

Polygiene AB
Styrmansgatan 2
211 18 MALMÖ
SWEDEN

Hohenstein Laboratories GmbH & Co. KG

Schlossteige 1
74357 Bönnigheim · Germany

Life Science & Care
Telefon / Phone +49 7143 271 251
Fax +49 7143 271 94421
medical@hohenstein.de

Zuständig für Rückfragen / *Contact person* Unser Zeichen / *Our ref.*
Nadja Karl Pli

Datum / *Date*
02. September 2022

Bericht Nr. / *Report No.* **22.8.5.0303**

Mitgeltender Bericht / Applicable report 22.8.5.0293

Auftraggeber: siehe Anschrift
Client: see address

Prüfgegenstand: siehe Seite 2
Test sample: see page 2

Auftragsdatum: 30.08.2022
Date of order:

Eingang Prüfgegenstand: 18.08.2022
Receipt of test samples:

Prüfzeitraum: 30.08.2022 bis / to 02.09.2022
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 5 Seiten. / *The report comprises 5 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
22.8.5.0303-1	odour neutraliser spray product PB500 Die Chargenbezeichnung wurde vom Kunden nicht zur Verfügung gestellt.
22.8.5.0303-2	odour neutraliser spray product PB800 Die Chargenbezeichnung wurde vom Kunden nicht zur Verfügung gestellt.

Es wurde eine Probengröße zugeschnitten, die mit einem „Spray“ abgedeckt werden konnte. Dann wurde ein fester Sprühstoß auf das Stoffmuster gegeben, trocknen gelassen und dann getestet

A sample size that could be covered with one “spray” was cut. Then one solid “pump” of spray was put on the fabric swatch, allowed to hang dry and was then tested.

METHODE / METHODS

PRÜFGRUNDLAGE

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

Zelllinie

U937 Histiocyten (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).

TEST SPECIFICATION

SOP-QM-11.08.03.068: 2017-09^A
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.

Kontrollen

Lösungsmittelkontrolle: Schweißlösung (pH 7,3 - 7,4)

Positivkontrolle: 1 µg / ml DNCB in Schweißlösung

Negativkontrolle: 0,2 % DMSO in Schweißlösung

Controls

Solvent control: Perspiration solution (pH 7.3 to 7.4)

Positive control: 1 µg / ml DNCB in perspiration solution

Negative control: 0.2 % DMSO in perspiration solution

BERECHNUNGSGRUNDLAGE

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

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

RFI: Relative Fluoreszenz-Intensität

MFI: Mittlere Fluoreszenz-Intensität

CALCULATION

The calculation of the relative fluorescent intensity is:

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

RFI: relative fluorescent intensity

MFI: mean fluorescent intensity

ERGEBNIS / RESULT

Kontrollen / controls:

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

Prüfgegenstand / test sample:

	Relative Fluoreszenz-Intensität / <i>relative fluorescent intensity</i>	Ergebnis /Result
22.8.5.0303-1	< 120	bestanden / <i>passed</i>
22.8.5.0303-2	< 120	bestanden / <i>passed</i>

Versuchsdurchführung: Nro, Pli

Test performance: Nro, Pli

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 22.8.5.0303-1

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

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

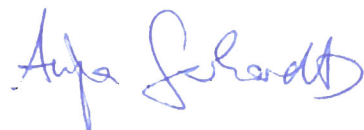
■ Probe / Sample 22.8.5.0303-2

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

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

Schloss Hohenstein, 02. September 2022

Deputy Director
Life Science & Care



Dr. Anja Gerhardt



Product Manager
Biomedical
Life Science & Care



Nadja Karl

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/akkreditation/akkreditation.html) - im Bericht mit ^A gekennzeichnet. Im Falle unterschiedlicher Auslegung der Texte dieses Berichts in deutscher und weiteren Sprachen ist die deutsche Fassung maßgeblich.
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/akkreditation/akkreditation.html) - marked ^A in the report. In case of any different interpretation of the texts of this report in German and other languages, the German wording shall be decisive.