



Toulouse, le 27 septembre 2010

RAPPORT D'ESSAI N°09-230 M2
Ce rapport annule et remplace le précédent (06-10-2009).

ETUDE 09-1103

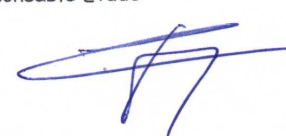
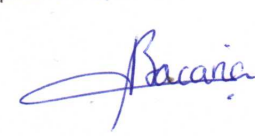
**DETERMINATION DE L'ACTIVITE BACTERICIDE DE BASE
SELON LA NORME NF EN 1040 (Avril 2006)
(Conditions obligatoires et additionnelles)**

Client

CVE
ZI de Pechnaugué
31340 VILLEMUR SUR TARN

Laboratoire d'essai

FONDEREPHAR
Laboratoire de Microbiologie Industrielle
35 Chemin des Maraîchers
31062 TOULOUSE Cedex 09

Rapport rédigé par Sylvie SALVATICO Technicienne 	Rapport vérifié par Dr Christine ROQUES Responsable Etude 	Rapport approuvé par Dr Jocelyne BACARIA 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 DES ECHANTILLONS

Produit : BLUETOO
Lot : F41
Date de réception : 15-06-2009
Code interne : 09-1103

Substance active : Non communiquée
Promoteur : CVE
Période d'analyse : Juin - Juillet 2009
Conditions de stockage pendant la période de manipulation : Température ambiante

III - METHODE D'ESSAI

Méthode : Dilution - neutralisation

Neutralisant : Polysorbate 80 (10%), Saponine (2%), Lécithine (2%), Thiosulfate de sodium (0,5%), QS
Bouillon Trypcase Soja (Lots 626, 627 et 631)

Nombre de boîtes par ml : 1

Diluant utilisé pour les dilutions d'essai du produit : Eau Pour Préparations injectables

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

IV - CONDITIONS EXPERIMENTALES

Diluant du produit	Eau pour préparations injectables
--------------------	-----------------------------------

[illegible]

Concentrations d'essai : 80% 10%, 1% et 0,1% (V/V)

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

Temps de contact : 5 minutes $\pm$ 10 secondes

Température d'incubation. $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$

Conditions additionnelles Souches test : *Escherichia coli* CIP 54127 (ATCC 10536)

Concentrations d'essai : 80% 10%, 1% and 0,1% (V/V)

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

Temps de contact : 5 minutes $\pm$ 10 secondes

Température d'incubation : $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

Souches tests : *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467 (ATCC 15442)

Staphylococcus aureus CIP 4.83 (ATCC 6538)

Escherichia coli CIP 54127 (ATCC 10536)

Concentrations d'essai : 80% 10% et 1% (V/V)

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

Temps de contact : 3 minutes $\pm$ 10 secondes

Température d'incubation : $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

Pas de précipité pendant l'essai (produits homogènes).

L'accréditation COFRAC atteste uniquement de la compétence du laboratoire pour les essais NF EN 1040, NF EN 1275, NF EN 1276 et NF EN 1650.

Le COFRAC est signataire de l'accord multilatéral de EA (European co-operation for Accreditation) et d'ILAC (International Laboratory Accreditation Cooperation) de reconnaissance de l'équivalence des rapports d'essais ou d'analyses

V - RESULTATS

STAPHYLOCOCCUS AUREUS : BLUETOOL - Lot F41 - Essai 1

VALIDATION			SUSPENSION D'ESSAI		ESSAI			
Suspension de validation N_{v0}	Témoin neutrisant B	Validation de la méthode Conc du produit 80% C	N et N_0		Concentration d'essai % (V/V)			
			10^{-6}	10^{-7}	Temps de contact	80%	10%	1%
Vc1-Vc2 85 - 100	93 - 97	3 min 103-109 5 min 111-102	319->330	28-36	Vc1 - Vc2 3 minutes 5 minutes	0 - 0 0 - 0	0 - 0 0 - 0	4 - 2 0 - 0
$\bar{x}$ 93	95	3 min 106 5 min 107	$\bar{x}$ mp = 319,17.10 ⁶ lg N = 8,50		$\bar{x}$ 3 minutes 5 minutes	< 14 < 14	< 14 < 14	< 14 < 14
$30 < \bar{x} \text{ of } N_{v0} < 160$	$\bar{x} \text{ of B} \geq 0,5$ $\bar{x} \text{ of } N_{v0}$	$\bar{x} \text{ of C} \geq 0,5$ $\bar{x} \text{ of } N_{v0}$	$N_0 = 319,17.10^5$ lg $N_0 = 7,50$		$N_d = \bar{x} \times 10$ 3 minutes 5 minutes	< 140 < 140	< 140 < 140	< 140 < 140
			$7,17 \leq \lg N_0 \leq 7,70$		lg N_d 3 minutes 5 minutes	< 2,15 < 2,15	< 2,15 < 2,15	< 2,15 < 2,15
					lg R 3 minutes 5 minutes	> 5,36 > 5,36	> 5,36 > 5,36	> 5,36 > 5,36

Date d'essai : 25-06-2009

Vc = Dénombrement par ml (1 boîte)

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

$\bar{x}$ wm = moyenne pondérée de $\bar{x}$
R = Réduction (lgR = lg N_0 - lg N_d)

STAPHYLOCOCCUS AUREUS : BLUETOO - Lot F41 - Essai 2

VALIDATION				SUSPENSION D'ESSAI		ESSAI				
	Suspension de validation N_{v0}	Témoins neutralisant B	Validation de la méthode Conc du produit 80% C	N et N_0			Temps de contact	Concentration d'essai % (V/V)		
				10^{-6}	10^{-7}			80%	10%	1%
Vc1-Vc2	81 - 82	100 - 77	3 min 71-98 5 min 80-94	271-271	31-31	Vc1 - Vc2	3 minutes 5 minutes	0 - 0 0 - 0	0 - 0 0 - 0	0 - 0 0 - 0
$\bar{x}$	82	89	3 min 85 5 min 87	$\bar{x}_{mp} = 274,55 \cdot 10^6$ lg N = 8,44		$\bar{x}$	3 minutes 5 minutes	< 14 < 14	< 14 < 14	< 14 < 14
				$N_0 = 274,55 \cdot 10^5$ lg $N_0 = 7,44$		$N_0 = \bar{x} \times 10$	3 minutes 5 minutes	< 140 < 140	< 140 < 140	< 140 < 140
	$30 < \bar{x} \text{ of } N_{v0} < 160$	$\bar{x} \text{ of } B \geq 0,5$ $\bar{x} \text{ of } N_{v0}$	$\bar{x} \text{ of } C$ $\geq 0,5 \bar{x} \text{ of } N_{v0}$	$7,17 \leq \lg N_0 \leq 7,70$		lg N_0	3 minutes 5 minutes	< 2,15 < 2,15	< 2,15 < 2,15	< 2,15 < 2,15
						lg R	3 minutes 5 minutes	> 5,29 > 5,29	> 5,29 > 5,29	> 5,29 > 5,29

Date d'essai 30-06-2009

Vc = Dénombrement par ml (1 boîte)

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

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

R = Réduction (lgR = lg N_0 - lg N_0)

FONDEREPHAR

Faculté des Sciences Pharmaceutiques - 35 Chemin des Maraîchers - 31062 TOULOUSE Cedex 09
Tél. 05 62 25 68 60 Fax. 05 61 25 95 72 Email. contact@fonderephar.com

PSEUDOMONAS AERUGINOSA : BLUETOO - Lot F41 - Essai 1

VALIDATION				SUSPENSION D'ESSAI		ESSAI			
	Suspension de validation N ₀	Témoin neutralisant B	Validation de la méthode Conc du produit 80% C	N et N ₀			Concentration d'essai % (V/V)		
				10 ⁻⁶	10 ⁻⁷		80%	10%	1%
Vc1-Vc2	112 - 89	92 - 84	3 min 100-108 5 min 93-92	>330-317	34-37	Vc1 - Vc2	0 - 0 0 - 0	0 - 0 0 - 0	8 - 8 1 - 3
$\bar{x}$	101	88	3 min 104 5 min 93	$\bar{x}_{mp} = 323,33.10^6$ lg N = 8,51		$\bar{x}$	< 14 < 14	< 14 < 14	< 14 < 14
				N ₀ = 323,33.10 ⁵ lg N ₀ = 7,51		N _a = $\bar{x} \times 10$	< 140 < 140	< 140 < 140	< 140 < 140
	$30 < \bar{x} \text{ of } N_{0,0} < 160$	$\bar{x} \text{ of } B \geq 0,5$ $\bar{x} \text{ of } N_{0,0}$	$\bar{x} \text{ of } C$ $\geq 0,5 \bar{x} \text{ of } N_{0,0}$	7,17 ≤ lg N ₀ ≤ 7,70		lg N _a	< 2,15 < 2,15	< 2,15 < 2,15	< 2,15 < 2,15
						lg R	> 5,36 > 5,36	> 5,36 > 5,36	> 5,36 > 5,36

Date d'essai : 25-06-2009

Vc = Dénombrement par ml (1 boîte)

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

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

R = Réduction (lgR = lgN₀ - lgN_a)

FONDEREPHAR

Faculté des Sciences Pharmaceutiques - 35 Chemin des Marâtchers - 31062 TOULOUSE Cedex 09
Tél. 05 62 25 68 60 Fax. 05 61 25 95 72 Email. contact@fonderephar.com

PSEUDOMONAS AERUGINOSA: BLUETOO - Lot F41 - Essai 2

VALIDATION				SUSPENSION D'ESSAI		ESSAI				
	Suspension de validation N ₀	Témoin neutralisant B	Validation de la méthode Conc du produit 80% C	N et N ₀			Concentration d'essai % (V/V)			
				10 ⁻⁶	10 ⁻⁷		80%	10%	1%	0,1%
Vc1-Vc2	59 - 61	89 - 74	3 min 61-68 5 min 63-67	232-242	19-18	Vc1 - Vc2	0 - 0 0 - 0	0 - 0 0 - 0	21 - 20 8 - 9	- > 330 - > 330
$\bar{x}$	60	82	3 min 65 5 min 65	$\bar{x}$ mp = 232,27.10 ⁶ lg N = 8,37		$\bar{x}$	< 14 < 14	< 14 < 14	21 < 14	- > 330
				N ₀ = 232,27.10 ⁵ lg N ₀ = 7,37		Na = $\bar{x}$ x10	< 140 < 140	< 140 < 140	210 < 140	- > 3300
	30 < $\bar{x}$ of N ₀ <160	$\bar{x}$ of B ≥ 0,5 $\bar{x}$ of N ₀	$\bar{x}$ of C ≥ 0,5 $\bar{x}$ of N ₀	7,17 ≤ lg N ₀ ≤ 7,70		lg Na	< 2,15 < 2,15	< 2,15 < 2,15	2,32 < 2,15	- > 3,52
						lg R	> 5,22 > 5,22	> 5,22 > 5,22	5,04 > 5,29	- < 3,85

Date d'essai : 30-06-2009

Vc = Dénombrement par ml (1 boîte)

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

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

R = Réduction (lgR = lgN₀ - lgNa)

FONDEREPHAR

Faculté des Sciences Pharmaceutiques - 35 Chemin des Marâchers - 31062 TOULOUSE Cedex 09

Tél. 05 62 25 68 60 Fax. 05 61 25 95 72 Email. contact@fonderephar.com

ESCHERICHIA COLI : BLUETOO - Lot F41 - Essai 1

VALIDATION				SUSPENSION D'ESSAI		ESSAI				
	Suspension de validation N _{v0}	Témoins neutralisant B	Validation de la méthode Conc du produit 80% C	N et N ₀			Temps de contact	Concentration d'essai % (V/V)		
				10 ⁻⁶	10 ⁻⁷			80%	10%	1%
Vc1-Vc2	47 - 54	73 - 66	3 min 57-63 5 min 79-91	242-225	22-16	Vc1 - Vc2	3 minutes 5 minutes	0 - 0 0 - 0	0 - 0 0 - 0	> 330 - > 330 55 - 42
$\bar{x}$	51	70	3 min 60 5 min 85	$\bar{x}_{mp} = 229,55.10^6$ lg N = 8,36		$\bar{x}$	3 minutes 5 minutes	< 14 < 14	< 14 < 14	> 330 49
				N ₀ = 229,55.10 ⁵ lg N ₀ = 7,36		$\bar{Na} = \bar{x} \times 10$	3 minutes 5 minutes	< 140 < 140	< 140 < 140	> 3300 490
	30 < $\bar{x}$ of N _{v0} <160	$\bar{x}$ of B ≥ 0,5 $\bar{x}$ of N _{v0}	$\bar{x}$ of C ≥ 0,5 $\bar{x}$ of N _{v0}	7,17 ≤lg N ₀ ≤ 7,70		lg Na	3 minutes 5 minutes	< 2,15 < 2,15	< 2,15 < 2,15	> 3,52 2,69
						lg R	3 minutes 5 minutes	> 5,21 > 5,21	> 5,21 > 5,21	< 3,84 4,67

Date d'essai : 25-06-2009

Vc = Dénombrement par ml (1 boîte)

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

$\bar{x}_{wm}$ = moyenne pondérée de $\bar{x}$
R = Réduction ($\lg R = \lg N_0 - \lg Na$)

ESCHERICHIA COLI : BLUETOO - Lot F41 - Essai 2

VALIDATION				SUSPENSION D'ESSAI		ESSAI				
	Suspension de validation N _{v0}	Témoïn neutralisant B	Validation de la méthode Conc du produit 80% C	N et N ₀			Temps de contact	Concentration d'essai % (V/V)		
				10 ⁻⁶	10 ⁻⁷			80%	10%	1%
Vc1-Vc2	74 - 57	62 - 71	3 min 85-79 5 min 83-62	225-240	22-28	Vc1 - Vc2	3 minutes 5 minutes	0 - 0 0 - 0	0 - 0 0 - 0	0 - 0 0 - 0
$\bar{x}$	66	67	3 min 82 5 min 73	$\bar{x}$ mp = 234,09.10 ⁶ lg N = 8,37		$\bar{x}$	3 minutes 5 minutes	< 14 < 14	< 14 < 14	< 14 < 14
				N ₀ = 234,09.10 ⁵ lg N ₀ = 7,37		N ₀ = $\bar{x}$ x10	3 minutes 5 minutes	< 140 < 140	< 140 < 140	< 140 < 140
	30 < $\bar{x}$ of N _{v0} <160	$\bar{x}$ of B ≥ 0,5 $\bar{x}$ of N _{v0}	$\bar{x}$ of C ≥ 0,5 $\bar{x}$ of N _{v0}	7,17 ≤lg N ₀ ≤ 7,70		lg Na	3 minutes 5 minutes	< 2,15 < 2,15	< 2,15 < 2,15	< 2,15 < 2,15
						lg R	3 minutes 5 minutes	> 5,22 > 5,22	> 5,22 > 5,22	> 5,22 > 5,22

Date d'essai : 30-06-2009

Vc = Dénombrement par ml (1 boîte)

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

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

R = Réduction (lgR = lgN₀ - lgNa)

FONDEREPHAR

Faculté des Sciences Pharmaceutiques - 35 Chemin des Maraîchers - 31062 TOULOUSE Cedex 09
Tél. 05 62 25 68 60 Fax. 05 61 25 95 72 Email. contact@fonderephar.com

ESCHERICHIA COLI : BLUETOO - Lot F41 - Essai 3

VALIDATION				SUSPENSION D'ESSAI	ESSAI				
	Suspension de validation N _{v0}	Témoins neutralisant B	Validation de la méthode Conc du produit 80% C	N et N ₀		Temps de contact	Concentration d'essai % (V/V)		
				10 ⁻⁶	10 ⁻⁷		80%	10%	1%
Vc1-Vc2	50 - 62	63 - 67	3 min 70-68 5 min 65-60	208-191	26-30	3 minutes 5 minutes	-	-	> 330 -> 330 1 - 5 > 330 -> 330
$\bar{x}$	56	65	3 min 69 5 min 63	$\bar{x}_{mp} = 206,82 \cdot 10^6$ lg N = 8,32		3 minutes 5 minutes	-	-	> 330 < 14 > 330
				N ₀ = 206,82 · 10 ⁵ lg N ₀ = 7,32		3 minutes 5 minutes	-	-	> 3300 < 140 < 140
	30 < $\bar{x}$ of N _{v0} < 160	$\bar{x}$ of B ≥ 0,5 $\bar{x}$ of N _{v0}	$\bar{x}$ of C ≥ 0,5 $\bar{x}$ of N _{v0}	7,17 ≤ lg N ₀ ≤ 7,70		3 minutes 5 minutes	-	-	> 3,52 < 2,15 < 2,15
				lg R		3 minutes 5 minutes	-	-	< 3,80 > 5,17 < 3,80

Date d'essai : 07-07-2009

Vc = Dénombrement par ml (1 boîte)

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

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

R = Réduction (lgR = lgN₀ - lgNa)

FONDEREPHAR

Faculté des Sciences Pharmaceutiques - 35 Chemin des Maraîchers - 31062 TOULOUSE Cedex 09
Tél. 05 62 25 68 60 Fax. 05 61 25 95 72 Email. contact@fonderephar.com

VI - CONCLUSION

Conformément à la norme NF EN 1040 (Avril 2006), le produit BLUETOO, lot F41, présente une activité bactéricide de base à la concentration d'essai 1% (V/V) après 5 minutes de contact à 20°C, vis-à-vis des deux souches test.

Dans les conditions additionnelles d'essai sur *Pseudomonas aeruginosa* CIP 103467, *Staphylococcus aureus* CIP 4.83, le produit BLUETOO, lot F41 présente une activité bactéricide à la concentration d'essai 1% (V/V) après 3 minutes de contact à 20°C.

Sur souche additionnelle, *Escherichia coli* CIP 54 127 :

- le produit BLUETOO, lot F41 présente une activité bactéricide à la concentration d'essai 1% (V/V) après 5 minutes de contact à 20°C.
- le produit BLUETOO, lot F41 présente une activité bactéricide à la concentration d'essai 10% (V/V) après 3 minutes de contact à 20°C.