
<i>EPDM</i>	<i>Compatible**</i>
Néoprène	Compatible* Léger aspect collant
<i>Neoprene</i>	<i>Compatible**</i> <i>Slightly sticky aspect</i>
Viton®	Compatible*
<i>Viton®</i>	<i>Compatible**</i>
Caoutchouc	Compatible* Léger aspect collant
<i>Rubber</i>	<i>Compatible**</i> <i>Slightly sticky aspect</i>
PP	Compatible*
<i>PP</i>	<i>Compatible**</i>
PC	Compatible*
<i>PC</i>	<i>Compatible**</i>
POM-C	Compatible*
<i>POM-C</i>	<i>Compatible**</i>
POM-H	Compatible*
<i>POM-H</i>	<i>Compatible**</i>
HPL	Compatible*
<i>HPL</i>	<i>Compatible**</i>

Matériaux (Materials)	Résultats (Results)
PU	Compatible*
<i>PU</i>	<i>Compatible**</i>
PVDF	Compatible*
<i>PVDF</i>	<i>Compatible**</i>
Laiton chromé	Compatible*
<i>Chrome-plated Brass</i>	<i>Compatible**</i>
Tissu enduit PU	Compatible*
<i>PU coated fabric</i>	<i>Compatible**</i>
Tissu Nylon	Compatible*
<i>Nylon fabric</i>	<i>Compatible**</i>
Tissu enduit PVC/Coton	Compatible*
<i>PVC/Coton coated fabric</i>	<i>Compatible**</i>
Skai	Compatible*
<i>Skai</i>	<i>Compatible**</i>
Tissu enduit Vinyl/PU	Compatible*
<i>Vinyl/PU coated fabric</i>	<i>Compatible**</i>
Nickel	Compatible*
<i>Nickel</i>	<i>Compatible**</i>
Corian	Compatible*
<i>Corian</i>	<i>Compatible**</i>
Gaine endoscope PVC	Compatible*
<i>PVC endoscope sheath</i>	<i>Compatible**</i>

* En respectant les recommandations d'utilisation des Laboratoires ANIOS

**According to Laboratoires ANIOS recommendations of use.

Annexe : Certificat d'analyse (Appendix : Analysis certificate)



LABORATOIRE DE
CONTROLE QUALITE
Responsable
Manager
J.FOSSE
Techniciens
Technicians
M. DUFOUR
L. FORTRIE
S. MONSAURET
T. LEURIDAN
C.CARON
S.BAILLEUL
H.DEPOORTER
A.MOREIRA
T. DELGHEIER

CERTIFICAT D'ANALYSE
CERTIFICADO DE ANALISIS
ANALYSIS CERTIFICATE

PRODUIT : SURFA SAFE PREMIUM

PRODUCTO
PRODUCT

LOT : B03028S

LOTE
BATCH NUMBER

Date de fabrication et d'analyse : : 30/01/2019

Fecha de fabricación y análisis
Production and analysis date

ANALYSE (Méthode) ANALISIS (Método) ANALYSIS (Method)	SPECIFICATION Especificación Mini (20°C)	RESULTAT RESULTADO RESULT (20°C)	SPECIFICATION Especificación Maxi (20°C)
pH (IS21)	5,0	6,2	7,0
Indice de réfraction (IS19) Índice de refracción Refractive index	1,33	1,33	1,34
Densité (IS18) Densidad Density	0,99	1,00	1,01

PRODUIT CONFORME
PRODUCTO CONFORME
PRODUCT CONFORMITY

OUI
SI
YES

NON
NO
NO

Date d'émission
Fecha de emisión
Sending out date
11/02/2019

Visa Technicien Qualité
Visado Técnico Calidad
Quality Technician Visa

Visa Responsable Contrôle Qualité
Visado Responsable Control calidad
Quality Control Manager Visa

Pavé du Moulin - 59260 Lille-Hellemmes
Tél. +33 3 20 67 67 67 - Fax : +33 3 20 67 67 68
SIREN N° 823 326 061 - S.A.S. au capital de 773 630 132 €



DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

LABORATOIRES ANIOS
LABORATOIRE DE PRESTATIONS ASSOCIEES
CUSTOMERS ASSISTANCE LABORATORY

DOCUMENT N°
COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A

Direction Scientifique

Liste des signataires du document



Nom_utilisateur : Jean-noel Bertho
Titre : Sr RD&E Group Leader
Date : vendredi, 08 octobre 2021, 08:35 Paris
Signification : Validation de document



Nom_utilisateur : Mathieu Sauty
Titre : RD&E Group Leader
Date : vendredi, 08 octobre 2021, 08:47 Paris
Signification : Validation de document

Fin de rapport

N Demande :	39130
Rapport d'essai :	COMPATIBILITES/2419/FR/EN/21A
Etude :	Compatibilité Produit-matériau
Date du document :	29/06/2020

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Réglementaire

Données de biodégradabilité	Page	169
Informations toxicologique et écotoxicologique à la dose maximale d'emploi	Page	171
Fiche de données de sécurité	Page	173

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Solution d'imprégnation des lingettes

WIP'ANIOS EXCEL

Données de biodégradabilité

Biodegradability data

Matière inorganique

99,5 %¹

Inorganic material

Non concerné par la notion de biodégradabilité

Not concerned by biodegradability notion

Matière organique biodégradable²

0.5 %¹

*Biodegradable organic material*²

Substances facilement biodégradables et/ou intrinsèquement biodégradables³

*Readily biodegradable substances and/or inherently biodegradable*³

Matière organique non biodégradable ou sans données de biodégradabilité²

0.0 %¹

*Non biodegradable organic material or material without any biodegradability data*²

Substances ne remplissant pas les critères de biodégradabilité, ou substances pour lesquelles aucune donnée de biodégradabilité n'est disponible.

Substances which not fulfil the biodegradability criteria, or substances without any biodegradability data.

Conclusion

Conclusion

La Solution d'imprégnation des lingettes **WIP'ANIOS EXCEL** contient 100 % de matières inorganiques et de matières organiques biodégradables.

*The impregnation liquid of **WIP'ANIOS EXCEL** contains 100 % of inorganic material and of biodegradable organic material.*

¹ % p/p indicatif / *indicative w/w %*

² Données de biodégradabilité communiquées par les fournisseurs des matières premières utilisées pour la formulation du produit et disponibles à la date du présent document / *Biodegradability data on raw material used for product formulation, provided by our suppliers and available at the date of this document*

³ Selon les lignes directrices OCDE 301 et 302 / *According to 301 and 302 OCDE guidelines*

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

WIP'ANIOS EXCEL

TOXICOLOGICAL AND ECOTOXICOLOGICAL INFORMATION OF THE READY TO USE PRODUCT

Hazards identification and Personal protection

HAZARDS IDENTIFICATION AT DILUTION OF USE

Health

This mixture does not present a health hazard with the exception of possible occupational exposure thresholds**.*

Environment

Hazardous to the aquatic environment – Chronic Hazard, Category 3 (Aquatic Chronic 3, H412).*

** Classification drawn up in accordance with European regulation related to the classification and labelling of chemical products.*

*** please refer to SDS §8 for TWA (Time-Weighted Average)/STEL (Short-term exposure limit) of concerned substances present in the product*

PERSONAL PROTECTION AT THE APPLICATION RATE UNDER THE CONDITIONS OF THE INTENDED USE

Refers exclusively to this product. If the product is handled and/or exposed simultaneously with other chemical agents, these must be taken into consideration when choosing personal safety equipment.

Respiratory protection

Not applicable in normal conditions of use.

Hand protection

When handling, wear suitable gloves

Nitrile, latex or vinyle gloves.

Gloves must be replaced immediately if they show signs of wear and tear.

Eye and face protection

Avoid contact with eyes.

Water source nearby

2446_Tox Ecotox Info_EN_06/05/2015

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Fiche de Données de Sécurité

La Fiche de Données de Sécurité (FDS) de ce produit est disponible sur notre site web www.ecolab.com/sds. En plus de la visualisation et/ou de l'impression, il vous est possible de la télécharger.

A défaut d'un accès internet, les FDS restent disponibles sur demande auprès de nos laboratoires.

(tél. : +33 3 20 67 67 67 - fax : +33 3 20 67 67 68)

DOMINIQUE DUTSCHER SAS