

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 و ارزیابی انطباق:

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

جدول زمانی:

پذیرش نمونه:	۱۴۰۰/۰۵/۲۴	شروع آزمون:	۱۴۰۰/۰۵/۲۴
پایان آزمون:	۱۴۰۰/۰۶/۱۱	ارائه گزارش:	۱۴۰۰/۰۶/۲۹

مشخصات نمونه:

نام	سمان گلس آینومر
شرکت سازنده	اندیشه گستر مسعود - کشور ایران
کد نمونه آزمایشگاه	N000523/258/01
تاریخ تولید	۱۴۰۰/۰۲/۰۵
LOT Number	00020401
REF Number	-
تاریخ انقضاء	۱۴۰۲/۰۲/۰۵
Batch Number	-
روش استریل	-

خلاصه نتایج آزمون:

نوع آزمون	روش آزمون	نتایج آزمون
سمیت ژنی - تست بر روی عصاره نمونه	ISO 10993:3:2014 Comet Assay	در غلظت ۱۰٪ سمیت ژنی ندارد

مدیریت آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا
سجاد محمدی
کیا نانو زیست ویستا
تهنای خاص
تیت ۵۰۳۲۱۵

آماده سازی:

➤ آماده سازی نمونه‌ها:

• آماده سازی عصاره نمونه مورد آزمون:

به ازای هر ۰/۲ گرم از نمونه مورد آزمون، ۱ میلی‌لیتر محیط کشت به ظرف حاوی نمونه افزوده شد. عصاره نمونه به مدت 72 ± 2 ساعت درون انکوباتور با دمای 37 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. از عصاره نمونه مورد آزمون غلظت ۱۰٪ تهیه شد.

• آماده سازی نمونه کنترل منفی:

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

• آماده سازی نمونه کنترل مثبت:

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

تجهیزات:

- هود لامینار
- انکوباتور CO₂
- سانتریفیوژ
- الکتروفورز افقی
- میکروسکوپ فلورسنت

روش آزمون و ارزیابی انطباق:

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 ± 1 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. از اسلایدهای Lab-Tek II chamber که قبلاً با NMP^۱ ۱٪ پوشش داده شده‌اند استفاده شد. این لایه باعث استحکام اتصال با LMP^۲ 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 4 ± 1 درجه

¹ Normal melting point agarose

² Low melting agarose

سانتی‌گراد 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، ۱۰% DMSO - pH10) به مدت ۱/۱±۱ ساعت در ۴±۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از این زمان اسلایدها به مدت ۱/۱±۰.۲ 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.

معیار پذیرش:

- نمونه مورد آزمون اگر Tail DNA، ۱-۲۰٪ داشته باشد سمیت ژنی ندارد.
- نمونه مورد آزمون اگر Tail DNA، بیشتر از ۲۰٪ داشته باشد سمیت ژنی دارد.
- نمونه کنترل منفی باید Tail DNA، ۱-۱۰٪ داشته باشد.
- نمونه کنترل مثبت باید Tail DNA، بیش از ۳۰٪ داشته باشد.

نتایج:

کلیه اسلایدها با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر در زیر میکروسکوپ فلورسنت بررسی شدند. تقریباً ۶۰ کامت در هر اسلاید با استفاده از نرم افزار CASP³ 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.

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

	Sample extract	Positive control	Negative control
Tail Moment %	19.748±1.6	51.928±2.4	16.836±1.4
Head DNA %	32.563±1.3	59.135±2.0	29.652±1.7
Tail DNA %	6.934±2.3	44.721±1.4	4.021±2.7

ارزیابی انطباق:

نتایج آزمون نشان دادند که پاسخ عصاره نمونه مورد آزمون (سمان گلس آینومر شرکت اندیشه گستر مسعود) در غلظت ۱۰٪ به سمیت ژنتیکی در محدوده نرمال می‌باشد که نشان دهنده عدم سمیت ژنی نمونه مورد آزمون می‌باشد.

³ Comet Assay Software Project

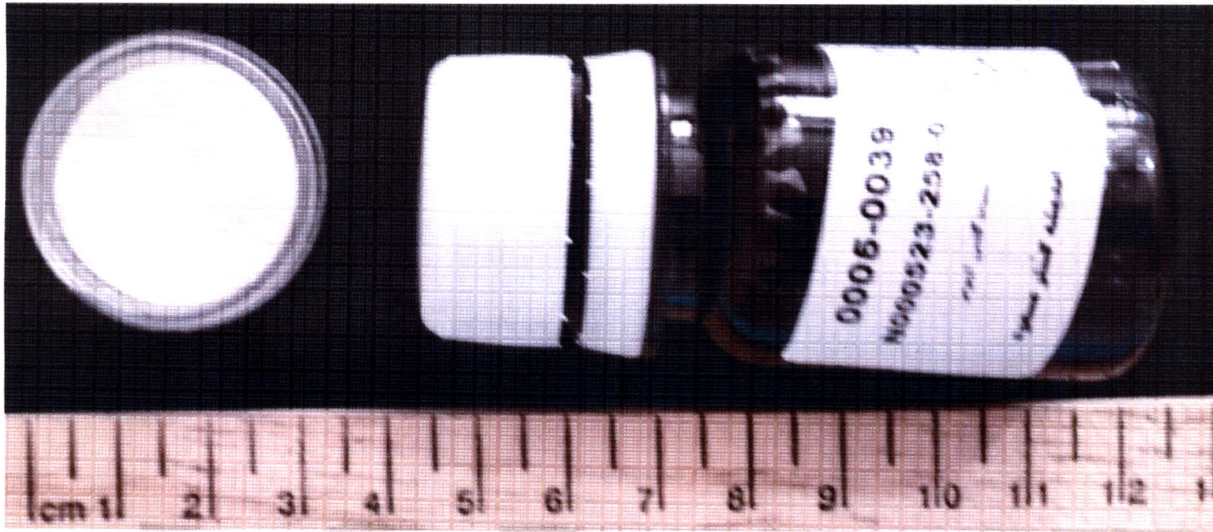
کیا نانو زیست ویستا

KNB
KiaNanoBioVista

شماره صفحه: ۴ از ۴
شماره گزارش: KNB-1400-1080
کد سند: TR-09c-01

آزمایشگاه همکار سازمان غذا و دارو و اداره کل تجهیزات پزشکی
شرکت همکار بازرسی و نمونه برداری کالا سازمان ملی استاندارد

تصویر نمونه مورد آزمون:



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

KNB
KiaNanoBioVista
کیا نانو زیست ویستا

سهامی خاص ثبت ۵۰۳۲۱۵

021-44024023

09333672386

1481634615

www.kiabio.com

info@kiabio.com

تهران، فلکه دوم صادقیه به سمت جناح، انتهای خیابان طاهریان، ساختمان پزشکان رز، پلاک ۵۸، طبقه ۴، واحد ۱۰ و ۱۱