

TEST PER ATTIVITÀ ANTIVIRALE E ANTIBATTERICA DI PRODOTTI TESSILI E SUPERFICI

NATURA DELLE NORMATIVE E NOTE ESPLICATIVE AI RAPPORTI DI PROVA ISO 18184 E ISO 21702

Le normative **ISO 18184 "Determinazione dell'Attività Antivirale di Prodotti Tessili"** e **ISO 21702 "Determinazione dell'attività antivirale su plastiche e altre superfici non porose"** forniscono un metodo di analisi quantitativo per valutare le performance antivirali di superfici di differente natura e/o trattamenti.

I test consistono nel mettere una soluzione contenente il virus a contatto con le superfici da analizzare (inoculo) e determinare la carica virale residua dopo i tempi di contatto (T) concordati.

La carica virale infettante viene quantificata attraverso il metodo della TCID₅₀: la concentrazione di virus richiesta per causare l'infezione del 50% delle cellule in una coltura cellulare. Il procedimento consiste nell'aggiungere diluizioni seriali del campione di virus a colture cellulari in piastre da 96 pozzetti. Il tipo di linea cellulare è specificamente selezionato per poter mostrare un effetto citopatico (CPE), cioè cambiamenti morfologici in seguito a infezione con il virus o morte cellulare, che vengono rilevate attraverso il saggio di Micro-neutralizzazione (MN). Dopo un periodo di incubazione, le cellule vengono quindi ispezionate e ogni pozzetto viene classificato come infetto o non infetto. La diluizione alla quale il 50% dei pozzetti mostra un CPE, viene utilizzata per calcolare la corrispondente TCID₅₀ del campione di virus da usare per il test. Il calcolo è eseguito usando il metodo Spearman-Kärber.

Le cariche virali vengono quindi espresse nel Rapporto di Prova in termini della TCID₅₀ precedentemente determinata per il campione di virus da utilizzare per il test (si veda Log TCID₅₀ ovvero log₁₀ TCID₅₀, TCID₅₀/ml, ecc.).

Per lo svolgimento del test è necessario un campionamento della superficie della quale si intende valutare le proprietà antivirali e della corrispondente superficie di controllo non trattata (stessa struttura e composizione dei materiali di partenza senza la componente o il trattamento antivirale); il test infatti è costruito per valutare le performance antivirali del campione trattato anche comparandolo con il comportamento del campione di controllo. La normativa ISO 21702 prevede, per ciascuna tempistica di analisi (T), un indice finale di attività antivirale "R" che consiste proprio nella differenza tra la carica virale residua rilevata dopo il contatto con il campione di controllo e quella rilevata dopo il contatto con il campione trattato, mentre la normativa ISO 18184 prevede per il campione non trattato un intervallo al di fuori del quale il risultato non è considerato valido, al fine di poter evidenziare un eventuale comportamento simile dei due campioni.

Prima del test principale, vengono svolte alcune prove preliminari definite dalla normativa.

La carica virale iniziale da mettere a contatto con il campione (si veda Log TCID₅₀ inoculo) normalmente subisce subito una certa riduzione, poiché ci sarà un certo assorbimento da parte del campione. Di conseguenza **i risultati devono essere interpretati confrontandoli con la carica virale infettante che risulta dal primo recupero al tempo T₀ dopo il contatto con il campione non trattato**, come si vede sul Rapporto di Prova nella tabella dei risultati per il campione non trattato (Media Log TCID₅₀ per T₀). Il riferimento iniziale deve essere quello del campione non trattato perché, a parità di assorbimento, le proprietà del campione trattato potranno portare a ridurre fin da subito, per contatto, la carica virale iniziale.

La valutazione dell'attività antivirale dei campioni consiste quindi nell'analisi quantitativa della carica virale infettante residua dopo le tempistiche di contatto (T) concordate con il laboratorio, da confrontare con la carica iniziale risultante dal primo immediato recupero dopo l'inoculo su un campione non trattato. Per ciascuna tempistica di analisi (T) si dovranno inoltre poter confrontare i risultati per i campioni trattati e quelli per i campioni di controllo non trattati.

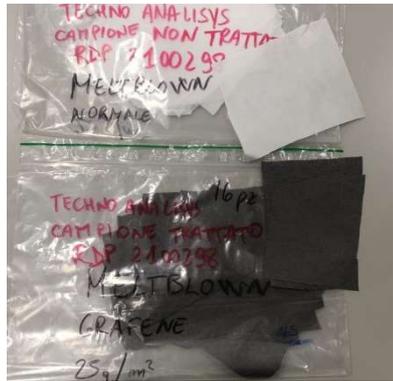
I valori finali per la valutazione dell'attività antivirale del campione trattato, vengono espressi secondo le normative con opportuni indici: "R" per la normativa ISO 21702 e "Mv" per la normativa ISO 18184, come si vede sul Rapporto di Prova nella legenda iniziale per il calcolo dell'attività antivirale. In aggiunta si riportano le percentuali di abbattimento della carica virale rispetto alla carica iniziale al tempo T₀ risultante dall'inoculo sul campione non trattato.



Test report n° 2100081/01

Cliente: TECHNO ANALISYS S.R.L.
VIA DEL COMMERCIO, 204-206
41038 - SAN FELICE SUL PANARO (MO) - IT

Committente: C&S ITALY S.R.L.
VIA SETTEPONTI, 133
52100 AREZZO (AR)

Informazioni test	
MATERIALE	Melt Blown
DENOMINAZIONE	<p style="text-align: center;">Campione trattato: Melt Blown con grafene Campione non trattato: Melt Blown normale Additivo/trattamento: grafene</p> 
METODO	ISO 21702:2019 "Measurement of antiviral activity on plastics and other non porous surfaces"
Data di ricevimento	21 Aprile 2021
Campioni	<ul style="list-style-type: none"> • Campione trattato: 50 x 50 mm², 0.1 mm spessore; • Campione non trattato: 50 x 50 mm², 0.1 mm spessore; • Cover film: film di polipropilene 40 x 40 mm², 0.1 mm spessore; • Nessuna sterilizzazione come da richiesta; • Volume inoculato per il test: 400 uL.
Conservazione	Temperatura ambiente
Temperatura test	25°C ± 1°C
Temperatura incubazione	37°C ± 1°C
Ceppo virale	SARS -CoV-2_COV2019 ITALY/INMI1
Linea cellulare ospite permissiva	VERO E6
Tempo di contatto	30 min - 2 H



Calcolo dell'attività antivirale

L'attività antivirale è calcolata utilizzando la seguente formula:

$$R = Ut - At$$

dove

R è l'attività antivirale

Ut è la media di log TCID₅₀/cm² dei 3 campioni non trattati al tempo Tx

At è la media di log TCID₅₀/cm² dei 3 campioni trattati al tempo Tx

Log TCID₅₀ inoculato: 6.5

Prova preliminare di citotossicità						
	Media Log TCID ₅₀	TCID ₅₀ /1 ml	S (TCID ₅₀ / ml)	Test valido se	Risultati	
Controllo negativo	4.42	10 ^{4.42}	Sn = 10 ^{4.42}	n/a	n/a	n/a
Campione non trattato	4.33	10 ^{4.33}	Su = 10 ^{4.33}	Sn-Su ≤ 0.5	0.09	Valido
Campione trattato	4.33	10 ^{4.33}	St = 10 ^{4.33}	Sn-St ≤ 0.5	0.09	Valido

Risultati del test

	Tempo	Media Log TCID ₅₀	TCID ₅₀ /1 ml	N (TCID ₅₀ /cm ²)	Ut	R Ut-At	Test valido se il risultato è compreso tra
Campione non trattato	T0	5.25	10 ^{5.25}	1.11 x 10 ⁶	n/a	n/a	2.5 x 10 ⁵ – 1.2 x 10 ⁶ (TCID ₅₀ /cm ²)
	T30'	5.00	10 ^{5.00}	6.25 x 10 ⁵	5.80	n/a	n/a
	T2	4.92	10 ^{4.92}	5.16 x 10 ⁵	5.71	n/a	n/a



	Tempo	Media Log TCID ₅₀	TCID ₅₀ /1 ml	N (TCID ₅₀ /cm ²)	At	R Ut-At	[% riduzione verso T0]
Campione trattato	T30'	4.58	10 ^{4.58}	2.39 x 10 ⁵	5.38	0.42	78.62
	T2	4.50	10 ^{4.50}	1.98 x 10 ⁵	5.30	0.41	82.22

Questo rapporto di prova si riferisce solo al campione testato; il nome e la descrizione del campione sono dichiarati dal Cliente. Questo rapporto di prova può essere riprodotto solo integralmente; la riproduzione parziale deve essere autorizzata con approvazione scritta dal Laboratorio.

° Test in service (stesso Gruppo).

Prato, 01 Giugno 2021

Fine del Rapporto di Prova

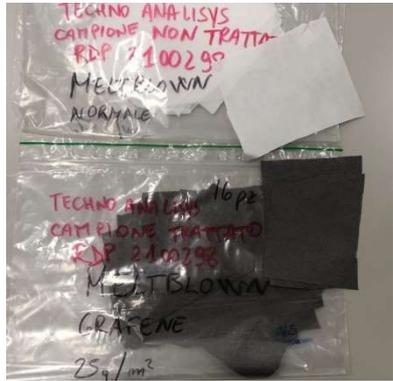
Il Responsabile,



Test report n° 2100063/01

Cliente: TECHNO ANALISYS S.R.L.
VIA DEL COMMERCIO, 204-206
41038 - SAN FELICE SUL PANARO (MO) - IT

Committente: C&S ITALY S.R.L.
VIA SETTEPONTI, 133
52100 AREZZO (AR)

Informazioni test	
MATERIALE	Melt Blown
DENOMINAZIONE	<p>Campione trattato: Melt Blown con grafene Campione non trattato: Melt Blown normale Additivo/trattamento: grafene</p> 
METODO	ISO 18184:2019 "Textiles – Determination of antiviral activity of textile products"
Data di accettazione	21 Aprile 2021
Campioni	<ul style="list-style-type: none"> • Campione trattato: 20 x 20 mm; • Campione non trattato: 20 x 20 mm; • Nessuna sterilizzazione come da richiesta; • Volume dell'inoculo di prova: 200 uL.
Conservazione	Temperatura ambiente
Temperatura test	25°C ± 1°C
Temperatura incubazione	37°C ± 1°C
Ceppo virale	SARS-CoV-2_COV2019 ITALY/INMI1
Linea cellulare ospite permissiva	VERO E6
Tempo di contatto	30 min - 2 H



Calcolo dell'attività antivirale

L'attività antivirale è calcolata con la seguente formula:

$$M_v = \lg (V_a) - \lg (V_c)$$

dove

M_v è la valutazione dell'attività antivirale

$\lg (V_a)$ il logaritmo della media di TCID₅₀ delle tre repliche al tempo T₀ rilevate sul controllo

$\lg (V_c)$ il logaritmo della media di TCID₅₀ delle tre repliche al tempo T rilevate sul campione trattato

Log TCID₅₀ inoculo: 6.5

Test di controllo					
	Media Log TCID ₅₀	TCID ₅₀ /1mL	Test valido se	Risultati	
Campione non trattato	4.08	10 ^{4.08}	(Lg TCID ₅₀ Non trattato - Lg TCID ₅₀ Trattato) < 0.5		
Campione trattato	4.00	10 ^{4.00}		0,08	Valido

Risultati del test

	Tempo	Media Log TCID ₅₀ Lg (V _a)	TCID ₅₀ / 1 mL	M	Test valido se
Campione non trattato	T ₀	5.08	10 ^{5.08}	/	/
	T _{30'}	4.92	10 ^{4.92}	0.17	M<1.0
	T ₂	4.67	10 ^{4.67}	0.42	



	Tempo	Media Log TCID ₅₀ Lg (V _c)	TCID ₅₀ /1 mL	M _v	% riduzione rispetto a T0
Campione trattato	T30'	4.50	10 ^{4.50}	0.58	73.70
	T2	4.50	10 ^{4.50}	0.58	73.70

Efficacia antivirale	
3.0 > M _v ≥ 2.0	Buon effetto
M _v ≥ 3.0	Effetto eccellente

Questo rapporto di prova si riferisce solo al campione testato; il nome e la descrizione del campione sono dichiarati dal Cliente. Questo rapporto di prova può essere riprodotto solo integralmente; la riproduzione parziale deve essere autorizzata con approvazione scritta dal Laboratorio.

° Test in service (stesso Gruppo).

Prato, 26 Maggio 2021

Fine del Rapporto di Prova

Il Responsabile,

