



INFORME FINAL

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE FILTRACIÓN DE LAS MÁSCARAS FACIALES TRATADAS CONTRA EL VIRUS AEROSOLIZADO Coronavirus humano

Agentes de
prueba FFP2
FFP2 CTL

Autor
S. Steve Zhou , Ph.D.

Realización de
MicroBioTest de
Laboratorio
Una División de Microbac Laboratories Inc.
105 Carpenter Drive
Sterling, Virginia
20164

Número de identificación del proyecto
de laboratorio 798-112

Patrocinador
VIROBLOCK SA
18, chemin des Aulx
CH-1228 Plan-les-
Ouates
Suiztertierra

703. 925. 0100 -teléfono) •

www.microbiotest.com
www.microbac.com

• 703. 925. 9366 (fax)

TABLA DE CONTENIDOS

INFORME FINAL - PORTADA DE LA PÁGINA	1	
TABLA..... DE		
CONTENIDOS	2	
.....DECLARACIÓN DE		
..... CUMPLIMIENTO	3	
.....DECLARACIONES		DE
UNIDAD	DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD	3
..... RESUMEN DE		LA
PRUEBA	4	
.....CONDICIONES DE		
..... PRUEBA	5 -	6
FECHAS E	INSTALACIONES	DE
ESTUDIO	6	
REGISTROS	A	
MANTENER	6	
CALCULACION..... DEL		TITER
.....	7	
RESULTADOS.....	7-10	
CONCLUSIONES	10	
APPENDIX		
.....		
.....		
.....		

MicroBioTest

DECLARACIONES DE CUMPLIMIENTO

Este estudio cumple con los requisitos para 21 CFR 5 58 con los siguientes exceptions:

- Information on the identity, strength, purity, stability, uniformity, and dose solution analysis of the test agent reside with the sponsor of the study.

El siguiente personal técnico participated in este estudio: Michael

Parker, Christopher Rohr, Salimatu L. Lukula, Zheng Chen

Estudio Director: MicroBioTest

06 / f 3 / 2-0/3

S. Steve Zhou, Ph. D. Fecha

DECLARACIÓN DE LA UNIDAD DE GARANTÍA DE CALIDAD

Título del estudio: EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE FILTRACIÓN DE LAS MASCARILLAS DE CARA TRATADAS CONTRA EL VIRUS AEROSOLIZADO - CORONAVIRUS HUMANO

La Unidad de Garantía de Calidad de MicroBioTest ha inspeccionado el número de proyecto 798-112 in cumplimiento de la normativa vigente de BuenasPrácticas de Laboratorio, (21 CFR n.o 58)..

Las fechas que inspections fueron hechas y las fechas que los hallazgos fueron reportados a la gerencia y aly director son listed por debajo.

FASE	FECHA DE INSPECCIÓN	FECHA REPORTADA AL DIRECTOR DE ESTUDIO	FECHA REPORTADA A LA ADMINISTRACIÓN
Protocolo	05/30/13	05/30/13	05/30/13
En proceso	05/30/13	05/30/13	05/30/13
Informe final	06/13/13	06/13/13	06/13/13

Jeanne M. Anderhuevo
 Administrador de fechas
 Manager, Calidad Assurance

Z - 1 2 d-0 1'3

RESUMEN DE LA PRUEBA

TÍTULO: EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE FILTRACIÓN DE LAS
MÁSCARAS FACIALES TRATADAS CONTRA EL VIRUS
AEROSOLIZADO - CORONAVIRUS HUMANO

DESIGNO DEL ESTUDIO: El estudio se realizó de acuerdo con el protocolo firmado y
la hoja del proyecto(s) issued por el Director de Estudio (Ver
Apéndice).

MATERIALES DE PRUEBA SUMINISTRADOS POR EL PATROCINADOR DEL ESTUDIO:

1. FFP2, Lote No. 310001, recibido en MicroBioTest on
05/10/13, asignado OS No. D287
2. FFP2 CTL, Lote No. VB-DEV-7-FEB-2013-NAT, recibido
en MicroBioTest en 05/10/13, asignado OS No. / D289

PATROCINADOR: VIROBLOCK SA
18, chemin des Aulx
CH-1228 Plan-les-Ouates Suiza

CONDICIONES DE PRUEBA

Virus de desafío:

Coronavirus humano (cepa 229E), ATCC VR-740

Host:

MRC-5 células, ATCC CCL-171

Ingrediente activo en productos

de ensayo: NPJ03

(FFP2)

Medio de cultivo celular:

1X Medio Esencial Mínimo (MEM) + 20% Suero Bovino Fetal (FBS)

Medio de Dilución :

1X MEM + 2% FBS

Medio de lavado:

1X MEM + 1% FBS + 1% HEPES + 10 g/ml Gentamicina + 1% NaHCO₃ +
1 % Penicilina-Estreptomicina + 2.5 µg/ml de anfotericina B

Colección (semi sólido) medio:

1X MEM + 5% gelatina + 1% FBS + 1% HEPES + 10 g/ml Gentamicin + 1%
NaHCO₃ + 1 % Penicilina-Estreptomicina + 2.5 g/ml de anfotericina B

Medio aerosol:

0. 1X MEM

Tiempo de incubación:

5 - 7 días (Real: 7 días)

CONDICIONES DE PRUEBA (continuación)

Temperatura de incubación:

33±2C con 5±1% de CO2

Desafío challenge aerosol:

20 minutos de aerosol antiviral seguido de 3 minutos regular (medio) aerosol y luego 1 minuto de vacío adicional a un caudal de aire continuo de 28.3 L/min

Medios y reactivos:

1X Medio Esencial Mínimo (MEM) + 2% FBS

1X MEM + 1% FBS + 1% HEPES + 10 g/ml Gentamicina + 1%

NaHCO₃ + 1% Penicilina-Estreptomicina+ 2.5 g/ml de anfotericina B

1X MEM + 5% gelatina+ 1% FBS + 1% HEPES+ 10 g/ml Gentamicina +

1% NaHCO₃ + 1% Penicilina-Streptomicina+ 2.5 g/ml de anfotericina B

0.1X MEM

Salina tamponada fosfato 0.

1N NaOH

Agua estéril desionizada

70% Isopropanol

Cavicide

FECHAS E INSTALACIONES DE ESTUDIO

La fase de laboratorio de esta prueba se realizó en MicroBioTest, 105 Carpenter Drive,, Sterling, VA 20164. Las pruebas se iniciaron en laboratorio el 05/30/2013 y concluyeron el 06/06/2013. El director del estudio firmó el protocolo el 05/29/2013. La fecha de completación del estudio es la fecha en que el director del estudio firmó el informe final. .

Todos los cambios o revisiones del protocolo fueron documentados, firmados por el estudio director, fechados y mantenidos con el protocolo.

REGISTROS A MANTENER

Todos los datos de prueba, protocolo, modificaciones de protocolo, registros de material de prueba, el informe final y la correspondencia entre MicroBioTest y el patrocinador se almacenarán en los archivos de MicroBioTest, 105 Carpenter Drive, Sterling, VA 20164, o en una instalación controlada fuera del sitio..

CÁLCULO DEL TÍTULO

The 50% infectious dose of tissue culture per ml (TCID₅₀/ml) was determined using the Spearman-Kärber method using the following formula:

$$m \times k + \left(\frac{d}{P_i} - d \right) \times L P_i$$

where:

- m - the logarithm of the titer in relation to the volume of the test
- x_k - the logarithm of the smallest dose which induces infection in all cultures
- d - the logarithm of the dilution factor
- P_i - the proportion of positive results in the dilution i

The values were converted to TCID₅₀/ml using a sample inoculum of 1.0 ml.

Resultados

The results are presented in Tables 1-2.

The theoretical load was determined in the following manner:

Theoretical Load (Log₁₀ TCID₅₀) = Log₁₀ [Virus Stock Titer (Log₁₀ TCID₅₀/ml) x Average Volume challenge per run (ml)]

The viral load was determined in the following manner:

Viral Load (Log₁₀ TCID₅₀) = Titer (Log₁₀ TCID₅₀/ml) + Log₁₀ [Volume (ml)]

The 1.0 Log₁₀ Reduction Factor (LRF) was calculated in the following manner:

Log₁₀ Reduction Factor = Initial viral load (Log₁₀ TCID₅₀) - Output viral load (Log₁₀ TCID₅₀)

RESULTADOS (continuación)

La reducción media de 810 virales de n réplicas se determinó de la siguiente manera::

$$\frac{\text{Registro viral medio} + \text{Reducción de LRF1} + \text{LRF 2} + \dots + \text{LRFn}}{N}$$

el 95% Intervalo de confianza (CI)* Dela average viRal Registro10 Reducción se determinó como Sigue:

$$95\% \text{ Intervalo de confianza } = \frac{\bar{X} \pm 1,96 \times \frac{s}{\sqrt{n}}}{\dots}$$

* equivalente a un valor alfa de 0.05

donde:

- X** - el valor de la muestra individual
- X̄** - el valor medio de la muestra
- n** - el tamaño de la muestra

RESULTADOS(conti (nued)

Tabla 1
Resultados del título

Muestra	Título (Registro TCID ₅₀ /ml)	Volumen (ml)	Carga viral (LOQ TCID ₅₀ por lo tanto)
Control de celular/esterilidad de medios	No se detectó Virus , células viables;; medios dementes		
Evaluación de la aplicación de volumen	averaQe volumen de desafío por carrera: 7.4ml		
Control de titer de acciones de virus	7.50	-	-
Theoretlcal cargaOnu			8.37
Virus Input (pecado máscara) Control (archivo 1)	6.00	10	7.00
Virus InpUt (no mask) Control (archivo 2)	6.25	10	7.25
Virus Input (no mcomok) Control (archivo 3)	6.50	10	7.50
Virus Input (nomáscara) Control (averaQe)			7.30
FFp 2 (archivo 1) ^b	1.75	10	2.75
FFP2 (archivo 2) ^b	2.00	10	3.00
FfP2 (réplica te 3) ^b	1.75	10	2.75
FFP2 CTL (archivo 4)	2.25	10	4.25

^a La carga teórica is determinado en función del control de Virus Stock Titer y el volumen medio de virus desafiados por ejecución..

^b Citotoxicidad observada en dilución sin dilución.

RESULTADOS (continuación)

Tabla 2 - Reduct viralien
Reducción de filtración de virus - basado en el control de entrada de virus (sin máscara)

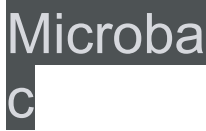
Agente(s) de prueba(s)	Número de réplica	Carga viral inicial* (LOQ10TCIDso)	Carga viral de salida (LOQ10TCIDso)	Reducción de Log10
FFP2	1	7.30	2.75	4.55
	2		3.00	4.30
	3		2.75	4.55
	Reducción media \pm intervalo de confianza del 95%			4.48 \pm 0,16
FFP2 CTL	1	7.30	4.25	3.05
	2		4.50	2.80
	3		4.50	2.80
	Reducción media \pm intervalo de confianza del 95%			2.90 \pm 0,16

• Los resultados representan la redad de tres réplicas..

Conclusiones

La reducción viral de los materiales de ensayo se presenta en la Tabla 2. Todos los controles cumplían los criterios para una prueba válida. Estas conclusiones se basan en datos observados..

APPENDIX



©

MICRO á Ir"TEST

A Division de Microbac Laboratories, Inc.
105-8 Carpenter Drive
Sterling, VA 20164

PROTOCOLO DE MICROBIOS.

EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DE FILTRACIÓN DE LAS MÁSCARAS FACIALES TRATADAS CONTRA EL VIRUS AEROSOLIZADO

CORONAV HUMANOVIRUS

Pruebang Facili
ty

MICROBIOTEST

aA Division of Microbac Laboratories, Inc.
105 Carpenter Drive
Sterling, VA
20164

Prepared for
VIROBLOCK
SA

18, chemin des Aulx
CH-1228 Plan-les-Ouates
Switzerland

May 22, 2013

Page 1 de 14

OBJETIVO.

Esta prueba es diseñado para evaluar la eficiencia de filtración de mascarales tratados contra el virus de prueba utilizando un sistema de dos cámaras y aerosolizado virus. Este test es basado en el método ASTM F 2101-01 entitled "Métodos Standard Test para la Evaluación de la Eficiencia de Filtración de Mascarales Tratados Usando un Aerosol Bacteriológico de *Staphylococcus aureus* con modificaciones y adaptación a virus testigo".

RESUMEN DE LAS CONDICIONES DE PRUEBA / EXPERIMENTAL DESIGN:

Máscara facial está material para ser evaluada entre dos cámaras aerosolizadas humano. Influenza A virus fue introducido en la cámara aguas arriba y tirado a través de la máscara en una tasa definida de flujo de aire creado por el aire de alta presión aguas arriba y el vacío aguas abajo. El aerosol de paso en se dibujará la cámara aguas abajo, en un Anderson Sampler de una etapa que contiene un plato de Petri con medio semi-sólido para recoger partículas de virus en el aerosol de paso a través. Adicionalmente la superficie de la serie Anderson en el Anderson Sampler que puede retener el virus residual a través será la gripe derramada con medios. El medio de lavado y los medios de comunicación en el plato de recogida se combinarán para formar el ensayo "pass-through" sample liquid y ensayado para la cantidad de virus infecciosos por un ensayo Tissue Culture Infectious Dose 50% (TCID₅₀) infectivity para determinar la eficiencia de filtración de las mascarales. Nota: Virus inactivation via direct contact kill no se evaluará en this study.

Este tipo de mascarales y un tipo de control más se verá en Table 1 para los detalles. Cada uno de los tipos de mascarales será evaluado en triplicado.

MATERIALES

A. Materiales de prueba serán suministrados por el patrocinador referirse a "Miscellaneous Information" section.

All operations performed on the test agent such as specialized conditioning or storage conditions must be specified by the sponsor prior to the initiation of testing and should be detailed on the "Miscellaneous Information" section.

El patrocinador asegura la gestión de factibilidad de prueba DE MICROBIOTEST que el agente de prueba ha sido apropiadamente probado para identidad fuerza pureza exactitud y uniformidad como aplicable

MICROBIOTEST conservará todos los agentes de prueba unused durante una period de tres meses después de la finalización de la prueba. y en desecharlos en un manner ésoen cumple con la aplicación del oficial de seguridad Alternativamente, el agente de prueba será devuelto al patrocinador a petición.

B Materials supplied por MICROBIOTEST including pero no limited a

- 1 Virus de desafío (requested por el patrocinador of del estudio)
Virus humano (cepa 229E) Corona
- 2 Host MRC-5 cells, ATCC CCL-171
- 3 Media y reagents
 - a Medio de cultivo celular 1X Minimum Essential Medium (MEM) + 10% Suero bovino fetal
 - b Medio aerosol O 1 X MEM
 - c Medio de recogida semisólido 1X MEM + 5% gelatina + 1% FBS + 1% HEPES + 10 g/ml Gentamicin + 1% NaHCO₃ +1% Penicillin Streptomycin + 2.5 g/ml Amphotericin B
 - d Flush medio 1X MEM + 1% FBS + 1% HEPES + 10 g/ml Gentamicin + 1% NaHCO₃ +1% Penicillin-Streptomycin + 2.5 g/ml Amphotericin B
 - e Sample dilution medium . 1X MEM + 3.0 ug/ml de tripsina

Los medios de comunicación y los reagents relevantes para el sistema de pruebas quedarán documentados

en la primera hoja y paquete de datos project

-

-

4 Laboratory equipment y supplies

- a Biohazard capucha
- b One-stage person sampler
- c Dosimeter testing
- d Incubadora **de Humedad**
- e Comprimido un tanque air (<15 PSIG)
- f Incubadora **celular**
- g S1x-1et Collision Nebulizer (target Mean Particle Size 1.8 - 2.5 μ m)
- h Bomba **de** vacío
- i Pressure gauges (35 kPa \pm 1 kPa precisión)
- j Flowmeter (able to measure 28.3 l/min)
- k **Stomacher**

Laboratory equipment y suministros relevante a la e t t system will be documented in the first project sheet and data package

SISTEMA DE PRUEBA IDENTIFICATIEN:

Todo el inoculated cells estará individually numbered and identified within the data package. Todas las diluciones tubes y assay dishes, etc will be labeled with the challenge organism, test start date and project number

STERILITY.

Con el fin de prevenir microbiana y viral contaminación se establecen las siguientes medidas que serán seguidas durante la prueba:

La experiencia será conducida en un gabinete de bioseguridad que será desinfectado con Cloro y 70% Alcohol seguido por radiación UV antes de la introducción del aparato de desafío aerosol (véase la figura 1 a continuación) y antes de comenzar el experimento;

2. Los buffers y medios utilizados en el estudio serán estériles.
3. En el momento de usar el muestreador de Anderson, se utilizará el equipo de plástico aplicable (tubo de recolección, platos de microtubos, etc.), tijeras y pinzas serán esterilizadas.
4. Las técnicas que realicen los ensayos utilizarán guantes de látex estériles durante todo el proceso.
5. El manejo de los ítems de prueba, virus, medios de dilución y la infección de las células se realizará en el gabinete de bioseguridad.
6. El aparato de aerosolización será descontaminado con solución de 0.1N NaOH seguido por 70% Alcohol y agua estéril ionizada (al menos 5 minutos por corrida) antes de ser utilizado.

Adicionalmente, para verificar la esterilidad del proceso se realizará un control de esterilidad de la muestra a través de la técnica de cultivo en placa, como se describe en el apartado Experimental Design Section E2.

DISEÑO EXPERIMENTAL?

Los procedimientos involucrados en el desempeño de los estudios de virulencia se describen en una serie de SOPs y protocolos que se encuentran en el Manual de Métodos de Laboratorio de MICROBIOLOGÍA Los procedimientos utilizados en diferentes fases del estudio serán documentados en el paquete de datos.

A. Preparación del Inoculum.

Viral stocks are acquired from reputable sources that identify them by scientifically accepted methods. Se mantienen los demonios t tratt vi hegin origin of the virus stocks are stored at -60C to -90C

Congelado viral stocks will be thawed on the day of the prueba. La original viral stock will be reconstituted or diluted in 0.1 X Media (e.g. 1:10 dilution of MEM in sterile deionized water) to a concentration of not less than $10^{6.5}$ TCID₅₀/ml. The total unidades de virus delivered per run should be no less than $10^{7.0}$ TCID₅₀

B. Máscara de prueba material preparación y conditioning:

Las máscaras exactas types de test y control face como specified by the Sponsors listed in Table 1. No pre-conditioning will be performed prior to the prueba

Nota. Any additional physical, thermal y chemical stressors which could compromise virus filtration efficiency of the face masks under real-use situations must be especificado by the Patrocinador

Estos stressors include for example products laundening (para productos reusable), extreme environmental condiciones

wetting con contaminantes como uncórtoll. sweat u otro cuerpo y gripeids, y efectos such as abrasión o flexing. Cualquier extraneous stressor y its method será proporcionado en detail por el patrocinador. La extrana Estresor may ser realizado a costo adicional to the sponsor. Without instruction the masks will be used without any stressing or pre-conditioning

C. Test

El aerosol challenge apparatus is ilustrado in F igure

Fi gure 1



- 2 c11te r á
- 3 'let:ljrzer
- .1 as1< ;ham t:ler
- 5 T83t matena a
- oca1on i3 An cterso .
- mpa ; tor
- 1gh presión 1r :: ource
- Filter 12
- 13 F lter 15
- a C a lb r '3tejF 1o w m eter '.
- bomba acuum
- Jmin
- 9 F 1te r 'oJ
- 'O '1L aculJm iJask"1
- 11 F,ter 'á4
- 1 2 4L 1, cum flast< f. _

FgJre 1 '-matraz 'hamoer

(I) Ejecución de **máscara** de prueba y control

Tres replicate virus-challenge runs será performed for each type de test y máscaras de control. Cada replicate y cada máscara tipo se ejecutará randomized o alternado a avoid the effect del cambio en virus titer en el transcurso de la prueba results.

2. Para cada carrera, la máscara material se colocará between el flujo hacia arriba y hacia abajo stream chambers. El cm-diameter circular opening en la center y asegurada with autoclave tapes. El ad1unct 1on entre los dos chambers is closed y sellado so que no air is leaked. El lado externo de la máscara should face upstream chamber de la que el virus aerosol será filtered.

3. El virus inoculum will be delivered to the upstream chamber using a nebulizer y high-pressure air. La entrega will ser setup de modo que un **constante** challenge volume será delivered throughout el testing interval.

4. El aerosol challenge será initiated by powering on the high pressure air source connected to the nebulizer that contains the challenging virus.

a. El **virus** aerosolizado será delivered a la upstream chamber para **20 minutes** usando high presión air along con un stream acum hacia abajo a una **rate de flujo** de aire constante de 28.3 L/min (1 pie cúbico por minuto).

b. Después de que el virus de vida del aire pressure y el vacío será be de apagado y immediately el nebulizer botella se sw picar a la botella de another that contiene sólo el medio O1 X MEM, sin virus. La cerca de aire de presión along with the hacia abajo de la bomba de vacío de stream se encenderá durante **3 minutos** para permitir el medicamento, aerosol para fluir a través de la máscara para vaciar los ámbares a un **caudal de aire constante** de 28.3 L/min.

c. Al conclusion del medicamento aerosol entrega la alta presión de fuente de aire will be turned off. Cómo ever tre bomba de vacío will be off para añadir aditional 1 minuto para dibujar residual aerosol de las cámaras; into Anderson Sampler.

d Después de que el período de prueba haya finalizado, se abrirá el material de prueba y se eliminará y desechará asepticamente.

e El plato de colección se removerá de la Anderson Sampler.

La superficie de la etiqueta de la Anderson sampler, que puede contener algún virus de paso, se enjuagará con 5 ml de medio de descarga.

g El medio de lavado (5 ml) y el medio semisólido de cultivo (10 ml) se combinarán en la forma de la "pass-through" sample (10 ml). Esta muestra se enriquecerá a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ y ensayada para el virus. Véase la sección D para más detalles de virus infecciosos.

5 Para iniciar el próximo aerosol challenge, se ejecutará un nuevo plato de colección y se colocará en la Anderson Sampler y una nueva pieza de máscara será instalada y colocada en el sistema de prueba.

6 El desafío en aerosol contra el nuevo material de prueba se iniciará como se describe en los pasos 1-4. El medio de lavado y el medio de cultivo enriquecido de cada plato se combinarán con la muestra de "pass-through" y se ensayará (véase la sección D).

(II) Virus en el control positivo (sin máscara) se ejecuta

Un desafío en aerosol de virus se realizará sin máscara siguiendo el procedimiento anterior para servir como el control positivo. Se realizará un desafío en aerosol de virus para este control.

2 Después del desafío en aerosol de virus, se combinarán las muestras de los platos de colección y se ensayarán para virus. El número de unidades infecciosas virales en el desafío se determinará de este control.

0. Ensayo de Infectividad:

Los residuos de virus en el material de prueba y los controles serán detectados por el efecto citopático inducido (CPE). Seleccionadas las diluciones de la solución de recuperación, se añadirán a cultivos de células (véase la sección anterior) y se incubarán a

33:::2 C scored examin Nth 5.!:1'o CO , for a penod of 5- 7 daysLa
nost ce llcultures wmal oe observada y refed como necessary durante el
incuoa1en el período These act1vl ct1 Jes Th J. ol,taxilew iii ser registroed
Entonces la host cells Nill be examenried para la presencia de ,r fvirusecuous
The resulting v1rus- spec1cytoficpath cytopath1c efectos y test article spec1fi c
ytotoxic effects wii r g tanto test como controls hese observations wib be
recorded

E. Controles:

1. Cel l v1a o11ity/med1un control de stenlity

At eas t fnuestros pozos de cells will be ii noculated with a
aopropriate medium during the incubation phase of the study This control
wi will demonstrate trat the cells remain viable throughout the course of
thesay per•od In add 1t1on . l t ill confirmo ele stenhty de los
medios employed throughout el ensayo period

2. Virus input control (no mask)

El control de Thi s se realizará en la aosencia de mask material Thé
combined "collection dish" and .. s tedad ? samples wib e assayed
for infectious virusas descnbed in Section D

3. Virus Stock Titer control (V ST)

Unla l iquot de lae virus inoculum used in the study will ser
directamente serialmente diluted e inoculated en las células del
huésped para confirmar el titer de la acción virus This
controldemostrará que laformae titer de the stock virus s apropiado
fo utilizar y que elvira lvira? nfectiv1ty a ssay isperformed appropirily

4. /olume aoplicat1o n e v a lu ation

„. he vol 1olume de virus delivered per n,n vJIII ser e valu aaated based
on measunng e starting y ending total N us inoculumv vPes and
calcalatr g the volume oer run por d1v 1ding the total ; u olume used by
el total numoer de runs peromed



F. Cálculo:

- 1 El 50% infective dose (TCID₅₀) will be determined using the Spearman-Kärber (Karber) method (Arch Exp Pathol Pharmacol 1931; 162: 480-483) or other appropriate methods such as Reed and Muench (Am J Hyg 1938; 27: 493). In the case in which a sample contains no detectable virus a statistical analysis may be performed based on Poisson distribution (International Conference on Harmonization Topic O5A, 1999:24-25) to determine the theoretical maximum possible titer for that sample. These analyses will be described in detail in the report. The test results will be reported as reduction of the virus titer post treatment with the test article expressed as log₁₀

ACEPTO DE PRUEBA CRITERIA:

The test will be acceptable for evaluation of the test results if the criteria listed below are satisfied. The study director may consider other causes that may affect test reliability and acceptance.

- The cell viability/sterility control must exhibit viable cells and absence of virus and free of contamination at test conclusion.
- The median of the virus titer from the Virus Input Control runs must be at least $10^{1.0}$ TCID₅₀.

PERSONAL AND TESTING FACILITIES:

The study director will be assigned prior to the start of the test. The study director will be trained and qualified in request for testing in MICROBIOTEST 105 Carotenter Onve Ste coleng 1ni a 2 0 164 r

FORMATO DE INFORME:

MICROBIOTEST employs a standard formato de informe format para e ach test design Cada final reoort protovérees the following information

- Sponso ident1ficat1on y test agent dent1ficat1on
- Type de test y proiect number
- Interpre tationtation de results y conclusions
- Test results
- Methods and evaluation cntenana, if aplicable
- Daa tes de study mlt1a tion y completion GLP studies only)
- Signed Quaality Assurance y Compliance Statemeens (GLP studies only)

RECORDS PARA SER MAINTAINED:

Todora w da les ta, protoordcol, protocol modifications tt agent rerds final report and correspondence oetween MICROBIOTEST y esponsoserá sto in it ee archives at MMICROBIOTEST, 105 Carpenter Drive Sterling V rg1nia 201 64 o In a controlled fac fac 1hty off se

rimenLaa st prextensiónaexpe seent art y termmat1o n d a tes add iti en unl information aboutthe test agent; challenge microorgantsm used me Th di s1 th aaa e nd reagent 1den t1fica llon , y laee tipoe de neutralizers employ ed in e te t eb eaddressed En un proje ct sheet issued separate e date estudy dire1 r, s el protocolo será tél study initiatién date All proie ct sheets será ee forwardd a la study sponso All changes o revis i ons to this a pproved protocol will be documented signed oe e study director dated y mantamed con thts protocol The sponsor will be notificado de any change resolution y mpact on the study as soon as practical

Table 1
Resumen de las muestras a ser ensayadas

Muestra /	Máscara tvoe	Descrtntion
1	"A	Viru s St Oc K H eFoon Tro L
2		Co U / iAb 1bty Control WITEd 1Qew St
3	R u s noUt Contro L , No TIComo L < : REo Li Ca te á 1 VIRus	
NoUt control	viRus neUt Control No MComok . -	ViRu s neUt
5	reehCate Un 2 ViRus ,nout Control No	control V n. s
6	MComok - Reolicate á 3	nout conTrOl
7	Tes T éim1ask - rEp LiCa te Q. 1	Pase- Through
8	Test McomoK - rEohCate	Pas- th ou a N
9	Contro L MPreguntar -	Pasar -throu
10	Con Tról Mas K - replica	Pase- throu
11	Control vLask - rEp Li Ca	Pasar-

MI SCELLANEOUS INFORMATIEN

Los siguientes nformatiön ? s para ser cor,pleted por el patrocinador antes de r,ltlunton de sementaly:

Un nombre y una dirección	VIROBLOCK SA 18 chemIn des Aulx CH-1228 Plan-les-s- Ouates Switzerly
8 Test lask nombre	FFP2
Activo ingredie nntás) Lote No	'IPJ03 310001 (Received at Mfcr o810 Teston 5/10/13)
Nombre de la máscara de control Lote no .	FFP2 CTL VB-DEV-7-FEB-2013-NAT Received at Mfcr o810 Test on 5/10/13)

C MSDS o certificate de analysis no provided

MANEJO DEL INFORME:

Enons e spor int intends to submit this nformatiön | otheer? EU Notified Body

CONDUCTA DELESTUDIO: I GLP

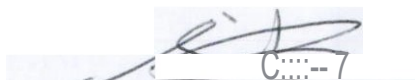
APROBACION DE PROTOCOLO:

Firma de Soonsor (Soonsor Signature)

Fecha 1. / 0 / 2))

Thierry Pelet Ph D

Estudio DiRector Firma


S Steve Zhou Ph D

o-A, 1/ic/3
Fecha _____

Fecha de emisión: 05/30/2013 Identification No. 798-112		Project Hoja No. 1 Page No. 1 Proyecto de laboratorio	
ESTUDIOaTITLE: Evaluation de Filtration Efficiency de máscaras faciales tratadas agaenst Aerosolized Virus - Coronav humano irus	STUDY DIRECTOR: S. Steve Zhou, Ph. D. cr-(2JC / 2cf7)		
		Firma	Fecha
PRUEBA MATERIAL(S): FFP2 FFP2 CTL	LOTE NO. 310001 VB-DEV-7-FEB-2013-NAT	FECHA RECIBIDA: 05/10/13 05/10/13	DS NO. 0 287 0289
DEPARTAMENTO DE RENDIMIENTO (S): Virologiaa nd Molecular Biology	CONDITIONS DE ALMACENAMIENTO: Ubicación: H2 ■ Dark - Temperatura ambiente de la habitación <input type="checkbox"/> Desiccator <input type="checkbox"/> Freezer <input type="checkbox"/> Refrigerator <input type="checkbox"/> Otro::		
PRECAUCION PROTECTORA REQUERIDA: MSDS <input type="checkbox"/> Sí / - No			
DESCRIPCION Física: <input type="checkbox"/> Solid <input type="checkbox"/> Aerosol de <input type="checkbox"/> Líquidos - Otro: Tejido			
FINALIDAD: Véase el protocolo adjunto. AUTHOR IZATION: Ver firma del cliente.			
PROPUESTA EXPERIMENTAL FECHA DE INICIO: 05/30/2013 TERMINATIEN FECHA: 06/07/2013			
CONDUCTA DEL ESTUDIO: <input type="checkbox"/> FDA <input type="checkbox"/> EPA <input type="checkbox"/> I+D -GLP <input type="checkbox"/> GCP -Otro: Organismo notificado de la UE			
PATROCINADOR: VIROBLOCKSA 18, Chemin des Aulx CH-1228 Plan-les-Ouates Suiza	PERSONA DE CONTACTO: Thierry Pelet, Ph.D. Teléfono No. +41 22 884 83 44		
PRUEBA CONDITIONS Organismo de desafío:	Coronavirus humano (strain 229E), ATCC VR-740 MRC-5, ATCC CCL-171		
Host:	NPJ03 (FFP2)		
Active ingredient:	1X Minimum Essential Medium (MEM) + 10% Suero Bovino Fetal (FBS)		
Cultivo celular medium:	1X MEM + 2% FBS		
Flush medium:	1X MEM + 1% FBS + 1% HEPES + 10 g/mL Gentamicin +1% NaHCO ₃ + 1 % Penicilina-Streptomycin + 2.5 g/ml de anfotericina B		
Collection (semi solid) medio:	1X MEM + 5% Gelatin + 1% FBS + 1% HEPES + 10 g/mL Gentamicin + 1% NaHCO ₃ + 1 % Illin penicillin-Streptomycin + 2.5 g/mL de anfotericina B		
Continued en la página 2			

Fecha de emisión: 05/30/2013 Hoja de
Identificación No. 798-112

proyecto No. 1 Página No. 2 Laboratorio Proiect

Medio 0.1X

Desafío aerosol: 20 virus minutos aerosol desafío con alta presión aiR along con Onu vacío aguas abajo un un caudal de aire constante de 28.3 Umin seguido de 3 minutos de aerosol Regular (Medium) con vacuum Un OnucaudaliR de 28.3 U Min, luego 1 minuto añadiritioNal

Tiempo de 5 - 7 días

Temperatura de incubación: 33±2C con

Participantes:

1. Protocolo, Página 2 (Visión general de las condiciones de prueba/Diseño experimental) estados, " Virus de la queja humana Un Virus. " La declaración correcta correcta es "Coronavirushumano" coronavirus". Esta sinteo sirve para corregir un error tipográfico en el protocolo.
2. Protocolo, Página 3 (mediUn y los incisos) estados, " Mediode dilución delamuestra : 1X MEM + 3.0ug/ml Tripsina." La

Fecha de emisión: 06/13/2013 Hoja de proyecto No. 2 | Página No. 1 | Laboratoria Project Identification No. 798-112

TITULAR DEL ESTUDIO: Evaluadorion de Filtration Efficiency de | **STUDY DIRECTOR:** S. Steve Zhou, Ph. D.

Tmáscaras faciales against Virus aerosolizado - Corona humanavirus

de(tJ/2c/3

Fecha de

Signature

MATERIAL(S) DE PRUEBA:

FFP2
FFP2
CTL

LOTE NO.

310001
VB-DEV-7-FEB-
2013-NAT

FECHA RECIBIDA:

05/10/13
05/10/13

OS NO.

D287
D289

DEPARTAMENTO(S) DE RENDIMIENTO:

Departamento de Virología y Biolog y Molecular

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO:

Ubicación: H2

Oscuro -Temperatura AmbienteRoom

desecador congelador refrigerador

Otro::

PATROCINADOR: VIROBLOCKSA

18, Chemin des Aulx
CH-1228 Plan-les-Ouates
Switzerland

PERSONA CONTACTO: Dirección de

correo electrónicode Thierry Pelet :
t.pelet@viroblock.com

ENMIENDA(S):

3. Hoja de proyecto No. 1 y la página 3 del Protocolo establece, "medio decultivo celular: 1X Medio Mínimo Esencial (MEM) + 10% Suero bovino fetal". La declaración correcta es "mediodecultivo celular : 1X Medio Esencial Mínimo (MEM) + 20% Suero bovino fetal ". Esta enmienda sirve para corregir un error tipográfico en el Protocolo y la Hoja de Proyecto No. 1.

