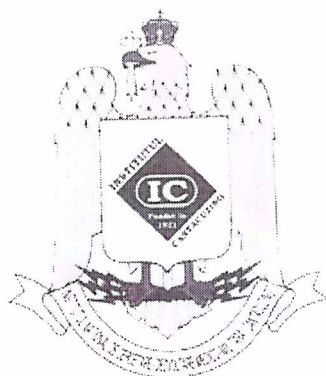




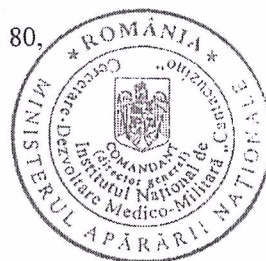
**LABORATOR INFECȚII NOSOCOMIALE
ȘI REZISTENTE LA ANTIBIOTICE**

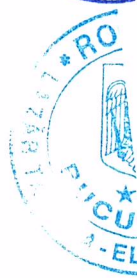
**RAPORT DE EVALUARE
Nr. 10 din 21.07.2020**

**EVALUAREA ACTIVITĂȚII ANTIMICROBIENE
A UNOR PROBE DE MATERIAL PLASTIC
FUNȚIONALIZAT CU ZINC PIRITHION,
PRIN TESTAREA CAPACITĂȚII DE INACTIVARE
A UNEI SUSPENSII MICROBIENE STANDARDIZATE
(Metoda ISO 22196:2011)**

Evaluare efectuată de: Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară „CANTACUZINO”
Laborator Infecții Nosocomiale și Rezistente la Antibiotice
Splaiul Independenței 103 - București
Tel.: 021 30 69 100, interior 5226
Fax : 021 30 69 107

Date identificare beneficiar: ELTEM S.R.L.
Orăș Voluntari, Județul Ilfov, Sos. Afumați Nr. 80,
Tel/fax: 0212703544





Material: material plastic (PP) funcționalizat cu zinc pyrithion 5% w/w

Identificare probe (Tabel 1):

- material funcționalizat cu compuși antibacterieni (cupoane pătrate cu latura de 50 mm, grosime 3 mm)
- material nefuncționalizat (martor): cupoane pătrate din material plastic cu latura de 50 mm, grosime 3 mm

Tabel 1. Identificare probe

Denumire proba	Cod proba
Cupon plastic martor	CM
Cupon funcționalizat cu substanțe antimicrobiene	CF

Decuparea cupoanelor a fost efectuată de beneficiar.

Probele au fost spalate cu apa distilata, apoi dezinfectate timp de 20 de minute prin imersie in alcool de 70⁰, dupa care au fost introduse in hota cu flux laminar si expuse la radiatie UV sterilizanta timp de 15 minute, pe fiecare dintre fețe.

Film transparent pentru acoperirea inoculului: film de polipropilenă, pătrate cu latura de 40 mm și grosimea de 0,1 mm

Volum inocul: 400 μ L

II. Intervalul în care au fost efectuate testările:

03.07.2020 – 17.07.2020

III. Metoda: standard ISO 22196

IV Rezultate testare:

IV.1. Activitatea antibacteriană asupra Staphylococcus aureus 6538

Test	UM	Rezultat
Activitate antibacteriană Staphylococcus aureus ATCC 6538		
N bacterii inocul	Log UFC/ml	5,34
N bacterii recuperate de pe CM la $T_0 = U_0$	Log UFC/cm ²	3,9
N bacterii recuperate de pe CM la $T_{24} = U_1$	Log UFC/cm ²	3,6
N bacterii recuperate de pe CF la $T_{24} = A_1$	Log UFC/cm ²	< 1
Activitate antibacteriană R (reducere logaritmică)	Log ₁₀	3,6

Test	UM	Rezultat
Activitatea antibacteriană <i>Staphylococcus aureus</i> R% (reducere procentuală)	%	99,99%

Interpretare:

Testul evaluează supraviețuirea *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 pe suprafața materialului funcționalizat cu compuși antibacterieni la 36 ± 1 °C după 24 de ore.

În condițiile specificate, procentul de reducere a supraviețuirii *Staphylococcus aureus* 6538 a fost de 99,99%.

IV.2. Activitatea antibacteriană asupra *Escherichia coli* 8739

Test	UM	Rezultat
Activitate antibacteriană <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739		
<i>N</i> bacterii inocul	Log UFC/ml	5,23
<i>N</i> bacterii recuperate de pe CM la $T_0 = U_0$	Log UFC/cm ²	4,0
<i>N</i> bacterii recuperate de pe CM la $T_{24} = U_t$	Log UFC/cm ²	4,0
<i>N</i> bacterii recuperate de pe CF la $T_{24} = A_t$	Log UFC/cm ²	< 1
Activitate antibacteriană R	Log ₁₀	4,0

Test	UM	Rezultat
Activitatea antibacteriană <i>Escherichia coli</i> R%	%	99,99%

Interpretare:

Testul evaluează supraviețuirea *Escherichia coli* ATCC 8739 pe suprafața materialului funcționalizat cu compuși antibacterieni la 36 ± 1 °C după 24 de ore.

În condițiile specificate, procentul de reducere a supraviețuirii *Escherichia coli* ATCC 8739 a fost de 99,99%.



IV.3. Activitatea antibacteriană asupra *Pseudomonas aeruginosa* 9027

Test	UM	Rezultat
Activitate antibacteriană <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027		
<i>N</i> bacterii inocul	Log UFC/ml	5,04
<i>N</i> bacterii recuperate de pe CM la $T_0 = U_0$	Log UFC/cm ²	3,5
<i>N</i> bacterii recuperate de pe CM la $T_{24} = U_t$	Log UFC/cm ²	3,6
<i>N</i> bacterii recuperate de pe CF la $T_{24} = A_t$	Log UFC/cm ²	< 1
Activitate antibacteriană R	Log ₁₀	3,6

Test	UM	Rezultat
Activitatea antibacteriană <i>Pseudomonas aeruginosa</i> R%	%	99,99%

Interpretare:

Testul evaluează supraviețuirea *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9207 pe suprafața materialului funcționalizat cu compuși antibacterieni la 36 ± 1 °C după 24 de ore.

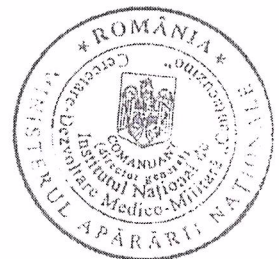
În condițiile specificate, procentul de reducere a supraviețuirii *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9207 a fost de 99,99%.

V. Validarea testului:

Condiția 1:

	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> ATCC 9027
Lmax	4,0	4,0	3,9
Lmin	3,8	3,9	3,8
Lmediu	3,9	4,0	3,8

Legenda: Lmax: Log₁₀ din numărul maxim de bacterii viabile; Lmin : Log₁₀ din numărul minim de bacterii viabile; Lmediu : Log₁₀ din numărul mediu de bacterii viabile



Staphylococcus aureus ATCC 6538 :

$$(L_{\max} - L_{\min}) / (L_{\text{mediu}}) = 0,05 \leq 0,2$$

Escherichia coli ATCC 8739:

$$(L_{\max} - L_{\min}) / (L_{\text{mediu}}) = 0,02 \leq 0,2$$

Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027:

$$(L_{\max} - L_{\min}) / (L_{\text{mediu}}) = 0,02 \leq 0,2$$

Condiția 2:

	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> ATCC 9027
<i>T₀ Martor 1</i>	7500	10162	6887
<i>T₀ Martor 2</i>	11562	10878	7293
<i>T₀ Martor 3</i>	7625	9775	7018

Pentru toate tulpinile, cele 3 valori ale numărului de colonii recuperate de pe suprafața cupoanelor martor la *T₀* se situează între $6,2 \times 10^3$ și $2,5 \times 10^4$

Condiția 3:

	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> ATCC 9027
<i>T₂₄ Martor 1</i>	4500	5000	3250
<i>T₂₄ Martor 2</i>	5187.5	26437	4687
<i>T₂₄ Martor 3</i>	3687.5	7187.5	4312.5

Pentru toate tulpinile, cele 3 valori ale numărului de colonii recuperate de pe plăcile martor nu sunt mai mici decât $6,2 \times 10^1$

Concluzie:

Rezultatele obținute prin metoda ISO 22196 confirmă creșterea activității antibacteriene prin funcționalizarea materialului plastic cu zinc pirithion, cu reducere logaritmică de 3,6 - 4 $\log_{10}$ și reducere procentuală de 99,99% a numărului de bacterii Gram pozitive (*Staphylococcus aureus*) și Gram negative (*Escherichia coli* și *Pseudomonas aeruginosa*) testate în condițiile specificate în raport.

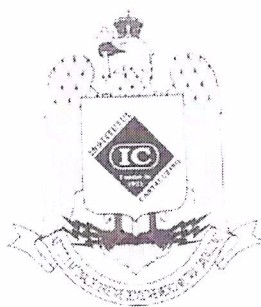
Efectuat de:

ASC Caracoti Costin Stefan

ASC Negrea Stefania Madalina

Validat de:

CS I Dr. Irina Codita



LABORATORY OF NOSOCOMIAL AND ANTIBIOTIC-RESISTANT INFECTIONS

ASSESSMENT REPORT No. 10 of 21.07.2020

ASSESSMENT OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME PLASTIC MATERIAL SAMPLES FUNCTIONALISED WITH ZINC PYRITHIONE, BY TESTING THE INACTIVATION CAPACITY OF A STANDARDISED MICROBIAL SUSPENSION (ISO 22196:2011 method)

Assessment performed by: “CANTACUZINO” National Military-Medical Institute for
Research and Development

Laboratory of Nosocomial and Antibiotic-Resistant Infections
103 Splaiul Independenței – Bucharest
Tel.: 021 30 69 100, extension 5226
Fax: 021 30 69 107

Beneficiary identification data: ELTEM S.R.L.
Voluntari Town, Ilfov County, 80 Șos. Afumați,
Tel./Fax: 0212703544

*Round stamp: * ROMANIA **

“Cantacuzino” National Military-Institute for Research and Development
COMMANDING OFFICER

(General Manager)

THE MINISTRY OF NATIONAL DEFENCE

Material: plastic material (PP) functionalised with zinc pyrithione 5% w/w

Sample identification (Table 1):

- material functionalised with antibacterial compounds (square coupons with sides of 50 mm, 3 mm thickness)
- non-functionalised material (control): square plastic coupons with sides of 50 mm, 3 mm thickness

Table 1. Sample identification

Sample name	Sample code
Control plastic coupon	CM
Coupon functionalised with antimicrobial substances	CF

The coupons were cut by the beneficiary.

The samples were washed with distilled water, then disinfected for 20 minutes by immersion in 70° alcohol, after which they were placed in a laminar flow hood and exposed to sterilising UV radiation for 15 minutes, on each side.

Transparent film for covering the inoculum: polypropylene film, square, with sides of 40 mm and 0.1 mm thickness.

Inoculum volume: 400 μ L

II. The interval in which the tests were performed:

03.07.2020 – 17.07.2020

III. Method: ISO 22196 standard

IV. Test results:

IV.1. Antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* 6538

Test	U.M.	Result
Antibacterial activity		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538		
<i>N</i> bacteria inoculum	Log CFU/ml	5.34
<i>N</i> bacteria recovered from the CM at $T_0 = U_0$	Log CFU/cm ²	3.9
<i>N</i> bacteria recovered from the CM at $T_{24} = U_t$	Log CFU/cm ²	3.6
<i>N</i> bacteria recovered from the CF at $T_{24} = A_t$	Log CFU/cm ²	< 1
<i>R</i> antibacterial activity (logarithmic reduction)	Log ₁₀	3.6

Test	U.M.	Result
Antibacterial activity		
<i>Staphylococcus aureus</i> R% (percentage reduction)	%	99.99%

Round stamp: * ROMANIA *
 “Cantacuzino” National Military-Institute for Research and Development
 COMMANDING OFFICER
 (General Manager)
 THE MINISTRY OF NATIONAL DEFENCE



Interpretation:

The test assesses the survival of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 on the surface of the material functionalised with antibacterial compounds at $36\pm 1^{\circ}\text{C}$, after 24 hours.

Under the specified conditions, the percentage reduction in the survival of *Staphylococcus aureus* 6538 was 99.99%.

IV.2. Antibacterial activity on *Escherichia coli* 8739

Test	U.M.	Result
Antibacterial activity <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739		
<i>N</i> bacteria inoculum	Log CFU/ml	5.23
<i>N</i> bacteria recovered from the CM at $T_0 = U_0$	Log CFU/cm ²	4.0
<i>N</i> bacteria recovered from the CM at $T_{24} = U_t$	Log CFU/cm ²	4.0
<i>N</i> bacteria recovered from the CF at $T_{24} = A_t$	Log CFU/cm ²	< 1
R antibacterial activity	Log ₁₀	4.0

Test	U.M.	Result
Antibacterial activity <i>Escherichia coli</i> R%	%	99.99%

Interpretation:

The test assesses the survival of *Escherichia coli* ATCC 8793 on the surface of the material functionalised with antibacterial compounds at $36\pm 1^{\circ}\text{C}$, after 24 hours.

Under the specified conditions, the percentage reduction in the survival of *Escherichia coli* ATCC 8793 was 99.99%.

IV.3. Antibacterial activity on *Pseudomonas aeruginosa* 9027

Test	U.M.	Result
Antibacterial activity <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027		
<i>N</i> bacteria inoculum	Log CFU/ml	5.04
<i>N</i> bacteria recovered from the CM at $T_0 = U_0$	Log CFU/cm ²	3.5
<i>N</i> bacteria recovered from the CM at $T_{24} = U_t$	Log CFU/cm ²	3.6
<i>N</i> bacteria recovered from the CF at $T_{24} = A_t$	Log CFU/cm ²	< 1
<i>R</i> antibacterial activity	Log ₁₀	3.6

Test	U.M.	Result
Antibacterial activity <i>Pseudomonas aeruginosa</i> R%	%	99.99%

Interpretation:

The test assesses the survival of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9207 on the surface of the material functionalised with antibacterial compounds at $36 \pm 1^\circ\text{C}$, after 24 hours.

Under the specified conditions, the percentage reduction in the survival of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9207 was 99.99%.

V. Test validation:

Condition 1:

	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027
Lmax	4.0	4.0	3.9
Lmin	3.8	3.9	3.8
Laverage	3.9	4.0	3.8

Legend: Lmax: Log₁₀ of the maximum number of viable bacteria; Lmin: Log₁₀ of the minimum number of viable bacteria; Laverage: Log₁₀ of the average number of viable bacteria

Round stamp: * ROMANIA *
 "Cantacuzino" National Military-Institute for Research and Development
 COMMANDING OFFICER
 (General Manager)
 THE MINISTRY OF NATIONAL DEFENCE



***Staphylococcus aureus* ATCC 6538:**

$$(L_{\max} - L_{\min}) / (L_{\text{average}}) = 0.05 \leq 0.2$$

***Escherichia coli* ATCC 8739:**

$$(L_{\max} - L_{\min}) / (L_{\text{average}}) = 0.02 \leq 0.2$$

***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027:**

$$(L_{\max} - L_{\min}) / (L_{\text{average}}) = 0.02 \leq 0.2$$

Condition 2:

	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027
<i>T₀ Control 1</i>	7500	10162	6887
<i>T₀ Control 2</i>	11562	10878	7293
<i>T₀ Control 3</i>	7625	9775	7018

For all strains, the 3 values of the number of colonies recovered from the surface of the control coupons at *T₀* are between 6.2×10^3 and 2.5×10^4

Condition 3:

	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027
<i>T₂₄ Control 1</i>	4500	5000	3250
<i>T₂₄ Control 2</i>	5187.5	26437	4687
<i>T₂₄ Control 3</i>	3687.5	7187.5	4312.5

For all strains, the 3 values of the number of colonies recovered from the control plates are not less than 6.2×10^1

Conclusion:

The results obtained by the ISO 22196 method confirm the increase of the antibacterial activity by functionalising the plastic material with zinc pyrithione, with a logarithmic reduction of $3.6 - 4 \text{ Log}_{10}$ and a percentage reduction of 99.99% of the number of Gram positive (*Staphylococcus aureus*) and Gram negative (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) bacteria tested under the conditions specified in the report.

Drafted by:

ASC Caracoti Costin Ștefan *illegible signature*
ASC Negrea Ștefania Mădălina *illegible signature*

Validated by:

CS I Dr. Irina Codita
illegible signature

Subsemnata **BONCILĂ VASILICA**, interpret și traducător autorizat pentru limba/limbile străine **Engleză și Italiană**, în temeiul Autorizației nr. **3269** din data de **22.06.2000**, eliberată de Ministerul Justiției din România, certific exactitatea traducerii efectuate din limba **Română** în limba **Engleză**, că textul prezentat a fost tradus complet, fără omisiuni, și că, prin traducere, înscrisului nu i-au fost denaturate conținutul și sensul.

Înscrisul a cărui traducere se solicită **în întregime** are, în integralitatea sa, un număr de **4** pagini, poartă titlul/denumirea de **Raport de Evaluare**, a fost emis **Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară CANTACUZINO** și a fost prezentat mie **în întregime**.

Traducerea înscrisului prezentat are un număr de **4** pagini și a fost efectuată potrivit cererii scrise înregistrate sub nr. **150 / 12.11.2020**, păstrate în arhiva subsemnatului.

S-a facturat onorariul de **89,25** Lei, încasat cu **ordin de plată**.

INTERPRET ȘI TRADUCĂTOR AUTORIZAT,



ROMÂNIA
UNIUNEA NAȚIONALĂ A NOTARILOR PUBLICI
BIROU INDIVIDUAL NOTARIAL LAZĂR TAMARA ELENA

Licență funcționare nr. 2172/1915/11.11.2013
Sediul : București, Str. Turda Nr. 98, Bl. 29A, Tronson 1, Et. 1, Ap. 1, Sector 1
Tel. / Fax: 021-666.46.98; Tel.: 021-224.18.82. e-mail: tamara_lazar@yahoo.com
Operator de date cu caracter personal 1140
C.I.F. RO20179807

ÎNCHEIERE DE LEGALIZARE A SEMNĂTURII TRADUCĂTORULUI NR. 646
Anul 2020 luna 11 ziua 16

LAZĂR TAMARA ELENA, notar public, în temeiul art. 12 lit. j) din Legea notarilor publici și a activității notariale nr. 36/1995, republicată, cu modificările ulterioare, legalizez semnătura de mai sus, aparținând lui **BONCILĂ VASILICA** interpret și traducător autorizat, în baza specimenului de semnătură depus la biroul notarial, de pe cele 2 exemplare ale înscrisului, care are ca parte integrantă o copie a actului tradus.

Înscrisul a cărui traducere se solicită este un înscris cu dată certă
S-a perceput onorariul de 30 lei + T.V.A. 5,70 lei cu B.F. nr. OP /2020.

NOTAR PUBLIC,
LAZĂR TAMARA ELENA





The undersigned **BONCILĂ VASILICA**, sworn interpreter and translator authorised for the foreign languages: **English and Italian**, as per the Authorisation no. **3269** of **22.06.2000**, delivered by the Ministry of Justice in Romania, I do hereby certify the accuracy of the translation from **Romanian** to **English**, as well that the text submitted to me was translated in full, without any omissions, and the content and meaning of the document were not distorted in any way.

The document the translation of which is requested **in full**, contains, in its entirety **4** pages, is entitled **Assessment Report** was issued by **"CANTACUZINO" National Military-Medical Institute for Research and Development** and was submitted to me **in full**.

The translation of the document submitted contains **4** pages and was made as per the written application registered under no. **150 / 12.11.2020**, kept in the archive of the undersigned.

The fee of **89.25** Lei was charged, paid as per **payment order**.

SWORN INTERPRETER AND TRANSLATOR



ROMANIA

THE ROMANIAN NATIONAL UNION OF NOTARIES PUBLIC

LAZĂR TAMARA ELENA INDIVIDUAL NOTARY'S OFFICE

Permit for functioning no. 2172/1915/11.11.2013

Head office: Bucharest, 98 Turda St., building 29 A, Wing 1, 1st floor, apartment 1, sector 1

Tel. / Fax: 021-666.46.98; Tel.: 021-224.18.82. E-mail: tamara_lazar@yahoo.com

Personal data operator 1140

C.I.F. RO20179807

LEGALIZATION OF TRANSLATOR'S SIGNATURE NO. 646

Year 2020 Month 11 Day 16

LAZĂR TAMARA ELENA, Notary Public, under article 12 letter j) of the Law on the Notaries Public and the notary activity no. 36/1995, republished, with subsequent amendments, I hereby certify the above signature, belonging to **BONCILĂ VASILICA**, sworn interpreter and translator, under the signature specimen submitted at the notary's office, applied on the 2 counterparts of the document, the copy of the translated document being an integral part thereof.

The document the translation of which is requested is a CU ADITĂ CERITĂ document.

The fee of 30 lei + VAT of 5,10 lei was charged, as per the notary bill no. OP

/ 2020

NOTARY PUBLIC,
LAZĂR TAMARA ELENA



