

Hohenstein Laboratories · Schlosssteige 1 · 74357 Bönnigheim · GERMANY

Out of the blue KG
Beim neuen Damm 28
28865 Lilienthal

Hohenstein Laboratories
GmbH & Co. KG

Schlosssteige 1
74357 Bönnigheim · Germany

Life Science & Care
Telefon / Phone +49 7143 271 440
Fax +49 7143 271 94898
bioservice@hohenstein.de

Zuständig für Rückfragen / Contact person
Christin Hammer

Unser Zeichen / Our ref.
ag

Datum / Date
28. April 2020

Bericht Nr. / Report No. 20.8.5.0209

Auftraggeber: Client:	siehe Anschrift see address
Prüfgegenstand: Test sample:	siehe Seite 2 see page 2
Auftragsdatum: Date of order:	15.04.2020
Eingang Prüfgegenstand: Receipt of test samples:	15.04.2020
Prüfzeitraum: Period of testing:	16.04.2020 bis / to 24.04.2020
Probenahme: Sampling:	Der Prüfgegenstand wurde uns vom Auftraggeber übersandt. The test sample has been delivered to us by the client.

Der Bericht umfasst 9 Seiten. / The report comprises 9 pages.

UNTERSUCHUNGSZIEL / AIM OF TEST

Prüfung von medizinischen Gesichtsmasken

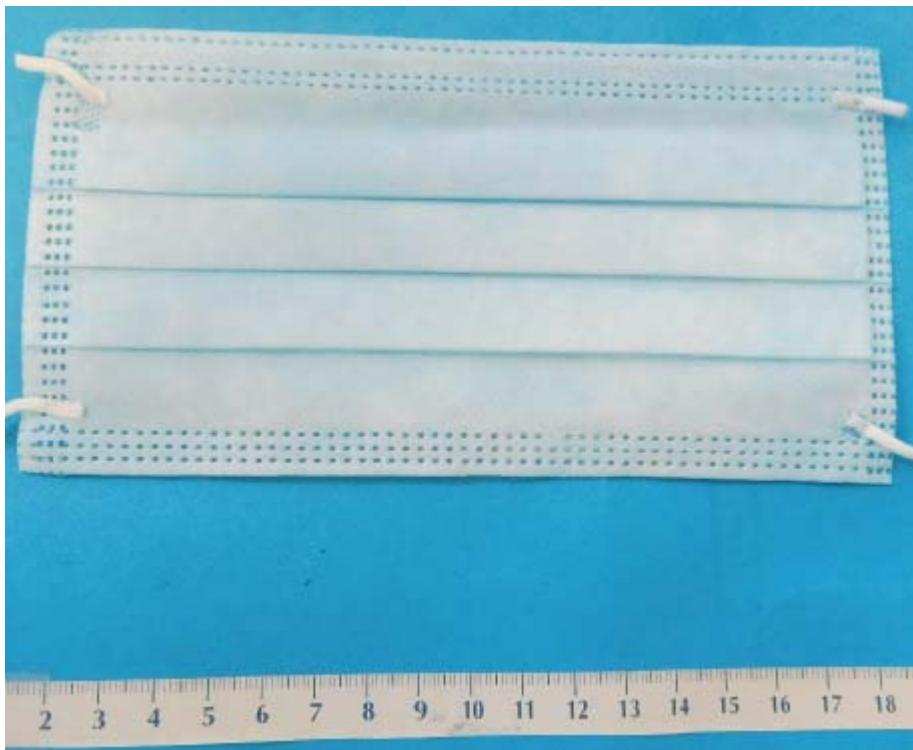
Tests for medical face masks

PRÜFGEGENSTAND / TEST SAMPLES

Probennr. / Sample No.	Prüfgegenstand	Test sample
20.8.5.209	Art.-Nr. 02/0001 Mund-Nasen-Schutz, 3-lagig, mit Ohrschlaufen, Einheitsgröße	Item no. 02/0001 Mouth and nose protector, 3-layer, with ear loops, one size fits all

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

*The sample was used like handed over by the
customer.*



METHODEN / METHODS

GRUNDSÄTZLICHE VORBEMERKUNGEN

Die Übertragung infektiöser Keime während chirurgischer Eingriffe in Operationssälen und sonstigen medizinischen Einrichtungen kann auf mehreren Wegen erfolgen. Infektionsquellen sind z. B. die Nasen und Münder von Mitgliedern der Operationsmannschaft. Die hauptsächliche vorgesehene Verwendung medizinischer Gesichtsmasken ist der Schutz des Patienten gegen infektiöse Keime (Typ II Masken) sowie, zusätzlich in bestimmten Situationen, der Schutz des Trägers gegen Spritzer möglicherweise kontaminierten Flüssigkeiten (Typ IIR). Medizinische Gesichtsmasken können ebenfalls dazu dienen, von Patienten und anderen Personen zur Verminderung des Risikos einer Verbreitung von Infektionen getragen zu werden (Typ I), insbesondere in epidemischen oder pandemischen Situationen.

PRÜFGRUNDLAGE

DIN EN 14683:2019-10

Medizinische Gesichtsmasken – Anforderungen und Prüfverfahren;
Deutsche Fassung EN 14683:2019+AC:2019

Bakterielle Filterleistung (BFE)

DIN EN 14683:2019-10, Anhang B

HygCen Austria SOP 13-002

Prüfkeim: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Größe der Prüfkörper: 10 x 10 cm

Geprüfter Bereich des Prüfkörpers: 50 cm²

Volumendurchfluss: 28,3 L/min

Berechnung der bakteriellen Filterleistung B:

$$B [\%] = (C - T)/C \times 100$$

C = Mittelwert der gesamten Plattenauszählung für die beiden positiven Kontrollläufe

T = gesamte Plattenauszählung für den Prüfkörper

Atmungsaktivität (Druckdifferenz)

DIN EN 14683:2019-10, Anhang C

Es wurden 5 Prüfkörper an jeweils 5 Positionen gemessen: oben rechts, oben links, unten rechts, unten links und Mitte.

Volumendurchfluss: 8 L/min

GENERAL REMARKS

The transmission of infective agents during surgical procedures in operating theatres and other medical settings can occur in several ways. Sources are, for example, the noses and mouths of members of the surgical team. The main intended use of medical face masks is to protect the patient from infective agents (type II masks) and, additionally, in certain circumstances to protect the wearer against splashes of potentially contaminated liquids (type IIR).

Medical face masks may also be intended to be worn by patients and other persons to reduce the risk of spread of infections (type I), particularly in epidemic or pandemic situations.

TEST SPECIFICATION

DIN EN 14683:2019-10

Medical face masks – Requirements and test methods;
German version EN 14683:2019+AC:2019

Bacterial filtration efficiency (BFE)

DIN EN 14683:2019-10, annex B

HygCen Austria SOP 13-002

Test strain: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Sample size: 10 x 10 cm

Sample area tested: 50 cm²

Volume flow: 28.3 L/min

Calculation of the bacterial filtration efficiency B:

$$B [\%] = (C - T)/C \times 100$$

C = plate count average of both positive control runs

T = total plate count of the sample

Breathability (differential pressure)

DIN EN 14683:2019-10, annex C

5 test specimens were measured, each at 5 positions: top right, top left, bottom right, bottom left and centre.

Volume flow: 8 L/min

Mikrobiologische Reinheit (Bioburden)

DIN EN 14683:2019-10, Anhang D

In Verbindung mit:

DIN EN ISO 11737-1:2018-07^A

Sterilisation von Produkten für die
Gesundheitsfürsorge – Mikrobiologische Verfahren –
Teil 1: Bestimmung der Population von
Mikroorganismen auf Produkten

Microbial cleanliness (bioburden)

DIN EN 14683:2019-10, annex D

In addition with:

DIN EN ISO 11737-1:2018-07^A

Sterilization of medical devices – Microbiological
methods – Part 1: Determination of a population of
microorganisms on products

Biokompatibilität (Zytotoxizität)

DIN EN ISO 10993-5: 2009-10^A

Biologische Beurteilung von Medizinprodukten –
Teil 5: Prüfungen auf *in vitro*-Zytotoxizität

Zelllinie: L 929 Zellen (ATCC Nr. CCL1, NCTC Klon 929 L). Die Zelllinie wird seit vielen Jahren erfolgreich für *in vitro*-Experimente eingesetzt und zeichnet sich durch eine gute Klonierungsfähigkeit sowie durch eine hohe Proliferationsrate aus.

Kulturmödium: DMEM mit 10 % FCS (Firma und Chargennummer intern dokumentiert).

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.

Negativkontrolle: Kulturmödium

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

Positivkontrolle: DMSO (5 %) in Schweißlösung

Inkubation der Zellkultur: 68-72 Std. mit Original-Schweißextrakt in 4 Verdünnungsstufen.

Untersuchung der Zytotoxizität: Nach Inkubation der Zellen wird der Proteingehalt mittels BCA-Test als Maß für das Zellwachstum mit dem der Kontrollen verglichen. [1]

[1] Smith, P. K., Krohn, R. I., et al. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. Anal Biochem 150(1): 76-85.

Berechnung der prozentualen Wachstumshemmung
(%WH):

$$\%WH = 100 - 100 \times \frac{(OD_{570nm} \text{ Probe}/\text{sample}) - (OD_{570nm} \text{ Leerwert}/\text{blank})}{(OD_{570nm} \text{ Kontrolle}/\text{control}) - (OD_{570nm} \text{ Leerwert}/\text{blank})}$$

OD_{570nm} Probe = Mittelwert Extinktionswert einer Probenverdünnung aus 3 Parallelansätzen

OD_{570nm} Leerwert = Mittelwert Extinktionswert des Leerwerts (ohne Zellen) aus 3 Parallelansätzen

OD_{570nm} Kontrolle = Mittelwert Extinktionswert der Lösungsmittelkontrolle aus 3 Parallelansätzen

Biocompatibility (cytotoxicity)

DIN EN ISO 10993-5: 2009-10^A

Biological evaluation of medical devices –
Part 5: Tests for *in vitro* cytotoxicity

Cell line: L 929 cells (ATCC No. CCL1, NCTC clone 929 L). This cell line has been used successfully for many years for *in vitro* experiments. It is characterized by its good capability for cloning and its high proliferation rate.

Culture medium: DMEM with 10 % FBS (Company and batch number documented internally)

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.

Negative control: culture medium

Solvent control: perspiration solution (pH 7.3-7.4)

Positive control: DMSO (5 %) in perspiration solution

Incubation of cell culture: 68-72 hours with original perspiration extract in 4 dilutions.

Test for cytotoxicity: After incubation of the cells, the protein amount is compared with the controls to measure the cell growth (BC-Assay). [1]

Calculation of growth inhibition in percentage (%WH):

OD_{570nm} sample = average extinction of a sample dilution out of 3 parallel wells

OD_{570nm} blank = average extinction of the blank (without cells) out of 3 parallel wells

OD_{570nm} control = average extinction of the solvent control out of 3 parallel wells

ERGEBNISSE / RESULTS

BAKTERIELLE FILTERLEISTUNG (BFE) / BACTERIAL FILTRATION EFFICIENCY (BFE)

■ Probe / Sample 20.8.5.0209

Gezählte KBE/Platte / counted cfu per plate

	Ebene 1 KBE/Platte level 1 cfu/plate	Ebene 2 KBE/Platte level 2 cfu/plate	Ebene 3 KBE/Platte level 3 cfu/plate	Ebene 4 KBE/Platte level 4 cfu/plate	Ebene 5 KBE/Platte level 5 cfu/plate	Ebene 6 KBE/Platte level 6 cfu/plate	KBE gesamt total cfu
PK1	35	63	141	291	399	195	1124
PK2	37	32	44	291	399	196	999
NK	0	0	0	0	0	0	0

Gezählte KBE/Platte nach Umrechnung mit „Positive hole conversion table“ /
Counted cfu per plate after conversion with “positive hole conversion table”

	Ebene 1 KBE/Platte level 1 cfu/plate	Ebene 2 KBE/Platte level 2 cfu/plate	Ebene 3 KBE/Platte level 3 cfu/plate	Ebene 4 KBE/Platte level 4 cfu/plate	Ebene 5 KBE/Platte level 5 cfu/plate	Ebene 6 KBE/Platte level 6 cfu/plate	KBE gesamt total cfu
PK1	35	63	174	520	2427	267	3486
PK2	37	32	47	520	2427	269	3332
NK	0	0	0	0	0	0	0

Gezählte KBE/Platte / counted cfu per plate

Probe / sample	Ebene 1 KBE/Platte level 1 cfu/plate	Ebene 2 KBE/Platte level 2 cfu/plate	Ebene 3 KBE/Platte level 3 cfu/plate	Ebene 4 KBE/Platte level 4 cfu/plate	Ebene 5 KBE/Platte level 5 cfu/plate	Ebene 6 KBE/Platte level 6 cfu/plate	KBE gesamt total cfu
1	1	1	1	4	9	70	86
2	0	0	1	1	6	50	58
3	1	1	0	0	0	48	50
4	0	0	0	0	2	54	56
5	1	1	1	0	0	54	57

Gezählte KBE/Platte nach Umrechnung mit „Positive hole conversion table“ /
Counted cfu per plate after conversion with “positive hole conversion table”

Probe / sample	Ebene 1 KBE/Platte level 1 cfu/plate	Ebene 2 KBE/Platte level 2 cfu/plate	Ebene 3 KBE/Platte level 3 cfu/plate	Ebene 4 KBE/Platte level 4 cfu/plate	Ebene 5 KBE/Platte level 5 cfu/plate	Ebene 6 KBE/Platte level 6 cfu/plate	KBE gesamt total cfu
1	1	1	1	4	9	77	93
2	0	0	1	1	6	53	61
3	1	1	0	0	0	51	53
4	0	0	0	0	2	58	60
5	1	1	1	0	0	58	61

Legende / legend:

KBE / cfu	= Kolonie bildende Einheiten / colony forming units
PK	= Positivkontrolle / positive control
NK	= Negativkontrolle / negative control

Bewertung der bakteriellen Filterleistung / rating of the bacterial filtration efficiency

Prüfkörper sample	Bakteriellen Filterleistung [%] bacterial filtration efficiency [%]	Grenzwert gemäß limit according to DIN EN 14683
1	97,27	$\geq 95\%$ (Typ I / type I) $\geq 98\%$ (Typ II / type II)
2	98,21	
3	98,45	
4	98,24	
5	98,21	
Mittelwert mean value	98,08 %	

ATMUNGSAKTIVITÄT (DRUCKDIFFERENZ) / BREATHABILITY (DIFFERENTIAL PRESSURE)

■ Probe / Sample 20.8.5.0209

Messstelle test area	Druckdifferenz / differential pressure [Pa/cm ²]					Grenzwert gemäß / limit according to DIN EN 14683
	Prüfling / sample 1	Prüfling / sample 2	Prüfling / sample 3	Prüfling / sample 4	Prüfling / sample 5	
A	38	36	41	45	36	$< 40\text{ Pa/cm}^2$ (Typ I + Typ II / type I + type II) $< 60\text{ Pa/cm}^2$ (Typ IIR / type IIR)
B	38	33	33	36	35	
C	30	36	31	35	31	
D	37	35	32	33	33	
E	35	37	41	27	36	
Mittelwert mean value	35	35	36	35	34	

MIKROBIOLOGISCHE REINHEIT (BIOBURDEN) / MICROBIAL CLEANLINESS (BIOBURDEN)

■ Probe / Sample 20.8.5.0209

Die Proben für die Prüfung wurden in der originalen Primärverpackung bereitgestellt, also genau so, wie sie dem Endbenutzer angeboten werden. Für die 5 Prüflinge wurden aus der Spenderbox die oberste und die unterste Maske sowie 3 weitere zufällig ausgewählte Masken verwenden.

Mask samples for testing were provided in the original primary packaging, as offered to the end user. For the 5 sample selected the top, bottom and 3 randomly chosen masks were taken.

Prüfling Sample	Gewicht gesamt (g) total weight (g)	KBE gesamt cfu/sample	KBE/g cfu/g	Grenzwert gemäß limit according to DIN EN 14683
1	3,32	66	19	$\leq 30\text{ KBE/g}$ $\leq 30\text{ cfu/g}$
2	3,33	33	10	
3	3,41	36	11	
4	3,38	39	12	
5	3,31	69	21	

BIOKOMPATIBILITÄT (ZYTOTOXIZITÄT) / BIOCOMPATIBILITY (CYTOTOXICITY)

■ Probe / Sample 20.8.5.0209

Der Schweißextrakt wurde aus dem gesamten Prüfgegenstand hergestellt.

Im Schweißextrakt wurde mit bloßem Auge keine Verfärbung / Trübung beobachtet. Es wurde am Probenmaterial bzw. Schweißextrakt kein Geruch festgestellt.

Am Schweißextrakt wurde eine Erhöhung des pH-Wertes auf 5,7 beobachtet.

Perspiration extract is prepared out of the total article.

The observation of perspiration extract showed no discoloration / turbidity.

In the investigation on odor no smell was detected.

The pH-value in the perspiration extract was 5.7 instead of 5.5.

Rel. Proteingehalt / Rel. protein content OD [570 nm]	X	±	s	Wachstumshemmung growth inhibition in %
Leerwert / blank:	0,1962			
Positivkontrolle / positive control:	0,2940	±	0,0071	92
Negativkontrolle / negative control:	1,6650	±	0,0444	0
Lösungsmittelkontrolle / solvent control:	1,4789	±	0,0457	0
Prüfgegenstand / test sample:				Limit
33,30 %	1,4841	±	0,0440	1
22,20 %	1,5082	±	0,0482	1
14,80 %	1,5612	±	0,0487	0
9,90 %	1,5620	±	0,0248	0

X entspricht Mittelwert aus Mehrfachmessungen

s entspricht der Standardabweichung

Versuchsdurchführung: mse1, nka

X is the average of multiple measurements

s is the standard deviation

Test performance: mse1, nka

Unter den angegebenen Bedingungen zeigte der Schweißextrakt der Probe eine Wachstumshemmung von 1 % im Zytotoxizitätstest.

Ausgehend vom Prüfmaterial konnte keine dosisabhängige Wachstums hemmung der L929 Zellen beobachtet werden, jedoch wurde die Signifikanzgrenze von 30 % nicht überschritten.

Under the mentioned test conditions, the perspiration extract of the test material showed a growth inhibition of 1 % in the cytotoxicity test.

No dose-dependent growth inhibition of L929 cells could be observed, which derived from the test material, but the significant limit of 30 % was not exceeded.

ZUSAMMENFASSUNG / CONCLUSION

BEURTEILUNGSKRITERIEN

Beurteilung gemäß DIN EN 14683:2019-10 und Ergebnisse

ASSESSMENT CRITERIA

Assessment according to DIN EN 14683:2019-10 and results

Prüfung / Test	Typ I * type I *	Typ II type II	Typ IIR type IIR	Prüfgegenstand / test sample 20.8.5.0209
Bakterielle Filterleistung / Bacterial filtration efficiency [%]	≥ 95	≥ 98	≥ 98	erfüllt / fulfilled
Druckdifferenz / differential pressure [Pa/cm ²]	< 40	< 40	< 60	erfüllt / fulfilled
Mikrobiologische Reinheit / microbial cleanliness [KBE/g]	≤ 30	≤ 30	≤ 30	erfüllt / fulfilled
Druck des Spritzwiderstandes / splash resistance [kPA]	n.a.	n.a.	≥ 16,0	n.a.

*) Medizinische Gesichtsmasken des Typs I sollten ausschließlich bei Patienten und anderen Personen zur Verminderung des Risikos einer Infektionsverbreitung insbesondere in epidemischen oder pandemischen Situationen verwendet werden. Masken des Typs I sind nicht für medizinisches Fachpersonal in Operationsräumen oder in anderen medizinischen Einrichtungen mit ähnlichen Anforderungen gedacht.

n.a. = entfällt

*) Type I medical face masks should be used exclusively on patients and other persons to reduce the risk of spreading infection, particularly in epidemic or pandemic situations. Type I masks are not intended for use by healthcare professionals in operating rooms or other medical facilities with similar requirements.

n.a. = not applicable

Beurteilung gemäß DIN EN ISO 10993-5

Im Zytotoxizitätstest zur Biokompatibilität wird eine Wachstumshemmung von mehr als 30 % im Vergleich zur Lösungsmittelkontrolle als eine zytotoxische Wirkung angesehen.

Assessment according to DIN EN ISO 10993-5

In the cytotoxicity test for biocompatibility, a growth inhibition of more than 30 % in comparison to the solvent control is considered as a clear cell-toxic effect.

BEURTEILUNG

■ Probe / Sample 20.8.5.0209

Die überprüfte Maske 20.8.5.0209 entspricht den kompletten Vorgaben der EN 14683 für Masken des Typs I und II.

Die Prüfung zur Biokompatibilität zeigt, dass aus dem Prüfgegenstand keine zelltoxischen Substanzen freigesetzt werden.

ASSESSMENT

The tested mask 20.8.5.0209 does fulfil the complete requirements of EN 14683 for type I and II masks.

The test for biocompatibility shows that no cytotoxic substances are released.

Schloss Hohenstein, 28. April 2020

Deputy Director
Life Science & Care



Dr. Anja Gerhardt



Product Manager
Medical Applications
Life Science & Care



M.Sc. Christin Hammer

Das Ergebnis bezieht sich nur auf die eingereichten Gegenstände. 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) – im Bericht mit ^A gekennzeichnet.

The results relate only to the samples submitted. 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) – marked ^A in the report.