

Messung der Virus-Inaktivierung durch das NORDICCO Northern Light-System

UVC-Lichtquellen in die Rotorblätter eines HVLS-Deckenventilators integriert



INSTITUTE



DANISH TECHNOLOGICAL INSTITUTE

Messung der Virus-Inaktivierung durch das NORDICCO Northern Light-System

UVC-Lichtquellen in die Rotorblätter eines HVLS-Deckenventilators integriert

Erarbeitet für:

Nordicco A/S Karetmagervej 23 DK-7000 Fredericia

Erarbeitet von:

Teknologisk Institut Gregersensvej 1 DK-2630 Taastrup Energy Efficiency and Ventilation

Juni 2021, 1. Ausgabe Autoren: Christian Nicolai Nielsen, Merete Lyngbye, Helle Stendahl Andersen



1. Zusammenfassung

Bericht über den physischen Test eines Nordicco Northern Light HVLS-Deckenventilators auf seine Fähigkeit, Luft durch UVC-Licht zu desinfizieren. Der Northern Light HVLS-Deckenventilator (3 m Durchmesser) wurde in einem großen Raum (665 m³) getestet, der mit MS2-Virus-Aerosol gefüllt war, getestet. Unseres Wissens ist dies das größte kontrollierte Experiment zur Analyse der Inaktivierung von luftübertragenen Viren durch UVC-Licht. Die Virusreduktion wurde in zwei einstündigen Versuchen in dem Raum gemessen; einmal mit eingeschaltetem UV-Licht und einmal mit ausgeschaltetem UV-Licht. Nach 15 Minuten betrug die MS2-Viruskonzentration ohne UV-Licht 75% und bei eingeschaltetem UVC-Licht 5% im Verhältnis zur Konzentration bei Versuchsbeginn. Bei einem Vergleich der UVC-Empfindlichkeit von MS2 mit der von SARS-CoV-2 hätte das Northern Light-System laut der Mehrzahl der den Autoren dieses Berichts bekannten publizierten Artikel sehr wahrscheinlich noch eine höhere Inaktivierungswirkung. Soweit wir wissen, ist dies das wirksamste System für die Desinfektion und Verteilung großer Luftmengen bei Anwesenheit von Personen im Raum.

2. Hintergrund

Licht dient seit 1904 zur Desinfektion, als der färöisch-dänische Arzt Niels Ryberg Finsen den Nobelpreis für die Behandlung von Hauttuberkulose mit Licht erhielt. Seither haben Universitäten in aller Welt die Inaktivierung von Bakterien und Viren durch Licht und UV-Licht untersucht. UV-Licht ist mit bloßem Auge nicht sichtbar und durch sein Spektrum klassifiziert. UV-Strahlung wird bei Wellenlängen von 315-380 nm als UVA bezeichnet, bei 280-315 nm als UVB und bei 200-280 nm als UVC. Abb. 1 zeigt eine Lampe, die Licht im UVC-Spektrum ausstrahlt.







Untersuchungen ergaben, dass UVC-Licht luftübertragene Viren, einschließlich der menschlichen Coronaviren [1], wirksam inaktivieren. Zahlreiche unabhängige Untersuchungen bewiesen auch, dass UVC-Licht einer bestimmten Dosis 99.9% des Coronavirus [3] inaktivieren kann. Aus unserer Überprüfung veröffentlichter Untersuchungen. Eine Untersuchung prüfte 8 andere die UV-Beständigkeit betreffende Artikel und behauptet, dass die CoV-Familie wahrscheinlich empfindlicher gegenüber UV-Inaktivierung ist als MS2 [5], übereinstimmend mit den anderen Untersuchungen [2-4].

Abb. 2 veranschaulicht die Empfindlichkeit, Dosiswirkung, von MS2 und SARS-CoV-2 auf Grundlage der Daten aus zwei Sammlungen mehrerer Untersuchungen [4, 5]. Die Daten zeigen, dass SARS-CoV-2 wesentlich empfänglicher für UVC ist als das MS2-Virus. Als Beispiel: Nur 11 % von MS2 werden bei einer Dosis von 1 mJ/cm² inaktiviert, aber 46 % von SARS-CoV-2.



Die Gleichungen zur Berechnung der Dosiswirkung sind in Anhang B beschrieben.

Abb. 2 UVC-Empfindlichkeit (254 nm) verschiedener Virusarten.

High volume low speed (HVLS)-Deckenventilatoren sind mechanische Ventilatoren mit einer Größe von mehr als 2,1 m im Durchmesser. HVLS-Deckenventilatoren sind grundsätzlich an der Decke befestigt und drehen im Vergleich zu kleinen Lüftern langsam, während sie große Luftmengen bewegen.



3. Zweck

Versuch im Originalmaßstab der Wirksamkeit von Inaktivierung von luftübertragenen Viren durch einen HVLS-Deckenventilator mit nach oben gerichteten UVC-Lampen.

4. Methode

Das Experiment wurde in Originalgröße mit einem HVLS-Deckenventilator in einem Raum von 13,91 m Länge, 6,78 m Breite, und 7,05 m Höhe durchgeführt. Der HVLS-Deckenventilator mit integrierter UVC-Lichtquelle hat einen Durchmesser von 3 m und hängt von der Decke in einer Höhe von 4,64 m über dem Boden herab. Ein Bild und eine Zeichnung des Raums finden Sie in Abb. 3. Das Experiment besteht aus vier Versuchen, von denen die beiden letzten am selben Tag durchgeführt wurden, siehe Tabelle 1.

Versuch	Beschreibung	Partikelmessungen	Luftproben (Waschflaschen)	Datum
1	UVC-Licht	10-SekInterval,	Intervalle 0-10, 2-12, 4-14, 10-	2021-04-20
	ausgeschaltet	dauernd	20, 20-30, 30-40, 60-70 min	(20.04.2021)
2	UVC-Licht	10-SekInterval,	Intervalle 0-10, 2-12, 4-14, 10-	2021-04-27
	eingeschaltet	dauernd	20, 20-30, 30-40, 60-70 min	(27.04.2021)
3	UVC-Licht eingeschaltet	10-SekInterval, dauernd, Start nach 18 min	Intervalle 0-10, 2-12, 5-15, 10- 20, 20-30, 30-40, 60-70 min	2021-05-19 (19.05.2021)
4	UVC-Licht	10-SekInterval,	Intervalle 0-10, 2-12, 5-15, 10-	2021-05-19
	ausgeschaltet	dauernd	20, 20-30, 30-40, 60-70 min	(19.05.2021)

Tabelle 1 Ausgeführte Versuche

Vor jedem Versuch wurde der Raum geputzt und komplett mit Außenluft belüftet. Alle Fenster und Türen wurden 15-30 Minuten vor jedem Versuch geschlossen, um Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Luftbewegung im Raum zu stabilisieren. Der HVLS-Deckenventilator hatte bei jedem Versuch eine konstante Umdrehungsgeschwindigkeit 33,5 U/min ± 1,5 U/min. Der HVLS-Deckenventilator blies die Luft abwärts.



DANISH TECHNOLOGICAL INSTITUTE



Abb. 3 Links: Bild des Raums Rechts: Zeichnung und Probeentnahmestellen. Komplette Zeichnung in Anhang A.

Für das Experiment wurde Bacteriophage-MS2, gewöhnlich MS2-Virus genannt, verwendet. MS2-Virus enthält ein ssRNA- (Single Stranded Ribonucleic Acid) Genom ähnlich SARS-CoV-2 (Coronavirus) [5]. Das MS2-Virus wurde in einer Kühlbox, in einer SM-Buffer-Lösung transportiert, um es während des Transports zu schützen. Eine Palas AGK 2000-Nebelmaschine brachte das MS2-Virus (siehe Abb. 4) in einer Höhe von 1,1 m an der im Plan mit S2 bezeichneten Stelle aus. Vor und nach jedem Versuch wurde die Nebelmaschine mindestens 15 Minuten lang mit demineralisiertem Wasser gereinigt. Die Nebelmaschine wurde von einem ölfreien Kompressor mit 4-bar-Druckluft versorgt, der an der Nebelmaschine auf 2 bar gesenkt wurde. Eine Suspension mit Viruspartikeln wurde hergestellt und im Raum aerosoliert. Die Nebelmaschine vernebelte die Flüssigkeit mit der MS2-Suspension genau eine Stunde lang, wobei 20 ml der MS2-Suspension in die Raumluft abgegeben wurden, um die Viruskonzentration im Raum aufzubauen. Die Viruspartikel wandern durch eine Trocknungssäule spiralförmig nach oben und entwickeln einen kaum sichtbaren feinen Nebel. Der Nebel wird von einem horizontalen Luftstrom mit einer Geschwindigkeit von 1,2 m/Sek. vorangetrieben.

Lufttemperatur und relative Feuchte wurden mit einem NOVASINA HygroDat 100 (siehe Abb. 4) in einer Höhe von 1,1 m an dem mit T1 in der Zeichnung dargestellten Punkt gemessen (siehe Abb. 3).





Abb. 4 Links: Palas AGK 2000 Nebelmaschine mit demineralisiertem Wasser. Rechts: NOVASINA HygroDat 100.

Die Partikelkonzentration wurde in nach Größe getrennten Massefraktionen gemessen: PM₁, PM_{2,5}, lungengängig, PM₁₀, und die Gesamtmenge wurde mit einem DustTrak DRX 8533 in einer Höhe von 1,1 m an der mit P1 im Plan bezeichneten Stelle ermittelt (siehe Abb. 3). Ultrafeine Partikel wurden mit einem P-Trak 8525 in einer Höhe von 1,1 m, ebenfalls an Punkt P1 der Zeichnung, gemessen. P-Trak 8525 und DustTrak DRX 8533 sind in der rechten unteren Ecke von Abb. 5 zu sehen.





Abb. 5 Bild der Versuchsanordnung an der Messstelle P1. Von links nach rechts: Palas AGK 2000-Nebelmaschine, an einem Stahlstab hängend drei Waschflaschen und vier GilAir-Pumpen, auf dem Boden P-Trak 8525 und DustTrak DRX 8533.

Mit Glaswaschflaschen wurden Luftproben entnommen, um die Menge an aktivem MS2-Virus in der Luft festzustellen. Luft wird 10 Minuten lang mit einem Durchfluss von 4 l/min eingesaugt, sodass das erfasste Volumen 40 l \pm 1 l beträgt. Die Waschflaschen werden in der Kühlbox an das Labor zur Analyse geschickt.

Das Analyseverfahren des Labors zur Feststellung der MS2-Viruskonzentration wird hier beschrieben. Teilproben der Luft in der Kammer wurden genommen und die Viruspartikel in Waschflaschen gesammelt. Die Konzentration aktiver Viruspartikel wurde durch das Mischen von Verdünnungsreihen der Proben mit Wirtszellen quantitativ bestimmt, durch Ausbrüten das Wachstum nicht-infizierter Wirtszellen zulassend und die koloniebildenden Einheiten (pfu) zählend. Die Versuchsbedingungen werden in Tabelle 2 angeführt. Bilder des Labors und von zwei Agarplatten zeigt Abb. 6.

Tabelle 2 Versuchsbedingungen für die Luftreinigung.

Versuchsorganismus:	MS2 Bakteriophage, ATCC 15597-B1
Wirtsorganismus für MS-2:	Escherichia coli, ATCC 15597
Wachstumsbedingungen für das Auszählen von pfu:	Coliform agar bei 37±2°C für 18-24 h



Wachstumsbedingungen für den Wirtsorganismus: Probenentnahme und Dilutionslösung:

Probenvolumen (SM-Buffer):

Testsuspension zum Vernebeln:

Zuerst auf TSA-Platten, dann in TSB mit 250 U/min. bei 37±2°C für 20-24 h. SM-Buffer 60 ml pro Flasche SM-Buffer mit10₁₀ - 10₁₁ pfu/ml



Abb. 6 Links: Oberes Agar auf unteres Agar gießen. Oben rechts: Petrischale mit nicht-infektiösem Virus (pfu) Unten links: Petrischale mit mehreren infektiösen Viren (mehrere pfu).

5. Ergebnisse und Analyse

Die Lufttemperatur im Raum betrug während aller Versuche 21 °C \pm 1 °C. Relative Feuchte 25 % \pm 1 % bei den Versuchen 1 und 2 und 40 % \pm 1.5 % bei den Versuchen 3 und 4.

Die Ergebnisse der Luftpartikelproben sind auf Abb. 7 und 8 zu sehen. Alle roten Ergebnisse ohne UVC-Licht, alle blauen Ergebnisse mit eingeschaltetem UVC-Licht. Die Partikelkonzentrationen wurden vereinheitlicht, um die Messungen der vier Versuche vergleichen zu können. Die lineare Korrelation zwischen allen Versuchen ist sehr hoch \geq 0,95.





Abb. 7 Vereinheitlichte Partikelgesamtkonzentration, gemessen mit DustTrak DRX 8533.





Abb. 9 zeigt die Konzentration an aktivem MS2-Virus aus den Waschflaschen und im Labor analysiert. Alle Proben liegen innerhalb der normalen biologischen Variation. Der Messzeitraum für jede Probe betrug 10 min. Deshalb geben die Ergebnisse in Abb. 9 die Durchschnittswerte zehnminütiger Perioden wieder. Zum Beispiel für die Versuche.



1 und 4 ist die erste Probe bei 5 min die Entnahmezeit 0-10 min. Für die Versuche 2 und 3 wird das geometrische Mittel wegen der schnell abnehmenden Viruskonzentration verwendet.



Abb. 9 Rückgang des vereinheitlichten aktiven MS2-Viruses aus den Waschflaschenproben. Die rote Linie wurde aus Daten der beiden Versuche ohne UVC, Versuch 1 und 4 zusammengestellt, die blaue Linie aus Daten der beiden Versuche mit UVC, Versuch 2 und 3.

Der Rückgang der MS2-Viruskonzentration nach 10 Minuten beträgt 86 % (relativ zur Startkonzentration) mit ausgeschaltetem UVC-Licht und 9 % (relativ zur Startkonzentration) mit eingeschaltetem UVC-Licht. Nach 15 Minuten betrug die MS2-Viruskonzentration ohne UV-Licht 75% und bei eingeschaltetem UVC-Licht 5%.

6. Diskussion

Die Ergebnisse der Partikelmessungen zeigen einen deutlichen Zusammenhang zwischen den Versuchen, der verdeutlicht, dass die Versuche alle identisch durchgeführt wurden. Raumlufttemperatur und Feuchte waren stabil und paarweise nahezu identisch (Versuche 1 u. 2 und 3 u. 4), was ebenfalls auf gleichartige Versuchsbedingungen hinweist und daher Vergleiche zulässt. Die Messungen der MS2-Viruskonzentration lag ebenso innerhalb der normalen biologischen Variation. Eine Analyse der Probenkovarianz zwischen den Daten aus den Waschflaschen ohne UVC-Licht (Versuche 1 und 4) und mit UVC-Licht (Versuche 2 und 3) zeigte, dass die Differenz zwischen



mit und ohne UVC praktisch sicher (>99 %) ist. Die Viruskonzentration im Raum lag bei allen Proben über der Grenze, die verlässliche Daten ermöglicht.

Für ein wirklichkeitsnahes Szenario im Experiment befanden sich Virusquelle und Probeentnahmepunkt 0,8 m voneinander entfernt, entsprechend zwei an einem Tisch sitzenden Personen. Ebenso entsprach die Probeentnahmehöhe von 1,1 m der standardisierten theoretischen Durchschnittshöhe des Kopfes einer sitzenden Person.

Zu möglichen Fehlerquellen gehören: natürliches Eindringen, Belüftung durch Türöffnung, natürliches Licht von Oberlichtern und Fenstern, kleinere Fehler bei den Start- und Stoppzeiten der Pumpen, natürliche biologische Variation beim Zählen der aktiven Viruskonzentration und Partikelverunreinigung von Gegenständen.

Bei einem Vergleich der UVC-Empfindlichkeit von MS2 mit der von SARS-CoV-2 (siehe Abb. 2) hätte das System sehr wahrscheinlich noch eine höhere Inaktivierungswirkung des SARS-CoV-2 Virus gemäß der Mehrheit der gelesenen Artikel.

Unseres Wissens ist dies das größte Experiment zur Dokumentation der Inaktivierung von luftübertragenen Viren durch UVC-Licht.

7. Bewertung/Schlussfolgerung

Die Experimente zeigen, dass die MS2-Viruskonzentration nach 10 Minuten 86 % (relativ zur Startkonzentration) mit ausgeschaltetem UVC-Licht und 9 % (relativ zur Startkonzentration) mit eingeschaltetem UVC -Licht beträgt. Nach 15 Minuten betrug die MS2-Viruskonzentration ohne UV-Licht 75% und bei eingeschaltetem UVC-Licht 5%.



8. Quellen

[1] Buonanno, M., Welch, D., Shuryak, I. *et al.* Far-UVC light (222 nm) efficiently and safely inactivates airborne human coronaviruses. *Sci Rep* 10, 10285 (2020). <u>https://doi.org/10.1038/s41598-020-67211-2</u>

[2] Derraik, J.G.B.; Anderson, W.A.; Connelly, E.A.; Anderson, Y.C. Rapid Review of SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2 Viability, Susceptibility to Treatment, and the Disinfection and Reuse of PPE, Particularly Filtering Facepiece Respirators. *Int. J. Environ. Res. Public Health 17*, 6117 (2020). https://doi.org/10.3390/ijerph17176117

[3] Biasin, M., Bianco, A., Pareschi, G. *et al.* UV-C irradiation is highly effective in inactivating SARS-CoV-2 replication. *Sci Rep* 11, 6260 (2021). <u>https://doi.org/10.1038/s41598-021-85425-w</u>

[4] Adel Haji Malayeri, Madjid Mohseni, et al. Fluence (UV Dose) Required to Achieve Incremental Log Inactivation of Bacteria, Protozoa, Viruses and Algae. *UV Solutions Magazine*. (2016) <u>https://uvsolutionsmag.com/stories/pdf/archives/180301_UVSensitivityReview_full.pdf</u>

[5] Raeiszadeh M, Adeli B. A Critical Review on Ultraviolet Disinfection Systems against COVID-19 Outbreak: Applicability, Validation, and Safety Considerations. *ACS Photonics*. (2020) <u>https://doi.org/10.1021/acsphotonics.0c01245</u>



6780 Measurement units in millimeter Measurement sample height Impingers P1 1100 mm Virus source S1 1100 mm Temperature and relative humidity T1 1100 mm HVLS fan Diameter 3000 mm Height above floor 4640 mm 2982 600 1400 1985 15 P) ⊤1 ⊗ 800 13910 S1 400 3000 6787 Wall 1220

Anhang A – Grundriss des Raums

-11- 4.4





Anhang B – Ermittlung der k-Werte für das Dosiswirkungs-Schaubild

Die Dosiswirkung der beiden Untersuchungen [4, 5] ist in die obige Abbildung eingezeichnet. Dann ergibt sich der k-Wert durch Anwendung von der linearen Regression und Isolierung von *k* in den folgenden Gleichungen.

$$\log\left(\frac{n}{n_0}\right) = -kD\log(e) \Leftrightarrow$$

$$\log\left(\frac{n_0}{n}\right) = kD\log(e)$$

Die Dosiswirkung des dem UV-Licht Ausgesetztseins folgt folgender Gleichung (eingezeichnet in Abb.2):

$$\frac{n}{n_0} = e^{-kD}$$

Wobei:

n	Anzahl aktiver Organismen [L-1]
n0	Anfangszahl von Organismen [L ⁻¹]
k	UV-Empfindlichkeitsfaktor [cm2/mJ]
D	UV-Dosis [mJ/cm2]
Seite 15	



Measuring virus inactivation by the NORDICCO Northern Light system UVC light integrated in the fan blades of a HVLS fan



DANISH TECHNOLOGICAL INSTITUTE



DANISH TECHNOLOGICAL INSTITUTE

Measuring virus inactivation by the NORDICCO Northern Light system

UVC light integrated in the fan blades of a HVLS fan

Prepared for:

Nordicco A/S Karetmagervej 23 7000 Fredericia Denmark

Prepared by

Teknologisk Institut Gregersensvej 1 2630 Taastrup Energy Efficiency and Ventilation

June 2021, 1st edition Author: Christian Nicolai Nielsen, Merete Lyngbye, Helle Stendahl Andersen



1. Summary

This report covers the physical testing of a Nordicco Northern Light HVLS fan and its ability to disinfect air using UVC light. The Northern Light HVLS fan (3 m diameter) has been tested in a large room (665 m³) filled with aerosolized MS2 virus. To our knowledge, this is the largest controlled experiment conducted to analyze the inactivation of airborne viruses utilizing UVC light. The reduction of virus in the room has been measured in two pairs of trials during one hour with UVC lights either off or on. After 15 min the MS2 virus concentration is 75 % with UVC light turned off and 5 % with UVC turned on relative to the start concentration. Comparing the UVC light sensitivity of MS2 virus to SARS-CoV-2 virus the Northern Light system would very likely have an even higher inactivation of SARS-CoV-2 virus according to the majority of published articles known to the authors of this report. To our knowledge this is the most efficient system for disinfection and distribution of large air volumes while occupants are present in the room.

2. Background

Light has been used for disinfection since 1904 when the Faroese-Danish doctor Niels Ryberg Finsen won the Nobel prize for treating skin tuberculosis with light. Since then, universities worldwide have investigated inactivation of bacteria and viruses with light and ultraviolet (UV) light. UV light is invisible to the naked eye and is classified according to their light spectrum. UV radiation is classified as UVA at a wavelength of 315 – 380 nm, UVB at 280 – 315 nm, and UVC at 200 – 280 nm. Figure 1 shows a lamp radiating light in the UVC spectrum.





Studies have found that UVC light efficiently inactivates airborne viruses, including human coronaviruses [1]. Multiple independent studies have also proven that UVC light at a certain dosage can inactivate 99.9% of Coronavirus [3]. From our review of published studies, One study reviewed 8 other articles concerning UV resistance, suggesting that the CoV family is likely more sensitive to UV inactivation than MS2 [5] in agreement with the other studies [2-4].

Figure 2 illustrates the sensitivity, dose-response, of MS2 and SARS-CoV-2 based on data from two collections of multiple studies [4, 5]. The data shows that SARS-CoV-2 is significantly more receptive to UVC than the MS2 virus. As an example, only 11 % of MS2 is inactivated at a dose of 1 mJ/cm² compared to 46 % for SARS-CoV-2.



The equations for calculating dose response are explained in Appendix B.

Figure 2. UVC sensitivity (254 nm) for different types of viruses.

High volume low speed (HVLS) ventilators are a type of mechanical fan which is greater than 2.1 m in diameter. HVLS fans are generally ceiling mounted and move slowly compared to a small fan while distributing large amounts of air.

3. Purpose

Full-scale test of airborne virus inactivation efficacy using a HVLS fan equipped with upwards facing UVC-lights.



4. Method

The experiment was performed at full-scale with the HVLS fan installed in a room of length, width, height: 13.91 m, 6.78 m, and 7.05 m, respectively. The HVLS fan with integrated UVC lighting has a diameter of 3 m and is mounted from the ceiling at the height of 4.64 m above the floor. A picture and a plan drawing of the room can be seen on Figure 3. The experiment consists of four trials where the last two trials were performed the same day as seen on Table 1.

Trial	Description	Particle measurements	Air samples (impingers)	Date
1	UVC lights turned off	10 s interval, continuous	Intervals 0-10, 2-12, 4-14, 10- 20, 20-30, 30-40, 60-70 min	2021-04-20
2	UVC lights turned on	10 s interval, continuous	Intervals 0-10, 2-12, 4-14, 10- 20, 20-30, 30-40, 60-70 min	2021-04-27
3	UVC lights turned on	10 s interval, continuous, start after 18 min	Intervals 0-10, 2-12, 5-15, 10- 20, 20-30, 30-40, 60-70 min	2021-05-19
4	UVC lights turned off	10 s interval, continuous	Intervals 0-10, 2-12, 5-15, 10- 20, 20-30, 30-40, 60-70 min	2021-05-19

Before each trial, the room was swept clean and completely vented with outdoor air. All windows and doors were closed 15 - 30 min before each trial to stabilize the air temperature, relative humidity, and air movements in the room. The HVLS fan had a constant rotational speed of 33.5 rpm \pm 1.5 rpm during each trial. The rotational direction of the HVLS fan was set to blow air downwards.



DANISH TECHNOLOGICAL INSTITUTE



Figure 3. Left: Picture of the room. Right: plan drawing and sampling positions. The full-size plan drawing illustrated in appendix A.

Bacteriophage-MS2, commonly called MS2 virus was used for the experiment. MS2 virus contains a ssRNA (Single Stranded Ribonucleic Acid) genome similar to SARS-CoV-2 (coronavirus) [5]. The MS2 virus was transported in a cooler box in a SM buffer solution to make sure the virus is preserved during transport. A Palas AGK 2000 nebulizer was used to aerate the MS2 virus (see Figure 4) which was released at a height of 1.1 m located at S2 on the plan drawing. Before and after each trial the nebulizer was cleaned for at least 15 min with demineralized water. The nebulizer was supplied with 4 bar pressurized air from an oil-free air compressor which is reduced to 2 bar at the nebulizer. A suspension of virus particles was prepared and aerosolized in the room. The nebulizer was aerating liquid with MS2 virus suspension for exactly one hour releasing 20 mL of the MS2 virus suspension into the air to build up the virus concentration in the room. The virus particles travel up through a drying column in a spiral motion and emerge as a very fine mist which is barely visible. The mist is propelled forwards by a horizontal air stream with a velocity of 1.2 m/s.

Air temperature and relative humidity was measured using a NOVASINA HygroDat 100 (see Figure 4) at a measuring height of 1.1 m located at T1 on the plan drawing (see Figure 3).





Figure 4. Left: Palas AGK 2000 nebulizer with demineralized water. Right: NOVASINA HygroDat 100.

Particle concentrations were measured in size segregated mass fractions for PM₁, PM_{2.5}, respirable, PM₁₀ and total were measured with a DustTrak DRX 8533 at a measuring height of 1.1 m located at P1 on the plan drawing (see Figure 3). Ultrafine particles were measured with a P-Trak 8525 at a measuring height of 1.1 m also located at P1 on the plan drawing. The P-Trak 8525 and DustTrak DRX 8533 can be seen in the bottom right corner of Figure 5.





Figure 5. Picture of the experimental setup at sampling position P1. From left to right: Palas AGK 2000 nebulizer, hanging from a steel rod three impingers and four GilAir pumps, on the floor P-Trak 8525 and DustTrak DRX 8533.

Glass impingers were used to take air samples to determine the amount of active MS2 virus in the air. Air is sampled for 10 min at a flow rate of 4 L/min such that the sampled volume is 40 L \pm 1 L. The impingers are sent back to the laboratory in the cooler box for analysis.

The laboratory analysis procedure for determining the concentration of MS2 virus is described next. Subsamples of the air inside the chamber were taken and the virus particles were collected by using impingers. The concentration of active virus particles was quantified by mixing dilution series of the samples with the host cells, incubating to allow growth of non-infected host cells, and enumerating plague forming units (pfu). The experimental conditions are listed in Table 2. Pictures from the laboratory and two agar plates can be seen on Figure 6.

Table 2. Experim	nental conditions	s for air cleaning.
------------------	-------------------	---------------------

Test organism:	MS2 bacteriophage, ATCC 15597-B1
Host organism for MS-2:	Escherichia coli, ATCC 15597
Growth conditions for enumeration of pfu:	Coliform agar at 37±2°C for 18-24 h



Growth conditions for host organism:

Sampling and dilution solution: Sample volume (SM-buffer): Test suspension for aerosolization: First on TSA plates and then in TSB at 250 rpm. at 37±2°C for 20-24 h. SM buffer 60 mL per bottle SM buffer with 10¹⁰ - 10¹¹ pfu/mL



Figure 6. Left: Pouring top agar onto bottom agar. Top right: Petri dish with no infectious virus (plaque forming unit). Bottom left: Petri dish with multiple infections viruses (multiple plaque forming units).

5. Results and analysis

The air temperature in the room during all trials was 21 °C \pm 1 °C. Relative humidity was 25 % \pm 1 % during trials 1 and 2 and 40 % \pm 1.5 % during trials 3 and 4.

Results from air particle samples can be seen on Figures 7 and 8. All red colored results are with the UVC light turned off while all blue colored results are with the UVC light turned on. The particle concentrations have been normalized to compare measurements from the four different trials. The linear correlation between any of the trials is very high \geq 0.95.





Figure 7. Normalized total particle concentration measured with DustTrak DRX 8533.



Figure 8. Normalized ultrafine particle concentration measured with P-Trak 8525.

Figure 9 show the concentration of active MS2 virus sampled from the impingers and analyzed from the laboratory. All samples are within normal biological variation. The measuring period for each sample was 10 min. Therefore, the results on Figure 9 are the average of a 10 min period. For example, for trials



1 and 4 the first sample illustrated at 5 min is reflecting the sampling period 0 – 10 min. For trials 2 and 3 the geometric mean is used due to the rapidly declining virus concentration.



Figure 9. Regression of normalized active MS2 virus sampled from impingers. The red regression line is compiled of data for the two trials without UVC, trial 1 and 4 and the blue line is compiled of data for the two trials with UVC, trial 2 and 3.

From the regression functions, the MS2 virus concentration after 10 min is 86 % (relative to the start concentration) with UVC turned off and 9 % (relative to the start concentration) with UVC turned on. After 15 min the MS2 virus concentration is 75 % with UVC turned off and 5 % with UVC turned on.

6. Discussion

The results from the particle measurement shows a good correlation between the trials strongly indicates that all four trials have been performed identically. Room air temperature and moisture conditions were stable and pairwise close to identical (trials 1 & 2 and trials 3 & 4) which also suggests that the experimental conditions have been the same which justifies making comparisons. Measurements of the MS2 virus concentration were also within normal biological variation. An analysis of covariance between sampled data from impingers without UVC (trials 1 and 4) and with UVC (trials 2 and 3) showed that the



difference with and without UVC is virtually certain (>99 %). The concentration of virus in the room was for all samples above the detection limit to obtain reliable data.

To establish a realistic scenario for the experiment the distance between the virus source and sample point is 0.8 m corresponding to two persons sitting at a table. Similarly, the sample height of 1.1 m is the standardized theoretical average value for head height of a sitting sedentary person.

Possible sources of errors include: natural infiltration, ventilation due to door opening, natural light from skylights and windows, small errors with timing the start and stop of pumps, natural biological variation when counting the active virus concentration and particle pollution from subjects.

Comparing the UVC sensitivity of MS2 virus to SARS-CoV-2 virus (see Figure 2) the system would very likely have an even higher inactivation of SARS-CoV-2 virus according to the majority of read articles.

To our knowledge, it is the largest experiment to document airborne virus inactivation by UVC light.

7. Evaluation / conclusion

The experiments show that the MS2 virus concentration after 10 min is 86 % (relative to the start concentration) with UVC turned off and 9 % (relative to the start concentration) with UVC turned on. After 15 min the MS2 virus concentration is 75 % with UVC turned off and 5 % with UVC turned on.



8. References

[1] Buonanno, M., Welch, D., Shuryak, I. *et al.* Far-UVC light (222 nm) efficiently and safely inactivates airborne human coronaviruses. *Sci Rep* **10**, 10285 (2020). <u>https://doi.org/10.1038/s41598-020-67211-2</u>

[2] Derraik, J.G.B.; Anderson, W.A.; Connelly, E.A.; Anderson, Y.C. Rapid Review of SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2 Viability, Susceptibility to Treatment, and the Disinfection and Reuse of PPE, Particularly Filtering Facepiece Respirators. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **17**, 6117 (2020). https://doi.org/10.3390/ijerph17176117

[3] Biasin, M., Bianco, A., Pareschi, G. *et al.* UV-C irradiation is highly effective in inactivating SARS-CoV-2 replication. *Sci Rep* **11**, 6260 (2021). <u>https://doi.org/10.1038/s41598-021-85425-w</u>

[4] Adel Haji Malayeri, Madjid Mohseni, et al. Fluence (UV Dose) Required to Achieve Incremental Log Inactivation of Bacteria, Protozoa, Viruses and Algae. *UV Solutions Magazine*. (2016) <u>https://uvsolutionsmag.com/stories/pdf/archives/180301_UVSensitivityReview_full.pdf</u>

[5] Raeiszadeh M, Adeli B. A Critical Review on Ultraviolet Disinfection Systems against COVID-19 Outbreak: Applicability, Validation, and Safety Considerations. *ACS Photonics*. (2020) <u>https://doi.org/10.1021/acsphotonics.0c01245</u>





Appendix A – Plan drawing of the room 6780





Appendix B – Determining k-values for dose-response graph

The dose response from the two studies [4, 5] is plotted in the figure above. Then the k-value can be found using the linear regression and isolating k in the equations below.

$$\log\left(\frac{n}{n_0}\right) = -kD\log(e) \Leftrightarrow$$
$$\log\left(\frac{n_0}{n}\right) = kD\log(e)$$

The dose response for UV exposure follows the following equation (plotted in Figure 2):

$$\frac{n}{n_0} = e^{-kD}$$

Where:

n	Number	of active	organisms	[L-1]
		0.000000	0.00.000000	L – 1

- n₀ Initial number of organisms [L⁻¹]
- k UV sensitivity factor [cm²/mJ]
- D UV dose [mJ/cm²]

