

FİRMA ADI : **ERFECEN MEDİKAL MALZEMELERİ SANAYİ TİCARET LİMİTED**
ŞİRKETİ
Company Name

ADRESİ : **CUMHURİYET MAH. NEHİR SK. NO:60 ŞİŞLİ - İSTANBUL /**
TÜRKİYE
Address

TESTİN ADI : **Vücut Dışı Sitotoksosite Testi**
Test Name

TEST STANDARDI : **ISO 10993-5**
Test Standart

LOT NUMARASI : **E011021**
Lot Number:

TİCARİ MARKA (VARSA) : **Erfecen**
Commerical Brand (If You Have)

ÜRÜN ADI: **Burun Deliği Şekillendirici**
Name of the Product

RAPOR NUMARASI: **2021-02/BIYO/1449E-002**
Report Number



BİYOUYUMLULUK TEST SORUMLUSU

Vet. Hekim Simge GARLI

**MEDICERT ULUSLARARASI ÜRÜN VE SİSTEM
BELGELENDİRME BAĞIMSIZ DENETİM
VE EĞİTİM HİZMETLERİ LTD. ŞTİ.**
Tersane Mah. Cemal Gürsel Cad. No: 11/3
Halide Hanım Apt. Karşıyaka / İZMİR
Tel: 0232 327 33 44 Fax: 0232 327 33 45
Karşıyaka V.D: 613 073 9815

SİTOTOKSİSİTE TEST ANALİZ RAPORU

TESTİN ADI

TS EN ISO 10993-5 Standardına Göre Yapılmış
Vücut Dışı Sitotoksosite Testi

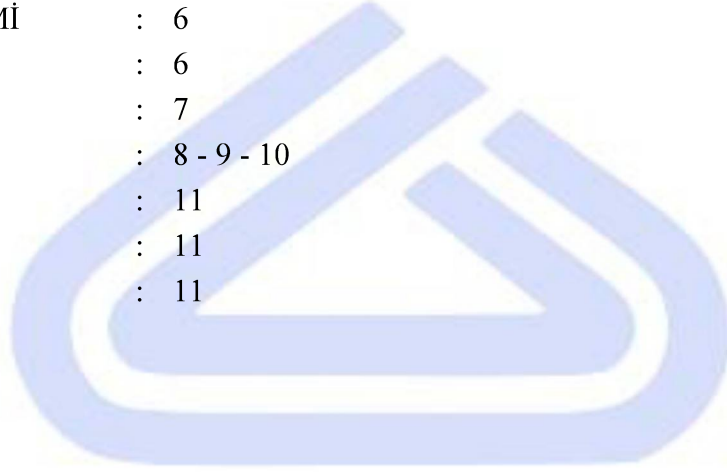
TESTİ TALEP EDEN KURUM VE NUMUNE ADI

Erfecen Medikal - **Burun Deliği Şekillendirici**

M E D I C E R T

RAPOR İNDEKSİ

KAPAK	: 1 - 2
İNDEKS	: 3
ÖZET	: 4
GİRİŞ	: 5
NUMUNEYE AİT BİLGİLER	: 5
TEST SİSTEMİ	: 6
ÖZÜTLEME YÖNETİMİ	: 6
MALZEMELER	: 6
METOT	: 7
DEĞERLENDİRME	: 8 - 9 - 10
SONUÇ	: 11
KAYITLAR	: 11
REFERANSLAR	: 11



M E D I C E R T

ÖZET:

E011021 lot numaralı Burun Deliği Şekillendirici numunesine TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi – Bölüm 5: Vücut dışı sitotoksosite deneyleri standardına göre biyoyoumluluk testi uygulanmıştır. Numuneler TS EN ISO 10993-12 Tıbbî cihazların biyolojik değerlendirilmesi- Bölüm 12: Numune hazırlama ve referans malzemeler standardına göre özütleme yapılacak şekilde hazırlanmıştır. L929 hücreleri, 96 oyuklu plaklara ekilmiştir ve yarı konfluent tek tabaka oluşturmak üzere 24 saat boyunca kültür içinde tutulmuştur. 24 saat maruz bırakıldıktan sonra her bir muamele için büyüme inhibisyon yüzdesi hesaplanmıştır. Bu çalışma şartlarında numune özütün hücreler üzerinde **sitotoksik etkisi olduğuna dair kanıt görülmemiştir.**



M E D I C E R T

1.GİRİŞ

Amaç: Bu test aşağıda tanımlanan numunenin memeli hücreleri ile indirek teması halinde mitokondrial dehidrojeniz yolu ile hücrelerin yaşayabilirliğinin ölçülmesini değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Test Kılavuzu: Bu çalışma Uluslararası Standardizasyon Örgütü'nün gereksinimlerine göre yapılmıştır. 10993: Tıbbi Cihazların Biyolojik Değerlendirmesi, Bölüm 5: Vücut dışı sitotoksinite deneyleri.

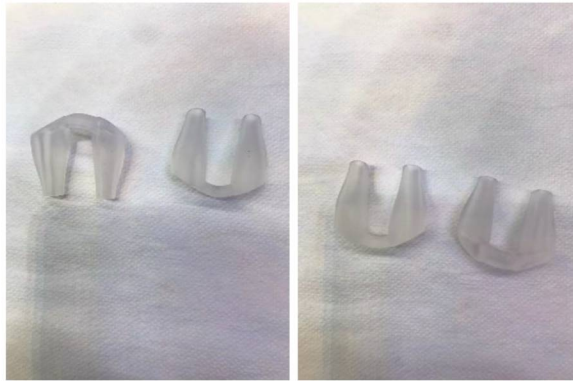
Tarihler

Numune Kabul Tarihi: 14.12.2021
Test Tarihi: 20.12.2021
Gözlem Tarihi: 20.12.2021 – 24.12.2021

2. NUMUNEYE AİT BİLGİLER

Numunenin Alındığı Kurum: Erfecen Medikal
Numunenin Alındığı Tarih ve Saati: 14.12.2021 16:22
Numune Kayıt Numarası: ERFCN0001/2021
Numune Lot Numarası: E011021
Numune Sayısı: 6
Numunenin Alındığı Sıradaki Durumu: KAPALI PAKET
Numunenin Getiriliş Şekli: KARGO
Numunenin Son Kullanım Tarihi: 11/2026
Numunenin Üretim Tarihi: 11/2021
Numunenin Tanımı: Burun Deliği Şekillendirici
**Numunenin Özellikleri,
Kullanımı / Uygulaması:**

Numune Görseli:



3. TEST SİSTEMİ

- Testte Kullanılan Hücre Hattı** : L2929 (Fare Fibroblast Hücresi) hücre hattı kullanılmıştır.
- Kültür Ortamı** : DMEM+L-Glutamin, Fetal Bovine Serum, Penisilin-Streptomisin
- Kör Kontrol (Blank)** : Steril hücre kültürü ortamı
- Negatif Kontrol** : Polietilen Kryo Tüp + Hücre
- Pozitif Kontrol** : Lanolin + Hücre

4. ÖZÜTLEME YÖNETİMİ

- Özütleme Standardı:** Numunenin özütleme işlemleri TS EN ISO 10993 - 12 standardında belirtilen şekilde yapılmaktadır.
- Özütleme İşlemleri:** Numune içinden alınan örnekler, standartta belirtilen ölçülerde %10 serumlu hücre ortamı içerisinde 24 saat, 37°C'de, 50 rpm hızda salınım yapan su banyosunda bekletilir, özütleme sonlandırılır ve 24 saat içinde kullanılır.

5. MALZEMELER

- Cihazlar ve Sarf Malzemeler** : -20°C derin dondurucu, -80°C derin dondurucu, Laminaar Hava Kabini, Santrifuj, Mikropipet, İnvirt Mikroskop Sıvı Azot Tankı, Karbondioksit İnkübatörü, Vortex (Karıştırıcı)
- Kimyasallar, Standart Malzemeler ve Reaktifler** : MEM, DMEM, TOX2 in vitro toxicology assay kit, XTT based, L-glutamin, Penisilin-streptomisin, Trypsin/EDTA, DMSO (Dimetilk Sülfoksit), FBS (Fetal Sığır Serumu), Phosphate Buffer Saline, Hemositometre lamı, Sodyum Hidrojen Bikarbonat

6. METOT

6.1 Nitel Değerlendirme

- Hücreler 96 kuyucuklu plaklara ekilerek confluent hale gelmesi beklenmiştir.
- Sonraki aşamada ise; 37°C %5 CO₂ inkübatöründe 24 saat boyunca – control + control ve numune özütlerine hücreler maruz bırakılmıştır.
- Inkübasyon sonrası ise mikroskopik inceleme gerçekleştirilmiş ve TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi Standardına göre değerlendirilmiştir.

6.2 Nicel Değerlendirme

- TS EN ISO 10993-5 / XTT Sitotoksosite Deneyi Standardına göre 96 kuyucuklu plaklara 100/kuyucuk olarak sayılarak ekilen hücreler 24 saat inkübe edilerek %80 konfluensi sağlanmıştır.
- Sonraki aşamada numune özütün 1/1 – dilüsyonlarına 4 saat süresince maruz bırakılmıştır.
- Süreç sonunda 1 mg/mL olarak hazırlanan XTT kuyucuklara eklenerek plakalar 3 saat, 37°C %5 CO₂ inkübatöründe bekletilmiştir.
- Deney, kuyucuklara isopropilalkol eklenerek sonlandırılmıştır.
- Plakalarda oluşan renk değişikliği spektrotometrede (570-650 nm) ölçülerek %canlılık değerleri hesaplanmıştır.

7. DEĞERLENDİRME

7.1 Nitel Değerlendirme

TS EN ISO 10993-5 / XTT Sitotoksinite Deneyi Standardı dikkate alınarak hazırlanan Tablo 1 dikkate alınarak nitel değerlendirme yapılmıştır.

Tablo 1. Özütlerin sitotoksinitesinin nitel morfolojik derecelendirilmesi

DERECE	REAKSİYON	KÜLTÜRLERİN DURUMLARI
0	Yok	<ul style="list-style-type: none">• Ayrık stoplazma içi granüller• Hücre yıkımı yok• Hücre çoğalmasında azalma yok
1	Çok az	<ul style="list-style-type: none">• Hücrelerin % 20'sinden daha fazlası yuvarlak olmayan, zayıf tutunmuş ve sitoplazma içi granül içermeyen veya morfolojide değişiklikler gösteren, nadiren yıkıma uğramış hücreler var• Sadece hafif büyüme inhibisyonu gözlemlenir
2	Hafif	<ul style="list-style-type: none">• Yuvarlak hücre sayısı %50'den daha az• Sitoplazma içi granül yok• Aşırı hücre yıkımı yok• Gözlenebilir hücre inhibisyonu %50'den daha fazla değil
3	Orta	<ul style="list-style-type: none">• Yuvarlak ve yıkıma uğramış hücre sayısı hücre katmanının %70'inden daha fazla değil• Hücre katmanları tamamen parçalanmış değil• Gözlemlenebilir hücre inhibisyonu %50'den daha fazla
4	Şiddetli	<ul style="list-style-type: none">• Hücre katmanlarının tamamı veya tamamına yakını yıkıma uğramış

Tablo 2. - kontrol, + kontrol ve numuneye ait reaksiyon ve nitel değerlendirme

TEST MATERYALİ	REAKSİYON	KÜLTÜRLERİN NİTEL DEĞERLENDİRİLMESİ
NEGATİF KONTROL	0	<ul style="list-style-type: none">• Ayrık stoplazma içi granüller• Hücre yıkımı yok• Hücre çoğalmasında azalma yok
POZİTİF KONTROL	4	<ul style="list-style-type: none">• Hücre katmanlarının tamamı veya tamamına yakını yıkıma uğramış
NUMUNE	0	<ul style="list-style-type: none">• Ayrık stoplazma içi granüller• Hücre yıkımı yok• Hücre çoğalmasında azalma yok

M E D I C E R T

7.2 Nicel Değerlendirme

Tablo 3. XTT Test Sonuçları

DİLÜSYON ORANLARI		%100	%75	%50	%25
TEST NUMUNESİ	1.TEKRAR	1,108	1,002	1,003	1,330
	2.TEKRAR	1,023	1,071	1,171	1,298
	3.TEKRAR	1,100	1,074	1,017	1,258
	ORTALAMALAR	1.077	1.049	1.063	1.295
POZİTİF KONTROL	1.TEKRAR	0,146	0,176	0,222	0,280
	2.TEKRAR	0,128	0,134	0,244	0,295
	3.TEKRAR	0,136	0,112	0,265	0,213
	ORTALAMALAR	0.136	0.140	0.243	0.262
NEGATİF KONTROL (%100 EKSTRAKT)	1.TEKRAR	1,138	-	-	-
	2.TEKRAR	1,155	-	-	-
	3.TEKRAR	1,156	-	-	-
	ORTALAMALAR	1.149			

Viab.% = 100x OD450e/OD450b

OD450e: % 100 numune ekstraktının optikal yoğunluk ortalama değeri

OD450b: blanklerin optikal yoğunluk ortalama değeri

Test Numunesi Viab.% = %93

Pozitif Kontrol Viab.% = %11

Negatif Kontrol Viab.% = %108

8. SONUÇ

Nitel değerlendirme sonucu; TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi bölüm 5 vücut dışı sitotoksiste deneyleri standardında belirtilen protokol ve değerlendirme kriterleri esas alındığında; Tablo 3’de de belirtildiği gibi negatif kontrol hücreler üzerinde toksik etki göstermemekte (0), pozitif kontrol yüksek toksik etki göstermekte (4), numune özütü ise toksik etki göstermemektedir. Standartta belirtilen kriterler doğrultusunda hazırlanan Tablo 1’de belirtilen skorlama dikkate alındığında deney numunesi olan “Burun Deliği Şekillendirici ” ürününün **sitotoksik etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir.**

Nicel değerlendirme sonucu; TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi bölüm 5 vücut dışı sitotoksiste deneyleri standardında belirtilen protokol ve değerlendirme kriterleri esas alındığında; Tablo 4’de de belirtildiği gibi negatif kontrol ve pozitif kontrol sonuçlar dikkate alındığında test geçerlilik kriterlerinin sağlandığı görülmektedir. Deneyde numune özütünün 1/1 dilüsyonlarının hücreler üzerine olan etkileri incelenmiş, numuneden elde edilen özütün tam dilüsyonu (1/1) ile canlılık %93 olarak tespit edilmiştir. Standartta belirtilen kriterler doğrultusunda; canlılık oranı körden elde edilen değerlerin %70’nin üzerinde olduğu belirlenmiş bu sebeple deney numunesi olan “Burun Deliği Şekillendirici ” ürününün **sitotoksik etkiye sahip olmadığı** tespit edilmiştir.

9. KAYITLAR

Bu çalışma ile ilgili tüm ham veriler ve nihai raporun bir kopyası Medicert arşiv dosyalarında saklanır.

10. REFERANSLAR

- Guide For The Care And Use Of Laboratory Animals Eighth Edition National Research Council of The National Academies
- TS EN ISO 10993-1 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi - Bölüm 6: Bir risk yönetim sürecinde değerlendirme ve deney
- TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi - Bölüm 5: Vücut dışı sitotoksiste deneyleri
- TS EN ISO 10993-12 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi - Bölüm 12: Numune hazırlama ve referans malzemeler