

Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche  
Università degli Studi di Torino  
Orbassano (TO)

**CLIENTE:** SARTECH snc

**NOME MATERIALE:** Apparecchiatura al plasma freddo

### **Tempistica della prova**

La prova è iniziata in data 22 gennaio 2021 ed è terminata in data 12 febbraio 2021.

### **Metodo di prova**

Prova quantitativa per la valutazione dell'attività virucida del dispositivo "apparecchiatura al plasma freddo".

### **Condizioni sperimentali\***

\*tutte le procedure descritte sono state eseguite in sterilità.

Linea cellulare: MRC-5 (ATCC® CCL-171). Terreno di crescita: Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Sigma-Aldrich) in presenza di siero fetale bovino 10% (Sigma-Aldrich) e di una soluzione antibiotica/antimicotica 1% (Zell Shield, Minerva Biolabs).

Ceppo virale: beta-coronavirus umano OC43 (HCoV-OC43) (ATCC® VR-1558). Prodotto in cellule MRC-5. Terreno di infezione: DMEM in presenza di siero fetale bovino 2%.

Tempi di trattamento: l'attività virucida del dispositivo è stata valutata per 2 tempi di trattamento:

- 120 minuti
- 60 minuti

## Descrizione del saggio

Il campione di virus è stato posto su un supporto di plastica trasparente al di sotto del dispositivo al plasma freddo all'interno di una scatola di plexiglass chiusa.

Sono stati saggiati 2 tempi di trattamento: 120 minuti, 60 minuti. Parallelamente, per ciascuna tempistica saggiata è stato svolto un controllo costituito da un campione non trattato sottoposto alle stesse condizioni sperimentali del campione trattato. Successivamente al periodo di trattamento, i campioni sono stati posti a 4°C. L'inattivazione del virus da parte del dispositivo è stata quindi valutata tramite titolazione virale sulle cellule MRC-5 incubate a 34°C in atmosfera umidificata al 5% di CO<sub>2</sub>. A seguito dell'incubazione, le cellule sono state sottoposte a immunocitochimica indiretta tramite l'impiego di un anticorpo primario monoclonale anti-coronavirus (MAB9013, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) e un anticorpo secondario coniugato alla perossidasi Affinipure F(ab')<sub>2</sub> Fragment Goat Anti-mouse IgG (H+L) (Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc., West Grove, USA). Il titolo virale è stato espresso come unità formanti foci per mL (FFU/mL). La percentuale di inattivazione del virus a seguito del trattamento (tasso di inattivazione, %) è stata determinata comparando il titolo del virus trattato ed il titolo del campione di controllo non trattato. Il logaritmo di inattivazione (riduzione R) è stato calcolato come la differenza del logaritmo del titolo del campione trattato e non trattato. I dati sono stati analizzati con GraphPad Prism 5.00 (GraphPad Software). Per ogni tempo di trattamento sono stati eseguiti tre replicati biologici indipendenti.

## Risultati

| Tempo      | Replicati | Titolo virale del controllo non irradiato (FFU/mL) | Titolo virale del campione irradiato (FFU/mL) | Tasso di inattivazione (%) | Logaritmo di inattivazione (R) |
|------------|-----------|--|---|----------------------------|--------------------------------|
| 120 minuti | 1         | 7.29 x 10 <sup>5</sup>                             | 0   | 100                        | 5.86                           |
|            | 2         | 9.31 x 10 <sup>5</sup>                             | 0   | 100                        | 5.97                           |
|            | 3         | 8.02 x 10 <sup>5</sup>                             | 0   | 100                        | 5.90                           |
| 60 minuti  | 1         | 1.94 x 10 <sup>6</sup>                             | 0   | 100                        | 6.29                           |
|            | 2         | 7.07 x 10 <sup>5</sup>                             | 0   | 100                        | 5.85                           |
|            | 3         | 5.90 x 10 <sup>5</sup>                             | 0   | 100                        | 5.77                           |

## Figure

Le cellule infettate, evidenziate in marrone a seguito del processo di immunocitochimica, sono state visualizzate con un microscopio ottico invertito (Leica DM IL) ad un ingrandimento di 200x. Le immagini sotto riportate sono state acquisite alla diluizione 1:3 della titolazione virale.

**Tempo di trattamento: 120 minuti per tre replicati; 60 minuti per tre replicati.**



**Controllo non trattato**

**Campione trattato**

## Conclusioni

È stata valutata l'attività virucida del dispositivo "apparecchiatura al plasma freddo" contro il beta-coronavirus umano OC43 appartenente alla stessa famiglia virale e genere del coronavirus SARS-CoV-2. I risultati ottenuti evidenziano un'attività virucida del 100% in seguito ad un trattamento per 120 minuti con R media di tre esperimenti pari a 5.91 (p value < 0.0001); si è dimostrata un'attività virucida media del 100% in seguito ad un trattamento per 60 minuti con R media di tre esperimenti pari a 5.97 (p value < 0.0001). I risultati ottenuti hanno pertanto dimostrato un abbattimento totale dell'infettività virale ad entrambi i tempi di trattamento saggiati.

Il presente rapporto riguarda unicamente il dispositivo sottoposto alla prova nelle condizioni sperimentali descritte.

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

Orbassano, 12 Febbraio 2021



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](mailto:david.lembo@unito.it)