in collaborazione con Prof. Pier Giorgio Balboni
incarico di insegnamento come cultore della materia "Microbiologia" dell'Università di Ferrara

Rapporto di Prova N. 014/Cfr AV2021

Data report: 21/06/2021
Revisione 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 Human Coronavirus 229E (VR-74 ATCC)**

Committente / *Customer:*

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

Campioni:

campione con Advance S (trattato)
campione con Advance D (non trattato - controllo)

1) Introduzione

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 fotocalizzatore.

2) Sommario

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.

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.*

in collaborazione con Prof. Pier Giorgio Balboni
incarico di insegnamento come cultore della materia "Microbiologia" dell'Università di Ferrara

3) **Termini e Definizioni**

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

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

Batteriofago: tipo di virus che infetta i batteri.
Il batteriofago utilizzato in questo metodo di test è il Q-beta, uno dei fagi RNA F-specifici. Il batteriofago Q-beta non è patogeno per l'uomo e gli animali, ma serve a simulare i virus dell'influenza che sono patogeni per l'uomo.

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

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

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

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

4) **Procedura test**

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

4.2) Denominazione
Materiale ceramico:
campione con Advance S (trattato)

4.3) Campione non trattato:
Materiale ceramico **campione con Advance D (non trattato - controllo)**

4.4) Dimensioni: (50 ± 2) mm × (50 ± 2) mm e spessore 0,8 cm

Committente
Ditta produttrice
GRUPPO ITALCER - Reggio Emilia

Campionamento dei provini eseguito dal committente: **GRUPPO ITALCER** - Reggio Emilia

Data del campionamento: 28/05/2021

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.*

in collaborazione con Prof. Pier Giorgio Balboni
incarico di insegnamento come cultore della materia "Microbiologia" dell'Università di Ferrara

Periodo di analisi
Data ricevimento: 28/05/2021
Data inizio method test: 31/05/2021
Data termine method test: 21/06/2021

Fase preliminare:
modalità di disinfezione dei campioni (pre-test): Trattamento in autoclave a 121°C per 15 min.

Metodo test e Validazione
Metodo: Diliuzione-neutralizzazione
Neutralizzante: Soybean-casein digest broth with lecithin and polysorbate 80 (SCDLP)

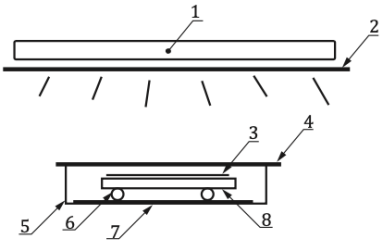
4.5) Condizioni sperimentali:

Caratteristiche Cover o film di copertura:
Film in polypropylene (40 ± 2) mm × (40 ± 2) mm – spessore 0,10 mm

Caratteristiche lampada UV
lampada UV - 18 W a vapori di mercurio (PHILIPS PL-L. 18W/10/4P)
intensità UV: 0.25mW/cm^2

Tempo di esposizione*:* 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

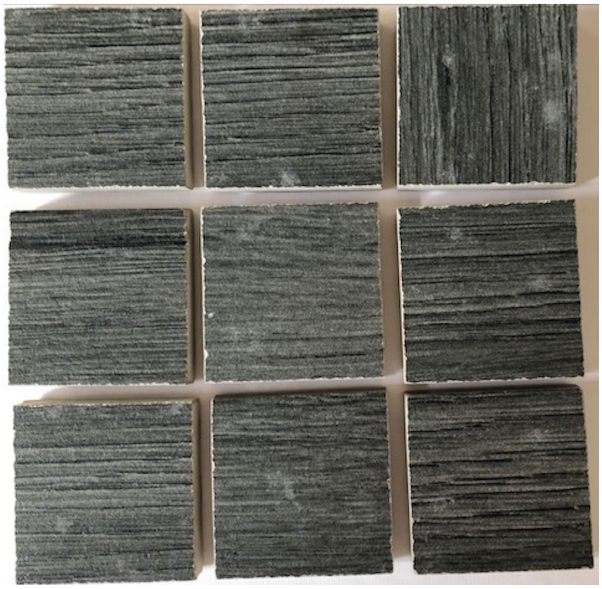
Temperatura di incubazione (tecnica diluizione-neutralizzazione e conta in piastra (formazione di placche virali): 37 °C ± 2 °C.

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.*

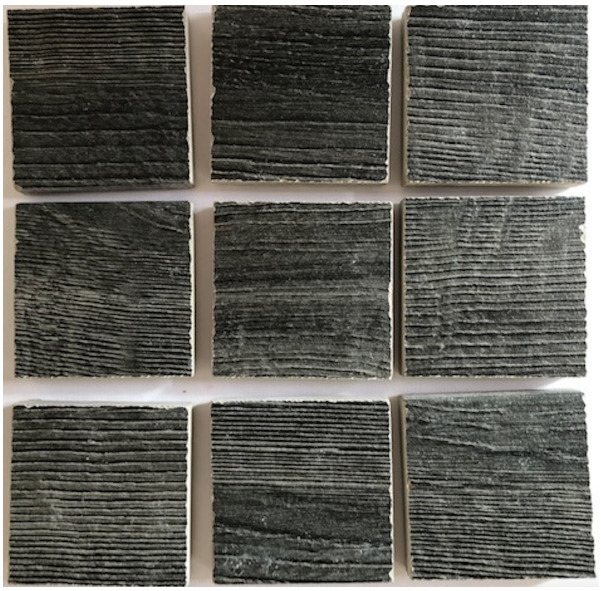
in collaborazione con Prof. Pier Giorgio Balboni
incarico di insegnamento come cultore della materia "Microbiologia" dell'Università di Ferrara

Foto campioni

Provini ceramica fotocatalitica campioni con **Advance S (trattato)**



Provini ceramica non fotocatalitica campioni con **Advance D (non trattato)**



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.*

in collaborazione con Prof. Pier Giorgio Balboni
incarico di insegnamento come cultore della materia "Microbiologia" dell'Università di Ferrara

5) **Risultati del test**:

CampionI: Provini in ceramica:
campione con Advance S trattato: Advance S (T)
campione con Advance D non trattato: Advance D (NT)

Metodo analitico ISO 18061: 2014: Attività antivirale di provini di ceramica fotocatalitica nei confronti di *Virus Human Coronavirus 229E (VR-74 ATCC)*

Campioni Advance S (T) e Advance D (NT) Test di laboratorio	**Tempo**	**Gruppo Controllo D (NT) - Gruppo Test S (T)**	**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**
Virus Human Coronavirus 229E (VR-74 ATCC) Cellule ospite: MRC-5 ATCC CCL-171	T_0 tempo 0 inizio test Valore A	Controllo*3 gruppo 1	5.8	5.7	6.7	$5.6x10^6$
		Controllo*3 gruppo 2	5.6			
		Controllo*3 gruppo 3	5.9			
Virus Human Coronavirus 229E (VR-74 ATCC) Cellule ospite: MRC-5 ATCC CCL-171	Condizione di buio Dark (D) condition 8h	Controllo*3 gruppo 1	5.4	5.2	6.2	$2.5x10^6$
		Controllo*3 gruppo 2	5.1			
		Controllo*3 gruppo 3	5.1			
		Test*4 gruppo 1	3.7	3.5	4.5	$2.9x10^4$
		Test*4 gruppo 2	3.5			
		Test*4 gruppo 3	3.3			

*1 Log_{10} = Valore del Logaritmo in base 10

*2 PFU= Unità formante placca virale /

*3 Controllo = conta microbica del provino del campione D non trattato

*4 Test= conta microbica del provino del campione S trattato: campione fotocatalitico

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.*

Campioni Advance S (T) e Advance D (NT) Test di laboratorio	**Tempo**	**Gruppo Controllo D (NT) - Gruppo Test S (T)**	**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**
Virus Human Coronavirus 229E (VR-74 ATCC) Cellule ospite: MRC-5 ATCC CCL-171	T_0 tempo 0 inizio test Valore A	Controllo*3 gruppo 1	5.8	5.7	6.7	$5.6x10^6$
		Controllo*3 gruppo 2	5.6			
		Controllo*3 gruppo 3	5.9			
Virus Human Coronavirus 229E (VR-74 ATCC) Cellule ospite: MRC-5 ATCC CCL-171	Condizione luce Light (L) condition 8h	Controllo*3 gruppo 1	4.4	4.5	5.5	$2.8x10^6$
		Controllo*3 gruppo 2	4.8			
		Controllo*3 gruppo 3	4.3			
		Test*4 gruppo 1	4.0	3.9	2.9	$8.4x10^2$
		Test*4 gruppo 2	4.1			
		Test*4 gruppo 3	3.6			
Attività fotocatalitica antivirale $V_L = \log[B_L / C_L]$ L'attività antivirale dei materiali fotocatalitici dopo irradiazione UV di intensità L (provini trattati)			**1.25**	Riduzione dopo 8 ore di irradiazione UV / *L*		**99.99%**
Attività antivirale al buio L'attività antivirale dei materiali fotocatalitici senza fotocatalizzatore in un luogo buio (provini trattati) $V_D = \log[B_D / C_D]$			**0.69**	Riduzione al buio /		**98.84%**
$\Delta V = \log[B_L / C_L] - \log[B_D / C_D]$			**0.56**			

*1 Log_{10} = Valore del Logaritmo in base 10

*2 PFU= Unità formante placca virale /

*3 Controllo = conta microbica del provino del campione B non trattato

*4 Test= conta microbica del provino del campione B trattato: campione fotocatalitico

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.*

6) **Convalida**

1) Il titolo del batteriofago dei campioni non trattati dopo l'inoculo deve essere compreso tra $1,0 \times 10^6$ e $4,0 \times 10^6$ PFU: VALIDO

2) Il titolo del batteriofago dei campioni non trattati dopo l'esposizione alla luce deve essere superiore a $1,0 \times 10^4$ PFU per tutti e tre i campioni. Tuttavia, quando si utilizza una lastra di vetro come campione non trattato, il titolo del batteriofago dopo l'esposizione alla luce deve essere superiore a $1,0 \times 10^5$ PFU: VALIDO

3) Dopo essere stati tenuti in un luogo buio, il titolo del batteriofago dei campioni non trattati deve essere superiore a $1,0 \times 10^4$ PFU per tutti e tre i campioni. Tuttavia, quando si utilizza una lastra di vetro come campione non trattato, il titolo del batteriofago dopo l'esposizione alla luce deve essere superiore a $1,0 \times 10^5$ PFU.

Attività antivirale fotocatalitica
Il valore dell'attività antivirale fotocatalitica si esprime mediante la seguente formula:

$$V_L = [\log(B_L/A) - \log(C_L/A)] = \mathbf{\log[B_L/C_L]}$$

Dove:
A = media della conta microbica al Tempo 0 (T_0) inizio inoculo dei campioni sottoposti al test.

B_L = media della conta microbica campioni non trattati (non fotocatalitici) sottoposti al test dopo 8 ore di esposizione all'irradiazione UV.

C_L= media della conta microbica campioni trattati (fotocatalitici) sottoposti al test dopo 8 ore di esposizione all'irradiazione UV.

Riassunto dell'efficacia antivirale:

Trattato: 99,99% corrisponde alla percentuale di riduzione dell'efficacia antivirale dopo 8 ore di irradiazione (L) del campioni S (T) fotocatalitico nei confronti del campione D (NT) non fotocatalitico calcolata dal valore A (inizio del test).

Non trattato: 50% corrisponde alla percentuale di riduzione dell'efficacia antivirale dopo 8 ore di irradiazione (L) del campioni D (NT) non fotocatalitico.

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.*

in collaborazione con Prof. Pier Giorgio Balboni
incarico di insegnamento come cultore della materia "Microbiologia" dell'Università di Ferrara

7) **Conclusioni:**

Il metodo test secondo le condizioni di prova specificate nella norma **ISO 18061:2014** determina la sopravvivenza del ceppo virale test Virus Human Coronavirus 229E VR-740 ATCC sulla superficie di provini di materiale ceramico, denominato **campione con Advance S trattato (ITALCER)**, sottoposto a irraggiamento con UV per 8 ore, dimostrando che la riduzione dei virus di prova è pari al **99,99%**.
E possibile concludere in base ai requisiti e metodo della ISO 18061:2014 che il materiale ceramico fotocatalitico **campione con Advance S trattato** (ITALCER), presenta una significativa attività inibitoria (antivirale) nei confronti del ceppo virale Virus Human Coronavirus 229E VR-740 ATCC dopo irraggiamento UV.

Il campione con Advance S 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 antivirale pari al 98,88%.

Data report: 21/06/2021
Revisione 0

Firma identificata:

(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

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.*