



Technische Lieferbedingungen
Zulassungsbedingungen zur Ausführung von Original Deutschen Tarn drucken der Bundeswehr

TL A-8305	
Teil 1	
Ausgabe: Issue:	1
Datum: Date:	08. Oktober 2019
Seite Page	1 bis to 18

Diese TL gelten für:

- | | |
|------------------------------|-----------------------------------|
| TL 8305-0290 | 5 Farben-Tarndruck der Bundeswehr |
| TL 8305-0297 | 3 Farben-Tarndruck der Bundeswehr |
| TL 8305-0334 | Wüstentarndruck der Bundeswehr |
| TL 8305-0344 | Schneetarndruck der Bundeswehr |
| TL 8305-0345 | Multitarndruck der Bundeswehr |

Diese TL verlieren ihre Gültigkeit Ende September 2024.
This Technical Specification (TL) will become invalid at the end of September 2024.

Aktualitätsprüfung der TL ist vor jeder Ausschreibung erforderlich.
Prior to each invitation to tender, please verify that this TL is up to date.

Änderung gegenüber der letzten Ausgabe Change with respect to the previous issue	Diese TL ist Ersatz für die Zulassungsbedingungen zur Ausführung von Tarn drucken der Bundeswehr	Frühere Ausgabe Previous issue(s)				
		Frühere Ausgabemomente Previous date(s) of issue				

NORMATIVE VERWEISUNGEN

Diese TL enthalten durch datierte und undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Dokumenten (Normen, TL usw.). Diese Dokumente sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert (Normative Verweisung). Alle in diesen TL (Zulassungsbedingungen) zitierten Dokumente sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen haben spätere Änderungen oder Überarbeitungen der zitierten Dokumente für die vorliegenden TL (Zulassungsbedingungen) erst dann Gültigkeit, wenn sie in die vorliegenden TL (Zulassungsbedingungen) eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen sowie den zitierten Richtlinien und Verordnungen der EU bzw. der EG gelten jeweils die zum Zeitpunkt des Vertragsabschlusses gültigen Ausgaben/Fassungen der zitierten Dokumente. Bei zitierten nationalen Normen werden gleichwertige europäische/internationale Normen anerkannt. Die absolute Gleichwertigkeit ist Voraussetzung für die Anerkennung.

AQAP-2105	NATO REQUIREMENTS FOR QUALITY PLANS (NATO-Anforderungen für Qualitätsmanagementpläne)
AQAP-2110	NATO QUALITY ASSURANCE REQUIREMENT FOR DESIGN; DEVELOPMENT AND PRODUCTION NATO-Qualitätssicherungsanforderungen für Entwicklung, Konstruktion und Produktion; Ausgabe D
DIN EN 10204	Metallische Erzeugnisse; Arten von Prüfbescheinigungen
DIN EN ISO/IEC 17025	Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien
DIN ISO 10005	Qualitätsmanagementsysteme - Leitfaden für Qualitätsmanagementpläne
EGV 1907/2006	Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), zur Schaffung einer Europäischen Agentur für chemische Stoffe, zur Änderung der Richtlinie 1999/45/EG und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 793/93 des Rates, der Verordnung (EG) Nr. 1488/94 der Kommission, der Richtlinie 76/769/EWG des Rates sowie der Richtlinien 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/EG und 2000/21/EG der Kommission
EGV 1272/2008	Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006
TL 8305-0011	Gewebe aus Naturfasern, Chemiefasern und deren Mischgespinnsten, sowie daraus gefertigte Bekleidungs-, Wäsche- und Ausrüstungsstücke (Allgemeine Bedingungen)
TL 8305-0020	Uniformköper
TL 8305-0043	Zwirnköper (Twill)
TL 8305-0290	5 Farben-Tarndruck der Bundeswehr
TL 8305-0297	3 Farben-Tarndruck der Bundeswehr
TL 8305-0302	Mittelfeiner Twill
TL 8305-0334	Wüstentarndruck der Bundeswehr
TL 8305-0344	Schneetarndruck der Bundeswehr
TL 8305-0345	Multitarndruck der Bundeswehr
VG 95211	Zulassung von Erzeugnissen

Bezugsquellen siehe: [TL A-0101](#)

Definitionen, Abkürzungen, Symbole

Antragsteller:	Drucker, der die Zulassung beantragt
AQAP:	Allied Quality Assurance Publications (AQAP) sind Normen für Qualitätssicherungssysteme, die von der NATO entwickelt wurden
AQAP-2105:	NATO REQUIREMENTS FOR QUALITY PLANS NATO-Anforderungen für Qualitätsmanagementpläne
AQAP-2110:	NATO QUALITY ASSURANCE REQUIREMENT FOR DESIGN; DEVELOPMENT AND PRODUCTION NATO-Qualitätssicherungsanforderungen für Entwicklung, Konstruktion und Produktion; Ausgabe D, 1. Fassung Juni 2016
Die AQAP-2110 verbindet die Anforderungen eines Qualitätsmanagementsystems nach ISO 9001 mit NATO-spezifischen Anforderungen	
BBG:	Bundesbeamtengesetz
Eigenerklärung:	Unterlagen, die als Nachweise beizubringen sind, können - soweit nicht anders ausdrücklich gefordert wird - als formlose, schriftliche Eigenerklärung vorgelegt werden
Eingeschränkte Zulassung:	Die Erteilung der Druckzulassung erfolgt nur in den beantragten Varianten
Einschlägige materialbezogene TL:	TL für das zugrunde liegende textile Flächengebilde
Leistungsbeschreibung:	Leistungsbeschreibung (LB) für das zugrundeliegende textile Flächengebilde
Spezifikation:	Spezifikation für das zugrundeliegende textile Flächengebilde
Drucker:	Fachkompetenter Druckbetrieb, der den Original-Deutschen Tarndruck auf dem textilen Flächengebilde aufbringt
Erstzulassung:	Erstmalige Zulassung / Beantragung der Zulassung eines Druckers auf einem in TL/Spezifikationen/Leistungsbeschreibungen (siehe 2.2) beschriebenen textilen Flächengebilde
Grundmaterial:	Das dem zu bedruckenden Gewebe zugrundeliegende textile Flächengebilde
Lebenslaufakte:	Die Lebenslaufakte stellt die rechtssichere Ablage aller auftragsbezogenen Daten, Informationen und Dokumente über den gesamten Fertigungszyklus des bedruckten textilen Flächengebildes dar. Sie gewährleistet eine eindeutige Rückführbarkeit Bestandteile der Lebenslaufakte sind beispielsweise: <ul style="list-style-type: none"> • Dokumente entsprechend dem QM-Plan incl. Auftragsbezogener Abnahmeprüfzeugnisse „3.1“ gemäß DIN EN 10204 (Abnahmeprüfzeugnisse der Hersteller bzw. Abnahmeprüfzeugnisse über erschöpfende Eigenschaftsprüfungen der Vorprodukte bei Eintritt in das Qualitätsmanagementsystem) über die gesamte Lieferkette von der Faserherstellung bis zum bedruckten textilen Flächengebilde • Dokumentation des Informationsflusses incl. der Weitergabe qualitätsrelevanter Daten zwischen den an der Herstellung des bedruckten Gewebes beteiligten Akteure • Dokumentation aufgrund von qualitätsrelevanten Daten getroffener Entscheidungen
Qualitätsmanagementplan:	Ein Qualitätsmanagementplan ist ein Dokument, das festlegt, welche Prozesse, Verfahren und damit zusammenhängende Ressourcen wann und von wem angewendet werden, um die Anforderungen an ein bestimmtes Produkt oder an einen bestimmten Prozess zu erfüllen
TL-konform:	Gemäß den Vorgaben der geforderten TL
Ungewaschenes Muster:	Muster im Anlieferungszustand
Ungewaschener Zustand:	Zustand des textilen Flächengebildes im Anlieferungszustand

Volle Warenbreite:	Gesamte Warenbreite, einschließlich Leisten/Kanten, die in der einschlägigen materialbezogenen TL / Spezifikation / Leistungsbeschreibung definiert sind
Vollprüfung:	Bei einer Vollprüfung werden die in 2.3 aufgeführten Punkte vollumfänglich geprüft
Vorlieferanten:	Alle beteiligten Akteure mit Ausnahme des Druckers
WIWeB:	Wehrwissenschaftliches Institut für Werk und Betriebsstoffe
Zugelassener Drucker:	Drucker, der durch das WIWeB eine Zulassungsurkunde erhalten hat
Zulassung:	Die Zulassung ist die Bestätigung der Qualität bzw. Befähigung durch Ausstellung einer Zulassungsurkunde durch das WIWeB
Zulassungsverlängerung:	Verlängerung / Beantragung der Verlängerung der Geltungsdauer einer bereits erteilten Zulassung

Im Text ohne weitere Verweisung zitierte Ziffern / Anhänge beziehen sich auf die betreffenden Textpassagen in diesen Zulassungsbedingungen

1 ALLGEMEINES

1.1 Anwendungsbereich

- 1.1.1 Diese Zulassungsbedingungen enthalten die Forderungen an die Zulassung von Unternehmen zum Druck des Original-Deutschen Tarndruckes auf textile Flächengebilde.
- 1.1.2 Die Ausführung des Tarndruckes hat auf einem der Originalgewebe nach TL 8305-0020, TL 8305-0043 oder TL 8305-0302 im 5 Farben-Tarndruck zu erfolgen; die Ausführung in einem anderen Bundeswehr-Tarndruck ist mit dem WIWeB abzustimmen.
- 1.1.3 Wird die Zulassung auf einem anderen Gewebetyp/Material/Substrat bzw. nur einzelnen Druckausführungen beantragt, erhält der Antragsteller nur eine Zulassung für diese Variante.

1.2 Mitgeltende gesetzliche Regelungen

Es gelten die Forderungen der VG 95211/Fall I. Die dort aufgeführten Zuständigkeiten des Bundesamtes für Ausrüstung, Informationstechnik und Nutzung der Bundeswehr (BAAINBw) nimmt das Wehrwissenschaftliche Institut für Werk- und Betriebsstoffe (WIWeB) in Erding wahr.

2 Zulassungsverfahren

Die Ausführung des Tarndruckes auf textilen Flächengebilden in den entsprechenden Tarndruck-Ausführungen und die Lieferung entsprechender textiler Flächengebilde an die Bundeswehr ist an zugelassene Drucker gebunden. Die Zulassung wird grundsätzlich und ausschließlich nur fachkompetenten Druckbetrieben erteilt, die das Zulassungsverfahren erfolgreich durchlaufen haben und ist ausschließlich auf diese begrenzt. An Agenturen, Vorlieferanten, Konfektionäre, Unterauftragnehmer etc. wird keine Zulassung erteilt.

2.1 Ausführung

- 2.1.1 Über die Erteilung der Druckzulassung entscheidet das WIWeB.

Voraussetzung für die Erteilung der Zulassung ist, dass alle Zulassungsbedingungen erfüllt sind.

Das WIWeB führt das Zulassungsverfahren für die Ausführung des Deutschen Tarndruckes in eigener Zuständigkeit durch.

2.1.2 Alle dem WIWeB im Zusammenhang mit dem Zulassungsverfahren vorgelegten Informationen werden auch nach Abschluss des Zulassungsverfahrens vertraulich behandelt (Verschwiegenheitspflicht gemäß §67 BBG sowie DIN EN ISO/IEC 17025-4.1.5).

2.1.3 Die Korrespondenz zwischen WIWeB und Antragsteller während eines laufenden Zulassungsverfahrens bedarf der Text- oder Schriftform.

Die Verfahrenssprache ist Deutsch.

2.1.4 Im Fall der Erstzulassung und Erneuerung der Zulassung (siehe 2.2), erhält der Antragsteller vor der Durchführung des Audits eine schriftliche Ergebnismitteilung (Textform) durch das WIWeB. In dieser Mitteilung wird eine Aussage zur Konformität der eingereichten Unterlagen sowie des eingereichten Zulassungsmusters mit den Anforderungen dieser Zulassungsbedingungen getroffen.

Im Fall der Zulassungsverlängerung erhält der Antragsteller ebenfalls eine schriftliche Ergebnismitteilung des WIWeB über das eingereichte Zulassungsmuster sowie die vorgelegten Unterlagen.

2.1.5 Vor Antragstellung bietet das WIWeB an, mit dem Antragsteller ein Vorgespräch im WIWeB zu führen. Im Rahmen des Gesprächs werden lediglich die Anforderungen der Zulassungsbedingungen erklärt, die Forderungen der Zulassungsbedingungen sind nicht verhandelbar.

2.1.6 Das gesamte Zulassungsverfahren kann bis zu 6 Monate, gerechnet ab Eingang der vollständigen Unterlagen, in Anspruch nehmen.

2.1.7 Die jeweils aktuelle Liste der zugelassenen Drucker zu den TL 8305-0290; TL 8305-0297, TL 8305-0334, TL 8305-0344 und TL 8305-0345 ist auf der Internetseite des BAANBw unter der Rubrik Vergabe/Zulassungsbedingungen Textilien veröffentlicht.

2.2 Zulassungsantrag

2.2.1 Antragsteller kann jeder fachkompetente Drucker sein, der die in diesen Zulassungsbedingungen benannten Zulassungsvoraussetzungen erbringt. Der Antragsteller trägt die Gesamtverantwortung für die Konformität des mit dem Original-Deutschen Tarndruck versehenen textilen Flächengebildes mit den Vorgaben in diesen Zulassungsbedingungen, einschließlich der Einhaltung der Forderungen in den materialbezogenen TL /Spezifikationen / Leistungsbeschreibungen.

2.2.2 Der Antrag auf Zulassung ist schriftlich und formlos beim

Wehrwissenschaftliches Institut für Werk- und Betriebsstoffe (WIWeB) GF 330

Institutsweg 1

85435 Erding

zu stellen.

2.2.3 Der Zulassungsantrag muss folgende Angaben enthalten:

- die eindeutige Bezeichnung des textilen Flächengebildes, auf dem die Druckzulassung beantragt wird, einschließlich der Druckausführung und Angabe der einschlägigen materialbezogenen TL. In Absprache mit dem WIWeB können anstelle von materialbezogenen TL auch detaillierte, eindeutig bezeichnete, materialbezogene Spezifikationen/Leistungsbeschreibungen Basis für den Zulassungsantrag sein.
- Bei Einsatz einer PES-Faser ist mittels technischen Datenblattes ein Nachweis über die eingesetzte PES-Faser einschließlich einer Herstellerbestätigung bzgl. der Spindüsenfärbung zu erbringen.
- die Bezeichnung des Antragstellers mit vollständiger Postadresse.
- die Benennung eines Ansprechpartners beim Drucker für das gesamte Zulassungsverfahren mit Angabe einer Post- und E-Mailadresse sowie der Telefonnummer, unter der dieser Ansprechpartner zu den üblichen Geschäftszeiten erreichbar ist.
- die Erklärung des Antragstellers, dass das betreffende Unternehmen ein Qualitätssicherungssystem nach AQAP-2110 unterhält.
- Identifizierungsdaten zum eingereichten Zulassungsmuster, mindestens die Stücknummer, die Partienummer, die Chargennummer und den Druckzeitraum.

- Enthalten die eingesetzten Ausrüstungsmitteln Komponenten, die gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 als „Sensibilisierung der Haut, Kategorie 1 / 1A / 1B; H317: Kann allergische Hautreaktionen“ oder als „Ätzwirkung auf die Haut/Hautreizung, Kategorie 1 / 1A / 1B / 1C / 2; H315: Verursacht schwere Verätzungen der Haut / Verursacht Hautreizungen“ eingestuft sind, das für den Test auf das hautreizende und/oder sensibilisierende Potenzial ausgewählte Prüfinstitut mit Ansprechpartner und Kontaktdaten (Angabe einer Post- und E-Mailadresse sowie der Telefonnummer, unter der dieser Ansprechpartner zu den üblichen Geschäftszeiten erreichbar ist) sowie die betreffende Auftragsnummer.

2.2.4 Mit dem Antrag auf Erst- und Neuzulassung sind dem WIWeB 6 Laufmeter eines Musters mit forderungsgerecht über die gesamte Warenbreite ausgeführtem Tarndruck vorzulegen. Mit Antrag auf Erneuerung der Zulassung muss ein aktuelles Muster (Muster aus der jüngsten Fertigung, die maximal 6 Monate zurückliegt) mit forderungsgerecht über die gesamte Warenbreite ausgeführtem Tarndruck vorgelegt werden.

2.2.5 Für den Druck sind ausschließlich Echtfarbstoffe, z.B. Küpenfarbstoffe zu verwenden, mit denen die geforderten Farbechtheiten und VIS/NIR Remissionen erreicht werden. Ein reiner Pigmentdruck ist nicht zulässig. Über Ausnahmen von dieser Regelung wird ausschließlich auf schriftlichen Antrag entschieden.

Das Zulassungsmuster ist so zu kennzeichnen, dass die Fertigung eindeutig rückverfolgbar ist. Hierzu sind mindestens folgende Angaben erforderlich:

- der Name bzw. die Firma des Antragstellers
- das Datum des Zulassungsantrages
- die Bezeichnung des textilen Flächengebildes mit Angabe der einschlägigen materialbezogenen TL/ Spezifikation / Leistungsbeschreibung
- die Druckausführung
- die Stücknummer
- die Partienummer
- die Chargennummer
- der Druckzeitraum

In Anhang A ist ein Beispiel für ein geeignetes Etikett zum Zulassungsmuster aufgeführt.

2.2.6 Mit dem Antrag auf Druckzulassung sind zudem die kompletten nach diesen Zulassungsbedingungen und in Anhang 2 dieser Zulassungsbedingungen nochmals zusammengefassten erforderlichen Nachweise / Unterlagen im Original oder in Kopie einzureichen.

In den vorgelegten Prüfberichten muss das untersuchte textile Flächengebilde anhand der Probenbezeichnung eindeutig rückverfolgbar sein.

Die Antragsunterlagen sind logisch nachvollziehbar zu heften.

2.2.7 Mit der Prüfung der Nachweise / Unterlagen hinsichtlich der Erfüllung der Zulassungsvoraussetzungen wird im WIWeB erst begonnen, wenn der Zulassungsantrag in vollständiger Form incl. aller geforderter Unterlagen (s. Anhang 2) vorliegt.

2.3 Prüfumfang

- Bei einer Erstzulassung und einer Erneuerung der Zulassung wird grundsätzlich eine Vollprüfung gem. der einschlägigen materialbezogenen TL/Spezifikation / Leistungsbeschreibung durchgeführt.

- Zulassungsverlängerung

Bei einer Zulassungsverlängerung erfolgt eine Prüfung mit verringertem Prüfumfang:

- Visuelle Bewertung der Druckausführung/Druckausfall/Rapportkontrolle
- Bestimmung der Farbechtheiten
- Bestimmung der Farb- und Remissionswerte
- Überprüfung der eingereichten Zertifikate und Unterlagen
- Bericht/Auftragsabwicklung

Zeigt sich während der Prüfung, dass die spezifizierten Anforderungen nicht erfüllt werden, wird der Antragsteller schriftlich informiert. Das WIWeB entscheidet jeweils eigenständig, ob die Prüfung abgebrochen wird.

2.3.1 Technische Forderungen

Im Rahmen des Zulassungsverfahrens werden folgende technische Forderungen überprüft:

- TL-gerechte Ausführung des Tarndruckes
- Einhaltung der in der einschlägigen materialbezogenen TL / Spezifikation / Leistungsbeschreibung festgelegten Forderungen anhand der vorgelegten Nachweise / Unterlagen sowie durch einschlägige Untersuchungen/Prüfungen.

2.3.2 Qualitätsmanagementsystem

Durch das vorhandene Qualitätsmanagementsystem muss gewährleistet sein, dass die Druckausführung in der Fertigung reproduzierbar analog dem Zulassungsmuster, das als geeignet im Sinne dieser Zulassungsbedingungen beurteilt wurde, ausfällt.

- Der Antragsteller verpflichtet sich, Maßnahmen entsprechend den Bestimmungen der AQAP-2110 zur Sicherstellung der Konformität der ausgerüsteten textilen Flächengebilde mit den Vorgaben dieser Zulassungsbedingungen sowie den entsprechenden Tarndruck-TL und der einschlägigen materialbezogenen TL/Spezifikation/Leistungsbeschreibung (s.2.4.3) durchzuführen.

Diese Qualitätssicherungsmaßnahmen sind in einem Qualitätsmanagementplan nach DIN ISO 10005 produktbezogen darzulegen. Der Umfang dieser Maßnahmen hat sich an den mit dem Druckprozess verbundenen Risiken zu orientieren.

Der Qualitätsmanagementplan nach AQAP-2105 in Verbindung mit DIN ISO 10005 ist dem Zulassungsantrag beizulegen.

Es ist sicherzustellen, dass ausschließlich Personal mit für die jeweilige Tätigkeit geeigneter fachlicher Qualifikation eingesetzt wird. Dies ist vom Antragsteller durch Vorlage der anonymisierten Personalliste mit Angabe der jeweiligen Tätigkeit und Qualifikation nachzuweisen. Die Personalliste ist dem Zulassungsantrag beizulegen.

Entspricht das vorgelegte Zulassungsmuster den Anforderungen dieser Zulassungsbedingungen, erfolgt abschließend eine Überprüfung des beim Antragsteller vorhandenen Qualitätsmanagementsystems durch das WIWeB.

Geprüft werden das geforderte Qualitätsmanagement nach AQAP-2110, die Eignung der maschinellen Ausstattung sowie die Qualifikation des Personals des Antragstellers. Die Überprüfung erfolgt anhand vom Antragsteller/Drucker vorzulegender Nachweise (Qualitätsmanagementplan nach DIN ISO 10005, Personalliste) und im Rahmen eines Audits.

Das Audit erfolgt für den Drucker in der Regel einmalig im Rahmen der Erstzulassung auf einem definierten textilen Flächengebilde in einer definierten Tarndruckausführung. Beantragt der für ein definiertes textiles Flächengebilde in einer definierten Tarndruckausführung zugelassene Drucker die Zulassung für weitere textile Flächengebilde sowie weitere Tarndruckausführungen, erfolgt in der Regel kein Audit mehr.

Treten Abweichungen nach 2.3 auf, entscheidet das WIWeB über die Notwendigkeit der Durchführung eines weiteren Audits.

Neben der Umsetzung von Umwelt- und Arbeitsschutzvorgaben werden in Hinblick auf das mit Tarndruck versehene, endausgerüstete textile Flächengebilde beim Audit vorrangig folgende Punkte überprüft (s. AQAP-2105 in Verbindung mit DIN ISO 10005):

- Reproduzierbarkeit Verfahrensablauf:
Lückenlose Nachweisführung.
- Maschinelle Ausstattung:
Eignung für den Ausrüstungsprozess und Nachweise der Kontrolle der Funktionsfähigkeit.
- Messmittel:
Nachweise der Überprüfung.
- Lebenslaufakte:
Rechtssichere Ablage aller auftragsbezogenen Daten, Informationen und Dokumente über den gesamten Fertigungszyklus für eine eindeutige Rückverfolgbarkeit.

Das Audit wird in jedem Fall beim Antragsteller vor Ort durchgeführt. Alle o.g. Dokumente müssen zum Zeitpunkt der Auditierung beim Antragsteller vorliegen und für die Auditoren einsehbar sein. Ist dies nicht der Fall, wird das Audit abgebrochen.

2.3.3 Forderungen zu den Gefahrstoffen (Gesundheits-, Betriebs- und Umweltschutz)

Die mit dem Tarndruck versehenen textilen Flächengebilde müssen die in den TL 8305-0011 festgelegten Forderungen zu den Gefahrstoffen einhalten.

Die Einhaltung der Forderungen zu Gefahrstoffen ist durch Vorlage nachfolgend aufgeführten Unterlagen nachzuweisen; die betreffenden Unterlagen sind dem Zulassungsantrag beizulegen (siehe Anhang B).

Da die Forderungen der Bundeswehr über diejenigen der unter 2.3.3.1 zitierten Zertifizierungssysteme hinausgehen, sind die unter 2.3.3.2 bis 2.3.3.6 aufgeführten Nachweise/Unterlagen zusätzlich zu den unter 2.3.3.1 genannten Prüfberichten vorzulegen.

2.3.3.1 Prüfbericht/Zertifikat zur Humanökologie

Zum Nachweis der gesundheitlichen Unbedenklichkeit ist für das bedruckte Zulassungsmuster einer der nachfolgend aufgeführten Prüfberichte vorzulegen:

- Prüfbericht über eine Komplettuntersuchung nach dem Zertifizierungssystem Oeko-Tex® Standard 100.
- Prüfbericht über eine Komplettuntersuchung gemäß dem Zertifizierungssystem Toxproof des TÜV-Rheinland.
- Prüfbericht über eine bzgl. der textilspezifischen Anforderungen durchgeführte Komplettuntersuchung gemäß dem Beschluss der Europäischen Kommission zur Festlegung der Umweltkriterien für die Vergabe eines EU-Umweltzeichens für Textilerzeugnisse.
- Prüfbericht über eine Komplettuntersuchung auf gesundheitliche Unbedenklichkeit nach einem Zertifizierungssystem, das mit den o.g. hinsichtlich der geprüften Parameter, der angewendeten Analysenverfahren sowie der zur Beurteilung herangezogenen Richtwerte gleichwertig ist. In diesem Fall sind die angewendeten Prüfverfahren offen zu legen. Die Gleichwertigkeit ist von Seiten des Auftragnehmers nachzuweisen.

Der vorgelegte Prüfbericht muss eine Bewertung der zu den jeweiligen Parametern erhaltenen Ergebnisse auf Basis der im jeweiligen Zertifizierungssystem gültigen Richtwerte beinhalten. Für die Bewertung ausschlaggebend sind letztlich die zum Zeitpunkt der Prüfberichtserstellung aktuellen Richtwerte.

Der entsprechende Prüfbericht darf zum Zeitpunkt der Vorlage nicht älter als 1 Jahr sein.

Anerkannt werden auch gültige Zertifikate der o.g. Zertifizierungssysteme, wenn sie zusammen mit den zugehörigen Prüfberichten vorgelegt werden und zum Zeitpunkt der Vorlage nicht älter als 1 Jahr sind.

Die Prüfungen müssen von einem Prüfinstitut durchgeführt sein, das für die Untersuchungen des jeweiligen Zertifizierungssystems autorisiert sowie nach DIN EN ISO/IEC 17025 akkreditiert ist.

Die vorgelegten Prüfberichte/Zertifikate müssen eindeutig dem Zulassungsmuster zuordenbar sein.

2.3.3.2 Unterlagen eingesetzte Produkte

Für alle zum Druck des Zulassungsmusters eingesetzten Farbstoffgemische und textilen Hilfsmittel sind aktuelle Sicherheitsdatenblätter in deutscher Sprache gemäß Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 vorzulegen.

Zudem sind alle in den jeweiligen Farbstoffzubereitungen enthaltenen Farbstoffe mit dem C.I. Generic Namen (C.I., Klassenbezeichnung, Farbbezeichnung, fortlaufende Nummer, ggf. Modifikation) mitzuteilen.

2.3.3.3 Unterlagen Konservierungsstoffe / Biozide

Werden beim Druck des textilen Flächengebildes konservierte Produkte eingesetzt, müssen alle in den jeweiligen Produkten enthaltenen Konservierungsstoffe/ Biozide mit CAS-Nr., Hersteller und Handelsnamen mitgeteilt werden. Zudem sind für die betreffenden Konservierungsstoffe / Biozide ebenfalls aktuelle Sicherheitsdatenblätter in deutscher Sprache gemäß Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 vorzulegen.

Auf Anforderung ist zudem die Konzentration des Wirkstoffes im Gemisch sowie auf dem Versorgungsartikel anzugeben.

2.3.3.4 Prüfbericht zur hautreizenden Wirkung

Werden beim Druck des textilen Flächengebildes Farbstoffgemische oder textile Hilfsmittel eingesetzt, die gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 als „Ätzwirkung auf die Haut/Hautreizung, Kategorie 1 / 1A / 1B / 1C / 2; H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut / H315: Verursacht Hautreizungen“ eingestufte Stoffe enthalten, muss nachgewiesen werden, dass von dem bedruckten textilen Flächengebilde keine hautreizende Wirkung ausgeht. Zum Nachweis, dass von dem bedruckten textilen Flächengebilde keine hautreizende Wirkung ausgeht, ist ein Prüfbericht über das Ergebnis eines Zytotoxizitätstests, der nach dem in Anhang C beschriebenen Verfahren ohne Abweichung durchgeführt wurde, vorzulegen. Das beauftragte Prüfinstitut muss für das betreffende Untersuchungsverfahren nach DIN EN ISO/IEC 17025 akkreditiert sein.

Untersucht wird das bedruckte Zulassungsmuster in ungewaschenem Zustand.

2.3.3.5 Prüfbericht zur hautsensibilisierenden Wirkung

Werden beim Druck des textilen Flächengebildes Farbstoffgemische oder textile Hilfsmittel eingesetzt, die gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 als „Sensibilisierung der Haut (Sens. Haut, Skin Sens.), Kategorie 1 / 1A / 1B“ eingestufte Stoffe enthalten, muss nachgewiesen werden, dass von dem bedruckten textilen Flächengebilde keine hautsensibilisierende Wirkung ausgeht. Diesbezüglich ist ein Prüfbericht über das Ergebnis eines Tests auf das sensibilisierende Potenzial, der nach dem in Anhang D beschriebenen Verfahren ohne Abweichung durchgeführt wurde, vorzulegen.

Untersucht wird das bedruckte Zulassungsmuster in ungewaschenem Zustand.

2.3.3.6 Gesamtübersicht eingesetzte Produkte

Dem Zulassungsantrag ist eine Gesamtübersicht über alle zum Druck der entsprechenden Druckausführung und der Substrate verwendeten Farbstoffgemische und textilen Hilfsmittel mit Angabe aller in den jeweiligen Farbstoffgemischen enthaltenen Farbstoffe (siehe 2.3.3.2) sowie ggf. aller in den Produkten enthaltenen Konservierungsstoffe (siehe 2.3.3.3) beizulegen. Dabei ist eine eindeutige Zuordnung der Farbstoffgemische zur Druckausführung und Substrat zu treffen.

2.4. Zulassung

2.4.1 Zulassungsurkunde

Sind alle Forderungen in diesen TL erfüllt, wird die Zulassung durch das WIWeB erteilt. Das WIWeB bestätigt dem Antragsteller die Zulassung durch das Ausstellen einer Zulassungsurkunde.

Dabei werden die entsprechenden Druckausführungen und Substrate, für die Zulassung gültig ist, sowie die Geltungsdauer der Zulassung (siehe 2.4.2) benannt.

2.4.2 Geltungsdauer und Aufrechterhaltung

Die Rechte und Pflichten, die sich aus der Zulassung ergeben, treten mit dem Datum der Ausfertigung der Zulassungsurkunde in Kraft.

Die Zulassung ist jeweils auf 3 Jahre befristet.

Wird eine Verlängerung der Zulassung gewünscht, ist diese mindestens 6 Monate vor Ablauf dieser Frist vom ursprünglichen Antragsteller unaufgefordert und mit Vorlage eines aktuellen Musters (Muster aus der jüngsten Fertigung, die maximal 6 Monate zurückliegt) sowie Unterlagen gemäß Anhang B zu beantragen.

Über die Verlängerung der Zulassung entscheidet das WIWeB.

Das WIWeB kann auf Basis einer fachtechnischen Bewertung eine zeitlich befristete Zulassung erteilen, wenn die Voraussetzungen in einzelnen Punkten noch nicht in vollem Umfang erfüllt sind, jedoch zu erwarten ist, dass sie in absehbarer Zeit erfüllt werden. Die zeitlich befristete Zulassung gilt im Regelfall höchstens ein Jahr.

2.4.3 Verpflichtung

- Der Drucker ist verpflichtet, über die gesamte Dauer der Zulassung den Druckprozess, der für das Zulassungsmuster durchgeführt wurde, unverändert beizubehalten.
- Hinsichtlich geplanter Änderungen gegenüber dem für die Zulassung vorgelegten Fertigungsmuster wird auf die Bestimmungen der VG 95211 Ziff. 6.4.2 hingewiesen.
- Konformitätserklärung:

Der Antragsteller verpflichtet sich, eine Erklärung der Vorlieferanten über die Konformität aller eingesetzten Materialien/Hilfsmittel mit den geforderten Vorgaben gemäß Technischer Lieferbedingungen vorzulegen.

2.5 Änderungen

2.5.1 Grundlagendokumente

Werden die Bezugs-TL/Spezifikation/Leistungsbeschreibung und/oder diese Zulassungsbedingungen geändert, gelten erteilte Zulassungen für deren Dauer unvermindert weiter.

2.5.2 Druckprozess/Grundgewebe

Geplante Änderungen (auch reine Optimierungen) in einem der unter 2.4.3 genannten Punkte sind dem WIWeB unaufgefordert schriftlich mitzuteilen.

Das WIWeB entscheidet, ob

- die Änderungen unerheblich sind und ohne weitere Überprüfungen akzeptiert werden oder
- die Änderungen wesentlich sind und eine erneute Überprüfung der in diesen Zulassungsbedingungen geforderten Parameter erforderlich ist.

Geplante Änderungen bedürfen vor der Umsetzung in jedem Fall der schriftlichen Zustimmung des WIWeB. Voraussetzung für eine Zustimmung ist die vollumfängliche Einhaltung der Forderungen dieser Zulassungsbedingungen.

2.6 Erlöschen

Werden Änderungen nach 2.5 ohne Zustimmung des WIWeB umgesetzt, erlischt die erteilte Zulassung mit dem Zeitpunkt der Umsetzung.

Werden wesentliche Änderungen nach 2.5 nach erfolgter Zustimmung des WIWeB während der Geltungsdauer einer Zulassung umgesetzt, erlischt die laufende Zulassung mit dem Zeitpunkt der Umsetzung und wird übergangslos in eine neue Zulassung überführt.

Die Weitergabe der Zulassung an Vorlieferanten ist nicht zulässig und hat deren unmittelbares Erlöschen zur Folge.

Ebenso erlischt die Zulassung bei Übernahme des zugelassenen Unternehmens von anderen oder durch andere Firmen oder Verlagerung der Fertigung (siehe VG 95211 Ziff. 6.4.2).

Im Falle eines Wechsels der Rechtspersönlichkeit des Unternehmens, z.B. durch Umwandlung oder der Ausgliederung eines Unternehmensteils in eine eigenständige (Tochter-) Gesellschaft, behält die Zulassung nur dann ihre Gültigkeit, wenn das neue Unternehmen ganz oder in den für den Auftrag wesentlichen Teilen an die Stelle des ursprünglichen Auftragnehmers tritt und sofern dies keine weiteren wesentlichen Änderungen des Auftrags zur Folge hat. Beides ist dem WIWeB unverzüglich anzuzeigen.

Die Terminüberwachung in Hinblick auf die Geltungsdauer der Zulassung muss durch den zugelassenen Drucker selbst erfolgen. Liegt zu dem in 2.4.2 genannten Zeitpunkt kein Antrag auf Verlängerung vor, erlischt nach Ablauf des Dreijahreszeitraumes die Zulassung.

Wird der Antrag auf Verlängerung nicht termingerecht (s. 2.4.2), jedoch vor Ablauf der Geltungsdauer der bestehenden Zulassungsurkunde gestellt, erlischt die Zulassung nach Ablauf der Geltungsdauer ebenfalls.

Die Zulassungsprüfung kann jedoch mit dem für eine Zulassungsverlängerung anzuwendenden verringerten Prüfumfang (siehe 2.3) durchgeführt werden. Bis zur Ausstellung der Zulassungsurkunde besteht im Fall der nicht termingerechten Antragstellung (siehe 2.4.2) keine gültige Zulassung. Die Geltungsdauer der beantragten Zulassungsverlängerung beginnt im Fall der nicht termingerechten Antragstellung mit dem Ablaufdatum der vorherigen Zulassung.

Alternativ besteht für den Antragsteller die Möglichkeit die Erneuerung der Zulassung zu beantragen. Erlischt die Zulassung, ist sie zur Wiedererlangung erneut beim WIWeB zu beantragen. (Erneuerung der Zulassung)

2.7 Widerruf

Das WIWeB kann die Zulassung widerrufen, wenn das bedruckte Gewebe nicht mehr den Anforderungen der jeweiligen Druck-TL entspricht.

2.8 Gebühren

Für die Erstzulassung, die Erneuerung der Zulassung und die Zulassungsverlängerung werden vom Antragsteller keine Gebühren verlangt. Dies gilt auch für Prüfungen, die aus den unter 2.4.3 genannten Gründen erforderlich werden.

Werden die Prüfungen zur Erstzulassung durch WIWeB gemäß 2.3 abgebrochen, sind alle weiteren Zulassungsprüfungen zur Erlangung der Erstzulassung kostenpflichtig.

Den Gebühren liegen die zum jeweiligen Zeitpunkt gültigen Kostenstellensätze des WIWeB zugrunde.

2.9 Verzicht

Der Inhaber einer Zulassung ist berechtigt, jederzeit auf die Zulassung zu verzichten.

2.10 Rechte

Der Inhaber einer Zulassung darf für geschäftliche Zwecke die Zulassung bekanntgeben und Werbung mit der Zulassung betreiben.

Anhang A

Etikett für das Zulassungsmuster

Antragsteller	
Datum Zulassungsantrag	
Bezeichnung und TL/Spezifikation/ Leistungsbeschreibung (siehe 2.2.5) des textilen Flächengebildes	
Druckausführung	
Stücknummer	
Partienummer	
Chargennummer	
Druckzeitraum	

Anhang B

Checkliste der mit Antrag auf Zulassung einzureichenden Unterlagen

Abschnitt Zulassungs- bedingungen	Unterlagen	√
2.2	<p>Zulassungsantrag mit folgenden Angaben:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Eindeutige Bezeichnung des textilen Flächengebildes, für das die Zulassung beantragt wird, d.h. die Bezeichnung des textilen Flächengebildes incl. Druckausführung mit Angabe der einschlägigen materialbezogenen TL/Spezifikation/Leistungsbeschreibung (s. 1.4.2.5) • Bezeichnung des Antragstellers mit vollständiger Adresse • Benennung eines Ansprechpartners beim Drucker für das gesamte Zulassungsverfahren mit Angabe einer Post- und E-Mailadresse sowie der Telefonnummer, unter der dieser Ansprechpartner zu den üblichen Geschäftszeiten erreichbar ist • Erklärung des Antragstellers, dass das betreffende Unternehmen ein Qualitätssicherungssystem nach AQAP-2110 unterhält • Identifizierungsdaten zum eingereichten Zulassungsmuster, mindestens die Stücknummer, die Partienummer, die Chargennummer und der Druckzeitraum 	
2.3.1	<p>Nachweis der Einhaltung <u>aller</u> in den einschlägigen materialbezogenen TL/Spezifikationen/Leistungsbeschreibungen festgelegten technischen Forderungen durch Vorlage der in diesen Dokumenten geforderten Qualitätsprüfzertifikate/Prüfbescheinigungen für das eingereichte Zulassungsmuster.</p> <p>Ggf. müssen bestimmte Parameter durch ein externes Labor ermittelt werden.</p>	
2.3.2	Personalliste des Druckers (Antragsteller)	
2.3.3.1	Prüfbericht/Zertifikat zum Nachweis der gesundheitlichen Unbedenklichkeit	
2.3.3.2	Aktuelle Sicherheitsdatenblätter nach Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 in deutscher Sprache für alle zum Druck eingesetzten Farbstoffzubereitungen und Hilfsmittel; Mitteilung aller in den jeweiligen Farbstoffzubereitungen enthaltenen Farbstoffe mit C.I. Generic Namen (C.I., Klassenbezeichnung, Farbbezeichnung, fortlaufende Nummer, ggf. Modifikation)	
2.3.3.6	Gesamtübersicht über alle zum Druck der entsprechenden Druckausführung und Substrat verwendeten Farbstoffzubereitungen und Hilfsmittel mit Zuordnung zur Druckausführung	
2.4.3	Unterschiedene Verpflichtungserklärung	

Anhang C

Verfahren zur Bestimmung der Zytotoxizität

1 Zweck

Biologische Beurteilung von Textilien *in vitro*, durch Einwirkung ihrer Extrakte auf Zellkulturen (hier L929-Zelllinie von Mausfibroblasten). Die Vitalität der Zellen wird durch die Bestimmung des Protein- (BC-Assay) bzw. Formazangehalts (MTT-Test) der behandelten Zellkulturen im Vergleich zu unbehandelten Kontrollkulturen bestimmt. Damit wird die potenzielle zelltoxische Wirkung des Prüfmaterials sichtbar.

2 Begriffe, Material2.1 Zytotoxizität

bezeichnet die Auswirkung von Substanzen (in diesem Fall gelöste Substanzen im Extrakt), die das Wachstum bzw. die Proliferation von eukaryotischen Zellen beeinträchtigen, hemmen oder ganz unterbinden. Von zelltoxischer (zytotoxischer) Wirkung wird dann gesprochen, wenn die Wachstumshemmung der Zellen die Signifikanzgrenze von 30 % überschreitet (nach DIN EN ISO 10993-5).

2.2 Proliferation

bedeutet Zellteilung bzw. Zellwachstum. Normalerweise korrelieren Zellprotein und Zellzahl sehr gut miteinander, sofern keine Substanzen die Zellteilung verhindern, ohne in die Proteinsynthese einzugreifen.

2.3 Der BC-Assay

(bc = bicinchoninic acid) ist ein colorimetrischer Test zur Proteinbestimmung. Das Prinzip beruht auf der Reduktion von Cu^{2+} zu Cu^+ -Ionen durch Peptid-Endungen der Proteine. Das BC-Reagenz bildet mit den Cu^+ -Ionen einen dunkelvioletten Farbkomplex. Für verdünnte Lösungen gilt: Die Farbintensität ist linear abhängig zur Proteinkonzentration.

2.4 MTT-Test

Das gelbe wasserlösliche MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) wird in lebensfähigen Zellen metabolisch zu einem blau-violetten wasserunlöslichen Formazan reduziert. Die Anzahl lebensfähiger Zellen korreliert mit der durch photometrischen Messungen nach dem Lösen des Formazans in Alkohol bestimmten Farbintensität.

2.5 L 929 Zellen

(CCL1, NCTC Klon 929 L (CLS)) stammen u.a. aus dem Bindegewebe der Maus. Die Zellen werden nach max. 20 Passagen oder bei abnormalem Wachstum frisch aufgetaut, um eine gleichbleibende Vitalität zu gewährleisten.

2.6 Zellkultur-Medium

DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) mit 4.5 g/l Glucose und 25 mM HEPES, ohne, L-Glutamine, Zusatz von 10% FKS (Fötales Kälberserum) und 4mM L-Glutamin.

2.7 Künstliche Schweißlösung

Extraktionslösung: Künstliche Schweißlösung in Anlehnung an DIN EN ISO 105-E04, steril, pH 7,3-7,4.

3 Durchführung3.1 Probenvorbereitung

3.1.1 Herstellung des Schweißextraktes mit Textil

Die Extraktion soll sich realistischen Bedingungen annähern und gleichzeitig den „worst case“ widerspiegeln. Ein Textil wird normalerweise nicht länger als 24 h getragen. Bei allen Proben muss die Extraktionszeit bzw. -temperatur an die maximalen Expositionsbedingungen angepasst werden, wenn diese abgeschätzt werden können. Das Textil wird bei Bedarf klein geschnitten, in einen sauberen, inertem Glasbehälter mit Teflon-Deckel gegeben, mit 10 ml/g Textil saurer Schweißlösung versetzt und für 24 h bei 37 °C schüttelnd inkubiert.

Werkzeuge, mit denen geschnitten wird, sowie die Waage müssen zwischen den Anwendungen gesäubert werden. Die Schnittfläche sollte möglichst gering sein. Zur Prüfung von Absorptionsmitteln und Hydrokolloiden wird vorgeschlagen, das Volumen des Extraktionsvehikels (z.B. Schweißlösung), das von jeweils 0,1 g oder 1,0 cm² des Materials absorbiert wird, zu bestimmen. Anschließend ist dieses zusätzliche Volumen zu jeweils 0,1 g oder 1,0 cm² eines Extraktionsgemisches hinzuzufügen.

Zur Erfassung leichtflüchtiger Substanzen aus dem Probenmaterial kann optional ein DMSO-Extrakt in 0,1 %igem DMSO in Schweißlösung (pH 7,3 - 7,4) analog des Schweißextraktes hergestellt werden. 0,1 % DMSO in Schweißlösung ist nicht zytotoxisch.

3.1.2 Vorbereitung der Zellen

Subkonfluente L 929-Mausfibroblasten werden mit Hilfe von Trypsin/EDTA vom Flaschenboden abgelöst, abzentrifugiert und das Zellsediment in Medium aufgenommen. Die Zellzahl wird auf 50.000 Zellen/ml eingestellt. Dabei wird die Zellvitalität überprüft. Die Morphologie wird mittels Mikroskop vor der Prüfung beurteilt, die Vitalität mittels Trypanblaufärbung (bei 90% lebenden Zellen kann die Passage verwendet werden). Zusätzlich werden die Zellen monatlich auf Mycoplasmenkontamination kontrolliert. Es werden 100 µl der Zellsuspension pro Kavität einer 96-well Mikrotiterplatte vorzugsweise vollautomatisiert ausgesät.

3.1.3 Herstellung von Verdünnungsreihen

Die zu prüfenden Schweißextrakte werden in steriler Schweißlösung (pH 7,3-7,4) verdünnt.

Eine Verdünnungsreihe besteht aus 100 %; 66,6 %; 44,4 %; 29,6 % Verdünnungen des Extraktes mit Schweißlösung.

Als höchste Konzentration des Schweißextraktes wird die 33,3% Probenlösung im Well gewählt, da hierbei eine optimale Versorgung der Zellen im Well mit Nährstoffen noch gewährleistet ist. Das Wachstum ist somit bei Abwesenheit zytotoxischer Substanzen optimal. Der zytotoxische Effekt der Prüfsubstanz wird dann direkt im Vergleich zur Lösemittelkontrolle beurteilt.

3.2 Testdurchführung

3.2.1 Auftragen der Prüfeextrakte

Es werden je 50 µl der Verdünnungen bzw. der Kontrollen pro Kavität zu den 100 µl Zellsuspension aufgetragen, mindestens 3 Kavitäten pro Verdünnung bzw. Kontrolle. Endkonzentrationen des Schweißextraktes pro Vertiefung sind somit 33,3 %; 22,2 %; 14,8 %; 9,9 %.

Positivkontrolle = 15 % DMSO in Schweißlösung (pH 7,3 - 7,4) ⇒ Endkonzentration 5 % DMSO/Well (Dimethylsulfoxid, wirkt zelltoxisch).

Negativkontrolle = Medium (DMEM-Kontrolle).

Lösemittelkontrolle = sterile Schweißlösung (pH 7,3 - 7,4).

Leerwert = Medium in je 3 Vertiefungen ohne Zellen.

Anschließend erfolgt die Inkubation der Probengefäße im CO₂-Brutschrank über 72 h.

Der Zustand der Zellen (Morphologie, Konfluenz) im Phasen-Kontrastmikroskop und die Kontaminationsfreiheit sind regelmäßig zu überprüfen. Vertiefungen mit Kontaminationen dürfen nicht getestet und ausgewertet werden.

3.2.2 Endpunkt - BC-Assay

Grundsätzlich wird zur Bestimmung des Endpunktes ein BC-Assay durchgeführt. Zur weiteren Charakterisierung der Zytotoxizität kann alternativ auch ein kommerziell erhältlicher MTT-Test durchgeführt werden.

Nach 72 ± 2 Stunden werden die Zellen unter dem Mikroskop kontrolliert. Zu diesem Zeitpunkt sollten sie in der DMEM-Kontrolle gerade konfluent sein. Ist diese Kontrolle nicht konfluent kann der Test nicht gewertet werden und sollte mit neuen Zellen wiederholt werden. Zur Bestimmung der Gesamtproteinmenge mittels BC-Assay müssen die Zellen aufgebrochen werden. Das Medium wird hierzu aus den Vertiefungen abgeklopft und mit je 300 µl PBS zweimal gewaschen. Danach wird jede Vertiefung mit 25 µl PBS gefüllt und bei -28 ± 2 °C für 30 min zum Aufbrechen der Zellmembranen eingefroren.

Aufgetaut wird 30 min schüttelnd (650 rpm) bei 37 °C. Dieser Vorgang, Einfrieren und Auftauen, wird dreimal wiederholt. Damit wird sichergestellt, dass keine Zellen mehr intakt sind.

Der BC-Assay wird mittels eines kommerziell erhältlichen Testkits nach Angaben des Herstellers durchgeführt und mittels eines Mikroplattenlesers photometrisch bei 570 nm ausgewertet.

3.2.3 Ergebnis und Auswertung

Das Ergebnis ist die Hemmung des Zellwachstums in Prozent. Von den OD Werten (OD_{570nm}) der drei Parallelansätze der Lösemittelkontrolle und des Leerwerts wird jeweils der Mittelwert (MW) mit Fehlerabweichung (s) bestimmt. Die Berechnung der prozentualen Wachstumshemmung (% WH) erfolgt nach folgender Formel:

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

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 Lösemittelkontrolle aus 3 Parallelansätzen

4 Bewertung der Ergebnisse

Als eindeutig zelltoxischer Effekt wird eine Wachstumshemmung von mehr als 30 % im Vergleich zur Lösemittelkontrolle gewertet (siehe DIN EN ISO 10993- 5). Als Referenz / Bezugsnormale dient die Lösemittelkontrolle und die in jedem Test mitgeführte Positiv- bzw. Negativkontrolle.

Akzeptanzkriterien für Ergebnisse im Zytotoxizitätstest:

Ein Ergebnis wird nicht akzeptiert und die Prüfung wiederholt, bei

- Bakterien-Kontamination
- einer Standardabweichung der Wachstumshemmung $s > 15$
- einer Wachstumshemmung in der Positivkontrolle < 80 % und in der Negativkontrolle > 5 %
- keinem konfluenten Zellwachstum in der Negativkontrolle.

Die Messunsicherheit des Verfahrens beträgt 10% absolut und wird bei der Bewertung berücksichtigt.

Liegt die im Zytotoxizitätstest ermittelte Wachstumshemmung bei 30 % bis 40 % und ist zusätzlich der Test auf Hautsensibilisierung erforderlich (s. 2.6.5), wird jedoch auf Folgendes hingewiesen:

- Geht die im Zytotoxizitätstest ermittelte erhöhte Wachstumshemmung auf die Messunsicherheit zurück, ist kein zytotoxisches Potenzial gegeben. In diesem Fall werden die im Test für Hautsensibilisierung eingesetzten Zellen nicht geschädigt und der Test auf Hautsensibilisierung kann valide durchgeführt werden.
- Geht die im Zytotoxizitätstest ermittelte erhöhte Wachstumshemmung auf ein tatsächlich vorliegendes zelltoxisches Potenzial zurück, tritt die zelltoxische Wirkung auch auf bei der im Hautsensibilisierungstest eingesetzten Zelllinie auf. In diesem Fall ist der Nachweis der zytotoxischen Wirkung an einer 2. Zelllinie erbracht, der Test auf Hautsensibilisierung ist jedoch nicht auswertbar und eine Aussage zum hautsensibilisierenden Potenzial kann nicht getroffen werden.

Für eine gesicherte Durchführung des Tests auf Hautsensibilisierung muss die Wachstumshemmung im Zytotoxizitätstest folglich $\leq 30\%$ betragen.

Anhang D

Sensibilisierungsassay

1 Zweck

Screening Test zur Feststellung des sensibilisierenden Potentials von Textilien bzw. ihrer Extrakte auf die humane histiozytische Leukämie-Zelllinie U937 (Monozyten)

2 Begriffe, Material

2.1 Sensibilisierung

Eine allergische Reaktion kann nur nach vorangegangener Sensibilisierung auftreten. Dies bedeutet, dass das Immunsystem beim ersten Kontakt mit dem Allergen eine Stimulierung erfahren muss, die noch keine allergische Reaktion zur Folge hat, die aber dazu führt, dass das Allergen als „Feind“ bekannt wird, so dass beim nächsten Kontakt die allergische Reaktionskaskade ablaufen kann.

Immunologisch passiert folgendes: Das Allergen wird von in der Schleimhaut sitzenden allergenpräsentierenden Zellen aufgenommen und umgewandelt. Die Zelle präsentiert daraufhin Allergenpeptide an ihrer Zelloberfläche. Diese werden von T-Helferzellen erkannt. Die T-Helferzellen senden daraufhin chemische Signale (Ausschüttung von Zytokinen) aus und stimulieren B-Zellen zur Produktion von allergenspezifischen Immunglobulinen (IgE). Das gebildete IgE bindet an den Zelloberflächen von Mastzellen und anderen Immunzellen (z.B. Granulozyten) und fungiert ab sofort als Antenne oder Andockstation für die erkannten Allergene. Kommt es zum neuerlichen Allergenkontakt, bindet dieses direkt an die IgEs und löst die allergische Reaktion aus.

2.2 U937 Zellen

U937 Zellen sind eine humane Monozyten-Zelllinie. Die Zellen werden nach max. 20 Passagen oder bei abnormalem Wachstum frisch aufgetaut, um eine gleichbleibende Vitalität zu gewährleisten.

2.3 Zellkultur-Medium

RPMI 1640 modifiziert, mit Natriumbicarbonat und Phenolrot mit L-Glutamin und 25 mM HEPES, Zusatz von 10% FKS (Fötales Kälberserum).

2.4 Künstliche Schweißlösung

Extraktionslösung: Künstliche Schweißlösung in Anlehnung an DIN EN ISO 105-E04, steril, pH 7,3-7,4.

3 Durchführung

3.1 Probenvorbereitung

3.1.1 Herstellung des Schweißextraktes mit Textil

Die Extraktion soll sich realistischen Bedingungen annähern und gleichzeitig den „worst case“ widerspiegeln. Ein Textil wird normalerweise nicht länger als 24 h getragen. Bei allen Proben muss die Extraktionszeit bzw. -temperatur an die maximalen Expositionsbedingungen angepasst werden, wenn diese abgeschätzt werden können. Das Textil wird bei Bedarf klein geschnitten, in einen sauberen, inerten Glasbehälter mit Teflon-Deckel gegeben, mit 10 ml/g Textil Schweißlösung versetzt und für 24 h bei 37°C schüttelnd inkubiert. Werkzeuge mit denen geschnitten wird, sowie die Waage müssen zwischen den Anwendungen gesäubert werden. Die Schnittfläche sollte möglichst gering sein.

3.1.2 Zellen vorbereiten und aussäen

Drei 75 ml Zellkulturflaschen mit konfluenten U937 Zellen werden abzentrifugiert und das Zellsediment in Medium aufgenommen. Die Zellzahl wird auf 1×10^6 vitale Zellen / ml eingestellt. Die Zellzählung kann z.B. in der Thomakammer erfolgen. Dabei wird die Zellvitalität mittels Trypanblaufärbung überprüft. Die Zellmorphologie wird vor der Prüfung mikroskopisch beurteilt. Zusätzlich werden die Zellen monatlich auf Mycoplasmenkontamination kontrolliert. Es werden 100 µl Zellsuspension pro Kavität der 96-Well Mikrotiterplatte (F-Boden) ausgesät, die Zellzahl pro Vertiefung beträgt somit 1×10^5 vitale Zellen.

3.1.3 Kontrollen herstellen

Als Negativkontrolle wird Zellkultur-Medium (RPMI 1640, modifiziert), mit Natriumbicarbonat und Phenolrot mit L-Glutamin und 25 mM HEPES ohne FKS verwendet. Die Lösemittelkontrolle ist sterile Schweißlösung (Herstellung siehe 5.1) mit pH 7,3 bis 7,4.

Als Positivkontrolle = Zielwertkontrolle wird eine Endkonzentration von 1,0 µg/ml DNCB verwendet.

3.2 Testdurchführung

Vorbemerkung: Bei den zu prüfenden Schweißextrakten muss vor Einsatz im Sensibilisierungstest ein zytotoxisches Potential ausgeschlossen werden. Dies kann z.B. durch einen BCA oder eine Propidiumiodid-Färbung erfolgen. Bei bestandenem Zytotoxizitätstest werden die Schweißextrakte unverdünnt eingesetzt. Ist der Schweißextrakt zytotoxisch, kann der Test nicht durchgeführt werden.

3.2.1 Proben/Kontrollen verdünnen und zugeben

In die Wells mit vorgelegter Zellsuspension der Schweißextrakte, der Lösemittelkontrolle (Schweißlösung), der Negativkontrolle und der Positivkontrolle werden je 66 µl der Proben/Kontrollen bzw. Gebrauchslösung der Positivkontrolle (33%) und 34 µl Medium zugegeben. Alle Proben/Kontrollen werden 6-fach angesetzt (3 Well Probe/Kontrolle + 3 Well Isotypkontrolle). Es erfolgt die Inkubation im CO₂-Brutschrank bei 37 °C für 48 h.

3.2.2 Antikörper & Isotypkontrolle

3.2.3 Auswertung

Nach Zentrifugation (200 g, 5 min, 4 °C) wird der Überstand abgenommen und das Pellet zweimal in 100 µl PBS + 0,1% BSA (Puffer) gewaschen. Das Pellet wird anschließend in 100 µl Puffer resuspendiert. Zu drei Wells pro Probe werden 4 µL Antikörperlösung zu den anderen drei Wells pro Probe wird 4 µl Isotypkontrolle pipettiert. Diese werden dann 30 min im Dunkeln auf Eis inkubiert. Danach wird zweimal mit 100µl PBS gewaschen, dann werden die Zellen in 100 µl PBS resuspendiert (auf Eis). Für die Messung im Durchflusszytometer werden die Zellen kurz vor der Messung über einen Filter (30 µm) in ein FACS-Röhrchen mit 750 µL PBS überführt und direkt gemessen.

3.2.4 Durchflusszytometrie

Die Färbung und Durchflusszytometrie erfolgt am Durchflusszytometer mittels spezifischer Antikörper (Isotypkontrolle: FITC Maus IgG1, Antikörper: FITC Mouse anti-human CD86). Nach Spülung und Kalibrierung des Gerätes erfolgt die Messung bei einem Fluss von 1-4 µl/s.

3.2.5 Ergebnis und Auswertung

Zur Bestimmung des sensibilisierenden Potentials wird die RFI (relative Fluoreszenz Intensität) herangezogen. Dieser Wert berechnet sich nach folgender Gleichung:

$$RFI = \frac{MFI \text{ chembehand. Zellen} - MFI \text{ chembehand. Isotyp Kontrollzellen}}{MFI \text{ LK Kontrollzellen} - MFI \text{ LK Isotypkontrollzellen}}$$

MFI: mittlere Fluoreszenz Intensität

Der MFI ist der Prozentsatz an Zellen, die positiv sind, d.h. an die der Antikörper mit dem Farbstoff gebunden hat.

4 Bewertung der Ergebnisse

Der RFI der Lösemittelkontrolle ist immer gleich 1 bzw. 100%. Alle anderen Werte werden auf das entsprechende Lösemittel, bei einem Schweißextrakt auf die Schweißlösung, bezogen. Ab einem RFI von $\geq 120\%$ (Antikörper CD86) gilt eine Probe als sensibilisierend.

Akzeptanzkriterien der Ergebnisse des Sensibilisierungs-Tests:

Ein Ergebnis wird nicht akzeptiert und die Prüfung wiederholt, bei

- Kontamination im Well
- einem Anteil von $\geq 15\%$ positiven Zellen (MFI) in der Negativ- oder der Lösemittelkontrolle (Zellen waren vorstimuliert).
- Werte in der Negativkontrolle $\geq 120\%$ bei CD86.
- PK = Zielwertkontrolle = 1,0 $\mu\text{g/ml}$ DNCB. Diese hat für CD86 die nicht akzeptablen Grenzwerte ≤ 120 und ≥ 400 RFI [%].

Die Messunsicherheit des Verfahrens beträgt 10% absolut und wird bei der Bewertung berücksichtigt.