

Università degli Studi di Torino
Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche
Laboratorio di Virologia Molecolare e Ricerca Antivirale
Ospedale San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO)
Responsabile: Prof. David Lembo

CLIENTE: HRX Srl-Via Vittorio Amedeo II. N. 06, 10121 TORINO

NOME MATERIALE: FF 70/310 PBT PB SMS

CODICE MATERIALE: PF209234

LOTTO FORNITORE DELLA PRIMA CONSEGNA: 906708.

OGGETTO: RAPPORTO DI RICERCA SULLA VALUTAZIONE DELLA CITOTOSSICITÀ DELLE MASCHERINE PRODOTTE DA HRX s.r.l. – 23. 04.2020

Analisi effettuata secondo normative **BS EN ISO 10993-12:2012** e **BS EN ISO10993-5:2009**.

Ricevute in data 20.04.2020 20 mascherine confezionate da HRX s.r.l.

Il materiale è pervenuto con imballaggio integro.

PROTOCOLLO PER LA VALUTAZIONE DELLA TOSSICITA'*

*tutte le procedure descritte sono state eseguite in sterilità

Linea cellulare utilizzata: NIH/3T3 (ATCC® CRL-1658). Le cellule sono state coltivate e mantenute utilizzando terreno DMEM supplementato con 10% di siero.

L'analisi è stata eseguita su 3 mascherine denominate M1, M2 e M3.

Estrazione del campione test

È stata tagliata e pesata una porzione rappresentativa della mascherina.

La porzione di campione tagliata è stata posizionata in un contenitore sterile (bottiglia in vetro borosilicato sterile con tappo a vite) con un volume adeguato di liquido di estrazione (terreno DMEM + 10% siero; volume di liquido di estrazione: 1mL per 0,1g di campione test).

In parallelo, sono stati preparati i seguenti campioni di controllo:

- Controllo negativo: campione di polipropilene manipolato come sopra descritto.
- Controllo "bianco": liquido di estrazione (DMEM + 10% siero)

I campioni sono poi stati messi in agitazione (150 giri/minuto) per 24 ore a 37°C.

Saggio di citotossicità

GIORNO 1: le cellule NIH3T3 sono state seminate in una piastra da 96 pozzetti, in modo da raggiungere, il giorno successivo, una confluenza dell'80%. Una colonna da 8 pozzetti è stata lasciata vuota per poter essere utilizzata come controllo di background.

GIORNO 2: le cellule sono state trattate in triplicato con 100 µl di campione estratto, del controllo negativo, del controllo "bianco" e di un controllo positivo (una soluzione contenente sodio-dodecil-solfato al 20%). Sono state inoltre testate, in un volume finale di 100 µl, le diluizioni 1:2, 1:10, 1:100 e 1:1000 di tutti campioni.

GIORNO 3: è stato eseguito il saggio MTS, in accordo con le istruzioni del produttore (CellTiter 96(R) AQueous One Solution Assay; Promega Italia). I risultati sono stati quantificati in termini di assorbanza, mediante lettura allo spettrofotometro ($\lambda=490\text{nm}$).

Il calcolo della vitalità cellulare è stato effettuato nel seguente modo:

$$\frac{(\text{assorbanza del campione estratto} - \text{assorbanza del background}) \times 100}{(\text{assorbanza del bianco} - \text{assorbanza del background})} = \% \text{ di vitalità cellulare}$$

Risultati ottenuti

Gli estratti ottenuti dalle 3 mascherine (M1, M2, M3) in esame non hanno mostrato attività citotossica a nessuna delle diluizioni testate.

In dettaglio si riportano i valori medi della % di vitalità cellulare ottenuti per ciascuna mascherina:

Identificativo mascherina	% di vitalità (estratto puro)	% di vitalità (diluizione 1:2)
M1	93	96
M2	100	97
M3	97	96
Controllo -	96	96
Controllo +	0	0

Anche per le diluizioni più alte (1:10, 1:100 e 1:1000) le % di vitalità cellulare sono risultate $\geq 95\%$ per tutte le mascherine testate.

Conclusioni

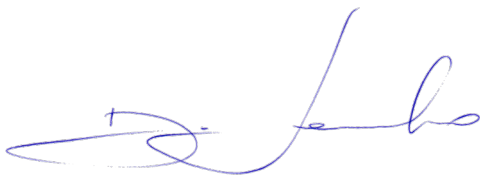
Secondo le normative sopraindicate, le mascherine devono presentare, quando sottoposte a protocolli di valutazione della tossicità, una % di vitalità $\geq 70\%$ alla più alta concentrazione saggiata (1:1, estratto puro).

Le mascherine analizzate non sono tossiche nel sistema cellulare utilizzato.

Il presente rapporto riguarda unicamente il campione sottoposto alla prova.

Il presente rapporto non può essere riprodotto parzialmente senza approvazione scritta del responsabile del Laboratorio, Prof. Lembo.

Orbassano, 24 aprile 2020



Il responsabile del Laboratorio

David Lembo

Professore Ordinario di Microbiologia

Università degli Studi di Torino

Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche

Regione Gonzole 10, 10043 Orbassano (TO)

Telefono: 011 6705484

e-mail: david.lembo@unito.it