

GENDARMERIE NATIONALE

FICHE  
DE  
CORRESPONDANCE

GROUPEMENT

de la Haute-Vienne

COMPAGNIE - ESCADRON

de Rochechouart

UNITÉ

Brigade de SAINT-MATHIEU 87440

N° 58/2 du 4 Mars 1986.

DESTINATAIRE

- Commandant de la brigade de RAWONVILLE ST AGNE 31

● OBJET ● RÉFÉRENCE(S) ● PIÈCE(S) JOINTE(S)

- O B J E T : remise de **prélèvements** au C.N.E.S
- Référence : demande **téléphonique** du C.N.E.S

-----

J'ai l'honneur de vous demander de bien vouloir remettre à Monsieur VELASCO au Centre National d'Etudes Spatiales à TOULOUSE, 18 Avenue Ed. Belin les objets et documents suivants :

- un flacon de **prélèvements**
- un sachet contenant des feuilles **tâchées** par le produit
- un exemplaire du PV de **constatations**.

Bien vouloir nous faire savoir la date de remise à cet organisme.



VU ET TRANSMIS PAR LE  
COMMANDANT D'UNITÉ

Le MDL.Chef N.

N° 656.8.006

C.M. N° 31400 DN/GEND. OB/OM-EMP/SERV. DU 21.07.74. A.D.G.  
CLASS: 33.06

éd 2 OM

\*  
T SCI

085 1408  
REMDIFF  
085 1407  
T REROUTAGE-1  
TRANS NR : 3029

ZCZC

085 1504  
LABOLDP 540533F

L.D.P. TO ESO/SC

ATT. MM KAROFF ET VELASEO  
=====

26/03/86

COMME SUITE A NOTRE CONVERSATION DE CE JOUR, NOUS VOUS CONFIRMONS  
NOTRE PROPOSITION POUR L'ANALYSE D'UN LIQUIDE PROVENANT D'UN MORCEAU  
DE GLACE :

- 1) DETERMINATION DE SON ORIGINE,
- 2) COMPARAISON AVEC LES DETERGENTS UTILISES EN AVIATION

NOS HONORAIRES SERAIENT DE  
NOTRE DELAI D'EXECUTION SERAIT DE 8 A 10 JOURS.

SLTS.

G. K.  
=====

LABOLDP 540533F  
TRANS NR : 3019  
T REROUTAGE-1

RECU AU CEPAN  
le 01 AVR. 1986

\*  
T SCI

->ESOLA 12/108

ARMEE DE L'AIR

N° \_\_\_\_\_/3°RA/DCA/5D

3° REGION AERIENNE

BORDEAUX, le 9 JUIL. 1986

DIRECTION DU COMMISSARIAT

33998 BORDEAUX ARMEES

Tél. 34.84.24  
P. 60.87

Le Directeur du Commissariat  
de la 3° Région aérienne

à

Monsieur le Directeur  
du Centre National des Etudes  
Spaciales  
18, avenue Edouard Belin

31000 TOULOUSE

Adresser vos correspondances à :  
DCA/3° R.A.  
5° Division Contentieux  
33998 BORDEAUX ARMÉES  
(sans indications de nom)

E S O				
1 6 JUIL. 1986				
D	DA	AR	ET	MP
SA	SC	BF		

*Cyprus ?  
js*

OBJET : analyse de produit transmis par Gendarmerie de ST. MATHIEU (87).

REFERENCE : P.V. n° 77/86 du 1er mars 1986

Monsieur le Directeur,

Suite à la procédure établie par la Brigade de gendarmerie de SAINT-MATHIEU (Haute-Vienne) un dossier contentieux a été ouvert dans mes services au nom de Mademoiselle G sous le n° 25/86/MR.

Afin de me permettre de rechercher l'appareil de navigation aérienne susceptible d'être mis en cause dans cette affaire, j'ai l'honneur de vous demander de bien vouloir me communiquer le résultat de l'analyse du produit, qui a été adressé à votre laboratoire le 03 mars 1986.

Avec mes remerciements anticipés, veuillez agréer, Monsieur le Directeur, mes salutations distinguées.

Pour le Directeur du Commissariat  
de la 3° R.A. et par délégation  
L'Attaché de Service Administratif J.-B. ROUCH  
Chef de la 5° Division Contentieux

FEUILLES DE PLANTES TACHEES



Trace  
bleve.



Traces  
bleves



**LDP CONSULTANTS TECHNIQUES**

64121 SERRES-CASTET (FRANCE) / TÉL. (59) 62.50.75 + (FUTUR 33.20.75) / TELEX 540533 LABO LDP

11, RUE DE LA COMÈTE / 75007 PARIS / TÉL. 705-37-47 / 705-02-40

49, AVENUE LACASSAGNE / 69003 LYON / TÉL. (7) 854.99.68 / TELEX 340753 SELEX

L. D. P. S.A.R.L. CAP. 170.000 F. / R. C. PAU B 096 980 313 / SIRET 096 980 313 00017 / DOM. BANC. SOCIÉTÉ GÉNÉRALE PAU

ADRESSER LA CORRESPONDANCE :  
BP 5 - 64121 SERRES-CASTET  
(FRANCE)

Monsieur VELASCO  
C.N.E.S.

18 avenue Edouard Belin

31055 TOULOUSE CEDEX

V/RÉF.

N/RÉF. GK/MHC 86/0384

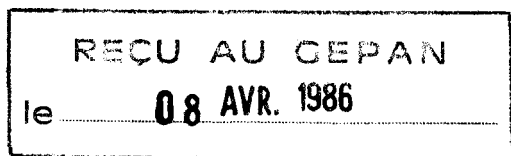
SERRES-CASTET, LE 7 Avril 1986

Monsieur,

Veuillez trouver ci-joints les  
résultats d'analyses de l'échantillon que vous avez bien voulu  
nous confier (N/Réf. : 86 ACW 155587).

Nous vous en souhaitons bonne réception et restons à votre entière  
disposition pour toute information complémentaire.

Nous vous prions d'agréer, Monsieur, l'expression de nos sentiments  
les meilleurs.



Le Directeur,

G. K.



**L D P CONSULTANTS TECHNIQUES**

84121 SERRES-CASTET (FRANCE) / TÉL. (69) 82.50.75 + (FUTUR 33.20.75) / TELEX 640533 LABO LDP  
11, RUE DE LA COMÈTE / 76007 PARIS / TEL. 705-37-47 / 705-02-40  
49, AVENUE LACASSAGNE / 69003 LYON / TÉL. (7) 854.99.88 / TELEX 340753 SELEX  
L. D. P. S.A.R.L. CAP. 170.000 f. / R. C. M U B 096 980 313 / SIRET 096 980 313 00017 / DOM. BANC. SOCIÉTÉ GÉNÉRALE PAU

ADRESSER LA CORRESPONDANCE :  
BP 6 - 64121 SERRES-CASTET  
(FRANCE)

Monsieur VELASCO  
C.N.E.S.

18 avenue Edouard Belin

31055 TOULOUSE CEDEX

V/RÉF.

N/RÉF. GK/MHC 86/0384

SERRES-CASTET, LE 7 Avril 1986

**RESULTATS D'ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES**

\*\*\*\*\*

V/Réf. : Analyse d'un liquide provenant d'un morceau de glace  
N/Réf. : 86 AQW 15587

L'analyse que vous nous avez confié pour analyse est un liquide aqueux de couleur bleue, avec une odeur forte assez prononcée et un résidu solide en suspension en quantité assez faible (de l'ordre du pourcent).

Nous avons effectué l'analyse de cet échantillon par comparaison avec un produit désinfectant (produit de référence) couramment utilisé dans les Compagnies Aériennes comme produit sanitaire (bactéricide et désodorisant).

Plusieurs méthodes ont été utilisées :

- spectrométrie dans le visible et l'ultra-violet,
- spectrophotométrie infra-rouge,
- analyses chimiques des alcalins.

.../...

### 1) Spectrophotométrie Ultra-Violet - Visible :

Les spectres présentés en annexe montrent une similitude des produits inconnus et de référence. Ils présentent tous deux une absorption à 665 nm environ, avec une différence de concentration qui se traduit par une différence du taux de transmission.

L'échantillon inconnu contient des produits supplémentaires qui absorbent au-delà de 500 nm, jusque dans l'ultra-violet ; ce dernier spectre présentant une absorption presque totale.

### 2) Spectrophotométrie Infra-Rouge

Les deux échantillons ont été extraits par un solvant organique : tétrachlorure de carbone ; ce solvant recueillant les matières organiques éventuellement présentes dans la phase aqueuse.

Les deux spectres Infra-Rouge obtenus présentent deux bandes fines caractéristiques à 3 700 et 3 600  $\text{cm}^{-1}$  ; ces deux bandes étant généralement attribuées à des dérivés azotés types annexes secondaires.

La bande à 3 600  $\text{cm}^{-1}$  (et décalée de 100  $\text{cm}^{-1}$  de la bande la plus intense) est due à des liaisons hydrogène d'association intermoléculaires.

Ces deux bandes peuvent être également attribuées à des liaisons OH libres.

Les sels d'amines secondaires donnent aussi des absorptions (groupes  $\text{NH}_2^{\leftarrow}$  et  $\text{NH}^{\leftarrow}$ ) entre 2 250 à 2 500  $\text{cm}^{-1}$  et présentes sur les spectres.

.../...

-3-

La différence entre échantillon inconnu - échantillon de référence se situe au niveau des chaînes hydrocarbonées dont les liaisons C - H absorbent à 2845 - 2925 (groupe CH<sub>2</sub>) et 2960 (groupe CH<sub>3</sub>).  
Les radicaux fixés sur les azotes sont donc de natures différentes.

L'échantillon inconnu présente quelques bandes supplémentaires attribuées à des dérivés d'amides, d'urée, de sels acides aminés ou d'amido acides (absorption à 1850 et 2000 cm<sup>-1</sup>).

### 3) Analyses chimiques :

Nous avons effectué le dosage des éléments classiques présents dans les détergifs :

Elément	Echantillon inconnu	Echantillon Référence
Sodium	240 ppm	1,5 ppm
Potassium	220 ppm	< 1 ppm

La teneur en alcalins dans l'échantillon Référence est faible ; les cations sont donc essentiellement sous forme amine.

### CONCLUSIONS :

\*\*\*\*\*

Le liquide bleu analysé présente les mêmes caractéristiques qu'un produit désinfectant analysé comme référence et couramment utilisé par les Compagnies Aériennes. Ce liquide contient principalement des amines substituées provenant d'un produit bactéricide et désodorisant ainsi que des sels d'urée ou d'acides aminés provenant de divers produits de dégradation.

.../...



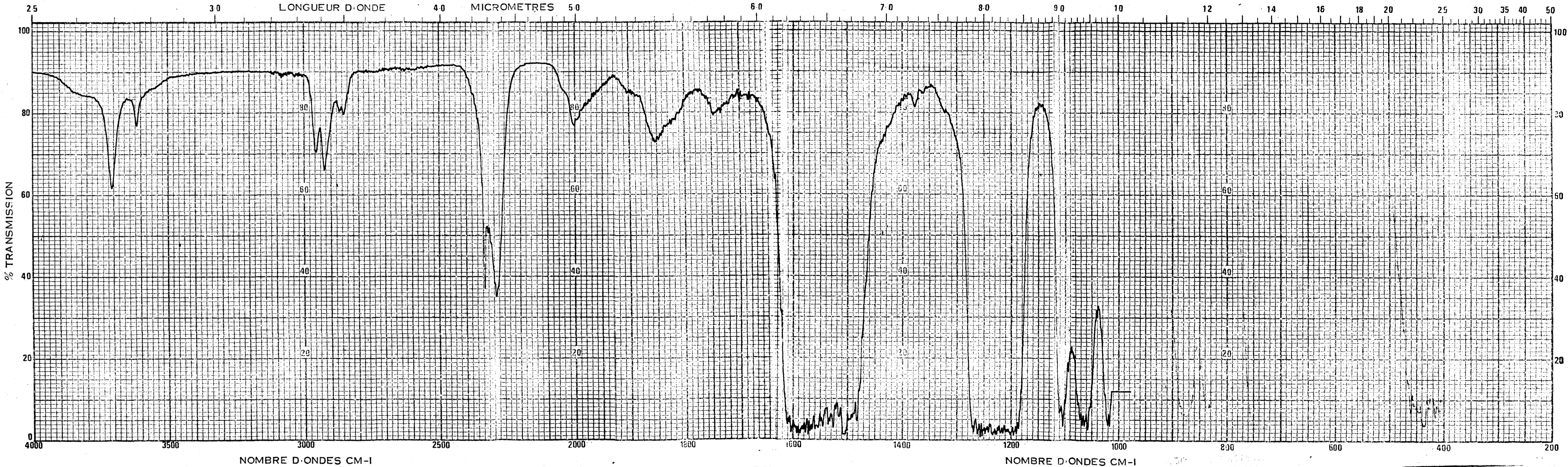
.../...

Il s'agit donc très certainement d'un effluent de toilette d'aéronef caractérisé par :

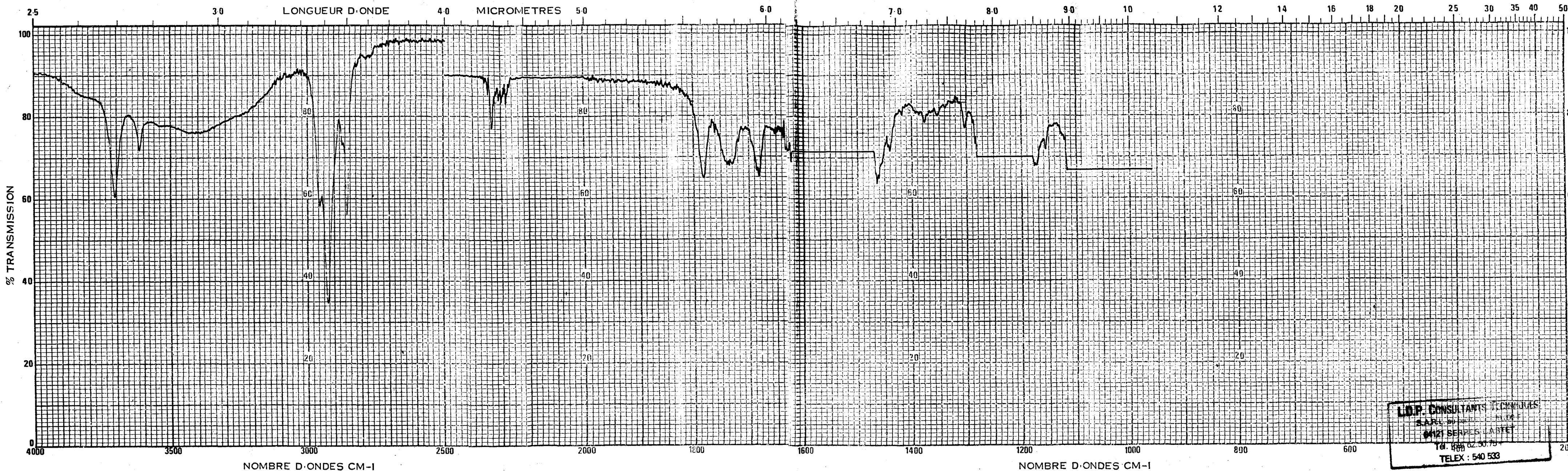
- le colorant et la désinfection,
- des sels de sodium et de potassium provenant des savons de toilette ainsi que des urines,
- des produits azotés de dégradation de l'urine.

Le Directeur,

G. K



EXPANSION <u>Ech C.N.E.S.</u> ECHANTILLON _____ ORIGINE _____	ABSCISSE _____ ORDONNEE _____ REMARQUES <u>En conditions</u>	TEMPS ENREG. _____ FACT. MULTIPLICATEUR _____ PROGRAMME DE FENTE _____ SOLVANT _____ CONCENTRATION _____	RÉPÉTITEUR DE SPECTRE _____ VITESSE PAPIER CM-1 FIXE _____ OPÉRATEUR _____ ÉPAISSEUR _____ RÉFÉRENCE _____
L.D.P. CONSULTANTS TECHNIQUES S.A.R.L. au capital de 170.000 F 0121 SERRES CASTET TEL (59) 62.50.75+ TELEX : 540 533		PERKIN ELMER FRANCE REFERENCE 5100-4367	

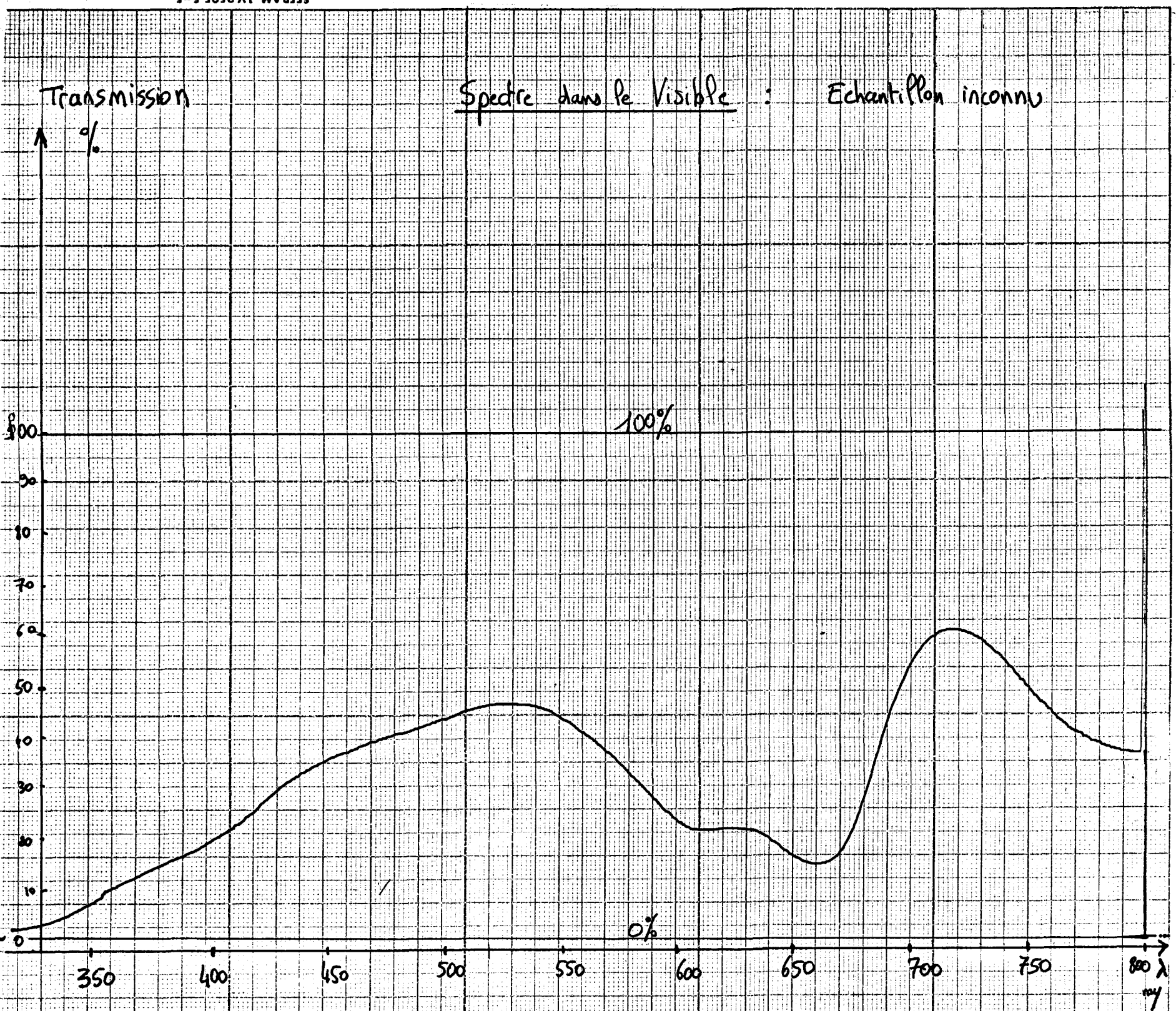


L.D.P. CONSULTANTS TECHNIQUES  
 S.A.R.L. 200000  
 0412 SERRES LAFFET  
 Tél. 089 62.30.75  
 TELEX : 540 533

EXPANSION <u>Desinfection Ref.</u> ECHANTILLON _____ ORIGINE _____		ABSCISSE _____ ORDONNEE _____ REMARQUES _____		TEMPS ENREG. <u>Filtre 4</u> FACT. MULTIPLICATEUR <u>1</u> PROGRAMME DE FENTE <u>3</u>		RÉPÉTITEUR DE SPECTRE _____ SIMPLE FAISCEAU _____ VITESSE PAPIER CM <sup>-1</sup> FIXE _____ OPÉRATEUR _____ DATE <u>3/04/86</u> SPECTRE N° _____	
				SOLVANT <u>CCl<sub>4</sub></u> CONCENTRATION <u>Cuve NaCl</u>		ÉPAISSEUR <u>1 cm</u> RÉFÉRENCE <u>NaCl CCl<sub>4</sub></u>	
				PERKIN ELMER FRANCE REFERENCE 5100 4367			

# Spectre dans le Visible : Echantillon inconnu

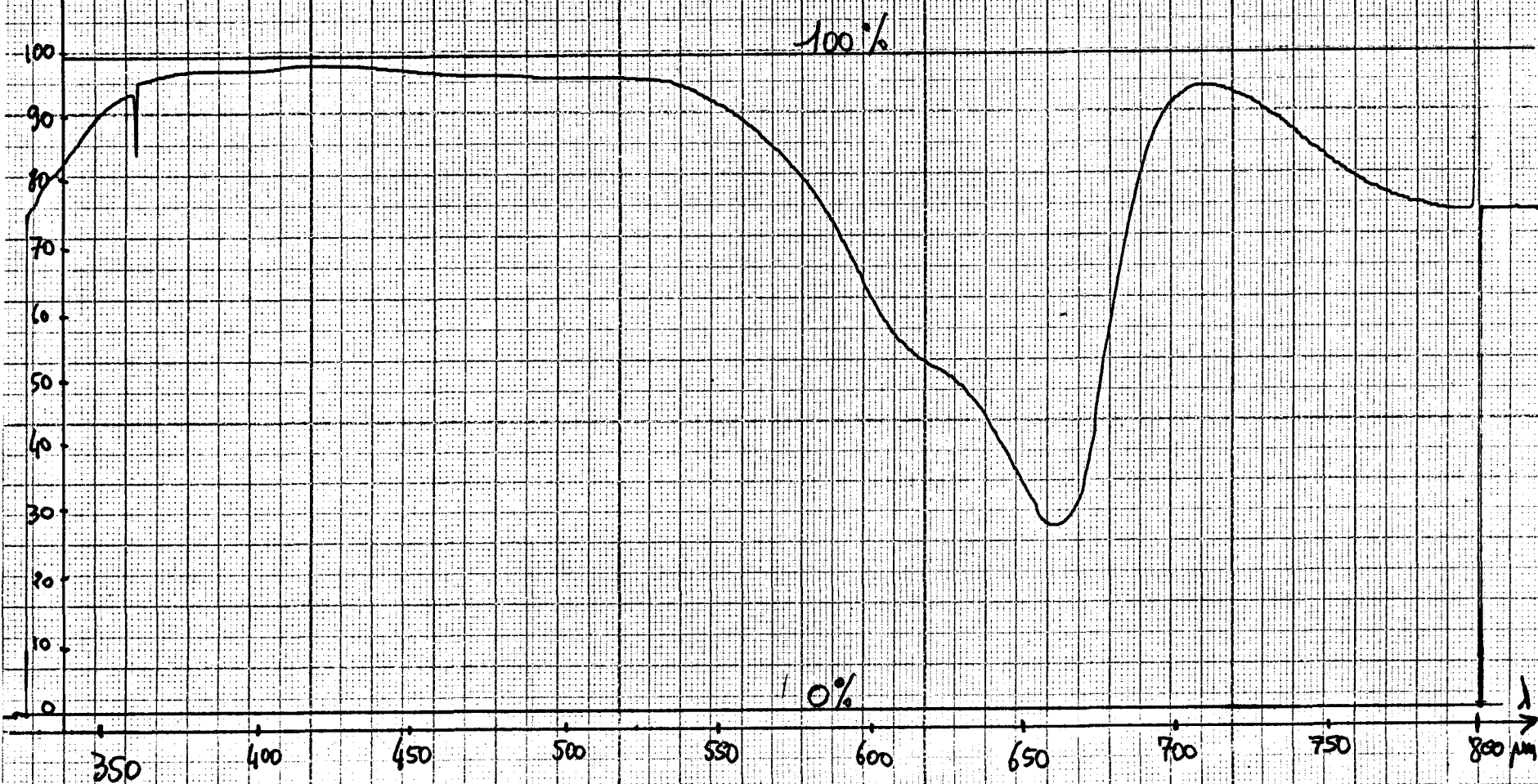
Transmission  
↑ %



LDP CONSULTANTS  
S.A.R.L.  
0412 51  
Tel. (50) 52.50.79  
TELEX 540 533

Spectre dans le visible : Echantillon Référence

↑ Transmission  
%



**L.D.P. CONSULTANTS TECHNIQUES**

S.A.R.L. - 100%

04121 - SEINNE - ASTET

Tel 156 32 50 75 +

TELEX 540 533

# Spectre U.V. Echantillon inconnu

Transmission  
%

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

0

100%

0%

220

240

260

280

300

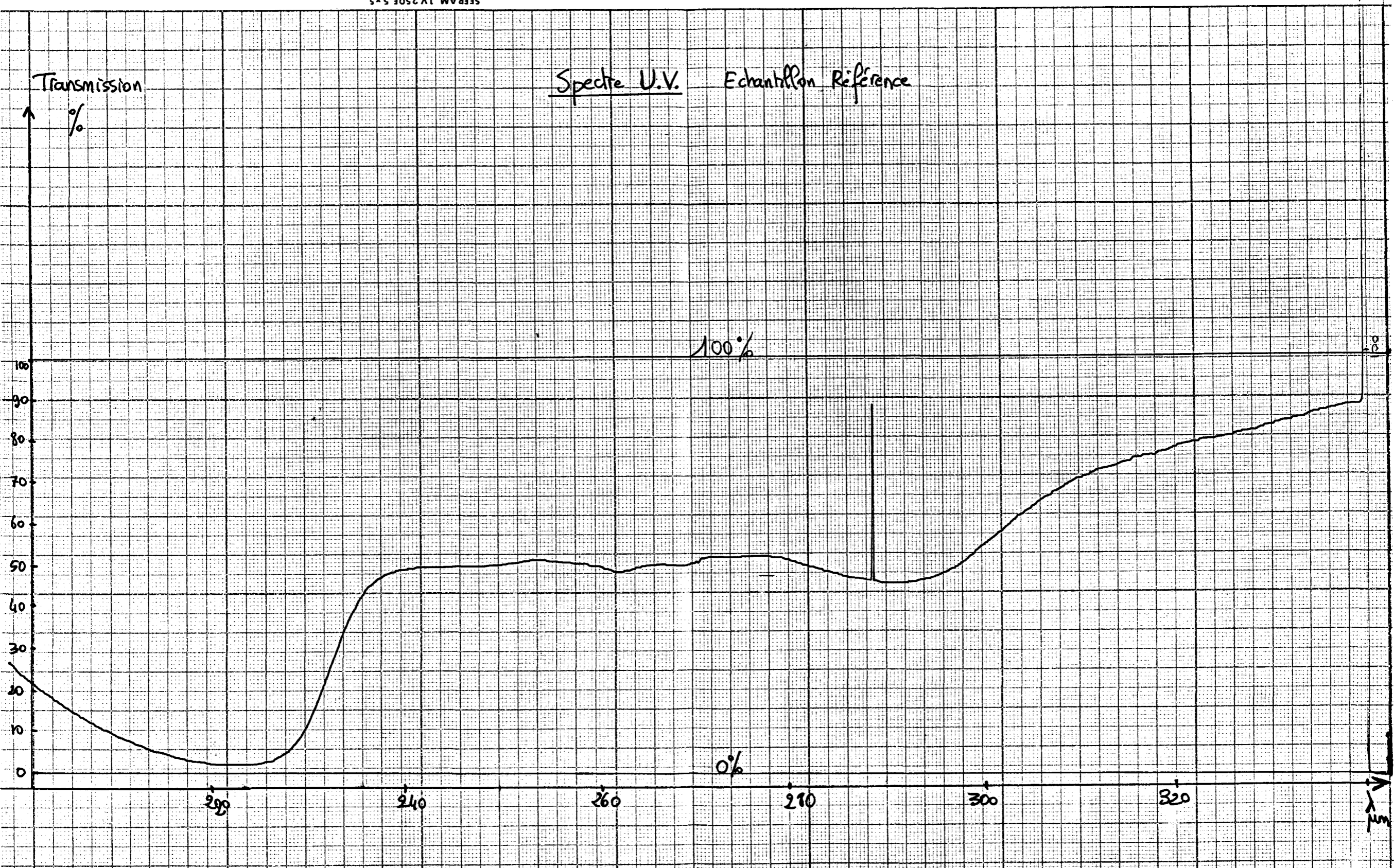
320

$\lambda$   
nm

**L.D.P. CONSULTANTS TECHNIQUES**  
S.A.R.L. au capital de 170.000 F  
64121 SERRES-CASTET  
Tél. (59) 62.50.75 +  
TELEX 540 533

Transmission  
%

Spectre U.V. Echantillon Référence



**LDP - CONSULTANTS TECHNIQUES**  
S.A.R.L. 100000 PARIS 13<sup>e</sup>  
69121 SEINNE-SAINT-DENIS  
Tél. (01) 52 50 79 41  
TELEX 540 533

MINISTERE DE L'URBANISME  
DU LOGEMENT ET DES TRANSPORTS

SECRETARIAT D'ETAT AUPRES  
DU MINISTRE DE L'URBANISME  
DU LOGEMENT ET DES TRANSPORTS  
CHARGE DES TRANSPORTS

BUREAU ENQUETES ACCIDENTS  
246 rue Lecourbe 75732 PARIS CEDEX 15

PARIS, LE 07 MARS 1986

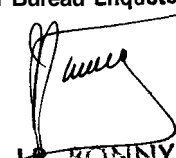
INSPECTION GENERALE DE L'AVIATION CIVILE  
ET DE LA METEOROLOGIE

Centre National d'Etudes Spatiales  
Centre spatial de Toulouse  
CT/GEPAN

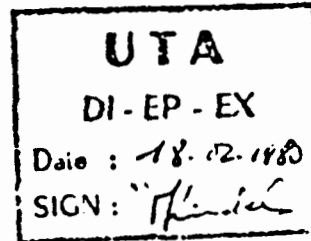
N° 0127 IGACEM/EA

Bat. LAPLACE  
A l'attention de M. VELASCO J.J.  
18, ave Edouard Belin  
31055 TOULOUSE CEDEX

BORDEREAU D'ENVOI

DÉSIGNATION DES PIÈCES	Nombre	OBSERVATIONS
<p>Copie d'un document DOUGLAS CSD N° 3 (1er mai 1974) et de la norme AFNOR T 72 150 concernant les bactéricides</p> <p>Remarque : les recommandations de l'OMS contenues dans le "Guide d'Hygiène et de salubrité dans les transports aériens" (Genève 1978) et cette norme DOUGLAS sont utilisés comme "norme internationale" auprès des fournisseurs. La composition des produits des différents fournisseurs est évidemment couverte par le secret de fabrication, mais diffère très peu d'un produit à l'autre. Il s'agit d'ammonium quaternaire (NH4), colorants et parfums divers associés à des inhibiteurs de corrosion et charges pour les contenir.</p>	1	<p>Pour attribution.</p> <p>Comme suite à votre demande téléphonique du 05 mars 1986.</p> <p>Le Chef du Bureau Enquêtes-Accidents</p>  <p>J.-R. BONNY</p> <p>Ingénieur Général de l'Aviation Civile</p>





DOCUMENT: **Douglas Aircraft Company, Product Support  
Customer Service Document (CSD) No. 3  
dated June 1, 1973  
Revised and Reissued May 1, 1974**

TITLE: **Procedure for obtaining approval of manufacturer/vendor  
developed aircraft toilet deodorizer/disinfectant**

MODE: **Aircraft toilets with liquid primed tanks**

PREPARED BY: **W. B. Engel, C1-253 (Materials & Process Engineering)  
H. W. Jong, C1-253 (Interiors Engineering Design)  
D. L. Angel, C1-781 (Customer Service Representative)**

TABLE OF CONTENTS

SECTION	PAGE
A. Introduction. . . . .	3
B. General Instructions. . . . .	3
C. Material Classification and Qualification Requirements . . . . .	3
D. Qualification Testing . . . . .	4
E. Use and Application Requirements - Product Bulletin . . . . .	4
F. Submittal of Data For Product Approval . . . . .	6
G. Qualification Test Procedures . . . . .	6
1. Physical Properties . . . . .	6
a. Color Absorbing Properties . . . . .	6
b. Solubility . . . . .	6
c. Viscosity . . . . .	7
d. Surface Tension . . . . .	7
e. Foam Test . . . . .	7
f. Residue Test . . . . .	7
g. Thermal Stability . . . . .	8
h. Stain Test. . . . .	8
2. Nonmetallic Compatibility . . . . .	8
a. Effects on Painted Surface Test . . . . .	8
b. Effects on Rubber and Plastic Materials . . . . .	9
3. Corrosion . . . . .	9
a. Sandwich Corrosion Test . . . . .	9
b. Immersion Corrosion Test . . . . .	17

TABLE OF CONTENTS (CONTINUED)

SECTION	PAGE
4. Chemical and Environmental Properties . . . . .	19
a. pH . . . . .	19
b. Total Alkalinity (or Acidity) . . . . .	19
c. Chemical Oxygen Demand . . . . .	19
d. Biological Oxygen Demand . . . . .	19
e. Total Inorganic Phosphates . . . . .	19
f. Phenols . . . . .	19
g. Heavy Metals . . . . .	20
5. Microbiological Evaluation (Germicidal Activity) . . . . .	20
a. Antimicrobial Activity - Growth Curve . . . . .	20
b. Repeated Organic Loading Test . . . . .	21
6. Odor Evaluation . . . . .	22
H. References . . . . .	22

A. Introduction

The **purpose** of this document **is** to furnish a **procedure** to aircraft operators as an aid in evaluating and qualifying aircraft chemical **toilet deodorizers/disinfectants** for **use** on Douglas aircraft. Since **spillage** always occurs, the compounds must not be **harmful** to aircraft **structure**. In **addition to being safe** for use in **lavatory systems.**

B. General Instructions

1. **Qualification** tests specified **herein** are **those designed specifically** to ascertain whether **the materials** are **compatible**, effective and not detrimental to aircraft **toilet systems**, or to the aircraft structure.
2. **Qualification** tests in addition to **those set forth** in this document may **be required** or conducted by operators when **such** tests are **deemed** necessary to assure aircraft and personnel safety.
3. The **manufacturer/vendor** of materials **is** given **wide** latitude in the **selection** of ingredients and composition. **However**, the compounds shall not **contain** ingredients for **which** the degree of hazard has **not** been appraised, nor any **combination** of ingredients that might **be** hazardous to the health of personnel or **which** would cause **subsequent ecological problems.**
4. The **manufacturer/vendor** shall not use any Ingredients in **such** concentration which would **violate** standards established by **environmental** regulating agencies or occupational **health** regulating agencies.
5. The **manufacturer/vendor** shall use **the same ingredients** and formulation procedures for production **materials** as for approval of the test **sample materials.** If it **becomes** necessary to make any change in the components or **processing**, the **manufacturer/vendor** shall be required to **requalify** the materials. Procedures **describing the manner** and frequency of **use** on the aircraft shall not be altered or modified **in** any way **without requalification** or approval of the user.

C. Material Classification and Qualification Requirements

1. This document covers **manufacturer/vendor** developed **chemical toilet deodorizer disinfectant materials** for use on **aircraft recirculated, sanitary waste systems.**
2. Materials and **procedures** developed under this document shall be **those** which **will perform without injury** to aircraft materials.

D. Qualification Testing

Testing of manufacturer/vendor developed materials will be performed at their expense and shall be accomplished by a certified independent testing laboratory unless approval is obtained from the operator authorizing the manufacturer/vendor laboratories to perform the qualification tests.

1. The laboratory conducting the qualification testing shall, when qualifying the materials, use the same compositions and concentrations as recommended by the manufacturer/vendor for actual use. When various concentrations are recommended for use, qualification testing shall be conducted using the minimum and maximum concentrations. When the manufacturer/vendor specifies mixtures of solvents and/or water, separate tests shall be conducted on the mixtures.
2. Upon completion of the tests specified herein, the testing laboratory will prepare a test report stating whether the material meets the requirements of \_\_\_\_\_ ument. The report shall bear a test report number and date, and will include a description of the tests conducted, the method of test, and the resulting test data. Specimens exposed to the test conditions, along with the unexposed control specimens, will be permanently identified and suitably mounted for display. A copy of the test report shall be provided to the aircraft operator.
3. The material qualification tests are to be performed as outlined in paragraph G.

E. Usage and Application Requirements - Product Bulletin

1. A product bulletin describing the material and method of use shall be provided by the manufacturer/vendor. The bulletin is intended to provide the operator detailed instructions for use of these compounds in the aircraft using the manufacturer/vendor products and procedures.
2. The product bulletin shall be written in such a manner that the instructions and procedures apply specifically to the use of the product in the aircraft. In addition, the manufacturer/vendor is urged to use the following as a format when preparing the product bulletin.
  - (a) Bulletin Identification: The bulletin should be identified by the manufacturer/vendor letterhead, the bulletin title, a bulletin number and date of issue.

E. 2. (Continued)

- (b) Description of Product: This section should contain a summary which describes the active ingredients in the product, the important characteristics of the product and a brief description of the method of product use.
- (c) Method of Use: This section should describe the method of product use, areas of application and frequency of use on the aircraft. The information should be sufficiently detailed and complete to provide Instructions to operators for use of the product under all known and anticipated conditions.
- (d) Mixing Instructions: The manner in which the product is mixed, diluted or otherwise prepared for use should be contained in this section. Equipment and materials required for the preparation and use as well as the recommended concentrations of use should be included.
- (e) Material Compatibility: This section should contain information and data relating to the compatibility or incompatibility of the product upon the various materials and surfaces of the aircraft toilet system and service equipment, including standard ethylene-glycol antifreeze compounds.
- (f) Properties: A description of the important chemical and physical properties of the material, including the following, should be presented in this section:
- |                         |                             |
|-------------------------|-----------------------------|
| - Toxicity (LTW)        | - Waste Disposal Procedures |
| - pH                    | - Specific Gravity          |
| - Flash Point           | - Viscosity                 |
| - Odor                  | - Solubility                |
| - Storage Limitations   | - Color                     |
| - Handling Instructions | - Freeze Point              |
- (g) Safety Practices: This section should describe the recommended safety practices, protective clothing and equipment which may be required for personnel to safely use the material. Any harmful or adverse effect to personnel that may result from exposure to the material should be specifically noted, including first aid practices.
- Reshe  
1. Warranty: A clear and concise warranty statement shall be made. This statement should specify the manufacturer/vendor warranty position regarding the material formulation and its usage.

E. (Continued)

3. The **manufacturer/vendor** shall **provide instructions, training or supervision** as required to **ensure proper use and control** of the product by the operator.

F. Submittal of Data For Product Approval

1. The **manufacturer/vendor** shall **submit, the** following to the **operator** for evaluation and approval:
  - (a) A copy of the laboratory report covering the **results** of the **material qualification tests**. The laboratory report and test specimens **submitted will be retained by the operator for record purposes**.
  - (b) A copy of the product **bulletin containing the information** as described in paragraph E.
2. **Operator** acceptance or rejection of the **material** and the applicable product bulletin will be determined among other reasons on the basis of safety to the aircraft **toilet** system as **shown by** the qualification test data.

x G. Qualification Test Procedure:

1. Physical Properties

- (a) Color Absorbing Properties: The compound should be dyed to mask **organic waste colors and indicate a chemically charged toilet**.
  - (1) The recommended concentration (prime charge) shall be diluted one part of prime charge to four parts of raw sewage, and still retain its original **color** (preferably blue or green shades) **instead of turning grey to brown**.
  - (2) The dye shall be **pH** resistant and not **discolor** or break down when tested in a pH 3 to 11 water environment.
- (b) Solubility: The compound shall be fully soluble at **its recommended concentration** in both soft and **hard** water. **Two sets** of the **recommended concentration** of the compound are **prepared** and tested in **distilled** or deionized water and **two sets** in **hard** water (greater than 180 ppm CaCO<sub>3</sub> hardness). The **solubility**

G. 1. (b) (Continued)

of the **compound** shall be tested at **25° and 10°C** by **stirring** vigorously for 5 minutes each of the four solutions. **At the end of 5 minutes record the solubility or presence of precipitate:**

Soft Water

Hard Water

**25°C:**

**10°C:**

- (c) **Viscosity:** The **kinematic viscosity** of the compound at the **recommended** concentration shall not exceed the **viscosity** of **deionized/distilled water** at **10° and 30°C** by **more than 10%** when measured per ASTM D445.
- (d) **Surface Tension:** The compound at the **recommended** concentration shall have good wetting properties so that it reduces the surface tension of the water to **below 45 dynes/cm**. The surface tension of the compound is **determined** with a du Nuoy tensiometer equipped with a platinum ring, per ASTM D-1331, at **25 ± 3°C**.
- (e) **Foam Test:** The **compound** at the **recommended** concentration shall not form excessive foam that remains 150 minutes or longer with a foam head height of greater than 10 millimeters. Three one hundred milliliter aliquots of the compound are measured in 250 ml glass stopper graduated placed at **10°, 25° and 55°C**. The **time it takes for all the foam to disappear** is recorded up to 150 minutes. The height of any **foam remaining** is measured and recorded in millimeters.
- (f) **Residue Test:** **Two 2 X 6 inch** panels shall be prepared from **7075-T6 clad aluminum alloy** conforming to Federal Specification **QQ-A-250/13 Temp T6** and cleaned with acetone. The **specimens** shall be **immersed** in a sufficient quantity of the compound to cover **approximately one-half of the panel**. The solution shall have the **same** composition and concentration as that which will be used for the **prime charge**. After the compound has been applied the panels shall be placed at **45 degrees** from the horizontal in an oven maintained at **100°F (38°C)** for 30 minutes. **At the end of the 30 minute period, the panels will be removed** from the oven, rinsed with **room temperature distilled water** and allowed to dry. The treated and untreated **areas of the panel shall be visually examined and compared** for the presence of residue or **stains**. There should be no visible residue or **stains after the final water rinse**.



G. 1. (Continued)

- (g) Thermal Stability: The compound at the recommended concentration shall maintain chemical and physical stability when exposed in a closed container to 125°F for 5 days. Any changes in pH, color, viscosity, odor, turbidity or residue formation shall be reported and shall be considered as basis for rejection.
- (h) Stain Test: The compound at the recommended concentration shall not stain square test patches (2 X 2 inches) of 100% white cotton, light colored nylon and light colored wool appreciably when spotted with the compound. The spotted fabrics are allowed to dry at 60°C. They then shall be washed with a commercial detergent. The presence of any stain remaining on the three types of fabrics shall be reported. The acceptability of a product which produces permanent fabric stains shall be determined by the customer.

2. Nonmetallic Compatibility

- (a) Effect on Painted Surface Test: The material shall not produce a decrease in film hardness greater than one pencil, that is the number of the next softer pencil, nor shall it produce any discoloration or staining when tested as follows:
- (1) Two 3 X 6 inch panels shall be prepared from 7075-T6 alclad aluminum alloy conforming to Federal Specification QQ-A-250/13 Temp TG with corners and edges smoothed. The panels shall be cleaned with acetone Scotch Brite abraded and treated with Brush Alodine 1200, Epoxy Polyamide Primer, DeSoto 513-703 coated (within 4 hours), followed by U.S. Paint Polyurethane AA 92W91 white.
  - (2) A set of drawing leads (6B, 5B, 4B, 3B, 2B, B, HB, F, H, 2H, 3H, 4H, 5H and 6H) shall be prepared by squaring the lead tip with fine (180 grit) sandpaper. The tip of the lead shall be squared after each trial.
  - (3) The test panels prepared as above shall be placed in a horizontal position. The compound shall be applied to approximately one-half the area of each panel and shall be allowed to remain on the panels for 30 minutes. The panels shall then be rinsed with water and allowed to dry 24 hours. The hardness of the treated and untreated areas shall be compared by placing the leads of decreasing hardness in a holder and pushing the lead across the paint film with the

G. 2. (a) 3 (Continued)

lead holder at a 45° angle to the horizontal until one is found which will not cut the film but will leave a black lead mark on the surface, whereas, the next harder lead will cut through the film without leaving a black mark. The number of the harder numbered lead shall be used to express the hardness of the film.

(4) The treated and untreated areas shall be visually examined and compared for discoloration or staining.

(b) Effects on Rubber and Plastic Materials: The compound at the recommended concentration shall not cause appreciable swelling (10%), staining or discoloration, nor any evidence of degradation of rubber or plastic materials normally incorporated in lavatory fixtures when tested as follows:

- (1) Strips of ethylene propylene (EPT) rubber, fluorosilicone rubber, silicone rubber, neoprene, buna-N, viton, delrin, celcon, polysulfone, nylon, teflon, polyvinyl chloride (PVC), polycarbonate, epoxy glass fabric and fiber glass shall be included in the test.
- (2) Strips of each material shall be placed in test tubes containing the compound so that bottom half of the material strip is immersed in the solution and top half in the air phase. The test tubes shall be capped and placed away at ambient temperature for 30 days.
- (3) The immersed and unimmersed areas of each test strip shall be visually examined and compared for any deleterious effects. Swelling in excess of 10% shall be considered to be excessive. Volumetric swell may be determined in accordance with ASTM D-471.

3. Corrosion

(a) Sandwich Corrosion Test

1. SCOPE

- 1.1 This method defines the procedure for evaluating the corrosivity of materials on alloys commonly used for aircraft structures. The method is intended to be used in the qualification and approval of such compounds employed in aircraft maintenance operations.

G. 3. (a) (Continued)

2. APPLICABLE DOCUMENTS

- 2.1 QQ-A-250/4 Al Alloy 2024 Plate and Sheet  
QQ-A-250/5 Al Alloy Alclad 2024 Plate and Sheet  
QQ-A-250/12 Al Alloy 7075 Plate and Sheet  
QQ-A-250/13 Al Alloy Alclad 7075 Plate and Sheet

3. SUMMARY OF METHOD

- 3.1 Aluminum coupons having clad or anodized non-clad surfaces are sandwiched together with a filter paper saturated with the test material between the coupons. The coupons are cycled between warm ambient air and warm humid air for seven days. The coupons are then inspected to determine whether corrosion more severe than that caused by synthetic tap water has occurred on the surfaces exposed to the test material. The test may be used for dry granular material or for solids, as well as for liquid materials.

4. SIGNIFICANCE

- 4.1 The data generated by this test shall be used to determine whether aircraft structural aluminum alloys are liable to be corroded or damaged by application of the test material during routine maintenance operations.
- 4.2 Interpretation of the sandwich corrosion test results is based on a comparison of the appearance of faying surfaces of 3 sets of coupons. One set of test coupons is exposed with synthetic tap water only in the faying surfaces, to establish the baseline (controls) against which the panels exposed to the test material are compared. If the panels exposed to the test material show the same or very slightly more staining or general surface corrosion than the tap water controls, the material should be judged acceptable. However, if the corrosion resulting from the test material is obviously more severe than the controls, and covers a larger area, the material is considered to have failed the test. Materials which cause pitting corrosion of faying surfaces should be approved. Corrosion at cut edges of the test coupons should be neglected.

G. 3. (a) 4.2 (Continued)

The relative corrosion severity rating system is provided in order to allow a numerical classification of the test results, and to eliminate the necessity for elaborate weight loss measurements. Pitting corrosion, which is rated 4-extensive (severe) corrosion, may involve only a negligible weight loss.

The synthetic tap water control panels will normally have a corrosion severity of 0 to 1 with an occasional severity of 2. The anodized panels are readily discolored, but not corroded, by tap water. In general, test compounds having a rating of more than 2 are not acceptable. In terms of surface area covered by white corrosion products of aluminum the following criteria may be applied:

- 0 - No corrosion
- 1 - Up to 5% of the surface area corroded
- 2 - 5 to 10%
- 3 - 10 to 25%
- 4 - 25% or more

Evaluation of the corrosivity of materials in the dry or concentrated form is necessary, since diluted materials that become trapped in crevices or undrained areas can evaporate to near dryness, and cause localized corrosion problems, including accelerated crevice corrosion.

5. DEFINITIONS OF TERMS

5.1 Sandwich Corrosion Test

A comparative accelerated environmental test of the corrosivity of liquid or solid materials on structural alloys commonly used in aerospace construction.

6. INTERFERENCES

- 6.1 Tap water containing large amounts of dissolved solids, especially chlorides, may cause relatively severe corrosion of the control panels. For this reason a synthetic tap water is specified. For comparative purposes, a set of test panels, with the locally available tap water applied to the filter paper, may be run along with the synthetic tap water panels.

G. 3. (a) (Continued)

- 6.2 Under certain conditions cellulose filter paper may react with the test material and change the test results. Filter paper made from glass fibers is available, and should be used, except for fluoride-containing compounds.

7. APPARATUS

- 7.1 Cabinet, Humidity Test, ASTM 0 1745 or equal.  
Capabilty of 95-100% relative humidity at  $100 \pm 2^\circ\text{F}$ .
- 7.2 Oven, Forced Circulation, Air.  
Capability of  $100^\circ\text{F} \pm 2^\circ\text{F}$ .
- 7.3 Microscope, Binocular, 10X - 40X.

8. MATERIALS

8.1 Aluminum Alloy Coupons

- 8.1.1 QQ-A-250/4, 2024-T3 non-clad  
QQ-A-250/5, 2024-T3 Alclad  
QQ-A-250/12, 7075-T6 non-clad  
QQ-A-250/13, 7075-T6 Alclad

8.2 Coupon Size

The recommended coupon size is 2" X 4" X .040" - .060". This size has been found to provide suitable results for comparative tests. Smaller sizes are not recommended, because of the increased variations due to edge effects. Larger coupons are acceptable, but the space requirements for testing and storage should be considered.

8.3 Other Alloys

Where the effects of a material on alloy other than aluminum must be determined, coupons of similar size may be used. Test coupon materials should be purchased to a standard specification. Sufficient coupon material should be purchased to allow several complete tests to be run on the same lot of material.

G. 3. (a) (Continued)

8.4 Filter Paper

Use **Whatman** GFA or equal filter paper made from glass fibers, 11 or 13 cm in diameter. Filter paper will not be **required** when the material being tested is a **powder** or **solid**. Filter paper should not be used with **highly viscous** or **fluoride containing** strippers.

8.5 Anodize

8.5.1 Anodize the non-clad coupons per MIL-A-8625C, Type I (Chromic Acid).

8.6 Synthetic Tap Water

Prepare a solution of synthetic tap water, using pure distilled or deionized water and analytical reagent grade chemicals:

1. 0.020 ± gr AR Calcium Acetate,  $\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
2. 0.15 ± .005 gr AR Magnesium Sulfate,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
3. 0.12 ± .005 gr AR Sodium Chloride,  $\text{NaCl}$

Dilute to one liter with distilled or deionized water. The water shall be in accordance ASTM D 1193-70, Type III. The pH of the water shall be 6.5 - 7.5. The pH of the synthetic tap water solution should be approximately 6.8, or within the range of 6.5 - 7.5.

8.9 SAFEN PRECAUTIONS

The materials used for aircraft maintenance may contain flammable solvents, strong acids or alkalis, or other toxic compounds. Suitable precautions should be taken to prevent personnel injury from these hazards. When the composition of the test material is not known, the manufacturer should be consulted to determine whether any hazard exists.

10. SAMPLING

10.1 Agitate or thoroughly mix the test material to assure uniformity. Where dilution of the material is required use synthetic tap water or the solvent specified by the product manufacturer. Apply sufficient test material to saturate the area between the metal coupons.

G. 3. (a) (Continued)

**11. TEST SPECIMEN AND SAMPLE**

11.1 Three sets of test panels shall be prepared. A test panel set shall consist of **8 individual** test coupons, **sandwiched** together in pairs of coupons of the **same** alloy and **the same** surface treatment, to **provide** 4 test coupon sandwiches for each test **condition**. **Identify** each coupon by impression **stamping** or other suitable permanent **method**.

11.2 The panels shall be cleaned by **solvent** wiping, or vapor degreasing. **Do** not use acid or caustic cleaners. Ink stamped **markings** should **be removed** from the panels. **Do** not use abrasive materials to clean **the** panels.

11.3 The test panel sets shall be prepared as **follows** for each alloy:

11.3.1 One set - compound to be tested, at use dilution.

11.3.2 One set - compound to be tested, concentrate

**11.3.3** One set - controls, synthetic tap water.

**12. PREPARATION OF APPARATUS**

12.1 Verify that **the** humidity cabinet **is** operating at the **specified** temperature and humidity.

12.2 Verify that the air oven **is** operating at the **specified** temperature, with air **circulation**.

**13. CALIBRATION AND STANDARDIZATION**

13.1 **Since** the test coupons include controls for comparative purposes, no **special** calibration or **standardization** procedures are required.

**14. CONDITIONING**

14.1 **Conditioning** of **the** test materials or **the** sets of prepared test coupons is not required. The test sample should be thoroughly agitated **before** application to the test coupons.

14.2 The anodized panels shall be **allowed** to age for a period of at **least** 48 hours **prior** to exposure.

G. 3. (a) (Continued)

15. PROCEDURE

- 15.1 Assemble the cleaned panels into 3 identical groups each **having** four different sets of panels suitably identified by **permanent** marking. Each panel set shall **consist** of 2 individual coupons of the **same** alloy and the **same** surface **treatment**.
- 15.2 Cut a **piece** of **glass fiber filter paper** to the **approximate size** of the coupons, fit this **piece** over one of the coupons. Add the test solution at the use concentration to the paper until saturated. Cover the wet paper **with** the second coupon of the sandwich pair. Repeat the operation for each of the coupon sets in the **group**. **This** test may be **omitted** if the test **material** is to be used in the concentrated form only. See paragraph 8.4 for **deletion** of the **filter paper**.
- 15.3 **Prepare** a second group of panels as outlined in 15.2 except the **material** to be tested shall be applied in the concentrated, as-received condition, **without** dilution by water or solvents.
- 15.4 **Prepare** a third group of panels, as outlined in 15.2, except that synthetic tap water only shall be applied to the **filter paper between** the panels.
- 15.5 The panels shall be **exposed** at alternate **intervals** of 8 hours in the air oven and 16 hours in the humidity cabinet. The exposure **period** should be started on a Monday morning in the oven, and the coupons **should** be left in the humidity cabinet over the **following** weekend. The humidity cabinet shall be maintained at  $100^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{F}$  ( $37.8 \pm 1.1^{\circ}\text{C}$ ) and 95-100% relative humidity. The air oven shall be maintained at  $100^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{F}$  ( $37.8 \pm 2.8^{\circ}\text{C}$ ). Each set of panels shall be **exposed individually**, not **stacked**, in a horizontal position. After exposure, the panels shall be **rinsed** in warm tap water, and scrubbed lightly with a soft **nonmetallic bristle** brush. After **drying**, examine each panel **under 10X magnification**, and rate each set according to **the following** scale:
  - 0 - No **visible** corrosion
  - 1 - **Very** slight corrosion or discoloration
  - 2 - **Slight** corrosion
  - 3 - **Moderate** corrosion
  - 4 - Extensive corrosion, **pitting**



G. 3. (a) (Contfnued)

**16. INTERPRETATION OF RESULTS**

**16.1** The corrosion rating obtained on the sets of panels of the first and second groups shall be compared with the rating obtained on the third tap water **control group**. Pitting corrosion of any severity shall be given a rating of 4. Corrosion at **the cut edges of the coupons** should be disregarded.

**17. REPORT**

**17.1** A report shall be prepared certifying that the test has been run in accordance with **the** specified methods and listing the **exact** conditions of the test as **per-**formed. The report shall **tabulate** the corrosion rating of all test panels used in the **test**, and shall state whether the test compound **is considered to be accept-**able from a **sandwich** corrosion standpoint.

**18. APPENDIX**

**18.1 RECOMMENDED PANEL IDENTIFICATION**

**18.1.1** Test **material diluted** to using concentration:

- A-1 2024-T3 Non-clad Anodized
- A-2 2024-T3 Alclad
- A-3 7075-T6 Non-clad Anodized
- A-4 7075-T6 Alclad

**18.1.2** Test **material** in concentrated, **as-received** condition:

- B-1 2024-T3 Non-clad Anodized
- B-2 2024-T3 Alclad
- B-3 7075-T3 Non-clad Anodized
- B-4 7075-T3 Alclad

**18.1.3** Tap Water Controls

- C-1 2024-T3 Non-clad Anodized
- C-2 2024-T3 Alclad
- C-3 7075-T6 Non-clad Anodized
- C-4 7075-T6 Alclad

G. 3. (a) (Continued)

18.2 RECOMMENDED TABULATION OF RESULTS

Condition	ALLOY			
	1	2	3	4
A - Diluted				
B - Concentrate				
C - Synthetic Tap Water				

NOTE: Record pitting corrosion separately, if present.

18.3 RECOMMENDED EXPOSURE SCHEDULE:

STEP	EXPOSURE TIME* HR ± 1/2	CONDITIONS	
		TEMPERATURE °F	RELATIVE HUMIDITY %
1	8	100	Ambient
2	16	100	95-100
3	8	100	Ambient
4	16	100	95-100
5	8	100	Ambient
6	16	100	95-100
7	8	100	Ambient
8	16	100	95-100
9	8	100	Ambient
10	64	100	95-100

\*Total testing time is 168 hours

- (b) Immersion Corrosion Test: The average weight loss of four metal specimens shall not exceed either 3 mg for 321 CRES, 100 mg for 1020 steel, 10 mg for 2024-T3 aluminum and 8 mg for 7075-T6 aluminum or greater than that of the tap water control specimens, when tested as follows:

G. 3. (b) (Continued)

(1) Three 1 X 2 X 0.040 inch panels for each of the following four test alloys shall be prepared:

- (a) 321 CRES
- (b) 1020 Steel
- (c) 2024-T3 Alclad Aluminum (QQ-A-250/5 Temp T3)
- (d) 7075-T6 Alclad Aluminum (QQ-A-250/13 Temp T6)

The metal specimens shall be cleaned in acetone, allowed to dry and accurately weighed.

(2) The weighed specimens shall be totally immersed in 100 ml of the compound at the recommended concentration. Tap water and deionized water controls shall also be included. The panels shall remain immersed in the solutions for 30 days at room temperature.

(3) At 30 days the panels shall be removed, cleaned, weighed and weight loss calculated. The following cleaning procedure to remove corrosion products after exposure shall be used:

Steel

1. 20% NaOH + zinc dust at 100°C for 5 minutes.
2. Rinse in tap water.
3. Rinse in deionized water.
4. Dry.

Stainless Steel

1. 10% HNO<sub>3</sub> at 60°C until clean.
2. Rinse in tap water.
3. Rinse in deionized water.
4. Dry.

Aluminum Alloys

1. 2% K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> + 5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> at 80°C for 10 minutes.
2. Rinse in tap water.
3. 70% HNO<sub>3</sub> at ambient for 2 minutes.
4. Rinse in tap water.
5. Rinse in deionized water
6. Dry.

G. 3. (b) (Continued)

- (4) Report **weight loss in milligrams, note the presence of pitting and depth of deepest pit, and describe any corrosion products.**

4. Chemical and Environmental Properties

**Because** the environmental standard **differs from one area to the next, and standards** for waste water effluents are continually being revised, **it is** up to **the** concerned party to **meet** the waste water effluent standards for that part of the world in which he **is** operating.

(a) pH

The pH of **the** compound at the **recommended** concentration shall be measured using a standard electrometer (pH meter). Also, the dilution factor necessary to bring the pH of **the test** compound within 0.5 pH units of the diluent used (tap water) shall be reported.

(b) Total Alkalinity (or Acidity)

Total alkalinity (or acidity if applicable) as ppm  $\text{CaCO}_3$  shall be **determined** by the electrometric titration method (Standard Methods, 1571, 13th Edition, American Public Health Association, page 370).

(c) Chemical Oxygen Demand

Chemical oxygen demand of **the** compound at **the recommended** concentration shall be **measured** by the dichromate reflux method (Standard Methods, 1971, page 495).

(d) Biological Oxygen Demand

Five day, 20°C biological oxygen demand shall be determined according to Standard Methods, 1971, page 489 using filtered raw sewage seed.

(e) Total Inorganic Phosphate

Total inorganic phosphates of the compound at the **recommended** concentration shall be **measured** by the stannous chloride or ascorbic acid method (Standard Methods, 1371, page 530 and 532)..

, (f) Phenols

Phenols In the compound at the **recommended** concentration shall be measured by first **distilling** 500 ml of **sample** followed by **chloroform** extraction method using 4-aminoantipyrine (Standard Methods, 1971, page 502).

G. 4. (Continued)

(g) Heavy Metals

Heavy metals such as chromium, copper, cadmium, mercury, nickel, silver and zinc (if used as a constituent of ingredient of the compound) shall be measured at the recommended concentration according to Standard Methods, 1971. (See para. H - references).

5. Microbiological Evaluation (Germicidal Activity)

(a) Antimicrobial Activity - Growth Curve

The compound when tested as described below shall meet the following requirements:

Compound		Time For % Kill or Reduction			
		1 Hr.	3 Hr.	24 Hr.	72 Hr.
Undilute:	SPC	99.999%	-	100%	-
	MPN	54%	93.8752	-	-
1:2 Dilution:	SPC	99.999%	-	100%	-
1:5 Dilution:	SPC	89.690%	99.930%	-	-
1:10 Dilution:	SPC	-	-	24 - 72 hrs. shall show loss of inhibition and an increase in growth curve	

SPC - Standard plate count

MPN - Most probable number for coliforms

- (1) The compound at the recommended concentration (prime charge), and at 1:2, 1:5 and 1:10 dilutions shall be prepared in fresh raw sewage containing greater than  $10^6$  organisms/ml. A control containing raw sewage without test compound shall also be included.
- (2) The test solutions shall be incubated at 35 - 37°C for 72 hours with agitation only prior to sampling for plate counts.

G. 5. (a) (Continued)

- (3) Microbiological populations of the test solutions shall be made at 0, 1, 2, 3, 6, 24, 48 and 72 hour intervals using serial dilution - standard plate count methods (Standard Methods, 1971, page 660). The plating medium shall be Trypticase Soy Agar (BBL) or Tryptone Glucose Yeast Extract Agar (Difco). All the plates shall be incubated at 33 - 37°C for two days before the colonies are counted.
- (4) Total coliform count shall be measured on the undiluted compound according to Standard Methods, 1971, page 664 using lactose broth. Tubes in triplicate shall be inoculated with 10.0, 1.0 and 0.1 ml of the test solution. The lactose broth is incubated at 35°C for 48 hours and most probable number (MPN) of coliform bacteria per 100 ml of sample shall be reported.
- (5) The standard plate count results of the control, undiluted and diluted samples of the compound shall be reported in organisms per milliliter at 0, 1, 2, 3, 6, 24, 48 and 72 hours. These results shall also be plotted out on graph paper. The coliform count (MPN) shall be reported as coliform bacteria per 100 milliliters of sample for the undiluted compound and the control at 0, 1, 2, 3, 6, 24, 48 and 72 hours.

(b) Repeated Organic Loading Test

The compound at the recommended concentration exposed to repeated loading of organic waste up to a dilution of 1:5 with raw sewage shall be able to control the growth of total microorganisms and coliforms associated with fecal matter and urine while a 1:10 dilution shall result in loss of inhibition when tested as follows:

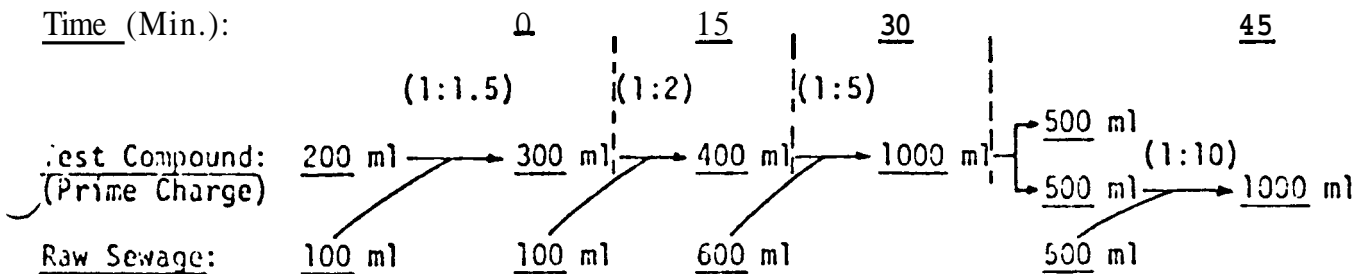
- (1) The compound at the recommended concentration (prime charge) shall be prepared in tap water. A tap water control shall also be prepared. At time zero, 100 ml of fresh raw sewage is added to 200 ml of the compound (1:1.5 dil.) and the tap water control. After aliquots are removed for microbiological analysis the sample and control shall be incubated on a shaker at 35°C during the 1 1/2 hour duration of the test.

At 15 minutes, 100 ml of raw sewage and at 30 minutes, 600 ml of raw sewage are added to the sample and control (total volume 1000 ml). At 30 minutes, the sample is divided into two equal portions, 500 ml each, and at 45 minutes, 500 ml of raw sewage is added to only one of these portions.

G. 5. (b) (Continued)

(2) Standard plate counts of the sample and controls shall be made at time 0, 15, 30, 45, 60, 75 and 90 minutes. Standard plate counts shall be made using Trypticase Soy Agar or Tryptone Glucose Yeast Extract Agar and Sabouraud's Agar (Difco or EBL) as described in Section 5(a)(3). Total coliform count shall be made at time 0, 30, 60 and 90 minutes as described in Section 5(a)(4).

(3) An outline of the test scheme is presented below:



(4) The initial plate count and coliform count at time zero need only be done on the tap water control. To compensate for the initial aliquots withdrawn for microbial analysis, 220 ml of tap water and 110 ml of raw sewage shall be used.

6. Odor Evaluation

The compound at the recommended concentration and diluted 1:5 with raw sewage shall still mask the odor of fecal material and urine following the microbiological evaluation. Using the sewage controls as 4+ rating, rate all the samples up to the 1:10 dilution according to the following:

- 4+ = Very strong odor
- 3+ = Strong odor
- 2+ = Moderate odor
- 1+ = Slight odor
- ± = Very slight odor
- 0 = No presence of odor

II. References

Standard Methods For the Examination of Water and Wastewaters,  
13th Edition, 1971  
American Public Health Association,  
New York, N.Y. 10015

W. Q. O. Methods For Chemical Analyses of Water and Wastes,  
April 1971  
Environmental Protection Agency Water Quality Office  
Analytical Quality Control Laboratory  
Cincinnati, Ohio 45202

CSD NO. 3 QUALIFICATION REQUIREMENTS LIST

		<u>PASS</u>	<u>FAIL</u>
<b>I.</b>	<b>E.</b>		
	<b>Product Bulletin</b>		
	<b>E. 2.</b>		
	(a) <b>Bulletin Identification</b>	_____	_____
	(b) <b>Description of Product</b>	_____	_____
	(c) <b>Method of Use</b>	_____	_____
	(d) <b>Mixing Instructions</b>	_____	_____
	(e) <b>Material Compatibility</b>	_____	_____
	(f) <b>Properties</b>	_____	_____
	(g) <b>Safety Practices</b>	_____	_____
	(h) <b>Warranty</b>	_____	_____
<b>II.</b>	<b>G.</b>		
	<b>Qualification Tests</b>		
	<b>G. 1.</b>		
	(a) <b>Color Absorbing Properties</b>	_____	_____
	(b) <b>Solubility</b>	_____	_____
	(c) <b>Viscosity</b>	_____	_____
	(d) <b>Surface Tension</b>	_____	_____
	(e) <b>Foam Test</b>	_____	_____
	(f) <b>Residue Test</b>	_____	_____
	(g) <b>Thermal Stability</b>	_____	_____
	(h) <b>Stain Test</b>	_____	_____
	<b>G. 2.</b>		
	(a) <b>Effect on Painted Surface</b>	_____	_____
	(b) <b>Effect on Rubber and Plastic Materials</b>	_____	_____



		<u>PASS</u>	<u>FAIL</u>
G. 3.	(a) Sandwich Corrosion Test	_____	_____
	(b) Immersion Corrosion Test	_____	_____
G. 4.	(a) pH		
	(b) Total Alkalinity or Acidity .	_____	_____
	(c) Chemical Oxygen Oemand	_____	_____
	(d) Biological Oxygen Demand	_____	_____
	(e) Total Inorganic Phosphate	_____	_____
	(f) Phenols	_____	_____
	(g) Hcavy Metals	_____	_____
G. 5.	(a) Antimicrobial Acitivity - Growth Curve	_____	_____
	(b) Repeatcd Organic Loading Test	_____	_____
G. 6.	(a) Odor Evaluation	_____	_____

III.                    Laboratory Test Report and Specimens

<u>SUPPLIER</u>	<u>PRODUCT NUMBER</u>	<u>NOMENCLATURE</u>
Fort Howard	474	Facial Tissue
Fort Howard	145	Single Ply Toilet Tissue
Fort Howard	140	Double Ply Toilet Tissue
Dixie/Marathon	1808	Double Ply Toilet Tissue
Fort Howard	206-03	C - Fold Towel
Dixie/Marathon	826	C - Fold Towel
Georgia-Pacific	539	C - Fold Towel

For price, availability and/or technical information regarding the above, please contact the following appropriate supplier:

Fort Howard Paper Company  
P. O. Box 130  
Green Bay, Wisconsin 54305


Dixie/Marathon  
Box 3400  
American Lane 2A5  
Greenwich, Connecticut 06830

Georgia-Pacific Corporation  
320 Post Road  
Darien, Connecticut 06820

Very truly yours,

  
A. Acampora, Manager  
Product Support  
DC-8 Programs

  
H. E. Whetro, Director  
Product Support  
DC-9 Programs

  
R. J. McKernon, Director  
Product Support  
DC-10 Programs

DA:cr

NORME AFNOR

## 2 DOMAINE D'APPLICATION

Il est rappelé qu'une activité bactéricide est la propriété d'un produit qui tue les bactéries dans des conditions définies (NF T 72-101). Cette définition est limitative : tout d'abord **il n'y est question que** de bactéries, sous forme végétative, non de spores bactériennes, ni de champignons, ni de virus. En outre, elle précise que les conditions de l'activité bactéricide doivent **être** définies.

### 2.1 LA PRÉSENTE NORME EST APPLICABLE DANS LES CONDITIONS SUIVANTES :

**2.1.1** La méthode décrite est destinée principalement à déterminer l'activité bactéricide de formulations commerciales, mais elle peut, **à fortiori**, être appliquée à des substances utilisées en tant que matières actives.

**2.1.2** Le produit essayé est destiné **à** être utilisé sous forme liquide et doit être soluble ou miscible à l'eau aux concentrations d'essai.

**2.1.3** La présente norme ne s'applique qu'aux antiseptiques ou désinfectants dont l'activité bactéricide **est** neutralisée en suivant le mode opératoire décrit dans l'essai préliminaire.

**2.1.4** Les conditions définies dans la présente norme évitent dans la mesure du possible que des substances étrangères (**matières** organiques par exemple) interfèrent dans la réaction **entre le** produit essayé et les bactéries. Il est cependant possible de déterminer selon un protocole semblable l'activité bactéricide du produit en présence de substances interférentes dans les conditions qui font l'objet de la norme NF T 72-170.

**2.1.5** Les souches de bactéries choisies correspondent **à un** éventail représentatif des populations bactériennes : elles permettent donc de définir une activité bactéricide minimale.

D'autres espèces bactériennes peuvent être utilisées selon le même protocole, mais uniquement en complément des 5 souches de référence.

**2.2** Par la présente norme on ne peut déterminer l'activité bactéricide d'un produit **à** une concentration de 100 % (une certaine dilution est toujours nécessaire par l'apport de l'**inoculum**). Dans le cas d'antiseptiques ou désinfectants utilisables sans dilution, on peut **déterminer** si ces produits **à** une concentration de 90 % (**ou 50 % d'inoculum**) ou de 50 % ont une activité **bactéricide** conforme à la définition du chapitre 4.

Les méthodes de détermination de l'**activité** bactéricide des produits liquides pour lesquels aucun neutralisant n'est connu, font l'objet de la norme NF T 72-151. Les méthodes de détermination de l'activité antibactérienne pour la décontamination des surfaces font l'objet de la norme NF T 72-190. Les méthodes de détermination de l'activité antibactérienne des produits utilisés autrement **qu'à l'état** liquide feront l'objet d'une normalisation ultérieure.

## 3 RÉFÉRENCES

- NF T 72-101 Antiseptiques et désinfectants — Vocabulaire.
- NF T 72-151 Antiseptiques et **désinfectants** utilisés **à l'état** liquide, miscibles **à** l'eau — **Détermination** de l'activité bactéricide (Méthode par filtration sur membranes).
- NF T 72-170 Antiseptiques et désinfectants utilisés **à l'état** liquide, miscibles **à l'eau** et neutralisables — Détermination de l'activité bactéricide en présence de substances **interférentes définies** (méthode par dilution-neutralisation).
- NF T 72-190 **Désinfectants** utilisés **à l'état** liquide -miscibles **à** l'eau — Détermination de l'activité antibactérienne pour la décontamination des surfaces (méthode des **porte-germes**).

## 4 DÉFINITIONS

### 4.1 BACTÉRICIDE

Produit ou procédé ayant la propriété de tuer les bactéries dans des conditions **définies**. (Si le produit ou le procédé est sélectif, vis-&-vis d'une **espèce** bactérienne. ceci doit être **précisé**) (1).

### 4.2 DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ BACTÉRICIDE

**Détermination** de la concentration minimale à laquelle ce produit est capable de réduire d'au moins **10<sup>5</sup>** fois le nombre de cellules vivantes appartenant à des souches déterminées de **5 espèces** bactériennes. en 5 min de contact.

## 5 PRINCIPE

### 5.1 ESSAI PRÉLIMINAIRE

Recherche du neutralisant le mieux adapté pour l'application de la présente norme.

Mise en contact des 5 suspensions bactériennes pendant **5 min** à une température de **21 °C** avec différents mélanges comprenant un neutralisant et le produit à essayer.

Dénombrements des colonies dans ces mélanges **après** ce contact, ainsi que dans une série témoin réalisée dans les **mêmes** conditions, mais comprenant un **égal** volume d'eau **distillée** stérile à la place du produit.

### 5.2 ESSAI PROPREMENT DIT

Mise en contact de 5 suspensions bactériennes pendant 5 min à une **température** de **21 °C** avec différentes concentrations du produit. Dénombrement des colonies sur des dilutions de suspensions bactériennes avant et **après** mise en contact, et dans ce dernier cas **après** neutralisation de l'activité antibactérienne.

## 6 SOUCHES

### 6.1 SOUCHES DE RÉFÉRENCE

Cinq souches doivent être **utilisées** pour ces essais. On peut se les procurer **auprès** de la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes (**CNCM**) ou **auprès d'autres** Instituts **spécialisés** (par exemple l'**American Type Culture Collection**) (ATCC).

**6.1.1** *Pseudomonas aeruginosa* CNCM A 22,

**6.1.2** *Escherichia coli* CNCM 54 127 (ATCC 10 536,...),

**6.1.3** *Staphylococcus aureus* souche **Oxford** CNCM 53 154 (ATCC 9 144,...),

**6.1.4** *Streptococcus faecalis* CNCM 5 855 (ATCC 10 541,...),

**6.1.5** *Mycobacterium smegmatis* CNCM 7 326.

---

(1) Selon NF T 72-101.

## 6.2 CULTURE DES SOUCHES

Ces souches doivent être utilisées après 3 repiquages successifs sur le milieu gélosé (7.2) dans les conditions suivantes :

Souche	Intervalle entre 2 repiquages	Température d'incubation
6.1.1	24 h	37 °C ± 1 °C
6.1.2	24 h	37 °C ± 1 °C
6.1.3	24 h	37 °C ± 1 °C
6.1.4	48 h	37 °C ± 1 °C
6.1.5	48 h	37 °C ± 1 °C

## 7 MILIEUX DE CULTURE ET RÉACTIFS DIVERS

Pour améliorer l'uniformité des résultats, il est recommandé d'utiliser pour la préparation des milieux de culture et du diluant, des composants de base déshydratés et des produits chimiques de qualité analytique.

L'eau utilisée doit être de l'eau distillée, (et non de l'eau simplement déminéralisée), exempte de substances toxiques ou inhibitrices pour les microorganismes.

### 7.1 GÉLOSE POUR DÉNOMBREMENT

#### 7.1.1 Composition

Extrait de levure déshydraté .....	25 g
Tryptone (1) .....	50 g
Glucose .....	1,0 g
Agar-agar en poudre .....	12 à 18 g selon les propriétés gélifiantes du produit.
Eau .....	1 000 ml

#### 7.1.2 Réparation

Dissoudre dans l'eau à l'ébullition, les composants ou le milieu complet déshydraté. Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de 7,2 ± 0,2 à 20 °C (mesure effectuée à 45 °C avec une correction de température).

Répartir le milieu dans des tubes à essais à raison de 15 ml par tube ou dans des flacons ne dépassant pas 500 ml à raison d'environ la moitié du volume des flacons.

Stériliser à l'autoclave à 121 °C ± 1 °C pendant 20 min.

Avant de commencer l'essai, afin d'éviter toute attente au moment de couler la gélose, faire fondre complètement le milieu dans un bain d'eau bouillante. Refroidir à 45 °C — 48 °C, dans un bain d'eau dont la température est réglée dans cette zone de température.

(1) Ce terme n'est actuellement utilisé que par certains producteurs de milieux. toute autre peptone tryptique de caséine peut être utilisée selon les prescriptions du fabricant.

## 7.2 GÉLOSÉ POUR ENTRETIEN DES SOUCHES

### 7.2.1 Composition

Tryptone (1) .....	15,0 g
Peptone de soja .....	5,0 g
Chlorure de sodium .....	5,0 g
Agar-agar en poudre .....	12 à 18 g selon les propriétés gélifiantes du produit.
Eau .....	1 000 ml

### 7.2.2 Préparation

Opérer comme pour la gélose pour **dénombrement**, mais répartir en tubes à raison de 8 ml par tube ou en flacons bouchés de dimensions appropriées. Stériliser à l'autoclave. Au sortir de l'autoclave, maintenir les tubes en position **inclinée** jusqu'à complet refroidissement.

## 7.3 DILUANT DES SUSPENSIONS BACTÉRIENNES

### 7.3.1 Composition

Tryptone (1) .....	1,0 g
Chlorure de sodium .....	8,5 g
Eau .....	1 000 ml

### 7.3.2 Préparation

Dissoudre les composants dans **l'eau** à l'ébullition. Ajuster le **pH** de sorte **qu'après** stérilisation, **il** soit de  $7,2 \pm 0,2$  à  $20^\circ\text{C}$ .

**Répartir** le diluant dans des fioles de 150 ml, à raison de 100 ml par fiole.

Stériliser à l'autoclave à  $121^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  pendant **20** min.

A partir des fioles de diluant, et juste avant de préparer les dilutions des suspensions bactériennes, introduire dans des tubes à essais stériles,  $9 \text{ ml} \pm 0,1 \text{ ml}$  de diluant par tube.

## 7.4 NEUTRALISANT

Le neutralisant le plus convenable pour chaque produit est choisi en fonction des résultats de **l'essai** préliminaire.

Le neutralisant doit **être** stérile.

## 8 APPAREILLAGE ET VERRERIE

Matériel courant de laboratoire et notamment :

### 8.1 APPAREILLAGE

- Autoclave, four Pasteur et dispositif de filtration avec membranes filtrantes **stérilisées** à pores de  $0,45 \mu\text{m}$  etc., pour stérilisation de la verrerie, **des** milieux. etc.
- Étuve **bactériologique**, si possible ventilée, à  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ .
- Bain d'eau à **l'ébullition**.

(1) *Ce terme n'est actuellement utilisé que par certains producteurs de milieux. toute autre peptone tryptique de caséine peut être utilisée selon les prescriptions du fabricant.*

- Bain d'eau réglé à 45 °C — 48 °C.
- Bain d'eau réglé à 21 °C ± 1 °C.
- Balance analytique.
- Agitateur produisant une agitation de type vortex.
- **pH-mètre.**
- **Spectrophotomètre équipé** d'un monochromateur réglé sur la longueur d'onde de 620 nm ± 20 nm ou photomètre équipé d'un filtre centre sur cette valeur.
- **Chronomètre.**

## 8.2 VERRERIE

- Tubes à essai 18 ou 20, NF B 35-017.
- Boîtes de Petri. NF B 35-204.
- Fioles coniques, NF B 35-008, bouchées au coton **cardé**.
- Flacons à bouchon à visser, de contenances diverses.

## 8.3 STÉRILISATION

- **Stérilisation sèche** à 170 °C au moins, pendant 1 h minimum.
- **Stérilisation humide** à 121 °C ± 1 °C, pendant 20 min minimum.
- **Stérilisation** par filtration sur des membranes ayant des pores de 0.45 µm.

## 9 ESSAI PRÉLIMINAIRE

### 9.1 PRÉPARATION DES SUSPENSIONS BACTÉRIENNES

#### 9.1.1 à 9.1.4

Placer sur le milieu de culture les souches (9.1.1 à 9.1.4) cultivées comme en 6.2 en les resuspendant dans le diluant (7.3) à l'aide de billes en verre stériles de 3 à 4 mm de diamètre.

**Prélever** aseptiquement un volume défini de la suspension et ajuster son **absorbance** au moyen du diluant (7.3) au **spectrophotomètre** ou au **photomètre** de façon à obtenir à 620 nm ± 20 nm et en cuvettes de 10 mm de parcours optique une valeur comprise entre 0,14 et 0,19 (1) pour les souches 9.1.1 et 9.1.2, entre 0,16 et 0,20 (1) pour la souche 9.1.3 et entre 0,19 et 0,25 (1) pour la souche 9.1.4. La suspension **ajustée** doit contenir entre 1 X 10<sup>8</sup> et 3 X 10<sup>8</sup> cellules par millilitre.

Réparer aseptiquement l'inoculum en diluant la suspension **bactérienne** en fonction du résultat obtenu à l'alinéa ci-dessus.

#### 9.1.2 Souche 9.1.6

Humecter dans la fiole conique les billes en verre stériles avec 2 ou 3 gouttes d'eau **distillée** stérile.

**Prélever** la culture de **mycobactéries** sur milieu solide à l'aide d'une anse et déposer les cellules au sein des billes en verre. On peut, en fonction de la densité cellulaire **cherchée**, effectuer 5 ou 6 **prélèvements**.

Agiter par rotations assez rapides pendant environ 3 min.

Ajouter un **volume** d'eau **supérieur** de 4 à 5 ml au volume désiré.

(1) Si l'on rencontre des difficultés à rester dans les limites fixées, il peut être recommandé de se procurer à nouveau les souches.

Agiter (2 à 3 rotations). Laisser reposer 3 à 5 min.

À l'aide d'une pipette de volume suffisant, **prélever** en une seule fois le surnageant en évitant d'effleurer les billes en verre et de remettre en suspension les dépôts cellulaires.

Préparer aseptiquement l'**inoculum** comme en 9.1.1 en ajustant l'absorbance à une valeur comprise entre 0.18 et 0.35 (1). La suspension ajustée doit contenir entre  $1 \times 10^8$  et  $3 \times 10^8$  cellules par millilitre.

## 9.2 DÉNOMBREMENT DES BACTÉRIES DANS LA SUSPENSION

9.2.1 Diluer les suspensions ajustées préparées en 9.1 à l'aide du diluant (7.3) en changeant de pipette à chaque dilution de façon à ce qu'elles contiennent de  $2 \times 10^3$  à  $6 \times 10^3$  cellules par millilitre.

9.2.2 Placer les suspensions ainsi préparées au bain d'eau à  $21 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ .

9.2.3 Diluer 1 ml de suspension dans 19 ml de diluant (7.3). Effectuer un dénombrement de contrôle en prélevant **après** agitation 2 fois 1 ml de chacune des suspensions ainsi diluées et en les incorporant respectivement à 15 ml de gélose pour dénombrement (7.1) coulés en boîte de Petri. Après solidification retourner les boîtes et les placer à l'incubateur.

## 9.3 ESSAI DES DIFFÉRENTS NEUTRALISANTS

9.3.1 Pour chacune des 5 souches, répartir en double à raison de 9 ml par tube les différents neutralisants soumis aux essais, préalablement stérilisés dont une liste non limitative est donnée en annexe B.

9.3.2 Ajouter dans l'une des deux séries préparées en 9.3.1 (série témoin) 0.5 ml d'eau distillée stérile. Agiter.

9.3.3 Selon le degré d'activité, présumée du produit, **préparer** en eau distillée stérile ou dans le diluant **préconisé** par le fabricant pour le produit, 5 tubes d'une dilution qui corresponde si possible à 20 fois la concentration maximale **prévue** pour les essais vis-B-vis de chacune des 5 souches. Sinon voir 9.3.7.

9.3.4 Ajouter dans l'autre série 0,5 ml de la dilution du produit à essayer correspondant à une souche **définie** (série essai préliminaire). Agiter. Laisser en contact 10 min au maximum.

9.3.5 Introduire dans chacun des tubes de la série **témoin** (9.3.2) et de la série d'essai préliminaire (9.3.4), en évitant soigneusement la partie **supérieure** des parois du tube, 0.5 ml de la suspension bactérienne préparée en 9.2.1 et correspondant à la souche définie en 9.3.4. Déclencher un **chronomètre dès le début de l'addition**, et effectuer une agitation de type vortex de quelques secondes (3 à 5 s) immédiatement **après** la fin de l'addition. Laisser en contact au bain d'eau à  $21 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$  pendant 5 min  $\pm 5$  s **très** exactement.

9.3.6 À la fin du temps de contact, et **très** rapidement, effectuer une agitation de type vortex, prélever 2 fois 1 ml de mélange, les transférer respectivement dans une boîte de Petri, et les incorporer à 15 ml de milieu **gélifié** en surfusion à  $45 \text{ °C}$ . **Après** solidification, retourner les boîtes et les placer à l'incubateur.

9.3.7 Tout **schéma** expérimental permettant la mise en présence du produit à essayer à la concentration désirée, du neutralisant à sa concentration d'utilisation et de  $1$  à  $3 \times 10^3$  cellules par millilitre peut **être** utilisé.

Exemple : — 2 ml de produit à 5 fois la concentration maximale prévue pour les essais,  
 — 4.5 ml de neutralisant à double concentration,  
 — 0.5 ml de suspension bactérienne,  
 — 3 ml d'eau **distillée** stérile.

(1) *Si l'on rencontre des difficultés à rester dans les limites fixées, il peut être recommandé de se procurer à nouveau les souches.*



## 9.4 INCUBATION

Incuber les boîtes correspondant aux dénombrements de **contrôle (9.2.3)** et à ceux des mélanges témoins et essais **(9.3.6)** couvercle en dessous, pendant :

- 48 h B **37 °C ± 1 °C** pour lessouches **6.1.1 à 6.1.4**.
- 7 jours à **37 °C ± 1 °C** pour la souche **6.1.5**.

## 9.5 LECTURE

**9.5.1** Dénombrer les colonies apparues à partir des boîtes **(9.2.3)** et rapporter le résultat en nombre de bactéries par millilitre.

**9.5.2** Dénombrer les colonies à partir des boîtes **(9.3.6)** pour la série d'essais ( $n'_1$  et  $n'_2$ ) et pour la série témoin ( $N'_1$  et  $N'_2$ ). Calculer les moyennes correspondantes  $n'$  et  $N'$ .

## 9.6 CHOIX DU NEUTRALISANT

**9.6.1** Vérifier que le résultat obtenu en **9.5.1** correspond à une suspension bactérienne titrant de  $2 \times 10^3$  à  $6 \times 10^3$  cellules par millilitre.

**9.6.2** Noter les neutralisants qui pour chacune des 5 souches sont tels que 50 % au moins des cellules bactériennes soient protégées de l'action bactéricide du produit par le neutralisant, soit :

$$n' > 0.5 N'$$

où :

$n'$  et  $N'$  sont définis en **9.5**.

**9.6.3** Retenir parmi ceux-ci, pour la détermination de l'activité bactéricide, le neutralisant le plus actif pour **chaque** souche et noter la concentration du produit à essayer pour laquelle ce résultat est obtenu. Le neutralisant peut être considéré comme valable pour les concentrations bactéricides, déterminées lors de l'essai proprement dit, qui n'excèdent pas 10 fois cette concentration.

## 10 ESSAI PROPREMENT DIT

### 10.1 PRÉPARATION DES SUSPENSIONS BACTÉRIENNES

Réparer le jour de l'essai les suspensions bactériennes comme indiqué au paragraphe 9.1.

### 10.2 DÉNOMBREMENT DES BACTÉRIES DANS LA SUSPENSION AVANT CONTACT AVEC LE PRODUIT SOUMIS A L'ESSAI

**10.2.1** À partir des suspensions ajustées préparées en **10.1**, effectuer des dilutions **jusqu'à  $10^{-5}$**  en transférant 1 ml de **suspension-mère** puis des dilutions successives dans des tubes contenant 9 ml de diluant.

**10.2.2** Réaliser la dilution  $10^{-6}$  par transfert de 1 ml de la dilution  $10^{-5}$  dans 9 ml de neutralisant retenu **(9.6)**.

**10.2.3** Après agitation, à partir de cette dernière dilution, effectuer 2 **prélèvements** de 1 ml, transférer chacun d'eux dans une boîte de Petri, puis les incorporer à **15 à 20 ml** de milieu **gélifié (7.1)** en surfusion à **45 °C — 48 °C**. Après solidification, retourner les boîtes et les placer à l'incubateur.

### 10.3 ESSAI DU PRODUIT ET DÉNOMBREMENT DES BACTÉRIES SURVIVANTES

**10.3.1** Selon le degré d'activité **préssumé** du produit soumis à l'essai, préparer pour chaque souche **bactérienne** essayée, en eau distillée stérile, ou dans le diluant préconisé par le fabricant pour le produit, une gamme de **5** dilutions du produit à concentration double de celle que l'on désire mettre effectivement en contact avec les bactéries, et dont la valeur médiane correspond, au double de la concentration **présumée** optimale. Placer ces dilutions au bain d'eau à **21 °C ± 1 °C**.

**10.3.2** Introduire **1 ml** de la suspension bactérienne ajustée (**9.1**) dans un tube stérile en évitant soigneusement la partie supérieure des parois du tube. Après addition de **4 ml** d'eau distillée stérile placer le tube au bain d'eau à **21 °C ± 1 °C** pendant au moins **5 min**. Préparer ainsi autant de tubes qu'il y a de dilutions de produit à essayer et procéder de même pour chacune des **5** souches d'essai.

**10.3.3** Introduire **5 ml** de chacune des dilutions du produit dans le tube contenant la suspension bactérienne et l'eau **distillée**. Déclencher un chronomètre dès le début de l'addition, et effectuer une agitation de type vortex de quelques secondes (**3 à 5 s**) immédiatement après la fin de l'addition. Laisser en contact au bain d'eau à **21 °C ± 1 °C** pendant **5 min ± 5 s** exactement.

**10.3.4** À la fin du temps du contact, et très rapidement, effectuer une agitation de type vortex, prélever **1 ml** de **mélange** et le transférer dans **9 ml** de neutralisant préalablement placé au bain d'eau à **21 °C ± 1 °C**. Pour que cet **essai** soit valable le **chronomètre** ne doit pas indiquer un temps **supérieur à 6 min** à la fin de l'opération.

**10.3.5** **10 min** après le transfert dans le neutralisant, prélever par deux fois **1 ml** de la préparation pour effectuer le dénombrement des survivants comme en **10.2.3**.

**10.3.6** À la fin de l'essai mesurer le pH dans les tubes où les bactéries sont restées en contact pendant **5 min** avec le produit.

### 10.4 INCUBATION

Incuber les boîtes correspondant aux dénombrements avant contact avec le produit (**10.2.3**) et après contact avec celui-ci (**10.3.5**) couvercle en dessous pendant :

- **48 h à 37 °C ± 1 °C** pour les souches **6.1.1 9 6.1.4**.
- **7 jours à 37 °C ± 1 °C** pour la souche **6.1.5**.

### 10.5 LECTURE

**10.5.1** Dénombrer les colonies apparues à partir des boîtes (**10.2.3**) et noter le résultat **N** moyenne des **2** essais effectués. Rapporter ce résultat au nombre de bactéries dans **1 ml** d'inoculum pour vérifier que celui-ci contenait bien un nombre de cellules par millilitre compris entre **1 × 10<sup>8</sup>** et **3 × 10<sup>8</sup>**.

**10.5.2** Dénombrer les colonies apparues à partir des boîtes (**10.3.5**) et noter le résultat **n** moyenne des **2** essais effectués.

## 11 EXPRESSION DES RÉSULTATS

**11.1** Rechercher pour chacune des **5** souches bactériennes la concentration minimale en produit pour laquelle **n** est inférieur ou égale à :

$$\frac{N}{10}$$

où :

**n** et **N** sont définis en **10.5**.

11.2 Vérifier que ces concentrations bactéricides spécifiques du produit sont dans les limites de validité du (ou des) **neutralisant(s)**, c'est-à-dire au maximum **10 fois** la concentration mise en œuvre dans l'essai **préliminaire** (9.6.3). Si la **validité** du ou des **neutralisant(s)** n'est pas vérifiée, la valeur indiquée ne correspond pas à une concentration bactéricide et il y a lieu de changer de neutralisant et de recommencer les essais.

**113** Retenir comme concentration bactéricide la plus forte des concentrations bactéricides déterminées en 11.1 sous la réserve exprimée en 11.2.

## 12 PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit faire référence à la présente norme. Il doit indiquer le résultat obtenu et **préciser** tous les détails nécessaires à l'identification **complète de l'échantillon** du produit soumis à l'essai, la nature et la concentration initiale de la ou des substances actives lorsque celles-ci sont données par le **fabricant, et** le pH dans les tubes ayant permis la décision (c'est-à-dire parmi les tubes à essais où les bactéries de chaque souche du produit ont été mis en contact, ceux où il y a eu une destruction supérieure ou égale à 99,999 % des bactéries).

Il doit indiquer tous les détails opératoires pour lesquels la norme laisse une possibilité de choix (par exemple l'origine des souches : CNCM ou **ATCC**), tous les détails opératoires non prévus par la norme ainsi que les incidents éventuels **susceptibles** d'avoir agi sur les résultats.

Il doit indiquer le ou les **neutralisant(s) utilisé(s)** et préciser les résultats ayant permis de décider de ce choix.

Il est recommandé de présenter le procès-verbal conformément à l'exemple donné en annexe A.

**ANNEXE A**

**EXEMPLE DE PRÉSENTATION ET DE RÉDACTION D'UN PROCÈS-VERBAL  
DE DÉTERMINATION D'ACTIVITÉ BACTÉRICIDE (1)**

(méthode par dilution-neutralisation)

**A.1 LABORATOIRE AYANT RÉALISÉ L'ESSAI**

**A.2 IDENTIFICATION COMPLÈTE DE L'ÉCHANTILLON :**

Nom du produit ..... : **Z**  
 Fabricant ..... : **Y**  
 Date de réception au laboratoire ..... : 1980-04-30  
 Conditions de stockage ..... : celles du fabricant  
 Date de l'analyse ..... : 1980-05-15  
 Substance(-) active(-) et concentration(-) (facultatif) ..... : non précisé

Diluant du produit  
 recommandé par le fabricant ..... : néant  
 utilisé lors des essais ..... : eau **distillée stérile**

**A.3 NEUTRALISANT**

A.3.1 Nature ..... : **lécithine**  
 A.3.2 Concentration ..... : **3 % (m/V)**

**A.3.3 Résultats expérimentaux**

Concentrations essayées du produit	Souches. collection d'origine et <b>numéro</b> dans la collection	<b>N° (9.5.2)</b>	<b>n° (9.5.2)</b>
<b>2 ‰ (V/V)</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CNCM A 22	<b>160</b>	<b>95</b>
<b>2 ‰ (V/V)</b>	<i>Escherichia coli</i> CNCM 54 127	<b>258</b>	<b>187</b>
<b>2 ‰ (V/V)</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> CNCM 53 154	<b>110</b>	<b>72</b>
<b>8 ‰ (V/V)</b>	<i>Streptococcus faecalis</i> CNCM 5 855	<b>154</b>	<b>161</b>
<b>8 ‰ (V/V)</b>	<i>Mycobacterium smegmatis</i> CNCM 7 326	<b>109</b>	<b>87</b>

(1) *Exprimer les concentrations en pourcentage, en millièmes ou en parties par million, en précisant selon le cas : m/m, V/V ou m/V. Pour les autres grandeurs, utiliser les unités du système international (SI).*

## A.3.4 Validité du neutralisant

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	2 % (V/V)
<i>Escherichia coli</i> .....	2 % (V/V)
<i>Staphylococcus aureus</i> .....	2 % (V/V)
<i>Streptococcus faecalis</i> .....	8 % (V/V)
<i>Mycobacterium smegmatis</i> .....	8 % (V/V)

## A.4 ESSAI PROPREMENT DIT

## A.4.1 Résultats expérimentaux

Souches, collection d'origine et numéro dans la collection	$\frac{N}{10}$ (10.5.1) valeur comprise entre 10 et 30	$n$ (105.2)					pH
		concentration en pourcentage (V/V) au contact avec les bactéries					
		0,5	1	2	4	8	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CNCM A 22	22	+	27	0	0	0	5,1
<i>Escherichia coli</i> CNCM 54 127	21	120	(18)	0	0	0	5,3
<i>Staphylococcus aureus</i> CNCM 53 154	23	177	(1)	0	0	0	5,5
<i>Streptococcus faecalis</i> CNCM 5 855	29	+	+	+	+	(0)	5,9
<i>Mycobacterium smegmatis</i> CNCM 7 326	19	+	+	+	+	(5)	5,9

+ = plus de 300 colonies.

## A.4.2 Concentration bactéricide du produit selon NF T 72-150 : 8 % (V/V).

**ANNEXE B**

**LISTE NON LIMITATIVE DE NEUTRALISANTS  
DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE**

Pour les produits phéniqués

- Jaune d'œuf frais dilué à 5 % ou à 0,5 % (V/V)
- Préparation contenant 3 % de polysorbate 80 (1) (V/V)  
0.4 % de lauryl sulfate de sodium (m/V)  
0.3 % de lécithine (m/V)
- Préparation contenant 5 % de jaune d'œuf frais (V/V)  
4 % de polysorbate 80 (1) (V/V)
- Préparation contenant 7 % de condensat d'oxyde d'éthylène sur alcool gras (2) (m/V)  
2 % de lécithine (m/V)  
4 % de polysorbate 80 (1) (V/V)
- Préparation contenant 4 % de condensat d'oxyde d'éthylène sur alcool gras (2) (m/V)  
4 % de lécithine (m/V)

Pour les aldéhydes

- Préparation contenant 3 % de polysorbate 80 (1) (V/V)  
0,3 % de lécithine (m/V)  
0.1 % de L — histidine (m/V)
- Glycine en fonction de la concentration du produit

Pour les ammoniums quaternaires

- Jaune d'œuf frais dilué à 5 % (V/V)
- Préparation contenant 5 % de jaune d'œuf frais (V/V)  
3 % de polysorbate 80 (1) (V/V)
- Préparation contenant 3 % de polysorbate 80 (1) (V/V)  
0.3 % de lécithine (m/V)
- Préparation contenant 3 % de condensat d'oxyde d'éthylène sur alcool gras (2) (m/V)  
2 % de lécithine (m/V)
- Préparation contenant 10 % d'une émulsion de phospholipides à 50 mg/ml (m/V)

Pour les organo-mercuriels et les produits contenant d'autres métaux lourds

- Thioglycolate de sodium à 0.05 % ou 0.5 % (m/V)
- L — cystéine à 0,08 % ou 0.15 % (m/V)
- Acide thiomalique à 0,075 % (V/V) ramené à pH 7 par l'hydroxyde de sodium

Pour les dérivés halogénés (hypochlorite, chloramine T, iodophores, etc.)

- Thiosulfate de sodium à 0.5 % (m/V)

Pour les peroxydes

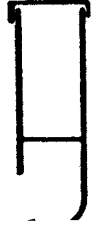
- Catalase
  - Peroxydase.
- } Pour ces deux enzymes, une unité catalyse la décomposition de 1.4 mole de peroxyde d'hydrogène par minute à 25 °C à pH 7.

(1) *Connu sous le nom de marque : Tween 80. de qualité analytique et non hydrolyse.*

(2) *Par exemple Lubrol W.*

1 - SCHEMA D'ESSAI PRELIMINAIRE POUR UNE SOUCHE BACTERIENNE ET UN NEUTRALISANT

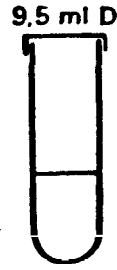
Suspension  
bactérienne  
9.1



Dilutions  
(1 + 9) (V/V)  
9.2.1

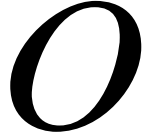


0.5 ml  
9.2.3

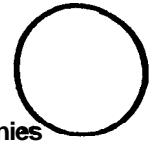


Numération de  
contrôle

1 ml  
9.2.3

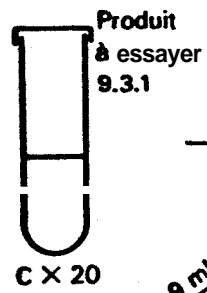


1 ml  
9.2.3



100 à  
300 colonies

1 à  $3 \times 10^8$  cell/ml



0.5 ml  
9.3.4



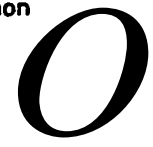
2 à 6 =  $10^3$  cell/ml

0.5 ml  
9.3.5



Numération  
essai

1 ml  
9.3.6



1 ml  
9.3.6



Moyenne *n*

Neutralisant

9 ml  
9.3.2



Eau distillée  
stérile 0.5 ml  
9.3.3

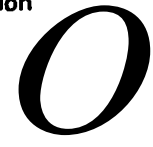
Contact 10 min maximum à 21 °C

0.5 ml  
9.3.5

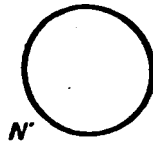


Numération  
témoin

1 ml  
9.3.6



1 ml  
9.3.6



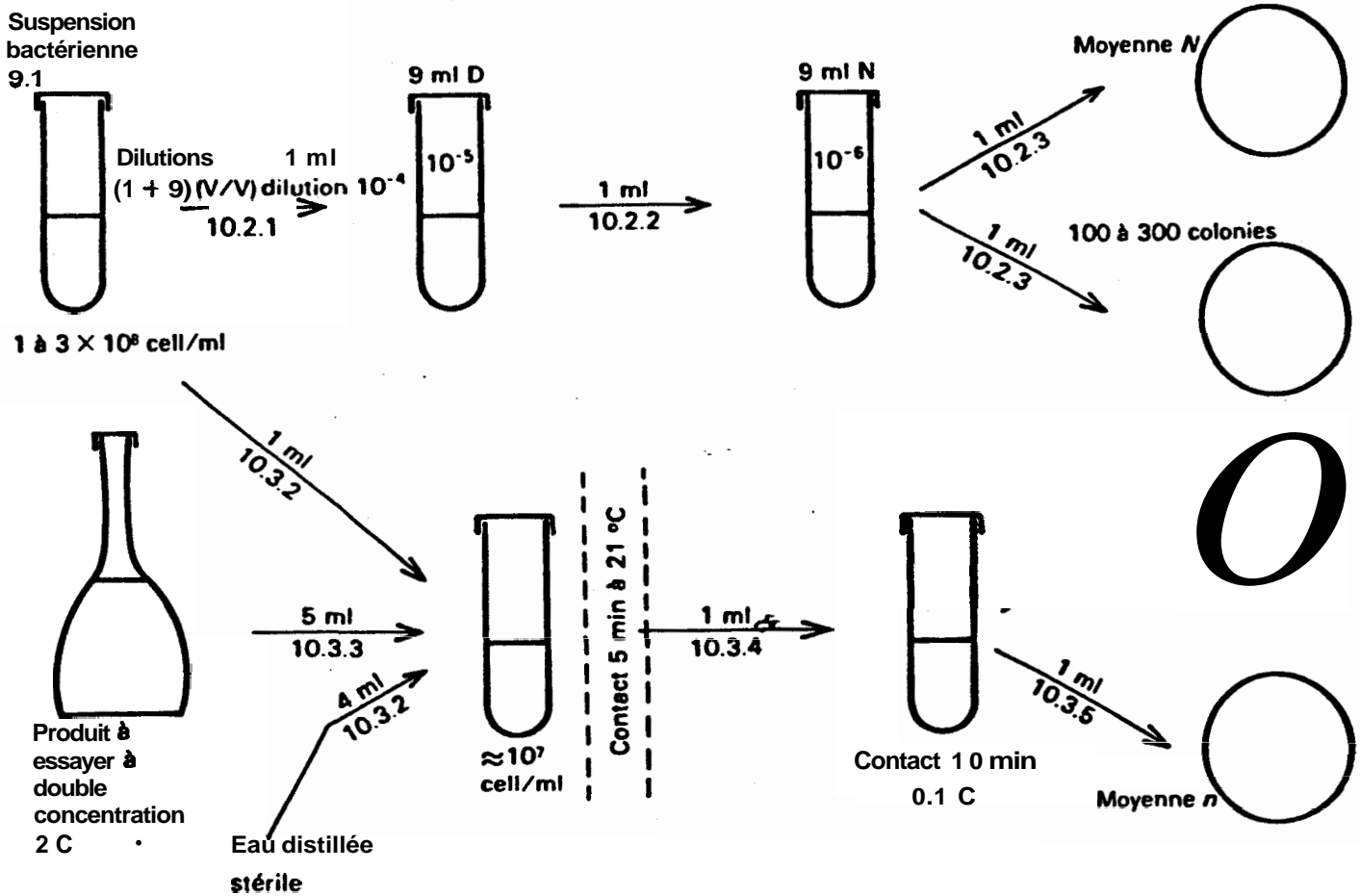
Moyenne *N'*

Agitation  
contact 5 min  
à 21 °C

D = diluant (7.3)

C = concentration maximale  
prévue pour les essais

## 2 - SCHEMA D'ESSAI POUR UNE SOUCHE BACTERIENNE ET UNE DILUTION DE PRODUIT



**D** = diluant (7.3)  
**N** = neutralisant (9.6.3)