

NORME UNE 13697:2015 – activité bactéricide
NORME UNE 13697:2015 – activité fongicide NORME UNE
14476:2014 + A1 – activité virucide

Appareil: AVATAR by Ecofrog



Réalisation de l'essai : 11/11/2020 et 20/11/2020

Rapport analytique : 22897/20

Objectif

Ces essais sont effectués pour **évaluer et certifier l'activité bactéricide, fongicide et virucide** de l'eau ozonée générée sur place par l'appareil étudié, conformément aux normes suivantes:

- La norme UNE 13697:2015 - 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'agroalimentaire, dans l'industrie, dans les domaines domestiques et en collectivité.

- La norme UNE 14476:2014 + A1 - Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical. Le virus du papillome humain a été inclus de surcroît dans cet essai.

L'appareil faisant l'objet de l'étude a été **AVATAR by Ecofrog** (N° de série : W04-20/06/0002846) fourni par **Servipro 2.0. S.L.**

ESSAI D'ACTIVITÉ BACTÉRICIDE ET FONGICIDE

Norme UNE 13697:2015

La méthode stipulée dans cette norme pour évaluer l'activité bactéricide et fongicide de l'eau ozonée sur des surfaces repose sur la détermination des microorganismes qui survivent à l'action de celle-ci après l'avoir appliquée sur une surface contaminée au préalable.

À cette fin, une solution contenant des bactéries et des champignons ainsi que des substances interférentes est préparée et appliquée sur une surface en acier inoxydable pour former un film qui est ensuite séché.

L'eau ozonée faisant l'objet de l'étude est ensuite appliquée à différentes concentrations de manière à recouvrir le film sec tout en maintenant une température spécifique et pendant une période de temps définie. L'essai est effectué aux concentrations suivantes : 100 %, 95 % et 90 %.

L'étape suivante consiste à transférer la surface vers un milieu de neutralisation préalablement validé afin de neutraliser immédiatement l'action désinfectante de l'eau ozonée. De cette manière, le nombre de microorganismes survivants qui peuvent être récupérés sur la surface est déterminé quantitativement.

Parallèlement, le nombre de bactéries et de champignons sur une surface traitée avec de l'eau dure (300 mg/kg de CaCo₃) au lieu de l'eau ozonée est également déterminé et la réduction des comptages viables attribuée au produit est calculée par différence.

La substance interférente utilisée est une solution aqueuse d'albumine bovine (3 g/l) qui simule les impuretés pouvant se trouver sur une surface apparemment propre à désinfecter.

- Les neutralisants utilisés ont été la lécithine (3 g/l), le polysorbate (30 ml/l), le thiosulfate de sodium (5 g/l), et la L-histidine (1 g/l) sur un tampon phosphate de 0,0025 N.

Les souches bactériennes et fongiques utilisées ont été les suivantes:

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15 442
- *Escherichia coli* ATCC 10 536
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6 538
- *Enterococcus hirae* ATCC 10 541
- *Candida albicans* ATCC 10 231
- *Aspergillus niger* ATCC 16 404

L'essai a été réalisé à une température comprise entre $18\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ et $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

Les temps de contact pour les souches bactériennes ont été de 5 minutes \pm 10 secondes et les températures d'incubation ont été de $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

Dans le cas des souches fongiques, les temps de contact ont été de 15 minutes \pm 10 secondes et les températures d'incubation de $30\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

Résultats et conclusions

Les tableaux suivants présentent les **résultats** de l'essai :

Microorganismo	Suspensión fungicida	Ensayo validación		Control agua Nc	Procedimiento de ensayo a la concentración %		
		NT	NC		1	3	4
Candida albicans ATCC 10 231	(10-5) 255,25 (10-6) 26,22 N:5,76	(10-3) 117,12 (10-4) 12,12 NT:6,05	(10-3) 100,10 (10-4) 12,10 NT: 5,86	10-3 88,87 10-4 7, 6 10-5 0, 0 Nc: 5,93 Nts: >100	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83
	Aspergillus niger ATCC 16 404	(10-5) 255,25 (10-6) 24,20 N:5,8	(10-3) 117,12 (10-4) 12,12 NT:6,08	(10-3) 100,10 (10-4) 9,13 NT:6,01	10-3 86, 84 10-4 8, 8 10-5 0, 0 Nc: 5,93 Nts: >100	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 5,83

Microorganismo	Suspensión bacteriana	Ensayo validación		Control agua Nc	Procedimiento de ensayo a la concentración %		
		NT	NC		1	3	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15 442	(10-6) 236,23 (10-7) 23,19 N:6,77	(10-3) 102,10 (10-4) 10,14 10-5 0, 0 NT:6,01	(10-3) 113,11 (10-4) 10,11 10-5 0, 0 NT:6,05	10-3 >300, >300 10-4 135, 122 10-5 13, 13 Nc: 7,11 Nts: >100	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,01	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,01	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,01
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10 536	(10-6) 219,22 (10-7) 21,21 N:6,74	(10-3) 124,12 (10-4) 9,12 10-5 0, 0 NT:6,1	(10-3) 109,10 (10-4) 13,14 10-5 0, 0 NT:6,04	10-3 >300, >300 10-4 152, 157 10-5 15,14 Nc: 7,19 Nts: >100	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,09	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,09	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,09
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6 538	(10-6) 224,22 (10-7) 21,21 N:6,75	(10-3) 118,11 (10-4) 13,16 10-5 0, 0 NT:6,07	(10-3) 124,12 (10-4) 12,9 10-5 0, 0 NT:6,09	10-3 >300, >300 10-4 163, 162 10-5 15, 14 Nc: 7,21 Nts: >100	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,11	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,11	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,11
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10 541	(10-6) 229,23 (10-7) 20,16 N:6,75	(10-3) 98,98 (10-4) 13,16 10-5 0, 0 NT:5,99	(10-3) 114,11 (10-4) 10,12 10-5 0, 0 NT:6,05	10-3 >300, >300 10-4 148, 145 10-5 13, 13 Nc: 7,16 Nts: >100	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,06	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,06	10-0 0, 0 10-1 0, 0 10-2 0, 0 Nd: < 0,10 Nts: 0 R: > 7,06

N : logarithme décimal du nombre d'ufc pour 0,05 ml de la suspension de l'essai.

NT : logarithme décimal du nombre d'ufc par surface de test de l'essai de neutralisation.

NC : logarithme décimal du nombre d'ufc par surface d'essai témoin de neutralisation.

Nc : logarithme décimal du nombre d'ufc par surface d'essai pour le contrôle de l'eau.

Nd : logarithme décimal du nombre d'ufc par surface d'essai pour l'essai du désinfectant. R : effet microbicide.

En **conclusion**, l'eau ozonée de l'appareil étudié :

- Est conforme à la norme UNE-EN-13697 (bactéricide) dans des conditions sales, à des concentrations de 100 %, 95 % et 90 % pour un temps de contact de 5 minutes contre : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Enterococcus hirae*.
- Est conforme à la norme UNE-EN-13697 (fongicide) dans des conditions sales, à des concentrations de 100 %, 95 % et 90 % pour un temps de contact de 15 minutes contre : *Gandida albicans* et *Aspergillus niger*.

ESSAI D'ACTIVITÉ VIRUCIDE Norme UNE 14476:2014+A1

Méthodologie

La méthode stipulée dans cette norme pour évaluer l'activité virucide de l'eau ozonée repose sur le calcul de la réduction de l'infektivité de différents virus qui ont été soumis à l'action de l'eau ozonée.

À cette fin, une solution est préparée avec différents types de virus ainsi que des substances interférentes à appliquer à l'échantillon d'eau ozonée pure et/ou diluée avec de l'eau dure (300 mg/kg de CaCo₃). L'essai est effectué aux concentrations suivantes : 100 %, 95 % et 90 %.

Le mélange est maintenu à une température spécifique et pendant une période de temps définie. Au terme du temps de contact, une aliquote du mélange est prélevée et l'action virucide de l'eau ozonée est immédiatement neutralisée en appliquant une méthode validée (dilution de l'échantillon dans un milieu de maintien cellulaire à la température de la glace).

Les différentes dilutions sont transférées dans des cultures cellulaires (boîtes de Pétri, tubes ou puits de plaques de microtitration) soit en monocouche, soit en suspension cellulaire. Les essais d'infektivité sont effectués soit par des essais sur plaques, soit par des essais par quanta.

Après incubation, et en appliquant la méthode de Spearman-Kärber ou les comptages des plaques, les titres d'infektivité sont calculés et évalués.

La réduction de l'infektivité du virus est calculée à partir des différences entre les logarithmes des titres viraux avant (témoin du virus) et après le traitement avec l'eau ozonée.

La substance interférente utilisée est une solution aqueuse d'albumine bovine (3 g/l) qui simule la saleté qui peut être présente dans le milieu à désinfecter dans lequel les virus sont en suspension.

L'essai a été réalisé à une température comprise entre 20 °C ± 1 °C et 70 °C ± 1 °C.

Les temps de contact ont été de 5, 15, 30 et 60 minutes ± 10 secondes.

Les températures d'incubation ont été de 36 °C ± 1 °C et 37 °C ± 1 °C.

Résultats

L'eau ozonée de l'appareil mentionné ci-dessus est conforme à la norme EN-14476:2014 + A1 pour les concentrations et les temps d'action suivants:

Dans des conditions propres pour

- ECBO virus 100 % 5 min.
- Rotavirus 100 % 15 min.
- Vaccina virus 100 % 5 min.
- Polyomavirus SV 40 100 % 5 min.
- Bactériophages pour Lactobacillus 95 % 15 min.
- Poliovirus 95 % 5 min.
- Adénovirus 100 % 5 min.
- Norovirus 100 % 5 min.
- Hépatite B (HBV) 100 % 5 min.

Dans des conditions sales pour

- Virus de la grippe A (H7N9) 100 % 15 min.
- Coronavirus 100 % 5 min.
- Virus du papillome humain (VPH) : 100 % 5 min.

Oviedo, le 23 novembre 2020

Oviedo, 23 de Noviembre de 2020



inoQua Instituto
de SALUD ALIMENTARIA

Sara Aguirre Bastarrica

Diplômée en Médecine vétérinaire - Affiliée 33/1616 inoQua |
Instituto de Salud Alimentaria

Remarques:

- Les résultats de cet essai n'attestent que des échantillons analysés.
- Ce rapport ne peut être reproduit en totalité ou en partie sans l'autorisation écrite préalable de l'auteur.
- Les échantillons ont été analysés dans un laboratoire autorisé par le ministère régional de la Santé et des Services sanitaires de la Principauté des Asturies, en tant que laboratoire privé indépendant d'analyse et de contrôle sanitaire des aliments, de l'eau et des boissons, avec le numéro d'enregistrement 05/O de février 1997, accrédité par l'ENAC, conformément à la norme UNE-EN ISO/IEC 17025 pour la réalisation d'essais dans le secteur de l'environnement, conformément à l'accréditation 780/LE1514 depuis mars 2010, et organisme collaborateur de l'Administration hydraulique en matière de contrôle et de surveillance de la qualité des eaux et de gestion des rejets dans le domaine public hydraulique, en vertu de l'ordonnance MAM/985/2006.