



UNIVERSITÀ
DI SIENA
1240

Dipartimento di Medicina Molecolare e dello Sviluppo

Il report è stato redatto ai sensi del contratto del 17-10-2018, tra l'Università
Degli studi di Siena e Light Progress

Report (version 1.0)

Siena, 21 Giugno 2020

VALUTAZIONE DELL'AZIONE VIRUCIDA TRAMITE IL SISTEMA DI LAMPADE LED UV-C LIGHT PROGRESS





INDICE

- ❖ OBIETTIVO
- ❖ LAMPADA UV-C LED
- ❖ PARAMETRI STABILITI PER I TEST
- ❖ METODO
- ❖ DISCUSSIONI E CONCLUSIONI
- ❖ REFERENZE
- ❖ CONTATTI



OBIETTIVO

E' risaputo come gli UV-C siano in grado di inibire la moltiplicazione microbica e virale. Tale tecnologia è considerata un buon compromesso tra costo e beneficio, motivo per cui sta diventando progressivamente sempre più diffusa in ambito domestico e sanitario.

Il corretto utilizzo della tecnologia UV-C tiene conto dei seguenti parametri: distanza dalla sorgente luminosa (m), distribuzione spaziale della luce, potenza radiante (W), irradianza (W/m^2); inversamente proporzionale al quadrato della distanza e dal tempo di esposizione (min). Tale tecnologia consente una profonda disinfezione degli oggetti esposti ad un'adeguata dose di raggi UV-C, dove la dose (J/m^2) è il prodotto tra il tempo di esposizione e l'irradianza. I modelli predittivi, che tengono conto dei parametri sopra citati, consentono di prevedere la capacità di disinfezione dei sistemi basati sulla tecnologia UV-C. In particolare, una volta stabilita la dose corrispondente ad una specifica riduzione della carica microbica, consentono di valutare i relativi tempi di irradianza UV-C per ciascuna distanza, e viceversa. Lo scopo di questo studio è quello di determinare l'attività virucida, in particolare verso SARS-CoV-2, tramite gli UV-C presenti in un sistema di lampade LED UV-C.

SISTEMA DI LAMPADE UV-C LED

Il Sistema di lampada UV-C LED, sviluppato da Light Progress, è composto da tre LED (Light Emitting Diode) saldati su una scheda di circuito stampato (PCB). La distanza tra ogni LED è di 40mm (Figura 1).

Il Sistema LED è fornito con tre supporti intercambiabili che permettono di distanziare le sorgenti luminose da una superficie target di: 1 cm, 2 cm e 3 cm rispettivamente. Nella parte opposta ai LED sono presenti due dissipatori per disperdere il calore (Figure 2).



Figura 1 Sistema di lampada UV-C LED





Figura 2 Sistema di lampada UV-C LED con il dissipatori di calore

PARAMETRI STABILITI PER I TEST

Nome del dispositivo testato: Sistema di lampada UV-C LED di Light Progress
(modello: UVLED-STRIP -3b-70°-40)

Periodo dei test: 16/06/20 – 19/06/20

Ceppo virale : SARS-CoV-2 (Lot: VMR –SARSCP2 VERO E6_28042020)

Protocollo per: distanza e tempo di irradiazione:

Distanza	Tempo di Irradianza	Distanza	Tempo di Irradianza	Distanza	Tempo di Irradianza
1 cm	1 min	2 cm	2 min	3 cm	3 min
	2 min		3 min		5 min
	3 min		5 min		10 min

Temperatura di incubazione: 37°C

Ripetizione dei test: 3 volte, per ogni tempo e distanza

Periodo di Incubazione: 3 giorni



METODO

Tutte le ripetizioni sono state testate ad una concentrazione di SARS-CoV-2 con TCID₅₀%, utilizzando la linea cellulare VERO E6 C1008 (ATCC CRL-1586).

Set up

Con dei supporti intercambiabili, è stato possibile determinare le distanze in cui sono stati posizionati i vetrini inoculati con il virus, a 1 cm, 2 cm e 3 cm, dai 3 LED del sistema UV-C LED. I supporti presentano due pareti schermanti agli UV-C per evitare che le irradiazioni dei tre LED si sovrappongano (Figura 3). Il sistema si avvia inserendo la spina del dispositivo in una presa elettrica.

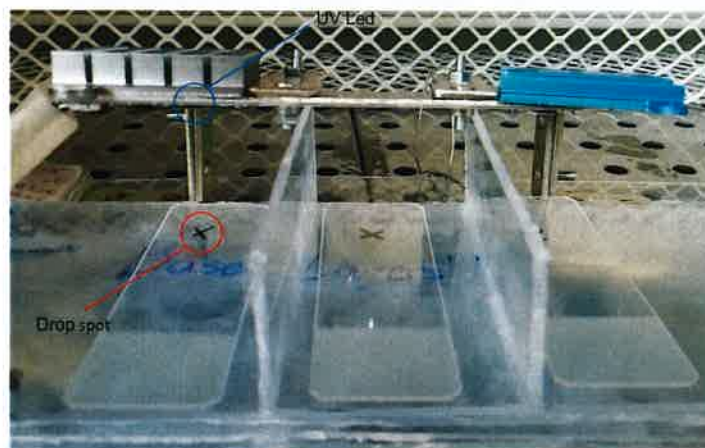


Figura 3 Sistema dei supporti rimuovibili

Metodo sperimentale

Tre vetrini sono stati posizionati sotto ogni LED. Sopra ai vetrini sono stati inoculati 100 μ L della sospensione virale, che contiene una concentrazione di $10^{7.2}$ TCID₅₀/mL.

Sono state valutate tre diverse distanze (figura 4). Dopo il tempo di irradianza, l'attività residua del virus è stata valutata tramite la dose infettante il 50% della coltura cellulare (TCID₅₀%).

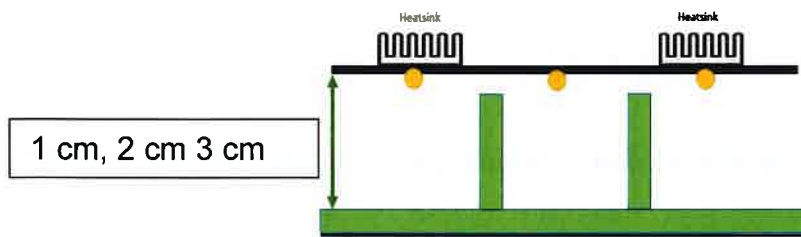


Figura 4 posizione dei LED e dei dissipatori di calore alle tre diverse distanze.

I vetrini sono stati irradiati seguendo il protocollo.

Campioni esaminati:

- 3 campioni (1 per LED) inoculati con il virus ed esposti agli UV-C seguendo il tempo del protocollo;
- 3 campioni inoculati, ma non esposti all'azione degli UV-C, per determinare la titolazione virale esaminati subito dopo l'inoculazione.

Le sospensioni sono state inoculate in 48-pozzetti dove sono state precedentemente fissate le colture cellulari VERO E6.

Sono state inoculate delle diluizioni decimali seriali per un totale di 10 diluizioni. Ogni diluizione è stata inoculata in 4 pozzetti.

Le piastre sono state incubate per 3 giorni in un'atmosfera umidificata a 37°C ±2°C e CO₂ al 5%.

L'attività residua del virus è stata testata valutando la dose infettante il 50% della coltura cellulare (TCID₅₀%).

La titolazione virale è stata determinata in accordo con il metodo di Spearman-Karber dove la percentuale di riduzione del virus è riportata dalla seguente formula:

$$[1-(T/C)]*100$$

dove:

T = Log₁₀ di sospensione virale nei carrier utilizzati nel test in seguito a trattamento con UV

C = Log₁₀ di sospensione virale nei campioni controllo non trattati



RISULTATI

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

Tabella 1: Test sul Sistema di lampada LED UV-C alla distanza di 1 cm dai vetrini e per un'esposizione di 1, 2 e 3 minuti agli UV-C

Distanza	Tempo di esposizione	Ripetizione & LED	Log ₁₀ sospensione virale TCID50%	Log ₁₀ TCID50 %	Log ₁₀ riduzione TCID50 %
1 cm	1 min	1 - LED 1	7,2	1,50*	5,7
		2 - LED 2	7,2	1,50*	5,7
		3 - LED 3	7,2	1,50*	5,7
	2 min	1 - LED 1	7,2	1,50*	5,7
		2 - LED 2	7,2	1,50*	5,7
		3 - LED 3	7,2	1,50*	5,7
	3 min	1 - LED 1	7,2	1,50*	5,7
		2 - LED 2	7,2	1,50*	5,7
		3 - LED 3	7,2	1,50*	5,7

Tabella 2: Test sul Sistema di lampada LED UV-C alla distanza di 2 cm dai vetrini e per un'esposizione di 2, 3 e 5 minuti agli UV-C

Distanza	Tempo di esposizione	Ripetizione & LED	Log ₁₀ sospensione virale TCID50%	Log ₁₀ TCID50 %	Log ₁₀ riduzione TCID50%
2 cm	2 min	1 - LED 1	7,2	1,50*	5,7
		2 - LED 2	7,2	1,50*	5,7
		3 - LED 3	7,2	1,50*	5,7
	3 min	1 - LED 1	7,2	1,50*	5,7
		2 - LED 2	7,2	1,50*	5,7
		3 - LED 3	7,2	1,50*	5,7
	5 min	1 - LED 1	7,2	1,50*	5,7
		2 - LED 2	7,2	1,50*	5,7
		3 - LED 3	7,2	1,50*	5,7

* Il valore di Log TCID50% = 1,50 significa inattivazione totale virale





Tabella 3: Test sul Sistema di lampade LED UV-C alla distanza di 2 cm dai vetrini e per un'esposizione di 3, 5 e 10 minuti agli UV-C

Distanza	Tempo di esposizione	Ripetizione & LED	Log ₁₀ sospensione virale TCID50%	Log ₁₀ TCID50 %	Log ₁₀ reduction TCID50%
3 cm	3 min	1 - LED 1	7,2	1,50*	5,7
		2 - LED 2	7,2	1,50*	5,7
		3 - LED 3	7,2	1,50*	5,7
	5 min	1 - LED 1	7,2	1,50*	5,7
		2 - LED 2	7,2	1,50*	5,7
		3 - LED 3	7,2	1,50*	5,7
	10 min	1 - LED 1	7,2	1,50*	5,7
		2 - LED 2	7,2	1,50*	5,7
		3 - LED 3	7,2	1,50*	5,7

*Il valore di Log TCID50% = 1,50 significa inattivazione totale virale





DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

I risultati hanno mostrato che testando il sistema di lampada LED UV-C di Light Progress contro la SARS - CoV-2:

- la massima riduzione misurabile è stata 5,7 Log₁₀, (pari a 99,9998%). Tale riduzione è stata raggiunta per tutti i tempi di esposizione testati, per tutte le distanze e tutte le ripetizioni;
- l'irradianza di ciascuno dei tre LED UV-C appare coerente tra loro e ha la stessa efficacia nell'inattivazione del virus.

REFERENZE

ZIMBRO, M.J. ET AL., 2009: *DIFCO & BBL MANUAL –MANUAL OF MICROBIOLOGICAL CULTURE MEDIA-* SECOND EDITION

RAMAKRISHNAN, M.A., Determination of 50% endpoint titer using a simple formula, *World J Virol.* 2016 May 12; 5(2): 85–86.

CONTATTI

Prof. Gabriele MESSINA, Università degli Studi di Siena, Dipartimento di Medicina Molecolare e dello Sviluppo, Via A. Moro 2, 53100 Siena. Telefono: +39-(0)577-235-423; Fax: +39-(0)577-234-090; Cellulare: + 39-339-6699-422; Email: gabriele.messina@unisi.it

Prof. Gabriele Messina

