

# **GUIDE D'EXPERTISE DES RAPPORTS D'ESSAIS DE NORMES**

<b>1. Guide général (critères à vérifier pour tous les RE de normes)</b>	<b>p. 2</b>
<b>2. Guide des critères spécifiques à chaque norme</b>	
<b>a) Normes de base</b>	<b>p. 4</b>
<b>b) Normes d'applications polyvalentes</b>	<b>p. 8</b>
<b>c) Normes d'applications spécifiques</b>	<b>p. 28</b>
<b>d) Normes retirées</b>	<b>p. 67</b>

## 1. Guide général (critères à vérifier pour tous les rapports d'essais de normes)

La présence des informations ci-dessous doit être vérifiée pour toutes les normes :

– **Identification du laboratoire :**

- Nom du laboratoire d'analyse.
- Date du protocole de la norme utilisé correspondant à la date de celui en vigueur.

– **Identification de l'échantillon :**

- Nom du fabricant ou du fournisseur du produit.
- Produit testé identique au produit commercialisé.  
Si le nom du produit testé et celui du produit commercialisé sont différents, mais que leurs compositions sont strictement identiques, le RE de norme peut être retenue sous réserve d'une attestation du fournisseur certifiant que les deux produits sont les mêmes. Par contre, si leurs noms sont identiques, mais qu'il existe une différence de composition, le RE de norme est refusé.
- Numéro et date d'expiration (le cas échéant) du lot
- Date de livraison
- Conditions de stockage
- Aspect du produit
- Substance(s) active(s) et sa/leur concentration (facultatif)
- Diluant du produit recommandé par le fabricant

– **Concentration d'essai max : 80%.**

Pour les produits prêts à l'emploi n'entraînant pas la réduction requise avec la méthode habituelle, une méthode modifiée peut être employée. Elle permet d'obtenir une concentration de produit de 97 %.

– **Validation de l'essai :**

Vérifier que la concentration testée dans la vérification de la méthodologie et de la validation de la méthode soit précisée, qu'elle correspond à la concentration maximale testée dans l'essai proprement dit (une concentration supérieure à la concentration, maximale testée est tolérée), que les essais sont réalisés le même jour que l'essai proprement dit et qu'il existe une conclusion validant la neutralisation.

- Pour les normes utilisant une *méthode par dilution-neutralisation* : neutralisant précisé, existence d'un test préliminaire avec tableaux des résultats, dont la validation du neutralisant, et conclusion.
- Pour les normes utilisant une *méthode par filtration sur membrane* : mode opératoire détaillé et résultats des tests préliminaires avec conclusion validant la méthode (tests préliminaires réalisés le même jour que l'essai proprement dit). Liquide de rinçage précisé.

*NB : Les résultats des essais, pour lesquels la méthode de neutralisation n'est pas validée à la concentration la plus élevée mais est validée à la concentration active, sont acceptés.*

– **Conditions de l'essai :**

- Date de l'essai.
- Température, temps de contact, ... (Cf. Grilles spécifiques).
- Identification des micro-organismes utilisés.
- Température d'incubation des souches
- Aspect de la dilution : L'apparition d'un précipité ou d'un flocculat dans le mélange d'essai au cours du mode opératoire est signalée dans le champ en texte libre en regard du libellé de la norme, car le dénombrement des microorganismes est difficile et non fiable dans ce contexte.

– **Résultats de l'essai :**

- Présence des tableaux des résultats de l'essai proprement dit.
- Chaque fois qu'un nombre d'unités formant des colonies est censé être compris entre une valeur seuil minimale et une valeur seuil maximale, les essais effectués sur un nombre d'UFC supérieur à la valeur seuil maximale peuvent être pris en considération.
- Lors de la répétition recommandée des essais, seule la moyenne des résultats doit montrer une réduction supérieure au seuil fixé dans la norme (obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne). Par conséquent, à une même concentration, un produit testé plusieurs fois peut être actif et inactif ; le produit sera malgré tout considéré comme microbicide à cette concentration, si la moyenne des résultats des essais montre une réduction supérieure au seuil fixé dans la norme.

– **Conclusion :**

Les résultats d'un essai selon un protocole de norme NF EN d'activité antimicrobienne ne sont pris en considération que si l'activité du produit est validée sur l'ensemble des souches prévues être testées dans le protocole (sauf pour les normes de fongicide et mycobactéricidie).

La dilution efficace à noter dans ProdHyBase® est celle qui figure dans la conclusion du procès verbal (que celle-ci corresponde à la première ou à la deuxième concentration active) ou à défaut la première dilution active du tableau des résultats d'essai.

Lorsqu'il s'agit d'une norme pour laquelle les conditions de température ou de temps de contact peuvent varier, indiquer d'abord les résultats qui figurent dans la conclusion. En plus, si ceux-ci ne rendent pas compte de l'activité à la dilution d'emploi (ex. concentration dans la conclusion > à celle préconisée dans le mode d'emploi) mais que d'après le rapport d'essai de norme, une activité a pu être obtenue avec la concentration d'emploi, signaler également cette activité.

– **Lieu, date de l'essai et signature identifiée.**

## 2. Guide des critères spécifiques à chaque norme

### a) Normes de base

**NF EN 14347 / T 72-232** (Août 2005) (EN 14347 : mars 2005)

Désinfectants et antiseptiques chimiques. Activité sporicide de base. Méthode d'essai et exigences (phase 1).

- **Température** de l'essai :
  - Obligatoire :  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
  - Additionnelles : à prendre en considération si elles reflètent les conditions d'utilisation.
- **Temps de contact** de l'essai :
  - Obligatoire :  $30 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$  ou  $60 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$  ou  $120 \text{ min} \pm 60 \text{ s}$ .
  - Additionnels : à prendre en considération si elles reflètent les conditions d'utilisation.

ProdHyBase<sup>®</sup> tolère toutefois les essais effectués à des températures additionnelles et des temps de contact inférieurs à  $30 \text{ min} \pm 10 \text{ s}$  sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à  $20^{\circ}\text{C}$ , 30 min, 60 min ou 120 min.

Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

- **Souches testées :**
  - *Bacillus subtilis* subsp. *Spizizenii*

ATCC	6633
DSM	347
NCTC	10400
CCM	19999
IAM	1069
NCIB	8054
CIP	52.62
  - *Bacillus cereus*

ATCC	12826
CIP	105151

Cette méthode ne peut être appliquée sur les spores de *Clostridium* sp.

- **Contrôle de la sensibilité de la suspension de spores bactériennes** au glutaraldéhyde et à l'acide peracétique de référence.  
La date de dernier contrôle avant l'essai de la sensibilité et de la pureté de la suspension doit être indiquées. Vérifier qu'elle date de moins d'un mois si la souche est utilisée en continu.

$R_{\text{glutaraldéhyde}}$  : à  $t_{30 \text{ min}}$   
                                   *B. cereus* (GA 1%) :  $3.45 \pm 0.7$   
                                   *B. subtilis* (GA 3%) :  $1.55 \pm 1.15$

$R_{\text{a. peracétique}}$  : à  $t_{15 \text{ min}}$   
                                   *B. cereus* (AP 0.1%) :  $1.25 \pm 0.5$   
                                   *B. subtilis* (AP 0.05%) :  $2.4 \pm 0.4$

- **Contrôler la pureté des suspensions N1 et N2** : avant l'essai, maximum 20% de cellules végétatives par champ d'observation au microscope après coloration ou la suspension n'est pas valable.
- **Contrôle de la toxicité à long terme** : validation de C

- **Température d'incubation** des souches testées : 36-37°C.
- **Prise d'essai** : pour les produits solides 1g +/- 10 mg.
- **Dilution** pour la solution d'essai du produit : en eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).
- **Concentrations testées** : 3 concentrations de produit en progression géométrique d'un facteur au moins 2 (en doublant les concentrations). ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués sur moins de trois concentrations et ceux pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation ou de la filtration est validé. Dans le rapport doit apparaître une concentration active ( $\geq 4$  lg) et une autre qui ne l'est pas ( $< 4$  lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la méthode est validé.  
(« Concentration d'une solution d'essai du produit doit être égale à 1.25x la concentration d'essai requise car elle est diluée à 80% lors de la validation de l'essai et de la méthode »)
- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et pas d'apparition d'un précipité ou d'un floculat signalé au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et non fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre : Ex. NF EN 14347 / 20°C – 30 min – 5 % (floculat).
- **Technique de dénombrement des spores** : doit être indiquée (dénombrement à la surface ou dénombrement en profondeur).
- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches et dans chacune des conditions expérimentales (temps de contact et température) pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée, une concentration double et la moitié de la concentration. Le neutralisant doit être validé pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.  
Il doit l'être dans un bouillon tryptone soja (TSB) avec *neutralisant et sans neutralisant*.  
Si du neutralisant est ajouté à la TSA (gélose) est ajouté il doit être également ajouté dans le mode opératoire d'essai.
- **Concentration sporistatique** : doit être indiquée (il est possible que l'activité sporistatique n'ait pas pu être mise en évidence mais elle doit avoir été recherchée).
- **Répétition recommandée de l'essai** (6 répétitions) avec possibilité de limiter la répétition à l'organisme d'essai limitant (moyenne des résultats  $\geq 4$  lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne). Par conséquent, un produit testé plusieurs fois à une même concentration peut être actif et inactif ; le produit sera considéré malgré tout comme sporicide à cette concentration, si la moyenne des résultats des essais montre une réduction supérieure à 4 lg.
- **Pour chaque souche d'essai**, vérifier que :
  - Les résultats de la valeur moyenne  $\bar{x}$  et de l'écart type  $s$  du dénombrement des spores doivent apparaître dans le rapport d'essai.
  - $V_c$  est compris entre 14 et 330 UFC / mL
  - $N_1$  est compris entre  $3 \times 10^8$  UFC / mL et  $1 \times 10^9$  UFC / mL ( $8,48 \leq \lg N_1 \leq 9,00$ )
  - $N_2$  est compris entre  $3 \times 10^2$  UFC / mL et  $1 \times 10^3$  UFC / mL ( $2,48 \leq \lg N_2 \leq 3,00$ )
  - $N_v$  est compris entre  $3 \times 10^4$  UFC / mL et  $1 \times 10^5$  UFC / mL ( $4,48 \leq \lg N_v \leq 5,00$ )
  - $N_w$  est compris entre  $3 \times 10^7$  UFC / mL et  $1 \times 10^8$  UFC / mL ( $7,48 \leq \lg N_w \leq 8,00$ )
  - $B \geq N_w$  ( $8,00 \geq \lg N_w \geq 7,48$ )

- C est compris entre  $3 \times 10^4$  UFC / mL et  $1 \times 10^5$  UFC / mL ( $= N_v$ ) ( $4,48 \leq \lg N_v \leq 5,00$ ).
- Contrôle des dénombrements obtenus par moyennes pondérées : le quotient entre deux dilutions successives (ex.  $Vc1 \ 10^{-1}$  et le  $Vc1 \ 10^{-2}$ ) doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.
  - $V_c$  = nombre d'UFC dénombrées par échantillon de 1 mL (ou 1 g +/- 10 mg) (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs ci-dessus sont calculées)
  - $N_1$  = nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai  $N_1$
  - $N_2$  = nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai  $N_2$
  - $N_v$  = nombre de cellules par ml dans la suspension de validation
  - $N_w$  = « témoin eau » : nombre de cellules par ml dans l'eau à la fin du temps de contact et avant neutralisation
  - $N_a$  = nombre de spores survivant par ml dans le mélange d'essai à la fin du temps de contact et avant neutralisation
  - B et C = nombre de spores survivant dans le contrôle du neutralisant (B) et la validation de la méthode (C) à la fin du temps de contact le plus long dans l'essai réel (B) ou le temps défini de 30 min +/- 1 min (C).
- **TNO** (tube de neutralisation original) : présente une croissance visible après inoculation (essai non valable en cas d'absence de croissance visible).
- **Réduction** du nombre de cellules viables ( $R = N_w/N_a$ ) :  $\lg(R) \geq 4$  (ou  $R \lg \geq 4$ ).
- **Concentration sporicide** : concentration du produit active la plus faible sur l'organisme d'essai limitant (organisme le moins sensible, c'est-à-dire nécessitant la concentration la plus élevée pour une activité sporicide).

#### **NF T 72-230** (Août 1988)

Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau et neutralisables. Détermination de l'activité sporicide. Méthode par dilution–neutralisation.

- **Temps de contact** : 1 heure à 20°C et (ou) 5 min à 75°C (à préciser lors de la sélection des normes).
- **Température** de l'essai : 20°C et (ou) 75°C (à préciser lors de la sélection des normes).
- **Souches testées** (souches d'origine humaine) :
  - *Bacillus cereus* CIP 7803
  - *Bacillus subtilis* var. *niger* CIP 7718  
ATCC 9372
  - *Clostridium sporogenes* 51 CIP 7939
- **Pour chaque souche d'essai**, vérifier que :
  - $n' \geq 0,5 N'$  et  $N'$  peu différent de  $N_1$
  - $N'$  et  $N_1$  compris entre 100 et 300 colonies.
- **Réduction** du nombre spores vivantes :  $n \leq N/10$  avec  $N$  compris entre 100 et 300 colonies soit  $\log(R) \geq 10^5$  ou  $5 \lg$ .
- **Concentration active** : précisée dans le champ en texte libre.

**NF T 72-231** (Août 1988)

Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité sporicide. Méthode par filtration sur membranes.

- **Temps de contact** : 1 heure à 20°C et (ou) 5 min à 75°C (à préciser lors de la sélection des normes).
- **Température de l'essai** : 20°C et (ou) 75°C (à préciser lors de la sélection des normes).
- **Souches testées** (souches d'origine humaine) :
  - *Bacillus cereus* CIP 7803
  - *Bacillus subtilis* var. *niger* CIP 7718  
ATCC 9372
  - *Clostridium sporogenes* 51 CIP 7939
- **Pour chaque souche d'essai**, vérifier que :
  - N' compris entre 50 et 150 colonies
  - n' et N' sont équivalents ( $n' \geq 0,5 N'$ ).
- **Réduction** du nombre spores vivantes :  $n \leq N$  avec N compris entre 50 et 150 colonies soit  $\log(R) \geq 10^5$  ou 5 lg.
- **Concentration active** : précisée dans le champ en texte libre.

**b) Normes d'applications polyvalentes**

**NF EN 13727 / NF T 72-175** (Décembre 2013) + **A2** (Décembre 2015)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide en médecine. Méthode d'essai et prescriptions (Phase 2 / Etape 1).

- Norme qui s'applique **aux produits utilisés en médecine ainsi qu'en collectivités**, pour la désinfection hygiénique et chirurgicale des mains par friction ou par lavage, la désinfection des instruments par immersion ou la désinfection des surfaces par essuyage, pulvérisation, inondation ou d'autres moyens.
- Les données obtenues avec la version précédente de la NF EN 13727 peuvent encore être utilisées sous réserve de reformuler et vérifier les exigences de la présente norme. Si une version antérieure ou un prEN est passé par le laboratoire, PHB accepte une attestation du laboratoire qui a fait le test affirmant qu'il n'y a pas de différence entre la méthode du projet de norme et la dernière version de la norme ; si et seulement si le projet de norme a été passé au maximum dans les 6 mois après la parution de la dernière version de la norme.  
De plus, les données obtenues avec des versions précédentes sont acceptées si un temps de neutralisation de 10 s est démontré suffisant pour tous les produits pour lesquels les temps de contact sont égaux ou inférieurs à 10 min.

**ProdHyBase® accepte les rapports d'essais passés avec la version 2013 seulement en présence d'une attestation du laboratoire (voir dessus).**

*(Modifications sur la norme 2015 : sur le lavage hygiénique des mains + 1 correction de calcul p.23 + reformulation de phrases)*

**EXCLUSION : Legionella, mycobactéries et spores de bactéries.**

- **Référence de la norme**
- **Identification du laboratoire et du fabricant**
- **Identification de l'échantillon :**
  - o Nom du produit
  - o Numéro de lot
  - o Date de péremption
  - o Date de livraison
  - o Conditions de stockage
  - o Diluant pour l'utilisation
  - o Aspect du produit
- **Méthode d'essai :** préciser la méthode utilisée (dilution-neutralisation ou filtration sur membrane, à justifier)
- **Dates d'essai**
- **Température** de l'essai : Variable selon les applications, avec plage de choix pour les désinfectants de DM et de surfaces (par exemple température d'essai possible à 4°C pour les produits désinfectants des réfrigérateurs ou à 70°C pour les produits pour DM). Cf. Tableau 1. Ecart admis pour chaque température choisie : +/- 1°C
- **Temps de contact** de l'essai : Variable selon les applications. Cf. Tableau 1. Ecart admis pour chaque temps de contact choisi : +/- 10 s ; sauf pour 1 min ou moins, écart admis de 5 s.

Le produit doit être testé dans les conditions obligatoires de température et de temps de contact, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.

ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé dans les conditions de température et de temps de contact obligatoires à condition que la température et le temps de contact restent dans les intervalles fixés dans la dite norme (Cf. Tableau 1).

Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

 Les produits conçus pour désinfecter les surfaces susceptibles d'être en contact avec le patient et/ou le personnel soignant, et donc d'une transmission de micro-organismes au patient, et pour lesquels le temps de contact doit être limité pour des raisons pratiques, doivent impérativement être soumis à essai en 5 min (temps de contact obligatoire).

Les produits utilisés pour des surfaces autres que celles indiquées ci-dessus peuvent être soumis à l'essai avec un temps de contact obligatoire de 60 min.

▪ **Souches testées** : Variable selon les applications. Cf. Tableau 1.

▪ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442  
CIP 103467  
DSM 939  
NCIB 10421  
CCUG 2080

▪ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538  
CIP 4.83  
DSM 799  
NCTC 10788  
NCIB 9518  
CCUG 10778

▪ *Escherichia coli K12* CIP 54.117  
NCTC 10538  
NCIMB 10083  
CCUG 46621

▪ *Enterococcus hirae* ATCC 10541  
CIP 58.55  
DSM 3320  
NCIMB 8192  
CCUG 32258

▪ *Enterococcus faecium* ATCC 6057  
DSM 2146

– **Température d'incubation** des souches testée : 36-37°C ± 1°C, à conditions que la même température soit utilisée pour toutes les incubations de l'essai et de ses étapes de contrôle et validation.

– **Substances interférentes** : Cf. Tableau 1

– **Prise d'essai** pour les produits solides : au moins 1 g ± 10 mg.

- **Diluant** pour la solution d'essai du produit :
  - **Tous usages** (sauf produits de lavage des mains) : eau dure sauf pour les produits prêts à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable)
  - Pour les **produits de lavage des mains** : dilution préalable obligatoire avec de l'eau dure pour l'obtention d'une concentration à 62,5 % (soit concentration acceptée la plus élevée 50 %).
- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionné et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire. En cas de floculat, le signaler dans le rapport d'essai.
- **Concentration d'essai max** : 80%.  
Pour les produits prêts à l'emploi n'entraînant pas la réduction requise avec la méthode habituelle, une méthode modifiée peut être employée. Elle permet d'obtenir une concentration de produit de 97 %.  
Cette méthode modifiée ne peut pas être appliquée aux produits de lavage des mains qui sont à une concentration max de 50%.

**Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active et une concentration inactive. ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.

- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.
- **Répétition recommandée de l'essai** : avec l'organisme d'essai limitant. Pour une précision de +/- 1 log : 4 répétitions dans le cas le plus favorable, 6 dans le cas le plus défavorable sont recommandées avec l'organisme le moins sensible (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 5 lg – 3 lg dans le cas d'un lavage des mains - avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne).
- **Pour chaque souche d'essai, vérifier que** :
  - $V_c$  est compris entre 14 et 330 colonies. (165 en filtration sur membranes)
  - $N$  est compris entre  $1,5 \times 10^8$  et  $5,0 \times 10^8$  UFC/mL ( $8,17 \leq \lg N \leq 8,70$ )  
 $N$  (méthode modifiée pour les produits prêts à l'emploi n'entraînant pas la réduction attendue selon la méthode habituelle) est compris entre  $1,5 \times 10^9$  et  $5,0 \times 10^9$  UFC/mL ( $9,17 \leq \lg N \leq 9,70$ )
  - $N_o$  est compris entre  $1,5 \times 10^7$  et  $5,0 \times 10^7$  UFC/mL ( $7,17 \leq \lg N_o \leq 7,70$ )
  - $N_{vo}$  est compris entre 30 et 160 UFC/mL ( $3,0 \times 10^1$  et  $1,6 \times 10^2$ )
  - $N_v$  est compris entre  $3,0 \times 10^2$  et  $1,6 \times 10^3$  UFC/mL  
 $N_v$  (méthode modifiée) est compris entre  $3,0 \times 10^3$  et  $1,6 \times 10^4$  UFC/mL
  - $N_{vB}$  est compris entre  $3,0 \times 10^4$  et  $1,6 \times 10^5$  UFC/mL
  - $A, B, C \geq 0,5 N_{vo}$
  - $B$  (dilution-neutralisation) est  $\geq 0,0005 N_{vB}$  (moitié d'un millième)
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum. Ceci nécessite la présence d'un tableau avec tous les dénombrements aux différentes dilutions.

**NB** : Si la méthode modifiée est utilisée pour les produits prêts à l'emploi, les limites pour  $N$  et  $N_v$  sont 10 fois plus élevées, mais  $N_o$ ,  $N_{vo}$  et  $N_{vB}$  restent inchangés.

- $V_c$  = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
  - $N$  = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
  - $N_0$  = nombre de cellules par mL dans le mélange d'essai au début du temps de contact (temps 0) ( $N_0 = N / 10$ ).
  - $N_v$  = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
  - $N_{v0}$  = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0) ( $N_{v0} = N_v / 10$ ).
  - $N_a$  = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai à l'issue du temps de contact et avant l'étape de neutralisation ou de filtration sur membrane.
  - $A$  = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact.
  - $B$  = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant ou témoin de filtration après 5 min.
  - $C$  = nombre de survivants dans le mélange de validation.
- **Réduction** du nombre de colonies (ou cellules viables) : les exigences diffèrent selon les applications :
- *Produits de friction:*
    - $\lg R \geq 5$  en 1 min dans les conditions de propreté (friction hygiénique des mains)
    - $\lg R \geq 5$  en 5 min dans les conditions de propreté (friction chirurgicale des mains)
    - $\lg R \geq 3$  en 1 min dans les conditions de saleté (lavage hygiénique des mains)
    - $\lg R \geq 5$  en 5 min dans les conditions de saleté (lavage chirurgicale des mains)
- Pour les produits qui permettent la réduction logarithmique requise en 1 min et en 5 min, seul le temps d'1 min sera affiché dans ProdHyBase®.
- *Produits de désinfection des instruments :*
    - $\lg R \geq 5$  en 60 minutes maximum avec la substance interférente choisie
  - *Produits de désinfection des surfaces :*
    - $\lg R \geq 5$  en 5 minutes maximum avec la substance interférente choisie (ou entre 6 min et 60 min pour les produits utilisés sur les surfaces qui n'exigent pas d'action dans les 5 min ou moins.)

- **Conclusion**

- **Date, lieu et signature**

TABLEAU 1 - NF EN 13727 + A2 : 2015 – CONDITIONS D'ESSAI MINIMALES ET ADDITIONNELLES\*

Conditions d'essai		Friction et lavage hygiéniques des mains	Friction et lavage chirurgicaux des mains	Désinfection de dispositifs médicaux	Désinfection des surfaces
<b>Souches d'essai obligatoires</b>		<i>Pseudomonas aeruginosa,</i> <i>Staphylococcus aureus,</i> <i>Enterococcus hirae,</i> <i>Escherichia coli</i> K12	<i>Pseudomonas aeruginosa,</i> <i>Staphylococcus aureus,</i> <i>Enterococcus hirae,</i> <i>Escherichia coli</i> K12	<i>Pseudomonas aeruginosa,</i> <i>Staphylococcus aureus,</i> <i>Enterococcus hirae</i> Lorsque $T^{\circ} \geq 40^{\circ}\text{C}$ , uniquement <i>E. faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa,</i> <i>Staphylococcus aureus,</i> <i>Enterococcus hirae</i>
<b>Température d'essai</b>		Conformément aux recommandations du fabricant mais <u>comprise entre</u>			
		20 °C et 20 °C	20 °C et 20 °C	20 °C et 70 °C	4°C et 30 °C
<b>Temps de contact</b>		Conformément aux recommandations du fabricant			
		<u>Compris entre</u>		mais <u>pas supérieur à</u>	
		30 s et 60 s	1 min et 5 min	60 min	5 min (ou 60 min*)
<b>Substances interférentes**</b>	<b>Conditions de propreté</b>	0,3 g/L d'albumine bovine (Friction hygiénique des mains)	0,3 g/L d'albumine bovine (Friction chirurgicale des mains)	0,3 g/L d'albumine bovine  et/ou	0,3 g/L d'albumine bovine  et/ou
	<b>Conditions de saleté</b>	3,0 g/L d'albumine bovine + 3,0 mL/L d'érythrocytes (Lavage hygiénique des mains)	3,0 g/L d'albumine bovine + 3,0 mL/L d'érythrocytes (Lavage chirurgical des mains)	3,0 g/L d'albumine bovine + 3,0 mL/L d'érythrocytes	3,0 g/L d'albumine bovine + 3,0 mL/L d'érythrocytes

\*A préciser dans le rapport.

\*\* Pour le protocole modifié :

→ Cond. de propreté : 1,5 g d'albumine bovine au lieu de 0,3 g dans 100 mL de diluant.

→ Cond. de saleté : 7,5 g d'albumine bovine (au lieu d'1,5mL) pour 42,5 mL de diluant et 7,5 mL d'érythrocytes (au lieu d'1,5 mL) dans 42,5 mL d'albumine bovine = 50 mL

lg ou log<sub>10</sub>

**NF EN 13624 / NF T 72-600** (Novembre 2013)

Désinfectants chimiques et antiseptiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide ou levuricide en médecine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

- Essai applicable aux désinfectants chimiques destinés à la désinfection :
  - o par immersion des instruments médicaux, dont les désinfectants chimiques d'instruments médicaux non couverts par la directive européenne CEE 93/42 sur les dispositifs médicaux
  - o des surfaces
  - o des mains.

Les données de la dernière version de la NF EN 13624 peuvent toujours être utilisées si :

- le temps de neutralisation est inférieur ou égale à 10 s pour les produits présentant un temps de contact de 10 min au maximum.
- la qualité des conidiospores d'*A. brasiliensis* a été contrôlée et a satisfait aux exigences de la présente norme. Une attestation doit être fournie par le laboratoire responsable des essais, spécifiant que la proportion de conidiospores épineuses est au moins égale à 75% (cf. ci-dessous).

- **Température** de l'essai :

- Pour les mains : 20°C ± 1°C
- Pour les surfaces : entre 4 et 30°C ± 1°C
- Pour les DM : entre 20°C et 70°C ± 1°C

- **Temps de contact** de l'essai :

- Pour la friction des mains :
  - Hygiénique : 1 min ± 5 s
  - Chirurgicale : 5 min ± 10 s
- Pour les surfaces : 5 min ± 10 s (max. 60 min quand cela est possible en pratique)
- Pour les DM : 60 min ou moins ± 10 s

▪ **Souches testées :**

**Levuricide** (test sur *Candida albicans* uniquement) : surfaces, DM et mains

**Fongicide** (test sur *Candida albicans* et sur *Aspergillus brasiliensis* (ex *niger*)) : surfaces et DM

▪ <i>Candida albicans</i>	<b>ATCC</b>	<b>10231</b>
	CIP	4872
	DSM	1386
	CBS	6431
	NCTC	3179
▪ <i>Aspergillus brasiliensis</i> (ex <i>niger</i> )	<b>ATCC</b>	<b>16404</b>
	DSM	1988
	CBS	733.88
	CIP	1431.83
	NCTC	2275
	IMI	149007

- **Température d'incubation** des souches testées : 30°C ± 1°C.

- **Vérification de la qualité des conidiospores (pour *A. brasiliensis*)** : sinon refus de la suspension (et de l'essai)
  - Au moins 75 % de conidiospores épineuses
  - Absence de conidiospores germées
  - Absence de fragments de mycélium (possibilité d'une filtration suppl. pour les éliminer)
  
- **Substances interférentes** :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + érythrocytes de mouton 3 mL/L. (Concentrations différentes en méthode modifiée).

Pour les frictions des mains, uniquement en condition de propreté.
  
- **Diluant** du produit : eau dure (sauf pour les produits prêts à l'emploi : eau distillée ou eau p.p.i.).  
Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.
  
- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un flocculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable.
  
- **Concentrations testées** : au moins 3 concentrations dont une active et une inactive.  
Les produits ne peuvent être soumis à l'essai qu'à des concentrations  $\leq 80\%$  (97 % dans les cas d'un produit prêt à l'emploi : « méthode modifiée » pour diminuer la dilution du produit. Vérifier que cette méthode modifiée soit spécifiée.
  
- **Neutralisation** : Neutralisant validé (Cf. Grille générale) si méthode par dilution-neutralisation.  
Validation à la concentration d'essai du produit la plus élevée, pour chaque souche et chaque condition expérimentale.
  
- **Répétitions** : 4 au moins.
  
- **Pour chaque souche d'essai** :
  - $V_C$  *Candida albicans* compris entre 14 et 330 UFC/mL
  - $V_C$  *A. brasiliensis* compris entre 14 et 165 UFC/mL
  - N est compris entre  $1,5 \times 10^7$  et  $5,0 \times 10^7$  UFC/mL ( $7,17 \leq \lg N \leq 7,70$ ) pour les produits à diluer et entre  $1,5 \times 10^8$  et  $5,0 \times 10^8$  UFC/mL ( $8,17 \leq \lg N \leq 8,70$ ) pour les produits prêts à l'emploi
  - $N_0$  est compris entre  $1,5 \times 10^6$  et  $5,0 \times 10^6$  UFC/mL ( $6,17 \leq \lg N_0 \leq 6,70$ )
  - $N_{V0}$  est compris entre 30 et 160 UFC/mL ( $3,0 \times 10^1$  et  $1,6 \times 10^2$ )
  - $N_V$  est compris entre  $3,0 \times 10^2$  et  $1,6 \times 10^3$  UFC/mL pour les produits à diluer et entre  $3,0 \times 10^3$  et  $1,6 \times 10^4$  UFC/mL pour les produits prêts à l'emploi
  - $N_{VB}$  est compris entre  $3,0 \times 10^4$  et  $1,6 \times 10^5$  UFC/mL (Témoin de neutralisation)
  - A, B, C  $\geq 0,5 N_{V0}$
  - B (dil. neutr)  $\geq 0,0005 N_{VB}$  (moitié du 1/1000)
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient de la moyenne des résultats entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum
  
- **Réduction** du nombre de cellules viables :  $\geq 10^4$  ou 4 log.

Tableau 1 — Conditions d'essai minimales et additionnelles

Conditions d'essai	Lavage et friction hygiéniques des mains	Lavage et friction chirurgicaux des mains	Désinfection d'instrument	Désinfection de surface
Spectre minimal des souches d'essai	<i>Candida albicans</i> (cellules végétatives)	<i>Candida albicans</i> (cellules végétatives)	a) activité fongicide : <i>Aspergillus brasiliensis</i> (conidiospores) <i>Candida albicans</i> (cellules végétatives) b) activité levuricide : <i>Candida albicans</i> (cellules végétatives)	a) activité fongicide : <i>Aspergillus brasiliensis</i> (conidiospores) <i>Candida albicans</i> (cellules végétatives) b) activité levuricide : <i>Candida albicans</i> (cellules végétatives)
Supplémentaires	Toute autre souche d'essai			
Température d'essai	selon les recommandations du fabricant, mais à/entre			
	20 °C	20 °C	20 °C et 70 °C	4 °C et 30 °C
Temps de contact	selon les recommandations du fabricant, mais entre			
	30 s et 60 s <sup>b</sup>	1 min et 5 min	60 min	5 min ou 60 min <sup>a</sup>
Substance interférente conditions de propreté	0,3 g/l de solution d'albumine bovine (friction hygiénique des mains) <sup>b</sup>	0,3 g/l de solution d'albumine bovine (friction chirurgicale des mains) <sup>b</sup>	0,3 g/l de solution d'albumine bovine	0,3 g/l de solution d'albumine bovine
conditions de saleté	3,0 g/l de solution d'albumine bovine + 3,0 ml/l d'érythrocytes (lavage hygiénique des mains) <sup>c</sup>	3,0 g/l de solution d'albumine bovine + 3,0 ml/l d'érythrocytes (lavage chirurgical des mains) <sup>c</sup>	et/ou 3,0 g/l de solution d'albumine bovine + 3,0 ml d'érythrocytes	et/ou 3,0 g/l de solution d'albumine bovine + 3,0 ml d'érythrocytes
b) Additionnelles	—	—	Toute substance pertinente	Toute substance pertinente
NOTE Dans les conditions additionnelles, la concentration ainsi définie peut être inférieure à celle obtenue dans les conditions d'essai minimales.				
<sup>a</sup> Les temps de contact pour les désinfectants de surface énoncés dans ce tableau sont déterminés à partir d'applications pratiques du produit. Le temps de contact recommandé pour l'utilisation du produit est de la responsabilité du fabricant. Les produits destinés à désinfecter les surfaces susceptibles d'entrer en contact avec le patient et/ou le personnel médical et les surfaces fréquemment touchées par de nombreuses personnes et pouvant transmettre des micro-organismes au patient, doivent être soumis à essai avec un temps de contact d'au moins 5 min. Il en est de même lorsque le temps de contact du produit doit être limité pour des raisons pratiques. Les produits destinés à d'autres surfaces peuvent être soumis à essai avec un temps de contact maximal de 60 min.				
<sup>b</sup> Les produits de friction hygiéniques et chirurgicaux doivent être soumis à essai dans des conditions de propreté minimales.				
<sup>c</sup> Les produits de friction hygiéniques et chirurgicaux doivent être soumis à essai dans des conditions de saleté minimales.				

– **NB** : La concentration levuricide est la concentration du produit active la plus faible sur *Candida albicans*.

La concentration fongicide est la concentration du produit active la plus faible sur l'organisme d'essai limitant (organisme le moins sensible, c'est-à-dire nécessitant la concentration la plus élevée pour une activité fongicide).

NF EN 14476 + A2 / T 72-185 (juillet 2019)

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 / étape 1).

**Pour surfaces, mains, textiles ou pour instruments.**

**Pour les mains et les surfaces**, il existe comme pour les normes de fongicide la possibilité de valider une virucidie à spectre limité. Cette situation a été différenciée dans ProdHyBase®. Une activité sur le virus de la vaccine a également été ajoutée pour tester l'activité contre les virus enveloppés.

**A noter que ProdHyBase® recommande pour les produits mains de retenir des produits ayant validé une activité virucide complète ou partielle. L'activité sur virus enveloppés n'est pas suffisante pour l'usage en établissement de santé.**

NB : Les données obtenues au moyen de la précédente version (2015) peuvent encore être utilisés.

▪ **Conditions d'essai minimales et additionnelles :**

Conditions d'essai	Traitement hygiénique des mains par frictions et lavage hygiénique des mains	Désinfection des instruments	Désinfection des surfaces	Désinfection des textiles
<b>Spectre minimal des microorganismes d'essai</b>	<b>A2</b> <b>Activité virucide</b> <i>Poliovirus</i> <i>Adénovirus</i> <i>Norovirus murin</i> <b>Activité virucide à spectre limité<sup>a</sup></b> <i>Adénovirus</i> <i>Norovirus murin</i> <b>A1</b> <b>Activité virucide contre les virus enveloppés<sup>b</sup></b> <i>Virus de la vaccine</i> <b>A1</b>	<b>A2</b> <b>Activité virucide</b> <i>Poliovirus</i> <i>Adénovirus</i> <i>Norovirus murin</i> lorsque la température est de 40 °C ou plus : uniquement <i>Parvovirus</i>	<b>A2</b> <b>Activité virucide</b> <i>Poliovirus</i> <i>Adénovirus</i> <i>Norovirus murin</i> <b>A2</b> <b>Activité virucide à spectre limité<sup>a</sup></b> <i>Adénovirus</i> <i>Norovirus murin</i> <b>Activité virucide contre les virus enveloppés<sup>b</sup></b> <i>Virus de la vaccine</i> <b>A2</b>	<i>Parvovirus</i>
<b>Conditions additionnelles</b>	Tout microorganisme d'essai pertinent			
<b>Température d'essai</b>	selon les recommandations du fabricant, mais égale / comprise entre			
	20 °C	20 °C et 70 °C	4 °C et 30 °C	30 °C et 70 °C
<b>Temps de contact</b>	selon les recommandations du fabricant			
	mais compris entre 30 s et 120 s	60 min	mais au maximum 5 min ou 60 min <sup>c</sup>	20 min
<b>Substance interférente</b>				
conditions de propreté	solution d'albumine bovine à 0,3 g/l (traitement hygiénique des mains par frictions) <sup>d</sup>	solution d'albumine bovine à 0,3 g/l <b>et/ou</b>	solution d'albumine bovine à 0,3 g/l <b>et/ou</b>	
conditions de saleté	solution d'albumine bovine à 3,0 g/l plus érythrocytes à 3,0 ml/l (lavage hygiénique des mains) <sup>e</sup>	solution d'albumine bovine à 3,0 g/l plus érythrocytes à 3,0 ml/l	solution d'albumine bovine à 3,0 g/l plus érythrocytes à 3,0 ml/l	solution d'albumine bovine à 3,0 g/l plus érythrocytes à 3,0 ml/l
<b>Conditions additionnelles<sup>f</sup></b>	propreté ou saleté <sup>d, e</sup> ; toute substance pertinente	toute substance pertinente	toute substance pertinente	toute substance pertinente

- a L'essai portant sur "l'activité virucide à spectre limité" couvrira tous les virus enveloppés (Annexe A) et les norovirus, rotavirus et adénovirus. <sup>(2)</sup>
- b L'essai portant sur "l'activité virucide contre les virus enveloppés" couvrira uniquement tous les virus enveloppés (Annexe A). <sup>(1)</sup>
- c Les temps de contact des désinfectants de surfaces indiqués dans ce tableau sont choisis sur la base des conditions pratiques d'utilisation du produit. Le temps de contact recommandé pour l'utilisation du produit relève de la responsabilité du fabricant. Les produits qui sont destinés à désinfecter des surfaces susceptibles d'entrer en contact avec le patient et/ou le personnel médical et des surfaces fréquemment touchées par des personnes différentes, ce qui conduit à la transmission de microorganismes au patient, doivent être soumis à essai avec un temps de contact de 5 min au maximum. Les mêmes conditions s'appliquent lorsque le temps de contact du produit doit être limité pour des raisons pratiques. Les produits destinés à d'autres surfaces que celles mentionnées ci-dessus peuvent être soumis à essai avec un temps de contact de 60 min au maximum.
- d Le traitement hygiénique des mains par frictions doit être soumis à essai au minimum dans les conditions de propreté.
- e Le lavage hygiénique des mains doit être soumis à essai au minimum dans les conditions de saleté.
- f Dans les conditions additionnelles, la concentration déterminée et retenue comme résultat peut être inférieure à celle obtenue dans les conditions d'essai minimales.

- **Souches testées :**
  - **Virus à ARN non enveloppés**
    - *Poliovirus* type 1, souche LSc-2ab (Picornavirus) par le NIBSC (UK) ou Eurovir Hygiene Institut (DE)  
Lignée cellulaire : cellules HeLa ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.
    - *Norovirus murin*, souche S99 Berlin, par le Friedrich Löffler-Institut  
Lignée cellulaire : cellules RAW 264.7 (ATCC TIB-71) ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée
  - **Virus à ADN non enveloppés**
    - *Adénovirus* type 5, souche Adénoïd 75, ATCC VR-5  
Lignée cellulaire : cellules HeLa ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.
    - *Parvovirus murin*, souche Crawford, ATCC VR-1346  
Lignée cellulaire : cellules A9, ATCC CCL-1.4 ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée
  - **Virus à ADN enveloppés**
    - *Virus de la vaccine, souche Ankara (virus modifié de la vaccine Ankara) ATCC-VR 1508, ou souche du virus de la vaccine Elstree, ATCC VR-1549*  
Lignée cellulaire : cellules BHK-21 (ATCC CCL-10) ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée. La souche Elstree du virus de la vaccine est multipliée dans des cellules Vero (ATCC CCL-81), dans des cellules CV-1 (ATCC CCL-70) ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.
- **Température d'essai :** conforme au tableau ci-dessus avec un IC= 1°C,
- **Température d'incubation :** 36-37°C ± 1°C, à condition que la T° soit la même pour toutes les étapes.
- **Prise d'essai** pour un solide est de 1g ± 0,01g.
- **Dilution** du produit : eau dure.  
Pour les produits prêts à l'emploi → eau bi-distillée ou eau p.p.i. (pour préparations injectables).  
Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.
- **Aspect du produit et de ses solutions :** mentionnés. Si flocculat ou précipité, le mentionner dans le rapport.
- **Concentration maximum d'essai :** 80%. 97% avec une méthode modifiée dans certains cas particuliers (Produit prêt A l'Emploi).
- **Concentrations testées :** au moins trois concentrations différentes dont une doit être active (≥ 4 log) et une non active (< 4 log). ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués sur

moins de trois concentrations et ceux pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation ou de la filtration est validé.

- **En conditions de saleté**, vérifier la présence d'un témoin viral avec de l'albumine bovine sérique sans érythrocytes (au moins dans les tableaux).
- **Validation de la méthode si :**
  - **Suspension virale d'essai** a une  $DICT_{50} \geq 1.10^8$  /mL ( $\lg DICT_{50} \geq 8$ ) ou possède une concentration qui permet de déterminer une réduction de 4 lg du titre viral.
  - **Contrôle de la sensibilité des virus par des essais d'inactivation** (formaldéhyde, glutaraldéhyde ou acide peracétique) : la différence des titres, exprimés en logarithmes, entre le témoin viral et le virus d'essai utilisé lors de l'essai de référence dans l'essai d'inactivation est comprise :
    1. entre - 0,5 et - 2,5 après 30 min et entre - 2 et - 4,5 après 60 min pour le poliovirus,
    2. entre - 3 et - 5 après 30 min et entre - 3,5 et - 5,5 après 60 min pour l'adénovirus,
    3. entre -1 et -3 après 30 min et entre -2 et -4 après 60 min pour le norovirus murin,
    4. entre 0,0 et -2,0 après 30 min et entre -0,5 et -2,5 après 60 min pour le parvovirus,
    5. entre -0,75 et -3,5 après 5 minutes et entre -2,0 et -4,0 après 15 minutes pour le virus de la vaccine.
- **La cytotoxicité de la solution d'essai du produit** n'affecte pas la morphologie et la croissance cellulaires ni la sensibilité au microorganisme d'essai dans les dilutions des mélanges d'essai qui sont nécessaires pour démontrer une réduction de 4 lg du titre viral ;
- **Le titrage comparatif du virus** sur les cultures cellulaires traitées avec des dilutions du mélange d'essai et en parallèle (c'est-à-dire ajout du tampon PBS uniquement) a pour résultat une différence < 1 lg du titre viral ou perte < 25% des cellules en monocouches et permettant de démontrer une réduction de 4 lg du titre viral.
- **Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité virucide** du désinfectant avec indication du mode opératoire de l'arrêt de l'action du produit : dilution à froid ou filtration, et du niveau de cytotoxicité. Différence maximale de titre avec la solution d'essai < 0,5 lg.
- **Tableaux des résultats et présentation graphique** de tous les résultats avec témoin au formaldéhyde ou autre produit adéquat. ProdHyBase® tolère pour l'instant les PV qui ne comportent que les tableaux des résultats ou que les graphiques, dès l'instant où il est possible de retrouver l'ensemble des résultats.
- **Réduction des titres** : Le produit est virucide si  $\log (R) \geq 4$  lg.
- **Le rapport d'essai doit au minimum comporter les informations suivantes :**
  - Référence de la norme
  - Nom du laboratoire d'essai
  - Identification de l'échantillon
    - Nom du produit
    - Numéro de lot
    - Date Limite d'Utilisation
    - Fabricant / fournisseur
    - Date de livraison
    - Conditions de stockage
    - Composants actifs

- Diluant recommandé
- Aspect du produit
- Conditions expérimentales
  - Date(s) de l'essai
  - Diluant utilisé
  - Concentrations d'essai du produit
  - Aspect du produit et de ses dilutions
  - Temps de contact et intervalle de confiance
  - T° d'essai et intervalle de confiance
  - Substances interférentes
  - Stabilité et aspect du mélange au cours du mode opératoire
  - T° d'incubation
  - Méthode de filtration
  - Identification de la source de la souche virale et nombre de passages
  - Mode opératoire pour arrêter l'action du produit
  - Lignées cellulaires (nom, source et nombre de passages, milieu de culture cellulaire)
- Validation des résultats de l'essai de contrôle et d'évaluation
  - Titre de la suspension virale et Méthode de titrage
  - Inactivation maximale détectable du virus
  - Inactivation du virus lors de l'essai d'inactivation du virus de référence après 60 min
- Présentation des résultats de l'essai pour évaluer l'activité virucide
  - Description
  - Tableau des résultats (données brutes)
    - Titre viral [IC 95%]
    - Taux de réduction [IC 95%]
  - Présentation graphique de tous les résultats avec le témoin formaldéhyde
- Conclusion
- Lieu, date et signature

**NF EN 14476 + A1 / T 72-185** (octobre 2015)

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 / étape 1).

**Pour surfaces, mains, textiles** ou par immersion pour **instruments**.

**Pour les mains**, il existe comme pour les normes de fongicide la possibilité de valider une virucide à spectre limité. Cette situation a été différenciée dans ProdHyBase®. Une activité sur le virus de la vaccine a également été ajoutée pour tester l'activité contre les virus enveloppés.

**A noter que ProdHyBase® recommande pour les produits mains de retenir des produits ayant validé une activité virucide complète ou partielle. L'activité sur virus enveloppés n'est pas suffisante pour l'usage en établissement de santé.**

NB : Les données obtenues au moyen de la précédente version peuvent encore être utilisés.

**ProdHyBase® accepte les rapports d'essais de 2013.** (Modification 2015 : ajout vaccine pour action uniquement sur virus enveloppés pour Hygiène des Mains).

**ProdHyBase® accepte d'analyser les rapports d'essais de 2007 (avec la grille de 2015) pour Adenovirus et Poliovirus sous réserve :**

- **Que le Norovirus ait été testé dans les mêmes conditions.** Demander une attestation par le laboratoire.
- **Que le rapport d'essai réponde à tous les critères de la version 2015.**

En l'absence de Norovirus et d'une attestation d'équivalence des conditions de passage de la NF EN 14476 de 2007 pour les souches *Adenovirus* et *Poliovirus* à la version de 2013 et donc de celles du *Norovirus* qui est ajouté, les normes NF EN 14476 de 2007 ont été supprimées de l'affichage en 2017.

▪ **Conditions d'essai :**

Usage	Désinfection des instruments + Désinfection chimiothermique	Désinfection des surfaces	Traitement hygiénique des mains par friction	Traitement des textiles
Virus d'essai	<i>Poliovirus</i> <i>Adénovirus</i> <i>Norovirus murin</i> Lorsque la T° est de 40°C ou plus : uniquement <i>Parvovirus</i>	<i>Poliovirus</i> <i>Adénovirus</i> <i>Norovirus murin</i>	<b>Activité virucide complète</b> <i>Poliovirus</i> <i>Adénovirus</i> <i>Norovirus murin</i> <b>Activité virucide à spectre limité<sup>A</sup></b> <i>Adénovirus</i> <i>Norovirus murin</i> <b>Activité virucide contre les virus enveloppés<sup>AA</sup></b> <i>Virus de la vaccine</i>	<i>Parvovirus</i>
Température d'essai	Selon les recommandations du fabricant mais comprises entre			
	20°C et 70°C	4°C et 30°C	20°C	30°C et 70°C
Temps de contact	Selon les recommandations du fabricant <u>mais n'excédant pas</u>			
	60 min ± 10 s*	5 ou 60 min ± 10 s*	Entre 30 s ± 5 s et 2 min ± 10 s	20 min ± 10 s

Substances interférentes	0,3 g/L d'albumine bovine sérique	0,3 g/L d'albumine bovine sérique	0,3 g/L d'albumine bovine sérique (frictions)	-
• Propreté	et / ou	et / ou		
• Saleté	3 g/L d'albumine bovine sérique + 3 mL/L d'érythrocytes de mouton	3 g/L d'albumine bovine sérique + 3 mL/L d'érythrocytes de mouton	-	3 g/L d'albumine bovine sérique + 3 mL/L d'érythrocytes de mouton

<sup>Δ</sup>L'essai portant sur l'activité virucide à spectre limité couvrira tous les virus enveloppés et les micro-organismes d'essai spécifiés

. <sup>ΔΔ</sup>L'essai portant sur l'activité virucide contre les virus enveloppés couvrira uniquement tous les virus enveloppés

Liste d'exemples de virus à la fin de la norme.

\* Les temps de contact des désinfectants de surfaces sont choisis sur la base des conditions pratiques d'utilisation du produit. Le temps de contact recommandé pour l'utilisation du produit relève de la responsabilité du fabricant.

Les produits qui sont destinés à désinfecter des surfaces susceptibles d'entrer en contact avec le patient et/ou le personnel médical et des surfaces fréquemment touchées par des personnes différentes doivent être soumis à essai avec un temps de contact de 5 min. Les mêmes conditions s'appliquent lorsque le temps de contact du produit doit être limité pour des raisons pratiques. Pour les autres surfaces, temps maximum de 60 min.

Les essais à des températures > à 20°C, quels que soient les degrés de température, sont acceptés et inclus dans ProdHyBase<sup>®</sup> pour les produits destinés à la désinfection des générateurs de dialyse rénale et pour les produits pour laveurs-désinfecteurs de DM.

NB : Le VIH n'est pas considéré comme un virus qui requiert d'être soumis à essai car il est extrêmement fragile. Par conséquent, dans le cadre de cette norme, toute activité virucide inclut une activité sur le VIH.

▪ **Souches testées :**

▪ **Virus à ARN non enveloppés**

- *Poliovirus* type 1, souche LSc-2ab (Picornavirus) par le NIBSC (UK) ou Eurovir Hygiene Institut (DE)

Lignée cellulaire : cellules HeLa ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.

- *Norovirus murin*, souche S99 Berlin, par le Friedrich Löffler-Institut

Lignée cellulaire : cellules RAW 264.7 (ATCC TIB-71) ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée

▪ **Virus à ADN non enveloppés**

- *Adénovirus* type 5, souche Adénoïd 75, ATCC VR-5

Lignée cellulaire : cellules HeLa ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.

- *Parvovirus murin*, souche Crawford, ATCC VR-1346

Lignée cellulaire : cellules A9, ATCC CCL-1.4 ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée

▪ **Virus à ADN enveloppés**

- *Virus de la vaccine*, souche Ankara (virus modifié de la vaccine Ankara) ATCC-VR 1508

Lignée cellulaire : cellules BHK-21 (ATCC CCL-10) ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée

- **Température d'essai** : conforme au tableau ci-dessus avec un IC= 1°C,
- **Température d'incubation** : 36-37°C ± 1°C, à condition que la T° soit la même pour toutes les étapes.
- **Prise d'essai** pour un solide est de 1g ± 0,01g.
- **Dilution** du produit : eau dure.  
Pour les produits prêts à l'emploi → eau bi-distillée ou eau p.p.i. (pour préparations injectables).  
Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.
- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés. Si flocculat ou précipité, le mentionner dans le rapport.
- **Concentration maximum d'essai** : 80%. 97% avec une méthode modifiée dans certains cas particuliers (Produit prêt A l'Emploi).
- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations différentes dont une doit être active ( $\geq 4$  log) et une non active ( $\leq 4$  log). ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués sur moins de trois concentrations et ceux pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation ou de la filtration est validé.
- **En conditions de saleté**, vérifier la présence d'un témoin viral avec de l'albumine bovine sérique sans érythrocytes (au moins dans les tableaux).
- **Validation de la méthode si** :
  - **Suspension virale d'essai** a une  $DICT_{50} \geq 1.10^8$  /mL ( $\lg DICT_{50} \geq 8$ ) ou possède une concentration qui permet de déterminer une réduction de 4 lg du titre viral.
  - **Contrôle de la sensibilité des virus par des essais d'inactivation** (formaldéhyde, glutaraldéhyde ou acide peracétique) : la différence des titres, exprimés en logarithmes, entre le témoin viral et le virus d'essai utilisé lors de l'essai de référence dans l'essai d'inactivation est comprise :
    1. entre - 0,5 et - 2,5 après 30 min et entre - 2 et - 4,5 après 60 min pour le poliovirus,
    2. entre - 3 et - 5 après 30 min et entre - 3,5 et - 5,5 après 60 min pour l'adénovirus
    3. entre 0,0 et -2,0 après 30 min et entre -0,5 et -2,5 après 60 min pour le parvovirus,
    4. entre -0,75 et -3,5 après 5 minutes et entre -2,0 et -4,0 pour le virus de la vaccine.
- **Cytotoxicité de la solution d'essai du produit** n'affecte pas la morphologie et la croissance cellulaire dans les dilutions des mélanges d'essai qui sont nécessaires pour démontrer une réduction de 4 lg du titre viral.
- **Le titrage comparatif du virus** sur les cultures cellulaires traitées avec des dilutions du mélange d'essai et en parallèle (c'est-à-dire ajout du tampon PBS uniquement) a pour résultat une différence < 1 lg du titre viral ou perte < 25% des cellules en monocouches et permettant de démontrer une réduction de 4 lg du titre viral.
- **Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité virucide** du désinfectant avec indication du mode opératoire de l'arrêt de l'action du produit : dilution à froid ou filtration, et du niveau de cytotoxicité. Différence de titre avec la solution d'essai < 0,5 lg.

- **Tableaux des résultats et présentation graphique** de tous les résultats avec témoin au formaldéhyde ou autre produit adéquat. ProdHyBase® tolère pour l'instant les rapports d'essais qui ne comportent que les tableaux des résultats ou que les graphiques, dès l'instant où il est possible de retrouver l'ensemble des résultats.
- **Réduction** des titres : Le produit est virucide si  $\log (R) \geq 4$  lg.
- **Le rapport d'essai doit au minimum comporter les informations suivantes :**
  - Référence de la norme
  - Nom du laboratoire d'essai
  - Identification de l'échantillon
    - Nom du produit
    - Numéro de lot
    - Date Limite d'Utilisation
    - Fabricant / fournisseur
    - Date de livraison
    - Conditions de stockage
    - Composants actifs
    - Diluant recommandé
    - Aspect du produit
  - Conditions expérimentales
    - Date(s) de l'essai
    - Diluant utilisé
    - Concentrations d'essai du produit
    - Aspect du produit et de ses dilutions
    - Temps de contact et intervalle de confiance
    - T° d'essai et intervalle de confiance
    - Substances interférentes
    - Stabilité et aspect du mélange au cours du mode opératoire
    - T° d'incubation
    - Méthode de filtration
    - Identification de la source de la souche virale et nombre de passages
    - Mode opératoire pour arrêter l'action du produit
    - Lignées cellulaires (nom, source et nombre de passages, milieu de culture cellulaire)
  - Validation des résultats de l'essai
    - Titre de la suspension virale et Méthode de titrage
    - Inactivation maximale détectable du virus
    - Inactivation du virus lors de l'essai d'inactivation du virus de référence après 60 min
  - Présentation des résultats de l'essai
    - Description
    - Tableau des résultats
      - Titre viral [IC 95%]
      - Taux de réduction [IC 95%]
    - Présentation graphique de tous les résultats avec le témoin formaldéhyde
  - Conclusion
  - Lieu, date et signature

**Annexe A**

(informative)

**Exemples de virus classés en fonction de leur localisation  
et/ou des organes cibles lors des infections virales**

Ces virus peuvent contaminer les mains, les instruments, d'autres surfaces et les textiles.

NOTE 1 Cette liste n'est pas exhaustive.

NOTE 2 Les virus enveloppés sont en gras.

Sang

*Entérovirus*

*Filoviridae*

*Flavivirus*

*Herpesviridae*

Virus de l'hépatite A (VHA)

Virus de l'hépatite B (VHB)

Virus de l'hépatite C (VHC)

Virus de l'hépatite delta (VHD)

Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

Virus de la leucémie humaine à cellules T (HTLV)

*Parvovirus B19*

Voies respiratoires

*Adénovirus (Mast-)*

*Coronavirus*

*Entérovirus*

*Herpesviridae*

Virus de la grippe

*Paramyxoviridae*

*Rhinovirus*

Virus de la rubéole

Tissu neuronal, oreille et nez, œil

*Adénovirus (Mast-)*

*Entérovirus*

*Herpesviridae*

Virus de la rougeole

Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

*Polyomavirus*

Virus de la rage

Virus de la rubéole

Voies gastro-intestinales

*Adénovirus (Mast-)*

*Caliciviridae*

*Coronavirus*

*Astrovirus*

*Entérovirus*

Virus de l'hépatite A (VHA)

Virus de l'hépatite E (VHE)

*Rotavirus*

Peau, poitrine et/ou lait

*Entérovirus*

*Herpesviridae*

Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

Virus de la leucémie humaine à cellules T (HTLV)

*Papillomavirus*

*Poxviridae*

Rate et ganglion lymphatique (voir aussi «Sang»)

Virus de la leucémie humaine à cellules T (HTLV)

Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

Mode opératoire dentaire

*Adénovirus (Mast-)*

*Entérovirus*

*Herpesviridae*

Virus de l'hépatite B (VHB)

Virus de l'hépatite C (VHC)

Virus de l'hépatite delta (VHD)

Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

Voie urogénitale

Virus de l'hépatite B (VHB)

*Herpesviridae*

Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

Virus de la leucémie humaine à cellules T (HTLV)

*Papillomavirus*

*Polyomavirus*

Référence :

Van Regenmortel MHV *et al.* : «Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses» (Taxonomie virale, classification et nomenclature des virus), septième rapport du Comité international de taxonomie virale (ICTV).

Academic Press, San Diego, 2000.

**NF EN 14348 / NF T 72-245** (Juin 2005)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité mycobactéricide des désinfectants chimiques utilisés en médecine humaine y compris des désinfectants pour instruments. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

- Si un prEN est passé par le laboratoire, PHB accepte une attestation du laboratoire qui a fait le test affirmant qu'il n'y a pas de différence entre la méthode du projet de norme et la dernière version de la norme ; si et seulement si le projet de norme a été passé au maximum dans les 6 mois après que la parution de la dernière version de la norme.
- **Température** de l'essai :
  - obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - additionnelles : choisies à intervalle de 10°C (écart admis pour chaque température ± 1°C).  
Les essais à des températures > à 20°C, quels que soient les degrés de température, sont acceptés et inclus dans ProdHyBase® pour les produits destinés à la désinfection des générateurs de dialyse rénale et pour les produits pour laveurs-désinfecteurs de DM.
- **Temps de contact** de l'essai :
  - obligatoire : 60 min ± 10 s.
  - additionnels : 5 min, 15 min, 30 min ± 10 s.

Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 60 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.

ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 60 min.

Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

▪ **Souches testées :**

Activité mycobactéricide = *Mycobacterium avium* et *Mycobacterium terrae*

- *Mycobacterium avium*      **ATCC 15769**  
DSM 44157  
CIP 105415
- *Mycobacterium terrae*      **ATCC 15755**  
DSM 43227  
CIP 104321

Activité tuberculocide = *Mycobacterium terrae*

- *Mycobacterium terrae*      **ATCC 15755**  
DSM 43227  
CIP 104321

- **Température d'incubation** des souches testées : 36-37°C ± 1°C
- **Substances interférentes :**
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + érythrocytes de mouton 3 mL/L.
- **Dilution** du produit : en eau dure (sauf pour les produits prêts à l'emploi → eau distillée ou eau p.p.i.).  
Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.

- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des micro-organismes est alors difficile et non fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 14348 20°C – 15 min – 5% (floculat).
- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active et une concentration inactive. ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.
- **Neutralisant validé** (Cf. Grille générale).
- ProdHyBase tolère comme alternative à la méthode par dilution-neutralisation, la méthode par filtration, bien que la possibilité de recourir à une autre méthode que celle par neutralisation ne soit pas clairement précisée dans le protocole AFNOR.
- **Répétition recommandée de l'essai** (6 applications) avec la souche d'essai limitante (qui peut être *Mycobacterium terrae* dans certains cas ; pas de répétition obligatoire sur la souche non limitante) (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 4 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne). Par conséquent, un produit testé plusieurs fois à une même concentration peut être actif et inactif ; le produit sera considéré comme mycobactéricide à cette concentration, si la moyenne des résultats des essais montre une réduction supérieure à 4 lg.
- **Pour chaque souche d'essai**, vérifier que :
  - N est compris entre  $1,5 \times 10^9$  UFC / mL et  $5,0 \times 10^9$  UFC /mL ( $9,17 \leq \log N \leq 9,70$ )
  - $N_0$  est compris entre  $1,5 \times 10^8$  UFC / mL et  $5,0 \times 10^8$  UFC / mL ( $8,17 \leq \log N_0 \leq 8,70$ )
  - $N_v$  est compris entre  $3,0 \times 10^2$  et  $1,6 \times 10^3$  UFC / mL
  - $N_{v0}$  est compris entre 30 et 160
  - A, B, C  $\geq 0,5 \times N_{v0}$
  - Contrôle des dénombrements moyens pondérés : quotient compris entre 5 minimum et 15 maximum.
    - o  $V_c$  = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
    - o N = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai
    - o  $N_0$  = nombre de cellules par mL dans le mélange d'essai au début du temps de contact (temps 0) ( $N_0 = N / 10$ ).
    - o  $N_v$  = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
    - o  $N_{v0}$  = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B ou C au début du temps de contact (temps 0) ( $N_{v0} = N_v / 10$ ).
    - o  $N_a$  = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai à l'issue du temps de contact et avant l'étape de neutralisation.
    - o A = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact t.
    - o B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant après 5 min.
    - o C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.
- **Réduction** du nombre de colonies (ou cellules viables) :  $(R) \geq 4$  lg (log R = 4).

c) **Normes d'applications spécifiques**

**Agro-alimentaire, industries, domaines domestiques et collectivités**

**NF EN 1276 / NF T 72-173** (Mars 2010)

Antiseptiques et désinfectants chimiques.

Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide des antiseptiques et des désinfectants chimiques utilisés dans les domaines de l'agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité.

Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

Remplacée pour le domaine médical par la NF EN 13727+A1 / NF T 72-175 / décembre 2013.

Non applicable pour le domaine médical depuis le 1er janvier 2014.

- **Température** de l'essai :
  - obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - additionnelles : 4°C, 10°C ou 30°C ou 40°C ± 1°C.
- **Temps de contact** de l'essai :
  - obligatoire : 5 min ± 10 s ou 1 min (pour les produits pour désinfection des mains).
  - additionnels : 1 min ± 5 s ; 15 min, 30 min ou 60 min ± 10 s.

Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 15 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.

ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 15 min.

Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

- **Souches testées :**

- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<b>ATCC</b>	<b>15442</b>
	CIP	103467
	DSM	939
	NCIMB	10421
- <i>Escherichia coli</i>	<b>ATCC</b>	<b>10536</b>
	CIP	54127
	DSM	682
	NCTC	10418
	NCIMB	8879
- <i>Staphylococcus aureus</i>	<b>ATCC</b>	<b>6538</b>
	CIP	483
	DSM	799
	NCTC	10788
	NCIMB	9518
- <i>Enterococcus hirae</i>	<b>ATCC</b>	<b>10541</b>
	CIP	5855
	DSM	3320
	NCIMB	8192

- **Température d'incubation** des souches testées : 36-37°C ± 1°C
- **Substances interférentes**
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L.

- **Prise d'essai** : Pour les produits solides, l'échantillon doit peser au moins 1 g +/- 10 mg.
- **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).
- **Aspect du produit et de ses dilutions** : mentionné et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat dans les solutions au cours du mode opératoire, car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 1276 / bactéricidie / conditions de propreté 20°C – 15 min – 2 % (floculat).
- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active ( $\geq 5$  lg) et une concentration inactive ( $< 5$  lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.
- **Neutralisation** : La neutralisation doit être contrôlée pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée, pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température).

Si le neutralisant utilisé par le laboratoire n'est pas valide, un deuxième neutralisant devrait être essayé avant d'envisager un essai par filtration sur membrane. Toutefois, ProdHyBase® tolère les essais par filtration sur membrane même si le choix de l'utilisation de cette méthode n'est pas justifié sur le rapport d'essai.

- **Répétition recommandée de l'essai** : avec l'organisme d'essai limitant (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 4 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne).
- **Pour chaque souche d'essai, vérifier que** :
  - $V_c$  est compris entre :
    - Pour la méthode par dilution-neutralisation : 14 et 330 UFC/mL
    - Pour la méthode par filtration sur membrane (division et répartition de l'échantillon sur plusieurs membranes) : 14 et 165 UFC/mL
  - N est compris entre  $1,5 \times 10^8$  et  $5,0 \times 10^8$  UFC/mL ( $8,17 \leq \lg N \leq 8,70$ )
  - $N_o$  est compris entre  $1,5 \times 10^7$  et  $5,0 \times 10^7$  UFC/mL ( $7,17 \leq \lg N_o \leq 7,70$ )
  - $N_{vo}$  est compris entre 30 et 160 UFC/mL ( $3,0 \times 10^1$  et  $1,6 \times 10^2$ )
  - $N_v$  est compris entre  $3,0 \times 10^2$  et  $1,6 \times 10^3$  UFC/mL
  - A, B, C  $\geq 0,5 N_{vo}$
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.
    - $V_c$  = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
    - N = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
    - $N_o$  = nombre de cellules par mL dans le mélange d'essai au début du temps de contact (temps 0) ( $N_o = N / 10$ ).
    - $N_v$  = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
    - $N_{vo}$  = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0) ( $N_{vo} = N_v / 10$ ).
    - $N_a$  = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai à l'issue du temps de contact et avant l'étape de neutralisation ou de filtration sur membrane.

- A = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact.
  - B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant ou témoin de filtration après 5 min.
  - C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.
- Réduction du nombre de colonies (ou cellules viables) :
- $$R = N_0 / N_a \text{ ou } \lg(R) = \lg(N_0) - \lg(N_a)$$
- $$\lg(R) \geq 5 \text{ (ou } \lg R \geq 5).$$

**NF EN 1650 : +A1 / NF T 72-203** (Octobre 2013)

Antiseptiques et désinfectants chimiques – Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide ou levuricide des antiseptiques et des désinfectants utilisés dans le domaine de l'agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivités.

Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

Remplacée pour le domaine médical par la NF EN 13624 / NF T 72-600 / novembre 2013.

Non applicable pour le domaine médical depuis le 1er janvier 2016.

- **Identification du laboratoire d'essai**
- **Identification du fabricant**
- **Identification de l'échantillon**
  - Nom du produit
  - N° lot et date de péremption
  - Date de livraison
  - Conditions de stockage
- **Dates d'essai**
- **Température de l'essai :**
  - obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - additionnelles : 4°C, 10°C ou 40°C ± 1°C.

- **Temps de contact de l'essai :**
  - obligatoire : 15 min ± 10 s.
  - additionnels : 1 min ± 5 s ; 5 min, 30 min ou 60 min ± 10 s.

Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 15 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.

ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 15 min.

Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

- **Souches testées :**

**Fongicide** (test sur *Candida albicans* et sur *Aspergillus brasiliensis* (ex niger)).

**Levuricide** (test sur *Candida albicans* uniquement).

- <i>Candida albicans</i> (cellules végétatives)	<b>ATCC</b>	<b>10231</b>
	CIP	4872
	DSM	1386
	CBS	6431
	NCTC	3179
- <i>Aspergillus brasiliensis</i> (spores)	<b>ATCC</b>	<b>16404</b>
	DSM	1988
	CBS	733.88
	CIP	1431.83
	NCTC	2275
	IMI	149007

- **Température d'incubation** des souches testées : 30°C +/- 1°C.
- **Vérification de la qualité des conidiospores (pour *A. basiliens*)** : sinon refus de la suspension (et de l'essai)
  - Au moins 75 % de conidiospores épineuses
  - Absence de conidiospores germées
  - Absence de fragments de mycélium (possibilité d'une filtration suppl. pour les éliminer)
- **Substances interférentes** :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L.
- **Méthode d'essai : dilution-neutralisation ou filtration sur membrane**
- **Prise d'essai** : Pour les produits solides, l'échantillon doit peser au moins 1 g +/- 10 mg.
- **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).
- **Aspect du produit et de ses dilutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat dans les solutions au cours du mode opératoire, car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 1650 / fongicide / conditions de propreté 20°C – 15 min – 2 % (floculat).
- **Concentrations testées** : maximum 80 % ou concentrations inférieures ; au moins trois concentrations, dont une concentration active ( $\geq 4$  lg) et une concentration inactive ( $< 4$  lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.
- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.
 

Si le neutralisant utilisé par le laboratoire n'est pas valide, un deuxième neutralisant devrait être essayé avant d'envisager un essai par filtration sur membrane. Toutefois, ProdHyBase® tolère les essais par filtration sur membrane même si le choix de l'utilisation de cette méthode n'est pas justifié sur le rapport d'essai.

Dans certaines circonstances, il peut être nécessaire d'ajouter du neutralisant à la gélose à l'extrait de malt pour les modes opératoires de validation et de contrôle. La gélose à l'extrait de malt utilisée pour l'essai doit également contenir la même proportion de ce neutralisant.
- **Répétition recommandée de l'essai** : avec l'organisme d'essai limitant (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 4 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne).
- **Pour chaque souche d'essai, vérifier que** :
  - $V_c$  est compris entre :
    - Pour la méthode par dilution-neutralisation :
      - 14 et 330 UFC/mL pour les levures (*Candida*)
      - 14 et 165 UFC/mL pour les moisissures (*Aspergillus*)

Pour la méthode par filtration sur membrane (division et répartition de l'échantillon sur plusieurs membranes) :

14 et 165 UFC/mL pour les levures (*Candida*)

14 et 55 UFC/mL pour les moisissures (*Aspergillus*)

- N est compris entre  $1,5 \times 10^7$  et  $5,0 \times 10^7$  UFC/mL ( $7,17 \leq \lg N \leq 7,70$ )
  - $N_0$  est compris entre  $1,5 \times 10^6$  et  $5,0 \times 10^6$  UFC/mL ( $6,17 \leq \lg N_0 \leq 6,70$ )
  - $N_{V0}$  est compris entre 30 et 160 UFC/mL ( $3,0 \times 10^1$  et  $1,6 \times 10^2$ )
  - $N_V$  est compris entre  $3,0 \times 10^2$  et  $1,6 \times 10^3$  UFC/mL
  - A, B, C  $\geq 0,5 N_{V0}$
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.
    - $V_c$  = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
    - N = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
    - $N_0$  = nombre de cellules par mL dans le mélange d'essai au début du temps de contact (temps 0) ( $N_0 = N / 10$ ).
    - $N_V$  = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
    - $N_{V0}$  = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0) ( $N_{V0} = N_V / 10$ ).
    - $N_a$  = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai à l'issue du temps de contact et avant l'étape de neutralisation ou de filtration sur membrane.
    - A = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact et/ou absence effet létal des conditions d'essai.
    - B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant ou témoin de filtration, absence de toxicité du neutralisant.
    - C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode.
- **Réduction** du nombre de colonies (ou cellules viables) :
- $R = N_0 / N_a$  ou  $\log(R) = \log(N_0) - \log(N_a)$
- $\lg(R) \geq 4$  (ou  $\lg R \geq 4$ ).**

**NF EN 13697 / NF T 72-193** (EN : Avril 2015 / NF : Juin 2015)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de surface non-poreuse pour l'évaluation de l'activité bactéricide et/ou fongicide des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine de l'agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité. Méthode d'essai sans action mécanique et prescriptions (phase 2 / étape 2).

- Norme signalée pour les produits destinés au traitement des surfaces (TP2 et TP4).
- Les résultats obtenus de la version précédente pour *Aspergillus brasiliensis* (ex. *niger*) doivent être répétés afin de prendre en compte les nouvelles exigences de la morphologie des spores et le changement de substances interférentes.  
Les résultats obtenus de la version précédente pour les bactéries et *Candida albicans* peuvent être réutilisés.

- Conditions d'essai :

Conditions d'essai	Activité bactéricide sur des surfaces non poreuses sans action mécanique	Activité levuricide sur des surfaces non poreuses sans action mécanique	Activité fongicide sur des surfaces non poreuses sans action mécanique
Microorganisme d'essai <b>obligatoires</b>	<i>Enterococcus hirae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus brasiliensis</i> (précédemment <i>A. niger</i> )
Température d'essai <b>obligatoire</b>	Entre (18±1) °C et (25±1) °C		
<b>additionnelle</b>	(4±1) °C ; (10±1) °C ; (40±1) °C		
Temps de contact <b>obligatoire</b>	5 min±10 s	15 min±10 s	
<b>additionnel</b>	1 min±5 s ; 15 min±10 s ; 30 min±10 s ; 60 min±10 s	1 min±5 s ; 5 min±10 s ; 30 min±10 s ; 60 min±10 s	
Substance interférente : <b>obligatoire</b> conditions de propreté	0,3 g/l d'albumine bovine pour <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus hirae</i> et <i>Escherichia coli</i> ; 8,5 g/l de lait écrémé pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,3 g/l d'albumine bovine pour <i>C. albicans</i>	0,3 g/l d'albumine bovine pour <i>C. albicans</i> et <i>A. brasiliensis</i>
conditions de saleté	3,0 g/l d'albumine bovine pour <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus hirae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Escherichia coli</i>	3,0 g/l d'albumine bovine pour <i>C. albicans</i>	3,0 g/l d'albumine bovine pour <i>C. albicans</i> et <i>A. brasiliensis</i>
Réduction logarithmique en comparaison d'un témoin eau (log décimaux)	≥ 4 Log	≥ 3 Log	≥ 3 Log

Les temps de contact obligatoires pour les désinfectants de surface énoncés au Tableau 1 ont été choisis pour permettre de comparer les conditions normalisées. Les conditions d'essai décrites dans la norme ne doivent pas être considérées comme des exigences pour l'utilisation d'un produit, ni comme des exigences pour l'évaluation et l'acceptation des produits par les autorités réglementaires. Le temps de contact recommandé pour l'utilisation du produit est de la responsabilité du fabricant.

Le cas échéant (usages spécifiques), une activité bactéricide/levuricide/fongicide spécifique additionnelle doit être déterminée dans d'autres conditions de durée, température, souches et substances interférentes supplémentaire afin de prendre en compte les conditions d'utilisation spécifiques envisagées.

- **Référence de la norme**
- **Identification du laboratoire et du fabricant**
- **Identification de l'échantillon :**
  - o Nom du produit
  - o Numéro de lot
  - o Date de péremption
  - o Date de livraison
  - o Conditions de stockage
  - o Diluant pour l'utilisation
  - o Aspect du produit
- **Dates d'essai**

## 1- Activité bactéricide

- Les produits soumis à l'essai doivent présenter au moins l'activité bactéricide spécifiée dans l'EN 13727 ou EN 1276 en vigueur.
- Cette norme ne peut être utilisée pour évaluer l'activité des produits vis-à-vis des mycobactéries
- **Température** de l'essai :
  - obligatoire : entre  $(18 \pm 1)^\circ\text{C}$  et  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ .
  - additionnelles :  $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,  $(10 \pm 1)^\circ\text{C}$  ou  $(40 \pm 1)^\circ\text{C}$ .
- **Temps de contact** de l'essai :
  - obligatoire : 5 min  $\pm$  10 sec.
  - additionnels : 1 min, 15 min, 30 min et 60 min  $\pm$  10 sec.

Le produit doit être obligatoirement testé entre  $(18 \pm 1)^\circ\text{C}$  et  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ , pendant un temps de contact de 5 min  $\pm$  10 sec, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.

ProdHyBase<sup>®</sup> tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé dans les conditions de température et de temps de contact obligatoires à condition que le temps de contact reste inférieur à 60 min.

Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

### ▪ Souches testées :

▪ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC	15442
	CIP	103467
	DSM	939
	NCIB	10421
▪ <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC	6538
	CIP	4.83
	DSM	799
	NCTC	10788
	NCIB	9518
▪ <i>Escherichia coli</i>	ATCC	10536
	CIP	54127
	DSM	682
	NCTC	10418
	NCIMB	8879
▪ <i>Enterococcus hirae</i>	ATCC	10541
	CIP	5855
	DSM	20160
	NCIMB	8191

- Température d'incubation :  $36-37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  (garder la même T° tout le test)
- **Substances interférentes** (au final lors de l'essai) :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
    1. Pour les *Pseudomonas* : lait écrémé 8,5 g/L (0.85%) dans les conditions de propreté uniquement.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L.

- **Prise d'essai** pour les produits solides : au moins  $1 \text{ g} \pm 10 \text{ mg}$ .
- **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).
- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire
- Concentrations testées : au moins trois concentrations dont une concentration active ( $\geq 4$  log) et une concentration inactive ( $< 4$  log). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.
- **Surface d'essai** : disques en acier inoxydable (conformes à la norme EN 10088).
- **Temps de séchage** de l'inoculum sur la surface d'essai  $\leq 60$  min.
- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.
- **Pour chaque souche d'essai**, vérifier que :
  - $V_c$  est compris entre 14 et 330 UFC/mL.
  - $6,57 \leq \lg N \leq 7,10$
  - $\lg N_c \geq 6,27$
  - $NC > 0,5 N_c$
  - $NT > 0,5 N_c$
  - $N_{ts} < 100$  UF/mL pour les concentrations actives. Pour les concentrations inactives,  $N_{ts}$  peut ne pas être dénombrable.
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : entre 5 et 15 (pour N)
    - N = logarithme du nombre d'UFC pour 0,05 mL de suspension d'essai.
    - $N_c$  = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai pour le témoin eau.
    - $N_d$  = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai pour concentrations microbicides.
    - NC = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai du témoin d'absence de toxicité du neutralisation.
    - NT = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai de validation de la dilution neutralisation.
    - $N_{ts}$  = nombre d'unités formant colonies restant sur la surface d'essai.
- **Réduction logarithmique** de la viabilité (valeur microbicide ME ) : Valeur  $ME = N_c - N_d$   
 $ME \geq 4$

## 2- Activité fongicide

- Les produits soumis à l'essai doivent présenter au moins l'activité fongicide (levuricide) spécifiée dans l'EN 13624 ou EN 1650 en vigueur.
- **Température de l'essai** :
  - obligatoire : entre  $(18 \pm 1)^\circ\text{C}$  et  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ .
  - additionnelles :  $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,  $(10 \pm 1)^\circ\text{C}$  ou  $(40 \pm 1)^\circ\text{C}$ .
- **Temps de contact** de l'essai :
  - Obligatoire :  $15 \text{ min} \pm 10 \text{ sec}$ .
  - additionnelles : 1 min, 5 min, 30 min et  $60 \text{ min} \pm 10 \text{ sec}$ .

- **Souches testées :**  
**Levuricide :** *Candida albicans*  
**Fongicide :** *Candida albicans* + *Aspergillus brasiliensis*
  - *Candida albicans*

ATCC	10231
IP	4872
DSM	1386
CBS	6431
NCTC	3179
  - *Aspergillus brasiliensis*  
(ex. niger)

ATCC	16404
DSM	1387
CBS	733.88
IP	1431.83
NCTC	2275
CMI	149007
- **Température d'incubation :** 30°C ± 1°C
- **Qualité des conidiospores :** sinon refus de la suspension (et de l'essai)
  - 75 % de conidiospores épineuses
  - Absence de conidiospores germées
  - Absence de fragments de mycélium (possibilité d'une filtration suppl. pour les éliminer)
- **Substances interférentes** (au final lors de l'essai) :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L.
  - Lors de substances interférentes additionnelles, discuter au cas par cas en fonction de l'intérêt et faire figurer dans « Autre(s) référence(s) à une norme ».
- **Prise d'essai** pour les produits solides : au moins 1 g ± 10 mg.
- **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).
- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire
- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active ( $\geq 3$  log) et une concentration inactive ( $< 3$  log). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.
- **Surface d'essai** (si précisée sur le rapport d'essai) : disques en acier inoxydable
- **Temps de séchage** de l'inoculum sur la surface d'essai  $\leq 60$  min.
- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.
- **Pour chaque souche d'essai**, vérifier que :
  - $V_c$  *Candida albicans* est compris entre 14 et 330 UFC/mL.
  - $V_c$  *Aspergillus brasiliensis* est compris entre 14 et 165 UFC/mL.
  - $5,57 \leq \lg N \leq 6,10$
  - $\lg N_c \geq 5,27$

- $NC > 0,5 N_c$
  - $NT > 0,5 N_c$
  - $N_{ts} < 100$  UF/mL pour les concentrations actives. Pour les concentrations inactives,  $N_{ts}$  peut ne pas être dénombrable.
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : entre 5 et 15 (pour N)
    - $N$  = logarithme du nombre d'UFC pour 0,05 mL de suspension d'essai.
    - $N_c$  = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai pour le témoin eau.
    - $N_d$  = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai pour l'essai avec les désinfectants.
    - $NC$  = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai du témoin de neutralisation.
    - $NT$  = logarithme du nombre d'UFC par surface d'essai de neutralisation.
    - $N_{ts}$  = nombre d'unités formant colonies restant sur la surface d'essai.
- **Réduction logarithmique** de la viabilité (valeur microbicide ME ) : Valeur  $ME = N_c - N_d$   
 $ME \geq 3$

**Dispositifs médicaux par immersion**

Les normes suivantes sont prises en compte pour :

- les produits pour traitement des dispositifs médicaux par immersion,
- les lingettes pour DM de classe II,
- les produits pour la désinfection par pulvérisation des surfaces destinées aux surfaces des DM de classe II,
- les détergents-désinfectants et désinfectants pour traitement des surfaces destinées aux surfaces des DM de classe II.

**NF EN 14561 / NF T 72-602** (Mars 2007)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de porte-germe pour l'évaluation de l'activité bactéricide pour instruments utilisés en médecine humaine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

- **Température** de l'essai :
  - obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - additionnelles : au choix mais max. 60°C (écart admis pour chaque température ± 1°C).
- **Temps de contact** de l'essai :
  - Obligatoire : 60 min ± 10 s.
  - Additionnels : 5 min, 15 min ou 30 min ± 10 s.

Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 60 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.

ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 60 min à condition que le temps de contact reste inférieur à 60 min.

Ne signaler pour chaque température que le temps de contact minimal requis pour l'obtention d'une activité conforme à la norme.

- **Souches testées :**
  - *Pseudomonas aeruginosa*

ATCC	15442
CIP	103467
DSM	939
NCIMB	10421
  - *Staphylococcus aureus*

ATCC	6538
CIP	4.83
DSM	799
NCTC	10788
NCIMB	9518
  - *Enterococcus hirae*

ATCC	10541
CIP	58.55
DSM	3320
NCIMB	8192

- **Température d'incubation** des souches testées : 36-37°C ± 1°C

- **Substances interférentes** (au final lors de l'essai) :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + érythrocytes de mouton 3 mL/L.
  - Lors de substances interférentes additionnelles, discuter au cas par cas en fonction de l'intérêt et à faire figurer dans « Autre(s) référence(s) à des tests normalisés ou labels ».

- **Prise d'essai** pour les produits solides au moins 1 g +/- 10 mg.
- **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).  
Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.
- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un flocculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 14561 / conditions de propreté 20°C – 15 min – 2 % (flocculat).
- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active ( $\geq 5$  lg) et une concentration inactive ( $< 5$  lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués sur moins de trois concentrations et ceux pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation ou de la filtration est validé.
- **Surfaces d'essai** : Porte-germes en verre (verre dépoli sur une face et de 15 mm x 60 mm x 1 mm).
- **Temps de séchage** de l'inoculum sur le porte-germes  $\leq 60$  min.
- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.
- **Répétition recommandée de l'essai** : avec l'organisme d'essai limitant (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 5 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne).
- **Pour chaque souche d'essai**, vérifier que :
  - $N_a$  est compris entre 140 et 3300 UFC/mL
  - $V_c$  est compris entre : 14 et 330 UFC/mL
  - $N$  est compris entre  $1,5 \times 10^9$  et  $5,0 \times 10^9$  UFC/mL ( $9,17 \leq \lg N \leq 9,70$ )
  - $N_w$  est compris entre  $1,4 \times 10^7$  UFC / mL et  $0,05 \times N$  [ $7,15 \leq \lg N_w \leq (\lg N - 1,3)$ ]
  - $N_{v0}$  est compris entre 30 et 160 UFC/mL ( $3,0 \times 10^1$  et  $1,6 \times 10^2$ )
  - $N_v$  est compris entre  $3,0 \times 10^2$  et  $1,6 \times 10^3$  UFC/mL
  - $A, B, C \geq 0,5 N_{v0}$
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.
  - Si une au moins des valeurs de  $V_c$  est dans la plage de 14 à 330 pour trois dilutions successives, l'essai n'est pas valable. (exigence en phase de test)
    - $V_c$  = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
    - $N$  = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
    - $N_v$  = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
    - $N_{v0}$  = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0).
    - $N_w$  (« témoin eau ») = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le diluant du produit, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.
    - $N_a$  = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le produit à la concentration testée, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.
    - $A$  = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact.

- B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant après 5 min.
- C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.

– **Réduction** du nombre de colonies (ou cellules viables) :

$$R = N_w / N_a \text{ ou } \lg(R) = \lg(N_w) - \lg(N_a)$$

$$\lg(R) \geq 5 \lg(\text{ou } \lg R \geq 5).$$

**NF EN 14562 / NF T 72-206** (Septembre 2006)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de porte-germe pour l'évaluation de l'activité fongicide pour instruments utilisés en médecine humaine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

- Cette norme peut être validée complètement (fongicide) ou uniquement pour le niveau de levuricide. PHB accepte une norme de fongicide passée en 2 parties (2 dates ou 2 laboratoires différents) à condition qu'il s'agisse de la même version de la norme.
- **Température** de l'essai :
  - Obligatoire : 20°C ± 1°C.
  - Additionnelles : au choix mais sans dépasser 60°C (écart admis pour chaque température ± 1°C).
- **Temps de contact** de l'essai :
  - Obligatoire : 60 min ± 10 s.
  - Additionnels : 5 min, 15 min ou 30 min ± 10 s.

Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 60 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.

ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 60 min à condition que le temps de contact reste inférieur à 60 min.

▪ **Souches testées :**

**Fongicide** (test sur *Candida albicans* et sur *Aspergillus brasiliensis* (ex niger)).

**Levuricide** (test sur *Candida albicans* uniquement).

▪ <i>Candida albicans</i>	ATCC	10231
	CIP	48.72
	DSM	1386
	CBS	6431
▪ <i>Aspergillus niger</i>	ATCC	16404
	CIP	1431.83
	DSM	1988
	CBS	733.88
	IMI	149007

- **Température d'incubation** des souches testées : 30°C +/- 1°C.
- **Substances interférentes** (au final lors de l'essai) :
  - Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
  - Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + érythrocytes de mouton 3 mL/L.
  - Lors de substances interférentes additionnelles, discuter au cas par cas en fonction de l'intérêt et à faire figurer dans « Autre(s) référence(s) à des tests normalisés ou labels ».
- **Prise d'essai** pour les produits solides, l'échantillon doit peser au moins 1 g +/- 10 mg.

- **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).  
Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.
- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 14562 / levuricide / conditions de propreté 20°C – 15 min – 2 % (floculat).
- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active ( $\geq 4$  lg) et une concentration inactive ( $< 4$  lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.
- **Surfaces d'essai** : Porte-germes en verre (verre dépoli sur une face et de 15 mm x 60 mm x 1 mm).
- **Temps de séchage** de l'inoculum sur le porte-germes  $\leq 60$  min.
- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.
- **Répétition recommandée de l'essai** : avec l'organisme d'essai limitant (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 4 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne).
- **Pour chaque souche d'essai, vérifier que** :
  - $V_c$  est compris entre : 14 et 330 UFC/mL pour *Candida* et 14 et 165 UFC / mL pour *Aspergillus*
  - $N_a$  est compris entre 140 et 3300 UFC/mL pour *Candida* et 140 et 165 UFC / mL pour *Aspergillus*
  - $N$  est compris entre  $1,5 \times 10^8$  et  $5,0 \times 10^8$  UFC/mL ( $8,17 \leq \lg N \leq 8,70$ )
  - $N_w$  est compris entre  $1,4 \times 10^6$  UFC / mL et  $0,05 \times N$  [ $6,15 \leq \lg N_w \leq (\lg N - 1,3)$ ]
  - $N_{v0}$  est compris entre 30 et 160 UFC/mL ( $3,0 \times 10^1$  et  $1,6 \times 10^2$ )
  - $N_v$  est compris entre  $3,0 \times 10^2$  et  $1,6 \times 10^3$  UFC/mL
  - $A, B, C \geq 0,5 N_{v0}$
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.
  - Si une au moins des valeurs de  $V_c$  est dans la plage de 14 à 330 UFC / mL pour *Candida* et 14 et 165 UFC / mL pour *Aspergillus* pour trois dilutions successives, l'essai n'est pas valable. (exigence en phase de test)
    - $V_c$  = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
    - $N$  = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
    - $N_v$  = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
    - $N_{v0}$  = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0).
    - $N_w$  (« témoin eau ») = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le diluant du produit, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.
    - $N_a$  = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le produit à la concentration testée, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.
    - $A$  = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact.

- B = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant après 5 min.
- C = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.

– **Réduction** du nombre de colonies (ou cellules viables) :

$$R = N_w / N_a \text{ ou } \lg(R) = \lg(N_w) - \lg(N_a)$$

$$\lg(R) \geq 4 \lg(\text{ou } \lg R \geq 4).$$

**NF EN 14563 / NF T 72-246** (Février 2009)

Désinfectants et antiseptiques chimiques. Essai quantitatif de porte-germe pour l'évaluation de l'activité mycobactéricide ou tuberculocide des désinfectants chimiques utilisés pour instruments en médecine humaine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

– **Température** de l'essai :

- Obligatoire : 20°C ± 1°C.
- Additionnelles : au choix mais sans dépasser 60°C (écart admis pour chaque température ± 1°C).

– **Temps de contact** de l'essai :

- Obligatoire : 60 min ± 10 s.
- Additionnelles : 5 min, 15 min ou 30 min ± 10 s.

Le produit doit être obligatoirement testé à une température de 20°C, pendant un temps de contact de 60 min, bien qu'il ne soit pas exigé qu'il soit actif dans ces conditions, s'il est actif à une autre température et/ou un autre temps de contact.

ProdHyBase® tolère toutefois les essais effectués à des températures et des temps de contact additionnels sans qu'aucun essai n'ait été réalisé à 20°C, 60 min à condition que le temps de contact reste inférieur à 60 min.

▪ **Souches testées :**

Mycobactéricidie :

- *Mycobacterium avium* ATCC 15769  
DSM 44157  
CIP 105415
- *Mycobacterium terrae* ATCC 15755  
DSM 43227  
CIP 104321

Tuberculocidie :

- *Mycobacterium terrae* ATCC 15755  
DSM 43227  
CIP 104321

– **Température d'incubation** des souches testées : 36-37°C ± 1°C

– **Substances interférentes** (au final lors de l'essai) :

- Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
- Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + érythrocytes de mouton 3 mL/L.
- Lors de substances interférentes additionnelles, discuter au cas par cas en fonction de l'intérêt et à faire figurer dans « Autre(s) référence(s) à une norme ».

– **Prise d'essai** : Pour les produits solides, l'échantillon doit peser au moins 1 g +/- 10 mg.

– **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi → eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).

Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.

- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire car le dénombrement des microorganismes est alors difficile et peu fiable. Dans ce cas, l'indiquer dans le champ en texte libre. Ex. NF EN 14563 / mycobactéricidie / conditions de propreté 20°C – 15 min – 2 % (floculat).
- **Concentrations testées** : au moins trois concentrations, dont une concentration active ( $\geq 4$  lg) et une concentration inactive ( $< 4$  lg). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.
- **Surfaces d'essai** : Porte-germes en verre (verre dépoli sur une face et de 15 mm x 60 mm x 1 mm).
- **Temps de séchage** de l'inoculum sur le porte-germes  $\leq 60$  min.
- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.
- **Répétition recommandée de l'essai** : avec l'organisme d'essai limitant (organisme le moins sensible) (moyenne des résultats devant démontrer une réduction d'au moins 4 lg avec obligation de calcul et d'enregistrement de la moyenne).
- **Pour chaque souche d'essai, vérifier que** :
  - $V_c$  est compris entre : 14 et 330 UFC/mL
  - $N_a$  est compris entre 140 et 3300 UFC/mL
  - $N$  est compris entre  $1,5 \times 10^9$  et  $5,0 \times 10^9$  UFC/mL ( $9,17 \leq \lg N \leq 9,70$ )
  - $N_w$  est compris entre  $1,4 \times 10^6$  UFC / mL et  $0,05 \times N$  soit  $[6,15 \leq \lg N_w \leq (\lg N - 1,3)]$
  - $N_{v0}$  est compris entre 30 et 160 UFC/mL ( $3,0 \times 10^1$  et  $1,6 \times 10^2$ )
  - $N_v$  est compris entre  $3,0 \times 10^2$  et  $1,6 \times 10^3$  UFC/mL
  - $A, B, C \geq 0,5 N_{v0}$
  - Contrôle des dénombrements obtenus par moyenne pondérée : le quotient entre deux dilutions successives doit être compris entre 5 minimum et 15 maximum.
  - Si une des valeurs de  $V_c$  en double ou les deux dans au moins trois dilutions consécutives de  $N_a$  (y compris  $N_a^0$ ) se situe dans les limites de dénombrement entre 14 à 330 UFC / mL, la totalité de l'essai n'est pas valable. (exigence en phase de test).
    - $V_c$  = nombre d'unités formant colonie dénombrées par échantillon de 1,0 mL (seules valeurs déterminées par dénombrement. Les autres valeurs sont calculées).
    - $N$  = nombre de cellules par mL dans la suspension d'essai.
    - $N_v$  = nombre de cellules par mL dans la suspension de validation.
    - $N_{v0}$  = nombre de cellules par mL dans les mélanges A, B et C au début du temps de contact (temps 0).
    - $N_w$  (« témoin eau ») = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le diluant du produit, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.
    - $N_a$  = nombre de survivants par mL dans le mélange d'essai ayant été en contact avec le produit à la concentration testée, à l'issue du temps de contact et avant neutralisation.
    - $A$  = nombre de survivants dans le témoin des conditions expérimentales A à l'issue du temps de contact.
    - $B$  = nombre de survivants dans le témoin du neutralisant après 5 min.
    - $C$  = nombre de survivants dans le mélange de validation de la méthode après 30 min.
- **Réduction du nombre de colonies (ou cellules viables)** :
  - $R = N_w / N_a$  ou  $\lg(R) = \lg(N_w) - \lg(N_a)$
  - $\lg(R) \geq 4$  (ou  $\lg R \geq 4$ ).

**NF EN 17111 / T 72-207** (octobre 2018)

Désinfectants chimiques et antiseptiques — Essai quantitatif de porte-germe pour l'évaluation de l'activité virucide pour instruments utilisés en médecine — Méthode d'essai et exigences (phase 2, étape 2)

La présente Norme européenne décrit une méthode d'essai de porte-germe pour déterminer si un désinfectant chimique destiné à être utilisé sur des instruments (instruments chirurgicaux, matériel d'anesthésie, endoscopes) présente ou non une activité virucide dans les domaines décrits dans le domaine d'application.

Le présent document s'applique aux produits utilisés en médecine pour la désinfection des instruments par immersion.

▪ **Conditions d'essai minimales et additionnelles :**

Conditions d'essai	Activité virucide contre les virus enveloppés <sup>b</sup> (Produits de nettoyage préalable avec un agent nettoyant/désinfectant combiné)	Activité virucide <sup>a</sup> (Désinfection de dispositifs médicaux lorsque la température est < 40 °C)	Activité virucide (Désinfection de dispositifs médicaux lorsque la température est ≥ 40 °C)
<b>Spectre minimal de microorganismes d'essai</b>	virus modifié de la vaccine Ankara ou virus de la vaccine, souche Elstree	Adénovirus et norovirus murin	parvovirus murin
<b>Additionnel</b>	Tout microorganisme d'essai pertinent		
<b>Température d'essai</b>	conformément aux recommandations du fabricant, mais à/entre		
	20 °C	20 °C et < 40 °C	≥ 40 °C et 70 °C
<b>Temps de contact</b>	conformément aux recommandations du fabricant, mais pas supérieur à		
	60 min	60 min	60 min
<b>Substance interférente</b>			
conditions de propreté	0,3 g/l de solution d'albumine bovine et/ou	0,3 g/l de solution d'albumine bovine et/ou	0,3 g/l de solution d'albumine bovine et/ou
conditions de saleté	3,0 g/l de solution d'albumine bovine plus 3,0 ml/l d'érythrocytes de mouton lavés	3,0 g/l de solution d'albumine bovine plus 3,0 ml/l d'érythrocytes de mouton lavés	3,0 g/l de solution d'albumine bovine plus 3,0 ml/l d'érythrocytes de mouton lavés
<b>Conditions additionnelles<sup>c</sup></b>	toute substance pertinente	toute substance pertinente	toute substance pertinente
<p><sup>a</sup> Le poliovirus (tel qu'utilisé dans l'essai de suspension correspondant) ne peut pas être utilisé pour les surfaces, en raison de problèmes de séchage. Pour pouvoir prétendre à une activité virucide, le produit doit répondre aux exigences de la norme EN 14476 avec le poliovirus, l'adénovirus et le norovirus murin.</p> <p><sup>b</sup> L'essai concernant « l'activité virucide contre les virus enveloppés » couvre uniquement l'ensemble des virus enveloppés (Annexe A).</p> <p><sup>c</sup> En ce qui concerne les conditions additionnelles, la concentration ainsi définie peut être inférieure à celle obtenue dans les conditions d'essai minimales.</p>			

▪ **Souches testées :**

a) Virus à ADN enveloppé : Virus de la vaccine, souche Ankara (MVA) modifiée, ATCC VR-1508 ou virus de la vaccine, souche Elstree, ATCC VR-1549.

b) Virus à ADN non enveloppé : Norovirus murin, souche S99 Berlin.

c) Virus à ADN non enveloppé : Adénovirus type 5, souche Adénoïd 75, ATCC VR-5. Parvovirus murin, virus MVM, souche Crawford, ATCC VR-1346.

▪ Lignée(s) cellulaire(s) :

- Le virus modifié de la vaccine Ankara ou le virus de la vaccine, souche Elstree, est multiplié dans des cellules BHK-21 (ATCC CCL-10) ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.
- L'adénovirus Type 5 est multiplié dans des cellules HeLa ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.
- Le norovirus murin est multiplié dans des cellules RAW 264.7 (ATCC TIB-71) ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.
- Le parvovirus murin est multiplié dans des cellules A9(ATCC CCL-1.4) ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.

Il est permis d'avoir recours à des virus d'essai additionnels.

▪ **Température d'essai** : conforme au tableau ci-dessus avec un IC= 1°C,

▪ **Température d'incubation** : 36-37°C ± 1°C, à condition que la T° soit la même pour toutes les étapes.

▪ **Dilution** du produit : eau dure.

Pour les produits prêts à l'emploi → eau bi-distillée ou eau p.p.i. (pour préparations injectables).

Pour les produits concentrés à dilution automatique utilisés pour la désinfection des générateurs de dialyse, les essais avec dilution en eau distillée sont tolérés.

▪ **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés. Si flocculat ou précipité, le mentionner dans le rapport.

▪ **Concentrations testées** : une concentration active ( $\geq 4$  log) et une non active ( $< 4$  log). La concentration active testée peut être le produit tel qu'il est fourni.

▪ **En conditions de saleté**, vérifier la présence d'un témoin viral avec de l'albumine bovine sérique sans érythrocytes (au moins dans les tableaux).

▪ **Validation de la méthode si :**

▪ **Suspension virale d'essai** a une  $DICT_{50} \geq 1.10^8$  /mL ( $\lg DICT_{50} \geq 8$ ) ou possède une concentration qui permet de déterminer une réduction de 4 lg du titre viral.

▪ **Essai de référence pour l'inactivation du virus** : un témoin du système d'essai utilisant les microorganismes d'essai doit être inclus, avec le glutardialdéhyde comme référence.

▪ La différence des titres, exprimés en logarithmes, entre le témoin eau (NW) et le virus d'essai utilisé lors de l'essai de référence pour l'inactivation du virus est  $\geq 4$  lg en 5 min.

▪ **La cytotoxicité de la solution d'essai du produit** n'affecte pas la morphologie et la croissance cellulaires ni la sensibilité au microorganisme d'essai dans les dilutions des mélanges d'essai qui sont nécessaires pour démontrer une réduction de 4 lg du titre viral ;

- **Le titrage comparatif du virus** sur les cultures cellulaires traitées avec des dilutions du mélange d'essai et en parallèle (c'est-à-dire ajout du tampon PBS uniquement) a pour résultat une différence  $< 1 \lg$  du titre viral ou perte  $< 25\%$  des cellules en monocouches et permettant de démontrer une réduction de  $4 \lg$  du titre viral.
  
- **Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité virucide** du désinfectant avec indication du mode opératoire de l'arrêt de l'action du produit : dilution à froid ou filtration, et du niveau de cytotoxicité. Différence maximale de titre avec la solution d'essai  $< 0,5 \lg$ .
  
- **Tableaux des résultats et présentation graphique** de tous les résultats avec témoin au formaldéhyde ou autre produit adéquat. ProdHyBase® tolère pour l'instant les PV qui ne comportent que les tableaux des résultats ou que les graphiques, dès l'instant où il est possible de retrouver l'ensemble des résultats.
  
- **Réduction des titres** : Le produit est virucide si  $\log (R) \geq 4 \lg$ .
  
- **Le rapport d'essai doit au minimum comporter les informations suivantes :**
  - Référence de la norme
  - Nom du laboratoire d'essai
  - Identification de l'échantillon
    - Nom du produit
    - Numéro de lot
    - Date Limite d'Utilisation
    - Fabricant / fournisseur
    - Date de livraison
    - Conditions de stockage
    - Composants actifs
    - Diluant recommandé
    - Aspect du produit
  
  - Conditions expérimentales
    - Date(s) de l'essai
    - Diluant utilisé
    - Concentrations d'essai du produit
    - Aspect du produit et de ses dilutions
    - Temps de contact et intervalle de confiance
    - T° d'essai et intervalle de confiance
    - Substances interférentes
    - Stabilité et aspect du mélange au cours du mode opératoire
    - T° d'incubation
    - Méthode de filtration
    - Identification de la source de la souche virale et nombre de passages
    - Mode opératoire pour arrêter l'action du produit
    - Lignées cellulaires (nom, source et nombre de passages, milieu de culture cellulaire)
  
  - Validation des résultats de l'essai de contrôle et d'évaluation
    - Titre de la suspension virale et Méthode de titrage
    - Inactivation maximale détectable du virus
    - Inactivation du virus lors de l'essai d'inactivation du virus de référence après 5 min
  
  - Présentation des résultats de l'essai pour évaluer l'activité virucide
    - Description

- Tableau des résultats (données brutes)
  - Titre viral [IC 95%]
  - Taux de réduction [IC 95%]
- Conclusion
- Lieu, date et signature

## **Mains**

**NF EN 1500 / NF T 72-502** (Juin 2013) (EN 1500 : Avril 2013)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Traitement hygiénique des mains par frictions. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

*La norme a été révisée dans le but de l'adapter à l'état de la science actuel, de corriger les erreurs et les ambiguïtés, d'harmoniser la structure et la terminologie par rapport aux autres essais du CEN/TC 216 existants ou en préparation et d'améliorer la lisibilité de la norme pour la rendre plus compréhensible. Les modifications techniques significatives suivantes ont été apportées depuis la dernière édition : neutralisation (5.5.1.2), le nombre de sujets (5.5.1.4), l'évaluation statistique (5.8). Les annexes ont été complètement révisées.*

*Les données obtenues à l'aide de la version précédente de l'EN 1500 peuvent toujours être utilisées si elles sont complétées par les données relatives à la neutralisation, les résultats supplémentaires obtenus pour les sujets supplémentaires et la nouvelle évaluation statistique de l'ensemble de données « mixtes » (anciennes et nouvelles). Il convient que les résultats supplémentaires soient de préférence obtenus dans le même laboratoire et avec des sujets n'ayant pas participé à l'étude précédente (« ancienne »). Si le neutralisant employé dans l'essai utilisant la version précédente n'a pas une activité neutralisante suffisante, il convient de réaliser un nouvel essai complet. Les modifications apportées au mode opératoire de l'Annexe A sont considérées comme n'ayant pas d'influence, ou une influence négligeable, sur les résultats.*

- Acceptée pour les produits ayant satisfait au préalable à une norme de bactéricidie de phase 2 étape 1, soit la NF EN 13727+A1 de 2013 (ou ultérieur).
- **Le rapport d'essai doit comporter au moins les informations suivantes :**
  - Référence de la norme + date
  - **Identification du laboratoire d'essai :** nom, adresse, nom et signature du responsable de l'essai, date de validation finale
  - **Identification de l'échantillon :**
    - nom du produit
    - numéro et date d'expiration (le cas échéant) du lot
    - nom du fabricant
    - date de livraison
    - conditions de stockage
    - diluant du produit recommandé par le fabricant
    - substance(s) active(s) et sa/leur concentration (facultatif)
    - aspect du produit
  - Conditions expérimentales :
    - **Dates de l'essai :**  
Vérifier que tous les essais sont effectués par tous les sujets, le même jour et dans des conditions environnementales comparables. Vérifier la randomisation en 2 groupes et le croisement des groupes.  
Pour les essais réalisés simultanément sur plusieurs produits, vérifier que l'essai est organisé en carré latin avec autant de groupes de sujets et autant de séries d'essai qu'il y a de produits : à la fin de l'essai chaque sujet doit avoir utilisé chaque produit + le produit de référence.,
    - **Nombre de sujets inclus :** 18 à 22 sujets de plus de 18 ans sains, Il doit être spécifié qu'ils ont les mains avec peau saine et sans coupure, ni érosion cutanée.
    - **Diluant** pour la solution d'essai du produit : eau dure ou eau distillée ou eau p.p.i
    - **T° d'essai :** 20°C ± 1°C
    - **Souche :** *Escherichia coli* K 12 :
      - NCTC 10538
      - NCIMB 10083
      - CIP 54.117

- **T° d'incubation** : 36-37°C ± 1°C.
- **Concentrations d'essai** du produit : pur
- **Aspect des dilutions** du produit ; noter en cas de floculation
- **Temps de contact** : 30 s ≤ t ≤ 60 s ± 5 s

- **Mode opératoire** :

La norme détaille la procédure suivante, qui peut être remplacée par la mention « selon la procédure de la NF EN 1500 »

**-Préalable**

*Nettoyer les mains pendant 1 min avec 5 mL de savon doux.*

*Rincer à l'eau courante.*

*Sécher soigneusement avec une serviette en papier propre pendant au moins 30 s.*

**-Contamination des mains**

*Tous les sujets plongent les mains jusqu'au milieu des métacarpiens dans le liquide de contamination pendant 5 s, les doigts écartés. Le bain est commun à tous les utilisateurs pendant 3H.*

*Laisser égoutter 30 s maximum.*

*Laisser sécher à l'air 3 min, position horizontale, doigts écartés avec mouvements de rotation afin d'éviter la formation de gouttelettes.*

**-Prélèvement initial**

*Frotter les extrémités digitales, pouces compris, pendant 1 min dans une boîte de Pétri contenant 10 ml de liquide de prélèvement (TSB) pour les prélèvements initiaux, TSB et neutralisant pour les autres*

*Une boîte différente pour chaque main.*

**-Traitement hygiénique des mains par friction DOIT ETRE PRECISE**

- Procédure de référence (RP) : 2 frictions de 3 mL – 30 s par friction (soit 60 s ± 5 s.) avec du 2-propanol à 60 % puis rinçage des doigts pendant 5 s.
- Procédure réalisée selon les indications du fabricant (PP) :  
Dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes », noter le nombre d'applications suivi du volume par application et de la durée de friction par application. Ex. « 2 applications de 1 mL – 30 s par application » *puis rinçage des doigts pendant 5 secondes (mention facultative).*

**- Prélèvement final**

*Frotter les extrémités digitales, pouces compris, pendant 1 min dans une boîte de Pétri.*

*Une boîte différente pour chaque main.*

« NOTE Compte tenu du mode opératoire normalisé de traitement hygiénique des mains par frictions (Annexe A), un temps de contact inférieur à 30 s ne peut pas être réalisé et vérifié. »

- **Neutralisation** : neutralisant validé à préciser. Seuls les neutralisants utilisant du TSB sont autorisés.  
Tous les détails relatifs à l'essai de validation du neutralisant (5.7.3) doivent être fournis (y compris les essais d'absence de toxicité) ;  
Le produit de référence est neutralisé par dilution uniquement.
- **Résultats d'essai** : tous les éléments ci-dessous doivent être présents
  - Dénombrement des cellules viables de la suspension de contamination (N) et technique de dénombrement
  - Description exacte de la réalisation de PP (5.5.3.3.3) : volume, temps de contact, fréquence d'application ;
  - Disponibilité de tous les résultats (tableaux des dénombrements) provenant d'au minimum 18 sujets. Tous les ensembles complets de résultats doivent servir dans une évaluation ultérieure. En cas d'essais groupés vérifier que l'essai en carré latin a été respecté.

- Pour RP et PP (Tableaux E.1 et E.2), les listes des résultats expérimentaux contenant les nombres de colonies observées sur les boîtes en tenant compte de la dilution respective du liquide de prélèvement avec les mentions signalant quels dénombrements sont utilisés pour les calculs ultérieurs ; Chaque tableau doit reprendre la date, l'organisme d'essai, le produit testé, le mode opératoire et la valeur de N.
  - Les moyennes globales des logarithmes des valeurs initiales de RP et PP doivent être au moins de 5,00.
  - Pour RP, il ne doit pas être observé plus de trois réductions logarithmiques inférieures à 3,00.
  - La différence absolue des différences moyennes entre les réductions logarithmiques de RP et PP du groupe RP→PP et du groupe PP→RP doit être inférieure à 2,00.
- Liste des valeurs logarithmiques traitées, c'est-à-dire les logarithmes décimaux (Tableau E.3) des moyennes gauche-droite et, le cas échéant, des dénombrements de cellules viables pondérés par ml de liquide de prélèvement, déduit des dénombrements de colonies marquées/soulignées. Cette liste contient les logarithmes des valeurs initiales et finales individuelles, ainsi que la réduction logarithmique pour chaque sujet de l'essai séparément pour RP et PP, les moyennes globales, les écarts-types et la séquence chronologique des modes opératoires de traitement hygiénique des mains par frictions [PP avant RP (PP->RP) ou inversement (RP->PP)] ;
- Liste démontrant le calcul des limites de confiance à 97,25 % unilatérales supérieures de Hodges-Lehmann (Tableau E.4a)) et un tableau montrant le tri et le calcul des limites de confiance supérieures Hodges-Lehmann (Tableau E.4b)) ;
- **Vérifier que :**
  - $V_c$  est compris entre 14 et 330 UFC/mL (Toutes les données expérimentales sont consignées sous la forme de valeurs VC. Une valeur VC est le nombre d'UFC dénombrées par échantillon de 1,0 ml.)
  - N est compris entre  $1,5 \times 10^8$  et  $5 \times 10^8$  UFC/mL ( $8,17 \leq \lg N \leq 8,70$ ) (N est le nombre de cellules par ml dans la suspension d'essai/de contamination)
  - $N_v$  est compris entre  $3 \times 10^2$  et  $1,6 \times 10^3$  UFC/mL ( $N_v$  est le nombre de cellules par ml dans la suspension de validation)
  - $N_{v0}$  est compris entre 30 et 160 UFC/mL ( $N_{v0}$  est le nombre de cellules par ml dans les mélanges B et C au début du temps de contact)
  - $N_{vB}$  est compris entre  $3 \times 10^4$  et  $1,6 \times 10^5$  UFC/mL ( $N_{vB} = 1\ 000\ c/n$ )
  - $B \geq 0,0005\ N_{vB}$  (Témoin du neutralisant)
  - $C \geq 0,5\ N_{v0}$  (Validation de la méthode)
  - Pour les dénombrements moyens pondérés : le quotient est compris entre 5 et 15.
- Remarques particulières ;
- Conclusion ;
- Lieu, date et signature identifiée.

– **Statistiques**

La vérification de non-infériorité doit être appliquée aux réductions logarithmiques de chaque réduction moyenne individuelle du nombre de micro-organismes tests obtenue avec le produit comparativement à celle de la référence.

**Contrairement à la version précédente de la norme, un test est requis**

- La méthode à utiliser peut être manuelle ou informatisée : Le test utilisé est le test de Hodges-Lehmann à 97,5 %.
- Un tableau des différences moyennes par paire est composé. Les différences des réductions logarithmiques individuelles de RP – PP du Tableau E.4a) sont triées dans la deuxième colonne et dans l'en-tête, dans l'ordre décroissant :

- La médiane est comprise entre la 10ème et la 11ème valeur :  $[-0,14 + (-0,14)]/2 = -0,14$ . Les petits exposants représentent les rangs.
- Les différences moyennes par paire qui ne dépassent pas la valeur médiane (ici : -0,14) sont calculées et triées par ordre décroissant.
- Avec le tableau de Wilcoxon, ce tableau permet de calculer la limite de confiance supérieure unilatérale.
- Il faut ensuite comparer la limite de confiance supérieure des différences obtenue à la marge d'infériorité. Si la limite de confiance supérieure est supérieure ou égale à la *marge d'infériorité*, fixée à 0,6 unités logarithmique, l'hypothèse zéro (H0) de l'infériorité ne peut pas être rejetée. Sinon, H0 est rejetée et le produit soumis à l'essai est supposé non inférieur.

D'après le Tableau E.5 des valeurs critiques de l'essai de Wilcoxon des comparaisons d'observations appariées avec classement par rangs, à l'entrée  $n=20$ , pour un niveau de signification unilatéral  $p = 0,025$ , on obtient la valeur critique 52. Par conséquent,  $c = 52 + 1 = 53$ . Les différences par paire sont triées dans l'ordre décroissant.

**La 53ème valeur est 0,11.** La limite de confiance unilatérale supérieure de Hodges-Lehmann à 97,5 % pour la différence de réduction logarithmique entre RP et PP est donc de 0,11 – valeur inférieure à la marge d'infériorité convenue de 0,6. Par conséquent, l'hypothèse de l'infériorité de PP est rejetée, et il peut être conclu que la préparation soumise à l'essai PP n'est pas inférieure à RP.

Tableau E.3 — Liste des valeurs logarithmiques calculées (moyennes des mains gauche et droite) et des réductions logarithmiques

Sujets	Séquence chronologique (5.5.1.5, 5.6.2.6)	Traitement de mains par frictions de référence (RP) (2-Propanol à 60 % v/v)			Traitement de mains par frictions avec le produit soumis à l'essai (PP)		
		Ig valeurs initiales	Logarithmes des valeurs finales	Ig R	Logarithmes des valeurs initiales	Logarithmes des valeurs finales	Ig R
1	RP->PP	7,11	1,93	5,18	6,90	1,15	5,75
2	PP->RP	6,47	2,92	3,55	6,45	1,24	5,22
3	RP->PP	6,73	3,63	3,10	6,33	2,25	4,08
4	PP->RP	6,54	2,03	4,51	6,99	1,77	5,22
5	PP->RP	7,00	2,19	4,81	7,10	2,15	4,95
6	PP->RP	6,92	1,69	5,23	7,12	2,13	5,00
7	RP->PP	6,64	2,01	4,63	6,25	2,22	4,03
8	RP->PP	6,42	2,93	3,49	6,59	3,08	3,51
9	PP->RP	7,54	2,65	4,89	7,21	2,17	5,04
10	RP->PP	6,57	1,66	4,91	6,61	1,93	4,68
11	PP->RP	5,94	2,18	3,76	5,41	1,64	3,77
12	PP->RP	7,12	3,48	3,64	6,85	2,86	3,99
13	PP->RP	6,67	1,30	5,37	6,76	1,66	5,09
14	PP->RP	7,05	3,52	3,53	6,18	3,96	2,22
15	PP->RP	7,01	4,04	2,97	6,97	3,50	3,47
16	RP->PP	6,92	2,49	4,43	6,80	2,23	4,57
17	RP->PP	6,83	2,58	4,25	7,09	2,66	4,43
18	RP->PP	6,23	2,29	3,93	7,03	3,62	3,41
19	RP->PP	6,93	1,72	5,21	6,99	1,24	5,75
20	RP->PP	6,93	3,00	3,94	7,54	3,56	3,98
X	Global	6,78	2,51	4,27	6,76	2,35	4,41
s		0,36	0,75	0,75	0,47	0,84	0,89
NN		20	20	20	20	20	20
X	RP->PP	6,73	2,42	4,31	6,81	2,39	4,42
s		0,27	0,63	0,70	0,38	0,85	0,81
NN		10	10	10	10	10	10
X	PP->RP	6,83	2,60	4,23	6,70	2,31	4,40
s		0,44	0,88	0,83	0,56	0,87	1,00
NN		10	10	10	10	10	10
Ig R =	Réduction du logarithme décimal			X =	Moyenne		
Séquence	RP->PP : première RP, deuxième PP			s =	Écart-type		
Séquence	PP->RP : première PP, deuxième RP			NN =	Nombre de valeurs (= sujets)		

**NF EN 12791 / NF T 72-503** (Mars 2016)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Désinfection chirurgicale des mains. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

Remplace l'EN 12791 version 2005.

*Les données obtenues en utilisant la précédente version de l'EN 12791 peuvent encore être utilisées, si elles sont complétées par les données sur la neutralisation, par les résultats complémentaires découlant du nombre plus élevé de volontaires nécessaire et par une nouvelle évaluation statistique sur l'ensemble des données (anciennes données et nouvelles données). Il convient de préférence que les résultats complémentaires soient obtenus dans le même laboratoire et sur des volontaires n'ayant pas participé à l'étude précédente (« ancienne » étude). Si le neutralisant utilisé lors de l'essai réalisé selon la précédente version ne présente pas une activité neutralisante suffisante, il convient d'effectuer un nouvel essai dans son intégralité.*

- Acceptée pour les produits ayant satisfait **au préalable** à une norme de bactéricidie de phase 2 étape 1, soit la NF EN 13727+A1 de 2013 ou + A2 de 2015.
- **Neutralisation** : Le produit soumis à essai doit être neutralisé au cours de l'essai. Un neutralisant approprié doit être défini avant de mener le mode opératoire d'essai. La validation de la neutralisation doit être effectuée conformément à l'EN 13727 et à l'EN 13624 (activité levuricide uniquement).
- **Lavage préalable des mains** avec un savon doux ou savon codex (au terme de la pharmacopée) pendant 1 minute.
- **Mode opératoire de référence** : frictions de 3 mL avec du 1-Propanol à 60 % pendant 3 min au total.
- **Procédure testée selon les indications du fabricant**
  - Temps de contact total compris entre 1 et 5 minutes
  - Données à reporter dans ProdHyBase :
    - En commentaires : Noter *Pour la désinfection chirurgicale des mains par friction* : le volume de produit, la durée totale des applications, le nombre de ces applications.
    - Dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes » : Noter le nombre d'applications suivi du volume par application et de la durée de friction par application. Ex. « 2 applications de 1 mL – 30 s par application ».
- **Nombre de sujets inclus** : 23 à 28 volontaires sains âgés de 18 ans au moins En cas d'essai simultané de plusieurs produits respecter les spécifications de la norme :
 

*Dans le cas d'un essai réalisé sur plusieurs produits à la fois, un plan expérimental en carré latin est utilisé avec autant de groupes de volontaires et autant de séries d'essai qu'il y a de produits (propan-1-ol de référence inclus). Seuls les produits pour lesquels aucune neutralisation n'est nécessaire ou pour lesquels le même neutralisant peut être utilisé pour l'évaluation des valeurs finales peuvent être soumis à essai simultanément. À chaque série, tous les traitements de désinfection sont réalisés en parallèle. Au moins une semaine est nécessaire entre chaque série expérimentale par individu, ce qui permet la reconstitution de la flore normale de la peau. À la fin de l'ensemble des séries d'essais, chaque volontaire doit avoir utilisé une fois chaque produit soumis à l'essai, y compris le propan-1-ol.*
- **Utilisation de gants stériles** à usage chirurgical, en latex, non poudrés et sans agent antimicrobien (ou « selon le protocole de la norme »).

- **Disponibilité de tous les résultats** (tableaux des dénombrements) provenant d'au minimum 23 sujets et des résultats des calculs logarithmiques.
- **Essais réalisés en deux temps** : deux dates à 7 jours minimum d'intervalle pour permettre la reconstitution de la flore bactérienne avant inversion des deux groupes de sujets (mêmes dates sur les 2 tableaux de résultats). Les essais réalisés sur plus de deux jours sont acceptés si les dates sont les mêmes pour le mode opératoire de référence et pour le produit testé (donc mêmes dates sur les 2 tableaux de résultats) et qu'elles sont à au moins 7 jours d'intervalle. Les rapports d'essais, sur lesquels ne figurent pas les 2 dates, sont tolérés, si et seulement si ces rapports d'essais indiquent très clairement le plan d'expérimentation comprenant la description des deux temps avec changement de rôle entre les deux groupes de volontaires après un délai d'au moins une semaine entre les deux temps pour permettre la reconstitution de la flore normale de la peau.
- **Toutes les moyennes des valeurs initiales logarithmiques** (c'est à dire pour les effets immédiats et à 3 heures des modes opératoires de référence et d'essai, RP et PP) doivent être au moins égales à 3,5.
- **La différence absolue des moyennes des différences** entre les réductions logarithmiques de RP et de PP du groupe RP→PP (= RP avant PP) et du groupe PP→RP (= PP avant RP) doit être inférieure à 2,0, aussi bien pour l'effet immédiat que pour l'effet après 3 h.
- **Le contrôle des dénombrements par moyenne pondérée** doit respecter les règles ci-dessous : Pour les résultats calculés en faisant la moyenne pondérée de deux dilutions consécutives, le quotient ne doit pas être inférieur à 5 ni supérieur à 15. Pour un nombre de colonies en dessous de la limite inférieure, prendre le nombre limite inférieur (= 14). Pour un nombre de colonies supérieur à la limite supérieure [5.6.1b)], prendre le nombre limite supérieur (= 330).
- **Critères de validation de la norme** :
  - **Effet immédiat** :
    - Ni l'effet immédiat ni l'effet après 3 h du produit (PP) ne doivent être inférieurs aux effets respectifs du produit de référence, le propan-1-ol (RP).
    - Pour évaluer les performances de PP par rapport à RP, un test non paramétrique de non-infériorité, tel que celui de Hodges et Lehmann [2], doit être appliqué aux réductions logarithmiques obtenues pour l'ensemble de l'essai.
    - Le niveau de significativité est défini à  $P = 0,025$  (de manière unilatérale) pour l'évaluation statistique de l'effet immédiat et de l'effet après 3 h de PP. Pour les essais de non-infériorité, une marge de sécurité de  $0,75 \lg$  ( $0,85 \lg$  pour l'effet après 3 h) a été définie.
  - **Effet prolongé** : Pour revendiquer un « effet prolongé » complémentaire, la réduction logarithmique moyenne obtenue avec PP pour l'effet après 3 h doit être significativement plus importante que celle obtenue avec RP. Pour l'évaluation statistique d'un effet prolongé de PP, le test de Wilcoxon - dit de comparaison d'observations appariées avec classement par rangs des différences en tenant compte des signes - est utilisé à  $P = 0,01$ . Le test est utilisé de manière unilatérale

**Eléments à vérifier dans le rapport :**

Le rapport d'essai doit faire référence à la norme (EN 12791 2016).

Le rapport d'essai doit au minimum mentionner les informations suivantes :

a) l'identification du laboratoire d'essai ;

b) l'identification de l'échantillon :

- 1) le nom du produit ;
- 2) le numéro du lot et – si elle est disponible – la date d'expiration ;
- 3) le fabricant ;
- 4) la date de livraison ;
- 5) les conditions de stockage ;
- 6) le diluant recommandé par le fabricant ;
- 7) la ou les substances actives et leurs concentrations (facultatif) ;
- 8) l'aspect du produit ;

c) la validation et les contrôles :

- 1) la validation du neutralisant : tous les détails de l'essai de validation du neutralisant doivent être mentionnés (y compris les essais de non-toxicité) ;
- 2) le contrôle qualité du savon : les résultats des contrôles d'identité, de pureté et de la teneur en acides gras du savon doux doivent être mentionnés (non exigé par ProdHybase) ;
- 3) le contrôle qualité des gants chirurgicaux (voir 5.3.2.14) : les résultats de la vérification de l'absence de toute activité antimicrobienne doivent être mentionnés (non exigé par ProdHybase) ;

d) les conditions expérimentales :

- 1) la date de l'essai ;
- 2) le diluant utilisé pour la solution d'essai du produit (eau dure ou eau) ;
- 3) les concentrations d'essai du produit ;
- 4) l'aspect des dilutions du produit ;
- 5) le ou les temps de contact ;
- 6) la température d'incubation ;
- 7) le neutralisant ;

e) les résultats d'essai :

- 1) une description exacte de la façon dont le PP a été appliqué: volume (par exemple, 2 x 5 ml ou 3 x 3 ml), temps de contact, autres instructions d'utilisation (par exemple, « garder les mains mouillées pendant ... min »),
- 2) les listes des résultats expérimentaux pour RP et PP contenant les nombres de colonies décomptées sur gélose en tenant compte des dilutions respectives du liquide de prélèvement avec mention signalant quels sont les dénombrements utilisés pour les calculs ultérieurs et l'ordre chronologique des modes opératoires de friction des mains [PP avant RP (PP>RP) ou vice versa (RP>PP)] ;
- 3) une liste des valeurs logarithmiques calculées, c'est-à-dire des logarithmes décimaux et, si applicable, ceux issus des dénombrements des bactéries viables pondérés par ml de liquide de prélèvement tels qu'obtenus à partir des dénombrements de colonies repérés/soulignés. Cette liste contient les valeurs logarithmiques initiales et finales individuelles et la réduction logarithmique pour chaque personne, présentées séparément pour le RP et le PP, ainsi que les moyennes globales et les écarts-types ;
- 4) sauf si le calcul de Hodges-Lehmann a été effectué informatiquement, une liste démontrant les limites de confiance supérieures unilatérales à 97,25 % et un tableau présentant le tri et le calcul effectués pour les limites de confiance supérieures de Hodges-Lehmann;
- 5) dans le cas d'une revendication d'effet prolongé, les résultats de l'évaluation statistique selon le test de Wilcoxon - dit de comparaison d'observations appariées avec classement par rangs des différences en tenant compte des signes – à  $P = 0,01$ , doivent également être fournis ;

f) les remarques particulières ;

g) la conclusion ;

h) le lieu, la date et la signature identifiées.

**Surfaces**

**NF EN 16615 / NF T 72-615** (Mai 2015)

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 médical (essai à 4 zones). Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

- Norme signalée pour les produits destinés au traitement des surfaces (TP2 et TP4).  
Norme signalée pour les produits destinés au traitement des dispositifs médicaux (marquage CE).
- Les produits soumis à l'essai doivent présenter au moins l'activité bactéricide spécifiée dans la NF EN 13727+A1 de 2013 (ou ultérieur).  
Les produits soumis à l'essai doivent présenter au moins l'activité levuricide spécifiée dans la NF EN 13624 de 2013.

*Attention ce test s'intéresse au produit pour imbiber les lingettes ou aux lingettes PAE*

- **Référence de la norme**
- **Identification du laboratoire et du fabricant**
- **Identification de l'échantillon :**
  - o Nom du produit
  - o Numéro de lot
  - o Date de péremption
  - o Date de livraison
  - o Conditions de stockage
  - o Diluant pour l'utilisation
  - o Aspect du produit
- **Méthode d'essai :** préciser la méthode utilisée (dilution-neutralisation ou filtration sur membrane, à justifier)
- **Dates d'essai**
- **Température de l'essai :**
  - obligatoire : entre  $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$  et  $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ .
- **Temps de contact de l'essai :**
  - obligatoire : entre 1 min  $\pm$  5 s et 5 min  $\pm$  10 s ou 60 min  $\pm$  10 s.

Les produits destinés à désinfecter des surfaces susceptibles d'entrer en contact avec les patients et/ou le personnel médical et les surfaces fréquemment touchées par différentes catégories de personnes, ce qui entraîne la transmission de microorganismes aux patients, doivent être soumis à essai avec un temps de contact maximum de 5 min. La même règle s'applique lorsque le temps de contact du produit doit être réduit pour des raisons pratiques.

- **Souches testées :**
  - Bactéricidie**
    - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442  
CIP 103467  
DSM 939  
NCIMB 10421

- *Staphylococcus aureus*

ATCC	6538
CIP	4.83
DSM	799
NCTC	10788
NCIMB	9518
- *Enterococcus hirae*

ATCC	10541
CIP	58.55
DSM	3320
NCIMB	8192

→ **Température d'incubation** : 36 °C ± 1 °C ou 37 °C ± 1 °C

La même température (36 °C ou 37 °C) doit être utilisée pour toutes les incubations réalisées au cours des étapes de contrôle et de validation.

**Levuricide**

- *Candida albicans*

ATCC	10231
CIP	4872
DSM	1386
CBS	6431
NCTC	3179

→ **Température d'incubation** : 30 °C ± 1 °C

– **Substances interférentes** :

- Conditions de propreté : albumine bovine 0,3 g/L.
- Conditions de saleté : albumine bovine 3 g/L + 3 mL/L d'érythrocytes de mouton.

– **Diluant pour la suspension d'essai** :

- Diluant usage général : Solution tryptone-sel
- Diluant au glycérol (pour *Pseudomonas aeruginosa* **uniquement**) : Solution glycérol-tryptone-sel

– **Diluant pour la solution d'essai du produit** : eau dure sauf pour les produits prêt à l'emploi  
→ eau fraîchement distillée ou eau p.p.i. (pour préparation injectable).

**Prise d'essai pour les produits solides** : au moins 1 g ± 10 mg

– **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionné et qu'il n'est pas signalé d'apparition d'un précipité ou d'un floculat au cours du mode opératoire. En cas d'hétérogénéité visible, le signaler dans le rapport d'essai.

– **Concentrations testées** : sur **deux** concentrations au moins, dont une concentration active ( $\geq 5$  ou 4 log) et une concentration inactive ( $< 5$  ou 4 log). ProdHyBase® tolère toutefois les essais pour lesquels toutes les concentrations sont actives si le contrôle de la neutralisation est validé.

– **Surfaces d'essai** : PVC avec revêtement polyuréthane en surface. 20 x 50 cm.  
4 carrés de 5 x 5 cm espacés de 5 cm pour chaque concentration et pour le témoin eau.  
Témoins de séchage : **DC<sub>0</sub>** et **DC<sub>t</sub>** : 2 carrés de 5 x 5 cm dans une zone de 7 x 13 cm.

– **Lingette** : 17,5 x 28 cm. 55% pâte de bois, 45% PET. Utilisée 1 seule fois.  
Si autre lingette, description et poids d'imprégnation

– **Masse unitaire** : 12,1 x 8,6 x 8,6 cm. Entre 2,3 et 2,5 kg.

- **Temps de séchage** de l'inoculum sur la surface d'essai : à noter dans le rapport (<60 min).
- **Témoin de séchage et témoin eau** :
  - o Pour chaque micro-organisme
  - o Pour des concentrations différentes et/ou avec des substances interférentes différentes lors d'essais simultanés : 1 seul témoin eau et témoin de séchage
  - o Pour chaque température et temps de contact différents : 1 témoin eau et 1 témoin de séchage pour chaque condition
- **Neutralisation** : contrôlée pour chacune des souches, dans chacune des conditions expérimentales (substances interférentes, temps de contact et température) et pour la concentration soumise à l'essai la plus élevée.  
Si le neutralisant ne convient pas et qu'il est nécessaire d'en ajouter dans la gélose TSA ou MEA utilisés pour les validations des modes opératoires et des témoins, la gélose utilisée pour l'essai doit contenir la même proportion de ce neutralisant.
- **Pour chaque souche d'essai**, vérifier que :
  - Bactéries**
    - N est entre  $1,5 \times 10^9$  UFC/ml et  $5,0 \times 10^9$  UFC/ml ( $9,17 \leq \lg N \leq 9,70$ )
    - $N_0$  est entre  $7,5 \times 10^7$  UFC/ml et  $2,5 \times 10^8$  UFC/ml ( $7,88 \leq \lg N_0 \leq 8,40$ )
    - $N_v$  est entre 300 UFC/ml et 1600 UFC/ml ( $3,0 \times 10^2$  UFC/ml et  $1,6 \times 10^3$  UFC/ml)
    - $N_{v_0}$  est entre 30 UFC/ml et 160 UFC/ml ( $3,0 \times 10^1$  et  $1,6 \times 10^2$ )
    - B, C sont égaux à ou supérieurs à  $0,5 \times N_{v_0}$
    - $DC_0$  est entre  $7,5 \times 10^6$  UFC/ml et  $2,5 \times 10^8$  UFC/ml ( $6,88 \leq \lg DC_0 \leq 8,40$ )
    - $DC_t$  est entre  $7,5 \times 10^6$  UFC/ml et  $2,5 \times 10^8$  UFC/ml ( $6,88 \leq \lg DC_t \leq 8,40$ )
    - Nw est en moyenne supérieur à 10 UFC/25 cm<sup>2</sup> sur les zones d'essai 2 à 4
  - Levures**
    - N est entre  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml et  $5,0 \times 10^8$  UFC/ml ( $8,17 \leq \lg N \leq 8,70$ )
    - $N_0$  est entre  $7,5 \times 10^6$  UFC/ml et  $2,5 \times 10^7$  UFC/ml ( $6,88 \leq \lg N_0 \leq 7,40$ )
    - $N_v$  est entre 300 UFC/ml et 1600 UFC/ml ( $3,0 \times 10^2$  UFC/ml et  $1,6 \times 10^3$  UFC/ml)
    - $N_{v_0}$  est entre 30 UFC/ml et 160 UFC/ml ( $3,0 \times 10^1$  et  $1,6 \times 10^2$ )
    - B, C sont égaux à ou supérieurs à  $0,5 \times N_{v_0}$
    - $DC_0$  est entre  $7,5 \times 10^5$  UFC/ml et  $2,5 \times 10^7$  UFC/ml ( $5,88 \leq \lg DC_0 \leq 7,40$ )
    - $DC_t$  est entre  $7,5 \times 10^5$  UFC/ml et  $2,5 \times 10^7$  UFC/ml ( $5,88 \leq \lg DC_t \leq 7,40$ )
    - Nw est supérieur en moyenne à 10 UFC/25 cm<sup>2</sup> sur les zones d'essai 2 à 4

Vérification des dénombrements moyens pondérés : le quotient de la moyenne des résultats de deux dilutions successives doit être compris entre 5 et 15.

- o Vc = nombre d'UFC par mL d'échantillon
- o N = nombre d'UFC par mL de suspension d'essai
- o Na = nombre de survivants dans le mélange d'essai après le temps de contact et avant l'étape de neutralisation
- o Nv = nombre d'UFC par mL de solution de validation
- o Nw = nombre d'UFC par surface d'essai pour le témoin eau.
- o DC<sub>0</sub> = nombre d'UFC récupéré juste après séchage
- o DC<sub>t</sub> = nombre d'UFC récupéré après séchage et temps de contact
- o B = vérification de l'absence de toxicité du neutralisant.
- o C = validation de la dilution neutralisation

- **Activité** :
  - Réduction du nombre de colonies
  - Bactéricidie** : R = 5 log sur la zone 1 (noter le µo limitant)
  - Levuricidie** : R = 4 log pour les levures sur la zone 1

} **Et**

- 50 UFC ou moins en moyenne sur les zones d'essai 2 à 4 pour chaque microorganisme d'essai

- **Conclusion**

- **Date, lieu et signature**

**NF EN 16777 / T 72-196 (décembre 2018)**

Antiseptiques et désinfectants chimiques — Essai quantitatif de surface non poreuse sans action mécanique pour l'évaluation de l'activité virucide des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine médical — Méthode d'essai et exigences (phase 2/étape 2)

Le présent document décrit une méthode d'essai et les exigences minimales relatives à l'activité virucide des désinfectants chimiques qui forment une préparation homogène, physiquement stable, lorsqu'ils sont dilués dans de l'eau dure ou, dans le cas de produits prêts à l'emploi, dans l'eau.

Le présent document s'applique aux produits utilisés en médecine humaine pour la désinfection des surfaces non poreuses, y compris les surfaces des dispositifs médicaux, sans action mécanique.

Les conditions d'essai spécifiées sont destinées à couvrir les usages généraux et à permettre des comparaisons entre les laboratoires et entre les types de produits. Chaque concentration d'utilisation de l'antiseptique ou du désinfectant chimique déterminée par cet essai correspond à des conditions expérimentales définies.

Comme présenté dans l'EN 14885, pour prétendre à une activité virucide contre les virus enveloppés, le produit doit satisfaire aux exigences de l'EN 14476 et de la présente norme avec le virus de la vaccine ; pour prétendre à une activité virucide à spectre limité, il doit satisfaire aux exigences de l'EN 14476 et de la présente norme avec l'adénovirus et le norovirus murin. Toutefois, pour prétendre à une activité virucide, le produit doit répondre aux exigences de l'EN 14476 avec le poliovirus, l'adénovirus et le norovirus murin, et de la présente norme avec l'adénovirus et le norovirus murin, car le poliovirus ne résiste pas au séchage.

▪ **Conditions d'essai minimales et additionnelles :**

<b>Spectre minimal de microorganismes d'essai</b>	<p><b>Activité virucide<sup>a</sup></b> Adénovirus Norovirus murin</p> <p><b>Activité virucide à spectre limité<sup>b</sup></b> Adénovirus Norovirus murin</p> <p><b>Activité virucide contre les virus enveloppés<sup>c</sup></b> Virus de la vaccine</p>
Température d'essai	entre 18 °C et 25 °C
Température additionnelle	entre 4 °C et 30 °C
Temps de contact	selon les recommandations du fabricant, mais au maximum 5 min ou 60 min <sup>d</sup>
Substances interférentes a) conditions de propreté b) conditions de saleté	solution d'albumine bovine à 0,3 g/l et/ou solution d'albumine bovine à 3,0 g/l plus 3 ml d'érythrocytes
Conditions additionnelles <sup>e</sup>	Temps de contact, substances(s) interférente(s) ou virus additionnels

<p>a</p> <p>b</p> <p>c</p> <p>d</p> <p>e</p>	<p>Le poliovirus (tel qu'utilisé dans l'essai de suspension correspondant) ne peut pas être utilisé pour les surfaces en raison de problèmes de séchage.</p> <p>L'essai d'« activité virucide à spectre limité » concerne tous les virus enveloppés (Annexe A) et le norovirus, le rotavirus et l'adénovirus.</p> <p>L'essai d'« activité virucide contre les virus enveloppés » concerne uniquement les virus enveloppés (Annexe A).</p> <p>Les temps de contact des désinfectants de surfaces indiqués dans ce tableau sont choisis sur la base des conditions pratiques d'utilisation du produit. Le temps de contact recommandé pour l'utilisation du produit relève de la responsabilité du fabricant. Les produits qui sont destinés { désinfecter des surfaces susceptibles d'entrer en contact avec le patient et/ou le personnel médical et des surfaces fréquemment touchées par des personnes différentes, ce qui conduit à la transmission de microorganismes au patient, doivent être soumis à essai avec un temps de contact de 5 min au maximum. Les mêmes conditions s'appliquent lorsque le temps de contact du produit doit être limité pour des raisons pratiques. Les produits destinés à d'autres surfaces que celles mentionnées ci-dessus peuvent être soumis à essai avec un temps de contact de 60 min au maximum.</p> <p>Le cas échéant (usages spécifiques), une activité virucide spécifique additionnelle doit être déterminée dans d'autres conditions de durée, température et substances interférentes (voir 5.2.2.8) conformément au 5.5, afin de prendre en compte les conditions d'utilisation spécifiques envisagées. Un ou plusieurs virus additionnels peuvent être soumis à essai, si cela est pertinent. En ce qui concerne les conditions additionnelles, la concentration ainsi définie peut être inférieure à celle obtenue dans les conditions d'essai minimales.</p>
----------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

La concentration virucide dans le produit d'essai ainsi déterminée convient à des situations pratiques d'utilisation.

▪ **Souches testées :**

a) Virus à ARN non enveloppé  
*Norovirus murin*, souche S99 Berlin.

NOTE Les souches virales peuvent être obtenues auprès d'une collection de cultures nationale ou internationale. Le norovirus murin peut être obtenu auprès du Friedrich-Loeffler-Institut Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Hauptsitz Insel Riems Südufer 10, 17493, Greifswald-Insel Riems, téléphone : +49 (0)38351 7-0, fax : +49 038351 7-121, <http://www.fli.bund.de>.

b) Virus à ADN non enveloppé  
*Adénovirus type 5*, souche Adénoïd 75, ATCC VR-5.

c) Virus à ADN enveloppé  
*Virus de la vaccine*, souche Ankara (MVA) modifiée, ATCC VR-1508 ou virus de la vaccine, souche Elstree, ATCC VR-1549.

▪ **Lignées cellulaires :**

L'*adénovirus* est multiplié dans des cellules HeLa ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.

Le *norovirus murin* est multiplié dans des cellules RAW 264.7 (ATCC TIB-71) ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.

Le *virus modifié de la vaccine Ankara* est multiplié dans des cellules BHK-21 (ATCC CCL-10) ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.

Le *virus de la vaccine*, souche *Elstree* est multiplié dans des cellules Vero (ATCC CCL-81), des cellules CV-1 (ATCC CCL-70) ou toutes autres lignées cellulaires de sensibilité appropriée.

.

▪ **Température d'essai :** conforme au tableau ci-dessus avec un IC= 1°C,

- **Temps de contact** : spécifié dans le tableau. L'écart admis pour chaque temps de contact est de +/- 10s. Des temps additionnels peuvent être choisis et doivent être consignés dans le rapport d'essai.
- **Température d'incubation** : 36-37°C ± 1°C, à condition que la T° soit la même pour toutes les étapes.
- **Dilution** du produit : eau dure.  
Pour les produits prêts à l'emploi → eau bi-distillée ou eau p.p.i. (pour préparations injectables).
- **Aspect du produit et de ses solutions** : mentionnés. Si flocculat ou précipité, le mentionner dans le rapport.
- **Concentrations testées** : au moins une concentration active (≥ 4 log) et une non active (< 4 log). La concentration active testée peut être le produit tel qu'il est fourni.
- **En conditions de saleté**, vérifier la présence d'un témoin viral avec de l'albumine bovine sérique sans érythrocytes (au moins dans les tableaux).
- **Validation de la méthode si** :
  - Suspension virale d'essai a une DICT<sub>50</sub> ≥ 1.10<sup>8</sup> /mL (lg DICT<sub>50</sub> ≥ 8) ou possède une concentration qui permet de déterminer une réduction de 4 lg du titre viral.
  - réduction de titre détectable est d'au moins 4 lg ;
  - différence des titres, exprimés en logarithmes, entre le témoin viral et le microorganisme d'essai utilisé lors de l'essai de référence pour l'inactivation du virus est comprise entre les valeurs indiquées dans le Tableau 3 (lorsque tous les essais doivent être effectués pendant 5 min dans des conditions de propreté).

**Limites pour les substances de référence**

Substance de référence	Microorganisme d'essai		
	Concentration/réduction		
	Adénovirus type 5, souche Adenoïd 75	Virus de la vaccine	Norovirus murin
Glutardialdéhyde	125 ppm/2,0 à 3,5 lg	50 ppm/< 3 lg	1 000 ppm/1,5 à 3 lg

- **La cytotoxicité de la solution d'essai du produit** n'affecte pas la morphologie et la croissance cellulaires ni la sensibilité au microorganisme d'essai dans les dilutions des mélanges d'essai qui sont nécessaires pour démontrer une réduction de 4 lg du titre viral ;
- **Le titrage comparatif du virus** sur les cultures cellulaires traitées avec des dilutions du mélange d'essai et en parallèle (c'est-à-dire ajout du tampon PBS uniquement) a pour résultat une différence < 1 lg du titre viral ou perte < 25% des cellules en monocouches et permettant de démontrer une réduction de 4 lg du titre viral.
- **Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité virucide** du désinfectant avec indication du mode opératoire de l'arrêt de l'action du produit : dilution à froid ou filtration, et du niveau de cytotoxicité. Différence maximale de titre avec la solution d'essai ≤ 0,5 lg.
- **Tableaux des résultats et présentation graphique** de tous les résultats avec témoin au glutardialdéhyde ou autre produit adéquat. ProdHyBase® tolère pour l'instant les PV qui ne

comportent que les tableaux des résultats ou que les graphiques, dès l'instant où il est possible de retrouver l'ensemble des résultats.

- **Réduction** des titres : Le produit est virucide si  $\log (R) \geq 4$  lg.
- **Le rapport d'essai doit au minimum comporter les informations suivantes :**
  - Référence de la norme
  - Nom du laboratoire d'essai
  - Identification de l'échantillon
    - Nom du produit
    - Numéro de lot
    - Date Limite d'Utilisation
    - Fabricant / fournisseur
    - Date de livraison
    - Conditions de stockage
    - Composants actifs
    - Diluant recommandé
    - Aspect du produit
  - Conditions expérimentales
    - Date(s) de l'essai
    - Diluant utilisé
    - Concentrations d'essai du produit
    - Aspect du produit et de ses dilutions
    - Temps de contact et intervalle de confiance
    - T° d'essai et intervalle de confiance
    - Substances interférentes
    - Stabilité et aspect du mélange au cours du mode opératoire
    - T° d'incubation
    - Méthode de filtration
    - Identification de la source de la souche virale et nombre de passages
    - Mode opératoire pour arrêter l'action du produit
    - Lignées cellulaires (nom, source et nombre de passages, milieu de culture cellulaire)
  - Validation des résultats de l'essai de contrôle et d'évaluation
    - Titre de la suspension virale et Méthode de titrage
    - Inactivation maximale détectable du virus
    - Inactivation du virus lors de l'essai d'inactivation du virus de référence après 60 min
  - Présentation des résultats de l'essai pour évaluer l'activité virucide
    - Description
    - Tableau des résultats (données brutes)
      - Titre viral [IC 95%]
      - Taux de réduction [IC 95%]
    - Présentation graphique de tous les résultats avec le témoin glutardialdéhyde
  - Conclusion
  - Lieu, date et signature

**NF T 72-281** (novembre 2014)

Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne. -- Détermination de l'activité bactéricide, fongicide, levuricide, mycobactéricide, tuberculocide, sporicide et virucide incluant les bactériophages dans les secteurs de la santé humaine, vétérinaire, agro-alimentaire, industriel et collectivité par des procédés physique et/ou chimiques.

- **Température de l'essai :**

- Obligatoire : 20°C ± 2°C en début d'essai.
- Additionnelles : Toute température en fonction de l'utilisation prévue du procédé.

- **Temps de contact de l'essai :**

- Obligatoire : peut varier en fonction des indications du fabricant.

Attention : Possibilité de ne pas obtenir les contrôles de survie de certains germes. Dans ces conditions, il ne sera pas possible de déterminer les taux de réductions logarithmiques > 3 log, 4 log ou 5 log exigés.

- **Humidité :**

- Obligatoire : 40% à 80% H.R. (humidité relative), uniquement dans les secteurs où ces taux d'humidité sont rencontrés et en l'absence de recommandations spécifiques en début d'essai.
- Additionnelles : autre humidité selon les exigences des différents secteurs d'activité.

- **Volume du local :**

- Obligatoire : 30 m<sup>3</sup> à 150 m<sup>3</sup>.
- Additionnels :
  - Si le procédé revendique aussi des volumes d'usage en dehors des volumes obligatoires, un test complémentaire doit être réalisé.
- Si le procédé ne revendique que des volumes d'usage en dehors des volumes obligatoires ci-dessus, seul le test correspondant aux conditions d'usage doit être réalisé et est obligatoire.

Le volume et les dimensions (hauteur, largeur, profondeur) du local doivent être indiqués.

- **Support :**

- Obligatoire : disque en acier inox 1.4301 (NF EN 10088-1) de 23 cm à 4 cm de diamètre, nuance 2B selon les exigences de la NF EN 10088-2, finition bilatérale. Neuf à chaque test.
- Additionnel : tout support non poreux, à condition qu'il soit décrit dans le procès-verbal de l'essai pouvant contenir au moins 50 µL d'inoculum.

Exclusion : support rugueux, anfractueux, fibreux comme le bois.

Vérifier si :

- La nature du support est spécifiée.
- La procédure de contamination des supports est conforme au protocole :
  - 50 µL de suspension par boîte
  - 120 min de séchage maximum

Si le temps de séchage est > 120 min, les supports ne peuvent pas servir aux essais.

- Le nombre d'exemplaires de chaque support par souche :
  - trois pour l'essai
  - deux pour les témoins.
- Le nettoyage et la stérilisation doivent être précisés dans le rapport pour les supports additionnels :
  - Nettoyage : DECON® - 60 min / Désinfection : isopropanol 70% - 15 min

- **Souches testées :**

- Bactéricidie

**NORMES d'APPLICATION : SURFACES**

- *Pseudomonas aeruginosa* **ATCC 15442**  
CIP 103-467
  - *Staphylococcus aureus* **ATCC 6538**  
CIP 4.83
  - *Enterococcus hirae* **ATCC 10541**  
CIP 5855
  - *Escherichia coli* **ATCC 10536**  
CIP 54127
  - Sporicidie
    - *Bacillus subtilis* spores **ATCC 6633**  
CIP 52 62
  - Fongicidie
    - *Candida albicans* **ATCC 10231**  
IP 4872
    - *Aspergillus niger* **ATCC 16404**  
IP 1431-83
  - Levuricidie
    - *Candida albicans* **ATCC 10231**  
IP 4872
  - Virucidie
    - *Bovine enterovirus Type 1 (Enteric Cytopathogenic Bovine Orphan Virus – ECBO)*  
**ATCC VR-248**  
Cultivé sur lignée cellulaire BT cell (ATCC CRL-1390) ou autres lignées à sensibilité appropriée
    - *Murine Norovirus souche S99, Friedrich Loeffler Institut, Berlin.*  
**ATCC TIB-71**  
Cultivé sur cellules HeLa ou autres lignées à sensibilité appropriée.
  - Virucidie vis-à-vis des bactériophages
    - *Bactériophage de Lactococcus lactis* sous espèce lactis  
**P001**  
DSM 4262
    - *Bactériophage de Lactococcus lactis* sous espèce lactis  
**P008**  
DSM 10567
- La multiplication de ces deux phages doit être obtenue à partir de la souche hôte suivante : *Lactococcus lactis* sous-espèce *lactis* F7/2 (DSM 4366).
- Mycobactéricidie et/ou Tuberculocidie
    - *Mycobacterium avium* **ATCC 15769**
    - *Mycobacterium terrae* **ATCC 15755**

- Dilution du produit : eau fraîchement distillée et non déminéralisée ou eau ppi.
- La nature des neutralisants, des membranes filtrantes et éventuellement du vibreur ultrasons (fréquence, puissance) doivent être indiquées dans le rapport.
- Présence de témoins de supports non exposés au désinfectant ; ces témoins de survie des germes sur les supports doivent être effectués en même temps que l'essai proprement dit.
- Présence d'un essai préliminaire (3 tests) de validation de l'absence d'effet résiduel :

- En gélose
  - Sur membrane filtrante
  - Dû au support dans le milieu gélosé
- Dans le cas des procédés non dirigés (*procédé destiné à la désinfection de toutes les surfaces incluses dans un volume donné, quelle que soient leurs orientations ; à mettre en œuvre hors présence humaine dans la zone traitée*) :
- ✓ Orientation et emplacement des supports :
    - Obligatoires : Position verticale, inoculum orienté vers la direction opposée à l'appareil  
Distance conforme à l'annexe B
    - Additionnelles : Toute possibilité en fonction de l'utilisation prévue du procédé.
  - ✓ Quantité de produit utilisée : temps de diffusion du produit, quantité totale utilisée (dose en g ou mL/m<sup>3</sup>) et débit mesuré de l'appareil.
  - ✓ Description des revêtements du local.
  - ✓ Précision dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes » :
    - Couple appareil-produit
    - Temps d'exposition au procédé après émission (obligatoirement < 12 heures).
  - ✓ Présence d'un schéma d'essai à l'échelle indiquant précisément les contours du local, la position de l'appareil et des portes-germes pour chacune des manipulations.
- Dans le cas des dispositifs dirigés :
- **Procédé sans pression** (*petits pulvérisateurs type « spray »*) :
    - ✓ Orientation et emplacement des 3 supports (support concave exclu) :
      - Obligatoires : Position horizontale, inoculum orienté vers le haut ;  
Distance au moins 20 cm.
    - ✓ Si présence de ruissellement indiqué dans le rapport, exclure les résultats.
  - Énumération de tous les paramètres pouvant influencer l'activité du procédé : position des supports, temps d'émission du produit, temps de contact et masse moyenne du produit dispersé, vitesse d'évaporation et distance appareil-support.
  - Précision dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes » :
    - Temps d'action du produit ;
    - Type d'appareil de dispersion ;
    - Dose pulvérisée par support.
  - **Procédé avec pression** (*appareil plus volumineux à lance et compresseur ou « bombes aérosols » avec un limite de pression de 10 bars*) :
    - Orientation et emplacement des 3 supports :
      - Obligatoires : Position verticale, inoculum orienté vers le manipulateur ;  
Distance appareil-supports à définir par le fabricant
    - Distance manipulateur-support égale à celle préconisée en pratique.
    - ✓ Si présence de ruissellement indiqué dans le rapport, exclure les résultats.
    - Énumération de tous les paramètres pouvant influencer l'activité du procédé : position des supports, temps d'émission du produit, temps de contact ou vitesse de déplacement au-

dessus de la zone de test, et masse moyenne du produit dispersé et vitesse d'évaporation et distance appareil-support.

- Précision dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes » :
  - Temps d'action du produit ;
  - Type d'appareil de dispersion ;
  - Dose pulvérisée par support.
  
- Pour chaque souche d'essai, vérifier que :
  - Sur gélose : nb de colonies par boîtes entre 14 et 330 pour bactéries et levures.  
14 et 165 pour *A. brasiliensis*.
  - Sur membranes : nb de colonies par boîtes entre 14 et 165 pour bactéries et levures.  
14 et 55 pour *A. brasiliensis*.
  - N compris entre  $5 \cdot 10^7$  et  $2 \cdot 10^9$  ufc/mL pour les souches bactériennes  
N compris entre  $2 \cdot 10^7$  et  $10^8$  ufc/mL pour *Candida albicans*  
N compris entre  $5 \cdot 10^6$  et  $10^7$  ufc/mL pour *Aspergillus niger*  
N compris entre  $2 \cdot 10^5$  et  $5 \cdot 10^5$  ufc/mL pour la souche sporulée de *Bacillus subtilis*  
N compris entre  $10^7$  et  $10^9$  ufp/mL (DICT<sub>50</sub>) pour les souches virales  
N compris entre  $8 \cdot 10^8$  et  $3 \cdot 10^9$  ufp/mL pour les bactériophages  
N compris entre  $10^7$  et  $10^8$  ufc/mL pour les souches mycobactériennes
  - T doit être 1 log au-dessus des objectifs de réduction logarithmique pour toutes les souches à l'essai
  - $n1 > 0,5 N1$   
 $n3 > 0,5 N1$   
 $n2 > 0,5 N2$

N = nombre de germes/mL dans la suspension d'essai.

T = nombre de germes/mL sur les supports témoins.

$n1$ ,  $n2$ ,  $n3$  = nombre de colonies obtenues lors de la recherche du pouvoir inhibiteur respectivement en gélose, sur membrane filtrante et dû au support dans le milieu gélosé dans l'essai préliminaire avec la solution de recueil des résidus de désinfectant.

$N1$ ,  $N2$  = nombre de colonies obtenues dans les mêmes conditions que  $n1$ ,  $n2$  respectivement mais sans contact avec la solution de recueil des résidus de désinfectant.

- Taux de réduction minimum pour revendiquer une activité désinfectant si supports lisses
  - Activité bactéricide  $\geq 10^5$  ou 5 log
  - Activité sporicide  $\geq 10^3$  ou 3 log
  - Activité fongicide  $\geq 10^4$  ou 4 log
  - Activité levuricide  $\geq 10^4$  ou 4 log
  - Activité virucide  $\geq 10^4$  ou 4 log
  - Activité tuberculocide  $\geq 10^4$  ou 4 log
  
- Préciser dans le champ en texte libre de la rubrique « Normes » :
  - Couple appareil-produit.
  - L'activité du produit (bactéricidie, fongicidie, levuricidie, sporicidie, virucidie, tuberculocidie).
  - Le poids (ou volume) par  $m^3$
  - Le temps de diffusion par  $m^3$
  - Le temps de contact.

Annexe B  
(normative)

**Distances appareil  
de désinfection –  
porte-germes à  
mettre en œuvre**

Ces valeurs s'appliquent avec une marge de tolérance de  $\pm 10\%$ .

**Tableau B.1**

Conditions obligatoires	
Volume du local d'essais (par paliers de 10 m <sup>3</sup> )	Distance d'appareil de désinfection – porte-germes à appliquer (m)
[30 – 40 m <sup>3</sup> [	2,6 m
[40 – 50 m <sup>3</sup> [	3,0 m
[50 – 60 m <sup>3</sup> [	3,3 m
[60 – 70 m <sup>3</sup> [	3,6 m
[70 – 80 m <sup>3</sup> [	3,9 m
[80 – 90 m <sup>3</sup> [	4,1 m
[90 – 100 m <sup>3</sup> [	4,4 m
[100 – 110 m <sup>3</sup> [	4,6 m
[110 – 120 m <sup>3</sup> [	4,8 m
[120 – 130 m <sup>3</sup> [	5,0 m
[130 – 140 m <sup>3</sup> [	5,2 m
[140 – 150 m <sup>3</sup> [	5,4 m
Conditions obligatoires complémentaires – Volumes inférieurs à 30 m <sup>3</sup>	
Volume du local d'essais (par paliers de 10 m <sup>3</sup> )	Distance d'appareil de désinfection – porte-germes à appliquer
[10 – 20 m <sup>3</sup> [	2,0 m
[20 – 30 m <sup>3</sup> [	2,3 m
Conditions obligatoires complémentaires – Volumes > 150 m <sup>3</sup>	
Volume du local d'essais	Distance d'appareil de désinfection – porte-germes à appliquer
	$\geq$ au 2/3 de la diagonale

d) **Normes retirées**

• **NORMES DE BASE**

**NF EN 1040 / NF T 72-152** (Avril 2006)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide de base des antiseptiques et des désinfectants chimiques. Méthode d'essai et prescriptions (phase 1).

Exclusion de ProdHyBase® le 01/01/2016.

**NF T 72-150** (Novembre 1987 / annulées en septembre 1997)

Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau et neutralisables. Détermination de l'activité bactéricide. Méthode par dilution–neutralisation.

Exclusion de ProdHyBase® pour la totalité du spectre d'activité depuis le 30 juin 2007.

**NF T 72-151** (Novembre 1987 / annulées en septembre 1997)

Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité bactéricide. Méthode par filtration sur membranes.

Exclusion de ProdHyBase® pour la totalité du spectre d'activité depuis le 30 juin 2007.

**NF EN 1275 / NF T 72-202** (Avril 2006)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide ou levuricide de base des antiseptiques et des désinfectants chimiques. Méthode d'essai et prescriptions (phase 1).

– Cette norme peut être validée complètement (fongicidie) ou uniquement pour le niveau de levuricidie. PHB accepte une norme de fongicidie passée en 2 parties (2 dates ou 2 laboratoires différents) à condition qu'il s'agisse de la même version de la norme.

Exclusion de ProdHyBase® le 01/01/2016.

**NF T 72-200** (Septembre 1987 / annulée en novembre 1997)

Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau et neutralisables. Détermination de l'activité fongicide. Méthode par dilution–neutralisation.

Remplacée par la NF EN 1275 / NF T 72-202 / 1997.

Exclusion de ProdHyBase® depuis le 17/11/2003

**NF T 72-201** (Septembre 1987 / annulée en novembre 1997)

Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité fongicide. Méthode par filtration sur membranes.

Remplacée par la NF EN 1275 / NF T 72-202 / 1997.

Exclusion de ProdHyBase® depuis le 17/11/2003

**NF T 72-180** (Décembre 1989 / annulée en juillet 2006)

Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité virucide vis-à-vis des virus vertébrés.

Remplacée par la NF EN 14476 (phase 2 étape 1).

Exclusion de ProdHyBase® depuis le 1<sup>er</sup> août 2009.

**NF T 72-300** (Novembre 1989)

Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'efficacité des produits sur divers microorganismes dans les conditions pratiques d'emploi. Essai de suspension par dilution-neutralisation. Produit pour surfaces en contact avec les denrées alimentaires.

Exclusion de ProdHyBase® depuis le 02/5/2009.

**NF T 72-301** (Novembre 1989)

Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'efficacité des produits sur divers microorganismes dans les conditions pratiques d'emploi. Essai de suspension par filtration sur membranes.

Annulée en Juin 2007.

Exclusion de ProdHyBase® depuis le 02/05/2009

- **NORMES D'APPLICATION POLYVALENTES**

**NF T 72-170** (Novembre 1988)

Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau et neutralisables. Détermination de l'activité bactéricide en présence de substances interférentes de référence. Méthode par dilution-neutralisation. La norme NF T 72-170 a été remplacée pour les mains, les surfaces et les dispositifs médicaux, par la norme NF EN 13727 de 2012. Par conséquent, elle n'est plus retenue dans ProdHyBase®.

Remplacée par la NF EN 13727 / NF T 72-175 / 2012.

Exclusion de ProdHyBase® le 01/01/2015.

**NF T 72-171** (Novembre 1988)

Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité bactéricide en présence de substances interférentes de référence. Méthode par filtration sur membranes. La norme NF T 72-171 a été remplacée pour les mains, les surfaces et les dispositifs médicaux par la norme NF EN 13727 de 2012. Par conséquent, elle n'est plus retenue dans ProdHyBase®.

Remplacée par la NF EN 13727 / NF T 72-175 / 2012.

Exclusion de ProdHyBase® le 01/01/2015.

**NF EN 13727 / NF T 72-175 (Juillet 2012)**

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide en médecine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

- Norme qui s'applique **aux produits utilisés en médecine** dans la désinfection hygiénique et chirurgicale des mains par friction ou par lavage, la désinfection des instruments par immersion ou la désinfection des surfaces par essuyage, pulvérisation, inondation ou d'autres moyens.
- Les données obtenues avec la version précédente de la NF EN 13727 peuvent encore être utilisées sous réserve de reformuler et vérifier les exigences de la présente norme. Si une version antérieure ou un prEN est passé par le laboratoire, PHB accepte une attestation du laboratoire qui a fait le test affirmant qu'il n'y a pas de différence entre la méthode du projet de norme et la dernière version de la norme ; si et seulement si le projet de norme a été passé au maximum dans les 6 mois après la parution de la dernière version de la norme.

Exclusion de ProdHyBase® le 01/01/2018.

**NF EN 14476 / T 72-185 (septembre 2013)**

Désinfectants chimiques et antiseptiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

Pour instruments par immersion, surfaces, mains ou textiles.

Pour les mains, il existe comme pour les normes de fongicidie la possibilité de valider une virucidie à spectre limité. Cette situation a été différenciée dans ProdHyBase®.

Remplacée par la NF EN 14476 / NF T72-185 / octobre 2015.

- **NORMES D'APPLICATION SPECIFIQUES**

- AGRO-ALIMENTAIRES, INDUSTRIES, DOMAINES DOMESTIQUES ET COLLECTIVITES

**NF EN 1276 / NF T 72-173** (octobre 1997)

Antiseptiques et désinfectants chimiques utilisés dans les domaines de l'agro-alimentaire, l'industrie et dans les domaines domestiques et collectivités.

Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

Remplacée par la NF EN 1276 / NF T 72-173 / mars 2010

Exclusion de ProdHyBase® depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2014.

**NF EN 1650 / NF T 72-203** (Octobre 2008)

Antiseptiques et désinfectants chimiques utilisés dans les domaines de l'agro-alimentaire, l'industrie et dans les domaines domestiques et collectivités.

Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide

Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

Remplacée pour le domaine médical par la NF EN 13624 / NF T 72-600 / novembre 2013.

**NF EN 13704 / NF T 72-233** (Avril 2002)

Cette norme concerne les désinfectants chimiques utilisés dans les domaines de l'agro-alimentaire, de l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité.

Cette norme n'est pas adaptée au domaine médical.

**NF EN 13697 / NF T 72-193** (Novembre 2001)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de surface non-poreuse pour l'évaluation de l'activité bactéricide et/ou fongicide des désinfectants chimiques utilisés dans le domaine de l'agro-alimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité.

Méthode d'essai sans action mécanique et prescriptions (phase 2 / étape 2).

Exclusion de ProdHyBase fin 2017.

- DISPOSITIFS MEDICAUX PAR IMMERSION

**NF EN 13727 / NF T 72-175** (Juillet 2004)

Désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité bactéricide pour instruments utilisés en médecine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

Remplacée par la NF EN 13727 / NF T 72-175 / juillet 2012

Exclusion de ProdHyBase® le 1<sup>er</sup> janvier 2015.

**NF EN 13624 / NF T 72-600** (Avril 2004)

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide des désinfectants chimiques d'instruments utilisés en médecine humaine. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 1).

– Essai applicable aux désinfectants chimiques destinés à la désinfection par immersion des instruments médicaux, dont les désinfectants chimiques d'instruments médicaux non couverts par la directive européenne CEE 93/42 sur les dispositifs médicaux.

Remplacée par la NF EN 13624 / NF T 72-600 / novembre 2013.

Exclusion de ProdHyBase® le 1<sup>er</sup> janvier 2016.

○ MAINS

**NF EN 1500 / NF T 72-502 (Septembre 1997) (EN 1500 : Juillet 1997)**

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Traitement hygiénique des mains par frictions. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

Remplacée par la NF EN 1500 / NF T 72-502 / Juin 2013.

– Acceptée pour les produits ayant satisfait au préalable à une norme de bactéricidie de phase 1 ou de phase 2 étape 1, soit NF EN 1040 : 2006.

Exclusion de ProdHyBase® le 1er janvier 2015.

**NF EN 12791 / NF T 72-503 (Décembre 2005)**

Antiseptiques et désinfectants chimiques. Désinfection chirurgicale des mains. Méthode d'essai et prescriptions (phase 2 / étape 2).

Exclusion de ProdHyBase depuis le 31/12/2018.

○ SURFACES

**NF T 72-281 (septembre 2009)**

Procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne. -- Détermination de l'activité bactéricide, fongicide, levuricide, mycobactéricide, tuberculocide, sporicide et virucide incluant les bactériophages dans les secteurs de la santé humaine, vétérinaire, agro-alimentaire, industriel et collectivité par des procédés physique et/ou chimiques.

Remplacée par la NF EN 72-281 / novembre 2014.

Exclusion de ProdHyBase® depuis novembre 2016.