



Dr Pasem AHMED  
Head of Resuscitation and  
Continuous Monitoring  
Hospital Rambouillet  
[p.ahmed@ch-rambouillet.fr](mailto:p.ahmed@ch-rambouillet.fr)



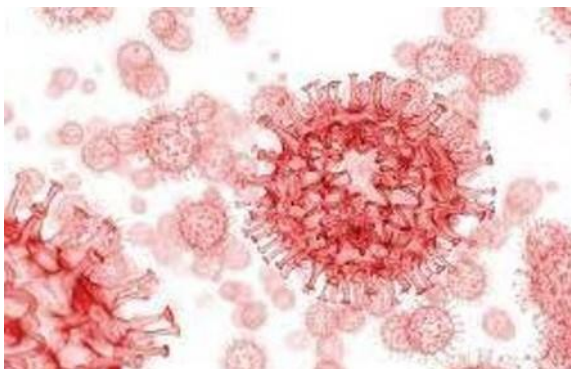
# Zpráva o zkoušce **AP BIO 1000**

11/2020

# Obsah:

1. COVID a přenos: .....**str. 1**
2. COVID a uzavřené prostory: .....**str. 2**
3. Je zapotřebí cirkulace vzduchu?: .....**str. 3**
4. Čistička vzduchu: .....**str. 4**
  - Klady / zápory
5. Cíle zkoušky: .....**str. 5**
  - Prezentace
6. Testovaná čistička vzduchu:.....**str. 6**
  - Prezentace: AP BIO 1000
7. AP BIO 1000 : .....**str. 7**
  - Problém 1: šíření?
  - Problém 2: proč filtr H14?
  - První závěry
8. Bylinné látky v systému AirFend: .....**str. 14**
9. Systém AirFend: .....**str. 16**
  - Výsledky in vitro
10. Systém AirFend: .....**str. 18**
  - Výsledky in situ
    - :
    - Podmínky implementace
    - Povrchy vzorků
      - Vzorky vzduchu
    - Závěry
11. Závěr: .....**str. 24**
12. Reference: .....**str. 25**
13. Příloha: .....**str. 26**

# 1 COVID a přenos



Částice viru COVID jsou kulovité a jejich průměr se pohybuje mezi 0,06 – 0,14 mikronu, tj. průměrně 0,125 mikronu, měřeno elektronovým mikroskopem (1). Současné údaje naznačují, že virus SARS-CoV-2 se se v suspenzi nedrží a přenos většinou probíhá slinami (větší kapénky o průměru 5 mikronů  $> 5 \mu\text{m}$ ) a (aerosol  $< 5 \mu\text{m}$ ) (2).

K přenosu viru dochází tehdy, když infikovaná osoba vylučuje kapénky obsahující částice viru kašlem, kýcháním nebo mluvením, a to i na větší vzdálenost. Prokazatelně byly odebrány jemné aerosolové částice koronavirů ve větší vzdálenosti od přenášejího pacienta. (3).



Je třeba věnovat pozornost tomu, že klinické a experimentální studie (vodní suspenze koronaviru) ukazují, že některé z těchto částic mohou zůstat rozptýlené ve vzduchu po dobu několika hodin (4.5).

# 2 COVID a uzavřené prostory

Ministerstvo zdravotnictví a sociálních věcí doporučuje zajistit – bez ohledu na kontext – pravidelnou výměnu vzduchu ve všech uzavřených prostorách větráním (otevřením oken...) a / nebo přirozenou nebo mechanickou ventilací a tím přivádět „nový“ venkovní vzduch vytlačující vzduch nahromaděný uvnitř směrem ven, aby nedocházelo k **nekontrolované cirkulaci vzduchu uvnitř budovy (6)**.

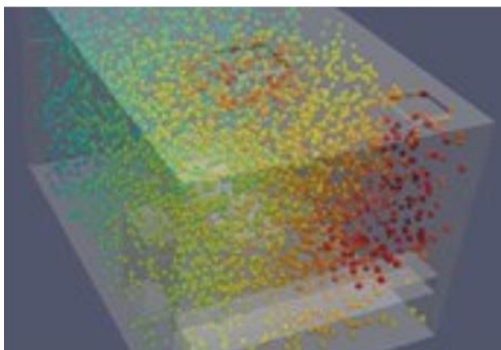
## « PROČ SE VYHNOUT CIRKULACI VZDUCHU? »

Národní agentura pro potraviny, životní prostředí a zdraví a bezpečnost práce ve své odborné zprávě ze září 2017 uvádí, že dostupné údaje nepotvrzují účinnost a bezpečnost zařízení na čištění vnitřního vzduchu ve skutečných podmínkách (7).

# 3 Je zapotřebí cirkulace vzduchu?

Znovu připomínáme, že se doporučuje zajistit pravidelnou výměnu vzduchu ve všech uzavřených prostorech pomocí systému přirozené ventilace. V místnostech určených pro pacienty je dobré větrání nezbytné.

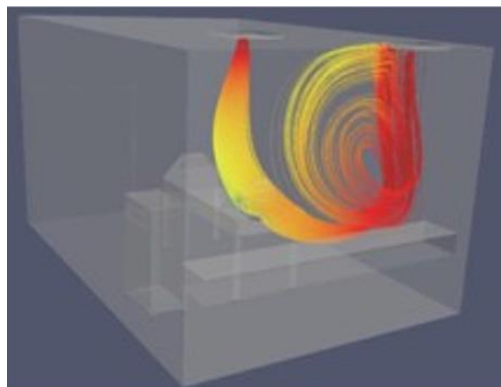
V naší zkoušce je v případě, kdy je aktivována pouze ŘMV (řízená mechanická ventilace), je prostor u hlavy pacienta přímo vystaven proudění vzduchu o rychlosti přibližně 2,4 cm/s z vyústky přívodního vzduchu uprostřed místnosti.



## JE ŘÍZENÁ MECHANICKÁ VENTILACE DOSTAČUJÍCÍ?

Podle francouzské normy NF S90-351 pro prostory s řízeným prostředím ve zdravotnických zařízeních jsou místnosti s intenzivní péčí označeny třídou rizika 2. Místnosti pro pacienty s infekčními onemocněními mohou být ještě rizikovější.

Podle našich zkušeností a konfigurace musí být recyklace v objemu nejméně 10 výměn vzduchu za hodinu. V tomto případě se ventilace při vzduchovém množství 350 m<sup>3</sup>/h a celkovém objemu vzduchu 60 m<sup>3</sup> jeví poddimenzovaná. Bohužel není vždy možné zajistit požadovanou výměnu vzduchu pomocí výše uvedeného ventilačního systému ani při střídavě otevřených oknech. Zkoušky tedy měly za cíl ověřit řešení pro čištění vzduchu za účelem zajištění dodatečné bezpečnosti (vypočítané a řízené) pro pracovníky ve zdravotní péči.



# 4 Přidat čističku vzduchu?

## JAKÉ JSOU HLAVNÍ PROBLÉMY SOUVISEJÍCÍ S POUŽÍVÁNÍM ZAŘÍZENÍ NA ČIŠTĚNÍ NEBO CIRKULACI VZDUCHU?

### Problém č. 1:

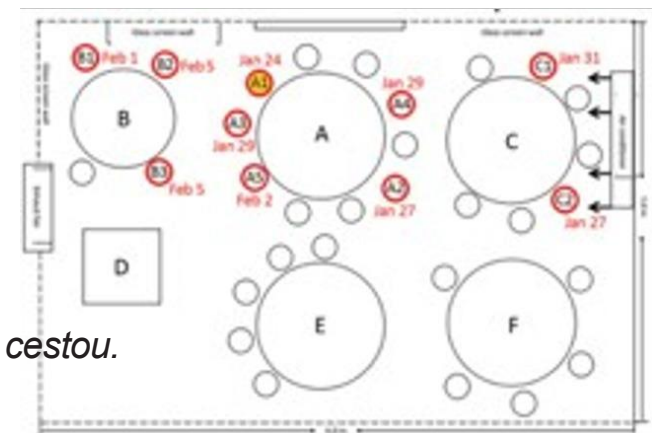
„Mechanické“ filtry typu HEPA za normálních okolností dokážou zachycovat částice aerosolů, které filtrem procházejí. Pro významné snížení objemu kapének a aerosolů v prostoru je však třeba zajistit výrazně vysokou frekvenci výměny vzduchu. Směšování s prouděním vzduchu generovaným čističkou vzduchu však může indukovat rychlost proudění vzduchu v místnosti a tím i zrychlit šíření aerosolů s obsahem, což může zvýšit riziko přenosu na zdravotnické pracovníky.

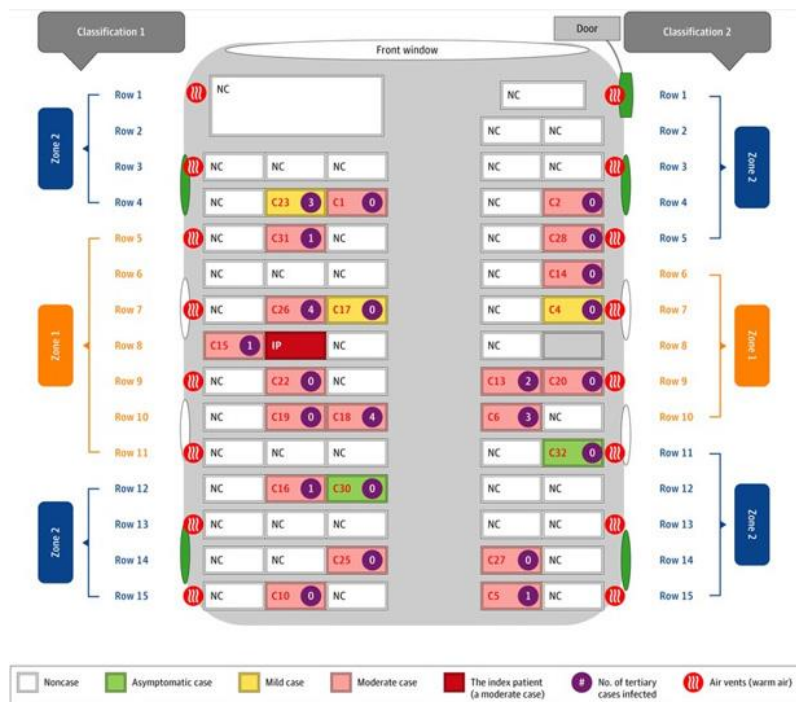
**Z toho důvodu je velmi obtížné určit skutečnou účinnost takových zařízení na přenos virů.**

*Tento jev je znázorněn na příkladu restaurace v Číně (8). Podle uspořádání míst k sezení se nakažený A1 nacházel ve vzdálenosti větší než jeden metr od nakažených B1 a C1.*

*Průtok klimatizačního vzduchu tedy podle všeho usnadnil přenos mikro kapének od stolu rodiny A ke stolu B a poté k C.*

*Skutečnost, že nakaženy byly pouze kontakty sedící u stolu v ose průtoku vzduchu z klimatizačního systému naznačuje, že k přenosu došlo pouze touto cestou.*





To stejné platí v případě nedávno uveřejněné studie popisující kontaminaci v autobusu (9), podle které místa, kde seděly infikované osoby, ukazují na přenos prostřednictvím recyklovaného vzduchu. Srovnání prostoru blízko nakaženého se vzdálenějšími prostory neukazuje žádný rozdíl v pravděpodobnosti nákazy, což naznačuje, že k největšímu přenosu došlo prostřednictvím recyklovaného vzduchu (ze zadní části směrem dopředu).

### Problém č.2:

Velikost části viru a HEPA filtr:

Vzhledem k velikosti částic viru 0,125 mikronu, velikosti aerosolových částic a schopnosti HEPA filtrů zachycovat částice „pouze o velikosti 0,3 mikronu a větší“, je užitečné používat tento typ filtrů pro filtraci a záchyt viru bez jeho šíření?

### Problém č.3:

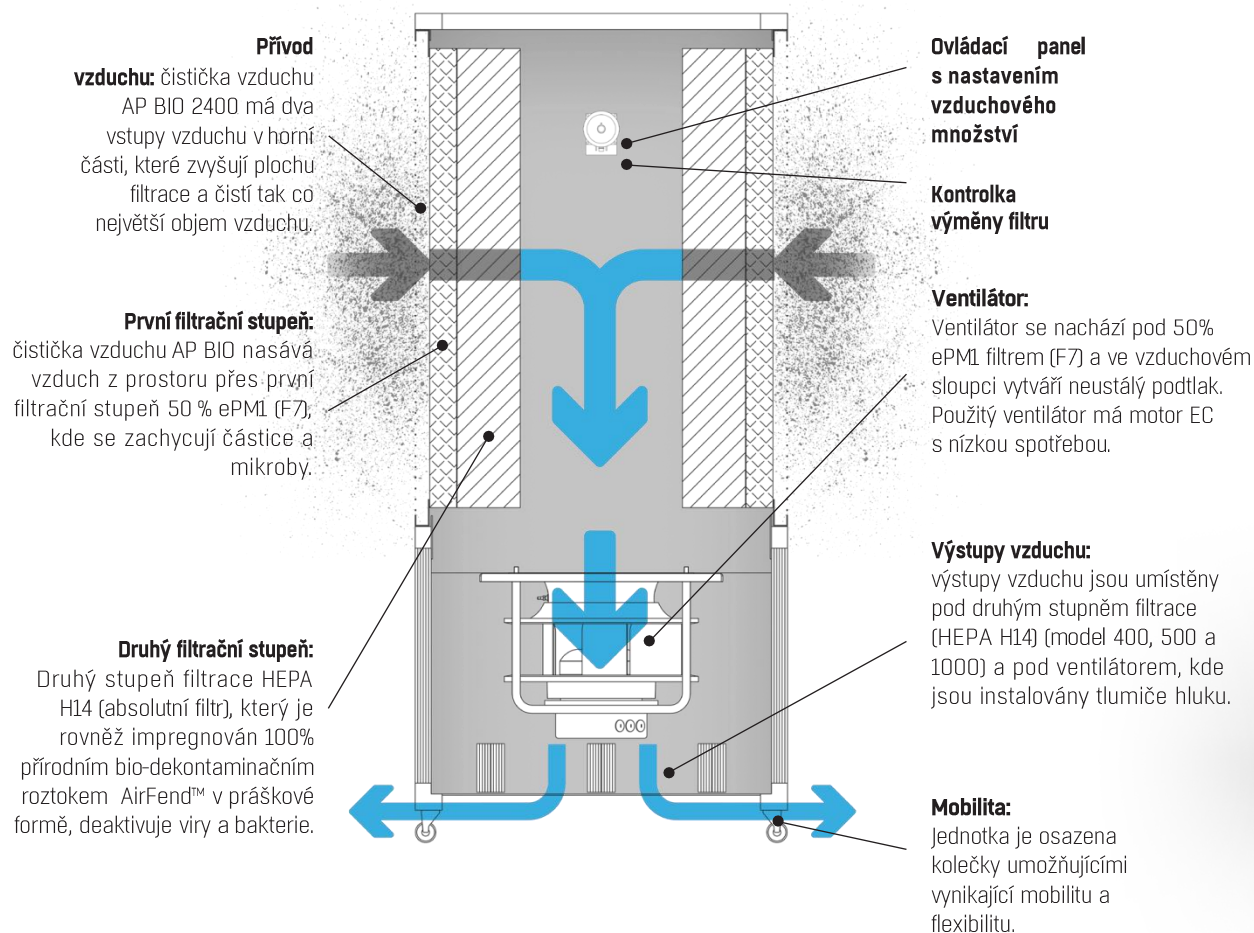
Filtry jsou plné částic viru, což vede k výraznému riziku nákazy technika, pokud s filtrem nezachází opatrně (rukavice, masky, brýle a správná likvidace odpadu).

# 5 Cíle zkoušky

- 1. Zjistit, zda systém AP Bio 1000 AirFend umožňuje dodávat dezinfikovaný vzduch a dezinfekční prostředek v místě instalace.**
- 2. Vyhodnotit riziko šíření částic viru prostřednictvím proudění vzduchu ze zařízení v místnostech s intenzivní péčí.**
- 3. Použití tohoto zařízení v místnostech s intenzivní péčí, kde se nacházejí částice viru SARS-Cov2.**
- 4. Vyhodnotit riziko nákazy virem COVID-19 při manipulaci s použitým filtrem.**



# 6 Zkoušená čistička vzduchu: AP BIO 1000



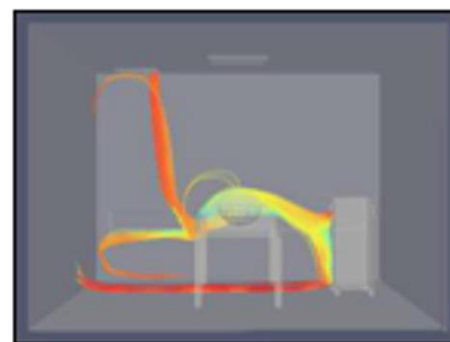
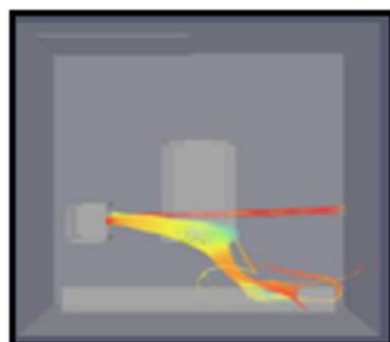
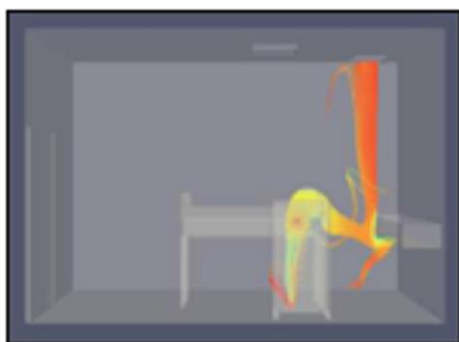
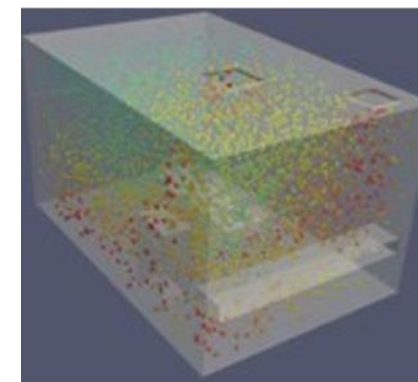
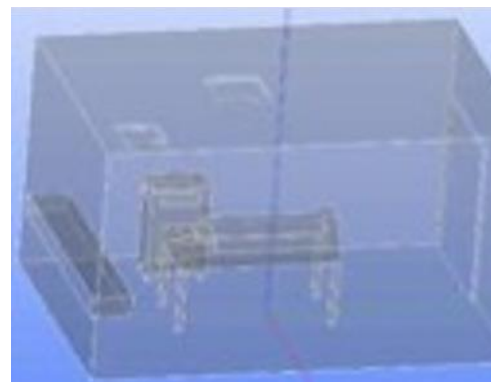
**LZE VYUŽITÍM TÉTO ČISTIČKY VZDUCHU VYŘEŠIT VÝŠU UVEDENÉ PROBLÉMY?**

Poznámka: výkres AP BIO 2400, podobný provoz jako AP BIO 1000

# 7 AP BIO 1000 Problém č. 1: šíření

## ZVYŠUJE FREKVENCE VÝMĚNY VZDUCHU ZAJIŠŤOVANÁ ČISTIČKOU VZDUCHU AP BIO 1000 PROUDĚNÍ A TÍM I RIZIKO ŠÍŘENÍ A PŘENOSU ČÁSTIC VIRU NA PERSONÁL?

K odpovědi na tuto otázku byla vytvořena simulace pomocí kalkulatorů PIMPLE a MPPIC od Open-Foam, které umožňují statické měření turbulentních proudů s různými omezeními. Z poskytnutých výkresů byl vytvořen zjednodušený digitální model. Místnost má lůžko uprostřed a je vybavena přívodem a odtahem řízenou mechanickou ventilací a čističkou vzduchu AP BIO 1000.



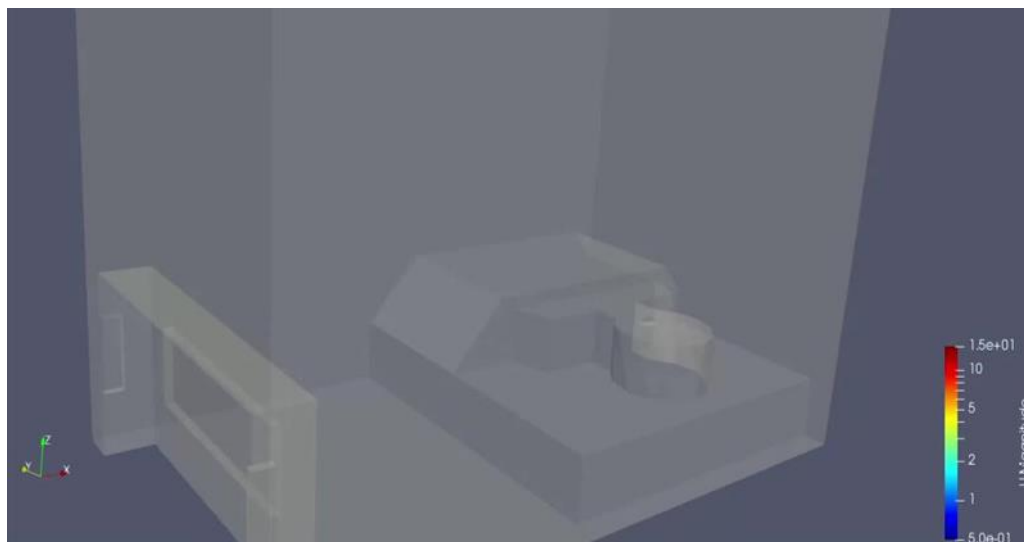
*Proudění vzduchu okolo pacientova lůžka zajišťované ŘMV a čističkou vzduchu; pohled na místnost s pacientem z boku, zepředu a shora.*

Když je čistička vzduchu v provozu (přechodová fáze), proudění je složitější. Pokud je pacientův obličej stále přímo vystaven vzduchu přicházejícímu ze systému ŘMV, toto proudění nesměruje ke stropní ventilaci, ale spíše směrem k čističce vzduchu umístěné přibližně jeden metr od pacienta.

Kontaminovaný vzduch se tedy poté šíří dvěma směry:

- Většinu vzduchu bude nasávat horní mřížka zařízení a vzduch bude filtrován.
- Menší množství vzduchu proudí směrem k podlaze, kde ho zachytí rychlý proud z čističky vzduchu. Tento vzduch poté prochází pod lůžkem pacienta, naráží do protější stěny a částečně k pacientovi dosahuje.

**Je však třeba si uvědomit, že tento vzduch zůstává na úrovni podlahy, kde je riziko nadýchání nebo kontaminace nižší.**



Video simulace jedné situace: kýchnutí v časovém okně 1/10 vteřiny, s obsahem částic od 10 do 100 mikronů vypouštěných rychlostí 50 km/h před čističkou vzduchu AP BIO 1000 nastavenou 1000 m<sup>3</sup>/h (sání vzduchu rychlostí přibližně 1 m/s) s přídatnou výměnou vzduchu zajišťovanou systémem ŘMV, který žene vzduch směrem k čističce.

**Díky této simulaci jsme došli k závěru, že čistička vzduchu AP BIO 1000 nezvyšuje teoretické riziko šíření částic viru na zdravotníky.**

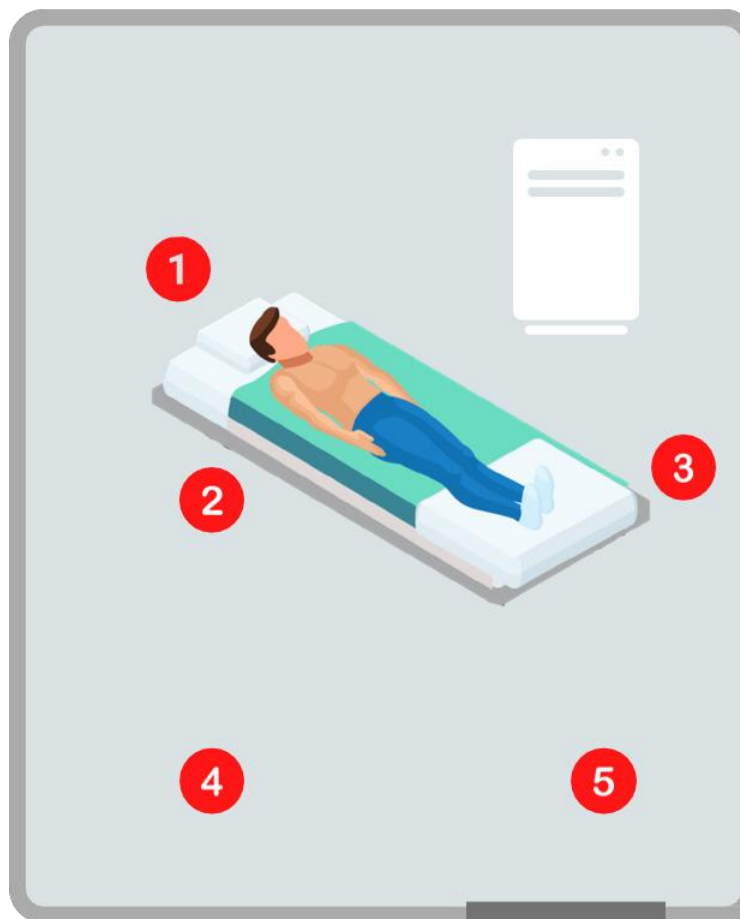
## SNIŽUJE SE MNOŽSTVÍ AEROSOLŮ A KAPÉNEK PŘED POUŽITÍM AP BIO 1000 A PO NĚM?

Čistička vzduchu logicky snižuje průměrnou koncentraci částic v místnosti s pacientem včetně aerosolů vznikajících během mluvení a dýchání a kapének produkovaných při kašli.

Lze tedy odvodit, že pokud se sníží rychlost pohybu virů v prostředí, sníží se i průměrné riziko jejich přenosu.

Byla tedy provedena kvantifikace částic na místě v místnosti s pacientem. Uvedené hodnoty jsou vyjádřeny jako počet částic na m<sup>3</sup>.

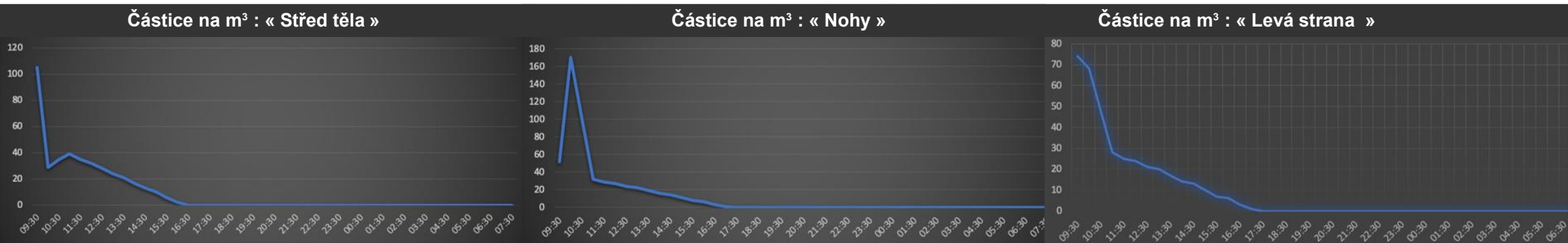
*Poznámka: nerozlišuje se mezi inertními a životaschopnými částicemi.*



1. Oblast hlavy pacienta
2. Oblast středu těla pacienta
3. Oblast nohou pacienta
4. Levá strana místnosti pacienta
5. Pravá strana místnosti pacienta

Uspořádání zkoušky a oblastí odběru vzorků

# VÝSLEDKY: ČÁSTICE ≥ 5 MIKROMETRŮ

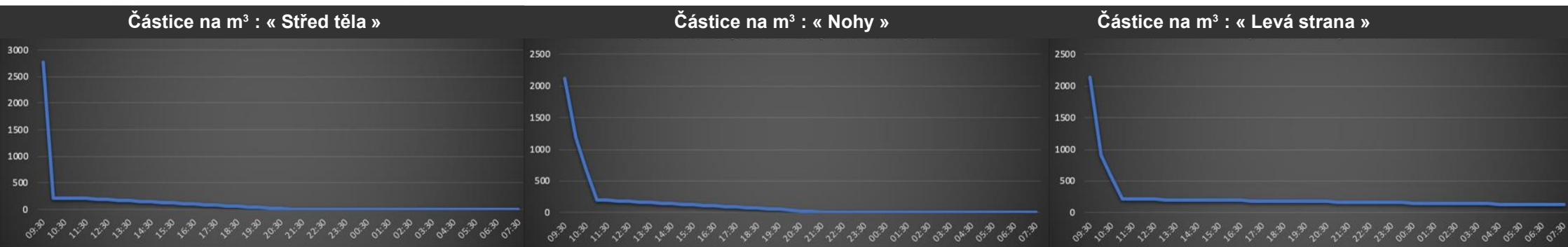


	T0	T20	T60	H6
Průměr (/m <sup>3</sup> )	10 147,1	11 865,7	4 638,0	423,8
Standardní odchylka (/m <sup>3</sup> )	3 434,4	7 616,8	1 881,4	482,5
LSC 95 % (/m <sup>3</sup> )	13 372,5	19 019,0	6 339,2	876,9

*Nárůst křivky okolo 10:30 je způsoben otevřením dveří sestrou. V následujících 30 minutách však došlo k rapidnímu poklesu počtu částic.*

*\*Horní mez intervalu spolehlivosti (LSC při 95 %) - LSC při 95 % měří, v jakém rozsahu se přesnost výsledku blíží skutečnosti*

# VÝSLEDKY: ČÁSTICE ≥ 0,5 MIKROMETRU

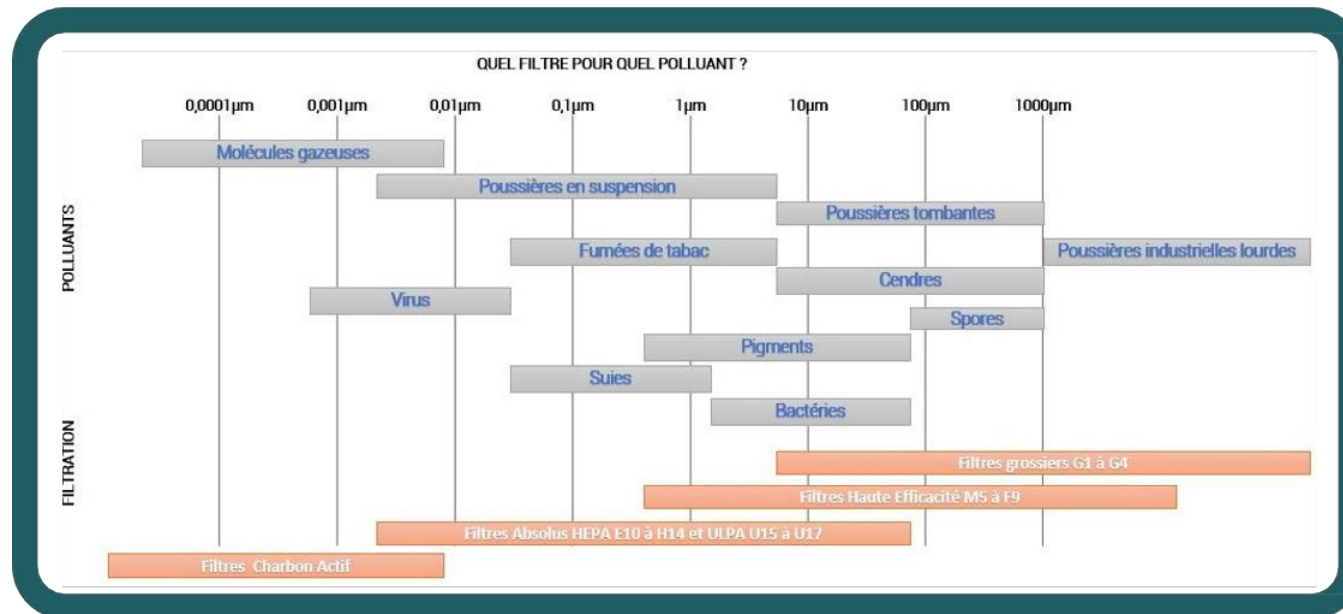


	T0	T20	T60	H6
Průměr (/m3)	334 006,1	75 808,8	29 287,6	13 890,4
Standardní odchylka (/m3)	1 110 360,5	46 516,3	9 588,7	5 085,0
LSC 95 % (/m3)	437 651,1	119 494,6	38 292,9	18 666,0

*\*Horní mez intervalu spolehlivosti (LSC při 95 %) - LSC při 95 % měří, v jakém rozsahu se přesnost výsledku blíží skutečnosti*

# Problém č. 2: Je zapotřebí filtrace H14?

## JE FILTR H14 UŽITEČNÝ PRO FILTRACI A ZÁCHYT VIRŮ BEZ ROZKLADU ČÁSTIC?



Vzhledem k velikosti částic viru 0,125 mikronu, velikosti aerosolových částic a schopnosti HEPA filtrů zachycovat částice „pouze o velikosti 0,3 mikronu a větší“ vyvstává otázka, zda má smysl používat tento typ filtrů pro filtraci kontaminovaného vzduchu.

Studie, kterou v roce 2016 provedla NASA, jasně ukazuje, že HEPA filtry skutečně zachycují částice až do velikosti 0,01 µm. Tyto filtry jsou tedy velmi účinné při zachycování jak větších částic o velikosti přesahující 0,3 µm, tak i velmi vysokého procenta nano částic (10).

# 7 AP BIO 1000 První závěry

## ODPOVĚDI NA PROBLÉM Č. 1:

- AP BIO 1000 nevede ke zvýšenému riziku šíření viru na zdravotníky za podmínek, za kterých byla provedena simulace.
- Všechny prvky měřené v této zkoušce vykazují významný úbytek částic o průměru  $\geq 5$  a  $\geq 0.5$   $\mu\text{m}$  v místnosti s pacientem.
- Povšimněte si také, že instalace jednotky AP BIO 1000 umožnila díky čističce vzduchu změnit klasifikaci z úrovně ISO8 na ISO6.

Numéro de classification	Concentrations maximales admissibles (particules/m <sup>3</sup> d' air) en particules de taille égale ou supérieure à celle donnée ci-dessous					
	0,1 $\mu\text{m}$	0,2 $\mu\text{m}$	0,3 $\mu\text{m}$	0,5 $\mu\text{m}$	1 $\mu\text{m}$	5 $\mu\text{m}$
ISO (N)						
Classe ISO 1	10	d	d	d	d	e
Classe ISO 2	100	24 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	d	d	e
Classe ISO 3	1 000	237	102	35 <sup>b</sup>	d	e
Classe ISO 4	10 000	2 370	1 020	352	83 <sup>b</sup>	e
Classe ISO 5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	d, e, f
Classe ISO 6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
Classe ISO 7	c	c	c	352 000	83 200	2 930
Classe ISO 8	c	c	c	3 520 000	832 000	29 300
Classe ISO 9 <sup>a</sup>	c	c	c	35 200 000	8 320 000	293 000

## ODPOVĚDI NA PROBLÉM Č. 2:

- Předpokládá se vektor (kapénky, aerosol ...) suchého viru v důsledku místních hygrometrických změn.
- Vir má velikost 0,125 mikronu, jednotka AP BIO 1000 má díky filtru H14 schopnost tyto virové částice filtrovat.



## 8

# Filtrační systém AirFend

## Směs bylinných látek

### Informace o bezpečnost směsi bylinných látek (příloha 1) poskytnuté výrobcem před začátkem zkoušek



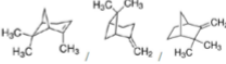

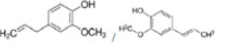
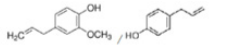
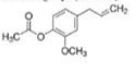

#### Složení roztoku výrobce:

Vegetabilis fibris, Eugenia caryophyllata, Olea europaea L, Salvia officinalis, Thymus vulgaris, Origanum vulgare, Rosmarinus officinalis, Satureja hortensis, Cinnamomum verum.

Literatura uvádí pouze málo údajů o kombinaci rostlinných extraktů (v práškové formě) obsažených v tomto roztoku. Dostupné informace o některých spolupůsobeních v tomto roztoku pocházejí ze studií provedených na esenciálních olejích. Receptura použitá v systému AirFend však neobsahuje esenciální oleje, ale jejich aktivní molekuly.

Farmakologické vlastnosti esenciálních olejů byly zkoumány a ověřovány velkým počtem studií a článků, které se těmito studii zabývají, bylo od roku 1995 napsáno více než 2000.

Za stejné období vzniklo také přes 1800 odkazů k toxikologickým a klinickým studiím těchto bioaktivních látek.

<b>Huiles essentielles</b> Origan Vulgaire ( <i>Origanum vulgare L. ssp vulgare</i> )	<b>Sesquiterpènes</b> germacrène (traces) 
<b>Huile essentielle</b> Cannelle de Ceylan (écorce) ( <i>Cinnamomum verum J. Presl.</i> )	<b>Coumarines</b> Coumarine 
<b>Huile essentielle</b> Romarin Officinal à 1-8 cinéole ( <i>Rosmarinus officinalis L.</i> )	<b>Monoterpènes</b> α (10 à 12 %) et β (5 à 7,7%)-pinène / camphène (4 à 4,3%) 
<b>Huile essentielle</b> Cannelle de Ceylan (écorce) ( <i>Cinnamomum verum J. Presl.</i> )	<b>Aldéhydes aromatiques</b> cinnamaldehyde (40 à 80%) 
<b>Huiles essentielles</b> Cannelle de Ceylan (écorce) ( <i>Cinnamomum verum J. Presl.</i> )	<b>Phénols</b> eugénol (2,2 à 10%) / isoéugénol (0,03%) 
Giroflier (clou de) ( <i>Eugenia caryophyllus Bull et Harr</i> )	eugénol (70 à 80%) / chavicol (0,29%) 
<b>Huiles essentielles</b> Giroflier (clou de) ( <i>Eugenia caryophyllata Bull et Harr.</i> )	<b>Cétones</b> acétate d'eugényl (8 à 15%) 
Romarin offcoconal CT Verbénone ( <i>Rosmarinus officinalis L.</i> )	Acétate de bonyle (12%) 

Aktivní molekuly roztoku AirFend se podle jejich fyzikálních a chemických charakteristik nazývají těkavé organické látky (volatile organic compounds – VOC).

Je třeba zdůraznit důležitost rozdílných zdrojů VOC, aby nedocházelo k nejasnostem s ohledem na rizika antropogenních emisí syntetických VOC and přínosy extrahování VOC pro řízené a odměřené využití (NAT VOC).

Těkavé organické látky (NAT VOC) vznikající primárně biosyntézou isoprenu a terpenů jsou sekundárními metabolity rostlin. Ve svých těkavých formách mohou být jejich účinky přímé či nepřímé po několika transformačních procesech. Jako mnoho dalších sekundárních metabolitů rostlin mají za určitých podmínek toxické účinky a také farmakologické vlastnosti zajímavé pro lidi (11), například:

- kombinace tymiánu a skořice snižuje zánětlivou hyperaktivitu dýchacích cest a některé buněčné zánětlivé parametry a mohou být tedy potenciálně zvažovány pro doplňkovou léčbu zánětlivých respiračních onemocnění (12)
- stejně se také uvádí, že některé rostliny jako skořice, bergamot, voňatka citrónová, tymián a levandule mají silné antivirové účinky proti chřipkovému viru typu A (13)

**V současné době není možné poskytnout úplnou bibliografii výzkumu součástí tohoto přípravku, avšak z různých studií konzultovaných při tvorbě této zprávy jasně vyplývá, že využití v uzavřených a obytných prostorech, zvláště v odměřených dávkách, se ukazuje jako velmi zajímavé zvláště díky jejich antimikrobiálním účinkům (bakterie a fungicidy), antivirovým účinkům a v některých případech i akaricidním účinkům (14).**

**Podle současného stavu vědeckého poznání se poměr rizik a přínosů přiklání směrem k jejich využití při řádné kontrole doporučených dávek vypouštěných do prostředí.**

# 9 Systém AirFend Výsledky zkoušek in vitro

Systém filtrace AirFend™ je podle popisu schopen blokovat a neutralizovat 100 % virů (včetně Sars-CoV-2) a bakterií v případě, kdy vzduch proudí přes čističku vzduchu, a to díky zcela přírodnímu roztoku, který obsahuje.

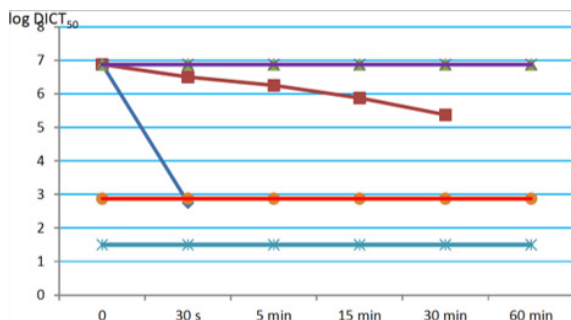
## JAKÉ JSOU K DISPOZICI DŮKAZY TÝKAJÍCÍ SE ÚČINNOSTI POUŽITÉHO 100% PŘÍRODNÍHO ROZTOKU?

Veškerá shromážděná dokumentace ukazuje, že roztok použitý v systému AirFend je skutečně aktivní:

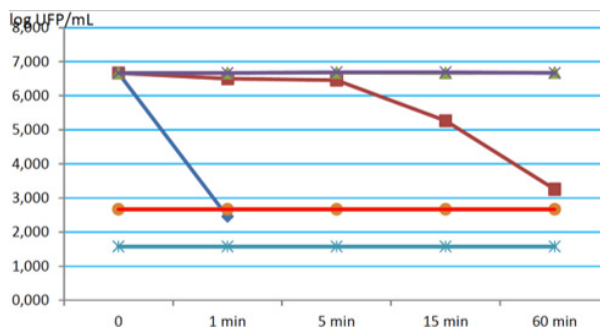
- baktericidně, čímž splňuje normy NF EN 13727 a EN 1040 (příloha 2,3)
- fungicidně podle normy NF EN 1275 (příloha 4)
- plně virucidně podle normy NF EN 14476 (příloha 5).

Příklady výsledků získaných s :

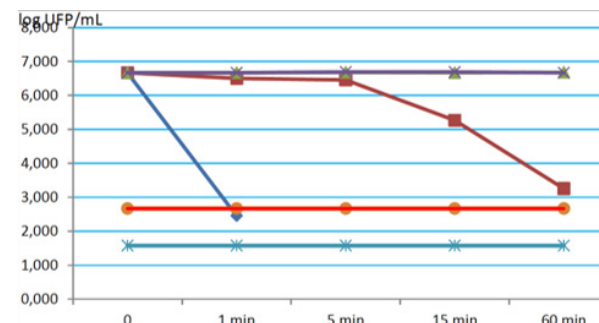
adenovirem:



norovirem :



virem dětské obrny :



In vitro účinnost použitého produktu tedy nelze prokázat, jak za čistých, tak nečistých podmínek\*.

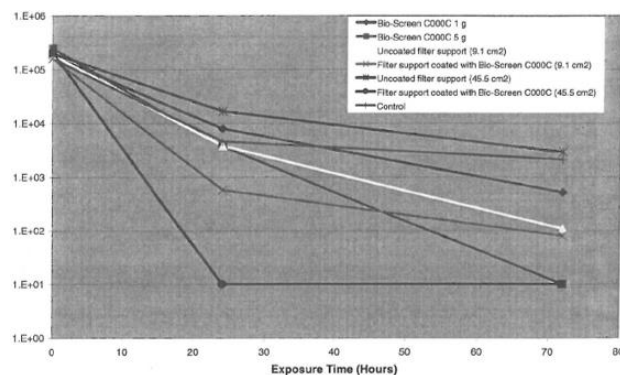
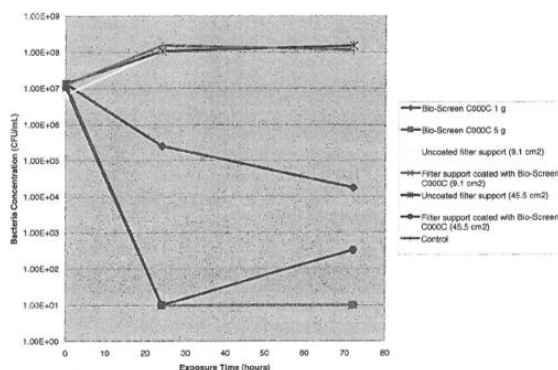
\* 3 ml/l ovčích erytrocytů a 3 g/l hovězího albuminu

Studie provedená NSF (řízení veřejných zdravotních a bezpečnostních rizik) z Ann Arbor, Michigan, USA, ukazuje, že tento roztok nemá nižší výkonnost v porovnání s některými chemikáliemi, například kvartérními amoniovými sloučeninami nebo chlornanem sodným (příloha 6).

Dále byly provedeny zkoušky účinnosti filtrů s různými koncentracemi rostlinného roztoku (příloha 7).

Filtry byly testovány na některé bakterie typu BG (bacillus subtilis), BG- (pseudomonas aeruginosa) a kvasinky (aspergillus flavus).

Agent	Sodium & Calcium Hypochlorite	Quaternary Ammonium Compounds	Bioscreen C0000C
Performance	Moderate	Moderate to high	Moderate
Contact Time	Minutes	Minutes	Minutes to Hours
pH	Alkaline	Acidic to neutral	Acidic
Corrosiveness	Corrosive to iron and aluminum	Corrosive to iron, copper, and brass	Noncorrosive
Source	Chemical	Chemical	Natural
Antimicrobial Performance	Broadspectrum (Bacterial, Viral, Fungal)	Broadspectrum (Bacterial, Viral, Fungal)	Broadspectrum (Bacterial, Viral, Fungal)
Environmental Attributes			Biodegradable
Regulatory Statuses	Registered Pesticide	Registered Pesticide	Generally Recognized as Safe, Minimum Risk Pesticide



Z těchto zkoušek skutečně vyplývá, že pokud jsou filtry potaženy rostlinným roztokem v koncentraci 5 %, dochází k úbytku testovaných mikroorganismů nejméně v rozsahu nejméně 4 log (nejvíce 6 log).

Activité bactérielle testée sur milieu TSA				
Filtre testé	Filtre 1 note P1	Filtre 2 note P2	Filtre 3 note P3	Filtre 4 note P4
Boîte 1	Confluence de bactéries	Confluence de bactéries	Stérile	Stérile
Boîte 2	Confluence de bactéries	Confluence de bactéries	Stérile	Stérile
Boîte 3	Confluence de bactéries	Confluence de bactéries	Stérile	Stérile
Boîte 4	Confluence de bactéries	Confluence de bactéries	Stérile	Stérile
Boîte 5	Confluence de bactéries	Confluence de bactéries	Stérile	Stérile
Boîte 6	Confluence de bactéries	Confluence de bactéries	Stérile	Stérile
Contrôles				
Solution de bactéries et de moissures sur boîte de Pétri avec milieu TSA sans contact avec les filtres			Filtres déposés sur Boîtes de Pétri avec milieu TSA sans contact avec la solution Bactéries - Moissures	
Boîte 1	Confluence de bactéries		Boîte 3	Stérile
Boîte 2	Confluence de bactéries		Boîte 4	Stérile
Activité Fongicide testée sur milieu M4GY				
Filtre testé	Filtre 1 note P1	Filtre 2 note P2	Filtre 3 note P3	Filtre 4 note P4
Boîte 1	140 colonies	Confluence de moissures	Stérile	Stérile
Boîte 2	23 colonies	Confluence de moissures	Stérile	Stérile
Boîte 3	22 colonies	Confluence de moissures	Stérile	Stérile
Boîte 4	Confluence de moissures	Confluence de moissures	Stérile	Stérile
Boîte 5	Confluence de moissures	Confluence de moissures	Stérile	Stérile
Boîte 6	Confluence de moissures	Confluence de moissures	Stérile	Stérile
Contrôles				
Solution de bactéries et de moissures sur boîte de Pétri avec milieu M4GY sans contact avec les filtres			Filtres déposés sur Boîtes de Pétri avec milieu M4GY sans contact avec la solution Bactéries - Moissures	
Boîte 1	Confluence de moissures		Boîte 1	Stérile
Boîte 2	23 colonies		Boîte 2	Stérile
Boîte 3	25 colonies		Boîte 3	Stérile

Prokázána účinnost dezinfekce a čištění vzduchu u filtrů P3 a P4 s vyššími koncentracemi rostlinného roztoku (výrobce koncentraci neuvádí) (příloha 8).

# 10

## System AirFend

# Zkoušky in situ: provozní podmínky

Vzhledem k tomu, že všechny předchozí shromážděné údaje byly získány in vitro nebo in situ, ale mimo prostředí, kde musí být řízená kvalita vzduchu, bylo rozhodnuto zařízení otestovat na jednotce intenzivní péče s pacientem s COVID-19.

### Vzorový pokoj: 60 m<sup>3</sup>

Teplota: 19-21°C

Vlhkost: 60 g/m<sup>3</sup>

Bez bio-dezinfekce

### Pacient:

neintubován, léčba kyslíkem o vysokém průtoku, přijat v D6 od nákazy



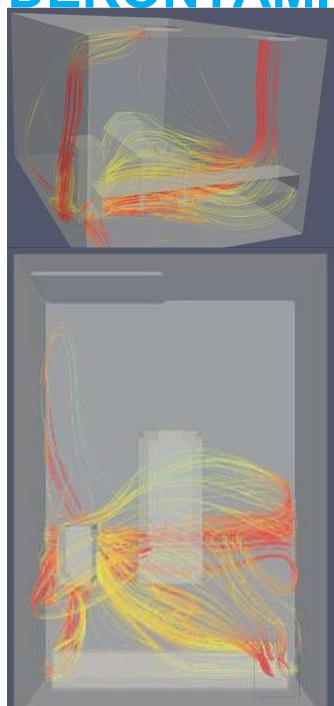
*Zařízení umístěné v pokoji po dokončení zkoušek. Umístění se liší od umístění původního.*

### APbio 1000:

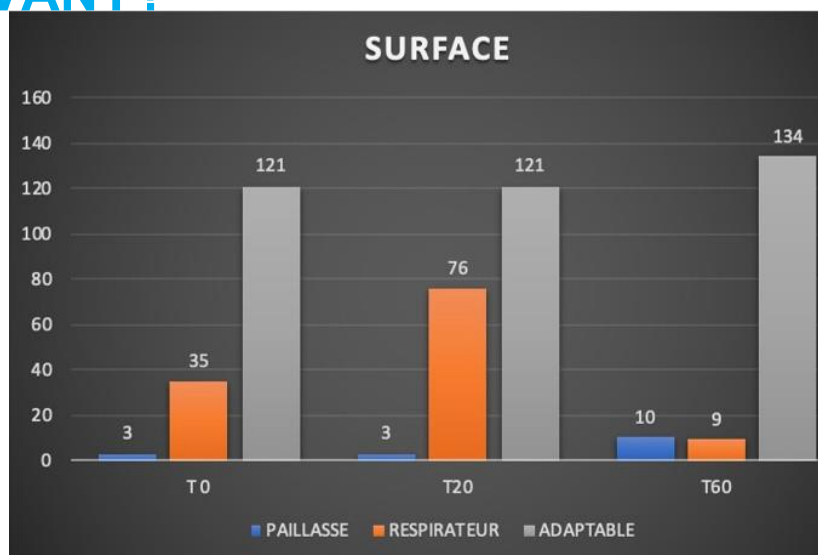
Protože je vybraný pacient léčen podáváním kyslíku o vysokém průtoku (HFO), je teoretické množství virových částic v prostředí výrazně vyšší než v případě intubovaného pacienta, zvláště v případě uzavřeného systému. Zkoušky byly prováděny mezi D12 a D25 od nákazy pacienta.

# Zkoušky in situ: povrchy vzorků

## JSOU POVRCHY V KONTAKTU S UPRAVOVANÝM VZDUCHEM ALESPŇ ČÁSTEČNĚ DEKONTAMINOVÁNY?



Filtrovaný vzduch se šíří směrem k zemi ve čtyřech směrech: ke dveřím, k rohožce, pod postel a ke zdi za jednotkou.



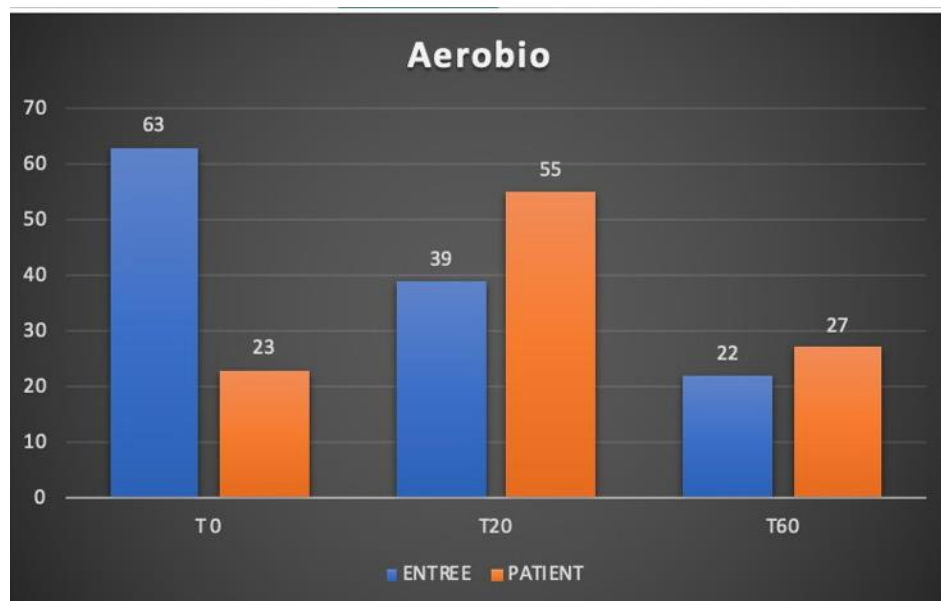
Tato „rekontaminovaná“ zóna však po 40 minutách vykazuje výrazný pokles koncentrace životaschopných částic na krychlový metr (CFU/m<sup>3</sup>) ve výši 88,15 %

Protože se respirátor nachází v prostoru, kde je „dekontaminovaný“ průtok nejvýznamnější (ve vzdálenosti 1 m\*) oproti latentnímu (ve vzdálenosti 2,0 m\*) / adaptabilnímu (ve vzdálenosti 1,8 m\*), můžeme se domnívat, že průtok vzduchu z jednotky AirFend má dekontaminační účinek na povrchy, pokud jsou mu dostatečným způsobem vystaveny.

\* od jednotky AP BIO

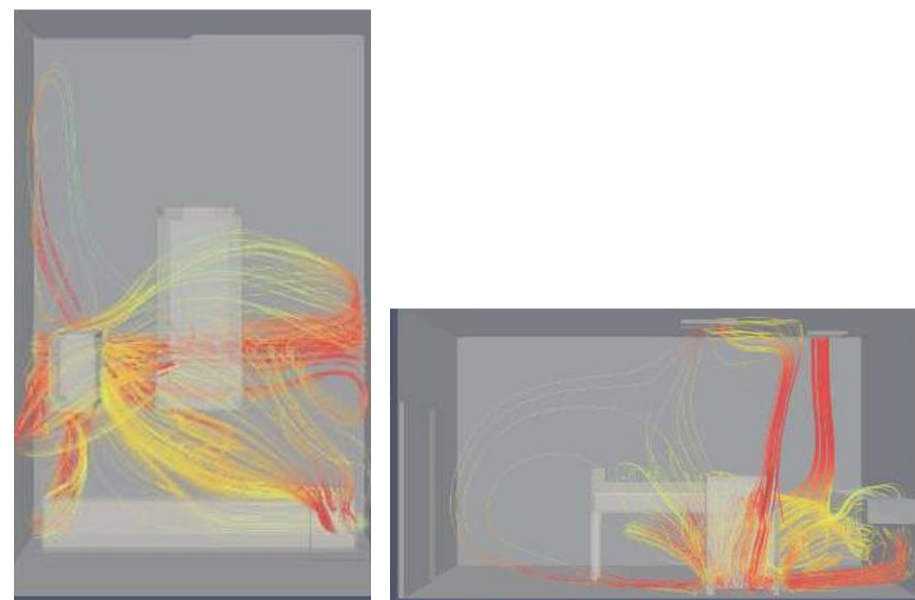
Různé výsledky vzorků je obtížné interpretovat, protože místnost nebyla před zkouškou biologicky vyčištěna, a protože došlo ke kontaminaci v T18 (v 18té minutě) vstupem zdravotnického pracovníka do místnosti. Vidíme tedy nárůst kolonií na úrovni různých zón odebraných zejména z respirátoru.

## VZDUCH FILTROVANÝ PŘES AP BIO JE DEKONTAMINOVANÝ, AVŠAK LZE JEJ POVAŽOVAT I ZA DEKONTAMINAČNÍ ČINIDLO?



Během této zkoušky si můžeme všimnout:

- **38,1% (CFU/m<sup>3</sup>) poklesu během 20 minut a 65,1% během 60 minut** na vstupu do místnosti,
- **50,9% poklesu**, 40 minut po opětovné kontaminaci prostředí,



Stejná poznámka jako v předchozím případě týkající se vstupu zdravotníka do místnosti v čase T18. Poté dochází na úrovni pacienta ke zvýšení počtu jednotek tvořících kolonie.

# 10

## System AirFend Závěry: vzorky in situ

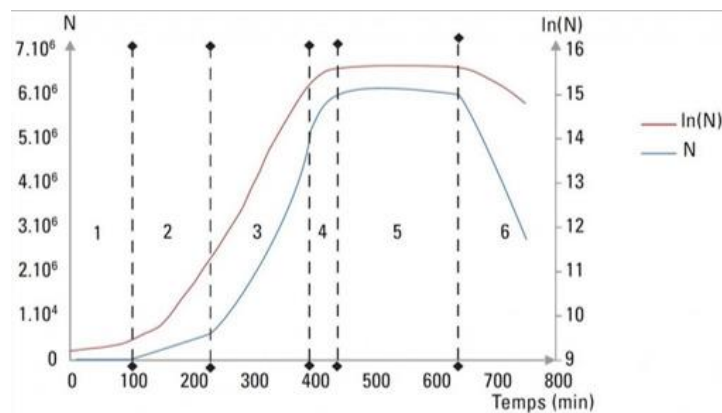
### Týkající se povrchů:

Z porovnání údajů získaných in vitro a in situ je zřejmé, že systém AirFend s aplikovaným roztokem má antimikrobiální účinky na povrchy.

Tyto vlastnosti však s určitostí závisí na koncentraci aktivních látek na uvedených površích.

Dochází tedy ke skutečnému baktericidnímu účinku (88 %) na površích, které jsou produktu nejvíce vystaveny, a ke „zpomalujícímu“ účinku na růst bakterií.

*Pozn.: opakované hypotézy ukazují, že kolonie bakterií se ve fázi 5 a 6 nenacházejí.*



- 1 latentní fáze
- 2 akcelerační fáze
- 3 exponenciální fáze
- 4 zpomalující fáze
- 5 stacionární fáze
- 6 fáze poklesu

### Týkající se vzduchu:

Výsledky in situ (bez přítomnosti pacienta) byly získány zkouškami, které provedl výrobce, a které pro porovnání s našimi výsledky máme k dispozici.

Jsou konzistentní s výsledky získanými během našich zkoušek, kdy se kontaminace vzduchu snížila nejméně o 50 % (u výrobce bakteriostatiku) a až o 65,1% (oproti 73,3 % u výrobce).

Je třeba také uvést, že výsledky zkoumání *aspergillus fumigatus* před použitím AP BIO 1000 a po něm byly negativní. Výsledky tedy nejsou v tomto dokumentu rozvedeny.

Zkoušky provedené dodavatelem jsou k dispozici na vyžádání.



# 10

## System AirFend

# Problém č. 3: manipulace s filtrem a riziko

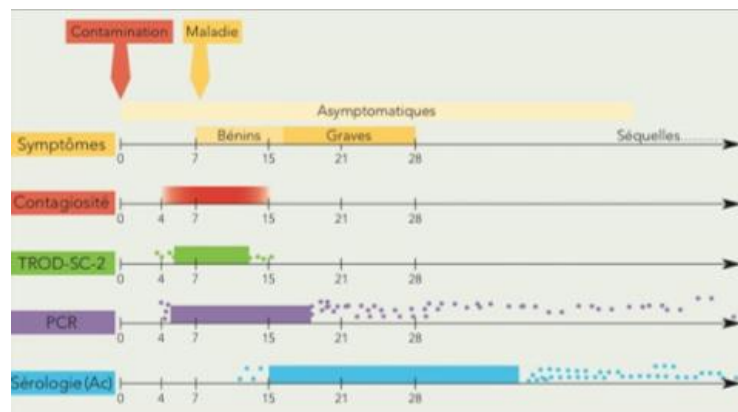
## JE FILTR JIŽ BEZ OBSAHU DNA VIRŮ A MŮŽE BÝT MANIPULACE S NÍM SNADNĚJŠÍ?

Výrobcem byly provedeny různé in vitro zkoušky, které ukazují baktericidní a fungicidní účinnost ošetřených filtrů (viz str.15). Žádné zkoušky virucidní aktivity těchto filtrů však provedeny nebyly.

Při odpovědi na tuto otázku jsme řešili problém viru COVID-19. Byl tedy proveden sěr povrchu pro účely provedení PCR testu:

- Na filtru F7 (první stupeň filtrace systému)
- Na filtru H14 (jeho účelem mám být blokáce viru).

Vzorek byl odebrán v D15 po nákaze, aby byla zajištěna trvalá nakažlivost v místnosti s pacientem.



Centre Hospitalier de Rambouillet Laboratoire de Biologie Médicale

**HYG Rea**  
 Num usuel: HYG  
 Pénion: Rca

Nom le: Sexe: X  
 N° hosp: IPP:  
 Copie patient:

U.F. d'hébergement: Code U.F./Correspondant: 3013

Prescription du: 17/11/20 Enregistrement du: 17/11/20 Références labo: 201117371 (1481623) Edition précédente  
 Prélèvement du: 17/11/20 à 12:34 Edition: 17/11/20 14:25 complète: 17/11/20 14:25

sur machine patient réa ce 17/11, écouvillon avec milieu de transport VIRUS

**BACTERIOLOGIE**

**Détection du génome du SARS CoV-2**

Résultat: **Négatif**

*Par métréaire ID: NQIP SARS CoV-2: 18/09*

\*Les données vous concernant collectées dans le cadre du présent examen biologique, en lien avec l'épidémie du Covid-19, sont enregistrées dans le système d'information national dénommé SI-DEP, mis en œuvre par la direction générale de la santé. Ce traitement d'intérêt public a pour finalité de centraliser les résultats des examens de dépistage Covid-19 en vue de leur réutilisation à des fins d'enquête sanitaire, de surveillance épidémiologique et de recherche via la plateforme données de santé. Pour plus d'information sur ce traitement de vos droits: consulter le site du ministère de la santé (<https://solidarites-sante.gouv.fr/ministere/article/donnees-personnelles-et-cookies>). Pour exercer vos droits (accès, rectification, limitation, voie d'opposition), nous vous invitons à contacter l'adresse postale Correspondant à la protection des données - Direction générale de la santé (DGS) - Ministère des solidarités et de la santé - 14 avenue Duquesne - 75330 PARIS 07 SP ou l'adresse électronique [sidep-rgpd](mailto:sidep-rgpd)

Validé par: DESBOIS Delphine

Dr. Desbois Delphine Dr. Bridoux Delphine Dr. Amouroux Isabelle Dr. Loiseau Marie-Christine Dr. Struxiano Laurence  
 Praticien hospitalier Praticien hospitalier Chef de Service Praticien hospitalier Praticien hospitalier

Demande n°: 201117371 (1481623) Edition n°: 4/23 976 Page 1 sur 1

## ODPOVĚĚ NA PROBLÉM Č. 3:

Virální DNA z COVID-19 nebyla na filtrech jednotky AP BIO 1000 umístěné v místnosti pacienta s vážným průběhem SarS-CoV 2 a infekčním onemocněním plic nalezena.

S ohledem na problém bezpečné manipulace s filtrem je pravděpodobné, že systém AirFend má virucidní účinky proti COVID-19 a umožňuje tedy bezpečnou manipulaci s filtrem ze strany servisních techniků.

Bylo však zjištěno několik omezení:

- rozsáhlé však ne úplné pokrytí povrchu,
- nakažlivost, která se u pacientů s průběhem času mění (15)

*Aby bylo možno tuto bezpečnost s jistotou potvrdit, je pravděpodobně třeba provést PCR testy na filtrech v různých fázích průběhu onemocnění.*

	Classification of illness severity	Median (IQR*) duration of SARS-CoV-2 positivity in cohort, days	Viral dynamics in patients with severe illness vs those with non-severe illness	p value
Chen et al (2020) <sup>25</sup>	ICU vs non-ICU patients	11 (95% CI 10–12)	Median time to viral clearance significantly longer in ICU vs non-ICU patients (HR 3.17, 95% CI 2.29–4.37)	Only HR provided
Chen et al (2020) <sup>26</sup>	China CDC guideline (version 7)	12 (8–16)	Shedding duration varies by severity: asymptomatic 6 days; mild 10 days; moderate 12 days; serious 14 days; critical 32 days	<0.0001
Tan et al (2020) <sup>27</sup>	China CDC guideline (version 6)	Nasopharyngeal swab: 12 (range 3–38); any sample: 22 (range 3–38)	Viral shedding significantly longer in patients with severe illness: any sample 23 days vs 20 days (note that nasopharyngeal swab 14 vs 11 days was non-significant)	0.023 (any sample)
Xu et al (2020) <sup>26</sup>	WHO criteria	17 (13–32)	Higher proportion of patients with severe illness had shedding >15 days (34.2% vs 16.2%)	0.049
Yan et al (2020) <sup>27</sup>	China CDC guideline (version 6)	23 (18–32)	No difference in shedding duration (general illness 23 days vs severe illness 26 days vs critical illness 28 days)	0.51
Zheng et al (2020) <sup>23</sup>	China CDC guideline (version 6)	Respiratory sample: 18 (13–29)	Shedding duration significantly longer in patients with severe illness (21 vs 14 days) in respiratory samples; no difference in shedding duration in stool or serum samples	0.04

CDC=Center for Disease Control and Prevention. HR=hazard ratio. ICU=intensive care unit. SARS-CoV-2=severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. \*IQR unless otherwise stated.

**Table 1: Severity of illness and viral dynamics**

# 11 Závěr

Čistička vzduchu AP BIO 1000 byla testována v reálném prostředí v místnosti na jednotce intenzivní péče s pacientem A přijatým s onemocněním COVID. Pacient nebyl intubován.

Veškeré dokumenty konzultované před zkouškou s jistotou potvrdily in vitro účinnost rostlinného roztoku integrovaného v systému AirFend, který je součástí čističky vzduchu AP BIO 1000 od společnosti FläktGroup. Tento dokument byl vyhotoven s cílem zodpovědět otázky týkající se čističek vzduchu s filtrem H14.

## Závěry z naší práce jsou následující:

1. Čistička vzduchu AP BIO 1000 nepředstavuje v podstatě žádné riziko přenosu viru na zdravotníky.
2. Použitím tohoto zařízení dochází k významnému úbytku částic o průměru  $\geq 5$  a  $\geq 0,5$  mikronu v místnosti s pacientem, čímž dochází k úbytku / vymizení virových vektorů v testovaném prostředí.
3. AP BIO 1000 umožňuje zvýšení úrovně kvality vzduchu z ISO8 na ISO6.
4. Vzduch proudící z čističky má skutečný baktericidní účinek na nejvíce vystavené povrchy (blízko jednotky). U objektů umístěných ve vzdálenosti 1,8 m od AP BIO je však tento účinek nižší.
5. Vzduch proudící z čističky má baktericidní účinek v ovzduší (od 20 minut od zahájení provozu), přičemž stupeň bakteriální dekontaminace je mezi 50 % a 65,1 %.
6. Přítomnost virální RNA COVID-19 nebyla na filtrech 1000 AP zjištěna.
7. Žádné toxické nebo krátkodobé vedlejší účinky na zdravotnický personál ani pacienta během období jednoho měsíce nebyly zjištěny.

# 12 Reference

1. Zhu et al, A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019, February 20, 2020  
N Engl J Med 2020; 382:727-733DOI:10.1056/NEJMoa20010172020.
2. Liu, Y., Ning, Z., Chen, Y. et al. Aerodynamic analysis of SARS-CoV-2 in two Wuhan hospitals. Nature 582, 557–560 (2020)
3. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. Nature. 2020.
4. Kimberly A. Prather, Linsey C. Marr et al. Airborne transmission of SARS-CoV-2. Science 16 Oct 2020: Vol. 370, Issue 6514, pp. 303-304)
5. Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. New England Journal of Medicine. 2020; 0: null. doi:10/ggn88w
6. <https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/covid-19-aeration-ventilation-climatisation.pdf>
7. <https://www.anses.fr/fr/system/files/AIR2012SA0236Ra.pdf>
8. Lu J, Gu J, Li K, et al. COVID-19 Outbreak Associated with Air Conditioning in Restaurant, Guangzhou, China, 2020, Emerg Infect Dis. 2020;26(7):10.3201/eid2607.200764. doi:10.3201/eid2607.200764
9. Ye shen and al. Community Outbreak Investigation of SARS-CoV-2 Transmission Among Bus Riders in Eastern China, JAMA Intern Med. Published online September 1, 2020. doi:10.1001/jamainternmed.2020.5225
10. Perry JL, Agui, JH, & Vijayakumar R. (2016, May). Submicron and Nanoparticulate Matter Removal by HEPA-Rated Media Filters and Packed Beds of Granular Materials. <https://ntrs.nasa.gov/citations/20170005166>
11. Eszter Csikós and al. Effects of Thymus vulgaris L., Cinnamomum verum J.Presl and Cymbopogon nardus (L.) Rendle Essential Oils in the Endotoxin-induced Acute Airway Inflammation Mouse Model, Molecules 2020, 25(15), 3553; <https://doi.org/10.3390/molecules25153553>
12. Abdul Rouf Wani and al., An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses, Microb Pathog. 2020 Nov 16;104620. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104620
13. Aouni M, Pelen F, Soulimani R (2013) Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. Phytothérapie 4:225– 36
14. Abdullahi ME (2013) A Synopsis on Biogenic and Anthropogenic Volatile Organic Compounds Emissions: Hazards and Control. Internat J Engineer Sci 2(5):145–53
15. Muge Cevik, MRCP Matthew Tate, MRCP Ollie Lloyd, MRCP Alberto Enrico Maraolo, MD Jenna Schafers, MRCP and al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis, Lancet November 19, 2020 [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30172-5](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30172-5)

# 13 Appendix

Appendix 1



**CENTRE EUROPÉEN MEDICAL BIOCLIMATIQUE  
DE RECHERCHE ET D'ENSEIGNEMENT UNIVERSITAIRE**  
Rue Croix de Bretagne - Villard Saint Pancrace - 05100 BRIANÇON  
Tél : 04.92.20.52.56 - Fax : 04.92.20.13.03  
Email : cembre@ceai.com - Internet : http://ceai.ceai.fr  
Organisme de formation enregistré sous le numéro : 95 05 003 19 04

**A'ITESTATION.**

Le c:omtlus.! décuutuwinwll ū!luuwJUé Bio-s .n:cn cst un produit rullur-el  
antiseplioc et anlalRÍ<JUe ne pré!llanr uucunc tollché connue ūé<ritu a ""  
jour c:bux l'Humme.

Fait à Villard Saint Pancrace, le 14/10/05

Dr. Sc. Odile MASSOT

Directeur de Recherche-CEMBREU

TRANSLATION



Wh<ll O"ned Comp:JO of SF InremJlOn.ii

June 6, 2005

Mr. Alex Wljsenbeek  
H.B.A.GmbH  
45 La Vater Strasser  
CH8002 Zurich, Switzer1and

AE:Profile OI B10screenCOOOC

Dear Mr. Wlrsenbeek:

The Toxicology Group (TTG) has been working with H.B.A. for approximately 3 years to investigate Bioscreen COOOC and continue to assist in developing efficacy, stability and other necessary data to support product claims in particular end use areas to develop specific drstnbubon channels. TTG originally evaluated the product attributes particularly as they pertain to the requirements of the "Mn+m Arsk PestiCide" guidelines, as specified in US Environmental Protection Agency Federal Insecticide, Rodenticide, and Fungicide Act, Section 25 (b). As importantly, The Toxicology Group also determined that all substances incorporated in the mixture were determined to be Generally Regarded as Safe (G.R.A.S.) for addition to foods by the US-Food and Drug Administration (as specified in 21 CFR, 184.1257).

Based on a review of the ingredient profiles and these two regulatory affirmations, our scientific team of experts is confident that the nature and proprietary mixture of substances presented is viable and alternative to the many chemically based antimicrobials currently on the market today. Our multidisciplinary team of scientists including toxicologists, microbiologists, chemists, and engineers continue to generate and review efficacy and stability data on Bioscreen COOOC. This data includes product efficacy against various bacteria, fungi, and viruses. The product is tested both in its neat form and as a tincture. It has proven efficacious against a broad range of organisms in both forms.

The Toxicology Group, LLC  
7K9 Dr. Hurt Road • Ann Arbor, MI 48106  
Phone 313.761.1111 (24 hrs)  
Fax 313.761.1127  
E-mail: info@toxicologygroup.com

## Appendix 2

CONTINUATION DE L'ACTIVITE  
BACTERICIDE DU PRODUIT  
- BS 33 - (HBA)  
SelON LA NORME NF EN 137271

(20°C - 60 MINUTES - CONDITIONS DE SALETTE)

Rapport rédigé par : Virginie Charbonnier

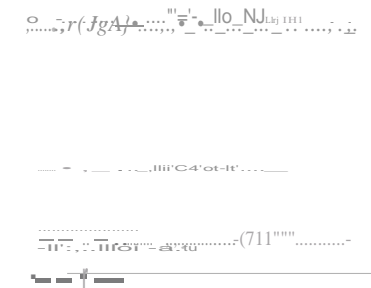
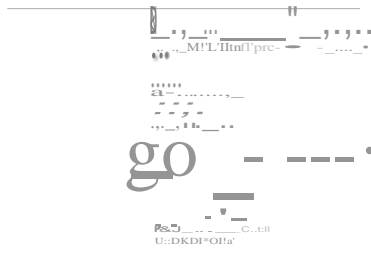
Marseille le : 21/04/2009

TABLE DES MATIERES

I. DESCRIPTION DE L'ETIQUETTE :

1) INDIQUER LE N° DE LA NORME NF EN 137271	
2) INDIQUER LE N° DE LA NORME NF EN 137271	
3) INDIQUER LE N° DE LA NORME NF EN 137271	

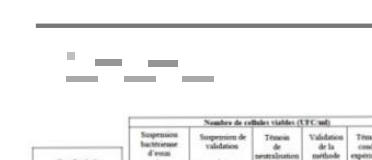
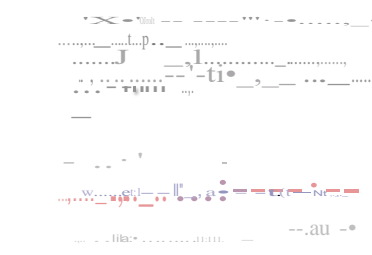
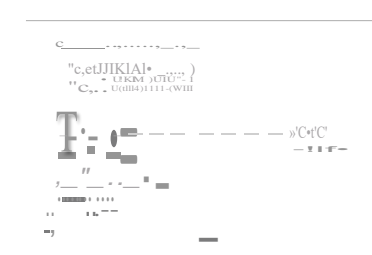
COEFFICIENT DE CORRECTION  
Cf = 1



Nom du produit :	BS 33 (HBA)
Statut de lot :	Non communiqué
Date de prescription :	18/07/08
Régionnement lot :	BS 33 (HBA) 08 1214
Coleur interne :	Blanche
Fabricant :	BIOTECH
Conditions de stockage :	Stocké à température ambiante
Substances actives :	Non communiqué



COEFFICIENT DE CORRECTION  
Cf = 1

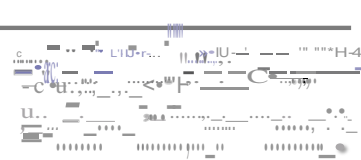
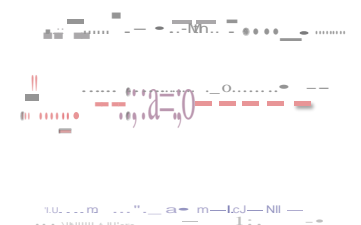


Souches test	Nombre de cellules viables (UFC/ml)					
	N <sub>1</sub>	N <sub>2</sub>	N <sub>3</sub>	N <sub>4</sub>	(B)	(A)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467	3,4 10 <sup>7</sup>	3,4 10 <sup>7</sup>	3,9 10 <sup>7</sup>	3,9 10 <sup>7</sup>	8,0 10 <sup>7</sup>	7,4 10 <sup>7</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 483	8,9 10 <sup>7</sup>	8,9 10 <sup>7</sup>	8,4 10 <sup>7</sup>	8,4 10 <sup>7</sup>	8,8 10 <sup>7</sup>	8,3 10 <sup>7</sup>
<i>Enterococcus faecalis</i> CIP 5855	4,7 10 <sup>7</sup>	4,7 10 <sup>7</sup>	1,1 10 <sup>7</sup>	1,1 10 <sup>7</sup>	1,1 10 <sup>7</sup>	1,0 10 <sup>7</sup>

a) Essai préliminaire de :

Souches test	Temps de contact	Nombre de cellules viables (UFC/ml) pour les concentrations :		
		C1 26,6% (v/v)	C2 33,33% (v/v)	C3 30,00% (v/v)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467	60 min	> 3,3 10 <sup>7</sup>	< 1,4 10 <sup>7</sup>	< 1,4 10 <sup>7</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 483	60 min	> 3,3 10 <sup>7</sup>	< 1,4 10 <sup>7</sup>	< 1,4 10 <sup>7</sup>
<i>Enterococcus faecalis</i> CIP 5855	60 min	< 1,4 10 <sup>7</sup>	< 1,4 10 <sup>7</sup>	< 1,4 10 <sup>7</sup>

Souches test	Temps de contact	Réduction (lgN <sub>0</sub> - lgN <sub>t</sub> ) du nombre de cellules viables pour les concentrations :		
		C1 26,6% (v/v)	C2 33,33% (v/v)	C3 30,00% (v/v)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467	60 min	< 4,3	> 5,4	> 5,4
<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 483	60 min	< 4,2	> 5,5	> 5,6
<i>Enterococcus faecalis</i> CIP 5855	60 min	> 5,2	> 5,5	> 5,5



COEFFICIENT DE CORRECTION  
Cf = 1

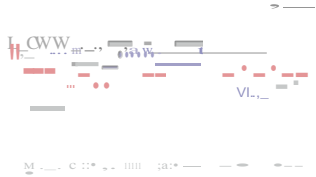




## Appendix 3

DETERMINATION DE L'ACTIVITE  
 BACTERICIDE DE BASE  
 DV PAODVIT "BS33" (BIOSCREEN)  
 SELON LA NORME  
 NF EN 1040"

Rapport rédigé par : Audrey BANCOD



TABIE DES MATIERES

1. IDENTIFICATION DE L'ÉCHANTILLON

2. MÉTHODE D'ESSAI ET SA VALIDATION

3. CONDITIONS D'UTILISATION

4. BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE

I - DESCRIPTION DE L'ÉTUDE

BIOTECH-GERMANDE

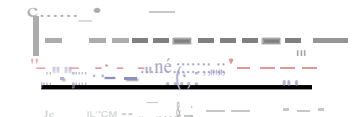
HBA SA  
 Recherche et Développement  
 Aline du Doublin  
 MEUS SAINT-DIZIER  
 Contact : Sébastien

Laboratoire BIOTECH GERMANDE  
 Parc Scientifique de Lancy  
 161 Avenue de Lancy - Case 917  
 51100 Montceau-Auxains

U. M. S.

tooo

t



CONCENTRATIONS

5 minutes à 20°C (11°C: 21 minutes)

W. M. S. (X. H. M. J. O. W. H. I. M. I. O. D.)

5 minutes à 20°C (11°C: 21 minutes)



#0

Souches-test	Nombre de cellules viables (UFC/ml)				
	Suppression bactérienne à 5 min	Suppression bactérienne à 10 min	Traitements de neutralisation (N)	Validation de la méthode (C)	Traitements des conditions expérimentales (A)
CDP10407	1.8 x 10 <sup>8</sup>	1.8 x 10 <sup>8</sup>	1.8 x 10 <sup>8</sup>	1.8 x 10 <sup>8</sup>	1.8 x 10 <sup>8</sup>
CDP483	1.8 x 10 <sup>8</sup>	1.8 x 10 <sup>8</sup>	1.8 x 10 <sup>8</sup>	1.8 x 10 <sup>8</sup>	1.8 x 10 <sup>8</sup>

CDP10407

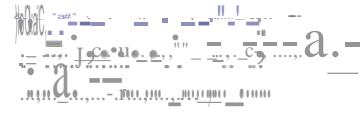
CDP483



Souches-test	Temps de contact	Nombre de cellules viables (UFC/ml) pour le mélange d'essai (N <sub>0</sub> ) pour les concentrations		
		24% (v/v)	20% (v/v)	10% (v/v)
Pseudomonas aeruginosa CDP 103467	5 minutes	< 1.4 x 10 <sup>8</sup>	2.3 x 10 <sup>8</sup>	> 3.3 x 10 <sup>8</sup>
Staphylococcus aureus CDP 483	5 minutes	1.8 x 10 <sup>8</sup>	> 2.8 x 10 <sup>8</sup>	> 3.3 x 10 <sup>8</sup>

Tableau III - Réduction du nombre de cellules viables, après un temps de contact de 5 minutes à 20°C, avec le produit "BS33" aux différentes concentrations testées.

Souches-test	Temps de contact	Réduction du nombre de cellules viables pour les concentrations		
		24% (v/v)	20% (v/v)	10% (v/v)
Pseudomonas aeruginosa CDP 103467	5 minutes	-5.2	5.8	-5.8
Staphylococcus aureus CDP 483	5 minutes	5.8	-4.8	-5.7



flow

BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE

Audrey BANCOD  
 Responsable essai

Christine AHDOP  
 Responsable Assurance Qualité

Lionel PINEAU  
 Directeur de laboratoire

BIOTECH-GERMANDE

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.

Logo of the company, featuring a stylized 'L' and 'G' with a red and black color scheme.



KAP 1046 119 BDA 07 1 x2



## Appendix 4



I>ETERMINATION DE L'ACTIVITE

I>U PAOI>UIT 'B533' (BIOSCAEEN)
LEVURICII>E IIE BASE

NF EN 1275(I)

Le présent rapport ne doit pas être reproduit, même dans une extrême limite, sans l'autorisation écrite de BIOTECH GERMANE
BIOTECH GERMANE
SARL au capital de 122 000 Euros N° SIRET : 421 801 419 00018 R.C.S. Marseille APE 7320B

.....UHSPKI>3

BIOTECH GERMANE

TABLE DES MATIERES

III - MATERIEL
a) Identification de l'échantillon
b) Conditions de culture

VI - RESULTATS
a) Essais préliminaires
b) Essais programmés

IX - BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE

Le présent rapport ne doit pas être reproduit, même dans une extrême limite, sans l'autorisation écrite de BIOTECH GERMANE
BIOTECH GERMANE
SARL au capital de 122 000 Euros N° SIRET : 421 801 419 00018 R.C.S. Marseille APE 7320B

BIOTECH GERMANE

R - I - >
K - S - >

dr:l>no...<1< " a TKY)
"")Mto-11H...fio.

IN-

l'lo>E Br.....

.....m 4.

Le soc...DC...TH RE-9H1.

.....>
.....>

Déterminer dans les conditions expérimentales, décrites dans le norme NF EN 1275(I), la capacité du produit "B533" (BIOSCAEEN) à réduire l'incubation de cellules viables, lorsque les souches testent les cellules orientées de Candida albicans CIP 4872.

N.....>
.....>

.....>
.....>

.....>
.....>

Le présent rapport ne doit pas être reproduit, même dans une extrême limite, sans l'autorisation écrite de BIOTECH GERMANE
BIOTECH GERMANE
SARL au capital de 122 000 Euros N° SIRET : 421 801 419 00018 R.C.S. Marseille APE 7320B

RAP 1275 559 HBA 07 v2



BIOTECH GERMANE

R - I - >

L...nooMNo...>
PHE-T-WOOD)

Concentration du neutralisant
r...>
s...>
(000000...>
S...>

E...>
Ap(H...>

Stimule à l'autoclave (121°C, 21 minutes)

C...>
T...>

T...>
.....>

a...>

L...>

RAP 1275 559 HBA 07 v2



BIOTECH GERMANE

R - I - >

T...>

Table with 5 columns: Suspension fongique d'essai, Suspension fongique de validation, Témoin de neutralisation (B), Validation de la méthode (C), Témoin des conditions expérimentales (A)

.....>
No...>

.....>
.....>

.....>
.....>

Le présent rapport ne doit pas être reproduit, même dans une extrême limite, sans l'autorisation écrite de BIOTECH GERMANE
BIOTECH GERMANE
SARL au capital de 122 000 Euros N° SIRET : 421 801 419 00018 R.C.S. Marseille APE 7320B

RAP 1275 559 HBA 07 v2



BIOTECH GERMANE

R - I - >

.....>

Table with 3 columns: Temps de contact, 24% (v/v), 20% (v/v), 10% (v/v)

.....>

Table with 3 columns: Temps de contact, 24% (v/v), 20% (v/v), 10% (v/v)

.....>

k...>

RAP 1275 559 HBA 07 v2



BIOTECH GERMANE

R - I - >

U...>
1...>

.....>

.....>

.....>

.....>

.....>

.....>

.....>

Christine AIL-DIP
Responsable Assurance Qualité

Loisel PINEAU
Directeur du laboratoire

Le présent rapport ne doit pas être reproduit, même dans une extrême limite, sans l'autorisation écrite de BIOTECH GERMANE
BIOTECH GERMANE
SARL au capital de 122 000 Euros N° SIRET : 421 801 419 00018 R.C.S. Marseille APE 7320B

----- a ----- "tll-----..--"  
-----  
T ----- "10 Pa" "0111"

----- a -----  
-----  
13 100.111 Pa .. PD -----

## Appendix 5










18

.....



**Table A4 – Norovirus titer, by Spaeman-Kärber method**

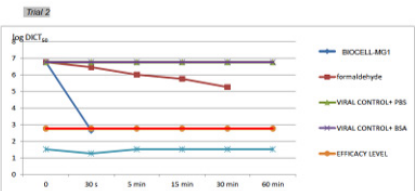
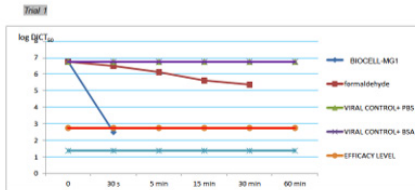
Log TCID<sub>50</sub> = 6,750

Dilution (-log)	Result	% positive results
-3	44444444	100,0
-4	44444444	100,0
-5	44444444	100,0
-6	44444444	100,0
-7	44000000	25,0
-8	00000000	0,0
-9	00000000	0,0
-10	00000000	0,0
Sum of the % of positives cultures		425,0

**Table A5 – Results on norovirus in clean conditions (0.3 g/l BSA)**

Product	Concentration	ORGANIC SOIL LOAD	CYTOTOXICITY LEVEL	Log TCID <sub>50</sub>						Reduction	
				0	30 s	3 min	15 min	30 min	60 min		
BIOCELL-MG1 TRIAL 1	80.00%	0.3 g/l BSA	1.375	6.750	2.500	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	30 s	R = 4,250
				0	30 s	3 min	15 min	30 min	60 min		
				0	30 s	3 min	15 min	30 min	60 min		
BIOCELL-MG1 TRIAL 2	80.00%	0.3 g/l BSA	1.500	6.750	2.625	N.T.	N.T.	N.T.	30 s	R = 4,123	
				0	30 s	3 min	15 min	30 min	60 min		
				0	30 s	3 min	15 min	30 min	60 min		
Formaldehyde TRIAL 1	0.70%	PBS	1.875	6.750	N.T.	6.125	5.825	5.375	N.T.		
Formaldehyde TRIAL 2	0.70%	PBS	1.625	6.750	N.T.	6.000	5.750	5.250	N.T.		
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 1	N.A.	PBS	N.A.	6.750	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	6.750		
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 1	N.A.	0.3 g/l BSA	N.A.	6.750	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	6.750		
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 2	N.A.	PBS	N.A.	6.750	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	6.750		
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 2	N.A.	0.3 g/l BSA	N.A.	6.750	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	6.750		
CELL SENSITIVITY TO THE VIRUS	10 <sup>1</sup>	N.A.	Untreated cells	6.750							
		N.A.	Treated cells	6.250							

**Chart 2 – Trials on Norovirus, graphic representation of the results obtained**



**Table A6 – Raw results for trials 1 and 2**

Product	Concentration	ORGANIC SOIL LOAD	EXPOSURE TIME	Dilutions									
				-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	
BIOCELL-MG1 TRIAL 1	97.00%	0.3 g/l BSA	30 s	4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000
				4444	4400	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000
BIOCELL-MG1 TRIAL 2	80.00%	0.3 g/l BSA	18.00%	4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
BIOCELL-MG1 cytotoxicity	97.00%	0.3 g/l BSA	N.A.	4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
Formaldehyde TRIAL 1	0.70%	PBS	5	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4400	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4400	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4400	0000	0000
Formaldehyde TRIAL 2	0.70%	PBS	N.A.	4444	4440	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 1	N.A.	PBS	0	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4400	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4400	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4400	0000	0000
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 2	N.A.	0.3 g/l BSA	60	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4400	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4400	0000	0000
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4400	0000	0000

**Table A7 – Results on Poliovirus in clean conditions (0.3 g/l BSA)**

Product	Concentration	ORGANIC SOIL LOAD	EXPOSURE TIME	Dilutions										
				-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9		
BIOCELL-MG1 TRIAL 1	97.00%	0.3 g/l BSA	30 s	4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
BIOCELL-MG1 TRIAL 2	80.00%	0.3 g/l BSA	30 s	4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
BIOCELL-MG1 TRIAL 2	97.00%	0.3 g/l BSA	VIRAL CONTROL	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
Formaldehyde TRIAL 1	0.70%	PBS	N.A.	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	
				4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
				4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
Formaldehyde TRIAL 2	0.70%	PBS	5	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
Formaldehyde TRIAL 1	0.70%	PBS	15	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 1	N.A.	PBS	30	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	0000	
Formaldehyde TRIAL 1	0.70%	PBS	N.A.	4444	4400	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
				4444	4444	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000		
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 1	N.A.	PBS	0	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 2	N.A.	0.3 g/l BSA	60	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	
				4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000	

**Sensitivity of the cells to the Norovirus**

PRODUCT	Dilution	Organic soil load	Dilutions									
			-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9			
BIOCELL-MG1	10 <sup>1</sup>	0.3 g/l BSA	Untreated cells	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000
			Treated cells	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000
			Treated cells	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4440	0000	0000

**Table A8 – Results on Poliovirus in clean conditions (0.3 g/l BSA)**

Product	Concentration	ORGANIC SOIL LOAD	CYTOTOXICITY LEVEL	Log UFP/ml						Reduction
				0	1 min	5 min	15 min	30 min	60 min	
BIOCELL-MG1 TRIAL 1	97.00%	0.3 g/l BSA	1.576	6.667	2.455	N.T.	N.T.	N.T.	1 min	R = 4,213
				0	1 min	5 min	15 min	30 min	60 min	
				0	1 min	5 min	15 min	30 min	60 min	
BIOCELL-MG1 TRIAL 2	97.00%	0.3 g/l BSA	1.437	6.667	2.416	N.T.	N.T.	N.T.	1 min	R = 4,251
				0	1 min	5 min	15 min	30 min	60 min	
				0	1 min	5 min	15 min	30 min	60 min	
Formaldehyde TRIAL 1	0.70%	PBS	0.450	6.667	6.454	5.267	3.256			
Formaldehyde TRIAL 2	0.70%	PBS	0.481	6.667	6.341	5.307	2.955			
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 1	N.A.	PBS	N.A.	6.671	N.T.	N.T.	6.677			
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 1	N.A.	0.3 g/l BSA	N.A.	6.668	N.T.	N.T.	6.669			
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 2	N.A.	PBS	N.A.	6.682	N.T.	N.T.	6.683			
VIRAL CONTROL OF INFECTIVITY TRIAL 2	N.A.	0.3 g/l BSA	N.A.	6.685	N.T.	N.T.	6.682			
CELL SENSITIVITY TO THE VIRUS	10 <sup>1</sup>	N.A.	Untreated cells	6.664						
		N.A.	Treated cells	6.334						

**Table A9 – Raw results for trials 1 and 2**

Product	Concentration	ORGANIC SOIL LOAD	EXPOSURE TIME	Dilutions					
				-1	-2	-3	-4	-5	-6
BIOCELL-MG1 TRIAL 1	97.00%	0.3 g/l BSA	1 min	31	4	0	0	0	0
				28	3	0	0	0	
				25	3	0	0	0	
BIOCELL-MG1 TRIAL 1									



VIRALCO!mt.OL  
Of 11jiiCII\ITY

NA

|||

00

000

00

?

?

00

?

000

||

!

!!!

00

S

V'mALCONnOt.  
Of U.TECJ\ITY

NA

0.Jol

|||

00

000

00

?

000

||

?

<70

||

!

???

00

S

File 53002000001  
Report R2019990A1

28072020  
Page 25/26

Ce rapport ne concerne que l'échantillon soumis à l'analyse. Reproductions partielles interdites sans l'accepté d'Analytica. Seul le rapport original fait foi.  
F.411 - V3 - 03/04/2009

FUco  
M On'tttMI

;

, <t

01121:W  
P-26121

F.f). Y2-n WXIQI

## Appendix 6



THE TOXICOLOGY GROUP, LLC

A Wholly Owned Company of NSF International

The Toxicology Group, LLC has been pleased to be a partner with HBA in their quest to provide an alternative antimicrobial solution and look forward to continuing to work with them on developing the technology to its fullest.

Sincerely,



Maryann Sanders  
Senior Scientist

The Toxicology Group, LLC  
A Wholly Owned Company of NSF International  
7K9 Oshtemo Road • Ann Arbor • MI 48105  
Phone: (800) 616-6175  
Fax: (734) 27-1711  
[www.toxgroup.org](http://www.toxgroup.org)

THE TOXICOLOGY GROUP, LLC

A Wholly Owned Company of NSF International

Based on the testing performed to date, it is our opinion that the Bioscreen COOOC is a viable antimicrobial alternative for many situations where chemical sanitizers are currently employed. It offers the industry a unique natural product that can be classified as a:

- Minimum risk pesticide (per US-EPA)

Contains:

- All Generally Recognized as Safe ingredients (as specified in 21CFR, 184.1257)

Has:

- Antimicrobial capabilities

And is

- Biodegradable.

For reference included here is a chart, which compares the key performance advantages of Bioscreen COOOC to two other primary disinfectants.

Agent	Sodium & Calcium Hypochlorite	Quaternary Ammonium Compounds	Bioscreen COOOC
Performance	Moderate	Moderate to high	Moderate
Contact time	Minutes	Minutes	Minutes to Hours
pH	Alkaline	Acidic to neutral	Acidic
Corrosiveness	Corrosive to iron and aluminum	Corrosive to iron, copper and brass	Noncorrosive
Source	Chemical	Chemical	Natural
Antimicrobial Performance	Broad spectrum (Bacterial, Viral, Fungal)	Broad spectrum (Bacterial, Viral, Fungal)	Broad spectrum (Bacterial, Viral, Fungal)
Environmental Attributes			Biodegradable
Regulatory Status	Registered Pesticide	Registered Pesticide	Generally Recognized as Safe Minimum Risk Pesticide

The Toxicology Group, LLC  
A Wholly Owned Company of NSF International  
7K9 Oshtemo Road • Ann Arbor • MI 48105  
Phone: (800) 616-6175  
Fax: (734) 27-1711  
[www.toxgroup.org](http://www.toxgroup.org)

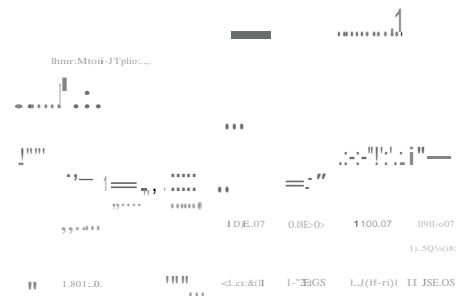
## Appendix 7

METHODOLOGY

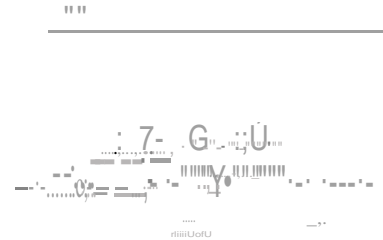
Yield (%) of ...



PO-Mid M ...



Tank 1, 2, 3 ...



TEST REPORT

Efficacy Testing of

Antimicrobial Filter Treatments

RUJA, GM81

Client Number: OOM  
Program:  
Contracting Organization: ...

Operator: ...  
Date: ...

Study Director: Robert Donofrio Date: 1-10-05

TTG Review: ... Date: 1/10/05

THE TOXICOLOGY GROUP, LLC  
1780 ...



Robert S. Donofrio, M.S., Ph.D. Candidate Director of Microbiology

STUDY DIRECTOR:

Professional personnel involved:

Robert S. Donofrio, B.S.

Tamara Charniakaya, B.S. Associate Microbiologist

Microbiology Technician

SA



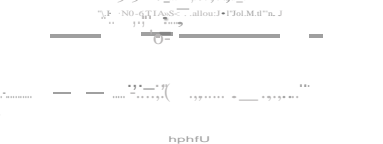
AS/O'CU ...

III ...

ch/ ...

The ...

THE TOXICOLOGY GROUP, LLC



Bio-screens COOK (powder suspension) at 10 ...

810- ...

RESULTS AND DISCUSSION

file...tillo...mq/ 1- Nm'WlOirJfetÜlllk...WMdliV. UPfN--00...  
 WHce-COOOCpowM '-llM  
 ...e'llceJollo...e.6- <Chou period.w.dIT.W.L  
 llllllllll

...MHOiScP...  
 ...91-1'111111110urs(ROUL...  
 CqB-ChOOCl...  
 M

JahfIMJ>act...\*

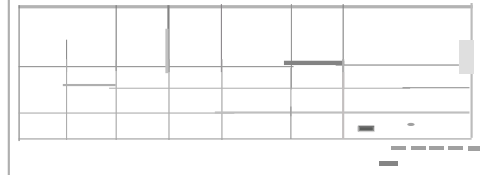
**THE TOXICOLOGY GROUP, LLC**  
 A Wholly Owned Company of NSF International  
 789 Discovery Road • Ann Arbor, MI • 48106 • USA  
 (734) 769-8010 • 800.873.6275 (toll free) • 734.769.0100 (fax)  
 E-mail: [info@toxgroup.com](mailto:info@toxgroup.com) • [www.toxgroup.com](http://www.toxgroup.com)

NSF THE TOXICOLOGY GROUP, LLC  
 A Wholly Owned Company of NSF International  
 789 Discovery Road • Ann Arbor, MI • 48106 • USA  
 (734) 769-8010 • 800.873.6275 (toll free) • 734.769.0100 (fax)  
 E-mail: [info@toxgroup.com](mailto:info@toxgroup.com) • [www.toxgroup.com](http://www.toxgroup.com)



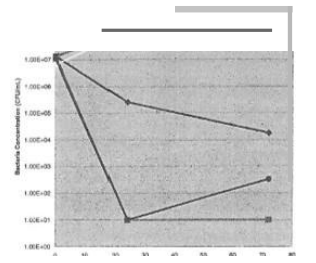
**THE TOXICOLOGY GROUP, LLC**  
 A Wholly Owned Company of NSF International  
 789 Discovery Road • Ann Arbor, MI • 48106 • USA  
 (734) 769-8010 • 800.873.6275 (toll free) • 734.769.0100 (fax)  
 E-mail: [info@toxgroup.com](mailto:info@toxgroup.com) • [www.toxgroup.com](http://www.toxgroup.com)  
 This report is rendered upon the conditions that it can only be reproduced in part for advertising or other purposes without our signature or in connection with our name without express permission in writing.  
 Page 6 of 13

NSF THE TOXICOLOGY GROUP, LLC  
 A Wholly Owned Company of NSF International



Log reduction	Bio-screen C100C 1 g	Bio-screen C100C 5 g	Uncoated filter support (9.1 cm²)	Filter support coated with Bio-screen C100C (9.1 cm² = 1%)	Uncoated filter support (45.5 cm²)	Filter support coated with Bio-screen C100C (45.5 cm² = 5%)	Control
24 hours	1.74	>6.13	*	>6.01	*	>6.04	*
72 hours	2.88			>6.01	*	4.52	*

ix.oov ?P,tu;  
 ...  
 ...





00000  
.....  
0  
1

\_\_\_\_\_

## Appendix 8

