



Toulouse, le 21 Novembre 2012.

**RAPPORT D'ESSAI N° 13-571**

**ETUDE 12-1401**

**NORME NF EN 1276 (Mars 2010)  
ACTIVITE BACTERICIDE  
Conditions obligatoires**

**Promoteur de l'étude**    **CVE sarl**  
**ZI de Pechnauquié**  
**31340 VILLEMUR SUR TARN**

**Laboratoire d'Essai**    **FONDEREPHAR**  
**Facultés des Sciences Pharmaceutiques**  
**35 Chemin des Maraîchers**  
**31062 TOULOUSE cedex 09**

<b>Dr Christine ROQUES</b> Responsable Essai	<b>Dr Jocelyne BACARIA</b> Responsable Qualité
---	---

La reproduction de ce document n'est autorisée que sous la forme de fac-similé photographique intégral.

## I - IDENTIFICATION DU LABORATOIRE D'ESSAI

### FONDEREPHAR

Laboratoire de Bactériologie-Virologie et Microbiologie Industrielle  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques  
35 Chemin des Maraîchers  
31062 Toulouse cedex 9

## II - IDENTIFICATION DE L'ECHANTILLON

Nom du produit :	Ciel Vert 300B
Lot	F0529.12
Date de réception :	06/07/2012
Code interne :	12-1401-1
Substance active	Non précisé
Promoteur	CVE
Période des essais	Novembre 2012
Conditions de stockage	Température ambiante

## III - METHODE D'ESSAI

Méthode : Dilution Neutralisation  
Nombre de boîtes par ml : 1

Neutralisant : Polysorbate 80 (10%), Saponine (2%), Lécithine (2%), Thiosulfate de sodium (0,5%), QSP  
Bouillon Trypcase Soja (Lot 842)

Aspect des solutions d'essai du produit : liquide, limpide

#### IV - CONDITIONS EXPERIMENTALES

Diluant du produit utilisé au cours de l'essai : Eau dure (dureté < 300 mg/kg dans le tube)

Substance interférente : 3 g/l sérum albumine bovine (conditions de saleté)

##### Conditions obligatoires

Souches test : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538  
*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442  
*Enterococcus hirae* ATCC 10541  
*Escherichia coli* ATCC 10536

Concentrations en produit testées : **10%, 5% et 0,1% (V/V)**

Température d'essai : **20°C ± 1°C**

Temps de contact : **5 minutes ± 10 secondes**

Température d'incubation **36 ± 1°C**

Un précipité est observé, au cours du temps, pour la concentration 5% et le tube essai 10% devient opalescent.

---

L'accréditation COFRAC atteste uniquement de la compétence du laboratoire pour les essais couverts par l'accréditation.

Le COFRAC est signataire des accords multilatéraux de EA (European co-operation for Accreditation) et d'ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation) selon lesquels les rapports d'essais ou d'analyses émis sous accréditation sont d'un égal niveau de confiance.

V - RESULTATS DE L'ESSAI

**STAPHYLOCOCCUS AUREUS : Produit Ciel Vert 300B - Lot F0529.12 Essai 1**

VALIDATION ET CONTROLES					SUSPENSION D'ESSAI		ESSAI				
	Suspension de validation Nv ( $\cdot 10^{-1}$ )	Témoïn conditions expérimentales A	Témoïn neutralisant B	Validation de la méthode Conc du produit 10% C	N			Concentrations en produit % (V/V)			
					$10^{-6}$	$10^{-7}$		Temps de contact	10%	5%	0,1%
Vc1-Vc2	130 - 135	151 - 148	141 - 151	156 - 122	437-435	55 - 52	Vc1 - Vc2	5 minutes	0 - 0	0 - 0	> 330 - > 330
$\bar{x}$	133	150	146	139	$\bar{x}_{mp} = 445,00 \cdot 10^6$ lg N = 8,65		$\bar{x}$	5 minutes	< 14	< 14	> 330
	$\bar{x}$ de Nv est compris entre $3 \cdot 10^2$ et $1,6 \cdot 10^3$	$\bar{x}$ de A est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$\bar{x}$ de B est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$\bar{x}$ de C est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$N/10 = 445,00 \cdot 10^5$ lg N/10 = 7,65		$N_a = \bar{x} \times 10$	5 minutes	< 140	< 140	> 3300
$7,17 \leq \lg N/10 \leq 7,70$					lg Na	5 minutes	< 2,15	< 2,15	> 3,52		
					lg R	5 minutes	> 5,50	> 5,50	< 4,13		

Date d'essai : 13-Nov-2012

Vc = Dénombrement par ml (1 boîte ou 2 boîtes pour N/10<sup>-6</sup>)

$\bar{x}$  = Moyenne de Vc1 et Vc2

$\bar{x}_{mp}$  = moyenne pondérée de  $\bar{x}$

R = Réduction (lg R = lg N/10 - lg Na)

**PSEUDOMONAS AERUGINOSA : Produit Ciel Vert 300B - Lot F0529.1 Essai 1**

VALIDATION ET CONTROLES					SUSPENSION D'ESSAI		ESSAI				
	Suspension de validation Nv ( $\cdot 10^{-1}$ )	Témoins conditions expérimentales A	Témoins neutralisant B	Validation de la méthode Conc du produit 10% C	N			Concentrations en produit % (V/V)			
					$10^{-6}$	$10^{-7}$		Temps de contact	10%	5%	0,1%
Vc1-Vc2	98 - 81	100 - 130	89 - 98	89 - 104	294-250	32 - 35	Vc1 - Vc2	5 minutes	0 - 0	0 - 0	> 330 - > 330
$\bar{x}$	90	115	94	97	$\bar{x}_{wm} = 277,73 \cdot 10^6$ lg N = 8,44		$\bar{x}$	5 minutes	< 14	< 14	> 330
	$\bar{x}$ de Nv est compris entre $3 \cdot 10^2$ et $1,6 \cdot 10^3$	$\bar{x}$ de A est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$\bar{x}$ de B est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$\bar{x}$ de C est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$N/10 = 277,73 \cdot 10^5$ lg N/10 = 7,44		$N_a = \bar{x} \times 10$	5 minutes	< 140	< 140	> 3300
$7,17 \leq \lg N/10 \leq 7,70$					lg Na	5 minutes	< 2,15	< 2,15	> 3,52		
					lg R	5 minutes	> 5,30	> 5,30	< 3,93		

Date d'essai : 13-Nov-2012

Vc = Dénombrement par ml (1 boîte ou 2 boîtes pour  $N/10^{-6}$ )

$\bar{x}$  = Moyenne de Vc1 et Vc2

$\bar{x}_{mp}$  = moyenne pondérée de  $\bar{x}$

R = Réduction (lg R = lg N/10 - lg Na)

**ENTEROCOCCUS HIRAE : Produit Ciel Vert 300B - Lot F0529.1 Essai 1**

VALIDATION ET CONTROLES					SUSPENSION D'ESSAI		ESSAI				
	Suspension de validation Nv ( $\cdot 10^{-1}$ )	Témoïn conditions expérimentales A	Témoïn neutralisant B	Validation de la méthode Conc du produit 10% C	N			Concentrations en produit % (V/V)			
					$10^{-6}$	$10^{-7}$		Temps de contact	10%	5%	0,1%
Vc1-Vc2	99 - 99	81 - 76	91 - 85	87 - 74	312-333	38 - 28	Vc1 - Vc2	5 minutes	0 - 0	1 - 0	> 330 - > 330
$\bar{x}$	99	79	88	81	$\bar{x}_{wm} = 347,73 \cdot 10^6$ lg N = 8,54		$\bar{x}$	5 minutes	< 14	< 14	> 330
	$\bar{x}$ de Nv est compris entre $3 \cdot 10^2$ et $1,6 \cdot 10^3$	$\bar{x}$ de A est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$\bar{x}$ de B est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$\bar{x}$ de C est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$N/10 = 347,73 \cdot 10^5$ lg N/10 = 7,54		$N_a = \bar{x} \times 10$	5 minutes	< 140	< 140	> 3300
$7,17 \leq \lg N/10 \leq 7,70$					lg Na	5 minutes	< 2,15	< 2,15	> 3,52		
					lg R	5 minutes	> 5,40	> 5,40	< 4,02		

Date d'essai : 13-Nov-2012

Vc = Dénombrement par ml (1 boîte ou 2 boîtes pour N/10<sup>-6</sup>)

$\bar{x}$  = Moyenne de Vc1 et Vc2

$\bar{x}_{mp}$  = moyenne pondérée de  $\bar{x}$

R = Réduction (lg R = lg N/10 - lg Na)

**ESCHERICHIA COLI : Produit Ciel Vert 300B - Lot F0529.1 Essai 1**

VALIDATION ET CONTROLES					SUSPENSION D'ESSAI		ESSAI				
	Suspension de validation Nv ( $\cdot 10^{-1}$ )	Témoïn conditions expérimentales A	Témoïn neutralisant B	Validation de la méthode Conc du produit 10% C	N			Concentrations en produit % (V/V)			
					$10^{-6}$	$10^{-7}$		Temps de contact	10%	5%	0,1%
Vc1-Vc2	113 - 94	130 - 151	121 - 143	128 - 136	349-353	35 - 36	Vc1 - Vc2	5 minutes	0 - 0	0 - 0	> 330 - > 330
$\bar{x}$	104	141	132	132	$\bar{x}$ wm = $351,36 \cdot 10^6$ lg N = 8,55		$\bar{x}$	5 minutes	< 14	< 14	> 330
	$\bar{x}$ de Nv est compris entre $3 \cdot 10^2$ et $1,6 \cdot 10^3$	$\bar{x}$ de A est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$\bar{x}$ de B est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$\bar{x}$ de C est $\geq 0,5 \bar{x}$ de Nvo	$N/10 = 351,36 \cdot 10^5$ lg N/10 = 7,55		$N_a = \bar{x} \times 10$	5 minutes	< 140	< 140	> 3300
7,17 $\leq$ lg N/10 $\leq$ 7,70					lg Na	5 minutes	< 2,15	< 2,15	> 3,52		
					lg R	5 minutes	> 5,40	> 5,40	< 4,03		

Date d'essai : 13-Nov-2012

Vc = Dénombrement par ml (1 boîte ou 2 boîtes pour  $N/10^{-6}$ )

$\bar{x}$  = Moyenne de Vc1 et Vc2

$\bar{x}$  mp = moyenne pondérée de  $\bar{x}$

R = Réduction (lg R = lg N/10 - lg Na)

## VI - CONCLUSION

Conformément à la norme NF EN 1276 (Mars 2010), le lot F0529.12 du produit **Ciel Vert 300B**, présente une activité bactéricide à la concentration d'essai 5 % (V/V), en 5 minutes de contact à 20°C dans les conditions de saleté vis-à-vis des 4 souches de référence testées.

Ces résultats ne valent que pour le produit soumis à essai.