



Firewall®
Rapport d'étude et
d'essais – SARS-CoV-2

Réduction du SARS-CoV-2 par le dispositif de purification de l'eau Waterlogic Firewall®

Kelly R. Bright, Ph.D.

Professeur de recherche associé

Charles P. Gerba, Professeur

The Water & Energy Sustainable Technology
(WEST) Center

University of Arizona

6 novembre 2020



Entreprise : le dispositif de purification de l'eau Firewall™ de Waterlogic

Organisme à l'essai : SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020 (BEI Resources NR-52281)

Matrice d'essai :
Eau du robinet déchlorée

Conditions d'essai :
Température ambiante (22,3°C)

Concept expérimental

La capacité à inactiver le SARS-CoV-2 dans l'eau du robinet par deux dispositifs de purification de l'eau Firewall™ de Waterlogic a été évaluée au travers de deux essais distincts.

1. Remplissage du réservoir du dispositif avec un litre d'eau désionisée stérile. Branchement et allumage de l'appareil ; écoulement de 0,75 litre. L'eau récupérée a été jetée et le réservoir vidé. Cette étape visait à préparer l'appareil (éliminer l'air présent dans la tuyauterie) et à remplir le réservoir interne (d'une capacité de 0,39 litre).
2. Ajout de 1 ml de souche virale contenant approximativement $1,0 \times 10^8$ TCID50 de l'échantillon SARS-CoV-2, Isolate USA-WA1/2020 (BEI Resources NR-52281) dans une bouteille de 1 litre d'eau du robinet stérile et déchlorée, avant mélange complet.
3. Remplissage du réservoir avec le contenu intégral de la bouteille.
4. Prélèvement de trois échantillons de 30 ml dans le réservoir, dans des tubes coniques (échantillons d'affluent A, B et C).
5. Écoulement de 0,5 litre d'eau dans un bac pour évacuation (pour vidanger le réservoir interne de 0,39 litre et s'assurer que l'eau distribuée pour l'essai contient la souche virale).
6. Remplissage de tubes coniques stériles de 50 ml avec trois échantillons d'effluent de 30 ml (échantillons d'effluent A, B et C).

7. Inoculation de l'intérieur de la buse du robinet du distributeur avec un écouvillon en polyester stérile trempé dans une souche virale contenant $6,3 \times 10^6$ TCID50/ml de SARS-CoV-2. Imprégnation de l'intérieur de la bouche du robinet. L'écouvillon a été introduit aussi loin que possible dans la robinetterie et frotté par des mouvements d'aller et retour. (La tête du boîtier Firewall est conçue et dessinée de manière à ce que la lampe UV chasse l'eau du robinet du distributeur. À un peu plus d'un centimètre à l'extérieur de la buse, la dose d'UV mesurée est de 12 uW-Sec/cm²).
8. Distribution d'un volume de 10 ml d'eau depuis l'unité (pour autoriser une exposition de la buse à la lumière UV).
9. Trempage d'un écouvillon en polyester stérile dans un tube à capuchon contenant 1 ml de solution saline tamponnée au phosphate (PBS) et frottis à l'intérieur de la buse du robinet. Remise de l'écouvillon dans le tube ; découpe de la partie excédentaire de la tige en bois pour pouvoir refermer le tube.
10. Mélange au vortex du tube pendant 30 secondes pour éluer le virus, puis retrait et élimination aseptiques de l'écouvillon (cette solution était donc le prélèvement « Buse »).

Rassemblement et analyse des échantillons :

Appareil #1 – Affluent A
Affluent B
Affluent C
Effluent A
Effluent B
Effluent A
Buse

Appareil #2 – Affluent A
Affluent B
Affluent C
Effluent A
Effluent B
Effluent A
Buse

11. Les concentrations virales de chaque échantillon neutralisé ont été quantifiées à l'aide de la méthode Reed-Muench (Payment et Trudel 1993) pour déterminer la dose infectieuse de culture tissulaire affectant 50 % des cupules (TCID50). L'analyse a été réalisée sur des plaques de culture de 96 cupules contenant des cultures monocouches de cellules Vero E-6 (ATCC# CRL-1586). Avant l'analyse, les cellules Vero E-6 ont été délicatement rincées à deux reprises dans du milieu essentiel minimum (MEM). Les plaques à 96 cupules ont ensuite reçu les échantillons dilués (6 cupules recevant chacune 100 microlitres par dilution). Des flasques contenant des échantillons de 1 ml (flasques de 25 cm²) et de 10 ml (flasques de 75 cm²) ont aussi été incluses pour abaisser la limite de détection de l'analyse. Les plaques/flasques ont été incubées dans une atmosphère de 5 % de CO₂ pendant une heure, à 37°C, pour permettre aux particules du virus de s'adsorber sur les cellules.

Note : chaque plaque de 96 cupules contenait aussi au minimum 6 cupules de témoin négatif remplies de cellules uniquement (pas de virus) avec 100 microlitres de MEM.

12. Après cette période d'incubation, 85 microlitres de MEM contenant 2 % de sérum de veau fœtal (SVF) ont été ajoutés dans chaque cupule, 7 ml ont été ajoutés dans les flasques de 25 cm² et 20 ml dans les flasques de 75 cm². Les plaques/flasques ont alors été incubées dans une atmosphère de 5 % de CO₂ pendant 7 jours, à 37°C.

13. L'apparition d'effets cytopathiques viraux (ECP) a été contrôlée chaque jour à l'aide d'un microscope inversé. Les cellules inoculées ont été comparées aux témoins négatifs de la même plaque de 96 cupules, pour différencier les ECP affectant les cellules saines. Des flasques de témoin négatif ont aussi été reprises dans l'analyse. Tout ECP observé dans les 24 heures d'incubation était considéré comme provoqué par cytotoxicité (en raison de la sensibilité des cellules à l'eau du robinet), les ECP développés par le SARS-CoV-2 apparaissant généralement après +/- 2 jours. Les cupules dans lesquelles des ECP ont été observés après 2 jours étaient considérées positives pour la croissance virale.

Note : aucun développement d'ECP n'a été constaté dans les témoins négatifs.

14. Après la période d'incubation, le TCID50 par échantillon a été déterminé. Six cupules par dilution ont été utilisées pour garantir la précision de l'analyse. La plus forte dilution pour laquelle 50 % des cupules ou plus étaient positives a été utilisée pour déterminer le TCID50 du virus par coupon d'après la méthode décrite par Payment et Trudel (1993).

15. Les données ont été rapportées sous forme de réduction logarithmique selon la formule $-\log_{10}(\text{Neff}/\text{Naff})$, où Naff était la concentration moyenne de SARS-CoV-2 récupérée dans les échantillons d'affluent et Neff la concentration de SARS-CoV-2 récupérée dans les échantillons d'effluent.

16. Un test t a été utilisé pour comparer statistiquement les quantités de virus récupérées des échantillons d'affluent (pas d'UV) et d'effluent (ayant été exposés à la lumière UV). Les réductions étaient réputées statistiquement significatives si la valeur P obtenue était $\leq 0,05$.

17. Le pourcentage moyen de réduction a lui aussi été calculé. Le rapport entre la réduction \log_{10} et le pourcentage de réduction est illustré au Tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1. Élimination \log_{10} par rapport au pourcentage de réduction.

Log ₁₀ élimination	Pourcentage de réduction (%)
1	90
2	99
3	99,9
4	99,99
5	99,999
6	99,9999

Références

Payment P, Trudel M. (1993) Isolation and identification of viruses. In Methods and Techniques in Virology. Payment P, Trudel M (eds.), p. 32–33. New York : Marcel Dekker Inc.

Résultats

Les résultats des essais sont affichés aux Tableaux 2 et 3 ci-dessous.

Tableau 2. Réduction du SARS-CoV-2 par le dispositif de purification de l'eau Waterlogic Firewall™.

Appareil	Réduction Log ₁₀ * par échantillon d'effluent	Réduction Log ₁₀ moyenne ± ET	Pourcentage de réduction moyen
Unité 1	> 5,67		
	> 5,67	>5,67 [†] ± 0,00	>99,99979
	> 5,67		
Unité 2	> 5,89		
	> 5,89	>5,89 [†] ± 0,00	>99,99987
	> 5,89		

* La moyenne des trois échantillons d'affluent était de $1,86 \times 10^5$ TCID₅₀/ml et de $3,10 \times 10^5$ TCID₅₀/ml pour l'unité #1 et l'unité #2, respectivement. Les réductions log₁₀ dans les échantillons d'effluent ont été calculées sur la base de ces valeurs.

ET = écart type

[†] Les réductions dans les échantillons traités étaient statistiquement significatives ($P \leq 0,05$) en comparaison avec les échantillons d'affluent (pas de traitement UV).

Tableau 3. Réduction du SARS-CoV-2 au niveau de la buse du robinet de distribution du dispositif de purification de l'eau Waterlogic Firewall™.

Appareil	Estimation de la réduction Log ₁₀ *	Pourcentage de réduction
Unité 1	3,20 à 3,70	99,94 à 99,98
Unité 2	> 3,20 à > 3,70	> 99,94 à > 99,98

* On estime que 100 microlitres de l'inoculum de la souche virale contenant $6,3 \times 10^5$ TCID₅₀ ont été transférés de l'écouvillon sur la buse. Selon une efficacité de récupération estimée comme allant de 10 % (perte de 1,0 log₁₀) à 31,6 % (perte de 0,5 log₁₀) de SARS-CoV-2 sur la buse à l'aide d'un écouvillon trempé dans de la PBS, on estime qu'une quantité de virus de $6,3 \times 10^4$ à $2,0 \times 10^5$ doit être récupérée sans exposition aux UV. La réduction log₁₀ et le pourcentage de réduction dans les échantillons de la buse ont été calculés selon ces fourchettes d'estimation.



Discussion

Aucune particule infectieuse de SARS-CoV-2 n'a été récupérée dans l'ensemble des échantillons d'effluent après traitement par l'un ou l'autre des appareils de purification de l'eau Waterlogic Firewall™ soumis à l'essai.

La concentration virale était donc inférieure aux limites de détection de notre analyse ($3,98 \times 10^{-1}$ TCID₅₀/ml) dans tous les échantillons d'effluent. Cela correspondait à une réduction $\log_{10} > 5,67$ pour le test impliquant l'unité #1, et à une réduction $\log_{10} > 5,89$ pour l'unité #2. Ces valeurs de réduction étaient statistiquement significatives en comparaison avec les échantillons d'affluent ($P = 1,4 \times 10^{-5}$ et $1,9 \times 10^{-7}$, respectivement).

Par ailleurs, la dose approximative d'UV de 12 uW-Sec/cm² au niveau de la buse du robinet du Waterlogic Firewall™ a entraîné une réduction des particules infectieuses de SARS-CoV-2 appliquées par frottis sur la buse. Ce test visait à simuler une situation dans laquelle un individu malade éternue ou tousse à proximité de l'appareil. Des réductions \log_{10} estimées à 3,20 à >3,70 ont été observées au niveau de la buse ; toutefois, une partie du virus présent sur les buses a pu s'échapper dans les prélèvements de 10 ml qui ont été éliminés lors du processus de récupération des échantillons.

Better thinking, better water, better for you, better for the planet™

Chez Waterlogic, tout commence par notre réflexion à propos de l'eau. Chaque goutte d'eau Waterlogic dissimule des années de savoir, d'innovation et d'expérience pour proposer une eau purifiée et savoureuse de la façon la plus sûre et la plus durable qui soit.

Nous concevons, fabriquons, distribuons, installons et entretenons nos propres fontaines à eau pour vous garantir une qualité de produit irréprochable, mais aussi une gamme de consommables et d'accessoires, sans oublier un service Total Care à la réactivité inégalée.

Contactez-nous sans plus attendre pour en savoir plus sur Waterlogic et découvrir la solution qui vous convient.

Téléphone +32 (0)2 556 37 97

E-mail info@waterlogic.be

Web www.waterlogic.be

