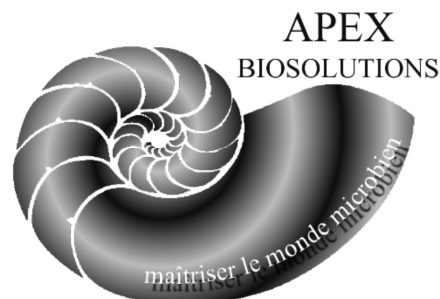


RAPPORT D'ESSAI

DETERMINATION DE L'ACTIVITE VIRUCIDE DE LA SOLUTION DESINFECTANTE CONTRE LE CORONAVIRUS HUMAIN SELON LA NORME EN 14476



Date de la demande: 20/03/2020

Etude # n°083D27-2020

TESTS VIRUCIDES :

Conformément à la norme NF EN 14476+A1 (Juillet 2019) – antiseptiques et désinfectants chimiques – Essais quantitatifs de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical.

Essais sur 1 souche de référence: *Coronavirus humain, modèle pour le coronavirus SARS-CoV2*.



Ce rapport inclus 15 pages.

Date d'édition: 15/04/2020

Stephanie MOROT-BIZOT
Docteur en microbiologie
Chargée de l'étude

SOMMAIRE

1. LABORATOIRE AYANT REALISE LES ESSAIS.....	3
2. IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS.....	3
3. CONDITIONS EXPERIMENTALES.....	3
4. VALIDATION DE LA METHODE.....	4
5. ESSAIS PROPREMENT DITS – CALCUL DE L’ACTIVITE VIRUCIDE.....	5
6. VERIFICATION DE LA METHODOLOGIE.....	5
7. CONCLUSION.....	6
8. ANNEXE 1.....	7
9. ANNEXE 2.....	8

Writer	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Ms Stephanie MOROT-BIZOT, director
	

1. LABORATOIRE AYANT REALISE LES ESSAIS

APEX BIOSOLUTIONS
4, rue des Grandes Pièces
Zone EURESPACE
25 770 SERRE LES SAPINS
FRANCE

2. IDENTIFICATION DES ECHANTILLONS

ECHANTILLON	LOT N°
SOLUTION DESINFECTANTE	TEST 303



- Date de fabrication : 20/03/2020
- Date de péremption : 20/04/2020
- Conditions de stockage : selon les recommandations du fabricant
- Substances actives : acide hypochloreux
- Apparence : incolore, pH 6,1 à 6,4 à 17°C
- Diluent du produit recommandé par le fabricant : aucun, prêt-à-l'emploi
- Date de réception du produit : 26/03/2020
- Date des essais : du 20/03/2020 au 15/04/2020

3. CONDITIONS EXPERIMENTALES

- Température d'essai: 20°C ± 1°C
- Méthode de titrage: log TCID 50
- Temps de contact : 30 s
- Concentrations (chlore actif libre): 96 ppm – 120 ppm – 149 ppm
- Diluant du produit utilisé lors des essais: eau distillée
- Souche virale : *coronavirus humain* souche 229 E, cultivé sur cellules MRC5, à 37°C, sous atmosphère à 5% CO₂
- Substances interférentes : 0,3 g/L BSA
- Stabilité du produit en présence de substance interférente : bonne
- Technique d'arrêt de l'action virucide : à froid

Titre viral :

Titrage par effet cytopathique de la suspension virale d'essai du *Coronavirus humain* (calculé selon la méthode de Spearman-Kärber) = 6,000 log TCID₅₀.

Writer	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Ms Stephanie MOROT-BIZOT, director
	

4. VALIDATION DE LA METHODE

a) Cytotoxicité

La solution désinfectante a été testé sur des cultures de cellules MRC5 et une faible toxicité a été observée jusqu'à la dilution 10^{-1}

b) Sensibilité des cellules aux virus

Pour chacune des suspensions virales utilisées lors de la réalisation de ces essais, des titrages comparatifs du virus sont réalisés sur les cellules traitées ou non par le produit.

Dilution du produit	Titre de virus (log DICT ₅₀)		
	Suspension virale sur cellules non traitées	Suspension virale sur cellules traitées	Différence de titre viral (log DICT ₅₀)
SOLUTION DESINFECTANTE 10^{-2}	6,000	5,750	0,250

Le produit testé à la concentration indiquée ci-dessus ne montre pas d'influence notable sur la méthode de titrage du *Coronavirus humain* (différence <1 log).

c) Validations de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du produit :



Concentration du produit	Substances interférentes	Titre de virus (log DICT ₅₀)	Différence avec la suspension virale d'essai
SOLUTION DESINFECTANTE 149 ppm	0,3 g/L BSA	Essai 1: 6,000	0,000
		Essai 2: 6,000	0,000

La méthode est validée si la différence est $\leq 0,5$ log.

d) Essai d'inactivation de référence

	Titre de virus (log DICT ₅₀)	
	Suspension virale témoin	Réduction du titre viral (log DICT ₅₀)
En formaldéhyde 0,7%	6,000	
Essai d'inactivation 5 min	5,625	0,375
Essai d'inactivation 15 min	5,125	0,875
Essai d'inactivation 30 min	4,500	1,500

La validation des essais est effective si la réduction du titre viral entre la suspension témoin et la suspension soumise au formaldéhyde est comprise entre -0,5 et -2,5 log après 30 min. La réduction est de 1,500 log après 30 min et les conditions de la norme sont donc remplies.

Writer	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Ms Stephanie MOROT-BIZOT, director
	

5. ESSAIS PROPRESMENT DITS – CALCUL DE L'ACTIVITE VIRUCIDE

Essai 1

La suspension virale témoin a une concentration de 6,000 log DICT₅₀.

PRODUIT	Concentration (ppm)	Temps de contact	Température de contact	Titre après essai (log DICT ₅₀)	Réduction du titre viral
SOLUTION DESINFECTANTE	149	30 s	20°C	1,625	4,375
	120			2,000	4,000
	96			3,000	3,000

Essai 2

La suspension virale témoin a une concentration de 6,000 log DICT₅₀.



PRODUIT	Concentration (ppm)	Temps de contact	Température de contact	Titre après essai (log DICT ₅₀)	Réduction du titre viral
SOLUTION DESINFECTANTE	149	30 s	20°C	1,750	4,250
	120			1,875	4,125
	96			2,750	3,250

Les concentrations testées de produit sont virucides si la réduction du titre viral est supérieure ou égale à 4,0 log.

6. VERIFICATION DE LA METHODOLOGIE

Les essais ont été validés selon la norme européenne EN 14476+A1:

- Le titre de la suspension virale d'essai est suffisamment important pour permettre une observation de réduction de 4 log après essais; il est de 6,000 log DICT₅₀ pour le *Coronavirus humain*.
- La différence des titres entre témoin viral et virus de référence dans l'essai d'inactivation est comprise entre -0.5 et -2.5 après 30 min; la différence est de 1,500 log après 30 min d'inactivation par le formaldéhyde pour le *Coronavirus humain*.
- Le produit testé n'affecte pas significativement la morphologie des cellules.
- Les conditions d'essai en propreté (0,3 g/l BSA) n'affectent pas l'infectivité du virus
- Le produit testé ne réduit pas la sensibilité des cellules au *Coronavirus humain*. Les titres de virus mis en contact avec les cellules traitées avec le produit et les cellules non traitées ont une différence inférieure à 1,0 log (la différence est de 0,250 log).

Writer	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Ms Stephanie MOROT-BIZOT, director
	

7. CONCLUSION

Les essais réalisés sur la SOLUTION DESINFECTANTE ont démontré :

- Que la SOLUTION DESINFECTANTE, employée dès 120 ppm a une activité virucide sur le *Coronavirus humain 229E*, selon la méthodologie de la norme NF EN 14476+A1, pour 30 secondes de contact à 20°C, en conditions de propreté.
- Par extension, la SOLUTION DESINFECTANTE est aussi virucide sur le virus SARS-CoV-2, du fait de son homologie de structure et de son appartenance à la même famille que le *Coronavirus humain 229E*.

Writer	Supervisor
Ms Emilie CANTREL, laboratory technician	Ms Stephanie MOROT-BIZOT, director
