

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



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

20/04/2006

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

RAPPORT D'ESSAI

N° d'échantillon : SN 5337 IV

Date de livraison : 08/03/2006

Produit : Mousse PU EUCATHERM C[®]

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.

SN 5337 IV Page 1 de 3

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

Description de la méthode d'essai

Conditions d'extraction : 3 cm² d' EUCATHERM C[®] dans 15 ml de MEM + 9 % de sérum + 1 % de solution antibiotique à 37 °C pendant 24 h = milieu d'extraction

Méthode	<p>Culture cellulaire</p> <p>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.</p> <p>Pour le test, on ensemence des plaques de microtitrage à 96 puits (Biochrom) avec des cellules dans une concentration de 1-2 x 10⁶ cellules/ml et on les laisse incuber de 20 à 24 h à 37 °C et sous 5 % de CO₂ dans l'incubateur.</p> <p>Le milieu de culture est composé de MEM (Minimum Essential Medium) à 9 % de SVF (sérum de veau foetal), de glutamine, de pénicilline, de streptomycine et de néomycine.</p>
Exposition	<p>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).</p> <p>On procède ensuite à une incubation de 24 heures dans l'incubateur.</p>
Principe de mesure	<p>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.</p>
Mesure	<p>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.</p>
Contrôles	<p>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.</p>
Évaluation	<p>Le nombre de cellules de 12 préparations parallèles a été déterminé puis évalué de façon statistique.</p>

Illustration 1 : Boxplot de l'activité cellulaire

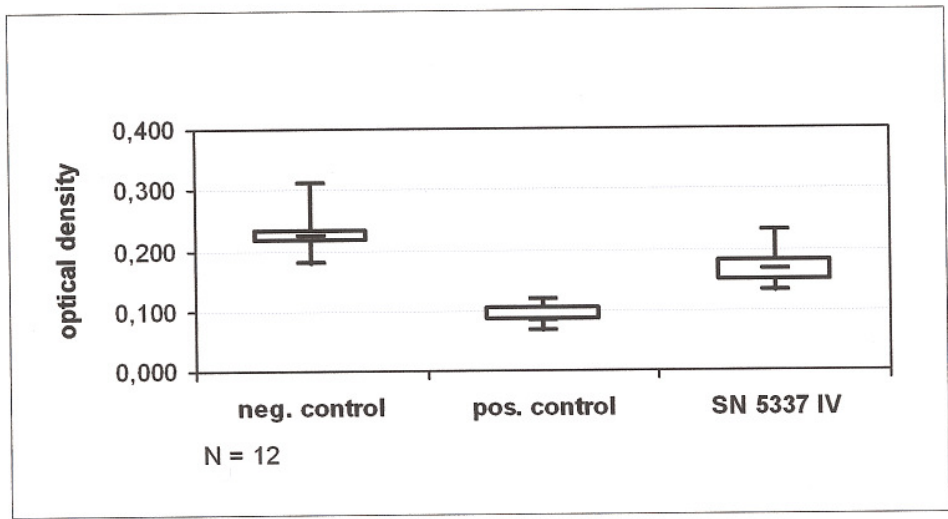


Tableau n° 1 : statistiques descriptives (vitalité cellulaire)

	N	Mean	cell vitality (%)	minimum	maximum	Std. Deviation	p*
Negative controle	9	0,233	100,00	0,178	0,310	0,040	-
Positive controle	9	0,091	39,06	0,067	0,119	0,018	-
SN 5337 IV	12	0,172	73,54	0,131	0,231	0,032	0,8872

*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

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

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

c/o HygGen 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@hyggen.de

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

20.04.2006

Mousse PU EUCATHERM C[®]

ÉVALUATION

Après avoir testé la cytotoxicité de la mousse PU EUCATHERM C[®] selon la norme DIN EN ISO 10993-5, 1999-11 – rapport d'essai SN 5337 IV 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

Page 1 de 2

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

pour les animaux d'expérimentation. Conformément à EN ISO 10993-1:2003, 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 73,54 % 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