

Zwisler Laboratorium GmbH, Blarerstraße 56, D-78462 Konstanz

ZET Chemie GmbH
Herr Helmut Baur (Auftraggeber)
Heisenbergstrasse 3
D-89584 Ehingen/Donau
Fax 07391-7008-31



Kommentar zu Prüfbericht Nr. 1608.0908

Die folgende Bemerkung ist nicht Bestandteil des Prüfberichtes und dient lediglich der Information und Aufklärung des Auftraggebers. Dieser Kommentar ist ohne Unterschrift gültig.

Bemerkung

In Anlehnung an die EN ISO 10993-5:2009 (Abweichung: eine Probe anstatt von drei parallelen Proben) wurde ein Muster der Probe auf Zytotoxizität geprüft. Hierzu wurde ein subkonfluentes Monolayer von L-929 Zellen (Passage Nr. 9 einer DSMZ-Kultur: DSM ACC2, mouse connective tissue fibroblasts clone of strain L) in einer Kulturschale angezogen. Da es sich bei der Probe um ein Öl handelt, wurde eine Metallplatte als Trägersubstanz in diese Probe eingetaucht und für eine Stunde unter einer Sterilbank stehen gelassen. Nach Sterilisation (121°C, 20min, Dampf) wurde von dieser mit dem Muster benetzten Platte ein Extrakt in Zellkulturmedium mit Serumzusatz (37°C, 24 h) erstellt (50,0 cm², Oberfläche zu Medium-Volumen: 3 cm²/ml). Das Zellkulturmedium (RPMI 1640, lot 1770766) wurde mit 10% v/v fötalem Kälberserum (FBS, lot 1741708) und 100 U/ml Penicillin und 100 µg/ml Streptomycin (lot 1759447) versehen. Alle Komponenten wurden bei Life Technologies (Invitrogene) GmbH, Darmstadt erworben. Dieser Extrakt wurde unverdünnt und 1:2, 1:4 bzw. 1:8 in Zellkulturmedium verdünnt in den Test eingesetzt und für zwei Tage mit den vitalen Zellen inkubiert. Anschließend wurde die Reaktivität am Mikroskop bzw. die Vitalität durch MTT-Färbung bestimmt. Als Kontrolle wurde eine nicht benetzte Metallplatte in dem Zytotoxizitätstest parallel getestet (1608.0907). Die sich daraus ergebenden Werte für die Vitalität der Zellen nach Kontakt mit dem Extrakt der Kontrollplatte wurde auf 100% gesetzt und die Werte der Vitalität der Zellen nach Kontakt mit dem Extrakt der Metallplatte, die mit dem Muster benetzt worden war, auf die Werte der Kontrolle bezogen. Die Eignung des Testsystems wurde durch entsprechende Negativ- und Positiv-Kontrollen bestätigt.

Probe-Nr.	Probe	Quantitative Auswertung % Vitalität (ISO)	Qualitative Auswertung reactivity grade (USP)
1608.0908	Spezialöl 6040 GTL Lot: 1615020	106+/-1,6%	0 (no reactivity)

Mikroskopie/Qualitative Evaluation: Weniger als 10% der Zellen waren geschädigt (entspricht no reactivity), keine Zellyse und zellfreie Stellen wurden beobachtet.

Quantitative Evaluation: Da die Vitalität der Zellen über 90% liegt, wird die Probe als NICHT ZYTOTOXISCH bewertet.

Qualitativ: Die Reaktivität des Extrakts charakterisiert die Probe als der USP<87> entsprechend.

ZUSAMMENFASSUNG: Die Bewertung der Probe ergibt, dass sie KEIN ZYTOTOXISCHES POTENTIAL aufweist.

Dr. Christian Draing, Prüfleiter

Konstanz, den 19.08.2016

Zwisler Laboratorium GmbH, Blarerstraße 56, D-78462 Konstanz

ZET Chemie GmbH
Herr Helmut Baur (Auftraggeber)
Heisenbergstrasse 3
D-89584 Ehingen/Donau

Fax 07391-7008-31

D-78462 Konstanz
Durch DAkkS akkreditiertes Labor
DAkkS: D-PL-13207-01



 Anerkennung: ZLG-AP-303.10.34
www.zlg.de
Zentralstelle der Länder für Gesundheitsschutz
bei Arzneimitteln und Medizinprodukten

GLP Good Laboratory Practice
Statement of GLP Compliance

Prüfbericht Nr. 1608.0908

Die Probenahme und Prüfung der Proben erfolgte gemäß den Angaben unter 'Probendaten' bzw. 'Prüfverfahren'. Angaben zur Meßunsicherheit und amtliche Normen zu den Untersuchungsmethoden können beim Prüfleiter eingesehen werden.

Befunde

Spezialöl 6040 GTL

Reactivity	grade 0/0/0/0/0	at 100% extract
Vitality	mean 106 +/-1.6%	at 100% extract
Vitality	103/107/106/107/105/ 106%	at 100% extract
Reactivity	grade 0/0/0/0/0	at 50% extract
Vitality	mean 104 +/-1.9%	at 50% extract
Vitality	108/104/104/102/103/ 103%	at 50% extract
Reactivity	grade 0/0/0/0/0	at 25% extract
Vitality	mean 88 +/-1.7%	at 25% extract
Vitality	88/68/88/86/90/89%	at 25% extract
Reactivity	grade 0/0/0/0/0	at 12.5% extract
Vitality	100/99/103/101/101/1 01%	at 12.5% extract
Vitality	mean 101 +/-1.1%	at 12.5% extract

Negative Control (LDPE)

Reactivity	grade 0/0/0/0/0	at 100% extract
Vitality	103/102/101/100/104/ 107%	at 100% extract

Positive Control (ZDEC)

Reactivity	grade 4/4/4/4/4	at 100% extract
Vitality	1/1/1/1/1%	at 100% extract
Reactivity	grade 4/4/4/4/4	at 50% extract
Vitality	1/1/1/1/0%	at 50% extract

Reactivity grade 4/4/4/4/4/4 at 25% extract
Vitality 4/4/4/4/4/4% at 25% extract
Reactivity grade 1/1/1/1/1/1 at 12.5% extract
Vitality 90/87/90/90/88/96% at 12.5% extract

Positive Control for Diffuse Reaction

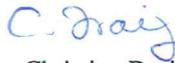
Reactivity grade 2/2/2/2/2/2 at 0.05% phenol
Vitality 62/59/58/57/57/57% at 0.05% phenol
Reactivity grade 4/4/4/4/4/4 at 0.225% phenol
Vitality 1/1/1/1/2/1% at 0.225% phenol

Prüfverfahren	Cytotoxic Effect	ISO 10993-5, USP<87>, ZLG	cytotox-3e.doc, Vers. 13
	Extraction	ISO 10993-5, ZLG	cytotox-3e.doc, Vers. 13

Probandaten: Nummer 1608.0908, Charge 1615020, Probeneingang 04.08.2016, Prüfbeginn 09.08.2016, Prüfende 12.08.2016, Verkehrsbezeichnung 'inactive medical device', Medizinprodukt, Probenahme am 11.07.2016, hergestellt durch ZET Chemie GmbH, die Probenahme erfolgte durch Auftraggeber, Verpackungseinheit 0,25l, 1 Einheit, Zustellungsart GLS, Temperatur bei Anlieferung 26°C,

Das Zeichen '<' bedeutet 'weniger als der angegebene Wert', '>' bedeutet 'mehr als der angegebene Wert'. Nachgewiesene Keime sind durch '+ n.' markiert. Der Vermerk 'n.n.' bedeutet, der Keim wurde nicht nachgewiesen. Mit '§' gekennzeichnete Messwerte liegen über dem Grenzwert 'M'. Durch 'A' gekennzeichnete Prüfverfahren sind außerhalb des akkreditierten Bereichs; durch 'U' gekennzeichnete Prüfverfahren werden im Unterauftrag durchgeführt. Die Prüfergebnisse beziehen sich ausschließlich auf die Probe und nicht auf das ganze Los, die Produktionscharge, etc. Dieser Prüfbericht darf nur mit Erlaubnis des Laboratoriums als Ganzes mit Adresse, Unterschrift auf der letzten Seite und den Ergebnissen von 1 Probe (Nummer 1608.0908) vervielfältigt oder veröffentlicht werden.

Zur ständigen Verbesserung unserer Dienstleistung bitten wir Sie um Ihre Rückmeldung. Sind Sie mit unserer Dienstleistung zufrieden oder können wir etwas daran verbessern? Für Anregungen und Kommentare sind wir dankbar und freuen uns auf eine weiterhin erfolgreiche Zusammenarbeit



Dr. Christian Draing, Prüfleiter

Konstanz, den 19.08.2016

Explanation of the evaluation of test specimen (according to SOP Cytotox-3e, version 13)

Observations for cytotoxicity are evaluated using a reactivity scale from 0 to 4 based on USP <87> (a) and using a cytotoxicity scale based on ISO 10993-5 (b). Additionally an internal comment of the laboratory is added (c).

a) USP<87>: Microscopy/Qualitative Evaluation:

0	None reactivity	Discrete intracytoplasmatic granulas, no cell lysis is observed.
1	Slight	10% to 20% of the cells are round, loosely attached, and without intracytoplasmatic granulas. Some lysed cells are present.
2	Mild	Not more than 50% of the cells are round and devoid of intracytoplasmatic granulas. No extensive cell lysis and empty areas between cells are observed.
3	Moderate	Not more than 70% of the cell monolayer contain rounded cells or are lysed.
4	Severe	Nearly complete destruction of cell monolayer.

b) ISO 10993-5: Quantitative Evaluation

Non cytotoxic	sample extract which results in a cell viability above 70%
Cytotoxic	sample extract which results in a cell viability below 70%

c) internal comment of the laboratory: Quantitative Evaluation

0	Non cytotoxic	sample extract which results in a cell viability above 90%
1	Slight reactivity, non cytotoxic	sample extract which results in a cell viability above 70%
2	Slight cytotoxic	sample extract which results in a cell viability between 50% - 70%
3	Cytotoxic	sample extract which results in a cell viability between 30% - 50%
4	Severe cytotoxic	sample extract which results in a cell viability below 30%