

به نام خدا

مدیر عامل محترم شرکت اندیشه گستر مسعود

جناب آقای شهری

باسلام

احتراما پیرو درخواست با شماره نامه ۹۹-د-۳۳، مورخ ۹۹/۰۹/۰۳ آن شرکت محترم در خصوص انجام سمیت ژنی مطابق با استاندارد ISO 10993-3 به استحضار می رساند، نمونه سمان زینک فسفات (با غلظت ۱۰٪) شرکت اندیشه گستر مسعود - کشور ایران مطابق با گزارش آزمون پیوست سمیت ژنی ندارد.

مدیریت آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا
کیا نانو زیست ویستا
سهامی خاص ثبت ۱۵۳۲۵

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:

۱۳۹۹/۰۹/۰۸	شروع آزمون:	۱۳۹۹/۰۹/۰۸	پذیرش نمونه:
۱۳۹۹/۱۰/۰۸	ارائه گزارش:	۱۳۹۹/۰۹/۲۵	پایان آزمون:

مشخصات نمونه:

سمان زینک فسفات (با غلظت ۱۰٪)	نام
اندیشه گستر مسعود - کشور ایران	شرکت سازنده
۱۴۰۴/۰۸/۲۳	تاریخ تولید
-	Batch Number
-	روش استریل
۱۳۹۹/۰۸/۲۳	تاریخ تولد
۹۹۰۸۰۳۰۱	LOT Number
-	REF Number

خلاصه نتایج آزمون:

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

مدیریت آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا

سجاد محمدی

کیا نانو زیست ویستا

سهمی خاص ثبت ۵۰۳۲۱۵

☎ 021-44024023

☎ 09333672386

✉ 1481634615

🌐 www.kiabiobio.com

✉ info@kiabiobio.com

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

آماده سازی:

➤ آماده سازی نمونه‌ها:

- آماده سازی عصاره نمونه مورد آزمون:
به ازای هر ۰/۲ گرم از نمونه مورد آزمون، ۱ میلی لیتر محیط کشت به ظرف حاوی نمونه افزوده شد. عصاره نمونه به مدت 72 ± 2 ساعت درون انکوباتور با دمای 37 ± 1 درجه سانتی گراد نگهداری شد.
- آماده سازی نمونه کنترل منفی:
۱ میلی لیتر محیط کشت به مدت 72 ± 2 ساعت در انکوباتور با دمای 37 ± 1 درجه سانتی گراد نگهداری شد.
- آماده سازی نمونه کنترل مثبت:
۱ میلی لیتر پراکسید هیدروژن در محیط کشت به مدت 72 ± 2 ساعت در انکوباتور با دمای 37 ± 1 درجه سانتی گراد نگه داری شد.

تجهیزات:

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

➤ روش آزمون:

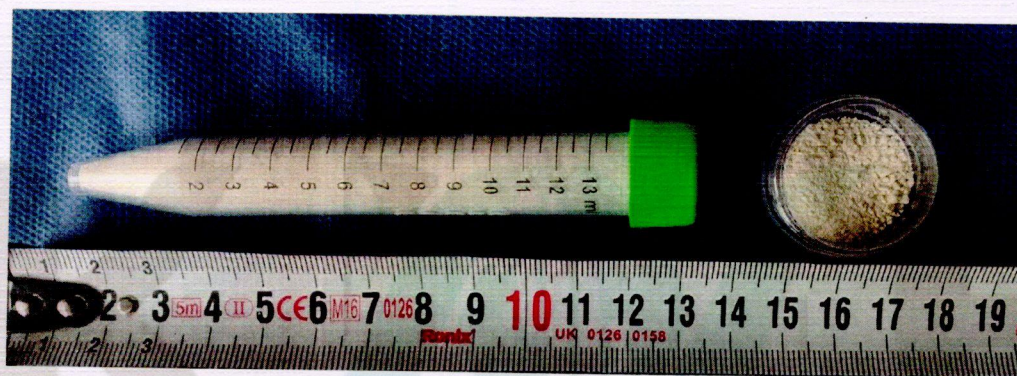
برای بررسی میزان سمیت ژنی با روش کامت قلیایی از لاین سلولی K562 با منشا انسانی استفاده شد. ابتدا سلول ها با محیط کشت RPMI (همراه با ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS)، ۱٪ پنی سیلین و استرپتومایسین) رشد داده شدند و سپس به پلیت ۲۴ حفره (در حدود ۱۷۵۰۰۰ سلول در هر چاهک) با سه بار تکرار منتقل شدند. عصاره نمونه، کنترل مثبت و کنترل منفی به چاهک های جداگانه ای افزوده شد و پلیت سلولی به مدت $4 \pm 0/1$ ساعت در انکوباتور حاوی ۵٪ گاز دی اکسید کربن و دمای 37 ± 1 درجه سانتی گراد قرار داده شد. از اسلایدهای Lab-Tek II chamber که قبلا 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 سانتی گراد نگهداری شدند و سپس در محلول لیز کننده قلیایی (۲/۵ مول NaCl، ۱۰۰ میلی مول EDTA، ۱۰

¹ Normal melting point agarose

² Low melting agarose

میلی مول تریس، 1% Triton X-100، 10% DMSO - pH10) به مدت 1/0±1 ساعت در 1±4 درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از این زمان اسلایدها به مدت 1/0±20 دقیقه در معرض جریان 25 ولت دستگاه الکتروفورز قرار گرفتند و سپس در محلول خنثی کننده (0/4 مول تریس با pH7.5) به آرامی غوطه ور شدند. در نهایت اسلایدها با متانول سرد برای 5 دقیقه تثبیت و با 25 میکرولیتر اتیدیوم برماید حل شده در آب دیونیزه، رنگ آمیزی و در زیر میکروسکوپ فلورسنت مشاهده شدند.

تصویر نمونه مورد آزمون:



تفسیر نتایج:

کلیه اسلایدها با بزرگنمایی 100 برابر در زیر میکروسکوپ فلورسنت بررسی شدند. تقریباً 60 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 1). 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 1: پارامترهای آزمون کامت قلیایی (μm). $P \leq 0.05$

	Sample extract	Positive control	Negative control
Tail Moment	30.5±4.3	56.3±5.6	22.4±9.1
Head DNA	53.6±9.5	71.4±2.3	40.3±9.0
Tail DNA	7.5±3.7	41.2±14.0	4.5±2.65

نتیجه گیری:

نتایج آزمون نشان دادند که پاسخ عصاره نمونه مورد آزمون (سمان زینک فسفات در غلظت ۱۰٪ شرکت اندیشه گستر مسعود) به سمیت ژنتیکی در محدوده نرمال می باشد که نشان دهنده عدم سمیت ژنی 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 ۵۳۲۱۵