

**MEDICINSKO IZVJEŠĆE ISO 11993-5:2009
BIOLOŠKA EVALUACIJA “in vitro”:
cytotoxicity test**

**RAPID BRONZ
COD. 013729 LOTTO 259612**

**Procjena “in vitro” biološke procjene: Ispitivanje
citotoksičnosti na temelju metode
UNI EN ISO 11993-5**

RAPID BRONZ

UVOD

UNIENISO 10993-5 2009.

Ovaj dio ISO 10993-5 opisuje metode ispitivanja za određivanje citotoksičnosti "in vitro" proizvoda koji dolaze u dodir s ljudskom kožom ili se nanose na ljudsku kožu ili sluznicu i omogućava određivanje mogućeg citotoksičnog učinka proizvoda koji se ispituje, primjenjujući specifične stanične kulture uzgojene "in vitro".

Ova metoda određuje da je proizvod stavljen na inkubaciju u izravan kontakt s kulturama stanica ili putem difuzijske tehnike ispitivanog proizvoda. Protokol analize je proučavan za određivanje biološkog odgovora "in vitro" staničnih kultura sastavljenih od stanica sisavaca, uz primjenu odgovarajućih bioloških parametara.

Određivanje citotoksičnosti može biti podijeljeno u kategorije ovisno o vrsti procjene:

- a) procjena staničnog oštećenja putem morfoloških sredstava;
- b) mjerenje staničnog oštećenja;
- c) mjerenje staničnog rasta;
- d) mjerenje posebnih aspekata staničnog metabolizma.

KARAKTERIZACIJA UZORKA KOJI SE ISPITUJE

Naziv formulacije koja se ispituje:

RAPID BRONZ COD. 013729 LOTTO 259612

Kozmetički proizvod: emulzija

Način skladištenja: Sobna temperatura.

Datum zaprimanja uzorka: 7. 1. 2013.

Razdoblje analize: Datum početka ispitivanja: 10. 1. 2013. ÷ Datum završetka ispitivanja 11. 2. 2013.

METODA ISPITIVANJA U IZRAVNOM KONTAKTU

Metoda ispitivanja propisa ISO 10993-5 2009 odnosi se na procjenu in vitro iritirajućeg potencijala solidnog medicinskog uređaja primijenjenog na stanicama koje potječu s kože.

Citotoksični potencijal proizvoda koji se testira u izravnom kontaktu, procijenjen je prema stanicama koje potječu s kože: humani fibroblasti.

Stanična vitalnost je procijenjena na temelju MTT testa.

MTT je sol tetrazolijskog klorida žute boje koji, redukcijom enzimom sukcinat dehidrogenaze, tvori plavi talog formazana u mitohondrijima živih stanica. Talog formazana indikator je stanične vitalnosti.

ODREĐIVANJE CITOTOKSIČNOSTI

Citotoksičnost je kvalitativno i kvantitativno determinirana:

- 1) KVALITATIVNA PROCJENA sastoji se u ispitivanju stanica pod mikroskopom uz primjenu citokemijske boje/ od vitalne važnosti za promatranje eventualnih promjena, poput morfologije, vakuolizacije, odvajanja stanica ili stanične lize te cjelovitosti membrane.

Dobiveni rezultati interpretirani su na temelju sljedeće skale citotoksičnosti:

0 = Nema citotoksično djelovanje

1 = Blago citotoksično djelovanje

2 = Umjereno citotoksično djelovanje

3 = Jako citotoksično djelovanje

ODREĐIVANJE CITOTOKSIČNOSTI

Citotoksičnost je kvalitativno i kvantitativno determinirana:

- 2) KVALITATIVNA PROCJENA sastoji se u ispitivanju stanica pod mikroskopom uz primjenu citokemijske boje/ od vitalne važnosti za promatranje eventualnih promjena, poput morfologije, vakuolizacije, odvajanja stanica ili stanične lize te cjelovitosti membrane.

Dobiveni rezultati interpretirani su na temelju sljedeće skale citotoksičnosti:

0 = Nema citotoksično djelovanje

1 = Blago citotoksično djelovanje

2 = Umjereno citotoksično djelovanje

3 = Jako citotoksično djelovanje

6.2-REZULTATI: TEST MTT Stanice Vero / VERO cells (= fibroblasts)

TABLICA BROJ 1: Rezultati inhibicije stanične vitalnosti u postotcima / Cell viability inhibition (%)

Spektrofotometar: MULTISKAN MS PRIMARY EIA

Concentrazione <i>/concentration mg/ml</i>	% inibizione della vitalità cellulare / <i>Cell viability inhibition (%)</i> Valori medi / <i>Mean</i>	IC ₅₀	RISULTATO / <i>RESULT</i> MTT TEST
RAPID BRONZ COD. 013729 LOTTO 259612			
Controllo positivo/ <i>Positive control: SDS 0.06 mg/ml</i>	0.458 0.408 0.403	< <u>0.5</u>	Citotossico / <i>Cytotoxic</i>
Controllo negativo <i>Negative control:: D-MEM</i>	2.246 2.290 2.200	>1,5	Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
Colture cellulari / <i>cell culture</i>	-	>1,5	Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
C1 1000 µg/ml	2.132 2.208 2.261	>1,5	Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
C2 5000 µg/ml	1.910 1.937 1.887		Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
C3 10.000 µg/ml	1.990 1.962 1.964		Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
C4 20.000 µg/ml	1.820 1.891 1.921		Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
C5 50.000 µg/ml	1.520 1.591 1.521		Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>

REZULTAT:

Ispitivani proizvod RAPID BRONZ COD. 013729 LOTTO 259612 (pokazao se NETOKSIČNIM “in vitro”, budući da nije zabilježen nikakav postotak stanične inhibicije fibroblasta Vero, te je stoga dobiveni rezultat PRIHVATLJIV.

6.3-REZULTATI: TEST MTT StaniceBalb 3T3 / Balb 3T3 cell

TABLICA BROJ 1: Rezultati inhibicije stanične vitalnosti u postotcima / Cell viability inhibition (%)

Spektrofometar: MULTISKAN MS PRIMARY EIA

Concentrazione / <i>concentration</i> mg/ml	% inibizione della vitalità cellulare / <i>Cell viability inhibition (%)</i> Valori medi / <i>Mean</i>	IC ₅₀	RISULTATO / <i>RESULT</i> MTT TEST
RAPID BRONZ COD. 013729 LOTTO 259612			
Controllo positivo/ <i>Positive control</i> : SDS 0.06 mg/ml	0.448 0.410 0.408	< <u>0.5</u>	Citotossico / <i>Cytotoxic</i>
Controllo negativo <i>Negative control</i> :: D-MEM	2.284 2.329 2.248	>1,5	Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
Colture cellulare / <i>cell culture</i>	-	>1,5	Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
C1 1000 µg/ml	1.946 2.105 1.980	>1,5	Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
C2 5000 µg/ml	2.092 1.937 1.887		Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
C3 10.000 µg/ml	1.990 1.962 1.964		Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
C4 20.000 µg/ml	1.964 1.900 1.680		Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>
C5 50.000 µg/ml	1.807 1.777 1.729		Non Citotossico / <i>Not Cytotoxic</i>

REZULTAT:

Pokazalo se da ispitivani uzorak RAPID BRONZ COD. 013729 LOTTO 259612 NIJE CITOTOKSIČAN “in vitro” budući da nije zabilježen nikakav postotak stanične inhibicije fibroblasta Vero, te se stoga smatra PRIHVATLJIVIM.

7–ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata, pokazalo se da ispitivani proizvod pod nazivom

RAPID BRONZE COD. 013729 LOTTO 259612

“in vitro” NIJE TOKSIČAN, te da nema iritirajući učinak na stanične kulture u skladu s predviđenim odredbama UNI EN ISO 10993-5:2009.