

## گزارش آزمون سمیت ژنی

نام و آدرس مشتری:

شرکت اندیشه گستر مسعود (شناسه ملی: ۱۴۰۰۷۴۶۲۶۱۴) - تهران، خیابان شریعتی، روبروی خیابان دولت، کوچه امام زاده، پلاک ۱۴، واحد ۵- شماره تماس: ۲۶۶۴۳۱۲۷-۲۲۶۳۰۱۴۸

محل انجام آزمایش:

آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا - تهران، فلکه دوم صادقیه، به سمت جناح، انتهای خیابان طاهریان، پلاک ۵۸، ساختمان رز، طبقه ۴، واحد ۱۰ - شماره تماس: ۰۹۱۲۰۸۰۹۹۰۷-۴۴۰۲۴۰۲۳

استاندارد آزمون:

- ISO 10993-3:2014 "Biological evaluation of medical devices Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity".

جدول زمانی:

تاریخ پذیرش نمونه: ۱۳۹۸/۱۲/۲۴  
تاریخ شروع آزمون: ۱۳۹۹/۰۱/۱۹  
تاریخ پایان آزمون: ۱۳۹۹/۰۱/۲۶

مشخصات نمونه:

نام: سمان MTA  
شرکت سازنده: شرکت اندیشه گستر مسعود - کشور ایران  
تاریخ تولید: ۱۳۹۸/۰۸/۱۴  
تاریخ انقضاء: ۱۴۰۳/۰۸/۱۴  
LOT Number: 98080201  
REF Number: -

خلاصه نتایج آزمون:

نوع آزمون	روش آزمون	تعداد صفحات گزارش	نتایج آزمون
سمیت ژنی - تست بر روی عصاره نمونه	ISO 10993-3:2014 Comet Assay	۴	عدم سمیت ژنی در غلظت ۲۰٪

مدیریت آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا

سجاد محمدی

سهمای خاص ثبت ۱۵۳۳۱۵

### ➤ آماده سازی نمونه‌ها:

#### • آماده سازی عصاره نمونه مورد آزمون:

به ازای هر ۳ سانتی‌متر مربع از نمونه مورد آزمون، ۱ میلی‌لیتر محیط کشت به ظرف حاوی نمونه افزوده شد. عصاره نمونه به مدت  $72 \pm 2$  ساعت درون انکوباتور با دمای  $37 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. از نمونه مورد آزمون غلظت ۲۰٪ تهیه شد.

#### • آماده سازی نمونه کنترل منفی:

۱ میلی‌لیتر محیط کشت به مدت  $72 \pm 2$  ساعت در انکوباتور با دمای  $37 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

#### • آماده سازی نمونه کنترل مثبت:

۱ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن در محیط کشت به مدت  $72 \pm 2$  ساعت در انکوباتور با دمای  $37 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد نگه داری شد.

### تجهیزات:

- هود لامینار
- انکوباتور CO<sub>2</sub>
- سانتریفیوژ
- الکتروفورز افقی
- میکروسکوپ فلورسنت

### ➤ روش آزمون:

برای بررسی میزان سمیت ژنی با روش کامت قلیایی از لاین سلولی K562 با منشا انسانی استفاده شد. ابتدا سلول‌ها با محیط کشت RPMI (همراه با ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS)، ۱٪ پنی‌سیلین و استرپتومایسین) رشد داده شدند و سپس به پلیت ۲۴ حفره (در حدود ۱۷۵۰۰۰ سلول در هر چاهک) با سه بار تکرار منتقل شدند. عصاره نمونه، کنترل مثبت و کنترل منفی به چاهک‌های جداگانه‌ای افزوده شد و پلیت سلولی به مدت  $4 \pm 0/1$  ساعت در انکوباتور حاوی ۵٪ گاز دی‌اکسید کربن و دمای  $37 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. از اسلایدهای Lab-Tek II chamber که قبلاً با NMP<sup>۱</sup> ۱٪ پوشش داده شده‌اند استفاده شد. این لایه باعث استحکام اتصال با LMP<sup>۲</sup> حاوی سلول می‌شود. به میزان ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه با ۴۵۰ میکرولیتر از LMP ۰/۵ درصد ذوب شده در بافر نمکی سالین 1X ترکیب کرده و به اسلایدهای مخصوص منتقل شد. اسلایدها به مدت ۱۰ دقیقه در

<sup>1</sup> Normal melting point agarose

<sup>2</sup> Low melting agarose

شماره: ۸۳۴  
تاریخ: ۱۳۹۹/۱/۲۴  
پیوست: ۳

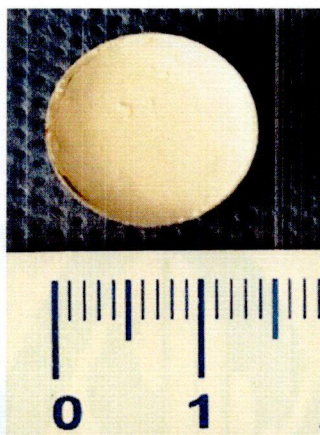
## کیا نانو زیست ویستا

آزمایشگاه همکار سازمان غذا و دارو و اداره کل تجهیزات پزشکی

**KiNB**  
KiaNanoBioVista

۴±۱ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و سپس در محلول لیز کننده قلیایی (۲/۵ مول NaCl، ۱۰۰ میلی مول EDTA، ۱۰ میلی مول تریس، ۱% Triton X-100، 10% DMSO، pH10) به مدت ۱±۰/۱ ساعت در ۴±۱ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از این زمان اسلایدها به مدت ۱±۰/۱ دقیقه در معرض جریان ۲۵ ولت دستگاه الکتروفورز قرار گرفتند و سپس در محلول خنثی کننده (۰/۴ مول تریس با pH7.5) به آرامی غوطه ور شدند. در نهایت اسلایدها با متانول سرد برای ۵ دقیقه تثبیت و با ۲۵ میکرولیتر اتیدیوم برمایید حل شده در آب دیونیزه، رنگ آمیزی و در زیر میکروسکوپ فلورسنت مشاهده شدند.

تصویر نمونه مورد آزمون:



تفسیر نتایج:

کلیه اسلایدها با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر در زیر میکروسکوپ فلورسنت بررسی شدند. تقریباً ۶۰ کامت در هر اسلاید با استفاده از نرم افزار CASP<sup>۳</sup> مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیابی کمی شامل میانگینی از پارامترهای طول دم، میزان گشتاور دم و قطر سر کامتها است (جدول ۱). بر اساس داده‌ها، مقادیر کنترل مثبت نسبت به کنترل منفی دارای اختلاف معنی دار و قابل قبولی هستند که نشان دهنده صحت آزمون مذکور است.

نتایج:

جدول ۱: پارامترهای آزمون کامت قلیایی (μm), P≤0.05

	Sample extract	Positive control	Negative control
Tail Moment	48.7±8.6	57.6±5.4	44.3±7.5
Head DNA	50.5±9.7	67.5±2.4	40.2±9.3
Tail DNA	5.4±3.0	25.4±14.2	4.3±2.1

**KiNB**  
KiaNanoBioVista  
کیا نانو زیست ویستا  
سهامی خاص ثبت ۱۵۳۳۵

<sup>3</sup> Comet Assay Software Project

☎ 021-44024023  
☎ 021-44046080  
✉ 1481634615  
🌐 www.kiananobio.com  
@ info@kiananobio.com

تهران، فلکه دوم صادقیه به سمت جناح، انتهای خیابان طاهریان، بلاک ۵۸، ساختمان رز، طبقه ۴، واحد ۱۰

شماره: T. ۸۴۴  
تاریخ: ۱۳۹۹ / ۱ / ۲۴  
پیوست: ۴

# کیا نانو زیست ویستا

آزمایشگاه همکار سازمان غذا و دارو و اداره کل تجهیزات پزشکی



## نتیجه گیری:

نتایج آزمون نشان دادند که پاسخ عصاره نمونه مورد آزمون (سمان MTA شرکت اندیشه گستر مسعود) به سمیت ژنتیکی در محدوده نرمال می باشد که نشان دهنده عدم سمیت ژنی در غلظت ۲۰٪ نمونه مورد آزمون می باشد.

## مراجع:

- ISO 10993-12:2012 Biological evaluation of medical devices - Part 12: Sample preparation and reference materials
- ISO 10993-03:2014 Biological evaluation of medical devices Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity

  
مدیریت آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا  
سجاد محمدی  
سهامی خاص ثبت ۱۵۳۳۱۵

☎ 021-44024023  
☎ 021-44046080  
✉ 1481634615  
🌐 www.kiananobio.com  
@ info@kiananobio.com

تهران. فلکه دوم صادقیه به سمت جناح. انتهای خیابان طاهریان. بلاک ۵۸. ساختمان رز. طبقه ۴. واحد ۱۰

شماره: T.۸۲۴  
تاریخ: ۱۳۹۹ / ۱ / ۲۴  
پیوست: ۴

# کیا نانو زیست ویستا

آزمایشگاه همکار سازمان غذا و دارو و اداره کل تجهیزات پزشکی



## به نام خدا

مدیر عامل محترم شرکت اندیشه گستر مسعود

جناب آقای شهری

باسلام

احتراما پیرو درخواست با شماره نامه ۹۸-د-۵۴، مورخ ۹۸/۱۱/۱۲ آن شرکت محترم در خصوص انجام سمیت ژنی مطابق با استاندارد ISO 10993-3 به استحضار می رساند، نمونه سمان MTA در غلظت ۲۰٪ شرکت اندیشه گستر مسعود - کشور ایران مطابق با گزارش آزمون پیوست سمیت ژنی ندارد.

مدیریت آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا  
سجاد محمدی

☎ 021-44024023  
☎ 021-44046080  
✉ 1481634615  
🌐 www.kiananobio.com  
@ info@kiananobio.com

تهران. فلکه دوم صادقیه به سمت جناح. انتهای خیابان طاهریان. بلاک ۵۸. ساختمان رز. طبقه ۴. واحد ۱۰