



BIOLOGICAL CONSULTING SERVICES
OF NORTH FLORIDA, INC.

Le 9 décembre 2020

M. Adam Anthony
BioZone Scientific International, Inc.
7616 Southland Blvd., Suite 114
Orlando, Florida 32809 USA
Courriel : adam.anthony@biozonescientific.com

OBJET : Inactivation du substitut du SARS-CoV-2 par le système de désinfection par ultraviolets de BioZone Scientific ; BCS ID 2011334.

Cher M. Anthony,

Nous avons terminé l'étude d'efficacité virucide de la chambre d'exposition aux UV fournie, qui contient quatre lampes au mercure à basse pression (10-H36000 ; 87 W). Dans l'étude, afin d'évaluer le SARS-CoV-2, le substitut du Coronavirus OC43 (ATCC VR-1558) a été utilisé pour évaluer les propriétés virucides d'un rayonnement UV à une distance de 12 pouces (30,48 cm) des lampes UV. Le virus a été inoculé à des supports non poreux et son efficacité a été déterminée pendant une exposition de 0,25, 0,5, et 1,0 seconde au rayonnement UV à une irradiation directe calculée de 7496 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$. L'étude a été réalisée dans l'objet d'obtenir une estimation prudente de l'efficacité virucide en faisant passer des particules virales à travers une unité de traitement de l'air par procédé UV. L'étude met vraisemblablement en jeu le pire scénario d'exposition puisque les virus, étant déposés sur un support, sont principalement exposés sur une seule face. Dans un système à renouvellement continu, les particules subiraient un mouvement de rotation qui signifierait probablement que d'autres parties de la particule virale sont exposées à l'irradiation lors de son passage.

L'étude a conclu que l'exposition au rayonnement UV entraînait une inactivation importante du virus. L'inactivation s'accroît avec la durée de contact. Vous trouverez sur les pages suivantes un résumé de la méthodologie utilisée et les résultats de notre analyse. N'hésitez pas à me contacter pour toute autre question.

Sincères salutations,

George Lukasik, Ph.D.
Directeur du laboratoire

- Page 1 sur 7-

BCS LABORATORIES, INC. - GAINESVILLE

4609 NW 6TH STREET, STE. A, GAINESVILLE, FLORIDA 32609
TEL. (352) 377-9272, FAX. (352) 377-5630

WWW.MICROBIOSERVICES.COM

FL DOH #E82924, PA DEP 68-03950, ISO/IEC 17025:2005 L2422 (L-A-B), EPA# FLO1147
FICHER : INACTIVATION DU SUBSTITUT DU SARS-CoV-2 PAR LE SYSTÈME DE DÉSINFECTION PAR ULTRAVIOLETS DE
BioZONE SCIENTIFIC BCSID 2011334R22011334

CE DOCUMENT NE PEUT ÊTRE REPRODUIT, SAUF DANS SON INTÉGRALITÉ, SANS L'ACCORD ÉCRIT DE BCS LABORATORIES



Test d'infectiosité de cultures cellulaires et de virus de base et de cultures cellulaires :

Le virus du coronavirus humain OC43 (ATCC VR-1558) a été propagé et dénombré par la technique du nombre le plus probable (NPP) en utilisant comme hôte l'adénocarcinome colorectal iléocolique humain HRT- 18G (ATCC® CRL-11663). Les cellules ont été cultivées dans des flacons de culture cellulaire à 6 puits. Pour le dénombrement, les virus ont été dénombrés en unités infectieuses selon la méthode d'essai décrite dans la méthode standard 9510 (APHA, 2012) et l'EPA /600/4-84/013. En bref, des aliquotes d'un échantillon contenant le virus ont été inoculées sur des monocouches de cellules HCT8 fraîchement préparées (confluence d'environ 90 %). Chaque volume d'échantillon a été inoculé en réplicats de six. Les cellules ont ensuite été incubées dans le milieu Eagle modifié de Dulbecco (dMEM, Mediatech Inc, USA) sur du sérum foetal bovin (FBS) à 2% (FBS, Mediatech, USA) à 36,5°C et 5% de CO₂ pendant 14 jours. Les cellules ont fait l'objet d'une surveillance microscopique régulière pour détecter les signes de dégénérescence. Les cellules en flacons présentant des signes d'infectiosité (effets cytopathiques ou ECP) ont été relevées comme positives (+) et celles qui ne présentaient aucun ECP ont été relevées comme négatives (-). Le nombre le plus probable de virus infectieux dans un échantillon a ensuite été calculé à l'aide du logiciel MPNCALC (version 0.0.0.23). Pour les tests de provocation, le stock viral congelé (en général $> 1 \times 10^8$ UI/ml) a été rapidement décongelé dans un bain d'eau à 35°C. La suspension de virus contenait 2 % de FBS et a été utilisée dans les 15 minutes suivant décongélation. La suspension de virus a été diluée à 1:1 avec de l'eau de dilution tamponnée au phosphate (PBW) avant son utilisation dans l'étude. La dilution résultante a été utilisée dans l'étude et a été dénombrée en utilisation dans l'étude.

- Page 2 sur 7-

BCS LABORATORIES, INC. - GAINESVILLE
4609 NW 6TH STREET, STE. A, GAINESVILLE, FLORIDA 32609
TEL. (352) 377-9272, FAX. (352) 377-5630

WWW.MICROBIOSERVICES.COM

FL DOH #E82924, PA DEP 68-03950, ISO/IEC 17025:2005 L2422 (L-A-B), EPA# FLO1147
FICHER : INACTIVATION DU SUBSTITUT DU SARS-CoV-2 PAR LE SYSTÈME DE DÉSINFECTION PAR ULTRAVIOLETS DE
BioZONE SCIENTIFIC BCSID 2011334R22011334

CE DOCUMENT NE PEUT ÊTRE REPRODUIT, SAUF DANS SON INTÉGRALITÉ, SANS L'ACCORD ÉCRIT DE BCS LABORATORIES



La dilution résultante a été utilisée dans l'étude et a été dénombrée en effectuant des dilutions au dixième en série dans du PBS et inoculée sur des cellules HCT-8 comme décrit.

Unité de test :

L'unité testée pour son efficacité virucide a été conçue, construite et livrée par le promoteur de l'étude le 19 novembre 2020. L'unité consistait en une chambre réfléchissante rectangulaire fermée qui contenait quatre lampes à quartz au mercure à basse pression montées horizontalement sur le haut de la chambre. Une chambre en plastique à commande électronique a été placée à 12 pouces (30,48 cm) sous les lampes. La chambre a été utilisée pour contrôler la durée de l'irradiation au rayonnement UV émis par les lampes des supports inoculés. Les spécifications des lampes telles que fournies par le promoteur sont les suivantes : Type de lampe : 10-H36000 à 87 W chacune ; l'irradiance directe calculée sur les supports était de 7496 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$. L'unité s'est vu attribuer le numéro d'identification BCS 2011334.

Étude de provocation : 19 novembre 2020

L'étude a été menée en utilisant la procédure opérationnelle normalisée (SOP) D-1 de BCS relative à l'efficacité de désinfection. Le déroulement de l'étude a été adaptée du protocole ASTM E3135-18 (Pratique standard pour la détermination de l'efficacité antimicrobienne de l'irradiation germicide aux ultraviolets contre les microorganismes sur des supports avec sol simulé) et des paramètres demandés par le client. En bref, des supports de verre stériles de 25x26 mm ont été inoculés chacun avec cent microlitres de solution mère de virus diluée (contenant une concentration finale de 1 % de FBS). On a laissé sécher l'inoculum dans une hotte biologique.

- Page 3 sur 7-

BCS LABORATORIES, INC. - GAINESVILLE

4609 NW 6TH STREET, STE. A, GAINESVILLE, FLORIDA 32609
TEL. (352) 377-9272, FAX. (352) 377-5630

WWW.MICROBIOSERVICES.COM

FL DOH #E82924, PA DEP 68-03950, ISO/IEC 17025:2005 L2422 (L-A-B), EPA# FLO1147
FICHER : INACTIVATION DU SUBSTITUT DU SARS-CoV-2 PAR LE SYSTÈME DE DÉSINFECTION PAR ULTRAVIOLETS DE
BioZONE SCIENTIFIC BCSID 2011334R22011334

CE DOCUMENT NE PEUT ÊTRE REPRODUIT, SAUF DANS SON INTÉGRALITÉ, SANS L'ACCORD ÉCRIT DE BCS LABORATORIES



Trois supports ont été utilisés pour chaque période d'exposition. Des supports inoculés et non exposés aux rayons UV ont servi de contrôles de récupération. Les supports non inoculés ont servi de contrôles négatifs. Des supports en triplicat ont été placés dans la chambre d'exposition. Les lampes ont été chauffées avant l'irradiation. L'exposition a été réalisée par le boîtier de commande contrôlé avec l'unité de programmation logique (PLC). Pendant l'étude, la température ambiante a été maintenue entre 20 et 22°C. Après irradiation des supports, chacun a été transféré aseptiquement dans un tube contenant 10 ml de bouillon de neutralisation D/E stérile. Les tubes ont été placés sur un agitateur orbital et agités à faible vitesse pendant 15 minutes. Après agitation, des dilutions au dixième des suspensions ont été effectuées dans du PBW. Le nombre d'unités virales viables (infectieuses) dans les échantillons a été déterminé par la procédure de test du nombre le plus probable (NPP) décrite précédemment en utilisant la lignée cellulaire HRT18G. Les tableaux 1 et 2 présentent les résultats de l'étude.

La cytotoxicité et les contrôles négatifs ont été réalisés à l'aide de matériau traité non inoculé.

Les descriptions et les noms de matériau ont été obtenus à partir des documents soumis.

L'analyse a été autorisée et commandée par le client ou son représentant. Les données obtenues sont représentatives de l'analyse effectuée sur les échantillons prélevés et de leur état au moment de l'analyse. Les données fournies sont strictement représentatives de l'étude menée dans des conditions de laboratoire à l'aide des matériaux/échantillons/articles fournis par le client (ou son représentant) et de leur état au moment de l'essai. Les données

- Page 4 sur 7-

BCS LABORATORIES, INC. - GAINESVILLE

4609 NW 6TH STREET, STE. A, GAINESVILLE, FLORIDA 32609
TEL. (352) 377-9272, FAX. (352) 377-5630

WWW.MICROBIOSERVICES.COM

FL DOH #E82924, PA DEP 68-03950, ISO/IEC 17025:2005 L2422 (L-A-B), EPA# FLO1147
FICHER : INACTIVATION DU SUBSTITUT DU SARS-CoV-2 PAR LE SYSTÈME DE DÉSINFECTION PAR ULTRAVIOLETS DE
BioZONE SCIENTIFIC BCSID 2011334R22011334

CE DOCUMENT NE PEUT ÊTRE REPRODUIT, SAUF DANS SON INTÉGRALITÉ, SANS L'ACCORD ÉCRIT DE BCS LABORATORIES



obtenues ne sont pas forcément représentatives ou indicatives de processus et/ou d'application en condition réelles. L'/les échantillon(s) ont été analysés selon la méthode appropriée; cependant, en raison des limites inhérentes aux méthodes, il se peut que des micro-organismes ne soient pas détectés. BCS Laboratories n'offre aucune garantie expresse ou implicite concernant la qualité, l'innocuité, la sécurité ou la pureté de tout échantillon, lot, source ou procédé dont ils sont issus. Des contrôles d'assurance qualité ont été effectués conformément à la méthode indiquée et aux bonnes pratiques de laboratoire. L'analyse virale a été effectuée conformément aux pratiques et procédures de laboratoire fixées par les normes d'accréditation ISO 17025:2017 et NELAP/TNI, sauf indication contraire. BCS n'offre aucune garantie expresse ou implicite concernant la propriété, la qualité marchande, l'innocuité, la sécurité ou l'adéquation à un usage particulier de ces biens ou produits. Le client a demandé un format de rapport détaillé en plus du format de rapport standard qui a été soumis.

- Page 5 sur 7-

BCS LABORATORIES, INC. - GAINESVILLE

4609 NW 6TH STREET, STE. A, GAINESVILLE, FLORIDA 32609

TEL. (352) 377-9272, FAX. (352) 377-5630

WWW.MICROBIOSERVICES.COM

FL DOH #E82924, PA DEP 68-03950, ISO/IEC 17025:2005 L2422 (L-A-B), EPA# FLO1147

FICHER : INACTIVATION DU SUBSTITUT DU SARS-CoV-2 PAR LE SYSTÈME DE DÉSINFECTION PAR ULTRAVIOLETS DE
BioZONE SCIENTIFIC BCSID 2011334R22011334

CE DOCUMENT NE PEUT ÊTRE REPRODUIT, SAUF DANS SON INTÉGRALITÉ, SANS L'ACCORD ÉCRIT DE BCS LABORATORIES



Tableau 1. Efficacité de l'irradiation UV sur l'inactivation du Coronavirus OC43 (ATCC VR-1558) sur des supports en verre placés à une distance de 12 pouces (30,48 cm). L'efficacité a été déterminée à différentes durées d'exposition dans la chambre contenant quatre ampoules de mercure à haute pression. La chambre d'essai est fournie par BioZone Scientific International, Inc. et l'étude a été réalisée à la demande du promoteur et conformément aux directives de la norme ASTM E3135-18

Échantillon	Unités infectieuses de virus récupérées par support*	Pourcentage réduction par rapport aux supports de contrôle de récupération	Taux moyen de réduction par rapport aux supports de contrôle de récupération
Unités infectieuses virales inoculées par support	2,3 x 10 ⁶		
Supports de contrôle de récupération (non exposés aux UV)	2,4 x 10 ⁵		
	1,5 x 10 ⁵		
Efficacité à une exposition de 0,25 seconde	2,4 x 10 ³	98,8%	99,1%
	2,4 x 10 ³	98,8%	
	3,1 x 10 ²	99,8%	
Efficacité à une exposition de 0,5 seconde	3,6	99,998%	99,997%
	9,2	99,995%	
	1,6	99,9992%	
Efficacité à une exposition de 1,0 seconde	<1,5	>99,9992%	>99,9992%
	<1,5	>99,9992%	
	<1,5	>99,9992%	

*Le nombre le plus probable (NPP) d'unités infectieuses virales (UI) a été calculé à l'aide du logiciel MPNCalc conformément à la norme EPA 600/R95/178. Le dénombrement a été effectué en inoculant des aliquotes de dilutions d'échantillons sur des monocouches fraîchement préparées de cellules HRT18G (CCL-11663) dans des flacons à 6 puits et en surveillant le développement de l'effet cytopathique (ECP) pendant une période d'incubation de 14 jours. Les cellules ont été incubées à 36,5°C dans un incubateur à une atmosphère de 5 % de CO₂. Les numéros de NPP d'UI représentent la récupération auprès de chacun des supports utilisés dans l'étude.

- Page 6 sur 7 -

BCS LABORATORIES, INC. - GAINESVILLE

4609 NW 6TH STREET, STE. A, GAINESVILLE, FLORIDA 32609

TEL. (352) 377-9272, FAX. (352) 377-5630

WWW.MICROBIOSERVICES.COM

FL DOH #E82924, PA DEP 68-03950, ISO/IEC 17025:2005 L2422 (L-A-B), EPA# FLO1147

FICHER : INACTIVATION DU SUBSTITUT DU SARS-CoV-2 PAR LE SYSTÈME DE DÉSINFECTION PAR ULTRAVIOLETS DE BIOZONE SCIENTIFIC BCSID 2011334R22011334

CE DOCUMENT NE PEUT ÊTRE REPRODUIT, SAUF DANS SON INTÉGRALITÉ, SANS L'ACCORD ÉCRIT DE BCS LABORATORIES



Tableau 2. Données brutes de la culture HRT18G inoculée. Des puits en répliques de six ont été inoculés avec différents volumes et dilutions de chaque échantillon de l'étude d'efficacité virucide. Les résultats positifs et négatifs des effets cytopathiques (ECP) des flacons de cellules inoculées sont utilisés pour calculer le NPP présenté dans le tableau 1.

Échantillon	Volume inoculé (ml) à la dilution indiquée									
	1,0@ 10 ⁰	0,1@ 10 ⁰	1,0@ 10 ⁻²	0,1@ 10 ⁻²	1,0@ 10 ⁻⁴	0,1@ 10 ⁻⁴	1,0@ 10 ⁻⁶	0,1@ 10 ⁻⁶	1,0@ 10 ⁻⁸	0,1@ 10 ⁻⁸
Inoculum initial	ND	ND	ND	ND	ND	ND	6/6	6/6	2/6	0/6
Contrôle négatif de l'essai	0/6	0/6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Contrôle positif de la culture cellulaire	6/6	6/6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Contrôle négatif de la culture cellulaire	0/6	0/6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Supports de contrôle de récupération	ND	ND	6/6	6/6	4/6	2/6	ND	ND	ND	ND
	ND	ND	6/6	6/6	6/6	0/6	ND	ND	ND	ND
Efficacité à une exposition de 0,25 seconde	6/6	6/6	6/6	0/6	0/6	ND	ND	ND	ND	ND
	6/6	6/6	6/6	0/6	0/6	ND	ND	ND	ND	ND
	6/6	6/6	1/6	0/6	0/6	ND	ND	ND	ND	ND
Efficacité à une exposition de 0,5 seconde	2/6	0/6	0/6	0/6	0/6	ND	ND	ND	ND	ND
	4/6	0/6	0/6	0/6	0/6	ND	ND	ND	ND	ND
	1/6	0/6	0/6	0/6	0/6	ND	ND	ND	ND	ND
Efficacité à une exposition de 1,0 seconde	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	ND	ND	ND	ND	ND
	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	ND	ND	ND	ND	ND
	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	ND	ND	ND	ND	ND

*Le numérateur est le nombre de flacons inoculés présentant un ECP positif et le dénominateur indique le nombre total de flacons inoculés avec le volume et la dilution d'échantillon indiqués. ND : Pas fait

