

## گزارش آزمون سمیت سلولی

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:

- UNI EN ISO 10993-5:2009 - Biological evaluation of medical devices - Part 5: Test for in vitro cytotoxicity

جدول زمانی:

تاریخ پذیرش نمونه: ۱۳۹۸/۱۱/۱۴  
تاریخ شروع آزمون: ۱۳۹۸/۱۱/۱۴  
تاریخ پایان آزمون: ۱۳۹۸/۱۲/۲۱

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 سلولی - تست بر روی عصاره نمونه	ISO 10993-5:2009 Annex C	۴	عدم سمیت سلولی در غلظت‌های مشخص شده

مدیریت آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا  
سجاد محمدی

کیا نانو زیست ویستا  
سهامی خاص  
ثبت ۵۰۳۲۱۵

## مقدمه:

از آزمون (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) MTT برای بررسی سمیت سلول تحت تاثیر عصاره نمونه‌ها استفاده می‌شود تا بتوان معیاری از زیست سازگاری نمونه‌ها را بدست آورد. رنگ MTT در میتوکندری سلول‌های زنده از رنگ زرد به کریستالهای بنفش فورمازان تغییر می‌یابد و غلظت رنگ معیاری از میزان سلول‌های زنده است که با دستگاه فوتومتر در طول موج ۵۷۰nm قابل اندازه‌گیری خواهد بود.

## روش آزمون:

این آزمون مطابق با استاندارد ISO 10993-5:2009 Annex C انجام شد.

عصاره‌گیری‌ها مطابق با استاندارد ISO 10993-12 به شرح ذیل انجام شد:

### • آماده سازی عصاره نمونه مورد آزمون:

به ازای هر ۳ سانتی متر مربع از نمونه مورد آزمون، ۱ میلی لیتر محیط کشت به ظرف حاوی نمونه افزوده شد و به مدت  $72 \pm 2$  ساعت درون انکوباتور با دمای  $37 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. از عصاره نمونه غلظت‌های مختلف (۰.۵٪، ۱.۰٪، ۳.۰٪، ۵.۰٪، ۱۰.۰٪) تهیه شد.

### • آماده سازی عصاره نمونه کنترل منفی:

به ازای هر ۳ سانتی متر مربع از سطح مقطع HDPE (High Density Polyethylene). ۱ میلی لیتر محیط کشت به ظرف حاوی HDPE افزوده شد و به مدت  $72 \pm 2$  ساعت درون انکوباتور با دمای  $37 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

### • آماده سازی عصاره نمونه کنترل مثبت:

به ازای هر ۶ سانتی متر مربع از سطح مقطع دستکش لاتکس، ۱ میلی لیتر محیط کشت به ظرف حاوی دستکش لاتکس افزوده شد و به مدت  $72 \pm 2$  ساعت درون انکوباتور با دمای  $37 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

برای بررسی میزان سمیت سلولی از آزمون MTT cytotoxicity test استفاده شد، به صورتی که ابتدا به میزان  $1 \times 10^4$  سلول L929 با محیط کشت RPMI (همراه با ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS)، ۱٪ پنی سیلین و استرپتومایسین) درون چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه با ۶ بار تکرار ریخته شد و سپس به مدت  $24 \pm 2$  ساعت در انکوباتور حاوی ۵٪ گاز دی اکسید کربن و دمای  $37 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا سلول‌ها به صورت کامل به کف چاهک‌های پلیت بچسبند. پس از گذشت  $24 \pm 2$  ساعت محیط کشت چاهک‌ها خارج شد و عصاره‌ها به چاهک‌های پلیت افزوده و سلول‌ها برای مدت  $24 \pm 2$  ساعت دیگر در مجاورت این عصاره‌ها قرار گرفتند. پس از گذشت  $24 \pm 2$  ساعت عصاره چاهک‌ها خارج شدند و به میزان ۱۰۰ میکرولیتر رنگ MTT با غلظت ۰/۵ mg/ml به هر چاهک اضافه شد. پس از گذشت ۳ ساعت رنگ MTT چاهک‌ها خارج شد و ایزوپروپانول به تمامی چاهک‌ها اضافه گردید تا بلورهای بنفش رنگ تشکیل

MTT چاهک‌ها خارج شد و ایزوپروپانول به تمامی چاهک‌ها اضافه گردید تا بلورهای بنفش رنگ تشکیل شده و به صورت کامل حل شوند. در پایان مقدار رنگ حل شده در ایزوپروپانول با استفاده از دستگاه الیزا در طول موج ۵۷۰nm محاسبه شد. چاهک‌هایی که دارای سلول‌های زنده هستند چگالی نوری (OD) بالاتری نسبت به چاهک‌های با سلول مرده از خود نشان می‌دهند. بنابراین با توجه به فرمول ذیل می‌توان چگالی نوری چاهک‌های نمونه مورد آزمون را با چاهک‌های نمونه کنترل مقایسه نمود.

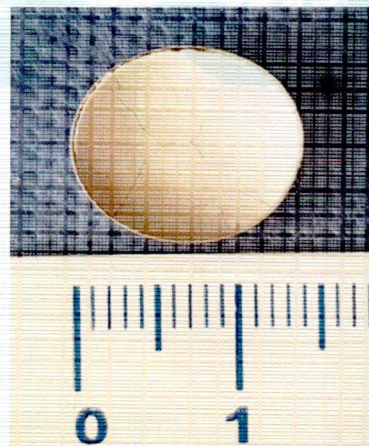
$$\text{Toxicity}\% = 1 - \frac{\text{mean of OD sample}}{\text{mean of OD control}} \times 100$$

$$\text{Viability}\% = 100 - \text{Toxicity}\%$$

## تجهیزات:

- هود لامینار
- انکوباتور CO<sub>2</sub>
- سانتریفیوژ
- الیزا ریدر
- میکروسکوپ اینورت

## تصویر نمونه مورد آزمون:



## تفسیر نتایج:

- نمونه مورد آزمون اگر Viability بیشتر از ۷۰٪ داشته باشد سمیت سلولی ندارد.
- نمونه مورد آزمون اگر Viability کمتر از ۷۰٪ داشته باشد سمیت سلولی دارد.
- نمونه کنترل منفی باید Viability ۱۰۰٪ داشته باشد.
- نمونه کنترل مثبت باید Viability کمتر از ۵۰٪ داشته باشد.
- Standard Deviation بین تکرار نمونه‌های هر گروه باید کمتر از ۱۵٪ باشد.

شماره: ۳۷۲۵  
تاریخ: ۱۳۹۸/۱۲/۲۱  
پیوست: ۴-۴

# کیا نانو زیست ویستا

آزمایشگاه همکار سازمان غذا و دارو و اداره کل تجهیزات پزشکی

**KNB**  
KiaNanoBioVista

## نتایج:

	Test Samples					Positive Control	Negative Control
	100%	50%	30%	10%	5%		
Average	0.010	0.0547	0.190	0.275	0.285	0.004	0.305
STDV %	0.09	0.02	0.01	0.03	0.01	0.06	0.09
Viability %	3.404	17.894	62.193	90.016	93.29	1.342	100
Toxicity %	96.596	82.106	37.807	9.984	6.710	98.658	0

## نتیجه گیری:

درصد زنده ماندن سلول‌های در تماس با نمونه مورد آزمون (سمان MTA (C2) شرکت اندیشه گستر مسعود) نسبت به نمونه کنترل از غلظت ۱۰٪ به پایین، بالاتر از حدودا ۹۰٪ است که نشان دهنده عدم سمیت سلولی عصاره جدا شده از نمونه در این غلظت‌ها می‌باشد.

## مراجع:

- UNI EN ISO 10993-5:2009 "Biological evaluation of medical devices - Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity"
- UNI EN ISO 10993-12:2012 "Biological evaluation of medical devices - Part 12: Sample preparation and reference materials"

مدیریت آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا  
سجاد محمدی  
سپاهامی خاص  
تت ۵۰۳۲۱۵

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

شماره: ۷۲-۳  
تاریخ: ۱۳۹۸/۱۲/۲۱  
پیوست:

# 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 ۵۴-د-۹۸، مورخ ۹۸/۱۱/۱۲ آن شرکت محترم در خصوص انجام آزمون سمیت سلولی (MTT) مطابق با استاندارد ISO 10993-5 به استحضار می‌رساند، نمونه سمان MTA شرکت اندیشه گستر مسعود - کشور ایران مطابق با گزارش آزمون پیوست از غلظت ۱۰٪ به پایین سمیت سلولی ندارد.

مدیریت آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا

سجاد محمدی

کیا نانو زیست ویستا

سهامی خاص، ثبت ۵۰۳۲۱۵

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

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