



**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA  
LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA "BRUNO UBERTINI"**

(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

**BRESCIA**

Sede Legale: Via Bianchi, 9 – 25124 Brescia  
Tel 03022901 – Fax 0302425251 – Email [info@izsler.it](mailto:info@izsler.it)  
C.F. - P.IVA 00284840170  
N. REA CCIAA di Brescia 88834

Via Bianchi, 9  
25124 BRESCIA  
(Italy)

Tel. + 39 030-2290289

Fax: +39 030-2290535

E-mail:

[virologia@izsler.it](mailto:virologia@izsler.it)

[virologia@cert.izsler.it](mailto:virologia@cert.izsler.it)

**REPARTO DI VIROLOGIA**

Prot VS: 25 /2020



**Istituto Zooprofilattico Sperimentale della  
Lombardia e dell'Emilia-Romagna  
"B. Ubertini"**

# **PROVE IN VITRO PER VALUTARE IL POTERE INATTIVANTE DI 3 SOSTANZE MASK-AGB VERSO IL BETA-CORONAVIRUS**

**Report Finale**

**Ana Moreno**

Laboratorio di Virologia e Sierologia Specializzata e Microscopia Elettronica

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna

Via Bianchi, 9 – 25124 Brescia, Italy

Phone: +39 030 2290347

Fax: +39 030 2290535



**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA  
LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA "BRUNO UBERTINI"**

(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

**BRESCIA**

Sede Legale: Via Bianchi, 9 – 25124 Brescia  
Tel 03022901 – Fax 0302425251 – Email [info@izsler.it](mailto:info@izsler.it)  
C.F. - P.IVA 00284840170  
N. REA CCIAA di Brescia 88834

Via Bianchi, 9  
25124 BRESCIA  
(Italy)  
Tel. + 39 030-2290289  
Fax: +39 030-2290535  
E-mail:  
[virologia@izsler.it](mailto:virologia@izsler.it)  
[virologia@cert.izsler.it](mailto:virologia@cert.izsler.it)

**REPARTO DI VIROLOGIA**

Il protocollo previsto è stato messo a punto per valutare il potere inattivante di tre sostanze di argento colloidale Base AGB 3K con differenti concentrazioni verso un Beta-Coronavirus appartenente allo stesso genere del SARS-CoV-2. Per ogni sostanza sono stati valutati tre tempi di contatto diversi, 10, 30 e 60 minuti. È stato utilizzato come modello di beta-coronavirus un ceppo di coronavirus bovino (BCoV) titolato sulla linea cellulare HRT18. Il protocollo ha compreso le seguenti fasi:

- a) Controllo di tossicità della sostanza inattivante (protocolli IZSLER n. 178648/2020 e 241415/2020): Sono state provate 3 sostanze inattivanti (AGB 3K preparato) definite:**
  1. Sostanza 1: Mask Extra AGB
  2. Sostanza 2: Mask 100AGB
  3. Sostanza 3: Mask 50AGB
- b) Preparazione di una sospensione virale di un Beta-Coronavirus bovino (Bov-CoV ceppo 9WBL77) con un titolo virale di  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml utilizzando la linea cellulare HRT18.**
- c) Contatto di ogni sostanza con la sospensione virale di Bov-CoV (9WBL77) contenenti  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml per i tre tempi stabiliti: 10 min; 30min; 60min.**
- d) Titolazione delle miscele (sostanza + sospensione virale) in micropiastre 96w con utilizzo della linea cellulare HRT18 (protocollo IZSLER n. 241549/2020).**
- e) Valutazione della persistenza del potere inattivante della sostanza 1 (protocollo IZSLER n. 241549/2020).**

**a - Controllo di tossicità della sostanza inattivante**

Sono state inoculate le sostanze 1, 2, e 3 in 2 diluizioni (TQ, 2,) sulle cellule HRT-18 per valutare la presenza di effetto tossico sulla coltura cellulare. Non è stato rilevato effetto tossico sulle cellule HRT-18 per le tre sostanze testate.

**b- Titolazione della sospensione virale utilizzata**

La sospensione virale di Bov-CoV utilizzata nelle prove in vitro è stata nuovamente titolata durante l'esecuzione delle prove per confermare il titolo virale della sospensione. Il titolo virale è stato calcolato con il metodo di Reed e Muench utilizzando 8 10log diluizioni dalla -1 alla -8 (10 repliche per diluizione). Il titolo virale è stato espresso in tissue culture infectious dose 50 (TCID<sub>50</sub>) per ml di sospensione virale. Il titolo virale è risultato essere di  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ ml.



**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA  
LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA "BRUNO UBERTINI"**

(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

**BRESCIA**

Sede Legale: Via Bianchi, 9 – 25124 Brescia  
Tel 03022901 – Fax 0302425251 – Email [info@izsler.it](mailto:info@izsler.it)  
C.F. - P.IVA 00284840170  
N. REA CCIAA di Brescia 88834

Via Bianchi, 9  
25124 BRESCIA  
(Italy)

Tel. + 39 030-2290289

Fax: +39 030-2290535

E-mail:

[virologia@izsler.it](mailto:virologia@izsler.it)  
[virologia@cert.izsler.it](mailto:virologia@cert.izsler.it)

**REPARTO DI VIROLOGIA**

**c-d – Preparazione della miscela virus + sostanza inattivate con tempo di contatto e titolazione virale della miscela**

**c - d.1 - Sostanza 1: Mask Extra AGB + Bov-CoV sospensione virale**

c.1.1- tempo 10 min

Titolazione virale: Assenza di crescita virale

c.1.2- tempo 30 min

Titolazione virale: Assenza di crescita virale

c.1.3 - tempo 60 min

Titolazione virale: Assenza di crescita virale

**c-d .2 Sostanza 2: Mask 100 AGB + Bov-CoV sospensione virale**

c.2.1- tempo 10 min

Titolazione virale: Assenza di crescita virale

c.2.2- tempo 30 min

Titolazione virale: Assenza di crescita virale

c.2.3 - tempo 60 min

Titolazione virale: Assenza di crescita virale

**c-d.3 Sostanza 3: Mask 50 AGB + Bov-CoV sospensione virale**

c.3.1- tempo 10 min

Titolazione virale: Assenza di crescita virale

c.3.2- tempo 30 min

Titolazione virale: Assenza di crescita virale

c.3.3 - tempo 60 min

Titolazione virale: Assenza di crescita virale

**e- Valutazione della persistenza del potere inattivante della sostanza 1**

La persistenza del potere inattivate della sostanza 1 (Mask extra AGB) è stata valutata mantenendo la sostanza in piastra Petri all'aperto per 48 ore a temperatura ambiente ed in seguito mettendola a contatto con la sospensione di Bov-CoV per 10 minuti.

La titolazione virale della miscela sostanza 48h -virus ha rilevato assenza di crescita virale.



**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA  
LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA "BRUNO UBERTINI"**

(ENTE SANITARIO DI DIRITTO PUBBLICO)

**BRESCIA**

Sede Legale: Via Bianchi, 9 – 25124 Brescia  
Tel 03022901 – Fax 0302425251 – Email [info@izsler.it](mailto:info@izsler.it)  
C.F. - P.IVA 00284840170  
N. REA CCIAA di Brescia 88834

Via Bianchi, 9  
25124 BRESCIA  
(Italy)  
Tel. + 39 030-2290289  
Fax: +39 030-2290535  
E-mail:  
[virologia@izsler.it](mailto:virologia@izsler.it)  
[virologia@cert.izsler.it](mailto:virologia@cert.izsler.it)

**REPARTO DI VIROLOGIA**

**Conclusioni**

In conclusione tutte le sostanze testate hanno dimostrato di essere in grado di inattivare totalmente una sospensione virale di un beta coronavirus bovino contenente  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml dopo i tre tempi di contatto previsti. Inoltre, è stata dimostrata la persistenza del potere inattivante della sostanza 1 dopo 48 ore.

Brescia, 13 Agosto 2020

Laboratorio di Virologia e Sierologia  
Specializzata e Microscopia Elettronica