

## REFERENCES

**Cde :** BON POUR ACCORD DU DEVIS  
**Devis :** DR18-10125  
**Reçu Rouen, le** 07/01/19  
**Demandeur:** M GENEAU Serge  
**ClientID:** DESINFECTANT  
**Description:**  
**Nature:** Produit cosmétique  
**Commentaire:**

AQUAMA FRANCE SARL GEN EAU SELECTION  
1 RUE DE LA REPUBLIQUE

69001 LYON  
FRANCE

Rouen, le 1 février 2019

RAPPORT D'ESSAI  
**RN19-00293.001**

Page 1 / 2

### Photo de l'échantillon :



(1) Essai sous traité dans un laboratoire SGS

(2) Essai sous traité dans un laboratoire partenaire.

Les abréviations ME ou MO citées dans le champ « paramètres » du présent rapport, signifient « Méthode interne » (adaptation du texte de référence [si](#) cité après).

Ce document est émis par la Société conformément à ses Conditions Générales de Service, disponibles sur demande ou accessibles sur [http://www.sgs.com/terms\\_and\\_conditions.htm](http://www.sgs.com/terms_and_conditions.htm) et, pour les documents sous format électronique, conformément aux termes et conditions régissant l'émission et l'utilisation de documents électroniques sur <http://www.sgs.com/en/Terms-and-Conditions/Terms-e-Document.asp>.

Nous attirons votre attention sur les clauses de limitation de la responsabilité, d'indemnisation, de juridiction et d'utilisation des marques (SGS et COFRAC) qui y sont définies. Tout détenteur de ce document est informé que son contenu reflète uniquement les faits tels qu'ils sont relevés par la société au moment de son intervention uniquement et le cas échéant dans la limite des instructions reçues par son client. La société n'est tenue responsable qu'envers son client. Ce document ne saurait exonérer toute partie à une transaction d'exercer pleinement tous ses droits et remplir ses obligations légales et contractuelles. Ce document ne peut pas être reproduit, excepté dans son intégralité, sans accord préalable écrit de la Société.

Toute modification non autorisée, altération ou falsification du contenu ou de la forme du présent document est illégale et les contrevenants sont passibles de toutes poursuites prévues par la loi.

A moins qu'il en soit disposé autrement, les résultats présentés dans ce document se rapportent seulement à l{(aux) échantillon(s) analysé(s). Cet (ces) échantillon(s) est (sont) conservé(s) 60 jours seulement (voire moins selon la nature de l{(des) échantillon(s)) ou plus de 60 jours selon demande spécifique du client.

ATTENTION : l{(es) échantillon(s) dont les résultats enregistrés ici se rapportent a/(ont) été prélevé(s) et/ou fourni(s) par le client ou par un tiers agissant pour le compte du client. Les résultats ne constituent aucune garantie de la représentativité de tous les produits de l'échantillon et strictement liés à l'échantillon(s). La Société n'assume aucune responsabilité à l'égard de l'origine ou de la source à partir de laquelle l'échantillon(s) est/est dit être extrait(s).

Photo de l'échantillon :



Paramètres	Unités	Résultats
------------	--------	-----------

Détection d'activité oestrogénique : moléculaire (2)

Cf annexe

(Méthode OEDT moléculaire)

Résultats validés électroniquement par

**Maïmiti BONNEL**  
Responsable Projet

Tel : 02 35 07 91 38

Cette validation est une signature électronique, elle est réalisée conformément aux exigences du référentiel ISO 17025



Ce document est émis par la Société conformément à ses Conditions Générales de Service, disponibles sur demande ou accessibles sur [http://www.sgs.com/terms\\_and\\_conditions.htm](http://www.sgs.com/terms_and_conditions.htm) et, pour les documents sous format électronique, conformément aux termes et conditions régissant l'émission et l'utilisation de documents électroniques sur <http://www.sgs.com/en/Terms-and-Conditions/Terms-e-Document.aspx>.

Nous attirons votre attention sur les clauses de limitation de la responsabilité, d'indemnisation, de juridiction et d'utilisation des marques (SGS et COFRAC) qui y sont définies. Tout détenteur de ce document est informé que son contenu reflète uniquement les faits tels qu'ils sont relevés par la société au moment de son intervention uniquement et le cas échéant dans la limite des instructions reçues par son client. La société n'est tenue responsable qu'envers son client. Ce document ne saurait exonérer toute partie à une transaction d'exercer pleinement tous ses droits et remplir ses obligations légales et contractuelles. Ce document ne peut pas être reproduit, excepté dans son intégralité, sans accord préalable écrit de la Société.

Toute modification non autorisée, altération ou falsification du contenu ou de la forme du présent document est illégale et les contrevenants sont passibles de toutes poursuites prévues par la loi.

A moins qu'il en soit disposé autrement, les résultats présentés dans ce document se rapportent seulement à l{(aux) échantillon(s) analysé(s). Cet (ces) échantillon(s) est (sont) conservé(s) 60 jours seulement (voire moins selon la nature de l{(des) échantillon(s)) ou plus de 60 jours selon demande spécifique du client.

ATTENTION : l{(es) échantillon(s) dont les résultats enregistrés ici se rapportent a/(ont) été prélevé(s) et/ou fourni(s) par le client ou par un tiers agissant pour le compte du client. Les résultats ne constituent aucune garantie de la représentativité de tous les produits de l'échantillon et strictement liés à l'échantillon(s). La Société n'assume aucune responsabilité à l'égard de l'origine ou de la source à partir de laquelle l'échantillon(s) est(sont) dit être extrait(s).

REFERENCE DE L'ETUDE	OEDT-19/0008
DATE DE L'ETUDE	14/01-21/01/2019
DONNEUR D'ORDRE	SARL GEN'EAU SELECTION, AQUAMA France
REFERENCE SGS	RN19-00293.001

## **1. OBJECTIF DE L'ETUDE**

Le test in vitro de mesure de la capacité de liaison entre le récepteur aux œstrogènes humain, hER $\alpha$ , et les œstrogènes permet une détection des perturbateurs endocriniens à activité œstrogénique dans un produit par un test moléculaire. En cas de liaison avérée, un dosage exprimé en équivalent œstradiol est calculé selon le modèle d'étude utilisé.

## **2. ELEMENTS D'ESSAI**

NOM	SOLUTION INDIGO
REFERENCE	SPRAY DECOUVERTE
LOT	ND
PRESENTATION	PRODUIT CONDITIONNE EN SPRAY - MATERIAU : PLASTIQUE - DATE DE CONDITIONNEMENT : 04/01/2019

### **3. PRINCIPE DE L'ETUDE**

Ce test in vitro est basé sur la compétition de liaison d'un ligand fluorescent au récepteur aux œstrogènes humain hER $\alpha$ . Le signal mesuré permet de déterminer si le ligand fluorescent est libre ou lié au récepteur aux œstrogènes.

En cas de liaison d'un perturbateur endocrinien de type œstrogénique (PE) avec le récepteur aux œstrogènes, le ligand fluorescent lié au récepteur est déplacé au profit de la fixation du PE. Ce ligand fluorescent s'éteint en se retrouvant libre en solution et le signal de fluorescence mesuré diminue. Cette baisse est proportionnelle à la quantité de ligand fluorescent non lié et donc à la quantité de PE lié au récepteur. Ce test permet donc d'évaluer la présence de composés à activité œstrogénique dans un échantillon.

La quantité de perturbateurs de type œstrogénique est déterminée par une mesure de la baisse de signal du ligand fluorescent corrélée à la quantité de complexe récepteur-perturbateurs (ER-PE) formé.

### **4. DEROULEMENT DE L'ETUDE**

#### **Modèle de l'étude : Test moléculaire**

La courbe étalon de dissociation du ligand fluorescent en fonction de la concentration en ligand œstrogénique non fluorescent est réalisée (figure 2).

Les mesures de liaison de PE au récepteur aux œstrogènes ont été reproduites en triplicate de manière indépendante pour chaque concentration testée, 6 mesures par tube sont effectuées.

La figure 1 représente la dissociation du ligand fluorescent du récepteur aux œstrogènes par l'échantillon (sous forme d'histogramme).

Les résultats en termes de dissociation du ligand fluorescent sont normalisés selon la formule suivante :

$$\text{Signal mesuré \%} = (S_{\text{échantillon}} - S_{\text{min}}) / (S_{\text{max}} - S_{\text{min}})$$

$$S_{\text{min}} = S_{\text{Ligand fluorescent libre}}$$

$$S_{\text{max}} = S_{\text{Ligand fluorescent lié}}$$

Afin de quantifier la présence de composés œstrogéniques en équivalent œstradiol (contenu dans l'échantillon testé), on utilise la courbe étalon (figure 2). Si la diminution du signal n'est pas proportionnelle à la quantité d'échantillon testé, il est alors impossible de calculer un équivalent œstradiol. On en déduit que l'échantillon testé ne présente pas de composés œstrogéniques dans les conditions expérimentales utilisées.

Si au contraire la baisse du signal est proportionnelle à la quantité d'échantillon testé, il est possible de calculer un équivalent œstradiol. Ce dernier intègre, un principe de précaution et une notion de seuil.

### **Postulat de l'étude**

Le produit est absorbé en totalité par la peau et dilué dans le volume de sang circulant dans le corps (environ 5L). Les molécules présentes dans le produit ne sont pas métabolisées par l'Homme en d'autres molécules plus ou moins toxiques.

### **Notion de seuil – risque potentiel**

Les quantités d'œstradiol E2 circulant naturellement chez « l'homme » sont exprimées ci-dessous :

- Chez la femme ménopausée/Chez l'homme :  $4.0 \times 10^{-11} - 2.0 \times 10^{-10} \text{ mol.L}^{-1}$
- Chez la femme non ménopausée (hors ovulation) :  $1.0 \times 10^{-10} - 6.0 \times 10^{-10} \text{ mol.L}^{-1}$
- Chez la femme (ovulation) :  $2.0 \times 10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$

Selon le modèle d'étude, une valeur est considérée comme critique lorsqu'elle est égale ou supérieure à la moitié du taux d'œstradiol moyen circulant chez la femme en ovulation, soit  $1.0 \times 10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$ .

### **Protocole du test moléculaire**

1. Préparation du complexe hER $\alpha$ -Ligand fluorescent dans un tampon d'étude :  
[hER $\alpha$ ]= $5 \times 10^{-7} \text{ M}$  et [Ligand fluorescent]= $1,7 \times 10^{-9} \text{ M}$
2. Préparation de l'échantillon à tester :  
Dilution de l'échantillon dans le Tampon d'étude (1ml dans volume total de 2ml)  
Agitation pendant 20h à 30°C  
L'échantillon a été dilué 1 fois
3. Par la suite, différentes concentrations de l'échantillon sont préparées dans une solution de ligand fluorescent complexé à hER $\alpha$

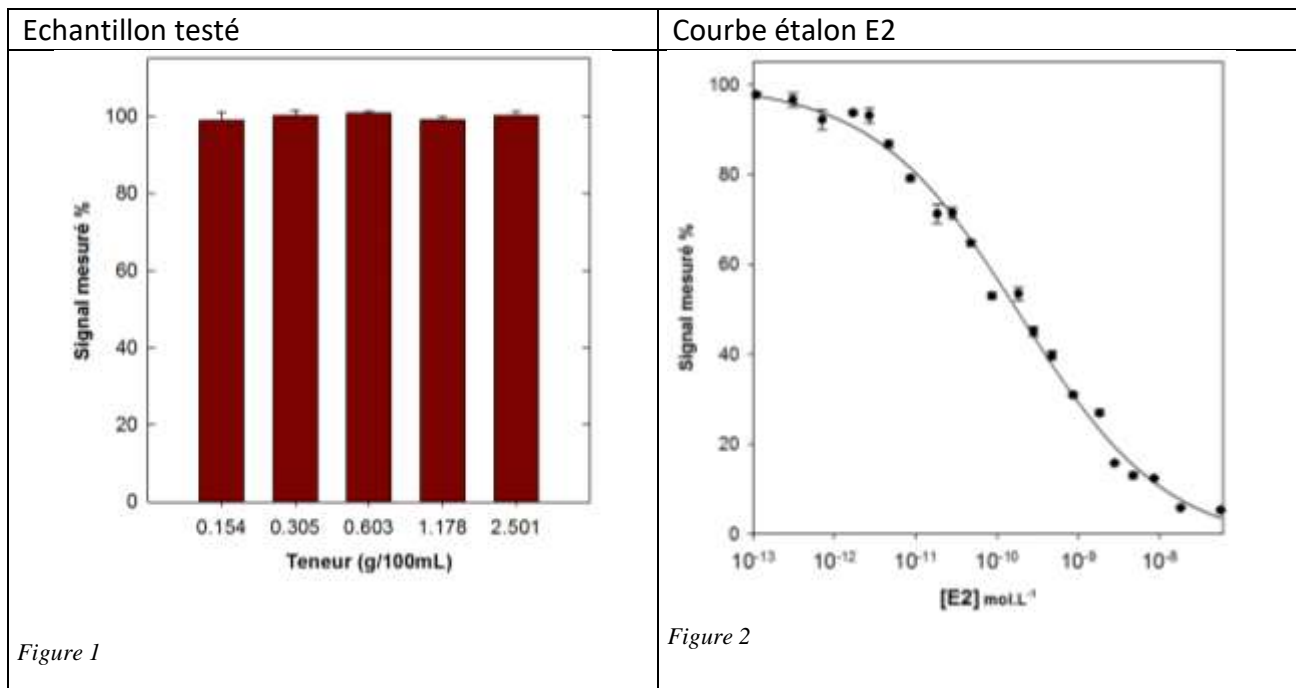
<b>Echantillon</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
Volume échantillon ( $\mu\text{l}$ )	0	5	10	20	40	90
Volume solution ligand fluorescent complexé à hER $\alpha$ ( $\mu\text{l}$ )	800					

4. Mesure du signal de fluorescence à 20°C.

## 5. RESULTATS

Les résultats des mesures de fluorescence pour évaluer la présence de composés œstrogéniques dans l'échantillon testé sont présentés ci-dessous.

Jusqu'à 2.501g/100ml, le signal mesuré est indépendant de la teneur en cet échantillon dans la solution. Le signal mesuré n'est pas significativement modifié par la teneur en échantillon testé. On peut en déduire une absence d'interaction entre le récepteur aux œstrogènes et les composés présents dans la solution obtenue après extraction.



## 6. CONCLUSION

Dans les conditions expérimentales, jusqu'à 2.501g/100ml, le produit **SOLUTION INDIGO conditionné en spray plastique à la date du 04/01/2019, référence SPRAY DECOUVERTE**, ne se fixe pas au récepteur aux œstrogènes, donc ne présente pas d'activité œstrogénique.

Véronique LE TILLY / BIOLOGISTE  
Le 23/01/2019,

