



FORSCHUNGSINSTITUT HOHENSTEIN

PROF. DR. JÜRGEN MECHEELS

Mediaform
Informationssysteme GmbH
Herr Renè André Zäske
Borsigstraße 21
D-21456 Reinbeck

SCHLOSS HOHENSTEIN · D-74357 BÖNNIGHEIM

Institut für Hygiene und Biotechnologie

Durch das DAP Deutsches Akkreditierungssystem
Prüfwesen GmbH akkreditiertes Prüflaboratorium.

Die Akkreditierung gilt für die in der Urkunde aufgeführten Prüfverfahren - im Bericht mit * gekennzeichnet.



Ihre Kunden-Nr. 39675	Zuständig für Rückfragen Nadja Berner	Durchwahl 271-431	Unser Zeichen dr. dh/nb	Datum 11. März 2008
--------------------------	--	----------------------	----------------------------	------------------------

UNTERSUCHUNGSBERICHT

Untersuchungs-Nr.: 08.8.5-0024 Z

Auftraggeber: Siehe Anschrift

Untersuchungsgut: Armilla Materialmuster

Untersuchungszeitraum: 04. März – 10. März 2008

Untersuchungsziel: Zytotoxizitätsprüfung in-vitro an L 929 Maus-Fibroblasten:

Prüfrichtlinie:

- Biologische Bewertung von Medizinprodukten
- DIN EN ISO 10993-1: 2003-12 „Beurteilung und Prüfungen“
- DIN EN ISO 10993-5: 1999-11 „Prüfungen auf in-vitro-Zytotoxizität“
- DIN EN ISO 10993-12: 2005-03 „Probenvorbereitung und Referenzmaterialien“
- DIN EN ISO 105-E04: 1996-08 „Farbechtheit gegen Schweiß“

Der Untersuchungsbericht umfasst 5 Seiten.

Das Untersuchungsergebnis bezieht sich nur auf die eingereichte Probe. Es darf nicht auszugsweise, sondern nur in seinem vollen Umfang weitergegeben werden. Eine Benutzung des Untersuchungsberichts zu Werbezwecken oder die Veröffentlichung freier Interpretationen der Ergebnisse ist nur mit ausdrücklicher Genehmigung der Prüfstelle zulässig. Restliches Untersuchungsgut wird nach 3 Monaten vernichtet. Es gelten unsere AGB, www.hohenstein.de/pdf/agb.pdf.

Die Identität der Testmaterialien kann von uns nicht geprüft werden. Die Kennzeichnung im Prüfbericht erfolgt grundsätzlich anhand der vom Auftraggeber vorgegebenen Angaben, Namen und Codes.

G:\Abteilungen\IHBV\Allgemein\Word-Vorlagen\Untersuchungsberichte\IHBVZytotox deutsch – RevSta 7
Q:\Untersuchungsberichte\2008\5_Biologische Prüfungen\085-0024 Mediaform\085-0024 Z Mediaform.doc

RevSta 10 – Februar 2008

Auftragsforschung · Entwicklungen · Warentests · Materialprüfung und Beratung auf den Gebieten Textilchemie · Bekleidungs- und Fertigungstechnik · Textilhygiene · Textilreinigung · Bekleidungsphysiologie · Farb- und Weißmetrik · Textilveredlung · Gütesicherung für textile Produkte · Prüfung von Bettfedern

Telefon
(07143) 271-0

Telefax
(07143) 271-94199

e-mail
info@hohenstein.de

USt-Id Nr.
DE 145002398

Forschungsinstitut Hohenstein Prof. Dr. Jürgen Mecheels GmbH & Co KG,
Registergericht Amtsgericht Stuttgart HRA300392, persönlich haftender
Gesellschafter: Beteiligungsgesellschaft Hohenstein GmbH, HRB 300155,
Geschäftsführer: Dr. Stefan Mecheels



Grundsätzliche Vorbemerkung

Mit Biokompatibilitätsuntersuchungen nach DIN EN ISO 10993 wird die Gewebeverträglichkeit von Produkten geprüft, die u.a. auf intakter Haut angewendet werden und in direktem Kontakt zur Körperoberfläche stehen. Die Prüfung auf Zytotoxizität (nach DIN EN ISO 10993-5) ist als Basis für alle Medizinprodukte anerkannt und erforderlich. Durch den Einsatz von Zellkulturen ist es möglich, aus den geprüften Produkten herauslösbare toxische Substanzen nachzuweisen. Dies wird mit dem Begriff "Zytotoxizität" bezeichnet. Die Zytotoxizitätsprüfung liefert damit erste Anhaltspunkte für die biologische Verträglichkeit des eingesetzten Produktes. Die Freisetzung toxischer Substanzen aus einem Textilprodukt mit Hautkontakt ist Voraussetzung für die Entstehung einer Hautirritation.

Die Prüfung auf Zytotoxizität erlaubt die Beurteilung eines Gefahrenpotenzials zur Hautirritation. Dieses wird als Summenparameter erfasst. Der Test ist keine Analytik zu den irritationsauslösenden Einzelsubstanzen oder auf allergieauslösende Substanzen.

Untersuchungsziel

Ziel der Studie:

Mit dieser *in-vitro* Prüfung wird das zytotoxische Potenzial des Prüfmaterials untersucht. Die Prüfung erfolgt mit der Maus Zelllinie L929 in deren Nährmedium unterschiedliche Konzentrationen des Schweißextraktes der Prüfmaterialien gegeben wurden. Die Vitalität der Zellen bzw. potenzielle zelltoxische Wirkung des Prüfmaterials wird durch die Bestimmung des Proteingehaltes der behandelten Zellkulturen im Vergleich zu unbehandelten Kontrollkulturen quantitativ bestimmt.



Methode

Zur Prüfung nach DIN EN ISO 10993-5 wurden am Forschungsinstitut Hohenstein Schweißextrakte des Untersuchungsgutes hergestellt. Dazu wurde das Untersuchungsgut mit einer sauren Schweißlösung nach Norm DIN EN ISO 105-E04 24 Std. bei 37° C unter leichtem Schütteln inkubiert. Der hieraus entstandene so genannte Schweißextrakt wurde auf pH 7,3 – 7,4 eingestellt und sterilfiltriert. Bindegewebszellen L 929 wurden 68 – 72 Std. mit dieser Lösung in Verdünnungsstufen von 33,3 % - 4,4 % behandelt.

Nach der Inkubationsperiode wurde der Proteingehalt der Kulturen mit dem der Kontrollen verglichen und daraus das Zellwachstum in Anwesenheit des Prüfmaterials ermittelt. In Gegenwart zelltoxischer Substanzen zeigen sich veränderte Proliferations- und Teilungsraten der Zellen (Wachstumsinhibitions-Test).

Die Zellen

Die Durchführung der Studie erfolgte mit L 929 Zellen (ATCC Nr. CCL1, NCTC Klon 929 L (DSMZ)) aus dem Bindegewebe der Maus. Diese Zelllinie wird seit vielen Jahren erfolgreich für *in vitro* Experimente benutzt. Sie zeichnet sich durch eine gute Klonierungsfähigkeit sowie durch eine hohe Proliferationsrate aus.

Testgruppen

- | | |
|---------------------------|---|
| 1. Lösungsmittelkontrolle | Phosphat-gepufferte Lösung (PBS) verdünnt in DMEM mit 10 % FKS entsprechend des Prüfmaterials |
| 2. Positivkontrolle | DMSO (5 %) in DMEM mit 10 % FKS |
| 3. Negativkontrolle | DMEM mit 10 % FKS |
| 4. Prüfmaterial | Konzentrationen des Prüfmaterials in DMEM mit 10 % FKS:
4,4 %, 6,6 %, 9,9 %, 14,8 %, 22,2 % und 33,3 % |

Eine Positiv- und eine Negativkontrolle wurden in dem Experiment mitgeführt, um die Validität des Testsystems zu bestätigen.

Bewertung der Ergebnisse

Nach Borenfreund und Borrero (*Literatur: Borenfreund, E. und Borrero, O., Cell Biol Toxicol. 1984 Oct;1(1):55-65*) kann der Proteingehalt der Zellkulturansätze als Maß für das Wachstum der L 929 Mausfibroblasten bzw. für eine Wachstumshemmung in Gegenwart zelltoxischer Substanzen dienen. Als eindeutig zelltoxischer Effekt wird hierbei eine Wachstumshemmung von **mehr als 30 %** im Vergleich zur Lösungsmittelkontrolle gewertet. Dies wird in der Regel bei der höchsten Extraktionsstufe von 33,3 % des Schweißextraktes erreicht.



Schweißextrakte wurden von folgendem Artikel hergestellt:

Probe Nr.	Artikel
08.8.5-0024	Armillar Materialmuster

Bemerkung:

Die Geruchsprüfung erfolgte durch mehrere Prüfer. Dabei wurde bei der Probe **kein Geruch** festgestellt.

Die Schweißextrakt-Prüfung erfolgte durch mehrere Prüfer. Dabei wurde mit bloßem Auge beim Schweißextrakt **keine Verfärbung** beobachtet.

Ergebnisse

Probe Nr. 08.8.5-0024

Rel. Proteingehalt: OD [540nm]

	X	±	s	Wachstumshemmung in %
Leerwert:	0,1793			
Positivkontrolle:	0,2662	±	0,0259	94
Negativkontrolle:	1,8314	±	0,0555	0

Lösungsmittelkontrolle:

33,30%	1,6404	±	0,0654	0
22,20%	1,7195	±	0,0651	0
14,80%	1,7288	±	0,0298	0
9,90%	1,7166	±	0,0098	0
6,60%	1,7427	±	0,0341	0
4,40%	1,7699	±	0,0725	0
Mittelwert	1,7196			

Prüfmaterial:

33,30%	1,4766	±	0,0278	11
22,20%	1,6748	±	0,1217	5
14,80%	1,7119	±	0,0470	1
9,90%	1,8367	±	0,1104	0
6,60%	1,8392	±	0,0515	0
4,40%	1,8858	±	0,0642	0

X entspricht dem Mittelwert aus Mehrfachmessungen.

s entspricht der Standardabweichung.



Anmerkung

Probe Nr. 08.8.5-0024: Armilla Materialmuster

Unter den angegebenen Bedingungen zeigte der Schweißextrakt der Probe eine Wachstumshemmung von 11 % im Zytotoxizitätstest. Dies bedeutet, die Probe zeigt **keine biologische Aktivität**. Daraus ist zu schließen, dass im angegebenen Gebrauch dieses Untersuchungsgutes **keine zelltoxischen Substanzen** freigesetzt werden, die bei Hautkontakt zu Irritationen führen können.

Die Prüfung auf Zytotoxizität erlaubt die Beurteilung eines Gefahrenpotenzials zur Hautirritation. Dieses wird als Summenparameter erfasst.

Als verbindlich gelten nur die Angaben im unterzeichneten Prüfbericht.

Schloss Hohenstein, 11. März 2008

Der Abteilungsdirektor des Instituts
für Hygiene und Biotechnologie



PD Dr. Dirk Höfer

Die Leiterin des Laboratoriums
für Hygiene und Biotechnologie

Dipl.-Biol. Jutta Secker