

<b>Testmethode</b>	<b>BUS – HAUTSCHUTZTEST (<i>in-vitro</i>)</b> Pittermann et al. (2003): Prävention gegen lipophile Noxen durch Hautschutzprodukte, Arbeitsmed. Sozialmed., Umweltmed. 38, 435 - 442 <a href="http://www-dgaum.med.uni-rostock.de/asu1.htm">http://www-dgaum.med.uni-rostock.de/asu1.htm</a> <a href="http://www-bvh.de/pdf/infoschriften/bus-modell.pdf">http://www-bvh.de/pdf/infoschriften/bus-modell.pdf</a>
<b>Testsubstanz (Produkt)</b>	<b>saBesto Hautschutzcreme</b>
<b>Noxe (fettlöslich)</b>	<b>Toluol</b> (p.a.; Merck, Deutschland)
<b>Applikation (Produkt)</b>	<b>topisch</b> (15 Minuten vor Appl. der Noxe)
<b>Auftraggeber</b>	<b>Adolf Würth GmbH &amp; Co. KG</b> Reinhold-Würth-Str. 12-17 D-74653 Künzelsau
<b>Testzeitraum</b>	<b>Oktober 2005</b>
<b>Beurteilung der Wirksamkeit</b>	<b>Auf Grund der Testergebnisse wird saBesto Hautschutzcreme als sehr wirksam gegen die Schädigung durch Toluol (lipophile Noxe) bewertet.</b>

#### ZUSAMMENFASSUNG

Im standardisierten Wirksamkeitstest (BUS-Modell) wurde das Hautschutzprodukt **saBesto Hautschutzcreme** (Adolf Würth GmbH & Co. KG, D-74653 Künzelsau) gegen die Modellnoxe **Toluol p.a.** (Merck) geprüft. Diese lipophile Noxe mit hautschädigenden Eigenschaften löst experimentell Veränderungen aus, die auf Hautunverträglichkeit nach wiederholtem Kontakt beim Menschen schließen lassen.

Die Prüfung beinhaltete die einmalige und mehrfache Applikation der Noxe auf die vorbehandelte Haut. Die Vorbehandlung der Haut mit **saBesto Hautschutzcreme** führte zu einer über 90% -igen Hemmung der möglichen Hautschädigungen durch **Toluol p.a.** bereits unmittelbar nach der Anwendung (Mittelwert: 0,5h–1,0h). Diese Wirkung wird auf hohem Niveau über 5,0h (Mittelwert: 0,5h–5,0h) gehalten. Wurde die Noxe mehrfach auf die vorbehandelte Haut appliziert, so war das Wirkprinzip des Produkts nach 15 Minuten soweit in der Hornschicht penetriert, dass eine effektive Hemmung der möglichen Hautschädigung durch Toluol erreicht wurde.

Die Vorbehandlung der Haut durch **saBesto Hautschutzcreme** hemmte das Schädigungspotential sehr effektiv. Die Testergebnisse im standardisierten BUS-Hautschutztest weisen für das Produkt **saBesto Hautschutzcreme** eine Schutzwirkung auf, die zu allen Expositionszeiten über den publizierten Ergebnissen der Positivkontrollen 'Wollwachalkoholsalbe' und 'Vaseline' liegt (Pittermann et al. 2003).

Bei bestimmungsgemäßer Anwendung des Produkts wird die Haut so geschützt, dass spezifischen Schädigungen durch wiederholten Kontakt mit Noxen dieser Qualität effektiv vorgebeugt wird.

Dr. Wolfgang F. Pittermann, Fachtierarzt für Pathologie  
Düsseldorf, den 6. Juni 2006



## Einleitung

Im nachfolgenden Bericht werden Material, Methode/Prüfplan, Ergebnisse/Bewertung und Zusammenfassung einer standardisierten Wirksamkeitsprüfung (BUS-Hautschutztest) beschrieben, die im Auftrag von **Adolf Würth GmbH & Co. KG, D-74653 Künzelsau** für das Hautschutzprodukt (HSP) **saBesto Hautschutzcreme** bestellt wurde.

Die Rationale dieses Kombinationstests (Hautunverträglichkeit der Noxe, Messung der Wirksamkeit des HSP nach ein- und mehrmaliger Noxenapplikation) ist die Erfassung des Schädigungsprofils der Noxe auf unbehandelte und mit dem HSP vorbehandelte Haut mit gleicher Methodik. Nach der HSP-Behandlung (15 Minuten) kommt es zu einem direkten Kontakt HSP und Noxe. Für die Schutzwirkung ist daher auch entscheidend, wie weit das Wirkprinzip des HSP vor dem Kontakt mit der Noxe in die Hornschicht penetriert ist. Daher wird neben der konventionellen Vorgangsweise der Einfachapplikation auch die Mehrfachapplikation der Noxe innerhalb von 10 Minuten durchgeführt.

## Methode

### Untersuchungsmaterial

<b>Produkt (Name)</b>	<b>Produkt (Beschreibung)</b>
<b>saBesto Hautschutzcreme</b>	Emulsion (gebrauchsfertig)

Die gebrauchsfertige Probe (s. Tabelle) wurde an Dr. W. Pittermann (Düsseldorf) geschickt. Hier wurde die Probe codiert und an Fa. SIMRED (Fr. Dr. V. Itzel-Kietzmann, 30938 Großburgwedel) weiter gegeben. In der Fa. SIMRED wurde die gebrauchsfertige Probe entsprechend des abgestimmten Prüfplans appliziert.

(Pittermann et al.: *Prävention gegen lipophile Noxen durch Hautschutzprodukte*, ASU (2003) 38, 435-442 [<http://www.dgaum.de>], [<http://www-bvh.de/pdf/infoschriften/bus-modell.pdf>]) und Pittermann, W.: *Methoden zum Wirksamkeitsnachweis von Hautschutzmittel* im Tagungsbericht 2004 [Herbsttagung, Mainz] des Verbandes Deutscher Betriebs- und Werksärzte e.V., Seite 255-268.

### Prüfplan

Zahl der eingesetzten Euter: n = 4

Applikation der Emulsion (HSP): offen, mittels Glasspatel (2 g / 100 cm<sup>2</sup>)

Einwirkzeit des Noxe (Toluol p.a.; Merck): 30, 60, 300 Minuten

Einwirkzeit des HSP (Vorbehandlung): 15 Minuten

Einwirkzeit der Noxe (1x oder 3x appliziert) bis zur 1. Biopsie (behandelt): 10 – 15 Minuten

Ganzhautstanzen 'unbehandelt plus Noxe': 30, 60 und 300 Minuten

Ganzhautstanzen 'vorbehandelt plus Noxe': 30, 60, 300 Minuten nach HSP- Applikation

Ganzhautstanzen 'unbehandelt (Kontrolle)': 30, 60 und 300 Minuten

### Behandlungsfolge

Die Schädigung durch die Noxe wird biochemisch nach 0,5h, 1,0h und 5,0h mittels Ganzhautbiopsie erfasst. Im Wirksamkeitstest wird 15 Minuten nach der Vorbehandlung mit dem HSP die Noxe entweder einmal oder innerhalb von weiteren 10 Minuten 3x aufgetragen. 30 Minuten nach Beginn der Vorbehandlung wird die 1. Biopsie, nach 1,0h und 5,0h die 2. bzw. 3. Biopsie entnommen.

### *Biochemische Auswertung*

Die Durchführung des MTT-Tests ( $\mu\text{g}$  Formazan /  $\mu\text{g}$  DNA) und die Bestimmung der Gewebekonzentration von Prostaglandin  $E_2$  ( $\text{ng}$   $\text{PGE}_2$  /  $\mu\text{g}$  DNA) in den Ganzhautstanzen ( $D = 6 \text{ mm}$ , Fa. Stiefel, Offenburg) erfolgte im Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Hochschule, Hannover (Prof. Dr. M. Kietzmann).

Die Rohdaten wurden von Dr. W. Pittermann decodiert und bewertet.

### *Auswertung und Bewertung der Daten*

Der Parameter 'Zellschädigung' (Zytotoxizität) definiert den Verlust der lebensfähigen (im wesentlichen) epidermalen Zellen durch das zytotoxische Potential des Testproduktes (Noxe / HSP) nach Penetration der Hornschicht (= Hautbarriere). Der Parameter 'Zellreizung' (irritancy) definiert die Gewebekonzentration eines bestimmten preinflammatorischen Mediators durch das entzündungsinduzierende Potential des Testproduktes (Noxe / HSP) nach Penetration der Hornschicht (= Hautbarriere).

Die Profile beider Parameter, der 'Zellschädigung' (MTT-Test) und der 'Zellreizung' ( $\text{PGE}_2$  – Gewebekonzentration) werden in der unbehandelten Haut (Kontrolle), in der mit der Noxe behandelten und in der mit dem Hautschutzprodukt vorbehandelten Haut zu drei unterschiedlichen Expositionszeiten (0,5h/1,0h/5,0h) untersucht und die Ergebnisse miteinander verglichen.

### *Score-Bewertung*

Die Score-Bewertung wird zur besseren Interpretation des BUS – Irritations- und Wirksamkeitstests gebildet (Tab. 1). Dabei werden die Werte zur 'Zellschädigung' (MTT) und 'Zellreizung' ( $\text{PGE}_2$ ) von 'behandelten' und 'unbehandelten' Hautarealen verglichen, entsprechend gewichtet und aus den beiden Score-Werten ein Gesamtscore-Wert errechnet.

Der Score-Wert gibt eine für alle BUS-Irritations- und Hautschutzstudien vergleichbare Maßzahl für den Grad der Hautaktivierung an. Die Literaturstelle (Pittermann W. et al, 2003) für den direkten Vergleich ist online verfügbar: *Systematic in-vitro studies of skin compatibility of cutting fluids*: >[http://www.dustri.de/zd/db/samplecopy/db51\\_d56.pdf](http://www.dustri.de/zd/db/samplecopy/db51_d56.pdf)<, und (Pittermann W., Kietzmann M., 2006) *Bovine Udder Skin (BUS) Prüfung von Hautverträglichkeit und Hautschutz*, ALTEX 23, 2/06, 65-71.

Im Hautschutzttest errechnet sich die mögliche Reduktion (%) des Hautschadens zu jedem Expositionszeitpunkt nach der Vorbehandlung mit dem HSP (über 15 Minuten), in dem die Differenz (%) zur Gesamtscorebewertung der Noxe (100%) auf nicht-vorbehandelter Haut bewertet wird.

### *Bewertung der Mehrfachapplikation*

Die Ergebnisse in Tab. 1 - 3 dargestellt. Allerdings wäre es nicht korrekt, die Reduktion in % der Einmal-Applikation anzugeben, da es keinen vergleichbaren 100%-Wert gibt, wie bei der Prüfung nach der Einmal-Applikation. Die Ergebnisse nach über 20 Einzelstudien zeigen, dass es ausreichend ist, mittels der Gesamtscorewerte die Wirksamkeit zu bewerten. Je niedriger die Gesamtscorewerte, umso besser schützt die Vorbehandlung vor der 3-fachen Noxenapplikation. Als unwirksam gegen die 3-fache Noxenapplikation, sind Gesamtscorewerte um 3.0 und darüber zu beurteilen. D.h. die hautkritische Grenze ist auch dort zu sehen, wo die Inkompatibilität von Chemikalien oder Formulierungen gesetzt wird. Die Literaturstelle (Pittermann et al, 2003) für den direkten Vergleich ist online verfügbar:

*Systematic in-vitro studies of skin compatibility of cutting fluids:*  
>[http://www.dustri.de/zd/db/samplecopy/db51\\_d56.pdf](http://www.dustri.de/zd/db/samplecopy/db51_d56.pdf)<). Für die endgültige Beurteilung sind auch die Einzelscorewerte zu den drei Expositionszeiten detailliert einzubeziehen.

## Ergebnisse

Die Perfusion der 4 Euter (#134/05, #135/05, #136/05, #137/05), die Behandlung und Probenentnahme (Oktober 2005) verlief planmäßig und ohne Störung. Der Vergleich der Ergebnisse 'unbehandelt' mit den historischen Daten zeigt, dass die Lebensfähigkeit der Haut vollständig erhalten geblieben und die Qualität der perfundierten Euterhaut gegeben ist.

**Tabelle 1** (Gesamt- und Teilscorewerte) und **Diagramm 1** (Gesamtscorewerte) weisen die Scorewerte (Gesamt- und Einzelwerte) für die Hautzustand nach der Noxe (Toluol p.a.; Merck) ohne Vorbehandlung (1x Applikation der Noxe) und mit Vorbehandlung durch **saBesto Hautschutzcreme** (1x und 3x Applikation der Noxe) aus.

Die topische Applikation von **Toluol** löst eine hochgradige zytotoxische Reaktion mit einer deutlich entzündlichen Komponente aus. Das Maximum der PGE<sub>2</sub>-Gewebskonzentration liegt zum Expositionszeitpunkt 1,0h und ist nach weiteren 4 Stunden reversibel.

Die Vorbehandlung durch **saBesto Hautschutzcreme** reduziert signifikant (s. Tabelle 1 und Diagramm 1) die mögliche Hautschädigung hinsichtlich der Zytotoxizität und der entzündlichen Komponente von **Toluol** (1x und 3x Applikation).

**Tabelle 1**

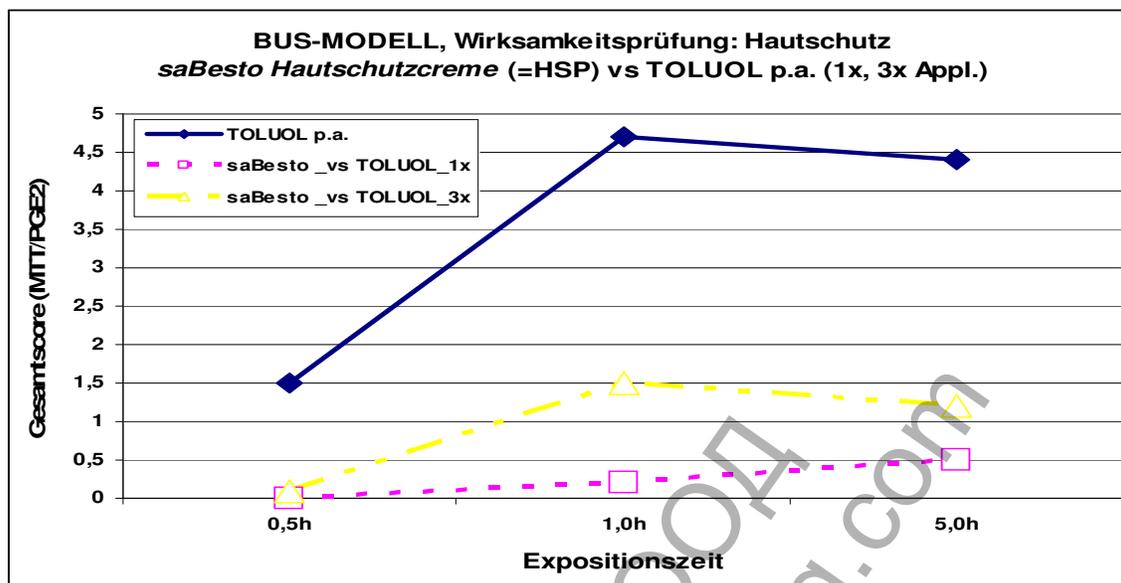
Vorbehandlung	Toluol p.a. (x Appl.)	Score [gesamt] (MTT / PGE <sub>2</sub> ) (0,5h)	Score [gesamt] (MTT / PGE <sub>2</sub> ) (1,0h)	Score [gesamt] (MTT / PGE <sub>2</sub> ) (5,0h)
Toluol p.a. (Merck)	(1x A.)	[1.5] (1.5 / 0.0)	[4.7] (2.8 / 1.9)	[4.4] (4.3 / 0.1)
<b>saBesto Hautschutzcreme</b>	(1x A.)	[0.0] (0.0 / 0.0)	[0.2] (0.0 / 0.2)	[0.5] (0.5 / 0.0)
<b>saBesto Hautschutzcreme</b>	(3x A.)	[0.1] (0.1 / 0.0)	[1.5] (0.3 / 1.2)	[1.2] (1.0 / 0.2)

**Score MTT** (Abnahme): 1.0 = 10,0% Abweichung von 'unbehandelt', d.h. 10 % der Basal-/Suprabasalzellen (Zielzellen) und Zellen des dermalen Bindegewebs- und Gefäßbereiches im Vergleich zur Kontrolle (gleicher Expositionszeitpunkt) sind irreversibel geschädigt. 0.0 = bis 5,0% Abweichung, 0.5 = 7,0% Abweichung oder 2.0 = 15,0% Abweichung u.s.w..

**Score PGE<sub>2</sub>** (Zunahme): 1.0 = 15,0% Abweichung von 'unbehandelt', d.h. 15 % Zunahme der Gewebkonzentration von PGE<sub>2</sub> (Zielzellen: differenzierte. epidermale Zellen = obere Zellschichten) und Zellen des dermalen Bindegewebs- und Gefäßbereiches im Vergleich zur Kontrolle (gleicher Expositionszeitpunkt), 0.0 = bis 10,0% Abweichung, 0.7 = 13,0% Abweichung oder 2.0 = 20,0% Abweichung u.s.w..

Beide Parameter entwickeln sich unabhängig voneinander.

Diagramm 1



Die **Tabelle 2** zeigt das Schutzpotential in % für jede Expositionszeit, d.h. um x% wird die Hautschädigung minimiert, wenn die Haut mit einem Schutzprodukt für 15 Minuten vorbehandelt ist. Das optimale Schutzpotential beträgt daher 100%.

Die Schutzleistung von **saBesto Hautschutzcreme** gegen **Toluol p.a.** ist zu allen Expositionszeiten gegeben.

**Tabelle 2** (\*\* Gesamtscorewerte nach 3-Fachapplikation der Noxe)

Vorbehandlung	Toluol p.a. (x Appl.)	Schutz nach (0,5h)	Schutz nach (1,0h)	Schutz nach (5,0h)
<b>saBesto Hautschutzcreme</b>	(1x A.)	100%	96%	89%
<b>saBesto Hautschutzcreme</b>	(3x A.)	** 0.1	** 1.5	** 1.2

Die **Tabelle 3** zeigt den Mittelwert zum Schutzpotential innerhalb kurzer Einwirkungszeit (0,5h und 1,0h) sowie den Mittelwert über alle drei Expositionszeiten (0,5h/1,0h/5,0h). Je geringer der Abstand zwischen beiden Werten, umso höher ist die Beständigkeit der Schutzwirkung zu bewerten.

Die Gesamtscorewerte zeigen die Beständigkeit der Schutzwirkung durch die Vorbehandlung mit **saBesto Hautschutzcreme**.

**Tabelle 3** (\*\* Gesamtscorewerte nach 3-fach Applikation der Noxe)

Vorbehandlung	Toluol p.a. (x Appl.)	Schutz nach (0,5h/1,0h)	Schutz nach (0,5h/1,0h/5,0h)
<b>saBesto Hautschutzcreme</b>	(1x A.)	98%	95%
<b>saBesto Hautschutzcreme</b>	(3x A.)	** 0.8	** 0.9

**SCHUTZPRODUKT** (*saBesto Hautschutzcreme*)**Einmalapplikation der NOXE**

Das Schutzpotential von **saBesto Hautschutzcreme** gegen **Toluol p.a.** ist sehr gut. Entsprechend gut fallen auch die Mittelwerte (Reduktion: > 90%) für die schnell einsetzende Wirkung (0,5h und 1,0h) aus und ebenso die Mittelwerte (Reduktion: > 90%) über die gesamte Expositionsdauer (0,5h/1,0h/5,0h) aus. Die Vorbehandlung der Haut mit **saBesto Hautschutzcreme** reduziert für die gesamte Expositionszeit die mögliche Hautschädigung durch **Toluol p.a.** um mehr als 90%. Eine negative, biologisch wirksame Interaktion zwischen **saBesto Hautschutzcreme** und **Toluol p.a.** ist in beiden Variationen (Noxenapplikation: 1x / 3x) nicht festzustellen.

**Mehrfachapplikation der NOXE**

Das Schutzpotential von **saBesto Hautschutzcreme** gegen die Mehrfachapplikation von **Toluol p.a.** ist sehr gut. Diese Schutzleistung ist von der Substantivität der Formulierung abhängig d.h. wie schnell innerhalb von 15 Minuten das Wirkprinzip in die Hornschicht penetriert ist und nicht durch die in kurzen Zeitabständen erfolgte Mehrfachapplikation von der Hornschicht weggenommen bzw. zu stark verdünnt oder durch die bekannte entfettende Aktivität von **Toluol** verändert oder zersetzt wird. Am besten wird diese Schutzleistung in der Tabelle 3 mit der früh einsetzenden Schutzleistung (Mittel aus 0,5h und 1,0h) und der Schutzleistung (Mittel aus: 0,5h, 1,0h 5,0h) deutlich gemacht. Die Gesamtscorewerte nach Mehrfachapplikation von **Toluol p.a.** zeigen, dass diese Formulierung die für eine sehr gute Schutzleistung gegen die ausgeprägte Hauttoxizität erforderliche Substantivität besitzt.

**ZUSAMMENFASSUNG**

Im standardisierten Wirksamkeitstest (BUS-Modell) wurde das Hautschutzprodukt **saBesto Hautschutzcreme** (*Adolf Würth GmbH & Co. KG, D-74653 Künzelsau*) gegen die Modellnoxe **Toluol p.a.** (Merck) geprüft. Diese lipophile Noxe mit hautschädigenden Eigenschaften löst experimentell Veränderungen aus, die auf Hautunverträglichkeit nach wiederholtem Kontakt beim Menschen schließen lassen.

Die Prüfung beinhaltete die einmalige und mehrfache Applikation der Noxe auf die vorbehandelte Haut. Die Vorbehandlung der Haut mit **saBesto Hautschutzcreme** führte zu einer über 90% -igen Hemmung der möglichen Hautschädigungen durch **Toluol p.a.** bereits unmittelbar nach der Anwendung (Mittelwert: 0,5h–1,0h). Diese Wirkung wird auf hohem Niveau über 5,0h Mittelwert: 0,5h–5,0h) gehalten. Wurde die Noxe mehrfach auf die vorbehandelte Haut appliziert, so war das Wirkprinzip des Produkts nach 15 Minuten soweit in der Hornschicht penetriert, dass eine Hemmung der möglichen Hautschädigung durch Toluol erreicht wurde.

Die Vorbehandlung der Haut durch **saBesto Hautschutzcreme** hemmte das Schädigungspotential sehr effektiv. Die Testergebnisse im standardisierten BUS-Hautschutzttest weisen für das Produkt **saBesto Hautschutzcreme** eine Schutzwirkung auf, die zu allen Expositionszeiten über den publizierten Ergebnissen der Positivkontrollen 'Wollwachkoholsalbe' und 'Vaseline' liegt (*Pittermann et al. 2003*).

Bei bestimmungsgemäßer Anwendung des Produkts wird die Haut so geschützt wird, dass spezifischen Schädigungen durch wiederholten Kontakt mit Noxen dieser Qualität effektiv vorgebeugt wird.

Dr. Wolfgang F. Pittermann  
Fachtierarzt für Pathologie



Düsseldorf, 6. Juni 2006