

Allergo Natur Deutschland GmbH
Herr Daniel Schönfelder
Parkstraße 1
19273 Melkof

Schloss Hohenstein
74357 Bönnigheim · Germany

William-Küster-Institut
für Hygiene, Umwelt & Medizin
for Hygiene, Environment & Medicine
Telefon / Phone +49 7143 271 444
Fax +49 7143 271 94421
bioservice@hohenstein.de

Zuständig für Rückfragen / *Contact person*
Anne te Boekhorst

Unser Zeichen / *Our ref.*
prof. dh-hec

Datum / *Date*
15. Juli 2016

Prüfbericht Nr. / *Test report no.* **16.8.5.0238/Rev1**

Dieser Prüfbericht ersetzt den Original-Prüfbericht Nr. 16.8.5.0238 vom 31.05.2016

This test report replaces the original test report no. 16.8.5.0238 dated on 31.05.2016

Auftraggeber: <i>Client:</i>	siehe Anschrift <i>see address</i>
Prüfgegenstand: <i>Test sample:</i>	siehe Seite 2 <i>see page 2</i>
Auftragsdatum: <i>Date of order:</i>	04.07.2016
Eingang Prüfgegenstand: <i>Receipt of test samples:</i>	04.07.2016
Prüfzeitraum: <i>Period of testing:</i>	13.07.2016 bis / to 15.07.2016
Probenahme: <i>Sampling:</i>	Der Prüfgegenstand wurde uns vom Auftraggeber übersandt <i>The test sample has been delivered to us by the client</i>

Der Prüfbericht umfasst 5 Seiten. / *The test report comprises 5 pages.*

Die Akkreditierung gilt für die in der Urkunde aufgeführten Prüfverfahren – im Bericht mit [^] gekennzeichnet.

The accreditation applies for the test methods listed in the certificate – marked [^] in the report.



Gründungsmitglied der Internationalen Prüfungsgemeinschaft für angewandten UV-Schutz (UV Standard 801)

Founding member of the International Test Association for Applied UV Protection (UV Standard 801)

Es gelten unsere Allgemeinen Geschäftsbedingungen:
www.hohenstein.de/pdf/agb.pdf
Our terms of business shall apply:
www.hohenstein.de/pdf/agb_e.pdf

Telefon / *Phone*
+49 7143 271 0
Fax +49 7143 271 51
info@hohenstein.de
www.hohenstein.de

USt-IdNr. /
VAT Reg No.
DE815128169

Hohenstein Laboratories GmbH & Co. KG · Registergericht Amtsgericht Stuttgart HRA 724658
Persönlich haftender Gesellschafter: Hohenstein Verwaltungs GmbH HRB 752904
Geschäftsführer: Dr. Stefan Droste, Florian Girmond, Prof. Dr. Dirk Höfer, Dr. Andreas Schmidt
Sitz der Gesellschaft ist Bönnigheim

*Hohenstein Laboratories GmbH & Co. KG · Court of Registration: County Stuttgart HRA 724658
Personally liable associate: Hohenstein Verwaltungs GmbH HRB 752904
CEOs: Dr. Stefan Droste, Florian Girmond, Prof. Dr. Dirk Höfer, Dr. Andreas Schmidt
Company Headquarter is Bönnigheim*

UNTERSUCHUNGSZIEL / AIM OF TEST

Bewertung der Dichtigkeit des Prüfgegenstands gegenüber dem Kot der Hausstaubmilbe *Dermatophagoides pteronyssinus* anhand des Milbenkot-Allergens (Der p 1).

*Evaluation of the barrier effect of the test sample *Dermatophagoides pteronyssinus* on the basis of the dust mite allergen (Der p 1).*

PRÜFGEGENSTAND / TEST SAMPLES

Probennr. / Sample n°	Prüfgegenstand / Test sample
16.8.5.0238	Allergo Natur; Allergo Encasing Schutzklasse 1

Die Prüfgegenstände wurden vor der Prüfung in Hohenstein 1x bei 90 °C gewaschen.

The test samples were washed in Hohenstein before testing 1x at 90 °C.

METHODE / METHODS

PRÜFGRUNDLAGE

AW-QM-11.08.03.062 Rev 1^A
Prüfung auf Milbenallergen-Dichtigkeit

Die Dichtigkeit von Encasings gegenüber Milbenkot-Allergenen wird im Versuchsansatz mit realem Milbenkot ermittelt.

Es werden sowohl die textile Fläche, die Naht als auch der Reißverschluss des Encasings, jeweils im Dreifachansatz, getestet. Pro Prüfling wird eine Fläche von 95 cm², d.h. pro Prüfgegenstand eine Gesamtfläche von 855 cm² untersucht. Auf die Prüflinge wird eine definierte Menge Milbenkotkultur einer mehrere Wochen gewachsenen Milbenpopulation gegeben. Der Allergehalt dieser Standardkotkultur wird im Vorfeld ermittelt.

Die verwendete Milbenkotkultur der Hausstaubmilbe *Dermatophagoides pteronyssinus* wird durch Anzucht auf einer Substratmischung aus Nährstoffen, Vitaminen und Mineralien (Partikelgröße < 1 mm) hergestellt. Die Zuchttemperatur beträgt 23 °C ± 2 °C und die relative Feuchtigkeit wird bei 75 % ± 1 % gehalten.

Die textilen Prüflinge samt Milbenkotkultur werden acht Stunden einer Belastung von 20,6 Pa inklusive einer Dauerbewegung ausgesetzt. Anschließend wird der durch einen Prüfling gelangte Milbenkot in 3 ml PBS-Tween aufgenommen und über einen immunologischen Nachweis des Milbenkot-Allergens (Der p 1 ELISA) analysiert.

Eine laboreigene Negativkontrolle wird mitgeführt, um die Validität des Testsystems zu bestätigen. Der Versuchsaufbau ist bei Testmaterial und Kontrolle identisch.

TEST SPECIFICATION

AW-QM-11.08.03.062 Rev 1^A
Evaluation of the barrier effect towards house dust mite allergen

The barrier effect of encasings against dust mite allergen in the experiment was determined with real mite droppings.

The textiles surface, the seam and the zipper of the encasing are tested in triplicates. Per test specimen, an area of 95 cm², which means a total area of 855 cm² per sample, is tested. A defined amount of mite dropping culture from a mite population grown for several weeks was placed on the top of the test specimen. The allergen amount of this standard mite dropping culture was examined in advance.

*The mite dropping culture used in this test derives from house dust mites *Dermatophagoides pteronyssinus* that are cultivated on a substrate mixture of nutrient, vitamins and minerals (particle size < 1 mm) in our Laboratory. They are kept at a temperature of 23 °C ± 2 °C and a relative humidity of 75 % ± 1 % in the dark.*

The textile test specimens with mite dropping culture are incubated for 8 hours under a pressure of 20.6 Pa with continuous movement. Afterwards, the mite droppings pressed through the specimen are eluted in 3 ml PBS-Tween and analysed by an immunologic detection for mite allergens (Der p 1 ELISA).

To confirm the validity of the test system, an in-house negative control is included in the test. The experimental design is identical for sample material and control.

KONTROLLEN

Negativkontrolle

Laborinternes Referenzgewebe: 100 % PA 6.6, 15 µm Maschenweite, 10 % offene Fläche

CONTROLS

Negative control:

In-house reference fabric: 100 % PA 6.6, 15 µm mesh opening, 10 % open area

BERECHNUNGSGRUNDLAGE

CALCULATION

Standardgerade:

$Y_{\text{Standard-Wert}} [OD_{405 \text{ nm}}]$	=	Steigung x X-Wert [Der p 1 in ng/ml]
--	---	--------------------------------------

Standard curve:

$Y_{\text{standard-value}} [OD_{405 \text{ nm}}]$	=	Gradient x X- value [Der p 1 in ng/ml]
---	---	--

Berechnung des Der p 1 Gehalts der Probe und Kontrollen

Calculation of the Der p 1 amount of the sample and controls

Optische Dichte der Probe und Kontrolle [OD _{405 nm}]	- Leerwert	=	$Y_{[OD - \text{Leerwert}]}$ der Probe und Kontrolle
<i>optical density of the samples and control [OD_{405 nm}]</i>	- blank	=	$Y_{[OD - \text{blank}]}$ of the sample and control

X-Wert [Der p1 in ng/ml]	=	$\frac{Y_{[OD - \text{Leerwert}] \text{ der Probe und Kontrolle}}}{\text{Steigung der Standardgerade}}$
<i>X-value [Der p1 in ng/ml]</i>	=	$\frac{Y_{[OD - \text{blank}] \text{ of the sample and control}}}{\text{Gradient of the standard curve}}$

X-Wert [Der p1 in ng/ml] x Verdünnung x 3 ml	=	Der p 1 Gehalt der Probe und Kontrolle [ng/Prüfling]
<i>X-value [Der p1 in ng/ml] x dilution x 3 ml</i>	=	<i>Der p 1 amount of the sample and control [ng/specimen]</i>

Der Mittelwert aus 3 Prüflingen ergibt den Wert des Prüfmusters (Einzelwerte für Fläche, Naht und Reißverschluss).

The average of 3 test specimens gives the value of the test sample (individual values for surface, seam and zipper).

$\frac{\text{Der p 1 Gehalt der Probe [ng/Prüfmuster]}}{\text{Der p 1 Gehalt der Negativkontrolle [ng/Muster]}}$	x	100 % = Allergengehalt [%]
$\frac{\text{Der p 1 amount of the sample [ng/test sample]}}{\text{Der p 1 amount of negative control [ng/sample]}}$	x	100 % = allergen amount [%]

Reduktion des Allergengehalts im Vergleich zur Negativkontrolle	=	100 % - Allergengehalt [%]
<i>reduction of allergen amount compared to the negative control</i>	=	<i>100 % - allergen amount [%]</i>

ERGEBNIS / RESULT

Eingesetzte Allergenmenge der Standardkotkultur je Prüfling: /

Applied allergen amount of standard mite dropping culture per test specimen: **22,9 - 26,9 µg**

Gleichung der Standardgeraden / Equation of standard curve:

$Y_{\text{Standard}} - \text{Wert [OD}_{405 \text{ nm}}] = 0,1887 \times X\text{-Wert [Der p 1 in ng/ml]}$

$Y_{\text{Standard}} - \text{Wert [OD}_{405 \text{ nm}}] = 0,1786 \times X\text{-Wert [Der p 1 in ng/ml]}$

Probe / Sample 16.8.5.0238

Probe / sample	Mittelwert der OD _{405 nm} - Leerwert / average OD _{405 nm} - blank	Standardabweichung der OD _{405 nm} - Leerwert / standard deviation of the OD _{405 nm} - blank	Verdünnungsstufe / dilution	Gehalt an Der p 1 Allergen [ng/Prüfling] / amount of Der p 1 allergen [ng/specimen]
Fläche / surface				
A	0,037	0,005	1 : 1	1
B	-0,005	0,001	1 : 1	0
C	0,316	0,003	1 : 1	5
Naht / seam				
A	0,910	0,012	1 : 1	14
B	0,956	0,041	1 : 1	15
C	0,044	0,001	1 : 1	1
Negativkontrolle 1 / negative control 1				
A	1,546	0,189	1 : 10	246
B	0,683	0,049	1 : 10	109
C	1,715	0,042	1 : 10	273

Reißverschluss / zipper				
A	0,512	0,003	1 : 1	9
B	0,002	0,003	1 : 1	0
C	0,425	0,002	1 : 10	71
Negativkontrolle 2 / negative control 2				
A	2,326	0,104	1 : 10	391
B	1,962	0,051	1 : 10	329
C	1,797	0,063	1 : 10	302

Probe	Gesamtdurchlass der Probe [ng] / total passage through test sample [ng]	Reduktion des Allergengehalts [%] / reduction of allergen amount [%]	Limit
Probe / sample 16.8.5.0238 Fläche / surface	1,8	99,1	≥ 80 %
Probe / sample 16.8.5.0238 Naht / seam	10,1	95,2	
Probe / sample 16.8.5.0238 Reißverschluss / zipper	26,7	92,2	
Negativkontrolle 1 / negative control 1	209,0	-	-
Negativkontrolle 2 / negative control 2	340,7	-	-

ZUSAMMENFASSUNG / CONCLUSION

BEURTEILUNGSKRITERIEN

Es wird das Rückhaltevermögen von Milbenkot-Allergenen eines Prüfgegenstands im Vergleich zur Negativkontrolle bestimmt.

Festgelegt von Hohenstein Laboratories:

Bei einer Reduktion des Milbenkot-Allergengehalts sowohl durch die textile Fläche, die Naht und den Reißverschluss des Encasings von $\geq 80\%$ Der p 1 im Vergleich zur Negativkontrolle kann das Produkt als „milbenkotdicht“ zertifiziert werden.

Eine zusätzliche Bewertung der Barrierewirkung gegenüber Milbenkot-Allergenen erfolgt im Schulnotensystem:

Note 1,0: 100 % - 95 % zurückgehaltenes Allergen

Note 1,5: < 95 % - 90 % zurückgehaltenes Allergen

Note 2,0: < 90 % - 80 % zurückgehaltenes Allergen

ASSESSMENT CRITERIA

The retention capacity for mite allergens of a test sample is detected in comparison to the negative control.

Defined by Hohenstein Laboratories:

If the textile surface, the seam and the zipper each reduce the mite allergen amount to $\geq 80\%$ Der p 1 in comparison to the negative control, the test sample can be certified as "impermeable to mite droppings".

An additional assessment of the barrier effect against mite dropping allergens is given in the school grade system:

Grade 1.0: 100 % - 95 % retained allergen

Grade 1.5: < 95 % - 90 % retained allergen

Grade 2.0: < 90 % - 80 % retained allergen

BEURTEILUNG

■ Probe / Sample 16.8.5.0238

Unter den angegebenen Versuchsbedingungen zeigte der gewaschene Prüfgegenstand ungedehnt und im trockenen Zustand ein **Rückhaltevermögen** gegenüber Milbenkot-Allergenen von **über 80 %** im Vergleich zur Negativkontrolle.

Der Prüfgegenstand kann daher zertifiziert werden.

Under the given test conditions the unstretched and dry test sample after washing shows a **barrier effect** against mite dropping allergens of **above 80 %** in comparison to the negative control.

Therefore the test sample can be certificated.

Schloss Hohenstein, 15. Juli 2016

Geschäftsführer
Chief Executive Officer

Prof. Dr. Dirk Höfer



Sachbearbeiterin
William-Küster-Institut
für Hygiene, Umwelt & Medizin
Technical Expert
William-Küster-Institut
for Hygiene, Environment & Medicine

Julia Seeberg

"The translation was carried out to the best of a non-native speaker's knowledge. Liability cannot be taken."

Das Ergebnis bezieht sich nur auf die eingereichten Prüfgegenstände. 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 der Hohenstein Institute zulässig. Rechtsverbindlich ist der im Original unterschriebene Bericht. Die vom Kunden übergebenen Unterlagen bzw. Materialien, insbesondere Prüfgegenstände, werden, soweit die Beschaffenheit dies zulässt, 3 Monate bei uns aufbewahrt. Für den gesetzlich geregelten Bereich der Persönlichen Schutzausrüstung gilt eine Aufbewahrungsfrist von 10 Jahren.
The results relate only to the test 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 the Hohenstein Institute. Only the signed original report is legally binding. Documents and materials delivered by the client, especially test samples, will be retained by us for 3 months, provided their condition allows it. For Personal Protective Equipment (PPE), which is regulated by law, a retention period of 10 years is applicable.