

Dispositivi Medici di Classe I,IIa/b,III

- ▶ Dispositivo Medico (DM)
- ▶ Sistemi o Kit Assemblati (c.2 Art.12)
- ▶ Attivita' in corso
- ▶ Certificati CE
- ▶ Versamenti
- ▶ Trasmissione Dati
- ▶ Scarico dati DM inseriti
- ▶ Documentazione
- ▶ Notifiche Multiple Dm Simili

Home > Dispositivi Medici di Classe I,IIa/b,III > Dispositivo Medico (DM)

?

Dispositivo Medico (DM)

Criteri di Ricerca

Ricerca su tutti i DM Ricerca i DM in To-do List

Progressivo di sistema attribuito al Dispositivo:	1962917
Fabbricante:	
Codice attribuito dal fabbricante (identificativo catalogo):	da: <input type="text"/> a: <input type="text"/>
Nome commerciale e modello:	
Classificazione CND:	
Stato del DM:	
Ruolo dell'utente rispetto al DM:	
Immissione in commercio:	
Iscritti al Repertorio:	

[Cerca](#)

Progressivo di sistema attribuito al Dispositivo	Fabbricante	Codice attribuito dal fabbricante (identificativo catalogo)	Nome commerciale e modello	Classificazione CND	Stato del Dispositivo	Data Fine Commercio	Selezione <input type="checkbox"/>
1962917/R	HELPCODELIFE S.R.L.	MIOID FACE MASK	MASCHERINA CHIRURGICA	T020601 - MASCHERINE CHIRURGICHE STANDARD	v		<input type="checkbox"/>

Pagina 1 di 1

Stato del Dispositivo: L=IN LAVORAZIONE C=CONSOLIDATO V=VALIDATO P=PUBBLICATO U=CANCELLATO D'UFFICIO

Se il progressivo di sistema del DM è seguito dal simbolo (*) vuol dire che sono presenti in banca dati collegamenti con altre notifiche.

Qualora siano presenti piu' pagine riferibili al risultato della ricerca, l'attivazione del check 'Seleziona tutti' selezionerà solo i record della pagina corrente e non quelli presenti nelle pagine successive. Per selezionare i record delle restanti pagine utilizzare i link 'precedente / successiva' ed attivare, per ciascuna pagina, il relativo check ('seleziona tutti')

Selezione: Cliccare su uno dei quadratini in corrispondenza del componente o dei componenti presenti nella lista a seconda delle operazioni

Operazioni attivabili:

- **Inserisci:** Consente di inserire un nuovo DM.
- **Copia:** Consente di effettuare la copia del DM selezionato, al fine di semplificare l'inserimento di un altro DM, riutilizzando le informazioni già inserite.
- **Modifica:** Consente di modificare il DM selezionato per modificarne i dati precedentemente inseriti. E' possibile modificare DM che si trovano solo nello stato "In Lavorazione" o "Consolidato".
- **Cancella:** Consente di cancellare dalla banca dati il DM selezionato.
- **Inserisci DM simili:** Consente di inserire "velocemente" dei Dispositivi Medici simili al DM selezionato, aventi le sue stesse caratteristiche ad eccezione delle seguenti: Codice attribuito dal fabbricante, Nome commerciale, Misura ed Etichetta. La funzionalità si differenzia logicamente da quella di "Copia" in quanto i DM inseriti in tal modo costituiscono un ?gruppo? di dispositivi medici aventi un nucleo di informazioni comune, sui quali è pertanto possibile agire contemporaneamente attivando gli stessi processi ("Consolidamento" e "Validazione") o utilizzando le medesime funzioni ("Modifica" dei dati e "Fine immissione in Commercio").
- **Aggiorna DM simili:** Permette di accedere alla pagina di modifica dei soli dati specifici di un Dispositivo Medico inserito tramite la funzionalità di inserimento veloce (Codice attribuito dal fabbricante, Nome commerciale, Misura ed Etichetta).
- **Rinotifica:** Permette, in caso di variazione significativa dei dati del fabbricante, di effettuare, in modo semplificato, altre notifiche di un dispositivo medico pubblicato garantendo il collegamento con la notifica precedente.
- **Consolida:** Permette di consolidare i dati di uno o più Dispositivi Medici che si trovano nello stato "In Lavorazione".
- **Valida Off line:** Consente di firmare off-line i DM selezionati. E' possibile firmare DM che si trovano nello stato "Consolidato".
- **Dati commerciali:** Consente di accedere alla pagina di inserimento dei Dati commerciali di un Dispositivo Medico.
- **Documentazione:** Consente di modificare i file "pdf" relativi all'etichetta, le istruzioni per l'uso per il DM selezionato e il file relativo alla scheda tecnica. La funzionalità è attivabile sui Dispositivi Medici presenti in banca dati nello stato "Pubblicato".
- **DM necessari:** Permette di aggiornare la lista dei DM necessari per il funzionamento di un Dispositivo Medico Pubblicato (purché in fase di notifica sia stata dichiarata l'esistenza di legami con altri dispositivi).
- **Mandatario:** Consente di aggiornare il mandatario di un Dispositivo Medico pubblicato (purché in fase di notifica del DM sia stato dichiarato un mandatario).
- **Iscrizione nel repertorio:** Consente di iscrivere nel Repertorio il Dispositivo Medico selezionato.
- **Fine immissione in commercio:** Permette di dichiarare la data di fine immissione in commercio del DM selezionato.
- **Rimessa in lavorazione:** Consente di riportare in lavorazione un Dispositivo Medico pubblicato.
- **Dettaglio:** Consente di visualizzare il dettaglio dei dati relativi al DM selezionato.
- **Storico versioni:** Consente di visualizzare lo storico delle diverse versioni di un Dispositivo Medico che, da pubblicato, è stato riportato in lavorazione almeno una volta.
- **Stampa:** Consente di effettuare la stampa (in formato pdf) di una ricevuta di ritorno come attestazione della notifica effettuata. La suddetta riporterà il riepilogo dei dati firmati in fase di validazione.
- **Scarica xml:** Consente di effettuare il download su file compresso dei dati - rappresentati nel formato xml - relativi ai Dispositivi Medici selezionati. Si possono scaricare al massimo 10 Dispositivi Medici alla volta.

Notifica dei Dispositivi Medici

Convalida della notifica (modifica dello stato di lavorazione)

Aggiornamento post pubblicazione

Consultazione e Utilità

Valutazione dell'efficienza di filtrazione batterica (BFE) per maschere ad uso medico secondo la norma UNI EN 14683:2019 modificata

Evaluation of bacterial filtration efficacy (BFE) for medical masks based on UNI EN 14683:2019 standard modified

COMMITTENTE / CUSTOMER	Helpcodelife S.r.l. Via Paisiello 14 20131 Milano (MI) - Italy
SPONSOR	Helpcodelife S.r.l. Via Paisiello 14 20131 Milano (MI)
CAMPIONE / SAMPLE	Meltblown (Farè) + Spunbond (Fitesa) Lotto/Batch: n.p. Codice interno/Internal code: I1941/20-01
DATA RAPPORTO / REPORT DATE	22/05/2020
REPORT N°.	REL/1566/2020/MIC/ELB

Sede legale
e laboratoriVia Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), ItaliaTel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.itCF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.Centro Studi Clinici
e CosmetologiciVia Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italiawww.abich.it

Indice / Table of contents

1.	PARTE PRIMA / PART ONE INFORMAZIONI GENERALI / GENERAL INFORMATION	3
1.1	COMMITTENTE / CUSTOMER	3
1.2	SPONSOR	3
1.3	CAMPIONE ANALIZZATO / TESTED SAMPLE	3
1.4	TEST / ASSAY	4
1.5	LABORATORIO INCARICATO / ENTRUSTED LABORATORY	4
1.6	DATE DELLO STUDIO / STUDY DATES	4
1.7	RICERCATORE PRINCIPALE / MAIN INVESTIGATOR	4
1.8	DIRETTORE DELLO STUDIO / STUDY DIRECTOR	4
1.9	RESPONSABILE ASSICURAZIONE QUALITÀ / QUALITY ASSURANCE MANAGER	4
2.	PARTE SECONDA / PART TWO PROTOCOLLO SPERIMENTALE / STUDY DESIGN	5
2.1	SCOPO DEL TEST / PURPOSE OF THE TEST	5
2.2	NORME DI RIFERIMENTO / REFERENCE STANDARDS	5
2.3	MATERIALI E PROTOCOLLO D'ANALISI / MATERIALS AND TESTING PROTOCOL	6
	PART THREE / PARTE TERZA RISULTATI E CONCLUSIONI / RESULTS AND CONCLUSIONS	9
2.4	RISULTATI / RESULTS	9
2.5	CONCLUSIONI / CONCLUSIONS	11

Nota/Note:

I: risultati: del: test: presentati: in: questo: report: sono: esclusivamente: riferiti: al: prodotto: testato: ed: alle: specifiche: condizioni: sperimentali: impiegate.: Questo: report: o: parti: di: esso: possono: essere: duplicati: esclusivamente: previo: consenso: scritto: da: parte: del: personale: di: ricerca: coinvolto:.

The: results: of: the: test: in: this: report: is: only: related: to: the: tested: product/s: and: to: the: specific: experimental: conditions: here: employed.: This: report: or: parts: of: it: cannot: be: duplicated: without: a: preliminary: written: approval: by: the: research: staff:.

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

1. PARTE PRIMA / PART ONE INFORMAZIONI GENERALI / GENERAL INFORMATION

1.1 Committente / Customer

Helpcodelife S.r.l.
Via Paisiello 14
20131 Milano (MI) - Italy

1.2 Sponsor

Helpcodelife S.r.l.
Via Paisiello 14
20131 Milano (MI)

1.3 Campione analizzato / Tested sample

Campione Sample	Codice interno Internal Code	Descrizione Description
Meltblown (Farè) + Spunbond (Fitesa) Batch: n.p.	1941/20-01	tessuto



Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

1.4 Test / Assay

Valutazione dell'efficienza di filtrazione batterica (BFE) di maschere medicali mediante esposizione ad aerosol batterici in sistema chiuso
Evaluation of bacterial filtration efficacy (BFE) for medical masks through exposure to bacterial aerosol in a close system

1.5 Laboratorio incaricato / Entrusted Laboratory

ABICH S.r.l. - Via 42 Martiri, 213/B – 28924
Verbania - tel +39 (0)323 586239 fax +39 (0)323 496877 - Italy

1.6 Date dello Studio / Study Dates

Inizio / Start: 20/05/2020
Fine / End: 21/05/2020

1.7 Ricercatore principale / Main investigator

Dr.ssa Elena Limioli
Chimico e tecnologo farmaceutico / Chemical and
Pharmaceutical technologist
ABICH S.r.l.

1.8 Direttore dello studio / Study Director

Dr.ssa Elena Bocchietto,
Biologa, specialista in Biotecnologie / Biologist,
Biotechnology Specialist
ABICH S.r.l.

1.9 Responsabile assicurazione Qualità / Quality assurance manager

Dott. Emanuele Caravati, Dottore di ricerca in
Ecologia/Ph.D. in Ecology
ABICH S.r.l.

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

2. PARTE SECONDA / PART TWO **PROTOCOLLO SPERIMENTALE / STUDY DESIGN**

2.1 Scopo del test / Purpose of the test

Il presente studio si propone di valutare l'efficienza di filtrazione batterica (BFE) di maschere per uso medico e tessuti destinati a tale impiego allo scopo di valutare la loro idoneità a limitare la trasmissione di agenti infettivi dallo staff medico e paramedico ai pazienti durante le procedure chirurgiche o altre situazioni medicali con simili esigenze. Se la barriera è adeguata, la mascherina può ridurre efficacemente l'emissione di agenti infettivi dal naso e bocca di un portatore asintomatico o da un paziente con sintomi clinici.

The present study is designed to evaluate the bacterial filtration efficacy (BFE) of medical masks and tissues dedicated to that purpose. The aim is to evaluate their ability to limit the transmission of infective agents from the medical staff to patients during surgical procedures and other medical settings with similar requirements. A medical face mask with an appropriate barrier can also be effective in reducing the transmission of infective agents from the nose and mouth of an asymptomatic carrier or a patient with clinical symptoms.

2.2 Norme di riferimento / Reference standards

La norma di riferimento impiegata è la UNI EN 14683:2019- Maschere facciali ad uso medico. Rispetto a quanto indicato nella norma, la metodica descritta è stata modificata in quanto l'analisi dei batteri filtrati non viene effettuata mediante impattore di Andersen a cascata a 6 stadi ma mediante impattore a singolo stadio. Dal momento che lo scopo dell'analisi non è quello di definire la dimensione delle particelle di aerosol contenente batteri che vengono campionate in diverse frazioni (i 6 stadi di Andersen) ma il numero totale di batteri che passa attraverso il campione, si ritiene che l'impattore a singolo stadio sia altrettanto idoneo come sistema di rilevazione.

The reference is the standard UNI EN 14683:2019– Medical face masks – Requirements and test methods. The method here described has been modified replacing the 6 stages cascade Andersen impactor with a single stage impactor. Since the aim of this analysis is not to define the dimension of the aerosol particles containing bacteria in different fractions (the 6 Andersen stages), but the total number of bacteria that pass through the sample, the single stage impactor is considered properly used as detection system.

2.3 Materiali e protocollo d'analisi / Materials and testing protocol

Ceppo batterico utilizzato /Bacterial strain employed

Il ceppo utilizzato è *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).

I batteri sono stati preventivamente fatti crescere in terreno liquido TSB (Tryptic Soy Broth) e quindi raccolti e titolati ad una concentrazione di circa 5×10^5 UFC/ml.

Nell'ambito della prova viene utilizzata una sospensione pari a $1,7 - 3,0 \times 10^3$ UFC/ml in acqua peptonata che viene immessa nella camera di nebulizzazione.

The bacterial strain employed is *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).

Bacteria have been grown in liquid medium TSB (Tryptic Soy Broth) and then collected and titred at a concentration about 5×10^5 CFU/ml.

In the assay a cell suspension between $1,7 - 3,0 \times 10^3$ CFU/ml in peptoned water is used in the nebulisation chamber.

Trattamento preliminare/preliminary treatment

La maschera o il provino di tessuto sono preconditionati a $21 \pm 5^\circ\text{C}$, $85 \pm 5\%$ HR (umidità relativa) per 4h in condizioni monitorate.

The mask or the tissue sample are pre-conditioned at $21 \pm 5^\circ\text{C}$, $85 \pm 5\%$ RH (Relative Humidity) for 4 h under constant monitoring.

Procedura di test/Testing procedure

Al termine del pretrattamento, cinque maschere complete o provini di diametro uguale 10,5 cm del campione vengono testate per verificare l'efficacia di filtrazione batterica contro un aerosol di sospensione batterica di *S. aureus* in un sistema chiuso. Il pannello di prova prevede un primo controllo positivo, cinque repliche di controllo del campione da testare, un secondo controllo positivo ed un controllo negativo finale.

Ciascuna maschera o provino viene posizionata a monte di un campionatore monostadio collegato ad una camera chiusa dove viene immesso l'aerosol batterico generato mediante un apposito nebulizzatore. La dimensione particellare media delle goccioline è pari a $3,0 \pm 0,3 \mu\text{m}$. Laddove sia indicato un fronte della maschera o del tessuto, questo è rivolto verso il nebulizzatore. Il nebulizzatore immette nella camera l'aerosol contenente i batteri, ad una velocità di erogazione di 0,3 ml/minuto e convogliando i batteri verso l'impattore. Il nebulizzato transita attraverso il campione mediante un flusso di aspirazione. All'interno dell'impattore è posizionata una piastra Petri con terreno di coltura (TSA – Tryptic Soy

Agar). Per i controlli positivi, l'impattore è esposto direttamente all'aerosol, senza materiali interposti. Per i controlli negativi viene nebulizzata acqua deionizzata.

Ad ogni prova, il nebulizzatore viene attivato per 60 secondi, seguiti da ulteriori 60 secondi di campionamento a vuoto prima della disattivazione della pompa di aspirazione. Le piastre di coltura vengono quindi rimosse dal campionatore e poste in incubazione per 20-52 ore a $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ prima di procedere alla conta delle colonie batteriche risultanti. La superficie campionata è pari a $86,5\text{ cm}^2$, con un flusso di campionamento pari a 100 l/minuto. Tutte le operazioni sono svolte sotto cappa a flusso laminare, in condizioni di sterilità. L'impattore monostadio consente un'efficienza di recupero delle unità batteriche formanti immerse $> 50\%$.

After the pre-treatment, five masks or textile sample with a diameter of 10.5 cm are tested to verify the bacterial filtration efficacy against a *S. aureus* bacterial suspension in a close system. A complete test panel includes a first positive control, five samples masks or textile samples, a second positive control and a negative control, in this order.

Each mask or sample is positioned over a single stage sampler sealed to a closed chamber, where a bacterial mist with an average droplets size of $3.0 \pm 0.3\ \mu\text{m}$ is conveyed towards the sampler. Where a front for the mask or tissue sample is indicated, said front is positioned towards the emitter. The nebulizer introduces the bacterial aerosol in the chamber at a supply speed of 0.3 ml/minute and conveys bacteria towards the impactor. The air is conveyed through the sample by aspiration. Inside the sampler a Petri dish containing culture medium is placed (TSA- tryptic Soy Agar).

For positive controls, the impactor is exposed directly to the bacterial suspension without interposed materials. For negative controls, deionized water is nebulized onto the impactor.

During each test run, the nebulizer is activated for 60 seconds, followed by further 60 seconds of recovery by the sampler before the deactivation of the suction pump. Culture plates are then removed and incubated for 20-52 hours at $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ before counting the resulting bacterial colonies. The sampling surface is equal to 86.5 cm^2 , with a sampling flow of 100l/minute.

All the operations are carried out in sterile conditions, under safety laminar flux cabinet. The single stage impactor allows a $>50\%$ recovery efficiency of the bacterial Colony Forming Units.

Elaborazione e interpretazione dei risultati/Results elaboration and interpretation

L'efficienza di filtrazione batterica (BFE) viene quindi calcolata per ciascun provino nel seguente modo:

Sede legale e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

$$\text{BFE} = \left[\frac{\text{Media}_{\text{Controlli positivi}} - \text{Conta}_{\text{provino}}}{\text{Media}_{\text{Controlli positivi}}} \right] * 100$$

Se necessario in base al numero di UFC viene applicato un fattore di correzione.

The Bacterial filtration efficacy (BFE) is then calculated according to the following formula:

$$\text{BFE} = \left[\frac{\text{Average}_{\text{Positive controls}} - \text{Average}_{\text{samples}}}{\text{Average}_{\text{Positive controls}}} \right] * 100$$

When necessary according to the number of CFU, a correction factor may apply.

In accordo alla norma, in base alla % di BFE il campione si configura come di tipo I o II:
According to the standard, on the basis of the % BFE, the sample qualifies as Type I or II:

Prova /Test	Tipo I/type I	Tipo II/Type II	Tipo IIR/Type II R
Efficienza di filtrazione Batterica (BFE) %	≥ 95%	≥ 98%	≥ 98%

La tipologia di maschera/tessuto si configura come di tipo I o II se tutti i provini testati soddisfano il requisito della norma prescritto. Se l'Efficienza di Filtrazione Batterica è < al 95%, la maschera non è idonea all'uso medico secondo la norma.

The kind of mask/tissue qualifies as Type I or II if all the tested samples satisfy the standard requirements. If the Bacterial Filtration Efficiency is < 95%, the sample is not suitable for medical use according to the standard.

PART THREE /PARTE TERZA **RISULTATI E CONCLUSIONI / RESULTS AND CONCLUSIONS**

2.4 Risultati / Results

Di seguito si riportano I valori delle conte in UFC (Unità Formanti Colonia) osservate durante la prova/The total bacterial counts as CFU (Colony Forming Units) observed during the test are as follows:

campione/sample	UFC/CFU
Controllo positivo /Positive control 1	304
Campione /sample 1	4
Campione/sample 2	2
Campione/sample 3	0 (<1)
Campione/ sample 4	0 (<1)
Campione/ sample 5	0 (<1)
Controllo positivo /Positive control 2	335
Controllo negativo/ Negative control	Negativo/negative

Tab.1 UFC, valori assoluti – CFU, individual values

	Media UFC/Average CFU
Controlli positivi/ Positive controls	320

Tab 2. Conte batteriche UFC medie ctrl + / Average bacterial counts CFU +ctrl

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

Di seguito si riporta la percentuale calcolata di BFE per ciascun provino:
The BFE percentage as calculated for each sample is as follows:

campione/sample	BFE %
Campione /sample 1	98,8
Campione/sample 2	99,4
Campione/sample 3	99,7
Campione/ sample 4	99,7
Campione/ sample 5	99,7

Tab.3 BFE, valori calcolati /BFE calculated values

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

2.5 Conclusioni / Conclusions

Il prodotto testato ha dato il seguente risultato/The tested product gave the following result:

	Tipo II/Type II
Efficienza di filtrazione Batterica (BFE) %	≥ 98%
Meltblown (Farè) + Spunbond (Fitesa) Batch: n.p. Internal code: 1941/20-01	<u>CONFORME/</u> <u>PASS</u>

E QUINDI SI QUALIFICA COME MASCHERA AD USO MEDICO DI TIPO II

AND THEREFORE QUALIFIES AS A MEDICAL FACE MASK, TYPE II

Data/Date: 22/05/2020

Direttore dello studio
Study Director
Dr. Elena Bocchietto
Documento con firma digitale

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it



Spett.le

HELPCODELIFE SRL

Via Paisiello, 14

20131 Milano

Oggetto: Trasmissione Test di Performance Mascherine facciali ad uso medico chirurgico da Voi prodotte .

Con la presente trasmettiamo il Rapporto di prova inerente a *Pulizia microbica* – metodo UNI EN 14683:2019 effettuato su maschera facciale ad uso medico:

- **MioID lotto 000001-832**

In allegato:

- RDP n. 3051 del 26/06/2020

Nel rimanere in attesa di cortese riscontro, Vi inviamo cordiali saluti.

Rende, 29 giugno 2020

Prof. Vincenzo Pezzi

**RAPPORTO DI PROVA N° 3051
del 26/06/2020**

Spett.le HELPCODELIFE SRL

VIA G. PAISELLO 14
20131 MILANO (MI)

Dati del Campionamento:

Metodo di campionamento: -
 Campionato e presentato da: cliente
 Luogo, data, ora del prelievo:
 Data ricevimento campione 19/06/2020
 Data inizio analisi 19/06/2020
 Data fine analisi 26/06/2020

Campione nr.: **5284 / 2138** **maschera facciale ad uso medico: MioID lotto 000001-832 campione 1/5**

Parametro ricercato	Unità di Misura	Valore	Incert. di Misura	MDL	Limiti di riferimento min max	Metodo di Analisi
Pulizia microbica	UFC/g	3			30	UNI EN 14683:2019
Pulizia microbica	JFC/maschera	9				UNI EN 14683:2019

Campione nr.: **5285 / 2138** **maschera facciale ad uso medico: MioID lotto 000001-832 campione 2/5**

Parametro ricercato	Unità di Misura	Valore	Incert. di Misura	MDL	Limiti di riferimento min max	Metodo di Analisi
Pulizia microbica	UFC/g	17			30	UNI EN 14683:2019
Pulizia microbica	JFC/maschera	57				UNI EN 14683:2019

Campione nr.: **5286 / 2138** **maschera facciale ad uso medico: MioID lotto 000001-832 campione 3/5**

Parametro ricercato	Unità di Misura	Valore	Incert. di Misura	MDL	Limiti di riferimento min max	Metodo di Analisi
Pulizia microbica	UFC/g	10			30	UNI EN 14683:2019
Pulizia microbica	JFC/maschera	33				UNI EN 14683:2019

Campione nr.: **5287 / 2138** **maschera facciale ad uso medico: MioID lotto 000001-832 campione 4/5**

Parametro ricercato	Unità di Misura	Valore	Incert. di Misura	MDL	Limiti di riferimento min max	Metodo di Analisi
Pulizia microbica	UFC/g	14			30	UNI EN 14683:2019
Pulizia microbica	JFC/maschera	48				UNI EN 14683:2019

Campione nr.: **5288 / 2138** **maschera facciale ad uso medico: MioID lotto 000001-832 campione 5/5**

Parametro ricercato	Unità di Misura	Valore	Incert. di Misura	MDL	Limiti di riferimento min max	Metodo di Analisi
Pulizia microbica	UFC/g	8			30	UNI EN 14683:2019
Pulizia microbica	JFC/maschera	27				UNI EN 14683:2019

Conclusioni: il valore medio delle 5 unità campionarie pari a 10 UFC/q risulta conforme al limite normativo

° Prova affidata in subappalto a laboratorio esterno

MDL: Limite di rilevabilità del metodo; nr: non rilevato, indica un valore inferiore a MDL

Riferimento Legislativo UNI EN 14683:2019 e s.m.i.

dott. Lucia Mosciaro
Tecnico di Laboratorio Ordine
Nazionale Biologi n. AA069868

dott. Giovanni Notti
Direttore di Laboratorio

Documento firmato digitalmente valido a tutti gli effetti di Legge ai sensi della normativa vigente

Il laboratorio è responsabile di tutte le informazioni riportate nel presente documento, tranne quando queste sono fornite dal cliente, in quest'ultimo caso se le informazioni fornite dal cliente possono influenzare la validità dei risultati, il laboratorio ne declina la responsabilità. Il presente rapporto di prova riguarda esclusivamente il campione dichiarato e sottoposto ad analisi, ove il campionamento non sia eseguito dal laboratorio i dati di prelievo sono sotto responsabilità del committente e i risultati si riferiscono al campione così come ricevuto. Nel caso in cui il campionamento sia eseguito dal cliente, il risultato così come espresso in unità di misura è ottenuto mediante ricalcolo effettuato sulla base della misura espressamente dichiarata da chi ha eseguito il campionamento.

Si dichiara che i risultati si riferiscono esclusivamente al campione di cui ai riferimenti sopra citati. I campioni analizzati sono conservati sino al termine dell'esecuzione della prova. L'eventuale ulteriore conservazione è effettuata solo su esplicita richiesta scritta. Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente né utilizzato per scopi pubblicitari senza esplicita autorizzazione della Direzione del Laboratorio e verrà conservato per 5 anni. L'incertezza riportata nel presente Rapporto di Prova è espressa come incertezza estesa per un livello di fiducia del 95%. Il livello di fiducia del 95%



Spett.le

HELPCODELIFE SRL

Via Paisiello, 14

20131 MilanoP

P

Oggetto: Trasmissione Test di Performance Mascherine facciali ad uso medico chirurgico da Voi prodotte .

Con la presente trasmettiamo i Rapporti di prova inerenti al test *Pressione di resistenza agli spruzzi* - metodo ISO 22609:2005 effettuati sulla maschera facciale ad uso medico:

- MioID lotto 000001-832P

InAllegato:P

- RDP n. 2728 del 17/06/2020

Nel rimanere in attesa di cortese riscontro, Vi inviamo cordiali saluti.

Rende, 17 giugno 2020

Prof. Vincenzo Pezzi

RAPPORTO DI PROVA N° 2728 del 17/06/2020

Dati del Campionamento:

Metodo di campionamento: -
 Campionato e presentato da: cliente
 Luogo, data, ora del prelievo: -
 Data ricevimento campione: 08/06/2020
 Data inizio analisi: 08/06/2020

Spett.le HELPCODELIFE SRL

 VIA G. PAISELLO 14
 20131 MILANO (MI)

Data fine analisi: 17/06/2020

 Campione nr.: **4374/ 1827 maschera facciale ad uso medico: MioID lotto 000001-832**

Parametro ricercato	Unità di Misura	Valore	Incert. di Misura	MDL	Limiti di riferimento		Metodo di Analisi
					min	max	
Resistenza agli spruzzi 16.0 kPa	kPa	conforme					ISO 22609:2005
provino 1	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 2	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino3	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 4	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 5	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 6	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 7	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 8	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 9	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 10	kPa	fail					ISO 22609:2005
provino 11	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 12	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 13	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 14	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 15	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 16	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 17	kPa	pass					ISO 22609:2005

Campione nr.: **4374/ 1827 maschera facciale ad uso medico: MioID lotto 000001-832**

Parametro ricercato	Unità di Misura	Valore	Incert. di Misura	MDL	Limiti di riferimento		Metodo di Analisi
					min	max	
provino 18	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 19	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 20	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 21	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 22	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 23	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 24	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 25	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 26	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 27	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 28	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 29	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 30	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 31	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 32	kPa	pass					ISO 22609:2005

**** Valore Fuori Limite**

condizionamento prima della prova: (21±5)°C e (85±5%)UR per 4h; condizionamento durante la prova: (21±5)°C e (85±10%)UR. Caratteristiche dei provini: colore bianco; dimensione provino: 170X170 mm circa.

Condizioni di prova: pressione sangue sintetico: 16.0 kPa; volume spruzzo: 2,0ml; area target: centro maschera; tipo di cannula: Gauge 18/12.7/0.84 mm; distanza tra target e cannula: 300±10mm; uso della piastra bersaglio: sì. Metodo per aumentare la rilevabilità del sangue sintetico: tampone di carta assorbente. Numero di provini testati: 32; numero di provini che superano il test (PASS): 31; numero di provini che non superano il test: 1. Esito della prova conforme alla categoria IIR. Valutazione della resistenza agli spruzzi sec. UNI EN 14683:2019

° Prova affidata in subappalto a laboratorio esterno

MDL: Limite di rilevabilità del metodo; nr: non rilevato, indica un valore inferiore a MDL

Riferimento legislativo UNI EN 14683:2019 e s.m.i.

dott. Caterina Tassoni

Responsabile Prove Chimiche
Ordine Chimici Calabria n° 634

dott. Giovanni Notti

Direttore di Laboratorio

Documento firmato digitalmente valido a tutti gli effetti di Legge ai sensi della normativa vigente

Il laboratorio è responsabile di tutte le informazioni riportate nel presente documento, tranne quando queste sono fornite dal cliente, in quest'ultimo caso se le informazioni fornite dal cliente possono influenzare la validità dei risultati, il laboratorio ne declina la responsabilità. Il presente rapporto di prova riguarda esclusivamente il campione dichiarato e sottoposto ad analisi, ove il campionamento non sia eseguito dal laboratorio i dati di prelievo sono sotto responsabilità del committente e i risultati si riferiscono al campione così come ricevuto. Nel caso in cui il campionamento sia eseguito dal cliente, il risultato così come espresso in unità di misura è ottenuto mediante ricalcolo effettuato sulla base della misura espressamente dichiarata da chi ha eseguito il campionamento.

Si dichiara che i risultati si riferiscono esclusivamente al campione di cui ai riferimenti sopra citati. I campioni analizzati sono conservati sino al termine dell'esecuzione della prova. L'eventuale ulteriore conservazione è effettuata solo su esplicita richiesta scritta. Il presente rapporto di prova non può essere riprodotto parzialmente né utilizzato per scopi pubblicitari senza esplicita autorizzazione della Direzione del Laboratorio e verrà conservato per 5 anni. L'incertezza riportata nel presente Rapporto di Prova è espressa come incertezza estesa per un livello di fiducia del 95%. Il livello di fiducia del 95% corrisponde ad un fattore di copertura uguale a 2.

RAPPORTO DI PROVA N° 2728 del 17/06/2020

Dati del Campionamento:

Metodo di campionamento: -
 Campionato e presentato da: cliente
 Luogo, data, ora del prelievo: -
 Data ricevimento campione: 08/06/2020
 Data inizio analisi: 08/06/2020

Spett.le HELPCODELIFE SRL

 VIA G. PAISELLO 14
 20131 MILANO (MI)

Data fine analisi: 17/06/2020

 Campione nr.: **4374/ 1827 maschera facciale ad uso medico: MioID lotto 000001-832**

Parametro ricercato	Unità di Misura	Valore	Incert. di Misura	MDL	Limiti di riferimento		Metodo di Analisi
					min	max	
Resistenza agli spruzzi 16.0 kPa	kPa	conforme					ISO 22609:2005
provino 1	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 2	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino3	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 4	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 5	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 6	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 7	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 8	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 9	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 10	kPa	fail					ISO 22609:2005
provino 11	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 12	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 13	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 14	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 15	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 16	kPa	pass					ISO 22609:2005
provino 17	kPa	pass					ISO 22609:2005

**VALUTAZIONE BIOLOGICA DI UN DISPOSITIVO MEDICO
TEST DI CITOTOSSICITA' IN VITRO
Neutral Red Uptake Assay**

**BIOLOGICAL EVALUATION OF A MEDICAL DEVICE
CYTOTOXICITY TEST
Neutral Red Uptake Assay**

**MiID Face Mask
LOT 000001 - 832 /20
prod 05/ 2020**

INDICE / INDEX

KEY PERSONNEL

1. INFORMAZIONI SULLE PROCEDURE SPERIMENTALI / TEST PROCEDURE INFORMATION

2. INTRODUZIONE / INTRODUCTION

2.1 Scopo / Scope

2.2 Riferimenti normativi / Normative references

2.3 Campione sottoposto a test / Tested product

3. MATERIALI E METODI / MATERIALS AND METHODS

3.1 Preparazione del campione e dei controlli / Sample and control preparation

3.2 Linee cellulari e terreni di coltura / Cell lines and culture medium

3.3 Procedura sperimentale test di citotossicità NRU / Test procedure for NRU cytotoxicity test

4. RISULTATI E CONCLUSIONI/ RESULTS AND CONCLUSION

5. REGISTRO MODIFICHE REPORT / REPORT CHANGE RECORD

6. BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

KEY PERSONNEL

Società committente / Customer

**HELPCODELIFE SRL
VIA PAISIELLO 14 CAP 20131 MILANO**

Sperimentatore / Experimenter

Dott. Rocco Malivindi

Controllo Qualità / Quality Control

Prof. Vincenzo Pezzi

1. INFORMAZIONI SULLE PROCEDURE SPERIMENTALI / TEST PROCEDURE INFORMATION

1.1 Campione sottoposto a test / Tested product

Nome prodotto

Descrizione del campione a cura dello Sponsor / Sample description declared by the Sponsor

1.2 Data inizio test / Starting date

19-06-2020

1.3 Data fine test / Ending date

24-06-2020

1.4 Linea cellulare utilizzata / Cell line

BALB/c 3T3, clone 31 (ATCC CCL-163)

1.5 Metodo di prova / Assay method

Test di citotossicità Neutral Red Uptake Assay eseguito:

- su un estratto del campione da testare
- Neutral Red Uptake Assay Cytotoxicity performed:
- a sample extract.

1.6 Controllo negativo / Negative control

Terreno di coltura / Culture medium.

1.7 Controllo positivo / Positive control

Sodio Dodecil Solfato (SDS) / Sodium Dodecyl Sulfate (SDS).

2. INTRODUZIONE / INTRODUCTION

2.1 Scopo / Scope

Studio di biocompatibilità - valutazione in vitro della citotossicità di dispositivo medico in accordo con la norma ISO 10993-5 per la valutazione biologica dei dispositivi medici.

Biocompatibility study - in vitro evaluation of a medical device cytotoxicity according to ISO 10993-5 for the biological evaluation of a medical device.

2.2 Riferimenti normativi / Normative references

Questo documento prende in considerazione i seguenti riferimenti normativi:

- ISO 10993-5, Biological evaluation of medical devices – Part 5: Test for in vitro cytotoxicity
- ISO 10993-12, Biological evaluation of medical devices – Part 12: Sample preparation and reference materials

This document takes in consideration the following normative references:

- ISO 10993-5, Biological evaluation of medical devices – Part 5: Test for in vitro cytotoxicity
- ISO 10993-12, Biological evaluation of medical devices – Part 12: Sample preparation and reference materials

2.3 Campione sottoposto a test / Tested product

**MioID Face Mask LOT 000001 - 832 /20
prod 05/ 2020**

3. MATERIALI E METODI / MATERIALS AND METHOD

3.1 Preparazione del campione e dei controlli / Sample and control preparation

In accordo con la norma di riferimento il test può essere condotto:

- su un estratto del campione da testare;
- sul campione da testare stesso.

In particolare il test è stato eseguito:

- su un estratto del campione da testare.

In accordance with normative reference, the test could be performed on:

- a sample extract;
- the sample itself.

Particularly the test was performed:

- a sample extract.

Preparazione del Campione per Estrazione / Sample preparation for Extraction

Le condizioni di estrazione devono simulare o esagerare le condizioni di uso clinico del campione, in modo da determinare il potenziale rischio tossicologico. Per i dispositivi costituiti da più componenti, il dispositivo nella sua totalità viene sottoposto ad estrazione.

In accordo con lo scopo dell'estrazione e le caratteristiche chimico-fisiche del prodotto sottoposto a test, possono essere utilizzati i seguenti veicoli di estrazione:

- terreno di coltura con siero;
- soluzione salina fisiologica;
- altro veicolo idoneo (tenendo in considerazione eventuali suoi effetti tossici concentrazione-dipendenti).

Per ogni estratto vengono testate almeno 6 concentrazioni, partendo dalla concentrazione 100% (estratto non diluito).

Extracting conditions should attempt to simulate or exaggerate the clinical use conditions so as to determine the potential toxicological hazard. For device involving more components, the final device is subjected to extraction.

According to extraction aim and chemical-physical characteristic:

- culture medium with serum
- physiological saline solution
- other suitable vehicle (taking in consideration the concentration-dependent vehicle cytotoxicity).

For each extract, at least 6 concentrations are tested, starting from the 100% (undiluted extract).

Preparazione del Campione per Contatto / Sample preparation for Contact

Il campione viene testato diluito secondo le indicazioni del Committente, mediante:

- deposizione diretta;
- deposizione su una matrice assorbente biologicamente inerte.

The sample is tested diluted according to Sponsor instructions, by means of:

- direct disposition;
- disposition on a biologically inert absorbent matrix.

I materiali con proprietà assorbenti vengono imbibiti con terreno di coltura prima di essere testati.

Test samples that are adsorbent are imbibed with culture medium prior to testing.

I campioni testati per contatto vengono adagiati delicatamente nei pozzetti a contatto con le cellule o sulla matrice inerte con una superficie di circa 1/10 rispetto alla superficie del pozzetto.

Samples tested for contact are put in the wells in contact with the cells or on the inert matrix with a surface of 1/10 respect well surface.

Preparazione dei controlli / Control preparation

I controlli positivi vengono inclusi in ogni prova come controllo qualità e vengono preparati con la stessa procedura dei campioni. Se utilizzato, viene testato anche il veicolo di estrazione alla concentrazione più alta utilizzata.

Rispetto ai dati storici e alla sua riproducibilità intra- e inter-laboratorio il Sodio Dodecil Solfato è il controllo positivo più utilizzato, con un valore storico medio di IC50 di 0.093 mg/ml (0.070 mg/ml – 0.116 mg/ml con un intervallo di confidenza del 95%).

Cellule non trattate sono utilizzate come bianco e inserite come ulteriore controllo qualità ($OD_{540} > 0.3$).

Positive controls are included in each assay as a quality check. Controls are selected so that they can be prepared by the same procedure as the test sample. If appropriate, extraction vehicle is tested at highest used concentration.

Regarding the historical mean value and the intra- and inter- laboratory reproducibility, Sodium Dodecyl Sulfate is the most used positive control, with an historical IC50 mean value of 0.093 mg/ml (0.070 mg/ml – 0.116 mg/ml with an IC range of 95%,).

Untreated cells are used as blank and included in the test as further quality check ($OD_{540} > 0.3$)

3.2 Linee cellulari e terreni di coltura / Cell lines and culture medium

In accordo con la normativa di riferimento il test viene condotto su linee cellulari stabilizzate, testate per l'assenza di micoplasma.

Dove è richiesta una specifica sensibilità, colture primarie, linee cellulari e colture organo tipiche ottenute direttamente da tessuto vivente possono essere utilizzati solo se la riproducibilità e l'accuratezza del test sono stati dimostrati.

Sono utilizzati terreni di coltura sterili, a pH compreso tra 7,2 e 7,4, che soddisfino i requisiti di crescita della linea cellulare selezionata. Possono essere addizionati con antibiotico.

According to normative reference the test is performed on established cell lines, tested for the absence of mycoplasma.

Where a specific sensitivity is required, primary cell cultures, cell lines and organotypic cultures obtained directly from living tissues shall only be used if reproducibility and accuracy of the response can be demonstrated.

The culture medium shall be sterile, with a pH of between 7,2 and 7,4, it has to meet the growth requirements of the selected cell line. Antibiotics may be included in the culture medium.

3.3 Procedura sperimentale test di citotossicità NRU/ Test procedure for NRU cytotoxicity test

Cellule BALB/c 3T3 vengono seminate ed esposte al prodotto testato tal quale o ad un suo estratto in un range di concentrazioni. Nel caso specifico il campione è stato testato tal quale. Dopo 24 ore di incubazione l'Uptake del Neutral Red nei lisosomi/endosomi e nei vacuoli delle cellule vive e utilizzato come indicatore quantitativo del numero e della vitalità cellulare.

1° GIORNO: una sospensione di cellule BALB/c 3T3, clone 31 (ATCC CCL-163) viene seminata in 96-well plate ad una densità di 1×10^4 cellule/pozzetto e mantenute in coltura per 24h (5% CO₂, 37°C, umidità > 90%).

2° GIORNO: dopo 24 h di incubazione il terreno di coltura viene delicatamente aspirato da ogni pozzetto e sostituito con nuovo terreno contenente il campione sottoposto a test, i controlli positivi, i controlli negativi e il veicolo dove presente. Le cellule vengono nuovamente incubate per 24h (5% CO₂, 37°C, umidità > 90%).

3° GIORNO: le cellule vengono osservate al microscopio per una prima valutazione visiva, quindi il terreno di coltura, i campioni e i controlli vengono asportati. Le cellule vengono colorate con una soluzione di Neutral Red (NR) e incubate per 3h (5% CO₂, 37°C, umidità > 90%). Alla fine del periodo di incubazione, il terreno contenente il colorante viene rimosso e le cellule lavate con PBS. Viene aggiunta in ogni pozzetto una soluzione solubilizzante (ETOH/acido

acetico/acqua deionizzata), le piastre vengono messe in agitazione per 10 minuti e quindi lette al lettore di piastre a 540 nm.

BALB/c 3T3 cells are seeded and exposed to tested product as supplied or to its extract on a concentration range. In the specific case, the sample was tested as neat. After 24h incubation, Neutral red Uptake in the lysosomes/endosomes and in vacuoles of living cells is measured and used as quantitative indicator of cell number and viability.

1st DAY: BALB/c 3T3, clone 31 (ATCC CCL-163) is seeded in 96-well plate at 1×10^4 cells/well and maintained for 24h (5% CO₂, 37°C, humidity > 90%).

2nd DAY: after 24 h incubation, medium is removed and new medium containing tested product, positive controls, negative controls and vehicle is added to the wells. Plates are incubated for 24h (5% CO₂, 37°C, humidity > 90%).

3rd DAY: cells are observed to microscope for a visual evaluation, then medium, sample, positive and negative control and vehicle are removed. Cells are colored with Neutral Red (NR) solution and incubated for 3h (5% CO₂, 37°C, humidity > 90%). After incubation, dye-medium is removed and cells washed with PBS and solubilising solution (ETOH/acetic acid/deionized water) is added to the wells. Plate is shaken for 10 minutes and then read at 540nm.

Numeri di repliche / Number of replicates

Vengono eseguiti tre replicati per il campione e tre replicati per ogni controllo.
Three replicates are used for test sample and controls.

Determinazione della citotossicità e Analisi dei dati/ Cytotoxicity determination and Data analysis

Per ogni trattamento viene calcolata la vitalità cellulare, espresso come percentuale rispetto ai controlli non trattati.

Se la vitalità cellulare dopo contatto con il campione testato è $\geq 70\%$, il campione viene classificato come NON CITOTOSSICO.

Se la vitalità cellulare dopo contatto con il campione testato è $< 70\%$, il campione viene classificato come CITOTOSSICO.

For each treatment, cell viability is calculated and expressed as percentage of untreated cells.

If cell viability after sample contact is $\geq 70\%$, tested product is NON CYTOTOXIC.

If cell viability after direct contact is $< 70\%$, tested product is CYTOTOXIC.

4. RISULTATI E CONCLUSIONI/ RESULTS AND CONCLUSION

4.1 CRITERI DI ACCETTABILITA' / ACCEPTANCE CRITERIA

Controllo negativo / Negative control (NC) Valore medio / Mean value OD540 = 0.84 St. Dev.% = 5.73%
 Controllo positivo / Positive control (PC) IC50 Sodium Dodecyl Sulfate = 0.095 mg/ml St. Dev.% = 3.57%

4.2 RISULTATI DEL TEST / TEST RESULTS

PRODOTTO SOTTOPOSTO A TEST TESTED PRODUCT	% VITALITA' CELLULARE % CELL VIABILITY		CLASSIFICAZIONE CLASSIFICATION
	VALORE MEDIO MEAN VALUE	ST. DEV.%	
MioID Face Mask LOT 000001 - 832 /20 prod 05/ 2020			
100% (estratto non diluito)/ (undiluted extract)	81.78%	2.75%	NON CITOTOSSICO NON CYTOTOXIC
80%	83.47%	0.54%	NON CITOTOSSICO NON CYTOTOXIC
60%	85.73%	1.78%	NON CITOTOSSICO NON CYTOTOXIC
40%	91.37%	1.77%	NON CITOTOSSICO NON CYTOTOXIC
20%	92.43%	1.64%	NON CITOTOSSICO NON CYTOTOXIC
10%	97.62%	2.21%	NON CITOTOSSICO NON CYTOTOXIC

Pagina 9 di 11 | Page 9 out 11

5. REGISTRO MODIFICHE REPORT / REPORT CHANGE RECORD

La tabella sottostante riporta il registro di tutte le modifiche approvate fatte al documento a partire dalla sua approvazione iniziale. / The table here below reports the change log of all approved changes made to the document that make up the course after initial approval.

Rev. no	Data Date	Descrizione Description

Sperimentatore / Experimenter

Controllo Qualità / Quality Control




6. BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

1. UNI EN ISO 10993-5 Valutazione biologica dei dispositivi medici – Parte 5: Prove per la citotossicità in vitro- Settembre 2009
2. UNI EN ISO 10993-12 Valutazione biologica dei dispositivi medici – Parte 12: Preparazione del campione e sostanze di riferimento- Luglio 2009
3. Guidance Document on Using In Vitro Data to Estimate In Vivo Starting Doses for Acute Toxicity, 2001.
4. Guidelines for preclinical biological evaluation of medical materials and devices. MHLW (Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan) memorandum, JIMURENRAKU Iryokiki-Shinsa, 36, 2003
5. BORENFREUND, E. and PUERNER, J.A. Toxicity determination in vitro by morphological alterations and neutral red absorption, *Toxicological Letters*, 24, pp. 119-124, 1985
6. United States Pharmacopeia
7. COECKE, S., BALLS, M., BOWE, G., DAVIS, J., CSTRANTHALER, G., HARTUNG, T., HAY, R., MERTEN, O.,
8. PRICE, A., SCHECTMAN, L., STACEY, G. and STOKES, W. Guidance on Good Cell Culture Practice, A
9. Report of the Second ECVAM Task Force on Good Cell Culture Practice, *ATLA*, 33, pp. 261-287, 2005
10. ISAMA, K., MATSUOKA, A., HAISHIMA, Y. and TSUCHIYA, T. Proliferation and differentiation of normal human osteoblasts on dental Au-Ag-Pd casting alloy: Comparison with cytotoxicity using fibroblast L929 and V79 cells. *Mater. Trans.*, 43, pp. 3155-3159, 2002
11. TSUCHIYA, T. Studies on the standardization of cytotoxicity tests and new standard reference materials useful for evaluating the safety of biomaterials. *J. Biomaterials Applications*, 5, pp. 139-157, 1994
12. MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immun. Methods*, 65, pp. 55-63, 1983
13. SCUDIERO, D.A., SHOEMAKER, R.H., PAULL, K.D., MONKS, A., TIERNEY, S., NOFZIGER, T.H.,
14. CURRENS, M.J., SENIFF, D. and BOYD, M.R. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res.*, 48, pp. 4827-4833, 1988
15. SPIELMANN, H, et al., Interlaboratory assessment of alternatives to the Draize eye irritation test in Germany, *Toxicol. In Vitro*, 5, pp. 539-542, 1991
16. HEXIG, B., NAKAOKA, R. and TSUCHIYA, T. Safety evaluation of surgical materials by cytotoxicity testing. *J. Artif. Organs*, 11, pp. 204-211, 2008

VALUTAZIONE BIBLIOGRAFICA DI BIOCOMPATIBILITÀ

PRODOTTO	MioID Face Mask LOT 000001 - 832 /20 prod 05/ 2020
-----------------	---

VBB0607G - MioID Face Mask

Data: 06/07/2020

INDICE

1. Informazioni generali	3
1.1. Scopo dello studio	3
1.2. Descrizione del dispositivo	3
1.3. Contesto della valutazione e scelta dei dati clinici	4
1.4. Conclusioni	12

1. Informazioni generali

Produttore:

HELPCODELIFE

N. Lotto: LOT 000001 - 832 /20

1.1. Scopo dello studio

Questo documento ha lo scopo di analizzare i dati bibliografici disponibili al fine di assicurare il controllo del profilo di biocompatibilità del prodotto in esame. In particolare sono stati analizzati dati bibliografici contenenti test effettuati secondo ISO 10993.

1.2. Descrizione del dispositivo

Nome Commerciale: MioID Face Mask

Tipo materiale:

- **25 g/m² SPUNBICO Hydrophobic:** Polypropylene (PP)- Polyethylene (PE):70% - 30 %
- **Tessuto non tessuto meltblown:** Polypropylene (PP)
- **ELASTO 78:** 88% polyester - 12% elastam
- **ROCCA e ADATTATORE TIEFIX-med - TIEFIX REEL & ADAPTER:** Polypropylene (PP)

1.3. Contesto della valutazione e scelta dei dati clinici

Metodi utilizzati per la valutazione:

La valutazione è stata condotta sulla base di dati bibliografici riguardanti la composizione dei materiali che costituiscono il prodotto, ovvero il Polypropylene (PP), Polyethylene (PE), Polyester ed Elastam. I dati sono stati valutati per il loro impatto sulla sicurezza del prodotto.

I risultati della ricerca bibliografica sono riassunti nella tabella sottostante.

<p>Polypropylene (PP)</p>	<p><i>Frederick E. Reno, C. Nicholas Edwards, Morten Bendix Jensen, Magdolna Toórók-Bathó, David J. Esdaile, Claude Piche, Myriam Triest, and Dolores Carballo. Needle-free nasal delivery of glucagon for treatment of diabetes-related severe hypoglycemia: toxicology of polypropylene resin used in delivery device. Cutan Ocul Toxicol, Early Online: 1–6. 2015.</i></p> <p>In questo studio è stata valutata la citotossicità in vitro, l'irritazione e la sensibilizzazione cutanea di un device nasale costituito da polipropilene.</p> <p><u>Test di citotossicità:</u></p> <p>L'analisi è stata eseguita in conformità con il metodo ISO 10993-5. È stato preparato un estratto del device in conformità con la Parte 12 delle linee guida ISO 10993.</p> <p>In particolare, 3 cm² di superficie del dispositivo per ml di terreno di coltura cellulare completo (terreno HAM F12 con il 10% siero bovino fetale e 50 mg / mL di gentamicina) sono stati incubati per 24 ore a 37 °C. Il controllo positivo è costituito da 0,2 mg / mL di sodio lauril solfato, mentre per controllo negativo è stato utilizzato un estratto di polipropilene cryotubes. Un controllo non trattato è costituito solo dal mezzo</p>

di coltura cellulare utilizzato per l'esperimento. L'analisi della citotossicità è stata eseguita su monostrati cellulari L929 (480% e 5100% confluenti, con morfologia cellulare normale) in piastre da 24 pozzetti. Tre colture sono state trattate sostituendo il mezzo di coltura con l'estratto del dispositivo ottenuto come descritto sopra. Anche una diluizione dell'estratto del dispositivo (1 parte di estratto + 3 parti di terreno di coltura cellulare fresco) è stata testata in tre colture al fine di valutare la citotossicità. Le colture trattate sono state incubate a 37°C in atmosfera umidificata con il 5% di CO₂ per 48 ore. Dopo aver colorato le cellule vitali con il Neutral Red stain, l'aspetto del monostrato e la percentuale di cellule vive è stata valutata.

Al termine dell'esperimento, nessuna lisi cellulare è stata osservata per le colture cellulari trattate con gli estratti del dispositivo. Il controllo positivo (0,2 mg / mL di sodio lauril solfato) ha avuto l'effetto tossico atteso sulle colture cellulari con un trattamento che ha prodotto la quasi completa distruzione degli strati cellulari.

Table 1. *In vitro* cytotoxicity analyses.

Cytotoxicity analysis ^a	Well 1	Well 2	Well 3
Negative controls (PP, 6 cm /mL)	0	0	0
Untreated control	0	0	0
Positive controls (sodium lauryl sulfate, 0.2 mg/mL)	4	4	4
Device extract (undiluted, 3 cm ² /mL)	0	0	0
Device extract (diluted 1 + 3)	0	0	0

PP, polypropylene.

^aCytotoxicity grades: 0, none, with discrete intracytoplasmic granules with no cell lysis; 1, slight, not more than 20% of the cells are round, loosely attached and without intracytoplasmic granules, occasional lysed cells are present; 2, mild, not more than 50% of the cells are round and devoid of intracytoplasmic granules, no extensive cell lysis and empty areas between cells; 3, moderate, not more than 70% of the cell layers contain rounded cells or are lysed; 4, severe, nearly complete destruction of the cell layers.

Test di sensibilizzazione cutanea:

L'analisi è stata eseguita secondo la norma ISO 10993-10: 2010, "Valutazione biologica dei dispositivi medici - Parte 10: Test per irritazione e sensibilizzazione.

L'estrazione del dispositivo in polipropilene è stata eseguita secondo le linee guida ISO 10993-12: 2007, "Valutazione biologica dei dispositivi medici - Parte 12: Preparazione del campione e materiali di riferimento, Sezione 10.3 Condizioni di estrazione e metodi.

Il dispositivo è stato testato in forma di estratto. Una quantità appropriata del dispositivo è stata collocata in un becker di vetro in cui è stato aggiunto un volume appropriato di

solvente estrattore (soluzione salina o olio di sesamo con un rapporto tra superficie del dispositivo e volume di soluzione salina o olio di sesamo pari a $3 \text{ cm}^2 / \text{mL}$) e incubato a $37 \pm 1 \text{ C}$ per $72 \pm 2 \text{ h}$. L'esperimento è stato condotto su cavie (guinea pigs). Lo studio ha coinvolto due procedure principali: trattamento intradermico ed esposizione cutanea con la tecnica del patch occlusivo. Per il test di esposizione intradermica, sono stati eseguiti i seguenti trattamenti:

- 2 iniezioni con 0,1 ml di Freund's Complete Adjuvant miscelato con la soluzione estraente (soluzione salina o olio di sesamo) in un rapporto di 1: 1 (v / v);
- 2 iniezioni con 0,1 mL di estratto del dispositivo al 100% di concentrazione
- 2 iniezioni con 0,1 ml di una formulazione costituita dal 50% dall'estratto del dispositivo al 100% di concentrazione e un rapporto di 1:1 (v/v) di Freund's Complete Adjuvant e estratto del dispositivo (soluzione salina o olio di sesamo).

Gruppo di controllo:

- 2 iniezioni con una miscela di 0,1 ml di Freund's Complete Adjuvant miscelato con la soluzione estraente (soluzione salina o olio di sesamo) in un rapporto di 1: 1 (v / v);
- 2 iniezioni con 0,1 ml di soluzione estraente (soluzione salina o olio di sesamo)
- 2 iniezioni con 0,1 ml di una formulazione costituita dal 50% dell'estratto del dispositivo (soluzione salina o olio di sesamo) e un rapporto di 1:1 (v/v) di soluzione estraente e Freund's Complete Adjuvant.

Per il test di esposizione cutanea con la tecnica del patch occlusivo, gli animali sono stati trattati con circa 0,5 ml di formulazione al 100% dell'estratto. Gli animali di controllo sono stati trattati con il veicolo (soluzione salina o olio di sesamo). Le aree esposte sono state coperte per 48 ore con quattro strati di tamponi di garza porosi e un foglio completamente occlusivo fissato (Closed Patch Test). Poichè i trattamenti con estratti al 100% sono risultati non irritanti, l'area del test è stata dipinta con 0,5 ml di sodio dodecil solfato al 10% in vaselina per creare locale irritazione.

I punteggi di irritazione cutanea sono stati assegnati secondo il sistema di punteggio di Draize, dove un punteggio di 0 indica nessun eritema e un punteggio di 4 indica un eritema grave. Allo stesso modo, è stata valutata la formazione di edema e assegnato un punteggio compreso tra 0 e 4. Il trattamento indicato sopra ha una durata di 24 ore. Al termine del trattamento ciascuno animale è stato esaminato e controllato per le successive 24 e 48 ore dopo la fine di il periodo di esposizione.

Un lievissimo eritema è stato osservato durante il periodo da 1 a 24 h dopo il trattamento negli animali da controllo e negli animali trattati con estratto di dispositivo.

I dati ottenuti al termine dell'esperimento hanno evidenziato che gli estratti del dispositivo non ha suscitato risposte positive negli animali testati.

Test di irritazione cutanea:

Il test è stato eseguito mediante iniezioni intracutanee su conigli secondo il metodo descritto in "ISO" (International Organization for Standardizzazione) 10993-10: 2010, Valutazione biologica di Dispositivi medici. Parte 10: test per irritazione e sensibilizzazione cutanea. 6.4 Test di reattività intracutaneo (intradermico).

Gli estratti del dispositivo preparati in Olio di sesamo e Cloruro di sodio allo 0,9% (NaCl) e i veicoli di controllo sono stati preparati in modo simile a quello sopra descritto per lo studio di sensibilizzazione cutanea nella cavia. Lo studio è stato eseguito in tre conigli albini adulti sani di sesso femminile.

Gli animali sono stati trattati iniettando per via intracutanea 0,2 ml per sito di iniezione i seguenti trattamenti:

- estratto del dispositivo in NaCl 0,9% e il veicolo di controllo sono stati dosati su un fianco
- l'estratto del dispositivo in olio di sesamo e il veicolo di controllo sono stati dosati sull'altro fianco.

I siti di iniezione sono stati ispezionati immediatamente e per le successive 24 ± 2 , 48 ± 2 e 72 ± 2 ore.

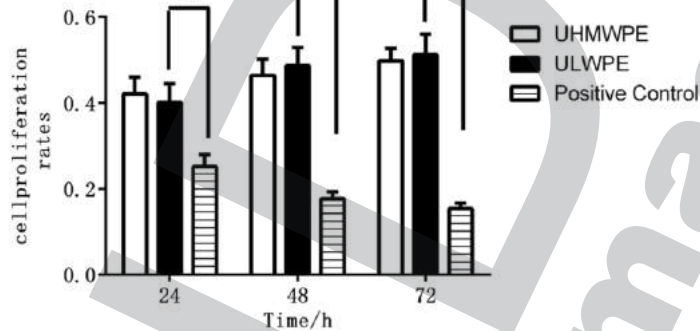
La valutazione e il punteggio per eritema e edema è stato attribuito come descritto sopra per lo studio di sensibilizzazione cutanea nella cavia.

Dopo 72 ± 2 ore, i punteggi di eritema ed edema sono stati sommati per trattamento e il punteggio medio complessivo per ciascun estratto del dispositivo e ogni corrispondente veicolo di controllo sono stati calcolati. Il punteggio dell'estratto del dispositivo è stato ottenuto sottraendo il punteggio del veicolo di controllo dal punteggio dell'estratto del dispositivo. I requisiti si considerano soddisfatti se il punteggio finale dell'estratto del dispositivo non supera il valore 1,0.

I dati ottenuti hanno evidenziato che gli estratti del dispositivo e i veicoli di controllo corrispondenti hanno causato reazioni di irritazione simili. La differenza tra i punteggi

	<p>medi per gli estratti del dispositivo e i corrispondenti veicoli di controllo risulta essere inferiore a 1,0.</p>
<p>Polyethylene (PE)</p>	<p><i>P. K. VALLITTU* & K. EKSTRAND. In vitro cytotoxicity of fibre-polymethyl methacrylate composite used in dentures. Journal of Oral Rehabilitation 1999 26; 666–671.</i></p> <p>Lo scopo di questo studio è stato quello di verificare in vitro la citotossicità di fibre di polymethyl methacrylate (PMMA) utilizzando come controllo negativo il Polyethylene (PE), in quanto è un noto materiale non citotossico.</p> <p>L'analisi è stata eseguita in conformità con il metodo ISO 10993-5.</p> <p>L'analisi dei risultati evidenzia la non citotossicità del polietilene in quanto non è stata osservata alcuna lisi cellulare per il controllo negativo.</p> <p><i>Yan-Yan Biana, Lei Zhoua, Gang Zhou, Zhong-Min Jinc, Shi-Xuan Xin, Zi-Kai Hua, Xi-Sheng Weng. Study on biocompatibility, tribological property and wear debris characterization of ultra-low-wear polyethylene as artificial joint materials. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials. Volume 82, June 2018, Pages 87-94</i></p> <p>Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare la citotossicità di un nuovo tipo di polietilene, ovvero Ultra-low-wear polyethylene (ULWPE).</p> <p>Le cellule L-929 sono state coltivate nel DMEM integrato con siero bovino fetale al 10% in un incubatore umidificato a 37°C, umidità relativa del 95% e CO₂ al 5%. L'estrazione dei campioni è stata effettuata in terreno di coltura cellulare usando il rapporto di 1 g / 5 ml. Gli estratti sono stati preparati secondo lo standard ISO 10993-5. L'estratto di Ultra-high-molecular weight polyethylene (UHMWPE) è stato scelto come controllo negativo mentre il mezzo DMEM contenente lo 0,64% di fenolo è stato utilizzato come controllo positivo. L'effetto citotossico di ULWPE sulle linee cellulari L929 è stato determinato utilizzando il test Cell Counting Kit-8 (CCK-8). Le cellule sono state sospese in DMEM con siero bovino fetale al 10% (FBS) e seminate in piastre a fondo piatto da 96 pozzetti (5 × 10⁴ cellule/ pozzetto) e coltivate per 24 h, 48 h, 72 h. Successivamente sono stati aggiunti 10 µl di CCK-8. Dopo incubazione per altre 3 ore</p>

a 37 ° C, la densità ottica a 450 nm è stata determinata con un lettore di micropiastre (Bio-Rad, Gaithersburg, MD, USA). I risultati sono stati riportati nel grafico 1.



Graph 1.

Rispetto al controllo negativo, il tasso di proliferazione cellulare non ha mostrato differenze significative dopo il trattamento con ULWPE in un preciso momento, mentre è aumentato significativamente rispetto al controllo positivo. La citotossicità di questi estratti risulta essere di grado 0-1 secondo ISO 10993-5: 1999, il che significa che ULWPE ha un'ottima citocompatibilità.

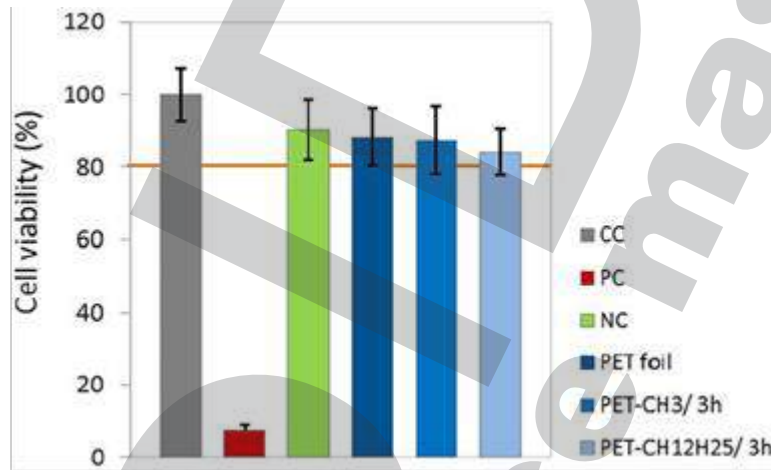
Polyester

Sumita Swar, Veronika Zajcova, Miroslava Rysova, Irena Lovetinska-Slamborova, Lukas Volesky, Ivan Stibor. Biocompatible surface modification of poly(ethylene terephthalate) focused on pathogenic bacteria: Promising prospects in biomedical applications.

Il PET (Poly(ethylene terephthalate)) è uno dei poliestere più comuni e ampiamente utilizzati nelle applicazioni biomediche. I biomateriali in PET, biocompatibili e chimicamente inerti, in combinazione con diversi rivestimenti, sono ampiamente utilizzati per la costituzione di innesti vascolari, valvole cardiache, scaffolds e cateteri. In questo studio è stata valutata la citotossicità in vitro di un tessuto in PET modificato superficialmente mediante legame con un gruppo metile e di un tessuto in PET modificato superficialmente con un gruppo dodecile.

L'analisi è stata eseguita in conformità con il metodo ISO 10993-5: 2009 Biological evaluation of medical devices—tests for in vitro cytotoxicity. Il test è stato condotto su fibroblasti 3T3 testando, oltre ai campioni di PET modificato superficialmente, un

controllo positivo, un controllo negativo e il PET non modificato. La vitalità cellulare è stata valutata dopo 24 ore di esposizione in terreni di coltura (DMEM, 5% FBS, 5% NBCS, ATB) tramite test MTT. I risultati sono stati determinati spettrofotometricamente a 570 nm. La percentuale di vitalità cellulare è stata confrontata con quella del controllo cellulare (CC) utilizzato come bianco.



Graph 2. Graph showing results of the cytotoxicity test compared to cell control (CC) as a blank.

Sulla base dei risultati espressi nel grafico 1, i campioni di PET modificati superficialmente, e ovviamente il PET non modificato, hanno mostrato una vitalità delle cellule esposte superiore all'80%, rispetto al controllo cellulare (CC) utilizzato come bianco. Perciò, secondo questi risultati, i campioni di PET possono essere dichiarati citocompatibili.

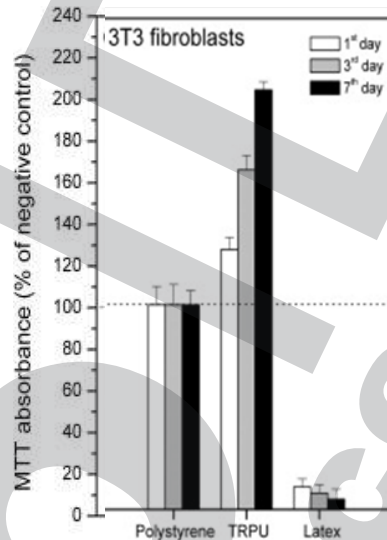
Inoltre, al fine di rilevare il potenziale effetto citotossico del trattamento superficiale eseguito sul PET, l'attività metabolica delle cellule è stata confrontata con tre tipi di bianco: controllo cellulare (CC), controllo negativo (NC) e PET non trattato (PET foil), evidenziando la non citotossicità dei campioni esaminati (tabella 2).

Sample	Sign	CC as blank		NC as blank		PET foil as blank	
		Mean (%)	SD (%)	Mean (%)	SD (%)	Mean (%)	SD (%)
Cell control	CC	100.000	7.196	110.805	7.974	113.248	8.150
Positive control	PC	7.359	1.441	8.154	1.597	8.334	1.632
Negative control	NC	90.249	8.422	100.000	9.332	102.205	9.538
Unmodified foil	PET foil	88.301	7.970	97.842	8.831	100.000	9.026
Methyl-treated foil	PET-CH ₃ /3h	87.381	9.350	96.822	10.361	98.957	10.589

	<p>Dodecyl-treated foil PET-C₁₂H₂₅/3h 84.101 6.241 93.188 6.915 95.242 7.067</p> <p>Table 2. Results of Cytotoxicity Test in Direct Contact Performed on 3T3 Fibroblasts In Vitro. Results show mean and standard deviation of cell viability calculated as percentage of metabolic activity of the cell population exposed to tested sample related to activity of blanks. Viability related to three different blanks—cell control (CC), negative control (NC), and unmodified foil (PET foil).</p> <p><i>Ali Bashiri Rezaie, Majid Montazer, and Mahnaz Mahmoudi Rad, Antibacterial, UV Protective and Ammonia Sensing Functionalized Polyester Fabric through in situ Synthesis of Cuprous Oxide Nanoparticles. Fibers and Polymers 2017, Vol.18, No.7, 1269-1279</i></p> <p>In questo studio è stata determinata la citotossicità di un tessuto di poliestere modificato con nanoparticelle di ossido rameoso. Il test di citotossicità è stato effettuato utilizzando fibroblasti umani secondo ISO 10993-5 (Biological evaluation of medical devices - part 5 -Tests for in vitro cytotoxicity). Secondo tale ISO, i tessuti con una vitalità cellulare media superiore al 70% possiedono una buona compatibilità con i fibroblasti cutanei umani. Il test di citotossicità è stato eseguito su campioni non trattati e trattati. Il tessuto di poliestere non trattato mostra una vitalità cellulare pari a 77,90% e risulta quindi essere non citotossico.</p>
<p>Elastam</p>	<p><i>Yi Chen, Rui Wang, Jian Zhou, Haojun Fan, Bi Shi. On-demand drug delivery from temperature-responsive polyurethane membrane. Reactive and Functional Polymers Volume 71, Issue 4, April 2011, Pages 525-535.</i></p> <p>L'elastam è una fibra sintetica di poliuretano molto utilizzata per elasticizzare i tessuti. In questo studio è stata determinata la citotossicità di una membrana di poliuretano (TPRU). Il test è stato eseguito su fibroblasti 3T3 secondo ISO 10993-5.</p> <p>Un campione del diametro di 1 cm è stato tagliato dalla membrana di poliuretano, lavato tre volte con etanolo al 99% e immerso in etanolo acquoso al 70% durante la notte per la sterilizzazione. Dopo tre lavaggi con PBS per rimuovere l'alcool residuo, il campione è stato posizionato al centro del pozzetto di una piastra da 24 pozzetti. Successivamente, 1 × 10⁵ cellule/pozzetto in 2 ml di Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM) con siero bovino fetale al 10% sono stati seminati nei pozzetti. Dopo l'incubazione a 37 °C</p>

con il 5% di CO₂ per 1, 3 e 7 giorni, la vitalità cellulare è stata misurata mediante saggio MTT. I pozzetti di polistirene e il lattice sono stati usati rispettivamente come controllo negativo e positivo.

La vitalità cellulare è riportata nel grafico 3.



Graph 3.

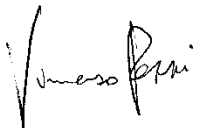
I risultati ottenuti mostrano una vitalità cellulare alta per le cellule esposte alla membrana di poliuretano rispetto al controllo positivo.

1.4. Conclusioni

A supporto della sicurezza del prodotto oggetto della valutazione, l'analisi dei dati bibliografici discussa al punto 1.3. conferma che i materiali che costituiscono la mascherina, possiedono dati sufficienti a giustificare una biocompatibilità complessiva in termini di non irritazione, non citotossicità e non potenziale pro-sensibilizzante.

Responsabile Scientifico

Prof Vincenzo Pezzi



COVID-19
face mask

Valutazione della respirabilità per maschere ad uso medicale secondo la norma UNI EN 14683:2019

Evaluation of the breathability of medical masks according to the UNI EN 14683:2019 standard

COMMITTENTE / CUSTOMER	Helpcodelife S.r.l. Via Paisiello 14 20131 Milano (MI) - Italy
SPONSOR	Helpcodelife S.r.l. Via Paisiello 14 20131 Milano (MI)
CAMPIONE / SAMPLE	Meltblown (Farè) + Spunbond (Fitesa) Lotto/Batch: n.p. Codice interno/Internal code: 1941/20-02
DATA RAPPORTO / REPORT DATE	22/05/2020
REPORT N°.	REL/1562/2020/BRE/ST

Sede legale
e laboratoriVia Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), ItaliaTel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.itCF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.Centro Studi Clinici
e CosmetologiciVia Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italiawww.abich.it

Indice / Table of contents

1. PARTE PRIMA / PART ONE INFORMAZIONI GENERALI / GENERAL INFORMATION	3
1.1 COMMITTENTE / CUSTOMER	3
1.2 SPONSOR	3
1.3 CAMPIONE ANALIZZATO / TESTED SAMPLE	3
1.4 TEST / ASSAY	4
1.5 LABORATORIO INCARICATO / ENTRUSTED LABORATORY	4
1.6 DATE DELLO STUDIO / STUDY DATES	4
1.7 RICERCATORE PRINCIPALE / MAIN INVESTIGATOR	4
1.8 DIRETTORE DELLO STUDIO / STUDY DIRECTOR	4
1.9 RESPONSABILE ASSICURAZIONE QUALITÀ / QUALITY ASSURANCE MANAGER	4
2. PARTE SECONDA / PART TWO PROTOCOLLO SPERIMENTALE / STUDY DESIGN	5
2.1 SCOPO DEL TEST / PURPOSE OF THE TEST	5
2.2 NORME DI RIFERIMENTO / REFERENCE STANDARDS	5
2.3 MATERIALI E PROTOCOLLO D'ANALISI / MATERIALS AND TESTING PROTOCOL	5
3. PART THREE /PARTE TERZA RISULTATI E CONCLUSIONI / RESULTS AND CONCLUSIONS	7
3.1 RISULTATI / RESULTS	7
3.2 CONCLUSIONI / CONCLUSIONS	8
4. RIFERIMENTI / REFERENCES	9

Nota/Note:

I risultati del test presentati in questo report sono esclusivamente riferiti al prodotto testato ed alle specifiche condizioni sperimentali impiegate. Questo report o parti di esso possono essere duplicati esclusivamente previo consenso scritto da parte del personale di ricerca coinvolto.

The results of the test in this report is only related to the tested product/s and to the specific experimental conditions here employed. This report or parts of it cannot be duplicated without a preliminary written approval by the research staff.

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

1. PARTE PRIMA / PART ONE INFORMAZIONI GENERALI / GENERAL INFORMATION

1.1 Committente / Customer

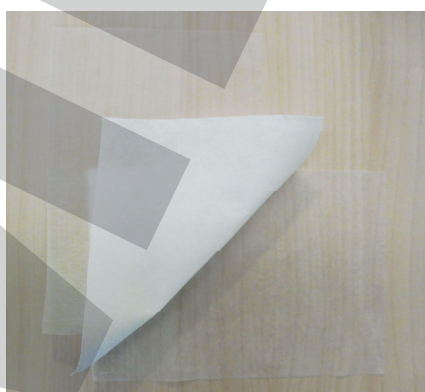
Helpcodelife S.r.l.
Via Paisiello 14
20131 Milano (MI) - Italy

1.2 Sponsor

Helpcodelife S.r.l.
Via Paisiello 14
20131 Milano (MI)

1.3 Campione analizzato / Tested sample

Campione Sample	Codice interno Internal Code	Descrizione Description
Meltblown (Farè) + Spunbond (Fitesa) Batch: n.p.	1941/20-02	tessuto lato preferenziale assente



Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

1.4 Test / Assay

Valutazione della respirabilità per maschere ad uso medicale mediante misura della differenza di pressione secondo la norma UNI EN 14683:2019

Evaluation of the breathability of medical masks through measure of pressure difference according to the UNI EN 14683:2019 standard

1.5 Laboratorio incaricato / Entrusted Laboratory

ABICH S.r.l. - Via 42 Martiri, 213/B – 28924
Verbania - tel +39 (0)323 586239 fax +39 (0)323
496877 - Italy

1.6 Date dello Studio / Study Dates

Inizio / Start: 21/05/2020

Fine / End: 21/05/2020

1.7 Ricercatore principale / Main investigator

Dr. Emiliano Ripamonti
Biotecnologo medico / Medical biotechnologist
ABICH S.r.l.

1.8 Direttore dello studio / Study Director

Dr. Stefano Todeschi,
Biologo, Specialista in Patologia clinica /
Biologist, specialist in Clinical Pathology
ABICH S.r.l.

1.9 Responsabile assicurazione Qualità / Quality assurance manager

Dr. Emanuele Caravati, Dottore di ricerca in
Ecologia/Ph.D. in Ecology
ABICH S.r.l.

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

2. PARTE SECONDA / PART TWO **PROTOCOLLO SPERIMENTALE / STUDY DESIGN**

2.1 Scopo del test / Purpose of the test

Il presente studio si propone di valutare la respirabilità di maschere per uso medico e tessuti destinati a tale impiego allo scopo di valutare la loro idoneità all'uso.

The present study is designed to evaluate the breathability of medical masks and textile samples in order to evaluate their usability.

2.2 Norme di riferimento / Reference standards

La norma di riferimento impiegata è la UNI EN 14683:2019 – Maschere facciali ad uso medico – Requisiti e metodologia di analisi, Appendice C.

The reference is the standard UNI EN 14683:2019– Medical face masks – Requirements and test methods, Annex C.

2.3 Materiali e protocollo d'analisi / Materials and testing protocol

Trattamento preliminare/preliminary treatment

La maschera o il provino di tessuto sono preconditionati a $21 \pm 5^\circ\text{C}$, $85 \pm 5\%$ HR (umidità relativa) per 4h in condizioni monitorate.

The mask or the tissue sample are pre-conditioned at $21 \pm 5^\circ\text{C}$, $85 \pm 5\%$ RH (Relative Humidity) for 4 h under constant monitoring.

Procedura di test/Testing procedure

Al termine del pretrattamento, cinque maschere complete vengono applicate ad una morsa di tenuta che limita il passaggio di aria ad una superficie circolare del diametro di 25 mm. Il fronte della maschera, se riconoscibile, viene rivolto verso l'origine del flusso, una pompa regolata ad un valore di emissione di $8 \pm 0,2$ l/minuto. Una volta sigillato il sistema, la pressione differenziale generata dalla maschera viene misurata con un pressostato

differenziale Fluke 922 (errore di misura <2 % nel campo di misura) e registrata dall'operatore. La lettura viene ripetuta in cinque punti di ciascuna maschera analizzata.

After the pre-treatment stage, five masks or textile samples are applied on a holding vise that limits the air flow to a predetermined 25 mm diameter channel. The external side of the mask, if determinable, is placed towards the air flow origin, a pressure pump generating a flow of 8 ± 0.2 l/minute. Once the system is correctly sealed, the differential pressure created by the mask is measured using a Fluke 922 differential pressure meter (measure error < 2%) and recorded by the operator. The reading is then repeated in five locations of each analyzed mask.

Elaborazione e interpretazione dei risultati/Results elaboration and interpretation

La respirabilità della maschera è determinata convertendo i valori di pressione registrati nella media in Pascal/cm² per ciascuna maschera analizzata, e quindi la media finale dei cinque pezzi analizzati.

The breathability of each mask is determined converting the pressure values in a mean Pascal/cm² value, and the averaging these means for the five analyzed samples.

I requisiti previsti dalla norma sono i seguenti:

The requirements set by the regulatory reference are as follows:

Prova /Test	Tipo I/typel	Tipo II/Type II	Tipo IIR/Type II R
Respirabilità / Breathability	<40	<40	<60

Sede legale e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

3. PART THREE /PARTE TERZA **RISULTATI E CONCLUSIONI / RESULTS AND CONCLUSIONS**

3.1 Risultati / Results

Di seguito si riportano I valori medi (originati dalla misura di cinque diverse aree di 25 mm di diametro del campione) per ciascuna delle maschere o dei campioni di tessuto analizzati e la media finale del campione

The mean breathability of each tested mask (average value of five measures of different areas 25 mm diameter each) for each mask or tissue sample analysed and the overall average for the sample is reported below:

	Δp (pascal)	Δp (pascal/cm²)
Campione/Sample 1	160	32,65
Campione/Sample 2	159	32,41
Campione/Sample 3	159	32,53
Campione/Sample 4	157	32,12
Campione/Sample 5	157	31,96
MEDIA/MEAN		32,33
DEV.ST/STD. DEV		0,29

Tab.1 respirabilità, valori medi – breathability, mean values

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

3.2 Conclusioni / Conclusions

Il prodotto testato ha dato il seguente risultato/ The tested product gave the following result:

	Tipo I e II /type I and II	Tipo IIR / Type IIR
Requisiti di respirabilità Breathability requirement	< 40	< 60
Meltblown (Farè) + Spunbond (Fitesa) Batch: n.p. Internal code: 1941/20-02	<u>CONFORME</u> <u>PASS</u>	<u>CONFORME</u> <u>PASS</u>

**E QUINDI SI QUALIFICA IN TERMINI DI RESPIRABILITA' COME MASCHERA
AD USO MEDICO**

**AND THEREFORE QUALIFIES IN TERMS OF BREATHABILITY AS A MEDICAL
FACE MASK**

Data/Date: 22/05/2020

Direttore dello studio
Study Director
Dr. Stefano Todeschi



Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

4. RIFERIMENTI / REFERENCES

- UNI EN 14683:2019 – Annex C

MEDICAL
face mask

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

Convalida del metodo per la valutazione della pulizia microbica di maschere ad uso medico secondo la norma UNI EN ISO 11737-1: 2018

Validation of the method for the evaluation of microbial cleanliness for medical masks based on UNI EN ISO 11737-1: 2018

COMMITTENTE / CUSTOMER	Helpcodelife S.r.l. Via Paisiello 14 20131 Milano (MI) - Italy
SPONSOR	Helpcodelife S.r.l. Via Paisiello 14 20131 Milano (MI)
CAMPIONE / SAMPLE	mascherina chirurgica Lotto/Batch: n.p. Codice interno/Internal code: 2089/20-02
DATA RAPPORTO / REPORT DATE	03/06/2020
REPORT N°.	REL/1740/2020/MIC/ELB

Sede legale
e laboratoriVia Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), ItaliaTel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.itCF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.Centro Studi Clinici
e CosmetologiciVia Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italiawww.abich.it

Indice / Table of contents

1. PARTE PRIMA / PART ONE INFORMAZIONI GENERALI / GENERAL INFORMATION	3
1.1 COMMITTENTE / CUSTOMER	3
1.2 SPONSOR	3
1.3 CAMPIONE ANALIZZATO / TESTED SAMPLE	3
1.4 TEST / ASSAY	4
1.5 LABORATORIO INCARICATO / ENTRUSTED LABORATORY	4
1.6 DATE DELLO STUDIO / STUDY DATES	4
1.7 RICERCATORE PRINCIPALE / MAIN INVESTIGATOR	4
1.8 DIRETTORE DELLO STUDIO / STUDY DIRECTOR	4
1.9 RESPONSABILE ASSICURAZIONE QUALITÀ / QUALITY ASSURANCE MANAGER	4
2. PARTE SECONDA / PART TWO PROTOCOLLO SPERIMENTALE / STUDY DESIGN	5
2.1 SCOPO DEL TEST / PURPOSE OF THE TEST	5
2.2 NORME DI RIFERIMENTO / REFERENCE STANDARDS	5
2.3 MATERIALI E PROTOCOLLO D'ANALISI / MATERIALS AND TESTING PROTOCOL	5
3. PART THREE /PARTE TERZA RISULTATI E CONCLUSIONI / RESULTS AND CONCLUSIONS	9
3.1 RISULTATI / RESULTS	9
3.2 CONCLUSIONI / CONCLUSIONS	10
4. PARTE QUARTA / PART FOUR RIFERIMENTI / REFERENCES	11

Nota/Note:

I risultati del test presentati in questo report sono esclusivamente riferiti al prodotto testato ed alle specifiche condizioni sperimentali impiegate. Questo report o parti di esso possono essere duplicati esclusivamente previo consenso scritto da parte del personale di ricerca coinvolto.

The results of the test in this report is only related to the tested product/s and to the specific experimental conditions here employed. This report or parts of it cannot be duplicated without a preliminary written approval by the research staff..

Sede legale e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

1. PARTE PRIMA / PART ONE INFORMAZIONI GENERALI / GENERAL INFORMATION

1.1 Committente / Customer

Helpcodelife S.r.l.
Via Paisiello 14
20131 Milano (MI) - Italy

1.2 Sponsor

Helpcodelife S.r.l.
Via Paisiello 14
20131 Milano (MI)

1.3 Campione analizzato / Tested sample

Campione Sample	Codice interno Internal Code	Descrizione Description
mascherina chirurgica Batch: n.p.	2089/20-02	mascherina chirurgica bianca

Foto:



Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

1.4 Test / Assay

Convalida del metodo per la valutazione della pulizia microbica o contaminazione microbica di maschere medicali.

Validation of the method for the evaluation of microbial cleanliness or bioburden for medical masks.

1.5 Laboratorio incaricato / Entrusted Laboratory

ABICH S.r.l. - Via 42 Martiri, 213/B – 28924
Verbania - tel +39 (0)323 586239 fax +39 (0)323
496877 - Italy

1.6 Date dello Studio / Study Dates

Inizio / Start: 28/05/2020
Fine / End: 01/06/2020

1.7 Ricercatore principale / Main investigator

Dr.ssa Elena Limioli
Chimico e tecnologo farmaceutico / Chemical and
Pharmaceutical technologist
ABICH S.r.l.

1.8 Direttore dello studio / Study Director

Dr.ssa Elena Bocchietto,
Biologa, specialista in Biotecnologie / Biologist,
Biotechnology Specialist
ABICH S.r.l.

1.9 Responsabile assicurazione Qualità / Quality assurance manager

Dott. Emanuele Caravati, Dottore di ricerca in
Ecologia/Ph.D. in Ecology
ABICH S.r.l.

2. PARTE SECONDA / PART TWO **PROTOCOLLO SPERIMENTALE / STUDY DESIGN**

2.1 Scopo del test / Purpose of the test

Il presente studio si propone di validare il metodo utilizzato per valutare la pulizia microbica di maschere per uso medico allo scopo di valutare la loro idoneità all'uso. Lo scopo della convalida è quello di dimostrare:

- l'adeguatezza del metodo applicato nel rimuovere i contaminanti presenti sul prodotto (efficacia di recupero)
- l'assenza di interferenze da parte del prodotto e/o liquido di estrazione utilizzato nel metodo di analisi.

The present study is designed to validate the method used to evaluate the microbial cleanliness of medical masks. The aim is to evaluate their performances for their intended use. The purpose of the validation is to demonstrate:

- The adequacy of the method for the removal of microorganisms from a product (recovery efficiency)
- The absence of interferences from the product and/or extraction liquid used in the testing method.

2.2 Norme di riferimento / Reference standards

Le norme di riferimento impiegate sono:

UNI EN ISO 11737-1: 2018 – Sterilizzazione dei dispositivi medici – Metodi microbiologici – Parte 1: determinazione di una popolazione di microorganismi sui prodotti –
UNI EN ISO 14683:2019- Maschere facciali ad uso medico.

The references are the standards:

UNI EN ISO 11737-1: 2018 – Sterilization of health care products – Microbiological methods – Part 1: determination of a population of microorganisms on products
UNI EN 14683:2019– Medical face masks – Requirements and test methods.

2.3 Materiali e protocollo d'analisi / Materials and testing protocol

Campionamento/Sampling

La convalida del metodo per la valutazione della pulizia microbica è effettuata su un numero minimo di 3 maschere.

The validation of the microbial cleanliness is performed at least on three (3) masks.

Procedura di test/Testing procedure

A) Verifica dell'efficacia di recupero del metodo di valutazione della pulizia microbica / Evaluation of bioburden method recovery efficiency

Ogni maschera viene estratta con 300 ml di liquido di estrazione (1 g/l di peptone, 5 g/l di NaCl e 2 g/l di Tween 20) all'interno di un contenitore sterile posto ad agitare per 5 minuti su oscillatore orbitale. Prima dell'immersione viene verificato il peso della maschera. Dopo questa fase di estrazione, sotto cappa a flusso laminare 100 ml del liquido di estrazione sono filtrati attraverso un filtro da 0,45 μ m ed il filtro posto su una piastra di TSA (Tryptic Soy Agar) per la conta microbica totale di aerobi. Questa estrazione è ripetuta per più volte fino ad ottenere una riduzione del numero dei microorganismi recuperati. Le piastre di TSA sono incubate per 3 giorni a 30-35 °C. Come controllo negativo 100 ml di liquido di estrazione sono filtrati nello stesso modo ed il filtro posto su piastra agarizzata di TSA.

The full mask is extracted by 300 ml of extraction liquid (1 g/l Peptone, 5 g/l NaCl and 2 g/l of Tween 20) in a sterile container laid down on an orbital shaker for 5 minutes. Each mask is weighted prior testing. The bottle is laid down on an orbital shaker and shaken for 5 min. After this extraction step, under a laminar flow bench 100 ml of the extraction liquid is filtered through a 0,45 μ m filter and laid down on a TSA (Tryptic Soy agar) plate for the total viable aerobic microbial count. The TSA plates are incubated for 3 days at 30-35 °C. As a negative control 100 ml of extraction liquid is filtered in the same way and the filter plated on TSA agar.

B) Verifica delle interferenze da parte del prodotto e/o liquido di estrazione /Verification of interferences from the product and/or extraction liquid

Le singole maschere sono estratte con 300 ml di liquido di estrazione (1 g/l di peptone, 5 g/l di NaCl e 2 g/l di Tween 20) all'interno di un contenitore sterile posto ad agitare per 5 minuti su oscillatore orbitale. Dopo questa fase di estrazione, sotto cappa a flusso laminare aliquote di 100 ml del liquido di estrazione sono inoculate con 50 – 100 UFC dei seguenti ceppi. Ogni aliquota è quindi filtrata attraverso un filtro da 0,45 μ m su piastre di terreno agarizzato, TSA o SDA con cloramfenicolo a seconda del ceppo, e incubate come descritto nella seguente tabella.

Masks are extracted by 300 ml of extraction liquid (1 g/l Peptone, 5 g/l NaCl and 2 g/l of Tween 20) in a sterile container laid down on an orbital shaker for 5 minutes. The bottle is laid down on an orbital shaker and shaken for 5 min. After this extraction step, under a laminar flow bench 100 ml aliquots of the extraction liquid are inoculated with 50 – 100 CFU of the following microorganisms. Each aliquot is filtered through a 0,45 μ m filter and laid down on agar plate, TSA or SDA with cloramphenicol based on the inoculated microorganism and incubated as follows.

CEPPO STRAIN	Terreno di crescita Growth Medium	Condizioni di incubazione Growth conditions
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Tryptic soy agar (TSA)	30°C-35°C ≤ 3 giorni /days
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Tryptic soy agar (TSA)	30°C-35°C ≤ 3 giorni /days
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Tryptic soy agar (TSA)	30°C-35°C ≤ 3 giorni /days
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Sabouraud-dextrose agar (SDA)	20°C-25°C ≤ 5 giorni /days
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Sabouraud-dextrose agar (SDA)	20°C-25°C ≤ 5 giorni /days

Elaborazione e interpretazione dei risultati/Results elaboration and interpretation

A) Verifica dell'efficacia di recupero del metodo di valutazione della pulizia microbica / Evaluation of bioburden method recovery efficiency

Per ogni maschera testata viene calcolata l'efficienza di recupero (in %) rapportando il numero di colonie recuperate nella prima estrazione con il numero totale di colonie recuperate nelle estrazioni ripetute. L'efficienza di recupero del metodo è calcolata considerando la media delle percentuali ottenute per ogni singola maschera, applicando il seguente calcolo:

$$\text{Efficienza di recupero} = (100 / \text{Media dei recuperi della prima estrazione in } \%)$$

Il valore di efficienza di recupero ottenuto per i microorganismi aerobi è applicabile a tutti i tipi di contaminanti, poiché l'efficienza di recupero dipende dalle proprietà di adesione del microorganismo al prodotto, proprietà indipendenti dal tipo di microorganismo. Il valore di efficienza di recupero ottenuto sarà quindi applicato come fattore di correzione nella valutazione dei risultati di pulizia delle maschere ad uso medico analizzate con il metodo sopra descritto.

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

For each tested mask the recovery efficiency (as %) is calculated comparing the number of colonies recovered by the first treatment and the total number of colonies recovered by the consecutive extractions. The method recovery efficiency is calculated from the average recovery of the first extraction obtained in the tested masks, as follows:

$$\text{Recovery efficiency} = (100 / \text{Average recovery first extraction (\%)})$$

The recovery efficiency obtained for aerobic microorganisms is valid for all types of microorganisms, since the recovery test measures the efficiency of the method to remove microorganisms based on their adhesion to the product, dynamics that generally apply to all types of microorganisms. The recovery efficiency will be applied as corrective factor of the bioburden results of masks analyzed as described above.

B) Verifica delle interferenze da parte del prodotto e/o liquido di estrazione /Verification of interferences from the product and/or extraction liquid

Per ogni ceppo testato la crescita osservata non deve differire di un fattore superiore a 2 rispetto all'inoculo effettuato affinché si possa dimostrare l'assenza di interferenze da parte del prodotto e/o liquido di estrazione.

The absence of interferences from the product and/or extraction liquid is demonstrated if the growth does not differ by a factor greater than 2 from the value of inoculum for each tested strain.

**Sede legale
e laboratori**

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

**Centro Studi Clinici
e Cosmetologici**

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

3. PART THREE /PARTE TERZA RISULTATI E CONCLUSIONI / RESULTS AND CONCLUSIONS

3.1 Risultati / Results

Di seguito si riportano i valori dei conteggi ottenuti nelle estrazioni ripetute /The counts obtained in the consecutive treatments are as follows:

Campione/sample	UFC/CFU 1	UFC/CFU 2	UFC/CFU 3	Totale dei trattamenti (UFC/CFU)	Primo trattamento/first treatment %
Campione /sample 1	150	90	35	275	54,5
Campione/sample 2	210	72	45	327	64,2
Campione/sample 3	180	144	168	492	36,6
Negative controls	Nessuna crescita/ no growth				
Media dei recuperi del primo trattamento /Average recovery by first treatment	51,8				
Efficienza di recupero /Recovery efficiency	1,9				

Tab.1

Di seguito si riportano i valori dei conteggi ottenuti per ogni singolo ceppo nella verifica delle interferenze da parte del prodotto e/o liquido di estrazione ripetute /The counts obtained for each tested strain in the verification of interferences from the product and /or extraction liquid are as follows:

CEPPO/ STRAIN	Inoculum (UFC/CFU)	Risultato/result (UFC/CFU)	Limiti /Limits	Conforme/NON CONFORME/PASSFAIL
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	30	22	50% - 100% dell'inoculo / from the inoculum	CONFORME/PASS
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	32	28		CONFORME/PASS
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	42	30		CONFORME/PASS
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	26	20		CONFORME/PASS
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	42	38		CONFORME/PASS

Tab.2

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

3.2 Conclusioni / Conclusions

Sulla base dei risultati ottenuti / *On the base of the obtained results*

il metodo di controllo della pulizia microbica secondo normativa UNI EN ISO 14683:2019 /
the microbial cleanliness method described in UNI EN ISO 14683: 2019

sul prodotto testato /on the tested product:

mascherina chirurgica

Batch: n.p.

Internal code: 2089/20-02

risulta validato secondo la normativa EN ISO 11737-1: 2018 / is validated in accordance
with EN ISO 11737-1: 2018

con un'efficienza di recupero uguale a **1.9** /with a recovery efficiency of **1.9**.

Questo valore può essere applicato come fattore di correzione per una stima più accurata
della pulizia microbica del prodotto / *This value can be applied as a corrective factor for a
more accurate estimate of the product microbial cleanliness.*

Data/Date: 03/06/2020

Direttore dello studio
Study Director
Dr. Elena Bocchietto
Documento con firma digitale

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

4. PARTE QUARTA / PART FOUR **RIFERIMENTI / REFERENCES**

1. UNI EN ISO 11737-1: 2018 - Sterilization of health care products -- Microbiological methods Determination of a population of microorganisms on products.
2. EN 14683: 2019 – Medical face Masks – Requirements and test methods.
3. European Pharmacopoeia 10.0 – chapter 2.6.12 “microbiological examination of non-sterile products: Microbial Enumeration tests”.

Sede legale
e laboratori

Via Quarantadue Martiri 213/B 28924
Verbania (VB), Italia

Tel. +39 0323 586239
Fax +39 0323 496877
info@abich.it

CF/VAT/Reg. Imp.
VCO: 01864020035
R.E.A: 189901
Cap. Soc. € 116.000 i.v.

Centro Studi Clinici
e Cosmetologici

Via Della Burrone 51, 20090
Vimodrone (MI), Italia

www.abich.it

DICHIARAZIONE DI CONFORMITÀ.

La Società HELPCODELIFE S.R.L., con Sede Legale in Via Paisiello, 14 – 20131 Milano e Sede Operativa in Via Sardegna, 25 – 20090 Pieve Emanuele dichiara sotto la propria totale responsabilità che i dispositivi medici denominati "Mascherine chirurgiche" con codice "HCL8328-MIOIDFM" classe di rischio I (non sterile), in accordo alla regola 1 dell'allegato IX della Direttiva 93/42/CEE e ss.mm.ii (recepita in Italia con Decreto Legislativo 24 febbraio 1997, n. 46, e ss.mm.ii)

- sono conformi ai requisiti essenziali ed alle disposizioni della Direttiva 93/42/CEE e ss.mm.ii come da Fascicolo Tecnico n. FT 001 HE archiviato presso l'Azienda;
- sono fabbricati in accordo al Sistema Qualità che soddisfa i requisiti di cui all'Allegato VII del D.lgs. n. 46 del 24/02/97 e ss.mm.ii.
- sono conformi alla norma UNI EN 14683:2019 – Tipo IIR.

Il legale Rappresentante



Milano, data 16.07.2020

CE