

ICARE

Biopôle Clermont-Limagne – BP60006
63360 SAINT BEAUZIRE
Tél : 04.73.33.99.99 - Fax : 04.73.33.99.77

I – OBJECTIF ET APPROCHE

L'objet de cette étude est d'évaluer la méthode de nettoyage/décontamination de bonbonnes plastiques de 18,9 l en utilisant une souche de *Pseudomonas aeruginosa* sauvage.

II – MATERIEL FOURNI PAR CHÂTEAU D'EAU

Bonbonne plastique de 18,9 l vide.

III – REFERENCES

Les méthodes d'essai utilisées pour cette étude sont les suivantes :

1. NF EN ISO 6222 (1999) : Qualité de l'eau – Dénombrement des microorganismes revivifiables.
2. NF EN 12780 (2002) : Qualité de l'eau – Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* par filtration sur membrane.
3. Chapitre 2.6.14. Pharmacopée européenne 5^e édition : Essai des endotoxines bactériennes par colorimétrie cinétique.

IV – METHODE D'ESSAI

IV – 1 – PREPARATION DE L'INOCULUM

1. Inoculer 1000 ml de bouillon trypticase soja avec *Pseudomonas aeruginosa* sauvage et incubé 48 heures à 37°C.
2. Transférer 40 ml de culture précédente dans 1 flacon contenant 1 000 ml de bouillon trypticase soja et incubé 48 heures à 37°C.

IV – 2 – PREPARATION DU BIOFILM DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ET PRELEVEMENTS

1. Remplir la bonbonne avec 18 litres d'eau de source.
2. Contaminer la bonbonne avec 1 000 ml de bouillon trypticase soja contaminés avec *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Laisser la bonbonne à température ambiante pendant 3 jours.
4. Vider et rincer avec 1000 ml d'eau distillée la bonbonne en prenant soin de récupérer son contenu et les eaux de rinçage pour décontamination par autoclave vapeur.
5. Soumettre le liquide à une forte agitation pendant 30 secondes.

ICARE

Biopôle Clermont-Limagne – BP60006
63360 SAINT BEAUZIRE
Tél : 04.73.33.99.99 - Fax : 04.73.33.99.77

6. Vider et introduire 1000 ml d'eau distillée stérile exempte d'endotoxines dans la bonbonne.
7. Soumettre le liquide à une forte agitation pendant 30 secondes.
8. Récupérer environ 2 x 100 ml de liquide dans un récipient stérile exempt d'endotoxines.
9. Vider le restant du liquide et reboucher la bonbonne avec un bouchon neuf.
10. Décontaminer l'extérieur de la bonbonne à l'alcool à 70°C.
11. Signer au marqueur indélébile la bonbonne avant expédition.
12. Évaluer la contamination des prélèvements en effectuant :
 - dénombrement de la flore totale à 36°C de la dilution 10^{-1} à 10^{-4} ,
 - recherche de la présence de *Pseudomonas aeruginosa* sur 1 millilitre par filtration,
 - dosage des endotoxines à la dilution 1/1000.
13. Expédier la bonbonne à l'usine Passy Copernic pour traitement.

IV – 3 – PARAMETRES DE NETTOYAGE

La bonbonne a été nettoyée par l'usine Passy Copernic.

IV – 4 – ANALYSE APRES TRAITEMENT

Effectuer, après au moins trois jours de conservation à température ambiante après réception chez ICARE, la recherche de *Pseudomonas aeruginosa* sur 1 litre de chaque bonbonne par filtration.



ICARE

Biopôle Clermont-Limagne – BP60006
63360 SAINT BEAUZIRE
Tél : 04.73.33.99.99 - Fax : 04.73.33.99.77

V – RESULTATS

V – 1 – AVANT DECONTAMINATION

	Flore totale à 36°C (UFC*/ml)	Quantité d'endotoxines (UI/ml)	Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC*/ml)
Bonbonne	> 3,0.10 ⁶	389	> 100

UFC : Unité Formant Colonies

Les résultats permettent de visualiser la présence de *Pseudomonas aeruginosa* dans la bonbonne lors de la contamination et la présence du biofilm lié au dosage des endotoxines.

V – 2 – APRES NETTOYAGE/DECONTAMINATION

	Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur 1 litre du contenu de la bonbonne
Bonbonne	Absence / totalité prélèvement

VI – CONCLUSION

Le protocole de nettoyage/décontamination mis en oeuvre par l'usine Passy Copernic sur la bonbonne permet d'inactiver la souche *Pseudomonas aeruginosa* sauvage.

TRANSMIS LE
14 MARS 2007


<p><u>Demandeur</u></p> <p>CHÂTEAU D'EAU ZI Bloch Praegger 185, Avenue Paul Vaillant Couturier 93126 LA COURNEUVE</p>	<p>RAPPORT D'ESSAI</p> <p>EVALUATION DE LA MÉTHODE DE NETTOYAGE/DÉCONTAMINATION DES BONBONNES DE 18,9 l</p>
--	---


<p>Echantillon : 1 bonbonne plastique de 18,9 l vide</p> <p>Dates de réception : 25/01/2007 (commande) 01/02/2007 (échantillon)</p>	<p>N° demande d'essai : Télécopie du 25/01/2007</p> <p>Signataire demande d'essai : M. LESAGE</p>
---	---

<p>N° d'analyse : 428L-E29/R30/S31/S32</p>	<p>Dates réalisation essai: du 05/02/07 au 28/02/07</p>
--	---

Le présent rapport rend compte de l'évaluation de la méthode de nettoyage/décontamination de bonbonnes plastiques de 18,9 l en utilisant une souche de *Pseudomonas aeruginosa* sauvage.

Date : 13/03/07

Analyste : L. ROUVIER 

Vérifié par : Delphine FOY 
Directrice Laboratoire

Réf : DIV8 p 226, 227 – LAL12 p 144 – Rapports AB0050/02r et AB0072/02r.

Le présent rapport ne doit pas être reproduit partiellement sans l'approbation du laboratoire d'essai et ne concerne que les objets soumis à l'essai. Il comporte 4 pages et 0 annexe

ICARE

Biopôle Clermont-Limagne – BP60006
63360 SAINT BEAUZIRE
Tél : 04.73.33.99.99 - Fax : 04.73.33.99.77

I – OBJECTIF ET APPROCHE

L'objet de cette étude est d'évaluer la méthode de nettoyage/décontamination de bonbonnes plastiques de 18,9 l en utilisant une souche de *Pseudomonas aeruginosa* sauvage.

II – MATERIEL FOURNI PAR CHÂTEAU D'EAU

Bonbonne plastique de 18,9 l vide.

III – REFERENCES

Les méthodes d'essai utilisées pour cette étude sont les suivantes :

1. NF EN ISO 6222 (1999) : Qualité de l'eau – Dénombrement des microorganismes revivifiants.
2. NF EN 12780 (2002) : Qualité de l'eau – Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* par filtration sur membrane.
3. Chapitre 2.6.14. Pharmacopée européenne 5^e édition : Essai des endotoxines bactériennes par colorimétrie cinétique.

IV – METHODE D'ESSAI

IV – 1 – PREPARATION DE L'INOCULUM

1. Inoculer 1000 ml de bouillon tryptic soja avec *Pseudomonas aeruginosa* sauvage et incubé 48 heures à 37°C.
2. Transférer 40 ml de culture précédente dans 1 flacon contenant 1 000 ml de bouillon tryptic soja et incubé 48 heures à 37°C.

IV – 2 – PREPARATION DU BIOFILM DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ET PRELEVEMENTS

1. Remplir la bonbonne avec 18 litres d'eau de source.
2. Contaminer la bonbonne avec 1 000 ml de bouillon tryptic soja contaminés avec *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Laisser la bonbonne à température ambiante pendant 3 jours.
4. Vider et rincer avec 1000 ml d'eau distillée la bonbonne en prenant soin de récupérer son contenu et les eaux de rinçage pour décontamination par autoclave vapeur.
5. Soumettre le liquide à une forte agitation pendant 30 secondes.



ICARE

Biopôle Clermont-Limagne – BP60006
63360 SAINT BEAUZIRE
Tél : 04.73.33.99.99 - Fax : 04.73.33.99.77

6. Vider et introduire 1000 ml d'eau distillée stérile exempte d'endotoxines dans la bonbonne.
7. Soumettre le liquide à une forte agitation pendant 30 secondes.
8. Récupérer environ 2 x 100 ml de liquide dans un récipient stérile exempt d'endotoxines.
9. Vider le restant du liquide et reboucher la bonbonne avec un bouchon neuf.
10. Décontaminer l'extérieur de la bonbonne à l'alcool à 70°C.
11. Signer au marqueur indélébile la bonbonne avant expédition.
12. Évaluer la contamination des prélèvements en effectuant :
 - dénombrement de la flore totale à 36°C de la dilution 10^{-1} à 10^{-4} ,
 - recherche de la présence de *Pseudomonas aeruginosa* sur 1 millilitre par filtration,
 - dosage des endotoxines à la dilution 1/1000.
13. Expédier la bonbonne à l'usine Passy Copernic pour traitement.

IV – 3 – PARAMETRES DE NETTOYAGE

La bonbonne a été nettoyée par l'usine Passy Copernic.

IV – 4 – ANALYSE APRES TRAITEMENT

Effectuer, après au moins trois jours de conservation à température ambiante après réception chez ICARE, la recherche de *Pseudomonas aeruginosa* sur 1 litre de chaque bonbonne par filtration.



ICARE

Biopôle Clermont-Limagne – BP60006
63360 SAINT BEAUZIRE
Tél : 04.73.33.99.99 - Fax : 04.73.33.99.77

V – RESULTATS

V – 1 – AVANT DECONTAMINATION

	Flore totale à 36°C (UFC*/ml)	Quantité d'endotoxines (UI/ml)	Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC*/ml)
Bonbonne	> 3,0.10 ⁶	115	> 100

UFC : Unité Formant Colonies

Les résultats permettent de visualiser la présence de *Pseudomonas aeruginosa* dans la bonbonne lors de la contamination et la présence du biofilm lié au dosage des endotoxines.

V – 2 – APRES NETTOYAGE/DECONTAMINATION

	Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur 1 litre du contenu de la bonbonne
Bonbonne	Absence / totalité prélèvement

VI – CONCLUSION

Le protocole de nettoyage/décontamination mis en oeuvre par l'usine Passy Copernic sur la bonbonne permet d'inactiver la souche *Pseudomonas aeruginosa* sauvage.



TRANSMIS LE

14 MARS 2007

<p><u>Demandeur</u></p> <p>CHÂTEAU D'EAU ZI Bloch Praegger 185, Avenue Paul Vaillant Couturier 93126 LA COURNEUVE</p>	<p>RAPPORT D'ESSAI</p> <p>EVALUATION DE LA MÉTHODE DE NETTOYAGE/DÉCONTAMINATION DES BONBONNES DE 18,9 l</p>	
--	---	--

<p>Echantillon : 1 bonbonne plastique de 18,9 l vide</p>	<p>N° demande d'essai : Télécopie du 25/01/2007</p>
<p>Dates de réception : 25/01/2007 (commande) 01/02/2007 (échantillon)</p>	<p>Signataire demande d'essai : M. LESAGE</p>
<p>N° d'analyse : 428L-E33/R34/S35/S36</p>	<p>Dates réalisation essai: du 05/02/07 au 28/02/07</p>

Le présent rapport rend compte de l'évaluation de la méthode de nettoyage/décontamination de bonbonnes plastiques de 18,9 l en utilisant une souche de *Pseudomonas aeruginosa* sauvage.

Date : 13/03/07

Analyste . L. ROUVIER

Vérifié par : ~~Dir: M. ROY~~
 Directeur Laboratoire

Réf : DIV8 p 226, 227 – LAL12 p 144 – Rapports AB0050/03r et AB0072/03r.

Le présent rapport ne doit pas être reproduit partiellement sans l'approbation du laboratoire d'essai et ne concerne que les objets soumis à l'essai.
 Il comporte 4 pages et 0 annexe

ICARE

Biopôle Clermont-Limagne – BP60006
63360 SAINT BEAUZIRE
Tél : 04.73.33.99.99 - Fax : 04.73.33.99.77

I – OBJECTIF ET APPROCHE

L'objet de cette étude est d'évaluer la méthode de nettoyage/décontamination de bonbonnes plastiques de 18,9 l en utilisant une souche de *Pseudomonas aeruginosa* sauvage.

II – MATERIEL FOURNI PAR CHÂTEAU D'EAU

Bonbonne plastique de 18,9 l vide.

III – REFERENCES

Les méthodes d'essai utilisées pour cette étude sont les suivantes :

1. NF EN ISO 6222 (1999) : Qualité de l'eau – Dénombrement des microorganismes revivifiables.
2. NF EN 12780 (2002) : Qualité de l'eau – Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* par filtration sur membrane.
3. Chapitre 2.6.14. Pharmacopée européenne 5^e édition : Essai des endotoxines bactériennes par colorimétrie cinétique.

IV – METHODE D'ESSAI

IV – 1 – PREPARATION DE L'INOCULUM

1. Inoculer 1000 ml de bouillon trypticase soja avec *Pseudomonas aeruginosa* sauvage et incubé 48 heures à 37°C.
2. Transférer 40 ml de culture précédente dans 1 flacon contenant 1 000 ml de bouillon trypticase soja et incubé 48 heures à 37°C.

IV – 2 – PREPARATION DU BIOFILM DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ET PRELEVEMENTS

1. Remplir la bonbonne avec 18 litres d'eau de source.
2. Contaminer la bonbonne avec 1 000 ml de bouillon trypticase soja contaminés avec *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Laisser la bonbonne à température ambiante pendant 3 jours.
4. Vider et rincer avec 1000 ml d'eau distillée la bonbonne en prenant soin de récupérer son contenu et les eaux de rinçage pour décontamination par autoclave vapeur.
5. Soumettre le liquide à une forte agitation pendant 30 secondes.

ICARE

Biopôle Clermont-Limagne – BP60006
63360 SAINT BEAUZIRE
Tél : 04.73.33.99.99 - Fax : 04.73.33.99.77

6. Vider et introduire 1000 ml d'eau distillée stérile exempte d'endotoxines dans la bonbonne.
7. Soumettre le liquide à une forte agitation pendant 30 secondes.
8. Récupérer environ 2 x 100 ml de liquide dans un récipient stérile exempt d'endotoxines.
9. Vider le restant du liquide et reboucher la bonbonne avec un bouchon neuf.
10. Décontaminer l'extérieur de la bonbonne à l'alcool à 70°C.
11. Signer au marqueur indélébile la bonbonne avant expédition.
12. Évaluer la contamination des prélèvements en effectuant :
 - dénombrement de la flore totale à 36°C de la dilution 10^{-1} à 10^{-4} ,
 - recherche de la présence de *Pseudomonas aeruginosa* sur 1 millilitre par filtration,
 - dosage des endotoxines à la dilution 1/1000.
13. Expédier la bonbonne à l'usine Passy Copernic pour traitement.

IV – 3 – PARAMETRES DE NETTOYAGE

La bonbonne a été nettoyée par l'usine Passy Copernic.

IV – 4 – ANALYSE APRES TRAITEMENT

Effectuer, après au moins trois jours de conservation à température ambiante après réception chez ICARE, la recherche de *Pseudomonas aeruginosa* sur 1 litre de chaque bonbonne par filtration.



ICARE

Biopôle Clermont-Limagne – BP60006
63360 SAINT BEAUZIRE
Tél : 04.73.33.99.99 - Fax : 04.73.33.99.77

V – RESULTATS

V – 1 – AVANT DECONTAMINATION

	Flore totale à 36°C (UFC*/ml)	Quantité d'endotoxines (UI/ml)	Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (UFC*/ml)
Bonbonne	1,7.10 ⁶	635	> 100

UFC : Unité Formant Colonies

Les résultats permettent de visualiser la présence de *Pseudomonas aeruginosa* dans la bonbonne lors de la contamination et la présence du biofilm lié au dosage des endotoxines.

V – 2 – APRES NETTOYAGE/DECONTAMINATION

	Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur 1 litre du contenu de la bonbonne
Bonbonne	Absence / totalité prélèvement

VI – CONCLUSION

Le protocole de nettoyage/décontamination mis en oeuvre par l'usine Passy Copernic sur la bonbonne permet d'inactiver la souche *Pseudomonas aeruginosa* sauvage.

