

گزارش آزمون سمیت سلولی

نام و آدرس مشتری:

شرکت وایر ایران (شناسه ملی: ۱۰۱۰۰۰۲۱۴۴۳) - آدرس: البرز، کرج، جاده ملارد، خیابان نیروگاه
منتظر قائم، شهرک صنعتی نور، بن بست نور دوم شرقی، پلاک ۷۱۴۷، کد پستی: ۳۱۶۷۶۵۴۶۵۶-
شماره تماس: ۰۲۶-۳۶۶۷۰۴۲۲

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:

- UNI EN ISO 10993-5:2009 & INSO 7116-5 :1397 - Biological evaluation of medical devices - Part 5: Test for in vitro cytotoxicity

جدول زمانی:

۱۴۰۱/۰۶/۲۰	شروع آزمون:	۱۴۰۱/۰۶/۲۰	پذیرش نمونه:
۱۴۰۱/۰۷/۰۴	ارائه گزارش:	۱۴۰۱/۰۶/۲۷	پایان آزمون:

مشخصات نمونه:

شیت سیلیکونی (silicone sheet)	نام		
وایر ایران - کشور ایران	شرکت سازنده		
-	روش استریل		
0106-0052	شماره پرونده	N010613-69-03	کد نمونه آزمایشگاه
۱۴۰۲/۰۶/۱۲	تاریخ انقضاء	۱۴۰۱/۰۶/۱۲	تاریخ تولید
-	REF Number	1169/M	LOT Number

خلاصه نتایج آزمون:

نوع آزمون	روش آزمون	نتایج آزمون
سمیت سلولی - تست بر روی عصاره نمونه	ISO 10993-5:2009 Annex C	سمیت سلولی ندارد

مدیریت آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا

کیا نانو زیست ویستا

سپاسنامه حاصل ثبت ۱۵۰۳۳۱۵



مقدمه:

از آزمون (MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) 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 ۵۷۰ nm قابل اندازه‌گیری خواهد بود.

روش آزمون و ارزیابی انطباق:

این آزمون و معیارهای ارزیابی انطباق آن مطابق با استاندارد ISO 10993-5:2009 Annex C می‌باشد. عصاره‌گیری‌ها مطابق با استاندارد ISO 10993-12 به شرح ذیل انجام شد:

• آماده سازی عصاره نمونه مورد آزمون:

به ازای هر ۳ سانتی‌متر مربع از نمونه مورد آزمون، ۱ میلی لیتر محیط کشت به ظرف حاوی نمونه افزوده شد و به مدت ۴±۲ ساعت درون انکوباتور با دمای ۳۷±۱ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

• آماده سازی عصاره نمونه کنترل منفی:

به ازای هر ۳ سانتی‌متر مربع از سطح مقطع (HDPE (High Density Polyethylene). ۱ میلی لیتر محیط کشت به ظرف حاوی HDPE افزوده شد و به مدت ۴±۲ ساعت درون انکوباتور با دمای ۳۷±۱ درجه سانتی-گراد قرار گرفت.

• آماده سازی عصاره نمونه کنترل مثبت:

به ازای هر ۶ سانتی‌متر مربع از سطح مقطع دستکش لاتکس، ۱ میلی لیتر محیط کشت به ظرف حاوی دستکش لاتکس افزوده شد و به مدت ۴±۲ ساعت درون انکوباتور با دمای ۳۷±۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

برای بررسی میزان سمیت سلولی از آزمون MTT cytotoxicity test استفاده شد، به صورتی که ابتدا به میزان ۱×۱۰^۴ 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 ۲۴±۲ ساعت در انکوباتور حاوی ۵٪ گاز دی اکسید کربن و دمای ۳۷±۱ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا سلول‌ها به صورت کامل به کف چاهک‌های پلیت بچسبند. پس از گذشت ۲۴±۲ ساعت محیط کشت چاهک‌ها خارج شد و عصاره‌ها به چاهک‌های پلیت افزوده و سلول‌ها برای مدت ۲۴±۲ ساعت دیگر در مجاورت این عصاره‌ها قرار گرفتند. پس از گذشت ۲۴±۲ ساعت عصاره چاهک‌ها خارج شدند و به میزان ۵۰ میکرولیتر رنگ MTT با غلظت ۱ mg/ml به هر چاهک اضافه شد. پس از گذشت ۲ ساعت رنگ 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 ۵۷۰ nm 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 CO₂
- سانتریفیوژ
- الیزا ریدر
- میکروسکوپ اینورت

معیار پذیرش:

- 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 بلانک 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.

نتایج:

	Test Sample	Blank	Positive Control	Negative Control
Average (OD)	0.452	0.465	0.008	0.465
Viability %	97.077	100	1.720	99.957
Toxicity %	2.923	0	98.280	0.043
STDV	0.07	0.02	0.02	0.03

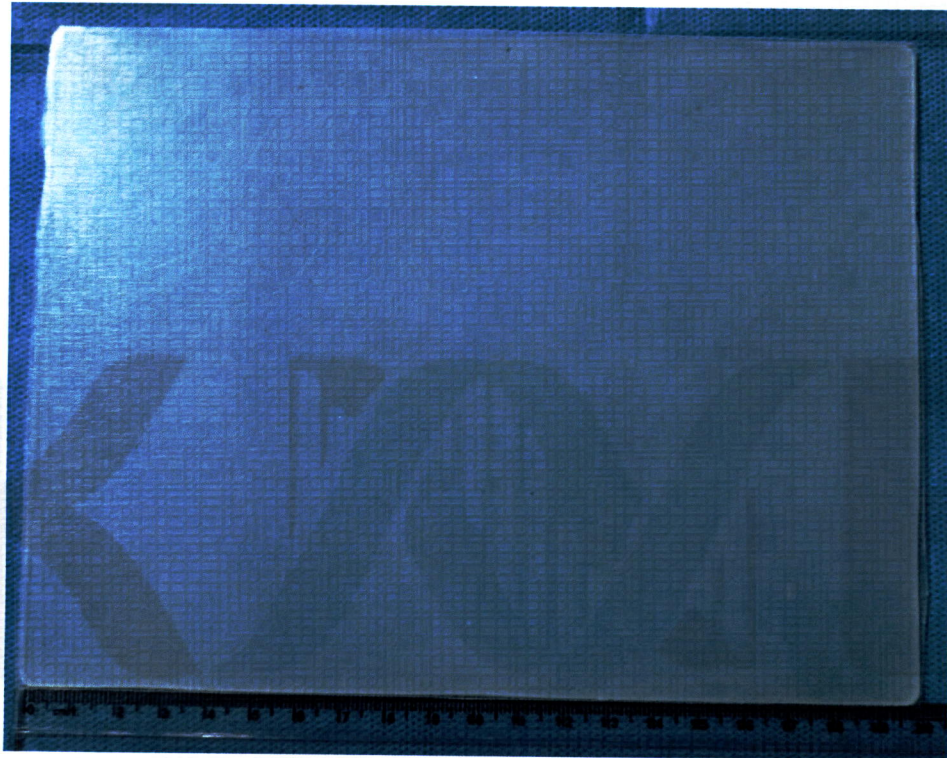
Expanded uncertainty=±4.34 % Reading *Expanded uncertainty: An interval about the measurement result that encompasses 95% of probability density function of measurement result.



ارزیابی انطباق:

درصد زنده ماندن سلول‌های در تماس با نمونه مورد آزمون (شیت سیلیکونی شرکت وایر ایران) نسبت به نمونه شاهد حدود ۹۷٪ بود که نشان دهنده عدم سمیت سلولی عصاره جدا شده از نمونه می‌باشد.

تصویر نمونه مورد آزمون:



مراجع:

- UNI EN ISO 10993-5:2009 & INSO 7116-5 :1397 "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"

کیا نانو زیست ویستا
KiaNanoBioVista
کیا نانو زیست ویستا
سهامی خاص ثبت ۵۰۳۲۱۵

مدیریت آزمایشگاه کیا نانو زیست ویستا
سجاد محمدی

