

**CITOTOSSICITÀ IN VITRO**

Campione

**Mascherina Safety Salus con logo****Rapporto di Prova N°20-1246-02**

Prova eseguita per

**SALUS CUTIS ITALIA S.R.L.**Via Aldo Gramizzi, 6  
46036 FIDENZA PR

da

**BIOCHEM S.r.l.**Via Benini 13  
40069 ZOLA PREDOSA BO

## **GESTIONE QUALITA'**

Responsabile Gestione Qualità: Dr.ssa Alessandra Marchesi, PhD

## **RESPONSABILE DEL LABORATORIO**

Ing. Giovanni Bassini

## **TEMPISTICA DELLA PROVA**

La prova è iniziata il 02/10/2020 ed è terminata il 08/10/2020.

Rif. Vs. ordine /

### Descrizione campione

# Denominazione: Mascherina Safety Salus con logo  
# Codice: 2304  
# Lotto: F0120-220LL-00300  
# Sterilizzazione: No  
Numero di ricevimento: 18062  
Data di ricevimento: 02/10/2020  
Campionamento effettuato da: SALUS CUTIS ITALIA S.R.L.

Parte del campione da testare: L'intero campione  
Pretrattamento: /

### Metodo di prova

ISO 10993-5: 2009  
ISO 10993-12: 2012

### Altri riferimenti

Protocollo di citotossicità:/

**Sommario del metodo:** Le cellule sono fatte crescere in piastre fino ad ottenere un monostrato quasi confluyente. Per ciascun campione vengono preparate tre piastre di coltura cellulare. Inoltre vengono preparate tre piastre per il controllo negativo, tre per il controllo positivo e tre per il controllo liquido di estrazione. Nelle piastre da trattare con il campione, il terreno viene aspirato e sostituito con l'estratto del campione. Le colture cellulari vengono esaminate microscopicamente dopo 24 e 48 ore di incubazione con l'estratto e viene valutata l'eventuale presenza di effetti citotossici prodotti dall'estratto del campione.

**Cellule:** BSCL 56 /L 929 (tessuto connettivo di topo).

**Terreno di coltura:** Minimum Essential Medium (MEM) con sali di Earle's addizionato di 5 % di siero bovino fetale, 1 % di L-glutammina, 0,6 % di penicillina/streptomina e 0,3 % di fungizone (MEM completo).

**Condizioni di estrazione:** 9,29 grammi sono stati estratti con 92,9 ml di terreno di coltura cellulare MEM completo (ratio 1 g / 10 ml) a 37°C per 72 hours. L'estratto è stato analizzato non diluito, diluito 1:5 e 1:10. (Rif. ISO 10993-12)

**Controllo positivo:** 6 cm<sup>2</sup> di lattice estratti con 1 ml di terreno di coltura cellulare MEM completo nelle stesse condizioni del campione.

**Controllo negativo:** 0,2 grammi di policarbonato estratti con 1 ml di terreno di coltura cellulare MEM completo nelle stesse condizioni del campione

**Controllo liquido di estrazione:** terreno di coltura cellulare MEM completo.

**Incubazione:** Le piastre trattate con l'estratto del campione in esame; quelle con i controlli positivi e negativi e quelle con il controllo liquido di estrazione vengono incubate per 48 ore a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  in atmosfera al 5% di  $\text{CO}_2$ .

### Apparecchiature

Termostato a  $\text{CO}_2$  (5%), mantenuto a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  
Microscopio ottico a fase inversa;  
Cappa a flusso laminare sterile;  
Materiali monouso sterili;  
Piastrine per colture cellulari.

**Valutazione degli effetti e interpretazione dei risultati:** La citotossicità viene valutata per via qualitativa mediante esame microscopico delle cellule dopo 24 e 48 ore di incubazione. Vengono valutate la morfologia generale, la presenza di vacuolizzazione, distacchi, lisi cellulare, integrità delle membrane. Agli scostamenti rispetto alla morfologia normale evidenziata dal controllo negativo viene attribuito un punteggio da 0 a 4 (vedi sistema di punteggio). Inoltre per le piastre trattate con gli estratti del campione viene valutata la confluenza del monostrato e viene confrontata la colorazione del terreno di coltura con quella del terreno delle piastre del controllo negativo.

### Sistema di punteggio:

Grado	Reattività	Descrizione reattività
0	nessuna	discreta quantità di granulazioni intracellulari; nessuna lisi cellulare
1	lieve	non più del 20% delle cellule sono rotondeggianti, approssimativamente adese e senza granulazioni intracellulari; occasionale presenza di lisi cellulare
2	leggera	non più del 50% delle cellule sono rotondeggianti e senza granulazioni intracellulari; non estesa presenza di lisi cellulare e aree vuote fra le cellule
3	moderata	non più del 70% dello strato cellulare contiene cellule rotondeggianti o lise
4	severa	quasi completa distruzione dello strato cellulare

<b>Risultati a 24 h di incubazione</b>	<b>Punteggio</b>
Controllo positivo	4
Controllo positivo	4
Controllo positivo	4
Controllo negativo	0
Controllo negativo	0
Controllo negativo	0
Controllo MEM	0
Controllo MEM	0
Controllo MEM	0
Estratto non diluito	2
Estratto non diluito	2
Estratto non diluito	2
Confluenza del monostrato	Confluente
Colore del terreno di coltura	Comparabile al terreno del controllo negativo
Estratto diluito 1:5	0
Estratto diluito 1:5	0
Estratto diluito 1:5	0
Confluenza del monostrato	Confluente
Colore del terreno di coltura	Comparabile al terreno del controllo negativo
Estratto diluito 1:10	0
Estratto diluito 1:10	0
Estratto diluito 1:10	0
Confluenza del monostrato	Confluente
Colore del terreno di coltura	Comparabile al terreno del controllo negativo

<b>Risultati a 48 h di incubazione</b>	<b>Punteggio</b>
Controllo positivo	4
Controllo positivo	4
Controllo positivo	4
Controllo negativo	0
Controllo negativo	0
Controllo negativo	0
Controllo MEM	0
Controllo MEM	0
Controllo MEM	0
Estratto non diluito	2
Estratto non diluito	2
Estratto non diluito	2
Confluenza del monostrato	Confluente
Colore del terreno di coltura	Comparabile al terreno del controllo negativo
Estratto diluito 1:5	0
Estratto diluito 1:5	0
Estratto diluito 1:5	0
Confluenza del monostrato	Confluente
Colore del terreno di coltura	Comparabile al terreno del controllo negativo
Estratto diluito 1:10	0
Estratto diluito 1:10	0
Estratto diluito 1:10	0
Confluenza del monostrato	Confluente
Colore del terreno di coltura	Comparabile al terreno del controllo negativo

## PARERI ED INTERPRETAZIONI – Non oggetto dell'accreditamento ACCREDIA

All'esame microscopico le cellule trattate con l'estratto del campione non diluito dopo 24 e 48 ore di incubazione hanno mostrato scostamenti rispetto alla morfologia normale evidenziata dal controllo negativo. L'estratto non diluito mostra una leggera reattività dopo 24 e 48 ore di incubazione. Le cellule trattate con l'estratto diluito 1:5 e 1:10 non hanno mostrato scostamenti rispetto alla morfologia normale. Gli estratti diluiti 1:5 e 1:10 non mostrano alcuna reattività.

Il presente Rapporto di Prova è riferito esclusivamente al campione esaminato.  
Nel caso in cui il campione sia stato fornito dal Cliente, i risultati si applicano al campione così come ricevuto.  
Il presente Rapporto di Prova non può essere riprodotto parzialmente, salvo approvazione scritta di Biochem.

(#)Dati forniti dal Cliente. Il laboratorio declina la responsabilità di tali dati.

Prova verificata da: Buriani Giampaolo, PhD.

Emissione autorizzata da:  
Responsabile del Laboratorio Ing. Giovanni Bassini

Zola Predosa, 08/10/2020

FINE RAPPORTO DI PROVA