

**Rapport d'essai R-DVVCON001\_A**

**Détermination de l'activité bactéricide, fongicide, levuricide, mycobactéricide et virucide du dispositif de désinfection par la vapeur \_ selon le protocole du projet de la norme NF T72-110**

**CLIENT**

A CONCEPT VAPEUR  
A l'attention de JC Martinez  
40, rue Nicephore Niepce  
42000 St Etienne

**PRESTATION EFFECTUÉE  
PAR**

S.A.S VIRHEALTH  
Site Laennec-La Buire, 2ème étage, Bat B  
7-11 rue Guillaume Paradin,  
69372 Lyon Cedex 08

**CONTRIBUTION  
TECHNIQUE**

Anaïs Proust, responsable laboratoire

**Approbateur/Validation Qualité**

Nom : Dr Vincent Moulès, CEO

Date : Lyon, le 02/05/2018

Signature :



VIRHEALTH  
Faculté de médecine PITH Laennec  
7 rue Guillaume Paradin  
69372 LYON

Ce rapport comporte 31 pages

## SOMMAIRE

<b>I.</b>	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>4</b>
<b>II.</b>	<b>RÉSUMÉ DE L'ESSAI .....</b>	<b>5</b>
<b>III.</b>	<b>DOCUMENTS CONTRACTUELS .....</b>	<b>6</b>
<b>IV.</b>	<b>DONNÉES CONCERNANT LES ÉCHANTILLONS ET LES CONDITIONS D'ESSAI .....</b>	<b>7</b>
	IV.I Identification des échantillons .....	7
	IV.II Conditions expérimentales .....	7
	A. Conditions d'essai .....	7
	a. Activité bactéricide .....	7
	b. Activités fongicide et levuricide .....	8
	c. Activité mycobactéricide .....	8
	d. Activité virucide .....	8
<b>V.</b>	<b>RESULTATS.....</b>	<b>9</b>
	V.I Activité bactéricide du dispositif de désinfection par la vapeur .....	9
	A. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	9
	a. Essais préliminaires .....	9
	b. Suspension d'essai et surfaces témoins .....	9
	c. Essai .....	10
	B. <i>Escherichia coli</i> .....	12
	a. Essais préliminaires .....	12
	b. Suspension d'essai et surfaces témoins .....	12
	c. Essai .....	13
	V.II Activité fongicide et levuricide du dispositif de désinfection par la vapeur .....	15
	A. <i>Aspergillus brasiliensis</i> .....	15
	a. Essais préliminaires .....	15
	b. Suspension d'essai et surfaces témoins .....	15
	c. Essai .....	16
	B. <i>Candida albicans</i> .....	18
	a. Essais préliminaires .....	18
	b. Suspension d'essai et surfaces témoins .....	18
	c. Essai .....	19
	V.III Activité mycobactéricide du dispositif de désinfection par la vapeur .....	21
	A. <i>Mycobacterium terrae</i> .....	21
	a. Essais préliminaires .....	21

b.	Suspension d'essai et surfaces témoins .....	21
c.	Essai .....	22
V.IV	Activité virucide du dispositif de désinfection par la vapeur .....	24
A.	Norovirus murin de type 1 .....	24
a.	Essais préliminaires .....	24
b.	Essai et surfaces témoins .....	24
B.	Adénovirus de type-5 .....	26
a.	Essais préliminaires .....	26
b.	Essai et surfaces témoins .....	26
<b>VI.</b>	<b>ANNEXES .....</b>	<b>28</b>
VI.I	Matériels et réactifs .....	28
A.	Activités bactéricides .....	28
B.	Activités fongicide et levuricide .....	28
C.	Activités Mycobactéricide .....	29
D.	Activité virucide .....	29
E.	Préparation des réactifs .....	30

## I. CONCLUSION

Il est considéré que le dispositif de désinfection par la vapeur (DVV) satisfait au projet de norme NF T72-110 s'il induit, dans un essai valide avec la substance interférente définie pour la condition de saleté du domaine médical, une réduction d'au moins 5 LOG lorsque les microorganismes d'essai sont les bactéries : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, une réduction d'au moins 4 LOG lorsque les microorganismes d'essais sont les moisissures *Aspergillus brasiliensis* et la levure *Candida albicans*, une réduction d'au moins 4 LOG lorsque les microorganismes d'essai sont les mycobactéries *Mycobacterium terrae* et une réduction d'au moins 4 LOG lorsque les microorganismes d'essai sont les virus norovirus murin de type-1 (MNV-1) et l'adénovirus de type 5.

DDV	Substances interférentes	Activité	Microorganismes	Conformité
Couple générateur/accessoire: <b>Box vapeur</b>	BSA 3g/L + 3mL/L de sang	Bactericide	<i>S.aureus</i>	Conforme
			<i>E.coli</i>	Conforme
		Fongicide/levuricide	<i>A.brasiliensis</i>	Conforme
			<i>C.albicans</i>	Conforme
		mycobactéricide	<i>M.terrae</i>	Conforme
		virucide	Adenovirus type 5	Conforme
			Norovirus (MNV-1)	Conforme

## II. RÉSUMÉ DE L'ESSAI

L'essai consiste à déterminer l'activité désinfectante des dispositifs de désinfection par la vapeur. L'activité bactéricide du DDV sur les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, l'activité fongicide et levuricide sur la moisissure *Aspergillus brasiliensis* et sur la levure *Candida albicans*, l'activité mycobactéricide sur les mycobactéries *Mycobacterium terrae* et l'activité virucide sur l'adénovirus de type 5 et sur le norovirus murin (MNV-1) selon les conditions expérimentales obligatoires du projet de norme NF T72-110 en condition de saleté du domaine médical.

Les résultats ont montré que le couple générateur accessoire Box vapeur du DDV en condition de saleté du domaine médical induit :

- un abattement logarithmique supérieur à 5 sur les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*
- un abattement logarithmique supérieur à 4 sur la moisissure *Aspergillus brasiliensis* et sur la levure *Candida albicans*
- un abattement logarithmique supérieur à 4 sur les mycobactéries *Mycobacterium terrae*
- un abattement logarithmique supérieur à 4 sur les virus : l'adénovirus de type 5 et le norovirus murin (MNV-1)

Les résultats obtenus sont **conformes** aux exigences du projet de norme NF T72-110 dans les conditions de l'essai.

### III. DOCUMENTS CONTRACTUELS

Il a été demandé à la société VIRHEALTH d'effectuer des essais selon le projet de norme :

- NF T72-110

Pour le compte de la société : **CONCEPT VAPEUR**

L'essai a été réalisé sur le Dispositif de Désinfection par la Vapeur suivant :

- Générateur : Box vapeur
- Accessoire : brosse de 23 cm munie d'une chaussette microfibre (150 g/m<sup>2</sup>)

La présente prestation est définie par les documents suivants :

. Devis	1804DEPP001
. Commande	Bon pour accord en date du 05/04/2018

## IV. DONNÉES CONCERNANT LES ÉCHANTILLONS ET LES CONDITIONS D'ESSAI

### IV.I Identification des échantillons

Procédé de désinfection	
Nom Générateur vapeur	Box vapeur
Numéro de série	1801127
Nom de l'accessoire	Brosse 23 cm + chaussette microfibre (150g/m <sup>2</sup> )
Producteur	CONCEPT VAPEUR
Date de production	Janvier 2018
Type d'application	Manuelle avec contact
Caractéristiques techniques	
Volume chaudière	5 L
Puissance de chauffe	3600 W
Gestion de la température	sonde PT100
Pression (bars)	5,5 bars
Température (°C)	158 °C
Vitesse (cm/secondes)	10 cm/secondes
Force (N)	< 0,05

Tableau 1 : caractéristiques du dispositif de désinfection par la vapeur

### IV.II Conditions expérimentales

#### A. Conditions d'essai

##### a. Activité bactéricide

Conditions d'essai	
Souches bactériennes évaluées	- <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Escherichia coli</i>
Supports Dimension (longueur, largeur)	PVC (revêtement polyuréthane en surface) 20x50cm
Temps de séchage des supports	45 minutes
Méthode pour arrêter l'action du biocide	10 mL de milieu de récupération (TSB complété en polysorbate)
Dates de l'essai et de l'essai préliminaire	17/04/2018, 26/04/2018

Tableau 2 : conditions expérimentales pour évaluer l'activité bactéricide

## b. Activités fongicide et levuricide

Conditions d'essai	
Souches fongiques évaluées	- <i>Aspergillus brasiliensis</i> - <i>Candida albicans</i>
Supports Dimension (longueur, largeur)	PVC (revêtement polyuréthane en surface) 20x50cm
Temps de séchage des supports	45 minutes
Méthode pour arrêter l'action du biocide	10 mL de milieu de récupération (TSB complétement en polysorbate)
Dates de l'essai et de l'essai préliminaire	25/04/2018

Tableau 3 : conditions expérimentales pour évaluer l'activité fongicide et levuricide

## c. Activité mycobactéricide

Conditions d'essai	
Souches de mycobactéries évaluées	- <i>Mycobacterium terrae</i>
Supports Dimension (longueur, largeur)	PVC (revêtement polyuréthane en surface) 20x50cm
Temps de séchage des supports	45 minutes
Méthode pour arrêter l'action du biocide	10 mL de milieu de récupération (TSB complétement en polysorbate)
Dates de l'essai et de l'essai préliminaire	25/04/2018

Tableau 4 : conditions expérimentales pour évaluer l'activité mycobactéricide

## d. Activité virucide

Conditions d'essai	
Souches virales évaluées	- adénovirus (Ad5) - norovirus murin (MNV-1)
Supports Dimension (longueur, largeur)	PVC (revêtement polyuréthane en surface) 20x50cm
Temps de séchage des supports	45 minutes
Méthode pour arrêter l'action du biocide	10 mL de milieu infection sans SVF
Dates de l'essai et de l'essai préliminaire	17/04/2018 et 27/04/2018

Tableau 5 : conditions expérimentales pour évaluer l'activité virucide

## V. RESULTATS

### V.I Activité bactéricide du dispositif de désinfection par la vapeur

#### A. *Staphylococcus aureus*

##### a. Essais préliminaires

Témoins inhibiteur	n1_C4	n1_C5	n1_C5
	$< 1,4 \cdot 10^9$	$< 1,4 \cdot 10^9$	$< 1,4 \cdot 10^9$
Validation	$> 0,5 \cdot N1 = 5,0 \cdot 10^8$	$> 0,5 \cdot N1 = 5,0 \cdot 10^8$	$> 0,5 \cdot N1 = 5,0 \cdot 10^8$
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non

Explications :

- $n1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la solution de recueil des surfaces exposées non inoculés (UFC/mL) mise en contact avec la suspension d'essai
- $N1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la suspension d'essai (UFC/mL)

Dans les conditions de l'essai, les potentiels résidus de la vapeur n'ont pas d'effets résiduels sur la gélose. La vapeur n'induit pas d'effet inhibiteur sur la bactérie *Staphylococcus aureus* dans les conditions de l'essai une fois l'activité du produit arrêtée.

##### b. Suspension d'essai et surfaces témoins

#### Suspension d'essai (N)

Suspension d'essai	
N1	$9,9 \cdot 10^8$
N2	$1,0 \cdot 10^9$
$5 \cdot 10^7 \leq N1 \leq 2 \cdot 10^9$ <input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- $N1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la suspension d'essai (UFC/mL)
- $N2$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement sur membrane de la suspension d'essai (UFC/mL)

### Surfaces témoin (T)

Surface témoin	T	Log T
	$6,3.10^7$	7,8
Validation	Log T $\geq$ 5+1 LOG	
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- T = Moyenne du nombre de bactéries dans les 10 mL de milieu de récupération des trois surfaces témoins inoculées mais non exposées (C4, C5 et C6).

### Surfaces témoin effet mécanique (T<sub>EM</sub>)

Surface témoin	T <sub>EM</sub>	Log T <sub>EM</sub>
	$5,0.10^7$	7,7
Validation	Log T $\geq$ 5+1 LOG	
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- T<sub>EM</sub> = Moyenne du nombre de bactéries dans les 10 mL de milieu de récupération des trois surfaces témoins inoculées, non soumises à l'effet de la vapeur mais soumises à l'effet mécanique de l'accessoire (poids et mouvement de l'accessoire).

### c. Essai

Essais	n'1	Log n'1	d
Essai C4	0	< 1	7,7
Essai C5	0	< 1	7,7
Essai C6	0	< 1	7,7

Explications :

- n'1 = nombre de colonies dans 10 mL de liquide de récupération des trois surfaces inoculées et exposées
- d = réduction logarithmique pour chaque support d'essai :  $\log T_{EM} - \log n'1$

Essais	n'	Validation Surface C1-C3 et C7-C15 < 10 UFC
Essai C1	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C2	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C3	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C7	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C8	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C9	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C10	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C11	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C12	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C13	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C14	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C15	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non

*Explications :*

- n'2 = nombre de colonies écouvillonnées directement sur les surfaces C1 à C3 et C7 à C15 non inoculées mais exposées.

Le couple générateur accessoire Box vapeur évalué selon le protocole du projet de norme NF T72-110 présente une activité bactéricide sur la bactérie *Staphylococcus aureus* **supérieure à 5 LOG (7,7 LOG)** en condition de saleté du domaine médical (3g/L BSA + 3mL/L d'érythrocytes de moutons défibrinés).

Le dispositif de désinfection à la vapeur **est conforme** aux exigences du projet de norme NF T72-110 pour l'activité bactéricide sur *Staphylococcus aureus* dans les conditions de l'essai.

## B. *Escherichia coli*

### a. Essais préliminaires

Témoins inhibiteur	n1_C4	n1_C5	n1_C5
	$< 1,4 \cdot 10^9$	$< 1,4 \cdot 10^9$	$3,8 \cdot 10^8$
Validation	$> 0,5 \cdot N1 = 3,4 \cdot 10^8$	$> 0,5 \cdot N1 = 3,4 \cdot 10^8$	$> 0,5 \cdot N1 = 3,4 \cdot 10^8$
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non

#### Explications :

- $n1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la solution de recueil des surfaces exposées non inoculés (UFC/mL) mise en contact avec la suspension d'essai
- $N1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la suspension d'essai (UFC/mL)

Dans les conditions de l'essai, les potentiels résidus de la vapeur n'ont pas d'effets résiduels sur la gélose. La vapeur n'induit pas d'effet inhibiteur sur la bactérie *Escherichia coli* dans les conditions de l'essai une fois l'activité du produit arrêtée.

### b. Suspension d'essai et surfaces témoins

#### Suspension d'essai (N)

Suspension d'essai	
N1	$6,8 \cdot 10^8$
N2	$1,0 \cdot 10^9$
$5 \cdot 10^7 \leq N1 \leq 2 \cdot 10^9$ <input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

#### Explications :

- $N1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la suspension d'essai (UFC/mL)
- $N2$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement sur membrane de la suspension d'essai (UFC/mL)

### Surfaces témoin (T)

Surface témoin	T	Log T
	1,5.10 <sup>6</sup>	6,2
Validation	Log T ≥ 5+1 LOG	
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- T = Moyenne du nombre de bactéries dans les 10 mL de milieu de récupération des trois surfaces témoins inoculées mais non exposées (C4, C5 et C6).

### Surfaces témoin effet mécanique (T<sub>EM</sub>)

Surface témoin	T <sub>EM</sub>	Log T <sub>EM</sub>
	2,1.10 <sup>6</sup>	6,3
Validation	Log T ≥ 5+1 LOG	
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- T<sub>EM</sub> = Moyenne du nombre de bactéries dans les 10 mL de milieu de récupération des trois surfaces témoins inoculées, non soumises à l'effet de la vapeur mais soumises à l'effet mécanique de l'accessoire (poids et mouvement de l'accessoire).

### c. Essai

Essais	n'1	Log n'1	d
Essai C4	0	< 1	<b>6,3</b>
Essai C5	0	< 1	<b>6,3</b>
Essai C6	0	< 1	<b>6,3</b>

Explications :

- n'1 = nombre de colonies dans 10 mL de liquide de récupération des trois surfaces inoculées et exposées
- d = réduction logarithmique pour chaque support d'essai :  $\log T_{EM} - \log n'1$

Essais	n'	Validation Surface C1-C3 et C7-C15 < 10 UFC
Essai C1	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C2	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C3	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C7	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C8	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C9	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C10	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C11	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C12	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C13	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C14	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C15	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non

*Explications :*

- n'2 = nombre de colonies écouvillonnées directement sur les surfaces C1 à C3 et C7 à C15 non inoculées mais exposées.

Le couple générateur accessoire Box vapeur évalué selon le protocole du projet de norme NF T72-110 présente une activité bactéricide sur la bactérie *Escherichia coli* **supérieure à 5 LOG** (6,3 LOG) en condition de saleté du domaine médical (3g/L BSA + 3mL/L d'érythrocytes de moutons défibrinés).

Le dispositif de désinfection à la vapeur **est conforme** aux exigences du projet de norme NF T72-110 pour l'activité bactéricide sur *Escherichia coli* dans les conditions de l'essai.

## V.II Activité fongicide et levuricide du dispositif de désinfection par la vapeur

### A. *Aspergillus brasiliensis*

#### a. Essais préliminaires

Témoins inhibiteur	n1_C4	n1_C5	n1_C5
	$< 1,4 \cdot 10^7$	$< 1,4 \cdot 10^7$	$< 1,4 \cdot 10^7$
Validation	$> 0,5 \cdot N1 = 3,0 \cdot 10^6$	$> 0,5 \cdot N1 = 3,0 \cdot 10^6$	$> 0,5 \cdot N1 = 3,0 \cdot 10^6$
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non

Explications :

- $n1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la solution de recueil des surfaces exposées non inoculés (UFC/mL) mise en contact avec la suspension d'essai
- $N1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la suspension d'essai (UFC/mL)

Dans les conditions de l'essai, les potentiels résidus de la vapeur n'ont pas d'effets résiduels sur la gélose. La vapeur n'induit pas d'effet inhibiteur sur la moisissure *Aspergillus brasiliensis* dans les conditions de l'essai une fois l'activité du produit arrêtée.

#### b. Suspension d'essai et surfaces témoins

##### Suspension d'essai (N)

Suspension d'essai	
N1	$5,9 \cdot 10^6$
N2	$5,1 \cdot 10^6$
$5 \cdot 10^6 \leq N1 \leq 1 \cdot 10^7$ <input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- $N1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la suspension d'essai (UFC/mL)
- $N2$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement sur membrane de la suspension d'essai (UFC/mL)

### Surfaces témoin (T)

Surface témoin	T	Log T
	1,1.10 <sup>5</sup>	5,0
Validation	Log T ≥ 4+1 LOG	
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- T = Moyenne du nombre de moisissures dans les 10 mL de milieu de récupération des trois surfaces témoins inoculées mais non exposées (C4, C5 et C6).

### Surface témoin effet mécanique (T<sub>EM</sub>)

Surface témoin	T <sub>EM</sub>	Log T <sub>EM</sub>
	1,1.10 <sup>5</sup>	5,0
Validation	Log T ≥ 4+1 LOG	
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- T<sub>EM</sub> = Moyenne du nombre de moisissures dans les 10 mL de milieu de récupération des trois surfaces témoins inoculées, non soumises à l'effet de la vapeur mais soumises à l'effet mécanique de l'accessoire (poids et mouvement de l'accessoire).

### c. Essai

Essais	n'1	Log n'1	d
Essai C4	0	< 1	<b>5,0</b>
Essai C5	0	< 1	<b>5,0</b>
Essai C6	0	< 1	<b>5,0</b>

Explications :

- n'1 = nombre de colonies dans 10 mL de liquide de récupération des trois surfaces inoculées et exposées
- d = réduction logarithmique pour chaque support d'essai :  $\log T_{EM} - \log n'1$

Essais	n'	Validation Surface C1-C3 et C7-C15 < 10 UFC
Essai C1	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C2	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C3	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C7	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C8	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C9	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C10	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C11	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C12	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C13	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C14	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C15	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non

*Explications :*

- n'2 = nombre de colonies écouvillonnées directement sur les surfaces C1 à C3 et C7 à C15 non inoculées mais exposées.

Le couple générateur accessoire Box vapeur évalué selon le protocole du projet de norme NF T72-110 présente une activité bactéricide sur la moisissure *Aspergillus brasiliensis* **supérieure à 4 LOG** (5,0 LOG) en condition de saleté du domaine médical (3g/L BSA + 3mL/L d'érythrocytes de moutons défibrinés).

Le dispositif de désinfection à la vapeur **est conforme** aux exigences du projet de norme NF T72-110 pour l'activité fongicide sur *Aspergillus brasiliensis* dans les conditions de l'essai.

## B. *Candida albicans*

### a. Essais préliminaires

Témoins inhibiteur	n1_C4	n1_C5	n1_C5
	$< 1,4.10^8$	$< 1,4.10^8$	$< 1,4.10^8$
Validation	$> 0,5*N1 = 2,3.10^7$	$> 0,5*N1 = 2,3.10^7$	$> 0,5*N1 = 2,3.10^7$
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non

Explications :

- $n1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la solution de recueil des surfaces exposées non inoculés (UFC/mL) mise en contact avec la suspension d'essai
- $N1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la suspension d'essai (UFC/mL)

Dans les conditions de l'essai, les potentiels résidus de la vapeur n'ont pas d'effets résiduels sur la gélose. La vapeur n'induit pas d'effet inhibiteur sur la levure *Candida albicans* dans les conditions de l'essai une fois l'activité du produit arrêtée.

### b. Suspension d'essai et surfaces témoins

#### Suspension d'essai (N)

Suspension d'essai	
N1	$4,5.10^7$
N2	$5,0.10^7$
$2.10^7 \leq N1 \leq 1.10^8$ <input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- $N1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement en gélose de la suspension d'essai (UFC/mL)
- $N2$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement sur membrane de la suspension d'essai (UFC/mL)

### Surface témoin (T)

Surface témoin	T	Log T
	$3,7.10^5$	5,6
Validation	Log T $\geq$ 4+1 LOG	
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

#### Explications :

- T = Moyenne du nombre de levures dans les 10 mL de milieu de récupération des trois surfaces témoins inoculées mais non exposées (C4, C5 et C6).

### Surfaces témoin effet mécanique (T<sub>EM</sub>)

Surface témoin	T <sub>EM</sub>	Log T <sub>EM</sub>
	$1,0.10^5$	5,0
Validation	Log T $\geq$ 4+1 LOG	
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

#### Explications :

- T<sub>EM</sub> = Moyenne du nombre de levures dans les 10 mL de milieu de récupération des trois surfaces témoins inoculées, non soumises à l'effet de la vapeur mais soumises à l'effet mécanique de l'accessoire (poids et mouvement de l'accessoire).

### c. Essai

Essais	n'1	Log n'1	d
Essai C4	0	< 1	<b>5,0</b>
Essai C5	0	< 1	<b>5,0</b>
Essai C6	0	< 1	<b>5,0</b>

#### Explications :

- n'1 = nombre de colonies dans 10 mL de liquide de récupération des trois surfaces inoculées et exposées
- d = réduction logarithmique pour chaque support d'essai :  $\log T_{EM} - \log n'1$

Essais	n'	Validation Surface C1-C3 et C7-C15 < 10 UFC
Essai C1	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C2	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C3	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C7	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C8	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C9	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C10	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C11	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C12	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C13	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C14	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C15	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non

*Explications :*

- n'2 = nombre de colonies écouvillonnées directement sur les surfaces C1 à C3 et C7 à C15 non inoculées mais exposées.

Le couple générateur accessoire Box vapeur évalué selon le protocole du projet de norme NF T72-110 présente une activité bactéricide sur la levure *Candida albicans* **supérieure à 4 LOG** (5,0 LOG) en condition de saleté du domaine médical (3g/L BSA + 3mL/L d'érythrocytes de moutons défibrinés).

Le dispositif de désinfection à la vapeur **est conforme** aux exigences du projet de norme NF T72-110 pour l'activité levuricide sur *Candida albicans*.

### V.III Activité mycobactéricide du dispositif de désinfection par la vapeur

#### A. *Mycobacterium terrae*

##### a. Essais préliminaires

Témoins inhibiteur	n1_C4	n1_C5	n1_C5
	$< 1,4 \cdot 10^8$	$< 1,4 \cdot 10^8$	$< 1,4 \cdot 10^8$
Validation	$> 0,5 \cdot N1 = 3,2 \cdot 10^7$	$> 0,5 \cdot N2 = 3,2 \cdot 10^7$	$> 0,5 \cdot N1 = 3,2 \cdot 10^7$
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non

Explications :

- $n1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement sur gélose de la solution de recueil des surfaces exposées non inoculés (UFC/mL) mise en contact avec la suspension d'essai
- $N1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement sur gélose de la suspension d'essai (UFC/mL)

Dans les conditions de l'essai, les potentiels résidus de la vapeur n'ont pas d'effets résiduels sur la gélose. La vapeur n'induit pas d'effet inhibiteur sur la mycobactérie *Mycobacterium terrae* dans les conditions de l'essai une fois l'activité du produit arrêtée.

##### b. Suspension d'essai et surfaces témoins

###### Suspension d'essai (N)

Suspension d'essai	
N1	$6,5 \cdot 10^7$
N2	$5,6 \cdot 10^7$
$1 \cdot 10^7 \leq N1 \leq 1 \cdot 10^8$ <input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- $N1$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement sur gélose de la suspension d'essai (UFC/mL)
- $N2$  = nombre de colonies obtenues par dénombrement sur membrane de la suspension d'essai (UFC/mL)

Surface témoin (T)

Surface témoin	T	Log T
	$6,0.10^7$	6,8
Validation	Log T $\geq$ 4+1 LOG	
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- T = Moyenne du nombre de mycobactéries dans les 10 mL de milieu de récupération des trois surfaces témoins inoculées mais non exposées (C4, C5 et C6).

Surface témoin effet mécanique (T<sub>EM</sub>)

Surface témoin	T <sub>EM</sub>	Log T <sub>EM</sub>
	$6,8.10^7$	6,8
Validation	Log T $\geq$ 4+1 LOG	
	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non	

Explications :

- T<sub>EM</sub> = Moyenne du nombre de mycobactéries dans les 10 mL de milieu de récupération des trois surfaces témoins inoculées, non soumises à l'effet de la vapeur mais soumises à l'effet mécanique de l'accessoire (poids et mouvement de l'accessoire).

## c. Essai

Essais	n'1	Log n'1	d
Essai C4	> 165	> 2,3	< 4,5
Essai C5	> 165	> 2,3	< 4,5
Essai C6	$2,2.10^3$	3,4	3,4

Explications :

- n'1 = nombre de colonies dans 10 mL de liquide de récupération des trois surfaces inoculées et exposées
- d = réduction logarithmique pour chaque support d'essai :  $\log T_{EM} - \log n'1$

Essais	n'	Validation Surface C1-C3 et C7-C15 < 10 UFC
Essai C1	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C2	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C3	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C7	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C8	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C9	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C10	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C11	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C12	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C13	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C14	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Essai C15	< 10 UFC	<input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non

*Explications :*

- n' = nombre de colonies écouvillonnées directement sur les surfaces C1 à C3 et C7 à C15 non inoculées mais exposées.

Le couple générateur accessoire Box vapeur évalué selon le protocole du projet de norme NF T72-110 présente une activité bactéricide sur la mycobactérie *Mycobacterium terrae* **supérieure à 4 LOG** (4,1 LOG) en condition de saleté du domaine médical (3g/L BSA + 3mL/L d'érythrocytes de moutons défibrinés).

Le dispositif de désinfection à la vapeur **est conforme** aux exigences du projet de norme NF T72-110 pour l'activité bactéricide sur *Mycobacterium terrae* dans les conditions de l'essai.

## V.IV Activité virucide du dispositif de désinfection par la vapeur

### A. Norovirus murin de type 1

#### a. Essais préliminaires

Témoins	Solution d'essai	Niveau de cytotoxicité	LOG DICT50/mL	Validation
Arrêt de l'activité de produit	S-C4	< 0,5	8,5	Différence avec MI < 0,5 LOG <input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
	S-C5	< 0,5	8,5	
	S-C6	< 0,5	8,5	
	Milieu infection	< 0,5	8,5	
Sensibilité des cellules	S-C4	< 0,5	8,7	Différence avec MI < 1 LOG <input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
	S-C5	< 0,5	9,0	
	S-C5	< 0,5	8,5	
	Milieu infection	< 0,5	9,3	

#### Explications :

- S-C4 = solution de récupération de la surface C4 témoin non inoculée avec du virus mais exposée
- S-C5 = solution de récupération de la surface C5 témoin non inoculée avec du virus mais exposée
- S-C6 = solution de récupération de la surface C6 témoin non inoculée avec du virus mais exposée
- Milieu infection (MI) = solution de récupération d'un support témoin non inoculé avec du virus et non exposé au DDV

Dans les conditions de l'essai, la vapeur ne provoque pas d'effets cytopathogènes (ECP) sur les cellules RAW 264.7.

Dans les conditions de l'essai, la vapeur n'affecte pas la sensibilité des cellules RAW 264.7 à l'infection par le virus MNV-1.

La récupération des supports d'essai avec 10 mL de milieu froid sans SVF permet d'arrêter efficacement l'action du produit biocide sur le virus MNV-1.

#### b. Essai et surfaces témoins

### Surfaces témoins

Essai	Cytotoxicité	LOG DICT50	Validation
Surface témoin C4	n.a	6,7	n.a
Surface témoin C5		6,5	
Surface témoin C6		6,1	
Surface T <sub>EM</sub> C4	n.a	6,5	T <sub>EM</sub> ≥ 4 LOG <input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Surface T <sub>EM</sub> C5		6,5	
Surface T <sub>EM</sub> C6		6,1	

#### Explications :

- Support témoin : surface inoculée non exposée au DDV
- Support T<sub>EM</sub> support témoin non exposé à la vapeur mais soumises à l'effet mécanique de l'accessoire (poids et mouvement de l'accessoire).
- n.a : non applicable

Dans les conditions de l'essai, l'accessoire associé au générateur Box vapeursans la vapeur n'a pas d'effet mécanique sur le norovirus murin (MNV-1).

### Essai

Essai	Cytotoxicité	LOG DICT50	Réduction LOG DICT50
Essai 1	< 0,5	< 0,5	<b>6,4</b>
Essai 2	< 0,5	< 0,5	<b>6,4</b>
Essai 3	< 0,5	< 0,5	<b>6,4</b>

#### Explications :

- Surface essai : surface inoculée et exposée au DDV
- Réduction log = LOG DICT50 surface T<sub>EM</sub> - LOG surface essai
- n.a : non applicable

Le couple générateur accessoire Box vapeur évalué selon le protocole du projet de norme NF T72-110 présente une activité virucide sur le virus MNV-1 **supérieure à 4 LOG** (6,4 LOG) en condition de saleté du domaine médical (3g/L BSA + 3mL/L d'érythrocytes de moutons défibrinés).

Le dispositif de désinfection à la vapeur **est conforme** aux exigences du projet de norme NF T72-110 pour l'activité virucide sur le norovirus murin (MNV-1) dans les conditions de l'essai.

## B. Adénovirus de type-5

### a. Essais préliminaires

Témoins	Solution d'essai	Niveau de cytotoxicité	LOG DICT50/mL	Validation
Arrêt de l'activité de produit	S-C4	< 0,5	8,5	Différence avec MI < 0,5 LOG <input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
	S-C5	< 0,5	8,3	
	S-C6	< 0,5	8,3	
	Milieu infection	< 0,5	8,5	
Sensibilité des cellules	S-C4	< 0,5	8,3	Différence avec MI < 1 LOG <input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
	S-C5	< 0,5	8,5	
	S-C5	< 0,5	8,5	
	Milieu infection	< 0,5	8,5	

#### Explications :

- S-C4 = solution de récupération de la surface C4 témoin non inoculée avec du virus mais exposée
- S-C5 = solution de récupération de la surface C5 témoin non inoculée avec du virus mais exposée
- S-C6 = solution de récupération de la surface C6 témoin non inoculée avec du virus mais exposée
- Milieu infection (MI) = solution de récupération d'un support témoin non inoculé avec du virus et non exposé au DDV

Dans les conditions de l'essai, la vapeur ne provoque pas d'effets cytopathogènes (ECP) sur les cellules A549.

Dans les conditions de l'essai, la vapeur n'affecte pas la sensibilité des cellules A549 à l'infection par l'adénovirus humain de type 5.

La récupération des supports d'essai avec 10 mL de milieu froid sans SVF permet d'arrêter efficacement l'action du produit biocide sur l'adénovirus humain de type 5.

### b. Essai et surfaces témoins

Surfaces témoins :

Essai	Cytotoxicité	LOG DICT50	Validation
Surface témoin C4	n.a	5,7	n.a
Surface témoin C5		5,2	
Surface témoin C6		5,5	
Surface T <sub>EM</sub> C4	n.a	5,9	T <sub>EM</sub> ≥ 4 LOG <input checked="" type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non
Surface T <sub>EM</sub> C5		5,3	
Surface T <sub>EM</sub> C6		5,5	

*Explications :*

- *Support témoin : surface inoculée non exposée au DDV*
- Support T<sub>EM</sub> support témoin non exposé à la vapeur mais soumises à l'effet mécanique de l'accessoire (poids et mouvement de l'accessoire).*
- *n.a : non applicable*

Dans les conditions de l'essai, l'accessoire associé au générateur Box vapeursans la vapeur n'a pas d'effet mécanique sur l'adénovirus de type 5.

Essai :

Essai	Cytotoxicité	LOG DICT50	Réduction LOG DICT50
Essai 1	< 0,5	< 0,5	<b>5,6</b>
Essai 2	< 0,5	< 0,5	<b>5,6</b>
Essai 3	< 0,5	< 0,5	<b>5,6</b>

*Explications :*

- *Surface essai : surface inoculée et exposée au DDV*
- *Réduction log = LOG DICT50 surface T<sub>EM</sub> – LOG surface essai*
- *n.a : non applicable*

Le couple générateur accessoire Box vapeurévalué selon le protocole du projet de norme NF T72-110 présente une activité virucide sur l'adénovirus humain de type 5 **supérieure à 4 LOG** (5,6 LOG) en condition de saleté du domaine médical (3g/L BSA + 3mL/L d'érythrocytes de moutons défibrinés).

Le dispositif de désinfection à la vapeur **est conforme** aux exigences du projet de norme NF T72-110 pour l'activité virucide sur l'adénovirus humain de type 5 dans les conditions de l'essai.

## VI. ANNEXES

### VI.I Matériels et réactifs

#### A. Activités bactéricides

##### a. Suspensions d'essai

Les suspensions d'essai ont été préparées à partir de solutions fraîches de bactéries :

- *Staphylococcus aureus* (référence : ATCC\_ 6538, lot n° 052-001-W03)

- Suspension initiale : concentration comprise entre  $5.10^7$  et  $2.10^9$  UFC/mL dans du PBS (Tampon phosphate, Lonza, lot n°6MB231, 12/2018)

- *Escherichia coli* (référence : ATCC\_10536, lot n° 052-006-W01)

- Suspension initiale : concentration comprise entre  $5.10^7$  et  $2.10^9$  UFC/mL dans du PBS (Tampon phosphate, Lonza, lot n°6MB231, 12/2018)

##### b. Méthode de quantification

Dénombrement en profondeur :

- Déposer 1 mL d'échantillon
- Répartir 12 à 15 mL du milieu gélosé liquide (gélose TSA, Conda, lot n°610181, 10/2020), préalablement stérilisé par autoclave dans les boîtes de pétri
- Placer les boîtes inoculées lors de l'essai à l'étuve à 37°C durant 24 à 48 heures.

#### B. Activités fongicide et levuricide

##### a. Suspensions d'essai

Les suspensions d'essai ont été préparées à partir de solutions fraîches de moisissures :

- *Aspergillus brasiliensis* (référence : ATCC\_16404, lot n° 017-001-M03)

- Suspension initiale : concentration comprise entre  $5.10^6$  et  $1.10^7$  UFC/mL dans du PBS (Tampon phosphate, Lonza, lot n°6MB231, 12/2018)

- *Candida albicans* (référence : ATCC\_10231, lot n° 017-001-M04)

- Suspension initiale : concentration comprise entre  $2.10^7$  et  $1.10^8$  UFC/mL dans du PBS (Tampon phosphate, Lonza, lot n°6MB231, 12/2018)

## b. Méthode de quantification

### Dénombrement en profondeur

- Déposer 1 mL d'échantillon
- Répartir 12 à 15 mL du milieu gélosé liquide (gélose extrait de malt, Oxoid, lot n°1998265, 02/2022), préalablement stérilisé par autoclave dans les boîtes de pétri
- Placer les boîtes inoculées lors de l'essai à l'étuve à 25°C durant 48 à 72 heures.

## C. Activités Mycobactéricide

### a. Suspensions d'essai

Les suspensions d'essai ont été préparées à partir de solutions fraîches de mycobactéries :

- *Mycobacterium terrae* (référence : ATCC\_15755, lot n° 052-009-W01)
  - o Suspension initiale : concentration comprise entre  $1.10^7$  et  $1.10^8$  UFC/mL dans du PBS (Tampon phosphate, Lonza, lot n°6MB231, 12/2018)

## b. Méthode de quantification

### Dénombrement sur surface

- Déposer 500  $\mu$ L d'échantillon sur une boîte de gélose Middlebrook 7H10 déjà coulée (BD, lot n° 7186263, 25/04/2018), étaler le dépôt à l'aide de billes stériles.
- Placer les boîtes inoculées lors de l'essai à l'étuve à 37°C durant 8 jours.

## D. Activité virucide

### a. Suspensions d'essai

#### Lignées cellulaires

Nom: Cellules RAW 264.7 (macrophage) ATCC®-TIB-71™ (lot n°323142)

Nombre de passages : 6

Milieu de culture : DMEM 1,0 g/L (Lonza, lot n°000515663, 11/2018) complétementé avec 10% de SVF (Dutscher, lot n° S11971S1810), 1% d'antibiotiques (Lonza, lot n° 6MB152, 09/2018) et 1% de L-glutamine (Lonza, lot n° 6MB149, 08/2018)

Nom : A549 (carcinome de poumons), ATCC®- CCL-185TM (lot n°58314291)

Nombre de passages : 4 et 8

Milieu de culture : DMEM 1,0 g/L (Lonza, lot n°000515663, 11/2018) complétementé avec 10% de SVF (Dutscher, lot n° S11971S1810), 1% d'antibiotiques (Lonza, lot n° 6MB152, 09/2018) et 1% de L-glutamine (Lonza, lot n° 6MB149, 08/2018)

### Souches virales

Nom : norovirus murin de type 1 (MNV-1)

Numéro de lot : 1611N\_005

Méthode de quantification :

- Réalisation des dilutions dans du milieu d'infection DMEM 1,0 g/L (Lonza, lot n°000515663, 11/2018) complétementé avec 10% de SVF (Dutscher, lot n° S11971S1810), 1% d'antibiotiques (Lonza, lot n° 6MB152, 09/2018) et 1% de L-glutamine (Lonza, lot n° 6MB149, 08/2018)
- Dépôt de 100µL de chaque dilution dans 8 puits des microplaques de culture cellulaire (RAW 264.7)
- Incubation 3-5 jours à 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>

Nom : Adénovirus type-5 (Ad5)

Numéro de lot : 1610Ad\_002

Méthode de quantification :

- Réalisation de dilutions dans du milieu d'infection DMEM 1,0 g/L (Lonza, lot n°000515663, 11/2018) complétementé avec 2% de SVF (Dutscher, lot n° S11971S1810), 1% d'antibiotiques (Lonza, lot n° 6MB152, 09/2018) et 1% de L-glutamine (Lonza, lot n° 6MB149, 08/2018)
- Dépôt de 100µL de chaque dilution dans 8 puits des microplaques de culture cellulaire (A549)
- Incubation 7 jours à 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>

## E. Préparation des réactifs

### a. Supports d'essai

Préparation du support de PVC (revêtement en polyuréthane) (20x50 cm de diamètre), surface plane, non poreuse, épaisseur de 2,5 mm :

- Rincer à l'éthanol à 70% et sécher sous PSM

b. Substances interférentes

- Condition de saleté dans le domaine médical :
  - o Dissoudre 3 g de BSA dans 100 mL d'eau stérile (Aguettant, lot n°3011178), stérilisation par filtration sur membrane 0,2 µM.
  - o Centrifuger les érythrocytes de mouton défibriné frais (SR0051B ; OXOID) à 800g pendant 10min. Eliminer le surnageant, suspendre les érythrocytes dans une solution saline (PBS). Répéter ce mode opératoire au moins trois fois (jusqu'à ce que le surnageant soit incolore).
  - o Mettre en suspension 3 ml d'érythrocytes concentrés dans 97 ml de solution d'albumine bovine 3 % (m/v).

c. Réactifs pour le dénombrement en profondeur

Utilisation de la gélose TSA pour les bactéries :

- o Tryptic Soy Agar (Conda, lot n°610181, 10/2020) à 40g/L
- o Stériliser par autoclavage 121°C pendant 15 minutes

Utilisation de gélose à l'extrait de malt pour les moisissures :

- o Extrait de malt (Oxoid, lot n°1998265, 02/2022) à 50g/L
- o Stériliser par autoclavage 121°C pendant 15 minutes

Utilisation du TSB comme diluant pour les bactéries, les moisissures et les mycobactéries:

- o Tryptic Soy Both (Conda, lot n°610181, 10/2020) à 30g/L
- o Stériliser par autoclavage 121°C pendant 15 minutes

d. Réactifs pour le dénombrement en surface pour les mycobactéries

Utilisation de boîtes de gélose 7HT10 déjà coulées :

- Milieu Middlebrook et Cohn 7H10+10% complexe dextrose albumine, acide oléique (BD, lot n° 7186263, 18/10/2017)

e. Milieu de récupération pour les bactéries, les moisissures et les mycobactéries

Préparation du liquide de récupération dans une solution de TSB et stérilisation par autoclavage après ajout :

- o TSB (Tryptic Soy Broth, Conda, lot n°610181, 10/2020) à 30g/L
- o Polysorbate 80 (Sigma Aldrich, lot n° BCBP2881V) à 5g/L
- o Conserver à 4°C