

Nome del cliente	Gabriel Scientific Ltd.,
Indirizzo del cliente	Paramount Court, Corrig Road, Sandyford, Dublino 18
Contatto	David Woolfson
Prova richiesta	Prova Barriera Coronavirus
Descrizione del campione	Cuscino SleepAngel™
Numero di campioni	3
Data di ricezione	24/09/2015
Codice ASC	ASC003246
Rapporto n.	ASC092149
Data rapporto	29/02/2016

indice

1. Scopo.....	3
2. Background.....	3
3. Descrizione degli elementi sottoposti a prova	4
4. Materiali e metodi	4
5. Risultati	6
6. Discussione	6
7. Conclusioni	7
8. Riferimenti.....	7

1. Scopo

Valutare la capacità del cuscino SleepAngel™ di fungere da barriera contro il Coronavirus umano 229E.

2. Background

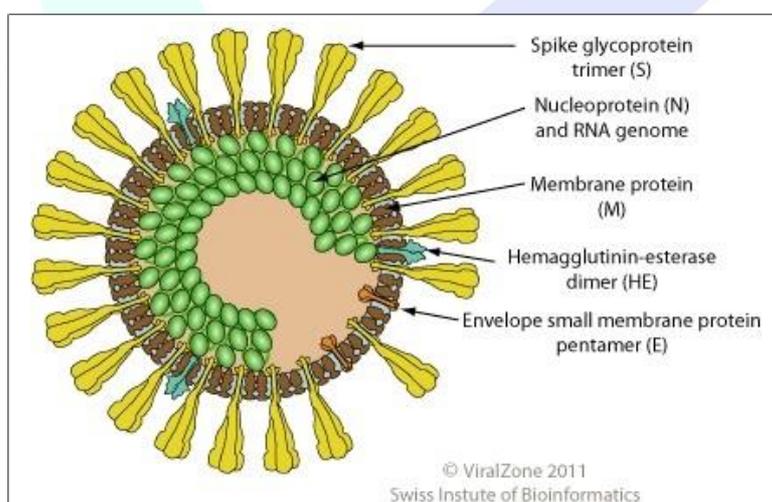
I coronavirus sono virus a RNA con involucro appartenenti alla famiglia dei Coronaviridae. Sono responsabili di malattie respiratorie lievi e acute nell'uomo.

Il Coronavirus umano 229E è responsabile al massimo di un terzo dei comuni raffreddori e può anche essere coinvolto in malattie più gravi (Myint 1995; Falsey et al. 1997). L'interesse per i Coronavirus è stato stimolato dai focolai della sindrome respiratoria acuta grave (SARS) iniziata in Cina nel 2003 e poi diffusasi in altre parti del mondo (Poutanen et al. 2005) perché è stato dimostrato che l'agente eziologico è un nuovo coronavirus chiamato SARS-CoV. Sono stati registrati circa 8.000 casi di infezione in quasi 30 Paesi, con un tasso di mortalità di circa il 10% (Peiris et al. 2003). Nel 2012 anche un altro nuovo coronavirus emerso in Medio Oriente è stato associato alla sindrome respiratoria acuta (coronavirus MERS).

I coronavirus SARS e MERS sono altamente patogeni. Pertanto, per questo studio, come rappresentante della famiglia dei Coronavirus, è stato utilizzato il coronavirus umano 229E (HCoV 229E).

La struttura dei virioni della famiglia Coronaviridae è illustrata nella Figura 2.1.

Spike glicoproteina trimero (S)
Nucleoproteina (N) e genoma a RNA
Proteina di membrana (M)
Dimero di emoagglutinina-esterasi (HE)



Pentamero proteico di membrana a involucro piccolo (E)

Figure 2.1. Virione del coronavirus

3. Descrizione degli elementi sottoposti a prova

Il 24/09/2015, la Gabriel Scientific ha inviato all'Airmid healthgroup tre cuscini SleepAngel™ (Figura 3.1).



4. Materiali e metodi

4.1. Materiali

- 4.1.1. Coronavirus umano 229E (HCoV 229E)
- 4.1.2. Kit PCR in tempo reale per il rilevamento del coronavirus
- 4.1.3. Pompa per vuoto e apparato di impattamento BioStage
- 4.1.4. Cabina a flusso laminare

4.2. Metodi

4.2.1. Prova barriera

- Le cuciture, il filtro e il tessuto sfuso di ciascuno dei tre cuscini sono stati testati per verificarne la capacità di fungere da barriera all'HCoV 229E utilizzando un impattatore BioStage. Porzioni di cuscino da 15 x 15 cm sono state tagliate come mostrato nella Figura 4.1 e posizionate sull'impattatore BioStage come richiesto.
- Il controllo positivo era costituito da tessuto di cotone. Come controllo negativo, sono stati usati guanti di lattice impermeabili. Sono stati eseguiti doppi controlli positivi e negativi.

- Il campione di virus è stato posto nella camera superiore dell'apparecchio, sul materiale di prova o di controllo e, quindi, è stato applicato il vuoto per 30 secondi. Qualsiasi virus che è passato attraverso il materiale di prova o il controllo è stato recuperato in un tampone di raccolta posizionato nella parte inferiore dell'impattatore. I campioni raccolti sono stati quindi analizzati per rilevare la presenza del virus mediante PCR quantitativa.



4.2.1. PCR quantitativa

La PCR quantitativa (qPCR) è una forma di reazione a catena della polimerasi (PCR) in cui vengono acquisiti e monitorati in tempo reale i dati, quindi, è anche nota come PCR in tempo reale. Grazie a coloranti o sonde fluorescenti e all'uso di standard, può essere quantificato con precisione un prodotto mirato di concentrazione ignota. La tecnica è molto sensibile: il limite di rilevabilità è di 2 copie di acido nucleico per microlitro di campione. In questo caso, è stata eseguita una trascrittasi inversa qPCR (RT-qPCR) poiché HCoV229E è un virus a RNA, quindi è stata introdotta una fase iniziale in cui l'RNA viene convertito in DNA.

5. Risultati

5.1. Test barriera del cuscino Sleep Angel per il coronavirus umano 229E

Diverse aree del cuscino sono state testate come indicato nella Sezione 4 per verificare la loro permeabilità al coronavirus umano 229E (HCoV229E). La Tabella 5.1 mostra i risultati dell'analisi qPCR.

I valori del campione rappresentano la media di tre replicati e i valori di controllo rappresentano la media di due replicati.

Tabella 5.1 Numero totale di copie di RNA virale recuperate dal test di barriera.

Porzione di cuscino	Numero totale di copie di RNA	Deviazione standard
Cucitura lunga	<LOD ^{a b}	/
Cucitura corta	<LOD ^b	/
Filtro e cucitura del filtro	<LOD ^b	/
Tessuto sfuso	<LOD ^b	/
Controllo positivo (Cotone)	8,6x10 ^{8 c}	1,3 x10 ⁸
Controllo negativo (Latex)	<LOD ^c	/

a <LOD = al di sotto del limite di rilevamento (<104 copie totali di RNA)

b I valori rappresentano la media di tre repliche

c I valori rappresentano la media di due repliche

6. Discussione

I campioni del cuscino SleepAngel™ sono stati testati per la loro capacità di fungere da barriera contro il coronavirus umano 229E (HCoV 229E). L'HCoV 229E è stato scelto come rappresentante della famiglia dei Coronavirus a causa del ruolo rilevante che i coronavirus svolgono nella sindrome respiratoria lieve e grave.

Le cuciture dei cuscini, i filtri e il tessuto sfuso (Figura 4.1) sono stati testati per verificarne la permeabilità al virus utilizzando un dispositivo di simulazione BioStage. L'efficacia del test è stata dimostrata utilizzando la fibra di cotone come controllo positivo. Il materiale di controllo positivo ha consentito il trasferimento del virus attraverso il buffer di raccolta dove sono state rilevate mediamente 8,6 x 10⁸ copie virali di RNA totali. L'analisi del buffer di raccolta per i controlli negativi (fibra di lattice) mediante qPCR ha fornito valori inferiori al limite di rilevamento.

I risultati dell'analisi dei campioni di prova mostrano che il cuscino non consente il trasferimento di particelle virali attraverso le cuciture, il filtro e il tessuto stesso. L'analisi del buffer di raccolta mediante qPCR ha fornito valori inferiori al limite di rilevamento per ogni replicato esaminato.

7. Conclusioni

Il cuscino SleepAngel™ si è dimostrato efficace nel fungere da barriera contro il coronavirus umano 229E, utilizzato come rappresentante della famiglia dei coronavirus. Il test effettuato utilizzando un impattatore BioStage ha dimostrato che il cuscino è stato in grado di bloccare il 99,99% dei virus.

8. Bibliografia

- Falsey AR, McCann RM, Hall WJ et al. The 'common cold' in frail older persons: impact of rhinovirus and coronavirus in a senior daycare centre. *J Amer Geriatr Soc* 1997, 45:706-711.
- Myint SH. Human coronavirus infections. In Siddell SG, ed. *The Coronaviridae*. New York: Plenum Press, 1995, 389-401.
- Peiris JS, Yuen KY et al. The severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med*. 2003, 349: 2431-41.
- Poutanen SM, Low DE, Henry B et al. Identification of severe acute respiratory syndrome in Canada. *N Engl J Med*. 2003, 348:1986-94.

“Il presente rapporto viene fornito su base confidenziale a beneficio del cliente di airmid healthgroup ai sensi dell'accordo intercorso tra airmid healthgroup e il suo cliente. Un diritto di azione derivante dalla presente relazione non può essere ceduto. La responsabilità di airmid healthgroup ai sensi della presente relazione è limitata alla negligenza dimostrata e non sarà in nessun caso superiore alle spese delle prove. I risultati riportati in questo rapporto di prova si riferiscono solo al/i campione/i testato/i salvo diversa indicazione, alle condizioni concordate. Chiunque faccia affidamento su questo rapporto dovrebbe comprendere tutti i dettagli dell'impegno. Solo il cliente è autorizzato a pubblicare, copiare o mettere a disposizione di terzi questo rapporto e, quindi, solo nella sua interezza. Il presente rapporto o il nome o il logo limitato di airmid healthgroup non possono essere inclusi in alcun materiale, comprese attività legali o pubblicitarie relative al prodotto o al servizio testato senza l'esplicito consenso scritto di airmid healthgroup ltd.

Relazione scritta da:

Mariarita Arenella
Virologo
Senior

Rapporto esaminato da:

Vivienne
Mahon

Firmato digitalmente da Vivienne Mahon
DN: cn=Vivienne Mahon, o=Vivienne
Mahon, ou=Ireland, ou=IE-Ce-Stamp,
ou=healthgroup, email=vivienne.mahon@airmidhealthgroup.com
Motivo: Ho approvato il presente
documento. Luogo:
Data: 2016-02-29 17:27Z

Vivienne Mahon
Funzionario Scientifico

Fine del rapporto