HygCen Centrum für Hygiene
und medizinische Produktsicherheit

HygCen GmbH • Postfach 11 01 35 • D-19001 Schwerin

KABELWERK EUPEN AG
Kunstschaumwerk
Malmedyer Str. 9
B – 4700 Eupen

Akkreditiert durch
Zentralstelle der Länder
für Gesundheitsschutz
bei Arzneimitteln
und Medizinprodukten
ZLG-P-715.98.13

20/03/2006

Essai de cytotoxicité selon DIN EN ISO 10993-5
SOP 09-001

RAPPORT D'ESSAI

N° d'échantillon : SN 5337 II

Date de livraison : 08/03/2006

Produit : Mousse PU EULASTIC

Donneur d'ordre : Kabelwerk Eupen AG

Méthode d'essai : Cytotoxicité d'éluats selon DIN EN ISO 10993-5, 1999-11
Évaluation biologique des dispositifs médicaux
Partie 5 : essai de cytotoxicité
SOP 09-001

Période d'essai : 14/03 – 16/03/2006

Conditions d'essai: Climat d'essai : 20,9 °C/ 33 % d'humidité rel.
Conditionnement : 24 h
L'essai a été pratiqué sur les échantillons tels qu'ils avaient été livrés.

Traduction du rapport original en anglais. Dans le cas de manque de clarté, le rapport original en anglais fait foi.

HygCen Centrum für Hygiene und medizinische Produktsicherheit GmbH
Bornhövedstraße 78
(Eingang W.-Rathenau-Str.)
D-19055 Schwerin
Postfach 110135
D-19001 Schwerin
Telefon: +49 (0) 385 56 82 65
+49 (0) 385 59 83 74
Telefax: +49 (0) 385 56 82 67
E-Mail: info@hygcen.de
Internet: www.hygcen.de
Dt. Apotheker- und Ärztebank BLZ 120 906 40 Konto 0 005 578 698
Deutsche Bank AG Schwerin BLZ 130 700 24 Konto 3 184 645
Mainzer Volksbank BLZ 551 900 00 Konto 396 317 018
Steuer-Nr.: 090/110/03882
Geschäftsführerin Dipl.-Ing. (FH) Umwelt- und Hygienetechnik Margrit Werner · Amtsgericht Schwerin HRB 4792 · UST.-Nr.: 178599849

Description de la méthode d'essai

Conditions d'extraction : 3 cm^2 d' EULASTIC dans 15 ml de MEM + 9 % de sérum + 1 % de solution antibiotique à 37 °C pendant 24 h = milieu d'extraction

Méthode

Culture cellulaire
Les cellules FL (American Type Culture Collection CCL 62) sont une lignée cellulaire de l'amnion humain. Elles sont stockées dans des flacons de culture tissulaire de 250 ml (Greiner GmbH). Les cellules sont passées tous les 4 jours. Après le 100^e passage, un nouveau stock a été mis en place à partir de la culture souche.
Pour le test, on ensemence des plaques de microtitrage à 96 puits (Biochrom) avec des cellules dans une concentration de 1-2 x 10^6 cellules/ml et on les laisse incuber de 20 à 24 h à 37 °C et sous 5 % de CO_2 dans l'incubateur.
Le milieu de culture est composé de MEM (Minimum Essential Medium) à 9 % de SVF (sérum de veau fœtal), de glutamine, de pénicilline, de streptomycine et de néomycine.

Exposition

Après 24 h de culture des cellules dans des plaques de culture à plusieurs puits, les cellules se trouvaient sous forme de monocouche. On a ensuite remplacé le milieu par le milieu d'extraction. Pour ce faire, on a décanté le milieu puis déposé avec soin le milieu d'essai avec une pipette multicanal (100 µl par puits).
On procède ensuite à une incubation de 24 heures dans l'incubateur.

Principe de mesure

Les cellules vivantes absorbent le colorant rouge neutre. Les cellules détruites ne peuvent pas absorber le colorant et ne sont pas colorées. On mesure l'intensité de la couleur de la solution d'élution par des moyens photométriques.

Mesure

À l'issue de l'incubation, on lave la plaque de microtitrage au tampon phosphate salin et on pipette le milieu de culture contenant le colorant rouge neutre (50 µg/ml) sur les cellules. Après 3 heures d'incubation, on lave à nouveau la plaque de microtitrage pour enlever l'excès de colorant. On extrait le colorant présent dans les cellules avec de la solution d'élution (1 % (V/V) d'acide acétique dans 50 % (V/V) d'éthanol). On procède à la mesure photométrique après 1 h d'élution.

Contrôles

On a incubé comme contrôle négatif du milieu cellulaire sans solution d'essai. Pour vérifier la sensibilité du système de test, on également ajouté au milieu de culture de l'organozinc comme contrôle positif.

Évaluation

Le nombre de cellules de 12 préparations parallèles a été déterminé puis évalué de façon statistique.

Traduction du rapport original en anglais. Dans le cas de manque de clarté, le rapport original en anglais fait foi.

Illustration 1 : Boxplot de l'activité cellulaire

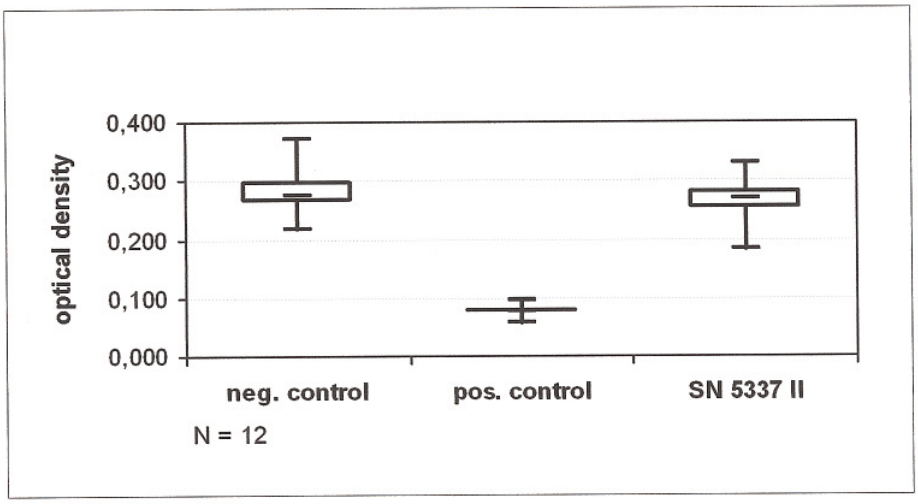


Tableau n 1 : statistiques descriptives (vitalité cellulaire)

	N	Mean	cell vitality (%)	minimum	maximum	Std. Deviation	p*
Negative controle	9	0,285	100,00	0,219	0,370	0,042	-
Positive controle	9	0,078	27,37	0,059	0,097	0,011	-
SN 5337 II	12	0,265	93,20	0,183	0,330	0,035	0,9816

*Test en U de Mann-Whitney contre contrôle

HygCen
Centrum für Hygiene und medizinische Produktsicherheit

Prof. Dr. med. H.-P. Werner
Responsable technicoscientifique

Dipl. Umweltwiss. J. Köhnlein
Directrice adjointe du secteur

Traduction du rapport original en anglais. Dans le cas de manque de clarté, le rapport original en anglais fait foi.

PROF. DR. MED. H. - P. WERNER
FACHARZT FÜR HYGIENE

c/o HygCen Centrum für Hygiene und
medizinische Produktsicherheit GmbH
Bornhövedstraße 78
D-19055 Schwerin
Tel.: +49 (0)385 / 56 82 65
Fax: +49 (0)385 / 56 82 67
E-Mail: hpwerner@hygcen.de

Prof. Dr. H.-P. Werner · c/o HygCen GmbH · Bornhövedstr. 78 · D-19055 Schwerin

KABELWERK EUPEN AG
Kunstschaumwerk
Malmedyer Str. 9
B – 4700 Eupen

20.04.2006

Mousse PU EULASTIC

ÉVALUATION

Après avoir testé la cytotoxicité de la mousse PU EULASTIC selon la norme DIN EN ISO 10993-5, 1999-11 – rapport d'essai SN 5337 II du 20/04/2006 –, je donne l'évaluation suivante :

Il a été procédé à une évaluation biologique de la portée définie par la norme EN ISO 10993-1:2003.
L'utilisation du produit indiquée par le fabricant prévoit un contact avec la peau intacte pendant une durée inférieure à 24 h. Un test de cytotoxicité selon EN ISO 10993-5 (1999) est donc considéré comme suffisant pour évaluer la biocompatibilité.

Les connaissances supplémentaires que des tests de biocompatibilité plus poussés permettraient d'obtenir avec ce produit entraîneraient un préjudice inutilement élevé pour les animaux d'expérimentation. Conformément à EN ISO 10993-1:2003,

Traduction du rapport original en anglais. Dans le cas de manque de clarté, le rapport original en anglais fait foi.

chapitre 3,6 et EN ISO 10993-1: 2003, chapitre 5,1 b) 7), on renonce dans ces cas à procéder à ce genre de tests.

La nature et l'ampleur des essais effectués correspondent aux exigences d'EN ISO 10993-1:2003.

Le matériau a dégagé à 37 °C de faibles quantités de substances cytotoxiques dans le milieu. L'extrait du matériau testé a réduit la croissance cellulaire à 93,20 % par rapport au contrôle. Ce résultat n'est pas significatif d'un point de vue statistique (ill. 1 et tableau 1).

Aucun effet cytotoxique n'est à craindre en cas d'utilisation du matériau testé conforme à la destination susmentionnée.

Prof. Dr. med. H.-P. Werner

Traduction du rapport original en anglais. Dans le cas de manque de clarté, le rapport original en anglais fait foi.