

Firma Adı Company Name	AVAS KOZMETİK SANAYİ VE TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ		
Firma Adresi Company Address	GÖKEVLER MAH. 2331 SK. PASİAD NO. 1 D ESENYURT - İSTANBUL / TÜRKİYE		
Testin Adı Test Name	Vücut Dışı Sitotoksosite Testi		
Test Standardı Test Standard	TS EN ISO 10993-5-2010		
Ticari Marka (Varsa) Commercial Brand (If You Have)	Felix Filler		
Numunenin Adı ve Tarifi Description of the Sample	1 cc Felix Filler Dolgu		
Lot Numarası Lot Number	AVAS012023-1		
Numune Kayıt Numarası Sample Registration Number	FLXFHA/202302	Numune Kabul Tarihi Sample Acceptance Date	27.02.2023
Rapor Numarası Report Number	2023-03/BIYO/1532HA-VDS	Rapor Tarihi Date of Report	09.03.2023
Deney Tarihi Date of Test	01.03.2023 - 08.03.2023		
Raporun Sayfa Sayısı Report Total Page	9 Sayfa / Page		

Bu deney raporu, yukarıda yazılı Numune Kabul Kayıt Numaralı talebe istinaden yapıları deney sonucunda ilgili Rapor Numarası ile hazırlanmıştır. Bu deney raporu, deney yapılan cihazdan alınan sonuç çıktısıyla birlikte yukarıda belirtilen sayfa sayısındadır. Sonuçlar yukarıda adı ve kayıt numarası yazan numuneye aittir. Deney sonuçları cihaz çıktısı (varsa) ve MEDICERT tarafından verilen bu raporla birlikte bir bütün olduğundan rapordan bölümler halinde alıntı yapılamaz. Bu rapor 1 adedi müşteriye verilmek üzere, 1 adedi de MEDICERT 'de kalmak üzere 2 adet hazırlanmıştır. Sonuç raporu deney yapan personel ve laboratuvar sorumlusu tarafından imzalanır. Cihaz çıktıları ise paraflanır, imza ve paraf bulunmayan rapor geçersizdir. Rapor çoğaltılması işlemi MEDICERT 'in sorumluluğundadır. Haricinde raporun tamamı veya bir kısmı çoğaltılamaz. Sonuç raporu MEDICERT 'in onayı alınmadan ticaret ve reklam amaçlı kullanılamaz. Medicert Test Laboratuvarı, Amerika Birleşik Devletleri merkezli onaylanmış kuruluş olan IAKS tarafından akredite edilmiştir. Akreditasyon numarası IAKS-TL-1018'dir.

This test report has been prepared with the relevant report number as the result of the test made at the request of the customer. This test report is the number of pages mentioned above together with the result from the experiment device. The results belong to the sample with the above name and registration number. Since the test results are whole with output from the device and report given by MEDICERT, they cannot be quoted in sections from test results. This report has been prepared in duplicate to be given to a customer and one to stay in MEDICERT. The test report is signed by the laboratory staff and the laboratory officer. The device outputs are signed with initials of the responsible persons. The report without signature and paraphrase is invalid. The process of replicating the reports is the MEDICERT responsibility. The test report may not be reproduced in whole or in part. Medicert Test Laboratory is accredited by IAKS, a notified body based in the United States of America. The accreditation number is IAKS-TL-1018.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	3
GİRİŞ	4
NUMUNEYE AİT BİLGİLER	4
TEST SİSTEMİ	5
ÖZÜTLEME YÖNETİMİ	5
MALZEMELER	5
METOT	6
Nitel Değerlendirme	6
Nicel Değerlendirme	6
DEĞERLENDİRME	6
Nitel Değerlendirme	6
Nicel Değerlendirme	8
SONUÇ	9
KAYITLAR	9
REFERANSLAR	9

ÖZET

AVAS012023-1 lot numaralı 1 cc Felix Filler Dolgu numunesine TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi Bölüm 5: Vücut dışı sitotoksisite deneyleri standardına göre biyouyumluluk testi uygulanmıştır. Numuneler TS EN ISO 10993-12 Tıbbî cihazların biyolojik değerlendirilmesi- Bölüm 12: Numune hazırlama ve referans malzemeler standardına göre özütlenme 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 indirekt temas halinde mitokondriyal dehidrogenaz yolu ile hücrelerin yaşayabilirliğinin ölçülmesini değerlendirmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Test Kılavuzu: Bu çalışma Uluslararası Standardizasyon Örgütünün gereksinimlerine göre yapılmıştır. 10993: Tıbbi Cihazların Biyolojik Değerlendirmesi, Bölüm 5: Vücut dışı sitotoksosite deneyleri.

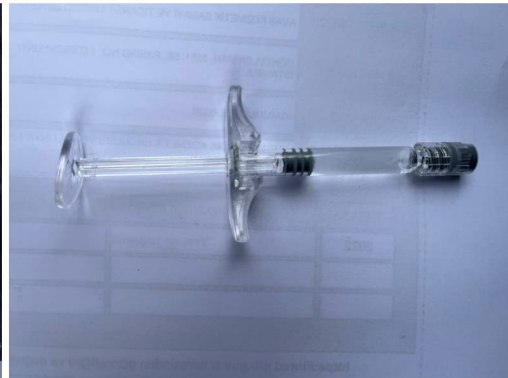
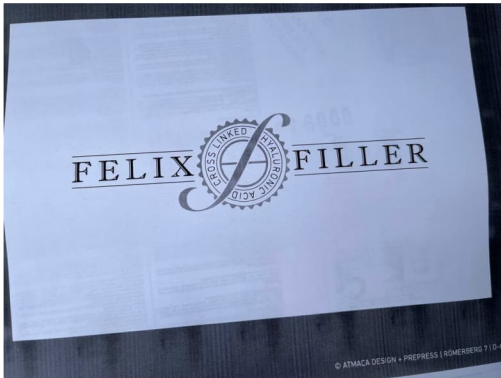
Tarihler

Numune Kabul Tarihi : 27.02.2023
Test Tarihi : 01.03.2023
Gözlem Tarihi : 01.03.2023 - 08.03.2023

2. NUMUNEYE AİT BİLGİLER

Numunenin Alındığı Kurum : Avas Kozmetik
Numunenin Alındığı Tarih ve Saati : 27.02.2023 13.05
Numune Kayıt Numarası : FLXFHA/202302
Numune Lot Numarası : AVAS012023-1
Numune Sayısı : 4
Numunenin Alındığı Sıradaki Durumu : KAPALI PAKET
Numunenin Getiriliş Şekli : KARGO
Numunenin Son Kullanım Tarihi : 17.01.2028
Numunenin Üretim Tarihi : 17.01.2023
Numunenin Tanımı : Bir şırınga 1 cc Felix Filler dolgu maddesi içermektedir.
Numunenin Özellikleri, Kullanımı / Uygulaması : Cross linked hyaluronic acid

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 Cryo 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, Laminar Hava Kabini, Santrifüj, Mikropipet, İnvert 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 (Dimetil Sülfoksit), FBS (Fetal Sığır Serum), 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.
- ★ İnkübasyon 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 konfluens 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 izopropil alkol eklenerek sonlandırılmıştır.
- ★ Plakalarda oluşan renk değişikliği spektrofotometrede (570-650 nm) ölçülerek % canlılık değerleri hesaplanmıştır.

7. DEĞERLENDİRME

7.1. Nitel Değerlendirme

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

Tablo 1. Özütlerin sitotoksitesinin nitel morfolojik derecelendirilmesi

DERECE	REAKSİYON	KÜLTÜRLERİN DURUMLARI
0	Yok	★ Ayrık sitoplazma içi granüller ★ Hücre yıkımı yok ★ Hücre çoğalmasında azalma yok
1	Çok az	★ 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	★ 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	★ 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	★ 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	★ Ayrık sitoplazma içi granüller ★ Hücre yıkımı yok ★ Hücre çoğalmasında azalma yok
POZİTİF KONTROL	4	★ Hücre katmanlarının tamamı veya tamamına yakını yıkıma uğramış
NUMUNE	0	★ Ayrık sitoplazma içi granüller ★ Hücre yıkımı yok ★ Hücre çoğalmasında azalma yok

7.2. Nicel Değerlendirme

Tablo 3. XTT Test Sonuçları

DİLÜSYON ORANLARI		%100	%75	%50	%25
1 cc Felix Filler Dolgu	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			

$$\text{Viab. \%} = 100 \times \frac{\text{OD}_{450e}}{\text{OD}_{450b}}$$

OD_{450e} : %100 numune ekstraktının optikal yoğunluk ortalama değeri

OD_{450b} : Blank'lerin 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 sitotoksosite 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 “1 cc Felix Filler Dolgu” ürününün **sitotoksik etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir.**

Nicel değerlendirme sonucu; TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi bölüm 5 vücut dışı sitotoksosite 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 kördan elde edilen değerin %70’nin üzerinde olduğu belirlenmiş bu sebeple deney numunesi olan “1 cc Felix Filler Dolgu” **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 Sitotoksosite Deneyleri
- ❖ TS EN ISO 10993-12 Tıbbi Cihazların Biyolojik Değerlendirilmesi - Bölüm 12: Numune Hazırlama ve Referans Malzemeler

Laboratuvar Sorumlusu
Responsible for Laboratory

Vet. Hek. Simge GARLI



Laboratuvar Müdürü
Laboratory Manager

Erol ÜSTÜN

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

Numune Kabul Sorumlusu
Sample Acceptance Officer

Gonca AÇILMIŞ



09.03.2023