

## DETERMINAZIONE DELL' ATTIVITA' ANTIVIRALE SU PLASTICHE E ALTRE SUPERFICI NON POROSE

### MEASUREMENT OF ANTIVIRAL ACTIVITY ON PLASTICS AND OTHER NON-POROUS SURFACES

<b>COMMITTENTE / CUSTOMER</b>	<b>CoLibri System S.p.A. Via Ripamonti 44 20141 Milano (MI)</b>
<b>SPONSOR</b>	<b>CoLibri System S.p.A. Via Ripamonti 44 20141 Milano (MI)</b>
<b>CAMPIONE / SAMPLE</b>	<b>Copertine Buste Colibri Shield rosso trattato vs. verde non trattato Lotto/Batch: n.p.</b>
<b>DATA REPORT / REPORT DATE</b>	<b>05/02/2021</b>
<b>REPORT N°</b>	<b>REL/0311/2021/AAT/ELB</b>

## Indice / Table of contents

<b>1</b>	<b>PARTE PRIMA / PART ONE</b>	<b>INFORMAZIONI GENERALI / GENERAL INFORMATION</b>	<b>3</b>
1.1	COMMITTENTE / CUSTOMER		3
1.2	SPONSOR		3
1.3	CAMPIONE ANALIZZATO / TESTED SAMPLE		3
1.4	CONTROLLO / CONTROL		3
1.5	TEST / ASSAY		4
1.6	LABORATORIO INCARICATO / ENTRUSTED LABORATORY		4
1.7	DATE DELLO STUDIO / STUDY DATES		4
1.8	RICERCATORE PRINCIPALE / MAIN INVESTIGATOR		4
1.9	DIRETTORE DELLO STUDIO / STUDY DIRECTOR		4
1.10	RESPONSABILE ASSICURAZIONE QUALITÀ / QUALITY ASSURANCE MANAGER		4
<b>2</b>	<b>PARTE SECONDA / PART TWO</b>	<b>PROTOCOLLO SPERIMENTALE / STUDY DESIGN</b>	<b>5</b>
2.1	SCOPO DEL TEST / PURPOSE OF THE TEST		5
2.2	VIRUS E CELLULE UTILIZZATI E METODICA / VIRUS AND CELLS USED AND METHOD		5
2.3	CONDIZIONI DI TEST / TEST CONDITIONS		6
2.4	DETERMINAZIONE DEL TITOLO VIRALE / DETERMINATION OF THE VIRUS TITRE		7
2.5	ATTIVITÀ VIRUCIDA / VIRUCIDAL ACTIVITY		7
2.6	CONTROLLO DELL'EFFETTO CITOTOSSICO SULLE CELLULE / VERIFICATION OF CYTOTOXIC EFFECT ON HOST CELL		8
2.7	VERIFICA DELLA SENSIBILITÀ DELLE CELLULE AL VIRUS ED INATTIVAZIONE DELL'ATTIVITÀ ANTIVIRALE / CHECK OF CELL SENSITIVITY TO THE VIRUS AND ANTIVIRAL ACTIVITY INACTIVATION		8
2.8	VALUTAZIONE DEI RISULTATI / EVALUATION OF RESULTS		10
<b>3</b>	<b>PARTE TERZA / PART THREE</b>	<b>RISULTATI E CONCLUSIONI / RESULTS AND CONCLUSIONS</b>	<b>12</b>
3.1	CONDIZIONI PER LA VALIDITÀ DEL TEST / CONDITIONS FOR THE TEST COMPLIANCE		122
3.2	VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ VIRUCIDA / VIRUCIDAL ACTIVITY EVALUATION		133
3.3	CONCLUSIONI / CONCLUSIONS		144
<b>4</b>	<b>PARTE QUARTA / PART FOUR</b>	<b>RIFERIMENTI / REFERENCES</b>	<b>155</b>

### Nota/Note:

Il risultato dei test citati nel presente rapporto si riferisce esclusivamente al/ai prodotto/i testato/i e alle particolari condizioni sperimentali impiegate nel test. Il presente rapporto non può essere riprodotto parzialmente senza il consenso preliminare scritto degli sperimentatori.

The results of the test in this report refer only to the tested product/s and to the particular experimental conditions here employed. This report cannot be partially duplicated without the preliminary written approval of the experimenters.

# 1 PARTE PRIMA / PART ONE INFORMAZIONI GENERALI / GENERAL INFORMATION

## 1.1 *Committente / Customer*

CoLibri System S.p.A.  
Via Ripamonti 44  
20141 Milano (MI)

## 1.2 *Sponsor*

CoLibri System S.p.A.  
Via Ripamonti 44  
20141 Milano (MI)

## 1.3 *Campione analizzato / Tested sample*

Campione Sample	Codice interno Internal Code	Descrizione Description
Copertine Buste Colibri Shield rosso trattato vs. verde non trattato  Lotto: n.p.	4719/20-01	plastica in polietilene

## 1.4 *Controllo / Control*

Controllo/Control	Fornitore / Supplier	Descrizione Description
Supporto senza trattamento antivirale / Support without antiviral treatment**	**controllo fornito dal committente / control supplied by the customer	plastica in polietilene

Produttore/Manufacturer: CoLibri System S.p.A.

Data di arrivo/Date of arrival: 21/10/2020

Temperatura di conservazione/Storage temperature: non indicata, il campione è stato conservato a  
temperatura ambiente/ not specified by the manufacturer, stored at room temperature

### 1.5 Test / Assay

Test per la valutazione dell'attività antivirale su plastiche e altre superfici non porose di prodotti trattati con antivirali contro specifici virus. L'attività antivirale viene valutata mediante la metodica descritta nella norma ISO 21702:2019 con alcune opportune modifiche, utilizzando tre ceppi virali (Influenza A virus, Feline calicivirus e Human coronavirus) e i tempi di contatto indicati.

*Test method for the evaluation of the antiviral activity on plastics and other non-porous surfaces. The antiviral activity is evaluated through the method described in the ISO 21702:2019 standard, with some appropriate changes, using three viral strains (Influenza A virus, Feline calicivirus and Human coronavirus) and the reported contact times.*

### 1.6 Laboratorio incaricato / Entrusted laboratory

ABICH S.r.l. - Via 42 Martiri 213/B – 28924  
Verbania - tel +39 (0)323 586239 fax +39 (0)323 496877

### 1.7 Date dello studio / Study dates

Inizio / Start: 01/12/2020  
Fine / End: 05/02/2021

### 1.8 Ricercatore principale / Main investigator

Dr.ssa Giulia Gherardi, Biotecnologo Medico/Medical  
Biotechnologist  
ABICH S.r.l.

### 1.9 Direttore dello studio / Study Director

Dr.ssa Elena Bocchietto, Biologa specialista in  
Biotecnologie / Biology, Biotechnology Specialist  
ABICH S.r.l.

### 1.10 Responsabile assicurazione qualità / Quality assurance manager

Dr. Emanuele Caravati, PhD  
ABICH S.r.l.

## 2 PARTE SECONDA / PART TWO PROTOCOLLO SPERIMENTALE / STUDY DESIGN

### 2.1 *Scopo del test / Purpose of the test*

Lo scopo del test è stabilire se il prodotto in oggetto possiede attività antivirale ai tempi di contatto e nelle condizioni previste.

L'attività antivirale è stata valutata utilizzando tre ceppi virali, nello specifico Influenza A virus, un virus umano a RNA non incapsulato, Feline calicivirus, un virus felino a RNA e Human coronavirus, un virus umano a RNA. La riduzione del titolo virale viene calcolata mediante confronto tra il campione trattato e il campione non trattato.

*The aim of the test is to evaluate if the investigated product shows antiviral activity with the times of contact and the conditions described.*

*The antiviral activity has been evaluated against three viral strains: Influenza A virus (a human not enveloped RNA virus), Feline calicivirus (a feline not enveloped RNA virus) and Human coronavirus (a human RNA virus). The reduction of the viral titre is calculated by comparing the treated sample with the untreated one.*

### 2.2 *Virus e cellule utilizzati e metodica / Virus and cells used and method*

I ceppi virali utilizzati sono descritti in tabella 2.2.1, insieme alle cellule ospiti. Il virus originale è stato scongelato e fatto adsorbire sulle cellule all' 80-90% circa di confluenza secondo quanto descritto nella norma e quindi lasciato incubare a  $35\pm 1^{\circ}\text{C}$  con il 5% di  $\text{CO}_2$  fino ad ottenere un titolo  $\text{TCID}_{50}/\text{ml}$  pari a circa 6-7 Log.

*The viral strains used in this study are reported in table 2.2.1 together with the host cells. The virus original strain has been defrosted and adsorbed on the cells at 80-90% confluence according to the standard and incubate at  $35\pm 1^{\circ}\text{C}$  with 5%  $\text{CO}_2$  until reaching a titre  $\text{TCID}_{50}/\text{ml}$  between 6 and 7 Log.*

**Tabella / Table 2.2.1 – Ceppo utilizzato e inoculo / Used strain and inoculum**

<b>CEPPO VIRALE VIRAL STRAIN</b>	<b>CELLULE CELLS</b>	<b>Inoculo iniziale / starting inoculum (Log <math>\text{TCID}_{50}/\text{ml}</math>)</b>
<i>Influenza A virus (H1N1) Strain: A/Virginia/ATCC1/2009 ATCC VR1736 Passaggio P4/passage P4</i>	<i>MDCK ATCC CCL34 Passaggio P66/passage P66</i>	<b>6,83</b>
<i>Feline calicivirus Strain: F9 ATCC VR782 Passaggio P3/passage P3</i>	<i>CRFK ATCC CCL94 Passaggio P194/passage P194</i>	<b>7,00</b>
<i>Human coronavirus 229E Strain: 229E ATCC VR740 Passaggio P4/passage P4</i>	<i>MRC5 ATCC CCL171 Passaggio P20/passage P20</i>	<b>6,50</b>

Le cellule MDCK vengono coltivate in MEM + 10% FBS, addizionato con L-glutammina, aminoacidi non essenziali, penicillina e streptomina (Growth medium).

Per l'esecuzione del test vengono impiegate cellule al 80-90% di confluenza, e il terreno è addizionato con tripsina, BSA e HEPES buffer (maintenance medium) / *the MDCK cells were grown in MEM + 10% FBS + L-glutamine, non-essential amino acids, penicillin, streptomycin (Growth Medium). To carry out the virucidal test cells at 80-90% confluence were used with trypsin, BSA and HEPES buffer medium (maintenance medium).*

Le cellule CRFK vengono coltivate in MEM + 10% horse serum, addizionato con L-glutammina, aminoacidi non essenziali, penicillina e streptomina e gentamicina (Growth medium).

Le cellule MRC5 vengono coltivate in MEM + 10% FBS, addizionato con L-glutammina, aminoacidi non essenziali, penicillina e streptomina e gentamicina (Growth medium).

Per l'esecuzione del test vengono impiegate cellule > 80% di confluenza, e il terreno impiegato è addizionato di FBS al 2% (maintenance medium) / *the CRFK cells were grown in MEM + 10% horse serum + L-glutamine, non-essential amino acids, penicillin and streptomycin (Growth Medium).*

*The MRC5 cells were grown in MEM + 10% FBS + L-glutamine, non-essential amino acids, penicillin, streptomycin and gentamicin (Growth Medium). To carry out the virucidal test cells at >80% confluence were used with 2% FBS medium (maintenance medium).*

I terreni utilizzati e le temperature di crescita dei virus sono indicati nel product sheet specifico di ogni linea cellulare e ceppo virale che viene fornito da ATCC / *the media used and the temperatures for the virus growth are specific to every cell line and virus and released from ATCC.*

## 2.3 Condizioni di test / Test conditions

Campioni testati: 15 non trattati + 12 trattati

Dimensione del campione: plastica (polietilene), 50±2 mm x 50±2 mm e spessore <10mm

Metodo di pulizia del campione: raggi UV

Film protettivo: film in PE 40±2 mm x 40±2 mm

Tempo di contatto: 4 ore e 24 ore

Temperatura: 25°C± 1, umidità > 90%

Neutralizzazione del prodotto: brodo SCDLP indicato dalla norma ISO 21702:2019 e filtrazione con colonnine MicroSpin S400 HR

*Test specimens: 15 untreated + 12 treated*

*Sample size: plastic (polyethylene), 50±2 mm x 50±2 mm + thickness <10mm*

*Cleaning method of the sample: UV ray*

*Cover film: PE cover film 40±2 mm x 40±2 mm*

*Contact time: 4 and 24 hours*

*Temperature: 25°C± 1, humidity > 90%*

*Neutralization of the product: SCDLP broth according to ISO 21702:2019 and filtration with MicroSpin S400 HR columns*

## 2.4 **Determinazione del titolo virale/determination of the virus titre**

L'infettività della soluzione virale viene determinata nelle condizioni di test mediante il Quantal test secondo Spearman and Kärber, sulle cellule ospite seminate in monostrato in piastre da 96 pozzetti. La sospensione virale viene piastrata in diluizioni 1:10 successive e viene calcolata la TCID<sub>50</sub>/ml cioè la concentrazione che è in grado di indurre alterazioni morfologiche o distruzione cellulare (CPE) in almeno il 50% delle cellule. I risultati sono registrati come 0 (no CPE), 1 (circa il 25% delle cellule mostrano CPE) fino a 4 (100% delle cellule mostrano CPE). Il titolo deve essere calcolato con un intervallo di confidenza del 95%. Questo principio di calcolo si applica anche ai campioni testati.

*The infectivity of the viral solution has been determined in the testing condition through the Quantal test according to Spearman and Kärber, on the host cells seeded in monolayers in 96 wells plates. The viral suspension is added to the wells in serial dilutions 1:10 to calculate the TCID<sub>50</sub>/ml, that is the concentration able to cause morphological alteration or cell destruction (CPE) in at least 50% of the cells. Results are registered from 0 (no CPE), 1 (around 25% of CPE) to 4 (100% cells show CPE). The titre must be calculated with a 95% of confidence level.*

## 2.5 **Attività virucida/virucidal activity**

Per la determinazione dell'attività virucida esercitata dal campione oggetto di test, è stato effettuato un inoculo di 400 µl di virus su 6 campioni trattati e 9 campioni non trattati.

Subito dopo l'inoculo, sono stati aggiunti 4 ml di brodo neutralizzante SCDLP a 3 campioni non trattati e di questi è stata eseguita la titolazione.

Il titolo virale dei campioni di prova non trattati verrà utilizzato per determinare il tasso di recupero del virus.

Gli altri campioni, inoculati con il virus, sono stati coperti con un film protettivo di dimensione 40 mm x 40 mm in modo tale da rendere uniforme l'inoculo e sono stati incubati per il tempo di contatto (T=4 e 24h) a 25°C ± 1, con umidità > 90%.

Dopo il tempo di contatto, sono stati aggiunti 4 ml di brodo neutralizzante SCDLP ai campioni non trattati e trattati e di questi è stata eseguita la titolazione.

In caso di presenza di citotossicità, i 100 µl prelevati vengono filtrati su colonnina MicroSpin S400 HR e quindi ulteriormente diluiti in serie 1:10 successive in terreno di mantenimento per la successiva semina in piastra sulle cellule.

A questo punto, le piastre sono state incubate a 35°C, 5% CO<sub>2</sub> per 1h, dopo la quale è stata aggiunta un'altra aliquota di terreno e l'incubazione è proseguita per il tempo necessario.

La lettura delle CPE tramite osservazione al microscopio rovesciato a contrasto di fase, permette di valutare il danno e attribuire un valore da 0 a 4 e il successivo calcolo del Log TCID<sub>50</sub>.

Ogni diluizione è piastrata in sestuplicato e dodici pozzetti sono trattati con il solo terreno di mantenimento, come controlli non trattati.

*To determine the virucidal activity of the tested sample, an inoculum of 400 µl of the virus has been added to 6 treated samples and 9 untreated samples.*

*Immediately after inoculation, 4 ml of SCDLP neutralizing broth have been added to 3 untreated samples and the titration has been performed.*

*The number of the infectivity titre of virus recovered from the untreated test specimens will be used to determine the recovery rate of the virus.*

*The remaining samples, inoculated with the virus, have been covered with a piece of film that measures 40 mm x 40 mm to spread the inoculum and incubated for the contact time (T=4 and 24h) at 25°C ± 1, humidity > 90%.*

*After the defined contact time, 4 ml of SCDLP neutralizing broth have been added to the treated and the untreated samples and the titration has been performed.*

*If cytotoxicity occurs, the 100 µl withdrawn will be filtered on MicroSpin S400 HR column, then further diluted in 1:10 serial dilution in maintenance medium for plating on the cells.*

*Plates have been incubated at 35°C, 5% CO<sub>2</sub> for 1 h, then other medium has been added and the incubation carried out for the necessary further days. The CPE reading through inverse and phase contrast microscope observation allows to evaluate the cell damage and gives a value between 0 and 4, to calculate the Log TCID<sub>50</sub> value.*

*Every dilution has been plated in 6 replica and 12 wells, with the maintenance medium only, have been used as negative control.*

## **2.6 Controllo dell'effetto citotossico sulle cellule/verification of cytotoxic effect on host cells**

La citotossicità del prodotto è stata valutata aggiungendo 10 ml di brodo neutralizzante SCDLP a 3 campioni trattati e 3 campioni non trattati.

I 100 µl prelevati sono stati diluiti in serie 1:10 successive in terreno di mantenimento per la successiva semina in piastra sulle cellule.

Se il prodotto dovesse risultare citotossico, i 100 µl prelevati verranno filtrati su colonnina MicroSpin S400 HR (come descritto nel paragrafo 2.5).

*The product cytotoxicity has been tested with the addition of 10 ml of SCDLP broth to 3 treated and 3 untreated samples.*

*The 100 µl withdrawn have been diluted in 1:10 serial dilutions in maintenance medium for plating on the cells.*

*If the product is cytotoxic, the 100 µl withdrawn will be filtered on MicroSpin S400 HR column (as described in paragraph 2.5).*

## **2.7 Verifica della sensibilità delle cellule al virus ed inattivazione dell'attività antivirale / Check of cell sensitivity to the virus and antiviral activity inactivation**

La verifica è stata eseguita aggiungendo 10 ml di brodo SCDLP a 3 campioni trattati e 3 campioni non trattati. In seguito, sono stati prelevati 5 ml da ogni campione e messi in una provetta nuova.

In parallelo, sono state preparate 3 provette con 5 ml di brodo SCDLP fresco.

Sono stati aggiunti 50 µl di virus in ogni provetta e tutte le provette sono state incubate per 30 minuti a 25°C, 90% umidità.

Finito il tempo di incubazione, sono stati prelevati 100 µl, diluiti in serie 1:10 successive in terreno di mantenimento e poi seminati in piastra sulle cellule.

*This check has been performed by adding 10 ml of SCDLP neutralizing broth to 3 treated and 3 untreated samples.*

*Thereafter, 5 ml have been withdrawn from each sample and transferred in a new tube. In the meantime, 3 new tubes with 5 ml of fresh SCDLP neutralizing broth have been prepared.*



*In each of the 9 tubes, 50 µl of virus have been added and the tubes have been incubated for 30 minutes at 25°C, 90% umidity. After this time of incubation, 100 µl have been withdrawn and then further diluted in 1:10 serial dilutions in maintenance medium for plating on the cells.*

**Sede legale  
e laboratori**

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924  
**Verbania (VB), Italia**

Tel. +39 0323 586239  
Fax +39 0323 496877  
[info@abich.it](mailto:info@abich.it)

CF/VAT/Reg. Imp.  
VCO: 01864020035  
R.E.A: 189901  
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

**Centro Studi Clinici  
e Cosmetologici**

Via Della Burrone 51, 20055  
**Vimodrone (MI), Italia**

[www.abich.it](http://www.abich.it)

## 2.8 Valutazione dei risultati / Evaluation of results

L'infettività virale è calcolata con la seguente formula / *the infectivity titre of virus is calculated as follow:*

$$S = (10 \times P)$$

dove / *where:*

**S:** infettività del virus per ml per sospensione del test / *infectivity titre of virus per ml per test suspension*

**P:** TCID<sub>50</sub> medio / *average of TCID<sub>50</sub>*

Per ogni campione viene determinata l'infettività del virus recuperato, con la seguente formula / *for each test specimen, determine the infectivity titre of virus recovered in accordance with the formula:*

$$N = (10 \times \text{TCID}_{50}/\text{ml} \times V) / A$$

dove / *where:*

**N:** infettività del virus recuperato per cm<sup>2</sup> di campione / *infectivity titre of virus recovered per cm<sup>2</sup> of test specimen*

**V:** volume in ml del brodo SCDLP aggiunto al campione / *volume in ml of the SCDLP broth added to the specimen*

**A:** superficie del film di copertura in cm<sup>2</sup> / *surface area of the cover film in cm<sup>2</sup>*

Per calcolare l'attività antivirale viene utilizzata la seguente formula / *the antiviral activity is calculated as follows:*

$$R = (U_t - U_0) - (A_t - U_0) = U_t - A_t$$

Dove / *where:*

**R:** attività antivirale/*antiviral activity*

**U<sub>0</sub>:** media del logaritmo del TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup> dei tre campioni non trattati subito dopo l'inoculo / *average of the common logarithm of the TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup> immediately after inoculation of the three untreated samples*

**U<sub>t</sub>:** media del logaritmo del TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup> dei tre campioni non trattati dopo il tempo di contatto / *average of the common logarithm of the TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup> of the three untreated samples after the contact time*

**A<sub>t</sub>:** media del logaritmo del TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup> dei tre campioni trattati dopo il tempo di contatto / *average of the common logarithm of the TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup> of the three treated samples after the contact time*

L'efficacia antivirale del trattamento viene valutata in base all'abbattimento logaritmico R / *The antiviral activity is evaluated according to the logarithmic reduction R.*

Il test viene ritenuto valido quando sono soddisfatte le seguenti condizioni / *Test is considered valid when the following conditions are satisfied:*

- 1) L'infettività del virus in TCID<sub>50</sub>/ml del brodo SCDLP del controllo negativo (S<sub>n</sub>) comparata con il campione non trattato (S<sub>u</sub>) o il campione trattato (S<sub>t</sub>) deve rispettare la seguente condizione / *by comparing the TCID<sub>50</sub>/ml infectivity titre of virus from SCDLP broth from negative control (S<sub>n</sub>) with that from the untreated test specimen (S<sub>u</sub>) or the treated specimen (S<sub>t</sub>), the logarithmic value shall satisfy these requirements:*

$$|S_n - S_u| \leq 0,5$$

$$|S_n - S_t| \leq 0,5$$

- 2) il valore logaritmico TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup> ricavato immediatamente dopo l'inoculo dai tre campioni non trattati deve soddisfare la seguente condizione: / *The logarithmic value of TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup> recovered immediately after inoculation from the three untreated test specimens shall satisfy this condition:*

$$[(\text{Log}_{\text{Max}} - \text{Log}_{\text{Min}}) / \text{Log}_{\text{mean}}] \leq 0,2$$

- 3) il TCID<sub>50</sub> medio recuperato immediatamente dopo l'inoculo dai tre campioni non trattati deve essere compreso tra 2,5 x 10<sup>5</sup> e 1,2 x 10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup> / *the average of TCID<sub>50</sub> recovered immediately after inoculation of the three untreated samples shall be within the range of 2,5 x 10<sup>5</sup> e 1,2 x 10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup>*
- 4) il TCID<sub>50</sub> medio recuperato dai tre campioni non trattati dopo 24 ore di contatto non deve essere inferiore a 6,2 x 10<sup>2</sup> TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup> / *the average of TCID<sub>50</sub> recovered from the three untreated samples after 24 hours of contact shall not be less than 6,2 x 10<sup>2</sup> TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup>*
- 5) l'efficienza soppressiva dell'attività del campione deve essere confermata / *the suppressive efficiency of the agent's activity must be confirmed.*

### 3 PARTE TERZA / PART THREE RISULTATI E CONCLUSIONI / RESULTS AND CONCLUSIONS

#### 3.1 Condizioni per la validità del test / *Conditions for the test compliance*

<b>Condizione/condition</b>	<b>Risultato /Result</b>	<b>Valutazione/Evaluation</b> Conforme/Non conforme Pass/Fail
$ S_n - S_u  \leq 0,5$ $ S_n - S_t  \leq 0,5$	<i>Influenza A virus</i> $\leq 0,5$	CONFORME/PASS
	<i>Feline calicivirus</i> $\leq 0,5$	CONFORME/PASS
	<i>Human coronavirus 229E</i> $\leq 0,5$	CONFORME/PASS
$[(\text{LogMax} - \text{LogMin}) / \text{Logmean}] \leq 0,2$	<i>Influenza A virus</i> $\leq 0,2$	CONFORME/PASS
	<i>Feline calicivirus</i> $\leq 0,2$	CONFORME/PASS
	<i>Human coronavirus 229E</i> $\leq 0,2$	CONFORME/PASS
Il TCID <sub>50</sub> medio recuperato immediatamente dopo l'inoculo dai tre campioni non trattati deve essere compreso tra $2,5 \times 10^5$ e $1,2 \times 10^6$ TCID <sub>50</sub> /cm <sup>2</sup> / <i>the average of TCID<sub>50</sub> recovered immediately after inoculation of the three untreated samples shall be within the range of <math>2,5 \times 10^5</math> e <math>1,2 \times 10^6</math> TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup></i>	<i>Influenza A virus</i>	CONFORME/PASS
	<i>Feline calicivirus</i>	CONFORME/PASS
	<i>Human coronavirus 229E</i>	CONFORME/PASS
Il TCID <sub>50</sub> medio recuperato dai tre campioni non trattati dopo 24 ore di contatto non deve essere inferiore a $6,2 \times 10^2$ TCID <sub>50</sub> /cm <sup>2</sup> / <i>the average of TCID<sub>50</sub> recovered from the three untreated samples after 24 hours of contact shall not be less than <math>6,2 \times 10^2</math> TCID<sub>50</sub>/cm<sup>2</sup></i>	<i>Influenza A virus</i>	CONFORME/PASS
	<i>Feline calicivirus</i>	CONFORME/PASS
	<i>Human coronavirus 229E</i>	CONFORME/PASS

La condizione del test è soddisfatta per tutti i parametri / *All the test conditions are fulfilled*

### 3.2 Valutazione dell'attività virucida/ *Virucidal activity evaluation*

Ceppo virale <i>Viral strain</i>	Media T0 non trattato / <i>Average T0 untreated</i> (U <sub>0</sub> )	Media T4h non trattato / <i>Average T4h untreated</i> (U <sub>t</sub> )	Media T4h trattato / <i>Average T4h treated</i> (A <sub>t</sub> )	Abbattimento log / <i>Log reduction</i> (R)	Riduzione virale / viral reduction
<i>Influenza A virus (H1N1)</i>	6,09	4,05	3,09	0,96	86%
<i>Feline calicivirus</i>	6,06	5,68	5,56	0,12	11%
<i>Human coronavirus 229E</i>	5,22	4,35	4,17	0,18	16%

Ceppo virale <i>Viral strain</i>	Media T0 non trattato / <i>Average T0 untreated</i> (U <sub>0</sub> )	Media T24h non trattato / <i>Average T24h untreated</i> (U <sub>t</sub> )	Media T24h trattato / <i>Average T24h treated</i> (A <sub>t</sub> )	Abbattimento log / <i>Log reduction</i> (R)	Riduzione virale / viral reduction
<i>Influenza A virus (H1N1)</i>	6,09	3,63	2,77	0,86	77%
<i>Feline calicivirus</i>	6,06	3,35	2,59	0,76	69%
<i>Human coronavirus 229E</i>	5,22	3,46	2,59	0,87	78%

I risultati indicano che il prodotto testato mostra efficacia virucida verso Influenza A virus (H1N1), Feline calicivirus e Human coronavirus 229E/ *Results indicates that the tested product shows virucidal activity against Influenza A virus (H1N1), Feline calicivirus and Human coronavirus 229E.*

L'efficacia virucida è stata verificata dopo il tempo di contatto previsto T = 4 e 24 ore /*The virucidal activity has been checked after the defined contact time T = 4 and 24 hours.*

### 3.3 Conclusioni / Conclusions

Sulla base dei risultati sopra riportati il campione testato: / on the base of the results above reported, the product:

#### **Copertine Buste Colibrì Shield rosso trattato vs. verde non trattato**

**Lotto/Batch: n.p.**

**Codice interno/Internal code: 4719/20-01**

mostra una riduzione virale dell'86% nei confronti di Influenza A virus (H1N1) dopo 4 ore di contatto e del 69% per Feline calicivirus e 78% per Human coronavirus 229E dopo 24 ore di contatto / *shows a viral reduction of 86% against Influenza A virus (H1N1) after 4 hours of contact and a reduction of 69% against Feline calicivirus and 78% against Human coronavirus 229E after 24 hours of contact.*

Data/Date: 05/02/2021

Direttore dello studio  
*Study Director*  
Dott.ssa Elena Bocchietto  
Documento con firma digitale

**Sede legale  
e laboratori**

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924  
**Verbania (VB), Italia**

Tel. +39 0323 586239  
Fax +39 0323 496877  
[info@abich.it](mailto:info@abich.it)

CF/VAT/Reg. Imp.  
VCO: 01864020035  
R.E.A: 189901  
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

**Centro Studi Clinici  
e Cosmetologici**

Via Della Burrone 51, 20055  
**Vimodrone (MI), Italia**

[www.abich.it](http://www.abich.it)

## 4 PARTE QUARTA / PART FOUR RIFERIMENTI / REFERENCES

ISO 21702:2019(E) – Measurement of antiviral activity on plastics and other non-porous surfaces

### Sede legale e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924  
**Verbania (VB), Italia**

Tel. +39 0323 586239  
Fax +39 0323 496877  
[info@abich.it](mailto:info@abich.it)

CF/VAT/Reg. Imp.  
VCO: 01864020035  
R.E.A: 189901  
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

### Centro Studi Clinici e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20055  
**Vimodrone (MI), Italia**

[www.abich.it](http://www.abich.it)