BEGLAUBIGTE ÜBERSETZUNG AUS DER ITALIENISCHEN SPRACHE

Istituto Zooprofilattico delle Venezie
[Institut für Tierseuchenbekämpfung Venetien]
Viale dell'Università, 10
35020 Legnaro (PD) - Italy
www.izsvenezie.it

/Logo/

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie [Versuchsinstitut für Tierseuchenbekämpfung Venetien]

TEST ZUR BESTIMMUNG DER ANTIVIRALEN AKTIVITÄT VON TEXTILERZEUGNISSEN

SILVERGUARD EARTH®

SILVERGUARD JUPITER®

SILVERGUARD VEGA®

Comments by STATEX GmbH

Shieldex® BONN

Shieldex® BREMEN RS

Shieldex® MedTex P130

Screeningtest gemäß ISO 18184:2019

Bericht erstellt von Frau Dott.ssa LUCIA SELLI

Test durchgeführt bei	Laboratorio di Virologia Diagnostica [Labor für Diagnostische Virologie] Struttura Complessa Territoriale 3 (SCT3) "Diagnostica in Sanità Animale" [Regionale Komplexe Funktionseinheit 3 (SCT3) „Diagnostik in der Tiergesundheit"] Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe)
Testdatum:	Oktober/November 2020
Auftraggeber:	KC Wearable Technologies Via Isonzo 1-3 25017 Lonato del Garda - Italy

ANDREA ARENDT
Von Landgericht Heilbronn öffentlich bestellte und beeidigte Übersetzerin für die italienische Sprache
Baden-Württemberg
DIPLOM-ÜBERSETZERIN BDÜ

Auftrag erhalten von: KC Wearable Technologies
Via Isonzo 1-3
25017 Lonato del Garda - Italy

Produkte:

- Kontrollproben: Control fabric (Cf)
  - Cf1) Textilmaterial Earth® (Rohware)
  - Cf2) Textilmaterial Jupiter® (Rohware)
  - Cf3) Textilmaterial Vega® (Rohware)
- Wirkproben: Control test (Ct)
  - Ct1) Textilmaterial Silverguard Earth®
  - Ct2) Textilmaterial Silverguard Jupiter®
  - Ct3) Textilmaterial Silverguard Vega®

Die oben genannten Proben wurden vom Auftraggeber geliefert und bei Raumtemperatur gelagert.
Bei IZSVe - SCT3 - Laboratorio di Virologia Diagnostica wurden aus diesen Textilproben Scheiben (Durchmesser ca. 2 cm) gewonnen, die vor der Verwendung in den Tests bei Raumtemperatur gelagert wurden.

Testsystem:

Der Test wurde nach ISO 18184:2019 gemäß dem Verfahren zur quantitativen Bestimmung der antiviralen Aktivität von Textilerzeugnissen durchgeführt. Allerdings handelt es sich um einen Screeningtest, bei dem die von der Norm vorgesehenen Validierungskontrollen weggelassen wurden.
Im Test verwendeter Virenstamm:

- *Bovines Coronavirus (Beta-Coronavirus)*; Herkunft: aus Nasenabstrich vom Rind isolierter und mittels biomolekularer Methoden charakterisierter Stamm (Ausgangstiter mindestens 10^7 $TCID_{50}$/1ml).

Zur quantitativen Bestimmung der Virenlast verwendete Zelllinie, ausgedrückt als 50 % des Kulturgewebes infizierende Dosen ($TCID_{50}$):

- HRT-18 (Human Rectal Tumor)-Zellen; Herkunft BVR - Biobanking of Veterinary Resources.

Testparameter:

- Testbedingungen: Temperatur gleich 25 °C ± 1 (nach ISO 18184), 90 % relative Luftfeuchtigkeit.
- Proteinbelastung: ohne weitere Belastung; das Virusmaterial (Zellkulturüberstand) wird unverändert aufgetragen.
- Volumen/Flächenverhältnis 200 Mikroliter auf einer Fläche von ca. 3,14 cm^2 (Scheibe aus Textilmaterial mit einem Durchmesser von ca. 2 cm).
- Volumen/Massenverhältnis 200 Mikroliter auf einer Masse von 0,08 g ± 0,005 Textilmaterial.
- Inkubation Inkubationszeiten: 10', 30', 1 h, 3 h und 6 h im Brutschrank bei 25 °C ± 1. Die Probenscheiben wurden jeweils in die Mulde einer 12-Mulden-Zellkulturplatte eingelegt. Die anschließende Inkubation erfolgt mit geschlossenem Deckel in der Feuchtkammer.
- Die Resuspendierung des Virusmaterials erfolgt in den jeweiligen Mulden. Nach Zugabe von 5 ml Zellkulturmedium (D-MEM mit 1 %-iger Antibiotikalösung) wurde die Probenscheibe unter Verwendung einer Pipette 5-mal mit 3 ml Zellkulturmedium bespült, sodass eine Verdünnung des ursprünglichen Virusmaterials von 1:100 erzielt wurde.

Testverfahren

- Vor der Verwendung wurden die Testproben mittels Autoklavieren sterilisiert. Das Material besteht aus einem Fasergeflecht, das diese Prozedur nicht übersteht.
- Die Proben, die aus mehreren Scheiben mit einem Durchmesser von ca. 2 cm und einer Masse von ca. 0,08 ± 0,005 g, die sowohl aus dem Textilmaterial ohne Ausrüstung (Kontrollproben - Cf) als auch aus dem Textilmaterial mit Ausrüstung (Wirkproben - Ct) herausgetrennt worden waren, bestanden, wurden jeweils separat in eine 12-Mulden-Zellkulturplatte eingelegt, worin auch die Inokulation mit dem Virusmaterial (200 Mikroliter aus dem Zellkulturüberstand und auch die Resuspendierung sowie die Bespülung nach Ablauf der Kontaktzeit durchgeführt wurden.
- Die Bestimmung des Infektiositätstiters der aus den verschiedenen Proben nach Ablauf der jeweils vorgesehenen Inkubationszeit gewonnenen Virussuspensionen erfolgte nach der $TCID_{50}$-Methode (notwendige Dosis, um in 50 % der Zellkulturen eine Infektion auszulösen); dazu wurden 96-Mulden-Mikroplatten, die die HRT-18-Zelllinie enthielten, im CO_2-Brutschrank bei 37 ± 2 °C. über die vorgesehenen Zeiten (4 - 5 Tage) inkubiert.
- Für jede Textilprobe wurde der Infektiositätstiter ($TCID_{50}$) des unmittelbar nach der Inokulation gesammelten Virusmaterials, d. h. bei der Zeit 0 (T_0) bestimmt.
- Für jede Textilprobe und für jede Inkubationszeit wurde der Test in vierfacher Ausführung durchgeführt, wie in den Tabellen 1,2 und 3 der Ergebnisse aufgeführt.
- Für jede Textilprobe und für jede Inkubationszeit wurde außerdem ein Zelltoxizitätstest durchgeführt. Dazu wurde Zellkulturmedium ohne Virenmaterial inokuliert und anschließend in 96-Mulden-Zellkulturplatten, die die HRT-18-Zelllinie enthielten, eingelegt. Anschließend erfolgte die Inkubation im CO_2-Brutschrank bei 37 ± 2 °C für die vorgesehenen Zeiten.

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1, 2, 3 und 4 aufgeführt.

Legende der Tabellen 1,2, 3 und 4:

Sample ID Cf (Control fabric): Virussuspension bei Textilprobe ohne Ausrüstung
Sample ID Ct (Control test): Virussuspension bei ausgerüsteter Textilprobe „Silverguard"
Virus Titer: Virustiter, ausgedrückt in $\log_{10}$ $TCID_{50}$/50 µl
Mean virus titer: mittlerer Virustiter, ausgedrückt in $\log_{10}$ $TCID_{50}$/50 µl
$\log_{10}$ reduction: Reduktion des Virustiters, der aus Ct im Vergleich zu Cf erzielt wurde, ausgedrückt in $\log_{10}$
Percent reduction: Reduktion des Virustigers, der aus Ct im Vergleich zu Cf erzielt wurde, ausgedrückt in Prozent
N.R.: Keine Reduktion

TEST VIRUS	Contact time	Textil-material	Sample ID	Virus Titer*
Bovine *Coronavirus*	0'	Earth®	Cf	4,25
			Ct	4
		Jupiter®	Cf	3,75
			Ct	4,25
		Vega®	Cf	3,75
			Ct	4

Tab. 1- Ergebnisse der Virustitrationen bei Zeit 0 (T_0)
*Virustiter, ausgedrückt in $\log_{10}$ $TCID_{50}$/50 µl
Hinweis: Wie im Verfahren bei der Phase der Entnahme aus den Mulden mit den Textilproben (mit und ohne Ausrüstung)/Bespülung beschrieben, wird die Virussuspension im Verhältnis 1:100 verdünnt mit Reduktion um 2 $\log_{10}$ des Ausgangstiters des Stamms.

TEXTILMATERIAL EARTH® und SILVERGUARD EARTH®

TEST VIRUS	Contact time	Sample TD	Virus Titer	Mean virus titer	log_{10} reduction	**Percent reduction**
Bovine Coronavirus	5'	Cf	4	4,25	N.R.	**N.R.**
			4			
			4,25			
			4,75			
		Ct	4,25	4,31		
			4,50			
			4,25			
			4,25			
	15'	Cf	4,25	4,25	0,25	**43,76**
			4,50			
			4			
			4,50			
		Ct	4	4		
			3,75			
			4			
			4,25			
	30'	Cf	4,25	4,06	0,31	**51,02**
			4			
			4			
			4			
		Ct	3,75	3,75		
			3,75			
			3,75			
			3,75			
	1 h	Cf	4,25	4,25	0,5	**68,38**
			4			
			4			
			4,75			
		Ct	3,75	3,75		
			4			
			3,75			
			3,50			
	3 h	Cf	4,75	4,50	1,88	**98,68**
			4,50			
			4,25			
			4,50			
		Ct	2,25	2,62		
			2,75			
			3			
			2,50			
	6 h	Cf	4,25	4,06	2	**98,99**
			4			
			4			
			4			
		Ct	2	2,06		
			2			
			2,25			
			2			

Tab. 2 - Ergebnisse der Virustitrationen beim Textilmaterial EARTH

TEXTILMATERIAL JUPITER® und SILVERGUARD JUPITER®

TEST VIRUS	Contact time	Sample ID	Virus Titer	Mean virus titer	log_{10} reduction	Percent reduction
Bovine Coronavirus	5'	Cf	3,25	3,50	0,50	**68,38**
			3,50			
			3,75			
			3,50			
		Ct	3,75	4,00		
			4			
			4			
			4,25			
	15'	Cf	4	3,75	1,19	**93,08**
			3,50			
			3,75			
			3,75			
		Ct	2,50	2,56		
			2,75			
			2,50			
			2,50			
	30'	Cf	4,25	4,17	2,67	**99,78**
			4			
			4,25			
			4,25			
		Ct	1,5	1,5		
			1			
			1,75			
			1,75			
	1 h	Cf	4	3,94	≥3,69	**≥99,98**
			3,75			
			4			
			4			
		Ct	≤0,25	≤0,25		
			≤0,25			
			0,25			
			≤0,25			
	3 h	Cf	3,75	4,19	≥3,94	**≥99,99**
			4,50			
			4,25			
			4,25			
		Ct	≤0,25	≤0,25		
			≤0,25			
			≤0,25			
			≤0,25			
	6 h	Cf	4,25	4,19	≥3,94	**≥99,99**
			4			
			4,25			
			4,25			
		Ct	≤0,25	≤0,25		
			≤0,25			
			≤0,25			
			≤0,25			

Tab. 3 - Ergebnisse der Virustitrationen beim Textilmaterial JUPITER

TEXTILMATERIAL VEGA® und SILVERGUARD VEGA®

TEST VIRUS	Contact time	Sample ID	Virus Titer	Mean virus titer	log_{10} reduction	Percent reduction
Bovine Coronavirus	5'	Cf	3,25	3,56	N.R.	**N.R.**
			3,50			
			3,75			
			3,75			
		Ct	3,50	3,62		
			3,75			
			3,75			
			3,50			
	15'	Cf	3,25	3,56	0,37	**57,34**
			3,50			
			3,75			
			3,75			
		Ct	3	3,19		
			3			
			3,50			
			3,25			
	30'	Cf	3,50	3,62	0,81	**84,51**
			3,75			
			3,75			
			3,50			
		Ct	3	2,81		
			2,75			
			2,75			
			2,75			
	1 h	Cf	3,50	3,37	1,37	**95,73**
			3,25			
			3,25			
			3,50			
		Ct	2	2		
			1,75			
			2			
			2,25			
	3 h	Cf	3,25	3,19	2,57	**99,73**
			3,25			
			3,25			
			3			
		Ct	0,5	0,62		
			0,5			
			0,75			
			0,75			
	6 h	Cf	3,25	3,19	≥3,02	**≥99,88**
			3			
			3,25			
			3,25			
		Ct	≤0,17	≤0,17		
			≤0,17			
			≤0,17			
			≤0,17			

Tab. 4 - Ergebnisse der Virustitrationen beim Textilmaterial VEGA

Beobachtungen

- Innerhalb des Beobachtungszeitraums (bis 6 Stunden) war keine Eintrocknung des Materials zu beobachten.
- Die Resuspendierung des Virusmaterials war augenscheinlich unauffällig.
- Die bei allen Textilproben Cf1, 2 und 3; Ct1, 2 und 3 über alle vorgesehenen Inkubationszeiten durchgeführten Zelltoxizitätsproben waren negativ, d. h. es zeigten sich weder Beeinträchtigungen der Zellmonoschicht noch morphologische und zahlenmäßige Unterschiede im Vergleich zu den Kontrollzellkulturen.
- Die replikationsfähige Virusmenge reduzierte sich während des Beobachtungszeitraums (bis zu 6 Stunden) auf vernachlässigbare Werte (siehe Vergleich des bei den Kontrollproben Cf1, 2 und 3 bei der Zeit 0 und bei der Zeit 6 Stunden erreichten Titers).
- Es war zu erwarten, dass die gemessene Virusmenge zu den verschiedenen Zeitpunkten der Probenahme unterschiedlich sein würde, weshalb zur Beurteilung der virusinaktivierenden Eigenschaft der Wirkproben (Ct) bei jeder Einwirkzeit der entsprechende Virustiter, der aus den Kontrollproben (Cf) erzielt wurde, bestimmt wurde.
- Weitere Beobachtungen/unvorhergesehene Ereignisse wurden nicht verzeichnet.

Fazit

- Textilmaterial Silverguard Jupiter®:
  - Bereits nach einer Inkubationszeit von 5 Minuten war eine Reduktion der Viruslast im Vergleich zur Kontrollprobe nachweisbar.
  - Ab einer Inkubationszeit von 15 Minuten war eine signifikante Reduktion der Viruslast im Vergleich zur Kontrollprobe nachweisbar.
  - Nach einer Inkubationszeit von 3 Stunden war kein Restvirus mehr nachweisbar mit einer Reduktion des Virustiters, die einer prozentualen Inaktivierung von ≥99,99 % entspricht.
- Textilmaterial Silverguard Vega®:
  - Bereits nach einer Inkubationszeit von 15 Minuten war eine Reduktion der Viruslast im Vergleich zur Kontrollprobe nachweisbar.
  - Ab einer Inkubationszeit von 30 Minuten war eine signifikante Reduktion der Viruslast im Vergleich zur Kontrollprobe nachweisbar.
  - Nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden war kein Restvirus mehr nachweisbar mit einer Reduktion des Virustiters, die einer prozentualen Inaktivierung von ≥99,88 % entspricht.
- Textilmaterial Silverguard Earth®:
  - Nach einer Inkubationszeit von 15, 30 Minuten und 1 Stunde war eine Reduktion der Viruslast im Vergleich zur Kontrollprobe nachweisbar.
  - Nach einer Inkubationszeit von 3 Stunden war eine signifikante Reduktion der Viruslast im Vergleich zur Kontrollprobe nachweisbar, die auch nach einer Inkubationszeit von 6 Stunden bestätigt wurde, mit einer Reduktion des Virustiters, die einer prozentualen Inaktivierung von 98,68 % bzw. 98,99 % entspricht.

Es bleibt somit festzuhalten, dass unter den Testbedingungen gegenüber dem Bovinen Coronavirus eine hochgradige virusinaktivierende Wirkung belegt werden konnte, insbesondere für die Textilmaterialien Silverguard Jupiter® und Silverguard Vega®, die ursächlich der Ausrüstung zugeschrieben werden kann.

Die beobachtete virusinaktivierende Wirkung der Ausrüstung wurde mit dem Bovinen Coronavirus erhoben. Die Coronaviren gehören zu den behüllten Viren. Diese gelten im Allgemeinen als vergleichsweise leicht inaktivierbar. Das bedeutet, dass die beobachte Viruswirksamkeit nicht auf andere Viren übertragen werden kann. Dies gilt u. U. auch für andere behüllte Viren.

Legnaro (PD), 24.11.2020

Unleserliche Unterschrift /

Dott.ssa Lucia Selli
Dir. Veterinario [Veterinärdirektorin]
Laboratorio di Virologia Diagnostica
Struttura Complessa Territoriale 3 (SCT3)
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

Bestätigungsvermerk:
Als in Baden-Württemberg vom Präsidenten des Landgerichts Heilbronn öffentlich bestellte und beeidigte Urkundenübersetzerin für die italienische und spanische Sprache bestätige ich: Vorstehende Übersetzung des mir als PDF-Datei vorgelegten, in *italienischer* Sprache abgefassten und 8 Seiten umfassenden Schriftstücks ist richtig und entspricht dem Ausgangstext. Der Übersetzung ist keine Ablichtung des Ausgangstextes beigegeben.

Gesch.-Verz. Nr. 755 03/12/20

(Andrea C. Arendt) BDÜ - AITI

ANDREA ARENDT
Vom Landgericht Heilbronn öffentlich bestellte u. beeidigte Urkundenübersetzerin der italienischen u. spanischen Sprache für Baden-Württemberg
DIPLOM-ÜBERSETZERIN BDÜ

Istituto Zooprofilattico delle Venezie
Viale dell'Università,10
35020 Legnaro (PD) - Italy
www.izsvenezie.it

TEST PER LA DETERMINAZIONE DELL'ATTIVITA' ANTIVIRALE DEI PRODOTTI TESSILI *SILVERGUARD EARTH®* *SILVERGUARD JUPITER®* *SILVERGUARD VEGA®*

Test di screening in conformità alla norma ISO 18184:2019

Report redatto dalla dott.ssa LUCIA SELLI

Test effettuato presso: Laboratorio di Virologia Diagnostica
Struttura Complessa Territoriale 3 (SCT3) "Diagnostica in Sanità Animale"
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe)

Data del test: ottobre/novembre 2020

Committente: KC Wearable Technologies
Via Isonzo 1-3
25017 Lonato del Garda - Italy

Incarico ricevuto da: KC Wearable Technologies
Via Isonzo 1-3
25017 Lonato del Garda - Italy

Prodotti:

- Campioni di controllo: Control fabric (Cf) Cf1) materiale tessile Earth® (grezzo)
  Cf2) materiale tessile Jupiter® (grezzo)
  Cf3) materiale tessile Vega® (grezzo)
- Campioni da testare: Control test (Ct) Ct1) materiale tessile Silverguard Earth®
  Ct2) materiale tessile Silverguard Jupiter®
  Ct3) materiale tessile Silverguard Vega®

I campioni suddetti sono stati forniti dalla ditta conferente l'incarico e conservati a T. ambiente. Presso IZSVe – SCT3 - Laboratorio di Virologia Diagnostica, da questi campioni di materiale tessile sono stati ottenuti dei dischetti rotondi (diametro circa 2 cm) conservati a T. ambiente prima di essere usati nelle prove.

Sistema di prova:

Il test è stato condotto in conformità alla ISO 18184:2019, secondo la procedura per la determinazione quantitativa dell'attività antivirale dei prodotti tessili; si tratta tuttavia di una prova di screening, nella quale sono stati omessi i controlli di validità previsti dalla norma stessa.

Ceppo virale impiegato nel test:

- Coronavirus bovino (beta-coronavirus); origine: ceppo isolato da tampone nasale bovino e caratterizzato mediante metodiche biomolecolari (titolo di partenza pari ad almeno 10^7 $TCID_{50}$/1ml).

Linea cellulare utilizzata per la quantificazione della carica virale, espressa come dosi infettanti il 50% di tessuto colture ($TCID_{50}$):

- Cellule HRT-18 (Human Rectal Tumor); origine BVR – Biobanking of Veterinary Resources.

Parametri di prova:

- Condizioni sperimentali: Temperatura di 25°C ± 1 (ISO 18184), umidità relativa 90%.
- Carico proteico: non aggiunti ulteriori fattori proteici – il materiale contenente il virus (surnatante cellulare) viene processato senza ulteriori aggiunte.
- Rapporto volume/superficie: 200 microlitri su una superficie di circa 3,14 cm^2 (disco di tessuto di circa 2 cm. di diametro).
- Rapporto volume/massa: 200 microlitri su una massa di 0,08gr. ± 0.005 di tessuto.
- Incubazione: Tempi di incubazione: 10', 30', 1h., 3h. e 6h in termostato a 25°C ± 1. I campioni sono stati trasferiti ciascuno in un pozzetto di una micropiastra da 12 pozzetti e la successiva incubazione in termostato viene effettuata con la piastra chiusa dal coperchio e posta in camera umida.
- La risospensione del materiale virale ha luogo in ciascun pozzetto, tramite aggiunta di 5 ml di terreno per coltura cellulare (D-MEM con 1% di soluzione antibiotica) seguito da 5 lavaggi del dischetto di materiale tessile, mediante pipetta, con 3ml. di analogo terreno per coltura cellulare, ottenendo una diluizione 1:100 del materiale virale di partenza.

Procedura di prova

- Prima del loro impiego i materiali tessili non sono stati sterilizzati in autoclave; il materiale consiste di un intreccio di fibre, che non sopporta questa procedura.
- I campioni, costituiti da più dischetti di circa 2 cm di diametro, per una massa pari a 0,08 ±0,005 gr. di materiale tessile sia grezzo (campioni di controllo-Cf) che trattato (campioni test-Ct) sono stati collocati, uno per singolo pozzetto, in una micropiastra per colture cellulari a 12 pozzetti, al cui interno è stata condotta l'inoculazione col materiale virale (200 microlitri di surnatante cellulare infetto) e, al termine di ciascun periodo di incubazione previsto, la risospensione del materiale inoculato ed il lavaggio del dischetto.
- Per la determinazione del titolo infettante delle sospensioni virali ottenute dai diversi campioni, al termine di ciascun tempo di incubazione previsto, è stato utilizzato il metodo delle $TCID_{50}$ (dosi infettanti il 50% di tessuto colture) impiegando micropiastre da 96 pozzetti contenenti la linea cellulare HRT-18, incubate in termostato a CO_2 a 37±2°C, per i tempi previsti (4-5 gg.).
- Per ciascun campione tessile è stato determinato il titolo infettante ($TCID_{50}$) del materiale virale raccolto subito dopo l'inoculazione, ovvero al tempo 0 (T_0).
- Per ciascun campione tessile e per ciascun tempo di incubazione il test è stato effettuato in quadruplicato, così come riportato nelle tabelle 1, 2 e 3 dei risultati.
- Per ciascun campione tessile e per ciascun tempo di incubazione è stata inoltre effettuata una prova di tossicità cellulare mediante inoculazione di terreno di coltura cellulare in assenza di materiale virale e successivo trasferimento su micropiastre da 96 pozzetti contenenti la linea cellulare HRT18, incubate in termostato a CO_2 a 37±2°C, per i tempi previsti.

Risultati

I risultati sono riportati nelle tabelle 1, 2, 3 e 4

Legenda delle tabelle 1, 2, 3 e 4

Sample ID Cf (Control fabric) : sospensione virale in presenza di campione di tessuto grezzo
Sample ID Ct (Control test): sospensione virale in presenza di campione di tessuto trattato "Silverguard"
Virus Titer: titolo virale espresso in Log_{10} $TCID_{50}$/50 µl
Mean virus titer: media dei titoli virali espressa in Log_{10} $TCID_{50}$/50 µl
Log_{10} reduction: riduzione del titolo virale ottenuto dal Ct rispetto al Cf espressa in Log_{10}
Percent reduction: riduzione del titolo virale ottenuto dal Ct rispetto al Cf espressa in percentuale
N.R.: Nessuna riduzione

TEST VIRUS	Contact time	tessuto	Sample ID	Virus Titer
Bovine Coronavirus	0'	Earth®	Cf	4,25
			Ct	4
		Jupiter®	Cf	3,75
			Ct	4,25
		Vega®	Cf	3,75
			Ct	4

Tab. 1- Risultati delle titolazioni virali al tempo 0 (T_0)
**Titolo virale espresso in Log_{10} $TCID_{50}$/50 µl*
N.B. Come descritto in procedura nella fase di prelievo/lavaggio dai pozzetti contenenti i campioni di tessuto (trattato e non trattato), la sospensione virale viene diluita 1:100, con riduzione di 2 Log_{10} del titolo di partenza del ceppo.

TESSUTO EARTH® e SILVERGUARD EARTH®

TEST VIRUS	Contact time	Sample ID	Virus Titer	Mean virus titer	Log_{10} reduction	Percent reduction*
Bovine Coronavirus	5'	Cf	4	4,25	N.R.	N.R.
			4			
			4,25			
			4,75			
		Ct	4,25	4,31		
			4,50			
			4,25			
			4,25			
	15'	Cf	4,25	4,25	0,25	43,76
			4,50			
			4			
			4,50			
		Ct	4	4		
			3,75			
			4			
			4,25			
	30'	Cf	4,25	4,06	0,31	51,02
			4			
			4			
			4			
		Ct	3,75	3,75		
			3,75			
			3,75			
			3,75			
	1 h	Cf	4,25	4,25	0,5	68,38
			4			
			4			
			4,75			
		Ct	3,75	3,75		
			4			
			3,75			
			3,50			
	3 h	Cf	4,75	4,50	1,88	98,68
			4,50			
			4,25			
			4,50			
		Ct	2,25	2,62		
			2,75			
			3			
			2,50			
	6 h	Cf	4,25	4,06	2	98,99
			4			
			4			
			4			
		Ct	2	2,06		
			2			
			2,25			
			2			

Tab. 2 - Risultati delle titolazioni virali con tessuto EARTH

TESSUTO JUPITER® e SILVERGUARD JUPITER®

TEST VIRUS	Contact time	Sample ID	Virus Titer	Mean virus titer	Log_{10} reduction	Percent reduction
Bovine Coronavirus	5'	Cf	3,25	3,50	0,50	**68,38**
			3,50			
			3,75			
			3,50			
		Ct	3,75	4,00		
			4			
			4			
			4,25			
	15'	Cf	4	3,75	1,19	**93,08**
			3,50			
			3,75			
			3,75			
		Ct	2,50	2,56		
			2,75			
			2,50			
			2,50			
	30'	Cf	4,25	4,17	2,67	**99,78**
			4			
			4,25			
			4,25			
		Ct	1,5	1,5		
			1			
			1,75			
			1,75			
	1 h	Cf	4	3,94	≥3,69	≥99,98
			3,75			
			4			
			4			
		Ct	≤0,25	≤0,25		
			≤0,25			
			0,25			
			≤0,25			
	3 h	Cf	3,75	4,19	≥3,94	≥99,99
			4,50			
			4,25			
			4,25			
		Ct	≤0,25	≤0,25		
			≤0,25			
			≤0,25			
			≤0,25			
	6 h	Cf	4,25	4,19	≥3,94	≥99,99
			4			
			4,25			
			4,25			
		Ct	≤0,25	≤0,25		
			≤0,25			
			≤0,25			
			≤0,25			

Tab. 3 - Risultati delle titolazioni virali con tessuto JUPITER

TESSUTO VEGA® e SILVERGUARD VEGA®

TEST VIRUS	Contact time	Sample ID	Virus Titer	Mean virus titer	Log_{10} reduction	Percent reduction *
Bovine Coronavirus	5'	Cf	3,25	3,56	N.R.	N.R.
			3,50			
			3,75			
			3,75			
		Ct	3,50	3,62		
			3,75			
			3,75			
			3,50			
	15'	Cf	3,25	3,56	0,37	57,34
			3,50			
			3,75			
			3,75			
		Ct	3	1,19		
			3			
			3,50			
			3,25			
	30'	Cf	3,50	3,62	0,81	84,51
			3,75			
			3,75			
			3,50			
		Ct	3	2,81		
			2,75			
			2,75			
			2,75			
	1 h	Cf	3,50	3,37	1,37	95,73
			3,25			
			3,25			
			3,50			
		Ct	2	2		
			1,75			
			2			
			2,25			
	3 h	Cf	3,25	3,19	2,57	99,73
			3,25			
			3,25			
			3			
		Ct	0,5	0,62		
			0,5			
			0,75			
			0,75			
	6 h	Cf	3,25	3,19	≥3,02	≥99,88
			3			
			3,25			
			3,25			
		Ct	≤0,17	≤0,17		
			≤0,17			
			≤0,17			
			≤0,17			

Tab. 4 - Risultati delle titolazioni virali con tessuto VEGA

Osservazioni

- All'interno del periodo di osservazione (fino a 6 ore), non si è osservata alcuna essiccazione del materiale.
- La fase di risospensione del materiale virale non ha mostrato problemi rilevabili ad occhio nudo.
- Le prove di tossicità cellulare effettuate con tutti i campioni tessili Cf1, 2 e 3; Ct1, 2 e 3 per tutti i tempi di incubazione previsti, sono risultate negative, ovvero non sono stati evidenziati fenomeni di sofferenza del monostrato cellulare né differenze morfologiche e di numerosità rispetto alle colture cellulari di controllo.
- la quantità del virus in grado di replicarsi, nel periodo di osservazione, fino a 6 ore, si è ridotta a livelli trascurabili (vedi confronto del titolo ottenuto con i campioni tessili di controllo Cf 1, 2 e 3 al Tempo 0 e al Tempo 6 ore).
- Era cosa attesa che, nei diversi momenti di campionamento, la quantità di virus misurata potesse essere diversa; pertanto, per la valutazione della dinamica di inattivazione dei campioni tessili da testare (Ct), a ciascun tempo di applicazione, è abbinato il corrispondente titolo virale ottenuto dai campioni tessili di controllo (Cf).
- Non rilevate altre osservazioni/eventi imprevisti.

Conclusioni

- Tessuto Silverguard Jupiter®:
  - Già dopo 5 minuti di incubazione si è evidenziata una riduzione della carica virale rispetto al campione di controllo.
  - A partire dai 15 minuti di incubazione si è evidenziata una significativa riduzione della carica virale rispetto al campione di controllo.
  - Dopo 3 ore di incubazione non si è evidenziata infettività virale residua, con una riduzione del titolo virale che corrisponde ad una percentuale di inattivazione ≥99,99%.

- Tessuto Silverguard Vega®:
  - Già dopo 15 minuti di incubazione si è evidenziata una riduzione della carica virale rispetto al campione di controllo.
  - A partire dai 30 minuti di incubazione si è evidenziata una significativa riduzione della carica virale rispetto al campione di controllo.
  - Dopo 6 ore di incubazione non si è evidenziata infettività virale residua, con una riduzione del titolo virale che corrisponde ad una percentuale di inattivazione ≥99,88%.

- Tessuto Silverguard Earth®:
  - Dopo 15', 30' e 1 ora di incubazione si evidenziano riduzioni della carica virale rispetto al campione di controllo.
  - Dopo 3 ore di incubazione si è evidenziata una significativa riduzione della carica virale rispetto al campione di controllo, confermata anche dopo le 6 ore di incubazione, con riduzioni del titolo virale corrispondenti ad una percentuale di inattivazione rispettivamente di 98,68% e 98,99%.

Si può pertanto concludere che, nelle condizioni di prova applicate al coronavirus bovino, sia stato documentato un elevato potere di inattivazione virale, specie per i tessuti Silverguard Jupiter® e Silverguard Vega®, che va primariamente ascritto al momento dell'applicazione del materiale tessile da testare con la sospensione virale.

Il potere di inattivazione virale sopra descritto è stato accertato con coronavirus bovino; i coronavirus appartengono al gruppo dei virus con envelope, i quali in linea generale, sono considerati alquanto sensibili a fattori di inattivazione; ciò significa che quanto qui osservato non può essere esteso ad altri virus, e questo vale anche per altri virus con envelope.

Legnaro (PD) 24.11.2020

Dott.ssa Lucia Selli
Dir. Veterinario
Laboratorio di Virologia Diagnostica
Struttura Complessa Territoriale 3 (SCT3)
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie