

Rapor Numarası (Report Number)	: 2019-C-2659	Rapor Tarihi (Date of Report)	:01/11/2019
Analizin Amacı (Purpose of Analysis)	: Sitotoksiste Testi		
Müşteri Adı/Adresi (Customer name/address)	: ERCİYES İLAÇ BİTKİSEL DESTEK ÜRÜNLERİ ARGE SANAYİ TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ		
Numunenin Adı ve Tanımı (Name and identity of test item)	: ES-EtOH Bitki Ekstresi (Colo Hücre Hattı)		
Numune Tutanak No (Number of record of the sample)	:		
Numune Parti No / Parti Büyüklüğü (Code of Sample)	:		
Numunenin Ambalajı/Miktarı (Package of Sample/Quantity)	: 3 Adet		
Numunenin Kabul Tarihi (Date of receipt of test item)	: 21/10/2019		
Analiz Başlama ve Bitiş Tarihi (Date of Test/End of test)	: 23/10/2019 - 30/10/2019		
Raporun Sayfa Sayısı (Number of pages)	: 4		

Yapılan Analizler (Analysis)	Birim (Unit)	Sonuçlar (Result)	Ölçüm Limiti (Limit Of Measurement)	Geri Kazanım (Recovery)	Ölçüm Belirsizliği (Uncertainty of Meas.)	Analiz Metodu (Analysis Method)	Değ. (Com.)
1-*In vitro Sitotoksiste Testi		Sitotoksiktir (≥25 µg/mL)				TS EN ISO 10993-5 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 5: İn vitro Sitotoksiste için Test TS EN ISO 10993-12 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 12 : Test numunesi Hazırlama ve Referans Materyeller.	U

Açıklama:**1. DENEY ORTAMI**

Hücre Hattı : Colo (Kolon kanseri) hücre hattı kullanılmıştır.

Kültür Ortamı : DMEM+ L-Glutamin

Fetal Bovine Serum

Penisilin- Streptomisin

Kör Kontrol (Blank) : Steril hücre kültürü ortamı

2. ÖZÜTLEME YÖNTEMİ

TS EN ISO 10993-12 standardına göre özütleme yapıldı. Numuneler, standartta belirlenen büyüklükte, %10 serumlu hücre kültürü ortamı içerisinde 24 saat, 37° C'de, 50 rpm hızda salınım yapan su banyosunda bekletildi. Daha sonra özütleme sonlandırılarak elde edilen özüt 24 saat içinde kullanıldı.

3. ANALİZ YÖNTEMİ

Nicel Değerlendirme:

Çalışmada, "TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi" standardına göre uygulandı. 96 kuyucuklu plakalara 10.000 hücre/kuyucuk olarak sayılarak ekilen hücreler 24 saat inkübe edilerek %80 konfluensi sağlandı. Daha sonra hücreler, numunenin farklı konsantrasyonlarına 24 saat süresince maruz bırakıldı.

Süreç sonunda 1mg/mL olarak hazırlanan ve farklı derecelerde seyreltilen özüt XTT kuyucuklara eklenerek plakalar 24 saat, 37° C, % 5 CO₂ etüvde bekletildi. Deney, kuyucuklara isopropil alkol eklenerek sonlandırılarak plakalarda oluşan renk değişikliği spektrofotometrede (450-650nm) ölçülerek % Canlılık değerleri hesaplandı.

4. TEST SONUÇLARI

Nicel Değerlendirme:

(TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi)

Tablo 1. XTT Test Sonuçları

DİLÜSYON ORANLARI							
TEST NUMUNESİ	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	0,061	0,063	0,071	0,178	0,398	0,43	0,53
2. TEKRAR	0,061	0,062	0,071	0,173	0,39	0,432	0,56
3. TEKRAR	0,06	0,061	0,07	0,178	0,438	0,428	0,48
ORTALAMALAR	0,061	0,062	0,071	0,176	0,409	0,430	0,523
Blank (%100 Besiyeri, %0 Numune)	A2	A3	A4	A5	A6	A7	
	0,577	0,62	0,624	0,654	0,542	0,612	
	H2	H3	H4	H5	H6	H7	
	0,577	0,41	0,45	0,58	0,64	0,605	
ORTALAMALAR				0,574			

Viab.%=100 X OD450e/OD450b

OD450e : Numune özütünün optikal yoğunluk ortalama değeri

OD450b : Blanklerin optikal yoğunluk ortalama değeri

Test Numunesi Viab.% :

Blank (Besiyesi) Viab.% : % 100

Canlılık (%) Oranları							
TEST NUMUNESİ	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	10,62	10,97	12,36	31	69,31	74,88	92,29
2. TEKRAR	10,62	10,8	12,36	30,13	67,91	75,23	97,52
3. TEKRAR	10,45	10,62	12,19	31	76,27	74,53	83,59
ORTALAMALAR	10,56	10,80	12,30	30,71	71,16	74,88	91,13

YORUM :

1. Test, "TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi-bölüm 5: vücut dışı sitotoksikite deneyleri" standartında belirtilen şekilde uygulanmıştır.

2. Nicel değerlendirme metodu olarak "TS EN ISO 10993-5/XTT Sitotoksikite Deneyi" kullanılmış olup elde edilen sonuçlar (Tablo. 1) istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Blank kuyucuklara hücrelerin normal canlılıklarını gözlemlemek amacıyla yalnızca besiyeri (DMEM) uygulanmıştır. Bu testte test geçerlilik kriterlerinin sağlandığı görülmektedir.

Bu deneyde numune özütü 100 µg/mL konsantrasyonunda hazırlanmış ve bu özüt %100 olarak kabul edilmiştir. Bu numuneden sırası ile %75 (75 µg/mL), %50 (50 µg/mL), %25 (25 µg/mL), %10 (10 µg/mL), %5 (5 µg/mL) ve %1 (1 µg/mL) oranlarında seyreltmeler yapılarak alt konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Bu özütlerin Colo hücreleri üzerine sitotoksik etkileri incelenmiş olup; canlılık bulgularımız yalnızca besiyeri uygulanan kontrol grubuna göre % olarak ifade edilmiştir.

Kullanılan standarta göre bu değer %70 değerinden az olması sitotoksikite göstergesi olduğundan **numune özütünün 25 µg/mL - 100 µg/mL konsantrasyonlarında Colo hücreleri üzerine sitotoksik (antiproliferatif) etkisi bulunduğu** görülmektedir.

AB-0953
2019-C-2659
11-2019

Rapor Numarası (Report Number)

: 2019-C-2659

Rapor Tarihi (Date of Report)

:01/11/2019

(*) Analiz Metodu Akreditasyon kapsamındadır. (*) Analysis method is in scope of accreditation.

Değerlendirme (Evaluation):

Yapılan muayene ve analiz sonucunda yukarıda belirtilen tespit edilmiştir. (The above mentioned values were determined as the result of the inspection and analysis.)

1.Bu analiz raporunun hiçbir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılamaz.İmzasız ve mühürlü raporlar geçersizdir. (No part of this analytical report can be used alone or separately. Unsigned and unsealed reports are defund.)

2.Analiz sonuçları yukarıda belirtilen numune için geçerlidir (Analysis results are valid for the above sample)

3.Gerektiğinde "Ölçüm Belirsizliği" ve "Geri Kazanım" bilgileri analiz sonuçları ile birlikte verilir. (When necessary, "Measurement Uncertainty" and "Recover" information are given together with the analysis results)

4.Adli ve idari işlemler ile reklam amacıyla kullanılamaz. İzensiz olarak kısmen çoğaltılıp yayımlanamaz. (Judicial and administrative procedures to be used for advertising purposes. It can not be partially reproduced and published without permission)

Kısaltmalar: T.E: Tespit Edilemedi, U: Uygun UD.:Uygun Değil, DY:Değerlendirme Yapılamadı Değ: Değerlendirme

Abbreviations: N.A: Not Detected A:Appropriate IA: Inappropriate AF: Assessment Failed EVL :Evaluation

Çel Mikrobiyoloji Birim Sorumlusu
Havva Lamia DEMİR



Numune Kabul ve Rapor Düzenleme Birim Sorumlusu
Nilsun ASÇI



Tasdik Olunur
01/11/2019
Mehmet Nur ERAT
Laboratuvar Müdürü



ANALİZ LABORATUVAR İZ. TİC. LTD. ŞTİ.
Çakmaklı Mah. Hadımköy Bağlantı Yolu Ufuk Plaza
No:57 Kat: 2 No:9/11 Çekmece-İSTANBUL / TÜRKİYE
Tel: 0212 806 85 05 - 06
E-posta: info@oxigenlab.com.tr

Rapor Numarası (Report Number)	: 2019-C-2660	Rapor Tarihi (Date of Report)	:01/11/2019
Analizin Amacı (Purpose of Analysis)	: Sitotoksitesite Testi		
Müşteri Adı/Adresi (Customer name/address)	: ERCİYES İLAÇ BİTKİSEL DESTEK ÜRÜNLERİ ARGE SANAYİ TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ		
Numunenin Adı ve Tarifı (Name and identity of test item)	: ES-EtOH Bitki Ekstresi (SHSY-5Y Hücre Hattı)		
Numune Tutanak No (Number of record of the sample)	:		
Numune Parti No / Parti Büyüklüğü (Code of Sample)	:		
Numunenin Ambalajı/Miktarı (Package of Sample/Quantity)	: 3 Adet		
Numunenin Kabul Tarihi (Date of receipt of test item)	: 21/10/2019		
Analiz Başlama ve Bitiş Tarihi (Date of Test/End of test)	: 23/10/2019 - 30/10/2019		
Raporun Sayfa Sayısı (Number of pages)	: 4		

Yapılan Analizler (Analysis)	Birim (Unit)	Sonuçlar (Result)	Ölçüm Limiti (Limit Of Measurement)	Geri Kazanım (Recovery)	Ölçüm Belirsizliği (Uncertainty of Meas.)	Analiz Metodu (Analysis Method)	Değ. (Com.)
1-*In vitro Sitotoksitesite Testi		Sitotoksiktir (≥5 µg/mL)				TS EN ISO 10993-5 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 5: İn vitro Sitotoksitesite için Test TS EN ISO 10993-12 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 12 : Test numunesi Hazırlama ve Referans Materyeller.	U

Açıklama:

1. DENEY ORTAMI

Hücre Hattı : SHSY-5Y (insan nöroblastoma) hücre hattı kullanılmıştır.

Kültür Ortamı : DMEM+ L-Glutamin

Fetal Bovine Serum

Penisilin- Streptomisin

Kör Kontrol (Blank) : Steril hücre kültürü ortamı

2.ÖZÜTLEME YÖNTEMİ

TS EN ISO 10993-12 standardına göre özütleme yapıldı. Numuneler, standartta belirlenen büyüklükte, %10 serumlu hücre kültürü ortamı içerisinde 24 saat, 37° C'de, 50 rpm hızda salınım yapan su banyosunda bekletildi. Daha sonra özütleme sonlandırılarak elde edilen özüt 24 saat içinde kullanıldı.

3. ANALİZ YÖNTEMİ**Nicel Değerlendirme:**

Çalışmada, "TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi" standardına göre uygulandı. 96 kuyucuklu plakalara 10,000 hücre/kuyucuk olarak sayılarak ekilen hücreler 24 saat inkübe edilerek %80 konfluensi sağlandı. Daha sonra hücreler, numunenin farklı konsantrasyonlarına 24 saat süresince maruz bırakıldı.

Süreç sonunda 1mg/mL olarak hazırlanan ve farklı derecelerde seyreltilen özüt XTT kuyucuklara eklenerek plakalar 24 saat, 37° C, % 5 CO² etüvde bekletildi. Deney, kuyucuklara isopropil alkol eklenerek sonlandırılarak plakalarda oluşan renk değişikliği spektrofotometrede (450-650nm) ölçülerek % Canlılık değerleri hesaplandı.

4. TEST SONUÇLARI**Nicel Değerlendirme:**

(TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi)

Tablo 1. XTT Test Sonuçları

DİLÜSYON ORANLARI							
TEST NUMUNESİ	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	0,06	0,062	0,07	0,178	0,327	0,328	0,46
2. TEKRAR	0,061	0,06	0,081	0,24	0,434	0,448	0,399
3. TEKRAR	0,058	0,061	0,094	0,225	0,546	0,473	0,341
ORTALAMALAR	0,060	0,061	0,082	0,214	0,436	0,416	0,400
Blank (%100 Besiyeri, %0 Numune)	A2	A3	A4	A5	A6	A7	
	0,577	0,62	0,724	0,654	0,542	0,612	
	H2	H3	H4	H5	H6	H7	
	0,577	0,41	0,459	0,582	0,644	0,596	
ORTALAMALAR				0,583			

Viab.%=100 X OD450e/OD450b

OD450e : Numune ekstraktının optikal yoğunluk ortalama değeri

OD450b : Blanklerin optikal yoğunluk ortalama değeri

Test Numunesi Viab.% :

Blank (Besiyeri) Viab.% : % 100

Canlılık (%) Oranları							
TEST NUMUNESİ	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	10,46	10,80	12,18	30,53	68,26	73,75	91,00
2. TEKRAR	10,46	10,63	12,18	30,53	48,02	74,26	94,00
3. TEKRAR	10,29	10,63	12,01	30,53	56,08	56,25	103,07
ORTALAMALAR	10,40	10,69	12,12	30,53	57,45	68,09	96,02

YORUM :

1. Test, "TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi-bölüm 5: vücut dışı sitotoksikite deneyleri" standartında belirtilen şekilde uygulanmıştır.

2. Nicel değerlendirme metodu olarak "TS EN ISO 10993-5/XTT Sitotoksikite Deneyi" kullanılmış olup elde edilen sonuçlar (Tablo. 1) istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Blank kuyucuklara hücrelerin normal canlılıklarını gözlemlemek amacıyla yalnızca besiyeri (DMEM) uygulanmıştır. Bu testte test geçerlilik kriterlerinin sağlandığı görülmektedir.

Bu deneyde numune özütü 100 µg/mL konsantrasyonunda hazırlanmış ve bu özüt %100 olarak kabul edilmiştir. Bu numuneden sırası ile %75 (75 µg/mL), %50 (50 µg/mL), %25 (25 µg/mL), %10 (10 µg/mL), %5 (5 µg/mL) ve %1 (1 µg/mL) oranlarında seyreltmeler yapılarak alt konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Bu özütlerin SHSY-5Y hücreleri üzerine sitotoksik etkileri incelenmiş olup; canlılık bulgularımız yalnızca besiyeri uygulanan kontrol grubuna göre % olarak ifade edilmiştir.

Kullanılan standarta göre bu değer %70 değerinden az olması sitotoksikite göstergesi olduğundan numune özütünün 5 µg/mL - 100 µg/mL konsantrasyonlarında SHSY-5Y hücreleri üzerine sitotoksik (antiproliferatif) etkisi bulunduğu görülmektedir.

Rapor Numarası (Report Number)

: 2019-C-2660

Rapor Tarihi (Date of Report)

:01/11/2019

(*) Analiz Metodu Akreditasyon kapsamındadır. (*) Analysis method is in scope of accreditation.

Değerlendirme (Evaluation):

Yapılan muayene ve analiz sonucunda yukarıda belirtilen tespit edilmiştir. (The above mentioned values were determined as the result of the inspection and analysis.)

1.Bu analiz raporunun hiçbir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılamaz.İmzasız ve mühürsüz raporlar geçersizdir. (No part of this analytical report can be used alone or separately. Unsigned and unsealed reports are defund.)

2.Analiz sonuçları yukarıda belirtilen numune için geçerlidir (Analysis results are valid for the above sample)

3.Gerektiğinde "Ölçüm Belirsizliği" ve "Geri Kazanım" bilgileri analiz sonuçları ile birlikte verilir. (When necessary, "Measurement Uncertainty" and "Recover" information are given together with the analysis results)

4.Adli ve idari işlemler ile reklam amacıyla kullanılamaz. İzensiz olarak kısmen çoğaltılıp yayımlanamaz. (Judicial and administrative procedures to be used for advertising purposes. It can not be partially reproduced and published without permission)

Kısaltmalar: T.E: Tespit Edilemedi, U: Uygun UD.:Uygun Değil, DY:Değerlendirme Yapılamadı Değ: Değerlendirme

Abbreviations: N.A: Not Detected A:Appropriate IA: Inappropriate AF: Assessment Failed EVL :Evaluation

Çel Mikrobiyoloji Birim Sorumlusu
Havva Lamia DEMİR

Numune Kabul ve Rapor Düzenleme Birim Sorumlusu
Nilsun AŞÇI

Tasdik Olunur
01/11/2019
Mehmet Nur ERAT
Laboratuvar Müdürü


ANALİZ LABORATUVAR HİZ. TİC. LTD. ŞTİ.
Çakmaklı Mah. Hadımköy Bağlantı Yolu Ufuk Plaza
No:57 Kat:2 No:8/B Çekmece-İSTANBUL / TÜRKİYE
Tel: +90 212 866 05 05 - 06
E-posta: info@oxigen.com.tr

Rapor Numarası (Report Number)	: 2019-C-2661	Rapor Tarihi (Date of Report)	:01/11/2019
Analizin Amacı (Purpose of Analysis)	: Sitotoksitesite Testi		
Müşteri Adı/Adresi (Customer name/address)	: ERCİYES İLAÇ BİTKİSEL DESTEK ÜRÜNLERİ ARGE SANAYİ TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ		
Numunenin Adı ve Tarifı (Name and identity of test item)	: ES-ETOH Bitki Ekstresi (A-549 Hücre Hattı)		
Numune Tutanak No (Number of record of the sample)	:		
Numune Parti No / Parti Büyüklüğü (Code of Sample)	:		
Numunenin Ambalajı/Miktarı (Package of Sample/Quantity)	: 3 Adet		
Numunenin Kabul Tarihi (Date of receipt of test item)	: 21/10/2019		
Analiz Başlama ve Bitiş Tarihi (Date of Test/End of test)	: 23/10/2019 - 30/10/2019		
Raporun Sayfa Sayısı (Number of pages)	: 4		

Yapılan Analizler (Analysis)	Birim (Unit)	Sonuçlar (Result)	Ölçüm Limiti (Limit Of Measurement)	Geri Kazanım (Recovery)	Ölçüm Belirsizliği (Uncertainty of Meas.)	Analiz Metodu (Analysis Method)	Değ. (Com.)
1-*In vitro Sitotoksitesite Testi		Sitotoksiktir (≥50 µg/mL)				TS EN ISO 10993-5 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 5: İn vitro Sitotoksitesite için Test TS EN ISO 10993-12 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 12 : Test numunesi Hazırlama ve Referans Materyeller.	U

Açıklama:**1. DENEY ORTAMI**

Hücre Hattı : A-549 (akciğer kanseri) hücre hattı kullanılmıştır.

Kültür Ortamı : DMEM+ L-Glutamin

Fetal Bovine Serum

Penisilin- Streptomisin

Kör Kontrol (Blank) : Steril hücre kültürü ortamı

2.ÖZÜTLEME YÖNTEMİ

TS EN ISO 10993-12 standardına göre özütleme yapıldı. Numuneler, standartta belirlenen büyüklükte, %10 serumlu hücre kültürü ortamı içerisinde 24 saat, 37° C'de, 50 rpm hızda salınım yapan su banyosunda bekletildi. Daha sonra özütleme sonlandırılarak elde edilen özüt 24 saat içinde kullanıldı.

3. ANALİZ YÖNTEMİ

Nicel Değerlendirme:

Çalışmada, "TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi" standardına göre uygulandı. 96 kuyucuklu plakalara 10.000 hücre/kuyucuk olarak sayılarak ekilen hücreler 24 saat inkübe edilerek %80 konfluensi sağlandı. Daha sonra hücreler, numunenin farklı konsantrasyonlarına 24 saat süresince maruz bırakıldı.

Süreç sonunda 1mg/mL olarak hazırlanan ve farklı derecelerde seyreltilen özüt XTT kuyucuklara eklenerek plakalar 24 saat, 37° C, % 5 CO₂ etüvde bekletildi. Deney, kuyucuklara isopropil alkol eklenerek sonlandırılarak plakalarda oluşan renk değişikliği spektrofotometrede (450-650nm) ölçülerek % Canlılık değerleri hesaplandı.

4. TEST SONUÇLARI

Nicel Değerlendirme:

(TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi)

Tablo 1. XTT Test Sonuçları

DİLÜSYON ORANLARI							
TEST NUMUNESİ	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	0,056	0,070	0,174	0,606	0,679	0,655	0,685
2. TEKRAR	0,055	0,081	0,308	0,643	0,677	0,606	0,653
3. TEKRAR	0,055	0,084	0,270	0,759	0,748	0,685	0,633
ORTALAMALAR	0,055	0,078	0,251	0,669	0,701	0,649	0,657
Blank (%100 Besiyeri, %0 Numune)	A2	A3	A4	A5	A6	A7	
	0,625	0,67	0,649	0,479	0,497	0,551	
	H2	H3	H4	H5	H6	H7	
	0,479	0,497	0,551	0,479	0,497	0,551	
ORTALAMALAR				0,543			

Viab.%=100 X OD450e/OD450b

OD450e : Numune özütünün optikal yoğunluk ortalama değeri

OD450b : Blanklerin optikal yoğunluk ortalama değeri

Test Numunesi Viab.% :

Blank (Besiyeri) Viab.% : % 100

TEST NUMUNESİ	Canlılık (%) Oranları						
	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	10,3	12,87	32	111,45	124,87	120,46	125,98
2. TEKRAR	10,11	14,9	56,64	118,25	124,51	111,45	120,09
3. TEKRAR	10,11	15,45	49,66	139,59	137,56	125,98	116,41
ORTALAMALAR	10,17	14,41	46,10	123,10	128,98	119,30	120,83

YORUM :

1. Test, "TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi-bölüm 5: vücut dışı sitotoksikite deneyleri" standartında belirtilen şekilde uygulanmıştır.

2. Nicel değerlendirme metodu olarak "TS EN ISO 10993-5/XTT Sitotoksikite Deneyi" kullanılmış olup elde edilen sonuçlar (Tablo. 1) istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Blank kuyucuklara hücrelerin normal canlılıklarını gözlemlemek amacıyla yalnızca besiyeri (DMEM) uygulanmıştır. Bu testte test geçerlilik kriterlerinin sağlandığı görülmektedir.

Bu deneyde numune özütü 100 µg/mL konsantrasyonunda hazırlanmış ve bu özüt %100 olarak kabul edilmiştir. Bu numuneden sırası ile %75 (75 µg/mL), %50 (50 µg/mL), %25 (25 µg/mL), %10 (10 µg/mL), %5 (5 µg/mL) ve %1 (1 µg/mL) oranlarında seyreltmeler yapılarak alt konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Bu özütlerin A-549 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri incelenmiş olup; canlılık bulgularımız yalnızca besiyeri uygulanan kontrol grubuna göre % olarak ifade edilmiştir.

Kullanılan standarta göre bu değer %70 değerinden az olması sitotoksikite göstergesi olduğundan **numune özütünün 50 µg/mL - 100 µg/mL konsantrasyonlarında A-549 hücreleri üzerine sitotoksik (antiproliferatif) etkisi bulunduğu** görülmektedir.

Rapor Numarası (Report Number)

: 2019-C-2661

Rapor Tarihi (Date of Report)

:01/11/2019

(*) Analiz Metodu Akreditasyon kapsamındadır. (*) Analysis method is in scope of accreditation.

Değerlendirme (Evaluation):

Yapılan muayene ve analiz sonucunda yukarıda belirtilen tespit edilmiştir. (The above mentioned values were determined as the result of the inspection and analysis.)

1.Bu analiz raporunun hiçbir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılamaz.İmzasız ve mühürsüz raporlar geçersizdir. (No part of this analytical report can be used alone or separately. Unsigned and unsealed reports are defund.)

2.Analiz sonuçları yukarıda belirtilen numune için geçerlidir (Analysis results are valid for the above sample)

3.Gerektiğinde "Ölçüm Belirsizliği" ve "Geri Kazanım" bilgileri analiz sonuçları ile birlikte verilir. (When necessary, "Measurement Uncertainty" and "Recover" information are given together with the analysis results)

4.Adli ve idari işlemler ile reklam amacıyla kullanılamaz. İzinsiz olarak kısmen çoğaltılıp yayınlanamaz. (Judicial and administrative procedures to be used for advertising purposes. It can not be partially reproduced and published without permission)


Kısaltmalar: T.E: Tespit Edilemedi, U: Uygun UD.:Uygun Değil, DY:Değerlendirme Yapılamadı Değ: Değerlendirme

Abbreviations: N.A: Not Detected A:Appropriate IA: Inappropriate AF: Assessment Failed EVL :Evaluation

Çel Mikrobiyoloji Birim Sorumlusu
Havva Lamia DEMİR

Numune Kabul ve Rapor Düzenleme Birim Sorumlusu
Nilşün AŞÇI

Tasdik Olunur
01/11/2019
Mehmet Nur ERAT
Laboratuvar Müdürü


ANALİZ LABORATUVARI NİZ. TİC. LTD. ŞTİ.
Çakmaklı Mah. Hadımköy Bağlantı Yolu Ufuk Plaza
No:57 Kat: 2 No:8.5 Büyükçekmece-İSTANBUL / TÜRKİYE
Tel: +90 212 886 45 05 - 06
E-posta: info@oxigenlab.com.tr

Rapor Numarası (Report Number)	: 2019-C-2662	Rapor Tarihi (Date of Report)	:01/11/2019
Analizin Amacı (Purpose of Analysis)	: Sitotoksitesite Testi		
Müşteri Adı/Adresi (Customer name/address)	: ERCİYES İLAÇ BİTKİSEL DESTEK ÜRÜNLERİ ARGE SANAYİ TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ		
Numunenin Adı ve Tanımı (Name and identity of test item)	: ES-EtOH Bitki Ekstresi (MCF-7 Hücre Hattı)		
Numune Tutanak No (Number of record of the sample)	:		
Numune Parti No / Parti Büyüklüğü (Code of Sample)	:		
Numunenin Ambalajı/Miktarı (Package of Sample/Quantity)	: 3 Adet		
Numunenin Kabul Tarihi (Date of receipt of test item)	: 21/10/2019		
Analiz Başlama ve Bitiş Tarihi (Date of Test/End of test)	: 23/10/2019 - 30/10/2019		
Raporun Sayfa Sayısı (Number of pages)	: 4		

Yapılan Analizler (Analysis)	Birim (Unit)	Sonuçlar (Result)	Ölçüm Limiti (Limit Of Measurement)	Geri Kazanım (Recovery)	Ölçüm Belirsizliği (Uncertainty of Meas.)	Analiz Metodu (Analysis Method)	Değ. (Com.)
1-*In vitro Sitotoksitesite Testi		Sitotoksiktir (≥50 µg/mL)				TS EN ISO 10993-5 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 5: İn vitro Sitotoksitesite için Test TS EN ISO 10993-12 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 12 : Test numunesi Hazırlama ve Referans Materyeller.	U

Açıklama:

1. DENEY ORTAMI

Hücre Hattı : MCF-7 (ER pozitif meme kanseri) hücre hattı kullanılmıştır.

Kültür Ortamı : DMEM+ L-Glutamin

Fetal Bovine Serum

Penisilin- Streptomisin

Kör Kontrol (Blank) : Steril hücre kültürü ortamı

2.ÖZÜTLEME YÖNTEMİ

TS EN ISO 10993-12 standardına göre özütleme yapıldı. Numuneler, standartta belirlenen büyüklükte, %10 serumlu hücre kültürü ortamı içerisinde 24 saat, 37° C'de, 50 rpm hızda salınım yapan su banyosunda bekletildi. Daha sonra özütleme sonlandırılarak elde edilen özüt 24 saat içinde kullanıldı.

3.ANALİZ YÖNTEMİ

Nicel Değerlendirme:

Çalışmada, "TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi" standardına göre uygulandı. 96 kuyucuklu plakalara 10.000 hücre/kuyucuk olarak sayılarak ekilen hücreler 24 saat inkübe edilerek %80 konfluensi sağlandı. Daha sonra hücreler, numunenin farklı konsantrasyonlarına 24 saat süresince maruz bırakıldı.

Süreç sonunda 1mg/mL olarak hazırlanan ve farklı derecelerde seyreltilen özüt XTT kuyucuklara eklenerek plakalar 24 saat, 37° C, % 5 CO² etüvde bekletildi. Deney, kuyucuklara isopropil alkol eklenerek sonlandırılarak plakalarda oluşan renk değişikliği spektrofotometrede (450-650nm) ölçülerek % Canlılık değerleri hesaplandı.

4. TEST SONUÇLARI**Nicel Değerlendirme:**

(TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi)

Tablo 1. XTT Test Sonuçları

DİLÜSYON ORANLARI							
TEST NUMUNESİ	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	0,09	0,08	0,21	0,26	0,29	0,32	0,34
2. TEKRAR	0,09	0,09	0,20	0,22	0,28	0,32	0,34
3. TEKRAR	0,09	0,08	0,20	0,22	0,27	0,30	0,33
ORTALAMALAR	0,09	0,08	0,20	0,23	0,28	0,31	0,34
Blank (%100 Besiyeri, %0 Numune)	A2	A3	A4	A5	A6	A7	
	0,312	0,297	0,335	0,311	0,315	0,312	
	H2	H3	H4	H5	H6	H7	
	0,35	0,325	0,342	0,377	0,361	0,333	
ORTALAMALAR				0,331			

Viab.%=100 X OD450e/OD450b**OD450e** : Numune özütünün optikal yoğunluk ortalama değeri**OD450b** : Blanklerin optikal yoğunluk ortalama değeri

Test Numunesi Viab.% :

Blank (Besiyeri) Viab.% : % 100

Canlılık (%) Oranları							
TEST NUMUNESİ	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	26.3	25.09	64.08	78.29	87.66	95.82	102.47
2. TEKRAR	26.6	26.9	60.45	64.99	84.33	96.42	103.07
3. TEKRAR	25.99	24.48	61.06	67.1	81.01	90.68	100.35
ORTALAMALAR	26,30	25,49	61,86	70,13	84,33	94,31	101,96

YORUM :

1. Test, "TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi-bölüm 5: vücut dışı sitotoksikite deneyleri" standartında belirtilen şekilde uygulanmıştır.

2. Nicel değerlendirme metodu olarak "TS EN ISO 10993-5/XTT Sitotoksikite Deneyi" kullanılmış olup elde edilen sonuçlar (Tablo. 1) istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Blank kuyucuklara hücrelerin normal canlılıklarını gözlemlemek amacıyla yalnızca besiyeri (DMEM) uygulanmıştır. Bu testte test geçerlilik kriterlerinin sağlandığı görülmektedir.

Bu deneyde numune özütü 100 µg/mL konsantrasyonunda hazırlanmış ve bu özüt %100 olarak kabul edilmiştir. Bu numuneden sırası ile %75 (75 µg/mL), %50 (50 µg/mL), %25 (25 µg/mL), %10 (10 µg/mL), %5 (5 µg/mL) ve %1 (1 µg/mL) oranlarında seyreltmeler yapılarak alt konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Bu özütlerin MCF-7 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri incelenmiş olup; canlılık bulgularımız yalnızca besiyeri uygulanan kontrol grubuna göre % olarak ifade edilmiştir.

Kullanılan standartta göre bu değer %70 değerinden az olması sitotoksikite göstergesi olduğundan **numune özütünün 50 µg/mL - 100 µg/mL konsantrasyonlarında MCF-7 hücreleri üzerine sitotoksik (antiproliferatif) etkisi bulunduğu** görülmektedir.

Rapor Numarası (Report Number)

: 2019-C-2662

Rapor Tarihi (Date of Report)

:01/11/2019

(*) Analiz Metodu Akreditasyon kapsamındadır. (*) Analysis method is in scope of accreditation.

Değerlendirme (Evaluation):

Yapılan muayene ve analiz sonucunda yukarıda belirtilen tespit edilmiştir. (The above mentioned values were determined as the result of the inspection and analysis.)

1.Bu analiz raporunun hiçbir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılamaz.İmzasız ve mühürlü raporlar geçersizdir. (No part of this analytical report can be used alone or separately. Unsigned and unsealed reports are defund.)

2.Analiz sonuçları yukarıda belirtilen numune için geçerlidir (Analysis results are valid for the above sample)

3.Gerektiğinde "Ölçüm Belirsizliği" ve "Geri Kazanım" bilgileri analiz sonuçları ile birlikte verilir. (When necessary, "Measurement Uncertainty" and "Recover" information are given together with the analysis results)

4.Adli ve idari işlemler ile reklam amacıyla kullanılamaz. İzinsiz olarak kısmen çoğaltılıp yayınlanamaz. (Judicial and administrative procedures to be used for advertising purposes. It can not be partially reproduced and published without permission)

Kısaltmalar: T.E: Tespit Edilemedi, U: Uygun UD.:Uygun Değil, DY:Değerlendirme Yapılamadı Değ: Değerlendirme

Abbreviations: N.A: Not Detected A:Appropriate IA: Inappropriate AF: Assessment Failed EVL :Evaluation

Çel Mikrobiyoloji Birim Sorumlusu
Havva Lâmia DEMİRNumune Kabul ve Rapor Düzenleme Birim Sorumlusu
Nilsun AŞÇITasdik Olunur
01/11/2019Mehmet Nur ERAT
Laboratuvar Müdürü

ANALİZ LABORATUVAR AİZ. TİC. LTD. ŞTİ.

Çakmaklı Mah. Hadımköy Bağlantı Yolu Ufuk Plaza

No:57 Kat. 2 No/8 Büyükçekmece-İSTANBUL / TÜRKİYE

Tel: +90 212 856 85 05 - 06
E-posta: info@oxigenlab.com.tr

Rapor Numarası (Report Number)	: 2019-C-2663	Rapor Tarihi (Date of Report)	:01/11/2019
Analizin Amacı (Purpose of Analysis)	: Sitotoksitesite Testi		
Müşteri Adı/Adresi (Customer name/address)	: ERCİYES İLAÇ BİTKİSEL DESTEK ÜRÜNLERİ ARGE SANAYİ TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ		
Numunenin Adı ve Tanımı (Name and identity of test item)	: ES-EtOH Bitki Ekstresi (RL-95-2 Hücre Hattı)		
Numune Tutanak No (Number of record of the sample)	:		
Numune Parti No / Parti Büyüklüğü (Code of Sample)	:		
Numunenin Ambalajı/Miktarı (Package of Sample/Quantity)	: 3 Adet		
Numunenin Kabul Tarihi (Date of receipt of test item)	: 21/10/2019		
Analiz Başlama ve Bitiş Tarihi (Date of Test/End of test)	: 23/10/2019 - 30/10/2019		
Raporun Sayfa Sayısı (Number of pages)	: 4		

Yapılan Analizler (Analysis)	Birim (Unit)	Sonuçlar (Result)	Ölçüm Limiti (Limit Of Measurement)	Geri Kazanım (Recovery)	Ölçüm Belirsizliği (Uncertainty of Meas.)	Analiz Metodu (Analysis Method)	Değ. (Com.)
1-*In vitro Sitotoksitesite Testi		Sitotoksiktir (≥10 µg/mL)				TS EN ISO 10993-5 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 5: İn vitro Sitotoksitesite için Test TS EN ISO 10993-12 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 12 : Test numunesi Hazırlama ve Referans Materyeller.	U

Açıklama:**1. DENEY ORTAMI**

Hücre Hattı : RL-95-2 (Endometriyum kanseri) hücre hattı kullanılmıştır.

Kültür Ortamı : DMEM-F12+ L-Glutamin

Fetal Bovine Serum

Penisilin- Streptomisin

Kör Kontrol (Blank) : Steril hücre kültürü ortamı

2.ÖZÜTLEME YÖNTEMİ

TS EN ISO 10993-12 standardına göre özütleme yapıldı. Numuneler, standartta belirlenen büyüklükte, %10 serumlu hücre kültürü ortamı içerisinde 24 saat, 37° C'de, 50 rpm hızda salınım yapan su banyosunda bekletildi. Daha sonra özütleme sonlandırılarak elde edilen özüt 24 saat içinde kullanıldı.

3. ANALİZ YÖNTEMİ

Nicel Değerlendirme:

Çalışmada, "TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi" standardına göre uygulandı. 96 kuyucuklu plakalara 10.000 hücre/kuyucuk olarak sayılarak ekilen hücreler 24 saat inkübe edilerek %80 konfluensi sağlandı. Daha sonra hücreler, numunenin farklı konsantrasyonlarına 24 saat süresince maruz bırakıldı.

Süreç sonunda 1mg/mL olarak hazırlanan ve farklı derecelerde seyreltilen özüt XTT kuyucuklara eklenerek plakalar 24 saat, 37° C, % 5 CO² etüvde bekletildi. Deney, kuyucuklara isopropil alkol eklenerek sonlandırılarak plakalarda oluşan renk değişikliği spektrofotometrede (450-650nm) ölçülerek % Canlılık değerleri hesaplandı.

4. TEST SONUÇLARI

Nicel Değerlendirme:

(TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi)

Tablo 1. XTT Test Sonuçları

DİLÜSYON ORANLARI							
TEST NUMUNESİ	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	0,053	0,056	0,063	0,095	0,115	0,125	0,139
2. TEKRAR	0,055	0,057	0,067	0,098	0,116	0,127	0,136
3. TEKRAR	0,053	0,056	0,062	0,093	0,112	0,122	0,157
ORTALAMALAR	0,054	0,056	0,064	0,095	0,114	0,125	0,144
Blank (%100 Besiyeri, %0 Numune)	A2	A3	A4	A5	A6	A7	
	0,162	0,171	0,147	0,157	0,162	0,166	
	H2	H3	H4	H5	H6	H7	
	0,172	0,176	0,17	0,17	0,175	0,177	
ORTALAMALAR				0,167			

$Viab.\% = 100 \times OD450e / OD450b$

OD450e : Numune özütünün optikal yoğunluk ortalama değeri

OD450b : Blanklerin optikal yoğunluk ortalama değeri

Test Numunesi Viab.% :

Blank (Besiyeri) Viab.% : % 100

TEST NUMUNESİ	Canlılık (%) Oranları						
	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	31,72	33,52	37,71	56,86	68,83	74,81	83,19
2. TEKRAR	32,92	34,11	40,10	58,65	69,43	76,01	81,40
3. TEKRAR	31,72	33,52	37,11	55,66	67,03	73,02	93,97
ORTALAMALAR	32,12	33,72	38,30	57,06	68,43	74,61	86,18

YORUM :

1. Test, "TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi-bölüm 5: vücut dışı sitotoksikite deneyleri" standartında belirtilen şekilde uygulanmıştır.

2. Nicel değerlendirme metodu olarak "TS EN ISO 10993-5/XTT Sitotoksikite Deneyi" kullanılmış olup elde edilen sonuçlar (Tablo. 1) istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Blank kuyucuklara hücrelerin normal canlılıklarını gözlemlemek amacıyla yalnızca besiyeri (DMEM-F12) uygulanmıştır. Bu testte test geçerlilik kriterlerinin sağlandığı görülmektedir.

Bu deneyde numune özütü 100 µg/mL konsantrasyonunda hazırlanmış ve bu özüt %100 olarak kabul edilmiştir. Bu numuneden sırası ile %75 (75 µg/mL), %50 (50 µg/mL), %25 (25 µg/mL), %10 (10 µg/mL), %5 (5 µg/mL) ve %1 (1 µg/mL) oranlarında seyreltmeler yapılarak alt konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Bu özütlerin RL-95-2 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri incelenmiş olup; canlılık bulgularımız yalnızca besiyeri uygulanan kontrol grubuna göre % olarak ifade edilmiştir.

Kullanılan standarta göre bu değer %70 değerinden az olması sitotoksikite göstergesi olduğundan **numune özütünün 10 µg/mL - 100 µg/mL konsantrasyonlarında RL-95-2 hücreleri üzerine sitotoksik (antiproliferatif) etkisi bulunduğu** görülmektedir.

Rapor Numarası (Report Number)

: 2019-C-2663

Rapor Tarihi (Date of Report)

:01/11/2019

(*) Analiz Metodu Akreditasyon kapsamındadır. (*) Analysis method is in scope of accreditation.

Değerlendirme (Evaluation):

Yapılan muayene ve analiz sonucunda yukarıda belirtilen tespit edilmiştir. (The above mentioned values were determined as the result of the inspection and analysis.)

1.Bu analiz raporunun hiçbir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılamaz.İmzasız ve mühürsüz raporlar geçersizdir. (No part of this analytical report can be used alone or separately. Unsigned and unsealed reports are defund.)

2.Analiz sonuçları yukarıda belirtilen numune için geçerlidir (Analysis results are valid for the above sample)

3.Gerektiğinde "Ölçüm Belirsizliği" ve "Geri Kazanım" bilgileri analiz sonuçları ile birlikte verilir. (When necessary, "Measurement Uncertainty" and "Recover" information are given together with the analysis results)

4.Adli ve idari işlemler ile reklam amacıyla kullanılamaz. İzinsiz olarak kısmen çoğaltılıp yayımlanamaz. (Judicial and administrative procedures to be used for advertising purposes. It can not be partially reproduced and published without permission)

Kısaltmalar: T.E: Tespit Edilemedi, U: Uygun UD.:Uygun Değil, DY:Değerlendirme Yapılamadı Değ: Değerlendirme

Abbreviations: N.A: Not Detected A:Appropriate IA: Inappropriate AF: Assessment Failed EVL :Evaluation

Çel Mikrobiyoloji Birim Sorumlusu
Havva Lamia DEMİR



Numune Kabul ve Rapor Düzenleme Birim Sorumlusu
Nilsun AŞÇI



Tasdik Olunur
01/11/2019

Mehmet Nur ERAT
Laboratuvar Müdürü



ANALİZ LABORATUVAR İTİZ. TİC. LTD. ŞTİ.
Çakmaklı Mah. Hadımköy Bağlantı Yolu Ufuk Plaza
No:57 Kat: 2 No:9. B. Çekmece-İSTANBUL / TÜRKİYE
Tel: 00 90 212 886 35 05 - 06
E-posta: info@oxigenlab.com.tr

Rapor Numarası (Report Number)	: 2019-C-2664	Rapor Tarihi (Date of Report)	:01/11/2019
Analizin Amacı (Purpose of Analysis)	: Sitotoksiste Testi		
Müşteri Adı/Adresi (Customer name/address)	: ERCİYES İLAÇ BİTKİSEL DESTEK ÜRÜNLERİ ARGE SANAYİ TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ		
Numunenin Adı ve Tanımı (Name and identity of test item)	: ES-ETOH Bitki Ekstresi (MDA-MB-231 Hücre Hattı)		
Numune Tutanak No (Number of record of the sample)	:		
Numune Parti No / Parti Büyüklüğü (Code of Sample)	:		
Numunenin Ambalajı/Miktarı (Package of Sample/Quantity)	: 3 Adet		
Numunenin Kabul Tarihi (Date of receipt of test item)	: 21/10/2019		
Analiz Başlama ve Bitiş Tarihi (Date of Test/End of test)	: 23/10/2019 - 30/10/2019		
Raporun Sayfa Sayısı (Number of pages)	: 4		

Yapılan Analizler (Analysis)	Birim (Unit)	Sonuçlar (Result)	Ölçüm Limiti (Limit Of Measurement)	Geri Kazanım (Recovery)	Ölçüm Belirsizliği (Uncertainty of Meas.)	Analiz Metodu (Analysis Method)	Değ. (Com.)
1-*In vitro Sitotoksiste Testi		Sitotoksiktir (≥10 µg/mL)				TS EN ISO 10993-5 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 5: İn vitro Sitotoksiste için Test TS EN ISO 10993-12 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 12 : Test numunesi Hazırlama ve Referans Materyeller.	U

Açıklama:

1. DENEY ORTAMI

Hücre Hattı : MDA-MB-231 (Triple negatif meme kanseri) hücre hattı kullanılmıştır.

Kültür Ortamı : RPMI + L-Glutamin

Fetal Bovine Serum

Penisilin- Streptomisin

Kör Kontrol (Blank) : Steril hücre kültürü ortamı

2.ÖZÜTLEME YÖNTEMİ

TS EN ISO 10993-12 standardına göre özütleme yapıldı. Numuneler, standartta belirlenen büyüklükte, %10 serumlu hücre kültürü ortamı içerisinde 24 saat, 37° C'de, 50 rpm hızda salınım yapan su banyosunda bekletildi. Daha sonra özütleme sonlandırılarak elde edilen özüt 24 saat içinde kullanıldı.

3. ANALİZ YÖNTEMİ**Nicel Değerlendirme:**

Çalışmada, "TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi" standardına göre uygulandı. 96 kuyucuklu plakalara 10.000 hücre/kuyucuk olarak sayılarak ekilen hücreler 24 saat inkübe edilerek %80 konfluensi sağlandı. Daha sonra hücreler, numunenin farklı konsantrasyonlarına 24 saat süresince maruz bırakıldı.

Süreç sonunda 1mg/mL olarak hazırlanan ve farklı derecelerde seyreltilen özüt XTT kuyucuklara eklenerek plakalar 24 saat, 37° C, % 5 CO² etüvde bekletildi. Deney, kuyucuklara isopropil alkol eklenerek sonlandırılarak plakalarda oluşan renk değişikliği spektrofotometrede (450-650nm) ölçülerek % Canlılık değerleri hesaplandı.

4. TEST SONUÇLARI**Nicel Değerlendirme:**

(TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi)

Tablo 1. XTT Test Sonuçları

DİLÜSYON ORANLARI							
TEST NUMUNESİ	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	0,057	0,056	0,102	0,397	0,42	0,533	0,59
2. TEKRAR	0,06	0,062	0,129	0,48	0,545	0,617	0,649
3. TEKRAR	0,06	0,062	0,124	0,437	0,502	0,537	0,58
ORTALAMALAR	0,059	0,060	0,118	0,438	0,489	0,562	0,606
Blank (%100 Besiyeri, %0 Numune)	A2	A3	A4	A5	A6	A7	
	0,722	0,709	0,698	0,651	0,790	0,667	
	H2	H3	H4	H5	H6	H7	
	0,651	0,790	0,667	0,651	0,790	0,667	
ORTALAMALAR				0,704			

Viab.%=100 X OD450e/OD450b

OD450e : Numune özütünün optikal yoğunluk ortalama değeri

OD450b : Blanklerin optikal yoğunluk ortalama değeri

Test Numunesi Viab.% :

Blank (Besiyeri) Viab.% : % 100

TEST NUMUNESİ	Canlılık (%) Oranları						
	100% (100 µg/mL)	75%	50%	25%	10%	5%	1%
1. TEKRAR	8,09	7,95	14,48	56,36	59,62	75,67	83,76
2. TEKRAR	8,52	8,8	18,31	68,14	77,37	87,59	92,13
3. TEKRAR	8,52	8,8	17,6	62,04	71,26	76,23	82,34
ORTALAMALAR	8,38	8,52	16,80	62,18	69,42	79,83	86,08

YORUM :

1. Test, "TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi-bölüm 5: vücut dışı sitotoksik deneyleri" standartında belirtilen şekilde uygulanmıştır.

2. Nicel değerlendirme metodu olarak "TS EN ISO 10993-5/XTT Sitotoksik Deneyi" kullanılmış olup elde edilen sonuçlar (Tablo. 1) istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Blank kuyucuklara hücrelerin normal canlılıklarını gözlemlemek amacıyla yalnızca besiyeri (RPMI) uygulanmıştır. Bu testte test geçerlilik kriterlerinin sağlandığı görülmektedir.

Bu deneyde numune özütü 100 µg/mL konsantrasyonunda hazırlanmış ve bu özüt %100 olarak kabul edilmiştir. Bu numuneden sırası ile %75 (75 µg/mL), %50 (50 µg/mL), %25 (25 µg/mL), %10 (10 µg/mL), %5 (5 µg/mL) ve %1 (1 µg/mL) oranlarında seyreltmeler yapılarak alt konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Bu özütlerin MDA-MB-231 hücreleri üzerine sitotoksik etkileri incelenmiş olup; canlılık bulgularımız yalnızca besiyeri uygulanan kontrol grubuna göre % olarak ifade edilmiştir.

Kullanılan standarta göre bu değer %70 değerinden az olması sitotoksik göstergesi olduğundan numune özütünün 10 µg/mL - 100 µg/mL konsantrasyonlarında MDA-MB-231 hücreleri üzerine sitotoksik (antiproliferatif) etkisi bulunduğu görülmektedir.

Rapor Numarası (Report Number)

: 2019-C-2664

Rapor Tarihi (Date of Report)

:01/11/2019

(*) Analiz Metodu Akreditasyon kapsamındadır. (*) Analysis method is in scope of accreditation.

Değerlendirme (Evaluation):

Yapılan muayene ve analiz sonucunda yukarıda belirtilen tespit edilmiştir. (The above mentioned values were determined as the result of the inspection and analysis.)

1.Bu analiz raporunun hiçbir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılamaz.İmzasız ve mühürlü raporlar geçersizdir. (No part of this analytical report can be used alone or separately. Unsigned and unsealed reports are defund.)

2.Analiz sonuçları yukarıda belirtilen numune için geçerlidir (Analysis results are valid for the above sample)

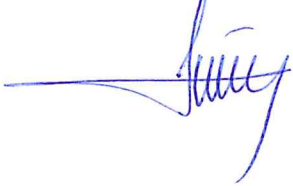
3.Gerektiğinde "Ölçüm Belirsizliği" ve "Geri Kazanım" bilgileri analiz sonuçları ile birlikte verilir. (When necessary, "Measurement Uncertainty" and "Recover" information are given together with the analysis results)

4.Adli ve idari işlemler ile reklam amacıyla kullanılamaz. İzinsiz olarak kısmen çoğaltılıp yayınlanamaz. (Judicial and administrative procedures to be used for advertising purposes. It can not be partially reproduced and published without permission)

Kısaltmalar: T.E: Tespit Edilemedi , U: Uygun UD.:Uygun Değil , DY:Değerlendirme Yapılamadı Değ: Değerlendirme

Abbreviations: N.A: Not Detected A:Appropriate IA: Inappropriate AF: Assessment Failed EVL :Evaluation

Çel Mikrobiyoloji Birim Sorumlusu
Havva İlamia DEMİR



Numune Kabul ve Rapor Düzenleme Birim Sorumlusu
Nilşun AŞCI



Tasdik Olunur
01/11/2019
Mehmet Nur ERAT
Laboratuvar Müdürü


ANALİZ LABORATUVAR HİZ. TİC. LTD. ŞTİ.
Çakmaklı Mah. Hadımköy Bağlantı Yolu Ufuk Plaza
No:57 Kat:2 No:3 B.Ü.Çekirgece-İSTANBUL / TÜRKİYE
Tel: +90 212 886 85 05 - 06
E-posta: V.E.: 648 822 0919

MUAYENE VE ANALİZ RAPORU
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

AB-0953
2019-C-2665
11-2019

Rapor Numarası (Report Number) : 2019-C-2665 Rapor Tarihi (Date of Report) : 01/11/2019

Analizin Amacı (Purpose of Analysis) : Sitotoksosite Testi

Müşteri Adı/Adresi (Customer name/address) : ERCİYES İLAÇ BİTKİSEL DESTEK ÜRÜNLERİ ARGE SANAYİ TİCARET LİMİTED ŞİRKETİ

Numunenin Adı ve Tarifli (Name and identity of test item) : ES-ETOH Bitki Ekstresi (L929 Hücre Hattı)

Numune Parti No / Parti Büyüklüğü (Code of Sample) :

Numunenin Ambalajı/Miktarı (Package of Sample/Quantity) : 3 Adet

Numunenin Kabul Tarihi (Date of receipt of test item) : 21/10/2019

Analiz Başlama ve Bitiş Tarihi (Date of Test/End of test) : 23/10/2019 - 30/10/2019

Raporun Sayfa Sayısı (Number of pages) : 5

Yapılan Analizler (Analysis)	Birim (Unit)	Sonuçlar (Result)	Ölçüm Limiti (Limit Of Measurement)	Geri Kazanım (Recovery)	Ölçüm Belirsizliği (Uncertainty of Meas.)	Analiz Metodu (Analysis Method)	Değ. (Com.)
1-*In vitro Sitotoksosite Testi		Sitotoksik değildir				TS EN ISO 10993-5 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 5: İn vitro Sitotoksosite için Test TS EN ISO 10993-12 (Tıbbi Cihazlarda Biyolojik değerlendirme Bölüm 12 : Test numunesi Hazırlama ve Referans Materyeller.	U

Açıklama:

1. DENEY ORTAMI

Hücre Hattı : L-929 (fare subkutanöz bağdokusu) 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 : Doğal Kauçuk Lateks + Hücre

2.ÖZÜTLEME YÖNTEMİ

TS EN ISO 10993-12 standardına göre özütleme yapıldı. Numuneler, standartta belirlenen büyüklükte, %10 serumlu hücre kültürü ortamı içerisinde 24 saat, 37° C'de, % 5 CO² etüvde bekletildi. Daha sonra özütleme sonlandırılarak elde edilen özüt 24 saat içinde kullanıldı.

MUAYENE VE ANALİZ RAPORU
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

AB-0953
2019-C-2665
11-2019

Rapor Numarası (Report Number)

: 2019-C-2665

Rapor Tarihi (Date of Report)

:01/11/2019

3. ANALİZ YÖNTEMİ

Nitel Değerlendirme:

Hücreler 6 kuyucuklu plakalara ekilerek konfluent hale gelmesi beklenildi.

Daha sonra, 37° C % 5 CO² etüvde 24 saat boyunca negatif, pozitif kontrol ve numune özütlarına maruz bırakıldı. İnkübasyon sonrası hücreler mikroskopik olarak incelendi ve TS EN ISO 10993-5 standardına göre değerlendirilmiştir.

Nicel Değerlendirme:

Çalışmada, "TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi" standardına göre uygulandı. 96 kuyucuklu plakalara 100/kuyucuk olarak sayılarak ekilen hücreler 24 saat inkübe edilerek %80 konfluensi sağlandı. Daha sonra hücreler, numune özütünün 1/1 – dilüsyonlarına 4 saat süresince maruz bırakıldı.

Süreç sonunda 1mg/mL olarak hazırlanan XTT kuyucuklara eklenerek plakalar 3 saat, 37° C, % 5 CO² etüvde bekletildi. Deney, kuyucuklara isopropil alkol eklenerek sonlandırılarak plakalarda oluşan renk değişikliği spektrofotometrede (570-650nm) ölçülerek % Canlılık değerleri hesaplandı.

4. TEST SONUÇLARI

Nitel Değerlendirme:

Nitel değerlendirme, TS EN ISO 10993-5 standardında bulunan Çizelge 1.'e göre yapılmıştır.

Sıra No	Test Materyali	Reaksiyon	Kültürlerin Durumları
1	NEGATİF KONTROL	0	Ayrık stoplazma içi granüller, hücre yıkımı yok, hücre çoğalmasında azalma yok
2	POZİTİF KONTROL	4	Hücre katmanlarının tamamı veya tamamına yakını yıkıma uğramış
3	NUMUNE	0	Ayrık stoplazma içi granüller, hücre yıkımı yok, hücre çoğalmasında azalma yok

Nicel Değerlendirme:

(TS EN ISO 10993-5/ XTT Sitotoksosite Deneyi)

MUAYENE VE ANALİZ RAPORU
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

AB-0953
2019-C-2665
11-2019

Rapor Numarası (Report Number)

: 2019-C-2665

Rapor Tarihi (Date of Report)

:01/11/2019

Tablo 2. XTT Test Sonuçları

DİLÜSYON ORANLARI						
TEST NUMUNESİ	100%	75%	50%	25%		
1. TEKRAR	0,987	1,107	1,234	1,350		
2. TEKRAR	0,999	1,118	1,215	1,321		
3. TEKRAR	1,061	1,110	1,219	1,313		
ORTALAMALAR	1,01	1,11	1,22	1,32		
POZİTİF KONTROL	100%	75%	50%	25%		
1. TEKRAR	0,101	0,118	0,153	0,148		
2. TEKRAR	0,114	0,125	0,138	0,135		
3. TEKRAR	0,109	0,126	0,142	0,127		
ORTALAMALAR	0,108	0,123	0,144	0,136		
Negatif Kontrol(%100)	1.Tekrar	2.Tekrar	3.Tekrar			
%100 Ekstrakt	1,112	1,109	1,117			
ORTALAMALAR	1,112					
Blank	A2	A3	A4	A5	A6	A7
	1,10	0,999	1,014	0,999	1,121	1,114
	H2	H3	H4	H5	H6	H7
	0,999	1,10	1,112	1,13	0,998	1,11
ORTALAMALAR	1,06					

$Viab.\% = 100 \times OD450e / OD450b$

OD450e : % 100 numune ekstraktının optikal yoğunluk ortalama değeri

OD450b : Blanklerin optikal yoğunluk ortalama değeri

MUAYENE VE ANALİZ RAPORU
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

AB-0953
2019-C-2665
11-2019

Rapor Numarası (Report Number)

: 2019-C-2665

Rapor Tarihi (Date of Report)

:01/11/2019

Test Numunesi Viab.% : % 95

Pozitif Kontrol Viab.% : % 10

Negatif Kontrol Viab.% : % 104

YORUM :

1. Test, "TS EN ISO 10993-5 Tıbbi cihazların biyolojik değerlendirilmesi-bölüm 5: vücut dışı sitotoksikite deneyleri" standartında belirtilen şekilde uygulanmıştır.

2. Nitel değerlendirme için özütlerin, hücreler üzerinde yarattığı etki mikroskobik olarak incelenmiş olup standartta verilen aşağıdaki "Çizelge 1. Özütlerin sitotoksitesinin nitel morfolojik derecelendirilmesi" ile değerlendirilmiştir. Buna göre negatif kontrol hücreler üzerinde toksik etki göstermezken(0), pozitif kontrol beklediği gibi yüksek derecede (4) toksisite ortaya çıkarmıştır. Numune özütlerinin sitotoksik etkisi incelendiğinde toksik olarak görülmediğinden (0) olarak değerlendirilmiştir.

Kullanılan standarda göre, çizelge 1'de belirtildiği gibi (2)'den daha büyük derecelendirme değerinin bulunması, sitotoksik etki olarak kabul edilmektedir.

3. Nicel değerlendirme metodu olarak "TS EN ISO 10993-5/XTT Sitotoksikite Deneyi" kullanılmış olup elde edilen sonuçlar (Tablo. 2) istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Kullanılan negatif ve pozitif kontrollerden alınan sonuçlar bulunmakta olup test geçerlilik kriterlerinin sağlandığı görülmektedir.

Bu deneyde numune özütünün 1/1 dilüsyonlarının hücreler üzerine olan etkileri incelenmiş olup; numuneden elde edilen özütün tam dilüsyonu (1/1) ile canlılık %95 olarak tespit edilmiştir.

Kullanılan standartta göre bu değer %70 değerinden az olması sitotoksikite göstergesi olduğundan numune özütünün hücreler üzerinde sitotoksik etkisi olmadığı görülmektedir.

MUAYENE VE ANALİZ RAPORU
INSPECTION AND ANALYSIS REPORT

AB-0953
2019-C-2665
11-2019

Rapor Numarası (Report Number)

: 2019-C-2665

Rapor Tarihi (Date of Report)

:01/11/2019

Çizelge 1. Özütlerin sitotoksitesinin nitel morfolojik derecelendirilmesi

Derece	Reaksiyon	Kültürlerin Durumları
0	Yok	Ayrık stoplazma içi granüller, hücre yıkımı yok, hücre çoğalmasında azalma yok
1	Çok az	Hücrelerin %20'sinden daha fazlası yuvarlak olmayan, zayıf tutunmuş ve stoplazma içi granül içermeyen veya morfolojide değişiklik gösteren, nadiren yıkıma uğramış hücreler var, sadece hafif büyüme inhibisyonu gözlemlenebilir
2	Hafif	Yuvarlak hücre sayısı %50'den daha az, stoplazma içi granül yok, gözlemlenebilir hücre inhibisyonu %50'den daha fazla değil
3	Orta	Yuvarlak veya yıkıma uğramış hücre sayısı %70'den 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

(*) Analiz Metodu Akreditasyon kapsamındadır. (*) Analysis method is in scope of accreditation.

Değerlendirme (Evaluation):

Yapılan muayene ve analiz sonucunda yukarıda belirtilen tespit edilmiştir. (The above mentioned values were determined as the result of the inspection and analysis.)

1.Bu analiz raporunun hiçbir bölümü tek başına veya ayrı ayrı kullanılamaz.İmzasız ve mühürsüz raporlar geçersizdir. (No part of this analytical report can be used alone or separately. Unsigned and unsealed reports are defund.)

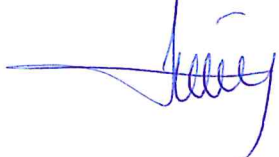
2.Analiz sonuçları yukarıda belirtilen numune için geçerlidir (Analysis results are valid for the above sample)

3.Gerektiğinde "Ölçüm Belirsizliği" ve "Geri Kazanım" bilgileri analiz sonuçları ile birlikte verilir. (When necessary, "Measurement Uncertainty" and "Recover" information are given together with the analysis results)

4.Adli ve idari işlemler ile reklam amacıyla kullanılamaz. İzinsiz olarak kısmen çoğaltılıp yayımlanamaz. (Judicial and administrative procedures to be used for advertising purposes. It can not be partially reproduced and published without permission)

Kısaltmalar: T.E: Tespit Edilemedi, U: Uygun UD.:Uygun Değil, DY:Değerlendirme Yapılamadı Değ: Değerlendirme
Abbreviations: N.A: Not Detected A:Appropriate IA: Inappropriate AF: Assessment Failed EVL :Evaluation

Çel Mikrobiyoloji Birim Sorumlusu
Hava Lamia DEMİR



Numune Kabul ve Rapor Düzenleme
Nilsün AŞÇI



Tasdik Olunur
01/11/2019

Mehmet NUR ERAT
Laboratuvar Müdürü

ANALİZ LABORATUVAR HİZ. TİC. LTD. ŞTİ.
Çakmaklı Mah. Hadımköy Bağlantı Yolu Ufuk Plaza
No:57 Kat:2 No:8 B. Çekirgece-İSTANBUL / TÜRKİYE
Tel: +90 212 856 87 05 - 06
E-posta: Y.D.: 649 322 0319