



---

# Prüfbericht Sensibilisierung

## Test report Sensitisation

MD\_004\_04D02.r00

---

S.	1 / 1
Autor:	-
Freigabe:	MBo
Freigabedatum:	15.09.20

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "MBo", is written over the right side of the table, specifically over the "Freigabe:" and "Freigabedatum:" rows.

BM Bioscience Technology GmbH  
Frau Anja Volkmann  
Roman-Oberaigner-Allee 3  
18299 Laage

## Hohenstein Laboratories GmbH & Co. KG

Schlossteige 1  
74357 Bönnigheim · Germany

**Life Science & Care**  
Telefon / Phone +49 7143 271 445  
Fax +49 7143 271 94421  
bioservice@hohenstein.de

Zuständig für Rückfragen / *Contact person* Unser Zeichen / *Our ref.*  
Christin Hammer hec

Datum / *Date*  
11. September 2020

---

## Bericht Nr. / *Report No.* 20.8.5.1206

*Mitgeltender Bericht / Applicable report* 20.8.5.1055

**Auftraggeber:** siehe Anschrift  
*Client:* see address

**Prüfgegenstand:** siehe Seite 2  
*Test sample:* see page 2

**Auftragsdatum:** 03.09.2020  
*Date of order:*

**Eingang Prüfgegenstand:** 03.09.2020  
*Receipt of test samples:*

**Prüfzeitraum:** 08.09.2020 bis / to 11.09.2020  
*Period of testing:*

**Probenahme:** Der Prüfgegenstand wurde uns vom Auftraggeber übersandt.  
*Sampling:* The test sample has been delivered to us by the client.

Der Bericht umfasst 4 Seiten. / *The report comprises 4 pages.*

## UNTERSUCHUNGSZIEL / AIM OF TEST

*In vitro* Screening Test zur Untersuchung des sensibilisierenden Potenzials eines textilen Prüfgegenstands.

*In vitro* screening test for investigation of the sensitizing potential of a test sample.

## PRÜFGEGENSTAND / TEST SAMPLES

Probennr. / Sample No.	Prüfgegenstand	Test sample
20.8.5.1206	Probenbezeichnung: medizinische Gesichtsmasken LOT: M03200828 Herstellungsdatum: 28.08.2020	Product description: medical face masks LOT: M03200828 Date of manufacture: 28.08.2020

Der Prüfgegenstand wurde wie vom Auftraggeber eingesandt für die Prüfung verwendet.

The sample was used like handed over by the customer.

## METHODE / METHODS

### PRÜFGRUNDLAGE

SOP-QM-11.08.03.068: 2017-09<sup>A</sup>  
in Verbindung mit DIN EN ISO 10993-12: 2012-10 und  
DIN EN ISO 105-E04: 2013-08

### Zelllinie

U937 Histiozyten (Immunzellen)

### Kulturmedium

RPMI mit 25mM HEPES, 2 % L-Glutamin und 10 % FCS

### Extraktionsverfahren

Inkubation des Prüfgegenstands mit saurer Schweißlösung nach Norm DIN EN ISO 105-E04 für 24 Std. unter leichtem Schütteln bei 37 °C; der Original-Schweißextrakt wird auf pH 7,3 - 7,4 eingestellt und sterilfiltriert.

### Inkubation der Zellkultur

48 Std. mit Original-Schweißextrakt

### Auswertung

Die Zellen reagieren auf sensibilisierende Substanzen, indem sie bestimmte Oberflächenmarker ausbilden. An diese Oberflächenmarker werden spezifisch Antikörper gebunden, die mit einem Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt sind. Mittels Durchflusszytometrie wird der prozentuale Anteil der so markierten Zellen bestimmt. Daraus berechnet sich die „Relative Fluoreszenz-Intensität“ (RFI).

### Kontrollen

Lösungsmittelkontrolle: Schweißlösung (pH 7,3 - 7,4)  
Positivkontrolle: 1 µg / ml DNCB in Schweißlösung

### TEST SPECIFICATION

SOP-QM-11.08.03.068: 2017-09<sup>A</sup>  
in addition with DIN EN ISO 10993-12: 2012-10 and  
DIN EN ISO 105-E04: 2013-08

### Cell line

U937 histiocytes (immune cells)

### Culture medium

RPMI with 25mM HEPES, 2 % L-Glutamine and 10 % FBS

### Extraction process

Incubation of test sample with an acid perspiration solution according to DIN EN ISO 105-E04 for 24 hours with slight shaking at 37 °C; the original perspiration extract is adjusted to pH 7.3 to 7.4 and sterilised by filtration.

### Incubation of cell culture

48 hours with original perspiration extract

### Evaluation

The cells respond to sensitizing substances by expression of surface markers. Specific antibodies labelled with fluorescent dyes bind to these surface markers. Using flow cytometry the percentage of the fluorescent cells are detected. Depending on these values the "relative fluorescent intensity" (RFI) is calculated.

### Controls

Solvent control: Perspiration solution (pH 7.3 to 7.4)  
Positive control: 1 µg / ml DNCB in perspiration solution

Negativkontrolle: 0,2 % DMSO in Schweißlösung

Negative control: 0.2 % DMSO in perspiration solution

## BERECHNUNGSGRUNDLAGE

Die Berechnung der Relativen Fluoreszenz-Intensität erfolgt nach folgender Formel:

$$RFI = \frac{\text{MFI chem. behandelte Zellen} - \text{MFI chem. behandelte Isotypkontrollzellen}}{\text{MFI mit Schweißlösung behandelte Zellen} - \text{MFI mit Schweißlösung behandelte Isotypkontrollzellen}}$$

RFI: Relative Fluoreszenz-Intensität

MFI: Mittlere Fluoreszenz-Intensität

## CALCULATION

The calculation of the relative fluorescent intensity is:

$$RFI = \frac{\text{MFI chem. treated cells} - \text{MFI chem treated isotypecontrol cells}}{\text{MFI with perspiration solution treated cells} - \text{MFI with perspiration solution treated isotypecontrol cells}}$$

RFI: relative fluorescent intensity

MFI: mean fluorescent intensity

## ERGEBNIS / RESULT

### Kontrollen / controls:

	Relative Fluoreszenz-Intensität / relative fluorescent intensity	Ergebnis /Result
Negativkontrolle / Negative control	< 120	ok / ok
Lösungsmittelkontrolle / Solvent control	< 120	ok / ok
Positivkontrolle / Positive control	≥ 120	ok / ok

### Prüfgegenstand / test sample:

	Relative Fluoreszenz-Intensität / relative fluorescent intensity	Ergebnis /Result
20.8.5.1206	< 120	bestanden / passed

Versuchsdurchführung: pli, nka, nro

Test performance: pli, nka, nro

## ZUSAMMENFASSUNG / CONCLUSION

Die Prüfung auf Sensibilisierung erlaubt die Beurteilung eines Gefahrenpotenzials der untersuchten Substanzen, Allergien auszulösen. Dieses wird als Summenparameter erfasst. Der Test ist keine Analytik zu allergie-auslösenden Einzelsubstanzen.

*The examination on sensitization permits the evaluation of a risk potential to trigger hypersensitivity. This potential is recorded as sum parameter. The test is no analysis of single allergenic substances.*

## BEURTEILUNGSKRITERIEN

Durch sensibilisierende Substanzen werden U937 Zellen dazu angeregt, Oberflächenmarker zu bilden, an die spezifische fluoreszenzmarkierte Antikörper gebunden werden können. Im Durchflusszytometer wird der prozentuale Anteil der positiven Zellen über die Fluoreszenz-Intensität bestimmt. Diese Werte bilden die Berechnungsgrundlage für den RFI nach oben stehender Gleichung. Proben mit einem RFI von **120 % und höher** werden als potenziell sensibilisierend gewertet (Bauch et al. [Regul Toxicol Pharmacol (2012) 63:489-504]).

## ASSESSMENT CRITERIA

*In the presence of sensitizing substances, U937 cells are stimulated to express surface markers to which specific fluorescent labelled antibodies are bound. The percentage of positive cells is detected via fluorescent intensity with flow cytometry. These data provide the basis of RFI calculation (see equation above). Samples with an RFI of **120 % and above** are assessed as potentially sensitizing (Bauch et al. [Regul Toxicol Pharmacol (2012) 63:489-504]).*

## BEURTEILUNG

### ■ Probe / Sample 20.8.5.1206

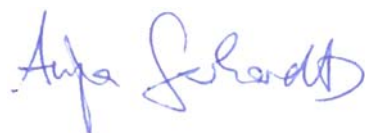
Unter den angegebenen Bedingungen zeigt der Schweißextrakt der Probe in diesem Test keine biologische Aktivität. **Ein Sensibilisierungspotential wurde nicht festgestellt.**

## ASSESSMENT

*The perspiration extract of the test material shows in this test no significant biological activity. **A sensitizing potential was not detected.***

Schloss Hohenstein, 11. September 2020

Deputy Director  
Life Science & Care



Dr. Anja Gerhardt



Product Manager  
Material Performance  
Life Science & Care



Nadja Berner-Dannenmann

Die Ergebnisse beziehen sich nur auf die untersuchten Proben. Die Messunsicherheit der Methode wurde bereits bei der Grenzwertfestlegung berücksichtigt, wenn nicht anders deklariert. Der Bericht darf nicht auszugsweise, sondern nur in seinem vollen Umfang weitergegeben werden. Eine Benutzung des Berichts zu Werbezwecken oder die Veröffentlichung freier Interpretationen der Ergebnisse ist nur mit ausdrücklicher Genehmigung Hohensteins zulässig. Rechtsverbindlich ist nur der autorisierte Bericht.  
Die Akkreditierung gilt für die in der Urkundenanlage aufgeführten Verfahren (Akkreditierungen siehe [www.hohenstein.de/de/about\\_hohenstein/accreditation/accreditation.html](http://www.hohenstein.de/de/about_hohenstein/accreditation/accreditation.html)) – im Bericht mit <sup>A</sup> gekennzeichnet.  
*The results relate only to the samples examined. The measurement uncertainty of the method is already considered while determining limit values, unless otherwise noted. This report must only be reproduced in full and not in extract form. Use of the report in advertising or the publication of free interpretations of the results is only allowed with the express permission of Hohenstein. Only the authorized report is legally binding.*  
*The accreditation applies for the methods listed in the annex to the certificate (accreditations see [www.hohenstein.de/de/about\\_hohenstein/accreditation/accreditation.html](http://www.hohenstein.de/de/about_hohenstein/accreditation/accreditation.html)) – marked <sup>A</sup> in the report.*