

Rapporto di Prova / Test report N. 012/Cfr AV2021

Data/ Date: 06/05/2021
Revisione 0 / Updated 0

ISO 18061:2014 (E)

Fine Ceramics (Advanced Ceramics, Advanced Technical Ceramics) — Determination of antiviral activity of semiconducting photocatalytic materials — Test method using bacteriophage Q-beta.

ISO 18061:2014 Verifica dell'attività antivirale nei confronti del **virus dell'influenza A H3N2**

Committente / Customer:

GRUPPO ITALCER

Via Emilia Ovest 53/A 42048 Rubiera (Reggio Emilia)

Campione/ Sample:

campione B (trattato)

1) Introduzione / Introduction

ISO 18061:2014. Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) – Test method for antiviral activity of semiconducting photocatalytic materials – Test method using bacteriophage Q-beta.

La norma specifica un metodo di prova che si applica per la verifica dell'attività antivirale di ceramiche fotocatalitiche o materiali che siano stati sottoposti a rivestimento o ottenuti dopo miscelazione di un fotocatalizzatore.

The standard specifies a test method that is applied to verify the antiviral activity of photocatalytic ceramics or materials that have been coated or obtained after mixing a photocatalyst.

2) Sommario: / Abstract:

Questa norma internazionale specifica un metodo di prova per la determinazione dell'attività antivirale di materiali che contengono un fotocatalizzatore o hanno pellicole fotocatalitiche sulla superficie, misurando il conteggio delle unità virali sul provino sottoposto all'irradiazione della luce ultravioletta.

This International Standard specifies a test method for the determination of the antiviral activity of materials that contain a photocatalyst or have photocatalytic films on the surface, by measuring the enumeration of viral units under irradiation of ultraviolet light.

3) Termini e Definizioni / *Terms and Definitions*

Fotocatalizzatore / *Photocatalyst*

sostanza che svolge molte funzioni basate su reazioni di ossidazione e riduzione sotto irradiazione ultravioletta (UV).

substance that carries out many functions based on oxidization and reduction reactions under ultraviolet (UV) irradiation.

Antivirale / *Antiviral*

condizione che inibisce la sopravvivenza di particelle virali sulla superficie di materiali a superficie piana.

condition inhibiting the growth of virus on the surface of flat surface materials.

Batteriofago: tipo di virus che infetta i batteri.

Bacteriophage: type of virus which infects bacteria

The bacteriophage used in this test method is Q-beta that is one of F-specific RNA phages. The bacteriophage Q-beta is not pathogenic to humans and animals but serves to simulate Influenza viruses that are pathogenic to humans.

Lampada UV fluorescente / *Fluorescent UV lamp*

lampada che fornisce l'irradiazione UV-A entro un intervallo di lunghezze d'onda da 300 nm a 400 nm

lamp that provides UV-A irradiation within a wavelength range of 300 nm to 400 nm

placca / *plaque*

area visibile e chiara che è teoricamente il risultato dell'infezione e della lisi delle cellule ospiti da parte di un singolo batteriofago vitale

visible, clear area which is theoretically the result of infection and lysis of host cells by a single viable bacteriophage

valore dell'attività antivirale del fotocatalizzatore

valore di differenza tra i logaritmi del numero totale di placche di batteriofagi su materiali trattati fotocatalitici dopo irradiazione UV e su materiali non trattati dopo irradiazione UV
photocatalyst antiviral activity value

difference value between the logarithms of the total number of bacteriophage plaques on photocatalytic treated materials after UV irradiation and on non-treated materials after UV irradiation

valore dell'attività antivirale del fotocatalizzatore per l'irradiazione UV

differenza tra i logaritmi del numero totale di placche di batteriofagi su materiali trattati fotocatalitici dopo irradiazione UV e su materiali trattati fotocatalitici tenuti al buio
photocatalyst antiviral activity value for UV irradiation

difference between the logarithms of the total number of bacteriophage plaques on photocatalytic treated materials after UV irradiation and on photocatalytic treated materials kept in the dark

4) **Procedura test / Test procedure**

4.1) Norma ISO applicata / *ISO standard applied*: ISO 18061: 2014(E).

4.2) Denominazione / *Name of the product*.

Materiale ceramico / *Ceramic material*: **campione B trattato / treated**

4.3) Campione non trattato: / *Untreated sample*:

Materiale ceramico / *Ceramic material*: **campione B non trattato / untreated**

4.4) Dimensioni./ *Dimensions (measures)*:

(50 ± 2) mm × (50 ± 2) mm e spessore / *thickness* 0,8 cm

Committente / *Customer*: Ditta produttrice / *Manufacturer*:

GRUPPO ITALCER - Reggio Emilia

Campionamento dei provini eseguito dal committente /

Sampling of specimens performed by the customer: **GRUPPO ITALCER** - Reggio Emilia

Data del campionamento / *Date sampling*: 03/09/2020

Periodo di analisi / *Period of analysis*

Data ricevimento: / *Receipt date*: 03/09/2020

Data inizio method test / *Start of test method*: 19/04/2021

Data termine method test / *Ends test method*: 05/05/2021

Fase preliminare: / *Preliminary phase*:

modalità di disinfezione dei campioni (pre-test) / *sample disinfection methods (pre-test)*:

Trattamento in autoclave a 121°C per 15 min. /

Autoclave treatment at 121 ° C for 15 min.

Metodo test e Validazione / *Test method and its validation*:

Metodo / *Method*: Diliuzione-neutralizzazione / *Dilution-neutralization*;

Neutralizzante / *Neutraliser*: Soybean-casein digest broth with lecithin and polysorbate 80 (SCDLP)

4.5) Condizioni sperimentali: / *Experimental conditions*:

Caratteristiche Cover o film di copertura: / *Characteristics Cover or covering film*:

Film in polypropylene (40 ± 2) mm × (40 ± 2) mm – spessore 0,10 mm / *Polypropylene film* (40 ± 2) mm × (40 ± 2) mm - 0.10 mm thick

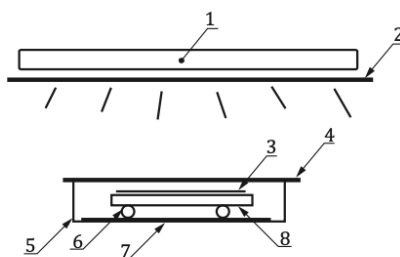
Caratteristiche lampada UV / *UV lamp characteristics*.....

lampada UV - 18 W a vapori di mercurio (PHILIPS PL-L. 18W/10/4P)

intensità UV: 0.25mW/cm² / *UV intensity*: 0.25mW / cm² UV lamp - 18 W mercury vapor

Tempo di esposizione / *Exposition time*: t = 8 ore

4.6) Schema utilizzato per il test come indicato dal metodo ISO 18061:2014:



Key

- 1 light source
- 2 punched metal sheet
- 3 cover film
- 4 moisture preservation glass
- 5 Petri dish
- 6 glass tube or glass rod
- 7 paper filter
- 8 test piece

Volume inoculo iniziale virale/ *Viral Inoculum volume*: 150 µl

Temperatura di incubazione (tecnica diluizione-neutralizzazione e conta in piastra formazione di placche virali) / *Incubation temperature (dilution-neutralization technique and plate count formation of viral plaques)* 37 °C ± 2 °C

Foto campioni / samples picture.

Provini di Ceramica fotocatalitica **B**
(ITALCER)
(con trattamento) /
Specimens of photocatalytic ceramic A
(ITALCER)
(with treatment)



Provini di Ceramica non fotocatalitica
(ITALCER)
(senza trattamento)
Non photocatalytic ceramic specimens
(ITALCER)
(without treatment)



5) Risultati del test / test results :

Campione / Sample: Provini

Campione B trattato/ treated

Metodo analitico / Analytical method : ISO 18061 : 2014:

Attività antivirale di provini di ceramica fotocatalitica nei confronti di *H1N1 virus* /
Antiviral activity of photocatalytic ceramic specimens against H1N1 virus

Campione / Sample Campione B trattato/ treated Test di laboratorio / Lab test Virus e host cell:	Tempo	Controllo Gruppo	Valore logaritmo del titolo virus log ^{*1} TCID ₅₀ /ml	Media del titolo virus log ^{*1} TCID ₅₀ /ml	Media del titolo virus log ^{*1} TCID ₅₀ /PCS	Media del titolo virus In PFU ^{*2} TCID ₅₀ /PCS
H3N2 (virus influenza A) Cellule ospite: MDCK	T ₀ tempo 0 inizio test	Controllo gruppo 1	5.2	5.3	6.3	2.0x10 ⁶
		Controllo gruppo 2	5.6			
		Controllo gruppo 3	5.0			
H3N2 (virus influenza A) Cellule ospite: MDCK	Dark condition 8h	Controllo gruppo 1	5.4	5.2	6.2	1.8x10 ⁶
		Controllo gruppo 2	5.1			
		Controllo gruppo 3	5.1			
		Test gruppo 1	3.5	3.4	4.4	2.7x10 ⁴
		Test gruppo 2	3.3			
		Test gruppo 3	3.4			

*1 LOG₁₀ = Valore del Logaritmo in base 10 / *Logarithm value*

*2 PFU= Unità formante placca virale /

I risultati analitici si intendono riferiti esclusivamente al campione analizzato. Il presente Documento non può essere riprodotto neppure in forma parziale salvo approvazione scritta da parte del Responsabile. Questo report è valido elettronicamente, perché costituisce copia esatta controllata e firmata del certificato di analisi originale, conservato in accordo alle procedure di Norme di Buona Prassi di Laboratorio. / *The results is referred only to the sample analyzed. The present certificate of analysis cannot be reproduced even in part without permission of Responsible of certificate. This report is electronically valid, because it is controlled and exact copy of the signed original of the certificate of analysis, stored procedures according to requirements of Good Laboratory Practice.*

Campione / Sample Campione B trattato/ treated Test di laboratorio / Lab test Virus e host cell:	Tempo	Controllo Gruppo	Valore logaritmo del titolo virus log ^{*1} TCID ₅₀ /ml	Media del titolo virus log ^{*1} TCID ₅₀ /ml	Media del titolo virus log ^{*1} TCID ₅₀ /PCS	Media del titolo virus In PFU ^{*2} TCID ₅₀ /PCS
H3N2 (virus influenza A) Cellule ospite: MDCK	T ₀ tempo 0 inizio test	Controllo gruppo 1	5.2	5.3	6.3	2.0x10 ⁶
		Controllo gruppo 2	5.6			
		Controllo gruppo 3	5.0			
H3N2 (virus influenza A) Cellule ospite: MDCK	Light condition 8h	Controllo gruppo 1	4.5	4.4	5.4	2.7x10 ⁵
		Controllo gruppo 2	4.7			
		Controllo gruppo 3	4.2			
		Test gruppo 1	2.6	2.6	3.6	3.8x10 ³
		Test gruppo 2	3.1			
		Test gruppo 3	2.2			
Attività fotocatalitica antivirale Photocatalyst antiviral activity $V_L = \log[B_L / C_L] - \log[B_D / C_D]$ <i>The antiviral activity of photocatalytic materials after UV irradiation of intensity L (treated specimens)</i>			1.9	Riduzione dopo 8 ore di irradiazione UV / <i>Reduction after UV irradiation of intensity L</i>		99.8%
Attività antivirale al buio The antiviral activity of photocatalytic materials without photocatalyst in a dark place (treated specimens)			1.8	Riduzione al buio / <i>Reduction dark condition:</i>		88.5%
$\Delta V = \log[B_L / C_L] - \log[B_D / C_D]$			0.03			

*1 LOG₁₀ = Valore del Logaritmo in base 10 / *Logarithm value*

*2 PFU= Unità formante placca virale /

6) **Convalida** / Validation

1) The titre of bacteriophage of non-treated specimens after inoculation shall be within the 1.0×10^6 to 4.0×10^6 PFU range: VALIDO / VALID

2) The titre of bacteriophage of non-treated specimens after light exposure shall be more than 1.0×10^4 PFU for all three specimens. However, when a glass plate is used as the non-treated specimen, the titre of bacteriophage after light exposure shall be more than 1.0×10^5 PFU: VALIDO / VALID

3) After being kept in a dark place, the titre of bacteriophage of non-treated specimens shall be more than 1.0×10^4 PFU for all three specimens. However, when a glass plate is used as the non-treated specimen, the titre of bacteriophage after light exposure shall be more than 1.0×10^5 PFU.

7) Conclusioni / Conclusions:

Il metodo test secondo le condizioni di prova specificate nella norma **ISO 18061:2014** determina la sopravvivenza del ceppo virale test (*H3N2 virus*) sulla superficie di provini di materiale ceramico, denominato **campione B trattato (ITALCER)**, sottoposto a irraggiamento con UV per 8 ore, dimostrando che la riduzione batterica è pari al **99,8%**.

E' possibile concludere in base ai requisiti e metodo della ISO 18061:2014 che il materiale ceramico fotocatalitico **campione B trattato (ITALCER)**, presenta una significativa attività inibitoria (antivirale) nei confronti del ceppo virale H1N1 dopo irraggiamento UV.

Il campione B trattato ad attività fotocatalitica nei confronti del non trattato, senza irraggiamento UV e mantenuto al buio per 8 ore, rileva attività antimicrobica e presenta una riduzione antibatterica pari al 88.5%.

*According to the test conditions specified in the ISO 18061: 2014 standard The test method determines the survival of the viral strain (H3N2 virus) on the surface of specimens of ceramic material, **campione B treated (ITALCER)**, radiated with UV rays for 8 hours, inducing viral reduction equal to 99,8%.*

*According to the requirements and method of ISO 18061:2014 it can be concluded that the photocatalytic ceramic material **campione B treated (ITALCER)** has a significant inhibitory (antiviral) activity against the viral strain H1N1 after UV irradiation.*

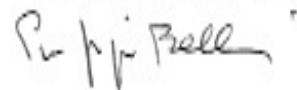
The B sample treated with photocatalytic activity against the untreated, without UV irradiation and kept in the dark for 8 hours, has antimicrobial activity and shows a antibacterial reduction of 88.5%.

Locality, Ferrara. Date: 06/05/2021
Revisione 0 Updated 0

identified signature



(Firma / Signature) Dr.ssa Alberta Vandini
n. AA_039993 O.N.B.)



in collaborazione Firma / in collaboration Signature
Prof. Pier Giorgio Balboni Prof. cultore della materia "Microbiologia"
dell'Università di Ferrara in collaborazione con il Consorzio Futuro in
Ricerca / Professor of the subject "Microbiology" of the University of
Ferrara in collaboration with Consorzio Futuro in Ricerca

I risultati analitici si intendono riferiti esclusivamente al campione analizzato. Il presente Documento non può essere riprodotto neppure in forma parziale salvo approvazione scritta da parte del Responsabile. Questo report è valido elettronicamente, perché costituisce copia esatta controllata e firmata del certificato di analisi originale, conservato in accordo alle procedure di Norme di Buona Prassi di Laboratorio. / The results is referred only to the sample analyzed. The present certificate of analysis cannot be reproduced even in part without permission of Responsible of certificate. This report is electronically valid, because it is controlled and exact copy of the signed original of the certificate of analysis, stored procedures according to requirements of Good Laboratory Practice.