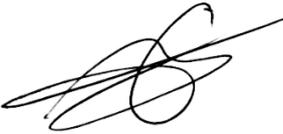
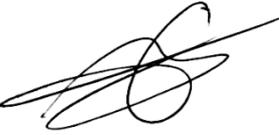


**WECLEEN**  
**M. Damien OURSEL**  
Pépinière cleantech –  
Avenue Louis Philibert  
13100 AIX-EN-PROVENCE

**DETERMINATION DE L'ACTIVITE  
BACTERICIDE DU PRODUIT  
Blue  
SELON LA NORME EN 1276:08-2019**

**RAPPORT D'ANALYSES  
R/20/21189B**

n° Version	Validation - Direction scientifique et technique / Direction qualité	Vérification - Adjoint à la Direction scientifique et technique	Date d'édition de la version	Date de modification
1	J.-F. LACROIX 	J.-F. LACROIX 	10/03/2021	/

Dossier 5224/20/00001  
Rapport R/20/21189B

Ce rapport ne concerne que l'échantillon soumis à l'analyse. Reproduction partielle interdite sans l'accord d'Analytice. Seul le rapport original fait foi.  
F-63 – V2 – 22/04/2009

10/03/2021  
Page 1/9

## SOMMAIRE

	Page
1. Cadre de la mission	3
2. Identification des échantillons	3
3. Conditions expérimentales	3
4. Résultats	4
5. Conclusion	4
6. Feuilles de résultats	4
7. VALIDATION DE LA METHODE - ESSAI	5
8. RESULTATS DES ESSAIS	6
9. VALIDATION DE LA METHODE - REPETITION	7
10. RESULTATS DES REPETITIONS	8
11. Annexe technique	9

### IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS

Nos références	Informations fournies par le client		Date de fabrication	Date d'analyse
	Vos références	Description		
E/20/83991	Blue Lot /	Solution désinfectante à base de chlore	/	Du 21/12/2020 au 04/01/2021

Votre commande : **200997 Bon Pour Accord**

## 1. Cadre de la mission

La Société WECLEEN demande à la Société Analytice de faire réaliser une détermination de l'activité bactéricide du produit **Blue** selon la norme EN 1276:08-2019 : antiseptiques et désinfectants chimiques – essais quantitatifs de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine de l'agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité.

## 2. Identification des échantillons

- Fabricant : WECLEEN.
- Date de fabrication : préparation avant essai, par électrolyseur fourni par le fabricant.
- Date limite d'utilisation optimale : 15 jours après fabrication.
- Conditions de stockage : température ambiante et obscurité.
- Substances actives : acide hypochloreux (250 ppm).
- Aspect : liquide.
- Diluant préconisé par le fabricant : aucun, produit prêt-à-l'emploi après électrolyse.
- Date de réception : 16/12/2020.
- Période de l'étude : du 21/12/2020 au 04/01/2021.

## 3. Conditions expérimentales

- Méthode employée : EN 1276:08-2019.
- Concentration finale : 80%, 50% et 10%.
- Temps de contact : 30 s.
- Température d'essai : 20°C.
- Substance interférente : BSA 0,3 g/L, conditions de propreté.
- Diluant des suspensions bactériennes et des essais : solution tryptone sel stérile pour les dénombrements et neutralisant pour les essais.
- Souches bactériennes : ***Staphylococcus aureus*** subsp. *aureus* CIP 4.83 batch 15713-1d (ATCC 6538),  
***Pseudomonas aeruginosa*** DSM 939 batch 0413 (ATCC 15442),  
***Enterococcus hirae*** DSM 3320 batch 0511 (ATCC 10541) et  
***Escherichia coli*** DSM 682 batch 01112 (ATCC 10536).
- Conditions de culture des bactéries : sur géloses TSA (Tryptone Soja Agar), à 37°C ± 1°C.
- Technique d'arrêt de l'action bactéricide : neutralisant à base de polysorbate 80 et de jaune d'œuf (composition en annexe).

## 4. Résultats

Voir les détails dans les feuilles de résultats pages 5 à 8.

Le produit **Blue** est bien actif vis-à-vis des souches de référence utilisées, car la réduction moyenne obtenue est d'au moins 5 log pour les cellules bactériennes viables :

- *Staphylococcus aureus* : R > 5,28
- *Pseudomonas aeruginosa* : R > 5,52
- *Enterococcus hirae* : R > 5,23
- *Escherichia coli* : R > 5,43

## 5. Conclusion

Conformément à la norme EN 1276:08-2019, le produit **Blue** :

1. a une **activité bactéricide** sur les souches ***Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus hirae* et *Escherichia coli*** lorsqu'employé dès **80%**, pour **30 s** de contact à **20°C**, en conditions de **propreté** (BSA 0,3 g/L).

## 6. Feuilles de résultats

Voir pages suivantes.

### VALIDATIONS

- La validation A correspond à la validation des conditions expérimentales.
- La validation B correspond à la validation de toxicité du neutralisant utilisé.
- La validation C correspond à la validation de la bonne neutralisation du produit.

Pour valider l'essai :

- Nv0 doit être compris entre 30 et 160.
- A, B, C doivent être supérieure ou égale à 0,5 x Nv0.

### ESSAIS

- N correspond au dénombrement de la suspension d'essai (UFC/mL).
- Log N0 correspond au logarithme du dénombrement du mélange d'essai =  $\log(N/10)$ .
- Log R correspond à la réduction logarithmique obtenue après action du produit ( $\text{Log R} = \log N0 - \log Na$ ).
- Vc correspond aux colonies comptées sur 1 boîte de pétri donc par mL (1mL de suspension par boîte de Petri).
- Na correspond au nombre d'Unité Formant Colonie survivant dans le mélange d'essai.
- $1E+XX = 1 \times 10^{XX}$ .

Pour être valide (bactéricidie) :

- N doit être compris entre  $1,5 \times 10^8$  et  $5 \times 10^8$ .
- Log N0 doit être compris entre 7,17 et 7,70.
- Il doit y avoir au moins une concentration efficace ( $R \geq 5$ ) et une concentration inefficace ( $R < 5$ ).

## 7. VALIDATION DE LA METHODE - ESSAI

Micro-organisme d'essai	Suspension de validation		Validation A		Validation B		Validation C	
<i>Staphylococcus aureus</i>	43	29	40	57	57	52	52	46
	$\bar{x}$	36,0	$\bar{x}$	48,5	$\bar{x}$	54,5	$\bar{x}$	49,0
	30 ≤ Nv0 ≤ 160		A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0	
	× oui □ non		× oui □ non		× oui □ non		× oui □ non	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	105	100	66	57	97	103	93	146
	$\bar{x}$	102,5	$\bar{x}$	61,5	$\bar{x}$	100,0	$\bar{x}$	119,5
	30 ≤ Nv0 ≤ 160		A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0	
	× oui □ non		× oui □ non		× oui □ non		× oui □ non	
<i>Enterococcus hirae</i>	69	83	81	91	60	68	52	73
	$\bar{x}$	76,0	$\bar{x}$	86,0	$\bar{x}$	64,0	$\bar{x}$	62,5
	30 ≤ Nv0 ≤ 160		A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0	
	× oui □ non		× oui □ non		× oui □ non		× oui □ non	
<i>Escherichia coli</i>	98	85	92	79	80	84	97	104
	$\bar{x}$	91,5	$\bar{x}$	85,5	$\bar{x}$	82,0	$\bar{x}$	100,5
	30 ≤ Nv0 ≤ 160		A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0	
	× oui □ non		× oui □ non		× oui □ non		× oui □ non	

## 8. RESULTATS DES ESSAIS

Micro-organisme d'essai	Suspension d'essai			Essai			Essai			Essai		
						80%			50%			10%
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.10 <sup>-6</sup>	160	162	1.10 <sup>0</sup>	0	0	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330
	1.10 <sup>-7</sup>	16	16	1.10 <sup>-1</sup>	0	0	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330
				1.10 <sup>-2</sup>	0	0	1.10 <sup>-2</sup>	35	37	1.10 <sup>-2</sup>	329	329
				Na	<140		Na	36000,00		Na	329000,00	
	N	1,61.10 <sup>8</sup>		Log Na	>2,15		Log Na	4,56		Log Na	5,52	
Log NO	7,21		Log R	>5,06		Log R	2,65		Log R	1,69		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.10 <sup>-6</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	0	0	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330
	1.10 <sup>-7</sup>	47	40	1.10 <sup>-1</sup>	0	0	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330
				1.10 <sup>-2</sup>	0	0	1.10 <sup>-2</sup>	41	49	1.10 <sup>-2</sup>	329	329
				Na	<140		Na	45000,00		Na	329000,00	
	N	4,35.10 <sup>8</sup>		Log Na	>2,15		Log Na	4,65		Log Na	5,52	
Log NO	7,64		Log R	>5,49		Log R	2,99		Log R	2,12		
<i>Enterococcus hirae</i>	1.10 <sup>-6</sup>	300	306	1.10 <sup>0</sup>	0	0	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330
	1.10 <sup>-7</sup>	25	29	1.10 <sup>-1</sup>	0	0	1.10 <sup>-1</sup>	276	280	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330
				1.10 <sup>-2</sup>	0	0	1.10 <sup>-2</sup>	28	30	1.10 <sup>-2</sup>	37	32
				Na	<140		Na	15350,00		Na	34500,00	
	N	3,00.10 <sup>8</sup>		Log Na	>2,15		Log Na	4,19		Log Na	4,54	
Log NO	7,48		Log R	>5,33		Log R	3,29		Log R	2,94		
<i>Escherichia coli</i>	1.10 <sup>-6</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	0	1	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330
	1.10 <sup>-7</sup>	34	42	1.10 <sup>-1</sup>	0	0	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330
				1.10 <sup>-2</sup>	0	0	1.10 <sup>-2</sup>	36	27	1.10 <sup>-2</sup>	66	69
				Na	<140		Na	31500,00		Na	67500,00	
	N	3,80.10 <sup>8</sup>		Log Na	>2,15		Log Na	4,50		Log Na	4,83	
Log NO	7,58		Log R	>5,43		Log R	3,08		Log R	2,75		

## 9. VALIDATION DE LA METHODE - REPETITION

Micro-organisme d'essai	Suspension de validation		Validation A		Validation B		Validation C	
<i>Staphylococcus aureus</i>	81	65	89	100	121	118	102	99
	$\bar{x}$	73,0	$\bar{x}$	94,5	$\bar{x}$	119,5	$\bar{x}$	100,5
	30 ≤ Nv0 ≤ 160		A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0	
	× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	133	110	87	94	124	114	109	115
	$\bar{x}$	121,5	$\bar{x}$	90,5	$\bar{x}$	119,0	$\bar{x}$	112,0
	30 ≤ Nv0 ≤ 160		A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0	
	× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non	
<i>Enterococcus hirae</i>	50	56	45	53	61	51	59	56
	$\bar{x}$	53,0	$\bar{x}$	49,0	$\bar{x}$	56,0	$\bar{x}$	57,5
	30 ≤ Nv0 ≤ 160		A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0	
	× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non	
<i>Escherichia coli</i>	77	81	93	83	110	92	107	81
	$\bar{x}$	79,0	$\bar{x}$	88,0	$\bar{x}$	101,0	$\bar{x}$	94,0
	30 ≤ Nv0 ≤ 160		A ≥ 0,5 * Nv0		B ≥ 0,5 * Nv0		C ≥ 0,5 * Nv0	
	× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non		× oui <input type="checkbox"/> non	

## 10. RESULTATS DES REPETITIONS

Micro-organisme d'essai	Suspension d'essai			Essai			Essai			Essai		
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.10 <sup>-6</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	3	4	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330
	1.10 <sup>-7</sup>	44	46	1.10 <sup>-1</sup>	0	0	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330
				1.10 <sup>-2</sup>	0	0	1.10 <sup>-2</sup>	37	45	1.10 <sup>-2</sup>	287	294
				Na	<140		Na	41000,00		Na	290500,00	
	N	4,50.10 <sup>8</sup>		Log Na	>2,15		Log Na	4,61		Log Na	5,46	
Log NO	7,65		Log R	>5,50		Log R	3,04		Log R	2,19		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.10 <sup>-6</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	9	8	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330
	1.10 <sup>-7</sup>	44	55	1.10 <sup>-1</sup>	1	1	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330
				1.10 <sup>-2</sup>	0	0	1.10 <sup>-2</sup>	77	71	1.10 <sup>-2</sup>	299	301
				Na	<140		Na	74000,00		Na	300000,00	
	N	4,95.10 <sup>8</sup>		Log Na	>2,15		Log Na	4,87		Log Na	5,48	
Log NO	7,69		Log R	>5,54		Log R	2,82		Log R	2,21		
<i>Enterococcus hirae</i>	1.10 <sup>-6</sup>	188	199	1.10 <sup>0</sup>	0	0	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330
	1.10 <sup>-7</sup>	17	13	1.10 <sup>-1</sup>	0	0	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330
				1.10 <sup>-2</sup>	0	0	1.10 <sup>-2</sup>	34	30	1.10 <sup>-2</sup>	67	73
				Na	<140		Na	32000,00		Na	70000,00	
	N	1,92.10 <sup>8</sup>		Log Na	>2,15		Log Na	4,51		Log Na	4,85	
Log NO	7,28		Log R	>5,13		Log R	2,77		Log R	2,43		
<i>Escherichia coli</i>	1.10 <sup>-6</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	0	0	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330	1.10 <sup>0</sup>	>330	>330
	1.10 <sup>-7</sup>	35	39	1.10 <sup>-1</sup>	0	0	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330	1.10 <sup>-1</sup>	>330	>330
				1.10 <sup>-2</sup>	0	0	1.10 <sup>-2</sup>	44	41	1.10 <sup>-2</sup>	89	96
				Na	<140		Na	42500,00		Na	92500,00	
	N	3,70.10 <sup>8</sup>		Log Na	>2,15		Log Na	4,63		Log Na	4,97	
Log NO	7,57		Log R	>5,42		Log R	2,94		Log R	2,60		

## 11. Annexe technique

### MILIEUX DE CULTURE UTILISES, stérilisés par autoclavage

TSA (Tryptone Soja Agar), Dominique Dutscher, réf. 777410, lot n°809295

### SUBSTANCES INTERFÉRENTES

Sérum Albumine Bovine en poudre, Dominique Dutscher, réf. 871001, lot D1304039

### DILUANT

#### Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée :

- Tryptone, Dominique Dutscher, réf. 777472, lot n° 020437-----1,00 g/L
  - Chlorure de sodium, Dutscher, réf. 479687-CER, lot n°V7B482148H -----8,50 g/L
- pH final après autoclavage à 25°C : 7,0 ± 0,2

### NEUTRALISANT

#### Ingrédients par litre d'eau distillée (q.s.p 1 L) :

- Polysorbate 80, SIGMA ALDRICH, réf. 59924, lot n° BCBJ6978V ----- 30 g
  - Jaune d'oeuf frais ----- 50 mL
- Stérilisé par filtration sur filtre 0,45 µm ; pH à 25°C : 7,4 ± 0,1