



گزارش عملکرد

الف- تهیه‌ی دستورالعمل انجام آزمون‌های عملکردی و زیستی

(شامل زیست سازگاری و آنتی باکتریال)

ب- تجهیز آزمایشگاه زخم و ترمیم زخم شامل:

۱- طراحی و سفارش ساخت قطعات شامل Paddington Cup جهت ارزیابی خواصی مانند ظرفیت انتقال سیال و

نرخ انتقال بخار آب

۲- خرید تجهیزات و مواد مورد نیاز جهت انجام آزمون‌های عملکردی و زیستی (آزمون‌های آنتی باکتریال و سمیت

سلولی)

ج) انجام آزمون‌های عملکردی و مقایسه‌ی آنها با نتایج برون سپاری

د) انجام آزمون‌های زیستی

تعیین مشخصات فیزیکی زخم پوش ها: جرم ودانسیته سطحی و حجمی

محاسبه‌ی جرم (m (g/m²)) و ضخامت (L (cm)) و همچنین تعداد لایه‌های پوشش‌ها به ترتیب مطابق با استاندارد [۱] BS EN 12127:1998 و [۲] BS EN ISO 9073-2:1997 قابل انجام می‌باشد. جهت انجام این آزمون، 2 نمونه از هر زخم‌پوش با ابعاد 4×4 cm² آماده و جرم آنها به طور جداگانه با ترازوی با دقت چهار رقم اعشار اندازه‌گیری و سپس جرم واحد سطح نمونه‌ها بر حسب s (g/m²) محاسبه و گزارش می‌گردد. ضخامت نمونه‌ها با استفاده از کولیس اندازه‌گیری و ثبت می‌شود. حجم نمونه‌ها بر اساس ضخامت بدست آمده محاسبه و درنهایت، دانسیته‌ی حجمی (ρ) نمونه‌ها از تقسیم جرم بر حجم نمونه‌ها مطابق فرمول زیر محاسبه می‌شود.

$$S = m/s \text{ (4} \times 4 \text{ cm}^2\text{)}$$

$$\rho = m/V$$

جدول ۱. مشخصات فیزیکی نمونه‌های زخم‌پوش هایدروفاایبر (HF-V₂)

جرم (m)	حجم اولیه (v)	ضخامت (L)	چگالی $\rho = m/v$	$S = m/s(4 \times 4)$
0.2402g	1.92 cm ³	0.12 cm	0.1251 g/cm ³	0.0150 g/cm ²
0.2016g	1.92 cm ³	0.12 cm	0.105 g/cm ³	0.0126 g/cm ²
0.2449g	2.08 cm ³	0.13 cm	0.1177 g/cm ³	0.0153 g/cm ²
0.2133g	1.92 cm ³	0.12 cm	0.111 g/cm ³	0.0133 g/cm ²
۰,۲۲۵g	1.96 cm ³	0.1225cm	رجوع به بخش آزمون جذب و احتباس	رجوع به بخش آزمون آزمون جذب و احتباس

توضیحات: نمونه‌های ۱ و ۲ تحت آزمون احتباس قرار گرفتند

جدول ۲. مشخصات فیزیکی نمونه‌های زخم‌پوش فوم

چگالی ρ=m/v	S=m/s(4×4)	جرم(m)	حجم اولیه(۷)	ضخامت(L)	
۰,۰۴۱۴ g/cm ³	۰,۰۴۱۶ g/cm ²	0.6667g	۱۶,۰۸ cm ³	۱,۰۰۵cm	نمونه ۱
۰,۰۴۳۱ g/cm ³	۰,۰۴۵۲ g/cm ²	0.7235g	۱۶,۷۵ cm ³	۱,۰۴۷cm	نمونه ۲
۰,۰۴۰۶ g/cm ³	۰,۰۴۱۰ g/cm ²	0.6574g	۱۶,۱۹ cm ³	۱,۰۱۲cm	نمونه ۳
۰,۰۳۷۱ g/cm ³	۰,۰۳۴۵ g/cm ²	۰,۵۵۳۳g	۱۴,۸۸ cm ³	۰,۹۳cm	نمونه ۴
رجوع به بخش آزمون جذب آزاد و احتباس	رجوع به بخش آزمون جذب آزاد و احتباس	۰,۶۵۰۲g	15.97 cm ³	0.9985cm	میانگین

توضیحات: نمونه هاس ۱ و ۲ تحت آزمون احتباس قرار گرفتند.

آزمون ظرفیت جذب آزاد

در ابتدا دو نمونه فوم الیاف هیدروفایبر به ابعاد 4×4 را برای آزمون جذب آزاد برش زده و وزن کردیم سپس محلول A حاوی ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر را با ۵۰ میلی لیتر از محلول کلسیم کلراید و سدیم کلراید مخلوط کرده و سپس طبق مراحل زیر عمل نموده:

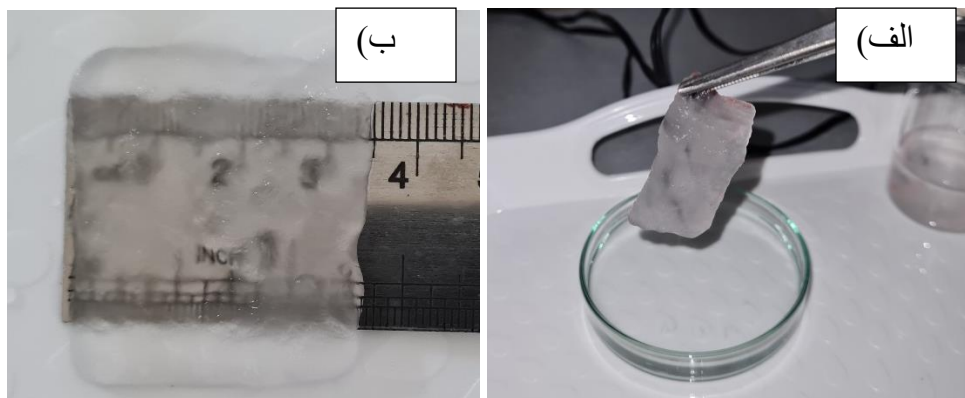
- ۱- نمونه‌های $4 \times 4 \text{ cm}^2$ از زخم‌پوش‌ها آماده و (با دقت چهار رقم اعشار) در حالت خشک توزین می‌گردند (m_1).
- ۲- نمونه‌های برش داده شده در داخل ظرف (پتری دیش) قرار گرفته و معادل ۴۰ برابر وزن نمونه‌ها، از محلول شبیه سازی شده‌ی ترشحات زخم (محلول A) با دمای 37°C ، به آرامی به نمونه‌ی داخل ظرف اضافه و سپس مجموعه‌ی ظرف حاوی محلول و نمونه در داخل آون با دمای 37°C نگهداری می‌شوند.
- ۳- بعد از گذشت مدت زمان معین (۳۰ دقیقه)، نمونه‌ها به آرامی و با کمک پنس از داخل محلول خارج و به مدت ۳۰ s معلق می‌ماند و اجازه داده می‌شود تا مایع اضافی از نمونه خارج شده و بلافاصله مجدداً بعنوان وزن تر نمونه (m_2) توزین می‌گردند. جذب آزاد نمونه‌ها مطابق با فرمول زیر محاسبه می‌شود و نتایج زیر بدست آمده

جدول ۳. تغییرات جرمی نمونه‌های زخم‌پوش هایدروفایبر در اثر جذب آزاد

جرم (m_1)	جرم مرطوب (m_2)	جذب آزاد نمونه $(m_2 - m_1) \times 4$	جذب آزاد نمونه $\frac{m_2 - m_1}{m_1}$
0.2449g	4.3275g	16.33	16.67
0.2133g	3.7351g	14.08	16.51
0.2291	4.0313	15.20	16.59
میانگین			

ر در اثر جذب آزاد

میانگین تغییرات چگالی	۰,۱۱۴۳
مانگین تغییرات مساحت	۰,۰۱۴۳



شکل ۱. انجام آزمون جذب آزاد برای نمونه‌ی زخم‌پوش هایدروفایبر (الف) خارج کردن و معلق نگه داشتن نمونه بعد از جذب توسط پنس و (ب) تعیین ابعاد نمونه بعد از جذب و نمایش شفافیت ژل تشکیل شده

جدول ۵. تغییرات جرمی نمونه‌های زخم‌پوش فوم در اثر جذب آزاد

جذب آزاد نمونه	جذب آزاد نمونه ($m_2 - m_1$) $\times 4$	جرم مرطوب (m_2)	جرم (m_1)	
$\frac{m_2 - m_1}{m_1}$				
13.12	34.50	9.284g	0.6574g	نمونه ۱
13.96	30.90	8.279g	0.5533g	نمونه ۲
13.54	32.7	۸,۷۸۱g	۰,۶۰۵۳g	میانگین

جدول ۶. تغییرات سطحی و چگالی نمونه‌های زخم‌پوش هایدروفاایبر در اثر جذب آزاد

۰,۰۳۸۸	میانگین تغییرات چگالی
۰,۰۳۷۷	مانگین تغییرات مساحت



شکل ۲. انجام آزمون جذب آزاد برای نمونه‌ی زخم‌پوش فوم الف) خارج کردن و معلق نگه داشتن نمونه بعد از جذب توسط پنس و ب) تعیین ابعاد نمونه بعد از جذب و نمایش شفافیت ژل تشکیل شده

آزمون جذب تحت فشار (احتباس)

این آزمون مشابه آزمون جذب آزاد میباشد با این تفاوت که در مرحله آخر نمونه ها تحت وزنه ای معادل ۱,۳۰۰ کیلوگرم قرار می گیرند و اندازه گیری طبق فرمول زیر محاسبه میشود:

$$\text{Retention under pressure} = (m_1 - m_3) / m_1 \times 100$$



شکل ۳. مراحل مختلف انجام آزمون جذب تحت احتباس برای نمونه‌ی هایدروفایبر. الف) قرار گرفتن نمونه در محلول A به مدت ۳۰ min، ب) قرار دادن وزنه بر نمونه جهت اعمال فشار و ج) برداشتن فشار از سطح نمونه و سپس توزین نمونه

جدول ۷. تغییرات جرمی نمونه‌های زخم‌پوش هایدروفایبر در اثر جذب آزاد و جذب تحت احتباس

جرم (m_1)	جرم مرطوب (m_2)	جرم تحت فشار (m_3)	جذب تحت فشار:	
			$\frac{m_3 - m_1}{m_1}$	
نمونه ۱	0.2402g	3.8785g	3.1435g	12.087
نمونه ۲	0.2016g	3.4850g	2.8520g	13.146
میانگین	0.2209g	3.6817g	2.9977g	12.6165

میانگین تغییرات چگالی	۰,۱۱۵۰
میانگین تغییرات مساحت	۰,۰۱۳۸

شکل ۴. مراحل مختلف انجام آزمون جذب تحت احتباس برای نمونه‌ی هایدروفایبر. الف) قرار گرفتن نمونه در محلول A به مدت ۳۰ min، ب) قرار دادن وزنه بر نمونه جهت اعمال فشار و ج) برداشتن فشار از سطح نمونه و سپس توزین نمونه



جدول ۸. تغییرات جرمی نمونه‌های زخم‌پوش فوم در اثر جذب آزاد و جذب تحت احتباس

جرم (m_1)	جرم مرطوب (m_2)	جرم تحت فشار (m_3)	جذب تحت فشار: $\frac{m_3 - m_1}{m_1}$	
0.2402g	3.8785g	3.1435g	12.087	نمونه ۱
0.2016g	3.4850g	2.8520g	13.146	نمونه ۲
0.2209g	3.6817g	2.9977g	12.6165	میانگین

۰,۰۴۲۲	میانگین تغییرات چگالی
۰,۰۴۳۴	مانگین تغییرات مساحت

جدول ۹. تغییرات سطحی/حجمی نمونه‌ی زخم‌پوش هایدروفایبر در اثر جذب آزاد و تحت احتباس



تغییرات سطح (درصد)	تغییرات حجم (درصد)	ضخامت ثانویه نمونه	ضخامت اولیه نمونه	حجم مرطوب (v_2)	حجم خشک (v_1)	مساحت نمونه مرطوب (s_2)	مساحت نمونه خشک (s_1)	
$\frac{S_2 - S_1}{S_1} \times 100$	$\frac{V_2 - V_1}{V_1} \times 100$							
-14.43	-8.33	0.129 cm	0.12 cm	1.76 cm ³	1.92 cm ³	13.69 cm ²	16 cm ²	نمونه ۱
-12.12	-5.72	0.129 cm	0.12 cm	1.81 cm ³	1.92 cm ³	14.06 cm ²	16 cm ²	نمونه ۲
-21.25	-3.36	0.16 cm	0.13 cm	۲,۰۱ cm ³	2.08 cm ³	۱۲,۶ cm ²	16 cm ²	نمونه ۳
-23.43	-4.68	0.15 cm	0.12 cm	۱,۸۳ cm ³	1.92 cm ³	۱۲,۲۵ cm ²	16 cm ²	نمونه ۴

درصد	میانگین تغییرات
-7.02	میانگین تغییرات حجم نمونه ۱ و ۲
-13.27	میانگین تغییرات سطح نمونه ۱ و ۲
-4.02	میانگین تغییرات حجم نمونه ۳ و ۴
-22.34	میانگین تغییرات سطح نمونه ۳ و ۴

توضیحات: نمونه های ۱ و ۲ تحت آزمون احتباس قرار گرفتند.



جدول ۱۰. تغییرات سطحی/حجمی نمونه ی زخم پوش هایدرופایبر در اثر جذب آزاد و تحت احتباس

تغییرات حجم (درصد) $\frac{V2 - V1}{V1} \times 100$	تغییرات سطح (درصد) $\frac{S2 - S1}{S1} \times 100$	ضخامت ثانویه نمونه	ضخامت اولیه نمونه	حجم (V2)	حجم (V1)	مساحت نمونه مرطوب (S2)	مساحت نمونه خشک (S1)	
9.07	۱,۸۷	0.8975	1.005	14.62	16.08	16.3	16	نمونه ۱
10.98	1.87	0.915	1.047	14.91	16.75	16.3	16	نمونه ۲
7.08	0.62	0.935	1.012	15.05	16.19	16.1	16	نمونه ۳
10.75	0.62	0.825	0.93	13.28	14.88	16.1	16	نمونه ۴

درصد	میانگین تغییرات
10.02	میانگین تغییرات حجم نمونه ۱ و ۲
1.87	میانگین تغییرات سطح نمونه ۱ و ۲
8.91	میانگین تغییرات حجم نمونه ۳ و ۴
0.62	میانگین تغییرات سطح نمونه ۳ و ۴



آزمون نرخ جذب

به منظور تعیین نرخ جذب، با استفاده از یک قطره چکان، محلول A بر سطح نمونه (از سمتی که در تماس با سطح زخم قرار می‌گیرد)، قطره‌گذاری شده و اجازه داده می‌شود که قطره به طور کامل جذب شود. در نهایت، زمان جذب بر حسب ثانیه ثبت می‌گردد. این آزمون با ۲۰ قطره بر سطح هر نمونه تکرار و نتیجه زمان جذب بصورت میانگین محاسبه و گزارش می‌گردد.

جدول ۱۱. زمان جذب مایع بر زخم‌پوش هایدروفاایبر جهت بررسی آزمون نرخ جذب

قطره	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
زمان	1	1	0.5	1.5	2	2	1	1.5	1	1
قطره	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
زمان	1	1	1	1.5	1	2	2	1	1	1

میانگین کل: 1.25sec

قطره	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
زمان	1	2	3	2	2	1.5	0.5	1	1	1
قطره	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
زمان	2	1	1	2	1.5	2	1	2	1	1

میانگین کل: 1.47sec



شکل ۵. بررسی خاصیت نرخ جذب آب بر سطح زخم‌پوش هایدروفاایبر

جدول ۱۲. زمان جذب مایع بر زخم پوش فوم جهت بررسی آزمون نرخ جذب

نمونه ۱

10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	قطره
14	15	13.5	12.5	13	13	15	13	۱۱	16	زمان
20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	قطره
15	16	15	14.5	16.5	15	15	15.5	16	15	زمان

میانگین کل: 14.47min

نمونه ۲

10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	قطره
17	16.5	14	16	15	15.5	16	14	15	16.5	زمان
20	19	18	17	16	15	14	13	12	11	قطره
15	16	16	15	16	16	15	16	15	14	زمان

میانگین کل: 15.45min



شکل ۶. بررسی خاصیت نرخ جذب آب بر سطح زخم پوش فوم

آزمون ارزیابی خاصیت موینگی

خاصیت موینگی عمودی، یکی از مهمترین ویژگی‌ها برای زخم‌پوش‌های لیفی شکل است. در واقع، به سبب روند آزمون، این ویژگی تنها برای پوشش‌های لیفی به کار گرفته می‌شود. نمونه‌های مورد بررسی به صورت نوارهای مستطیلی شکل با ابعاد $10 \times 15 \text{ mm}^2$ آماده و سپس 10 mm از طول آن‌ها به آرامی و به صورت عمودی به مدت 60 ثانیه در داخل محلول A (که برای وضوح بیشتر، به محلول رنگی خوراکی FC5141 آغشته شده است) غوطه‌ور می‌شود. در ادامه، ارتفاع عمودی که محلول با خاصیت موینگی در نمونه بالا رفته است اندازه‌گیری و بر حسب mm گزارش می‌گردد.

جدول ۱۳. ارتفاع پیش‌رونده‌ی مایع حاوی رنگ در نمونه‌ی زخم‌پوش هایدروفایبر

ارتفاع	
نمونه ۱	85 mm
نمونه ۲	95 mm
میانگین	90 mm



شکل ۷. انجام آزمون خاصیت موینگی نمونه‌ی زخم‌پوش هایدروفایبر

جدول ۱۴. ارتفاع پیش‌رونده‌ی مایع حاوی رنگ در نمونه‌ی زخم‌پوش هایدروفایبر

ارتفاع	
15mm	نمونه ۱
17mm	نمونه ۲
16mm	میانگین



شکل ۸. انجام آزمون خاصیت موینگی نمونه‌ی زخم پوش هایدروفایبر

نتایج آزمون اندازه‌گیری PH

پایش pH ناحیه زخم، یکی از روشهای مختلف در طی مراحل مراقبت از زخم است که به خصوص در بهبود زخم‌های مزمن باید به دقت مورد کنترل قرار گیرد تا درمان مناسب امکان‌پذیر شود. در واقع، pH ناحیه زخم، تأثیر مستقیمی بر روند بهبودی دارد و باید در روش‌های مختلف درمانی این فاکتور را مد نظر قرار داد و کنترل کرد. از طرفی، تعیین و اندازه‌گیری برخی از ویژگی‌های زخم، مانند ویژگی میکروبی زخم و pH آن، برای بیماران بسیار زمان‌بر و دردناک است [۸].

جهت بررسی تغییرات pH نمونه‌های زخم‌پوش، نمونه‌هایی با ابعاد $5 \times 5 \text{ cm}^2$ از مرکز هر یک از زخم‌پوش‌ها آماده و تاثیر آنها بر pH محلول A (حاوی NaCl و CaCl_2) تعیین می‌گردد. به منظور شبیه سازی مکانیسم‌های مختلف تولید



ترشحات، زخم‌پوش‌ها به طور کامل در پتری دیش حاوی ۳۵ mL محلول غوطه‌ور می‌شوند. و پس از گذشت ۳۰ دقیقه و ۲۴ ساعت تغییرات pH برای نمونه‌ها ثبت می‌گردد.

جدول ۱۵. تغییرات pH نمونه‌های زخم‌پوش هایدروفایبر (HF-V₂) در محلول A با گذشت زمان

PH	30 min	روز دوم
نمونه ۱	3.98	3.93
نمونه ۲	3.93	3.85
میانگین	3.95	3.89

نکته: PH اولیه‌ی محلول A: ۵٫۹

جدول ۱۶. pH نمونه‌های زخم‌پوش هایدروفایبر (HF-V₁) و مقایسه با نمونه خارجی (اکواسل) با گذشت زمان

نام نمونه	PH	میانگین
اکواسل	۵٫۱۷	5.17
	۵٫۱۶	
HF-V ₁	۹٫۷۲	9.69
	۹٫۶۷	

جدول ۱۶. تغییرات pH نمونه‌های زخم‌پوش فوم (HF-V₂) در محلول A با گذشت زمان

	بعد از ۳۰ دقیقه	بعد از ۲۴ ساعت
نمونه ۱	۶٫۳۳	6.22
نمونه ۲	5.98	5.86
میانگین	6.155	6.04

د) انجام آزمون‌های زیستی

شامل سمیت سلولی و مقایسه‌ی نتایج آنها با نتایج آزمون‌های برون سپاری شده

برای این منظور، آزمون سمیت زخم‌پوش‌های فوم و هایدروفایبر (HF-V₂) با روش عصاره‌گیری و از طریق پروتکل MTT انجام شد.

- آزمون‌های زیستی در محیط برون تن^۱

آماده سازی نمونه‌ها

استریل کردن زخم‌پوش‌ها پیش از انجام آزمون‌های زیستی، یک اصل ضروری به حساب می‌آید. بر این اساس، در ابتدا نمونه‌ها در ابعاد $30 \times 20 \text{ mm}^2$ برش داده شد و برای استفاده‌ی نهایی، نمونه‌ها با اتو کلاو کردن در دمای 120°C به مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند.

عصاره‌گیری نمونه‌ها

به منظور عصاره‌گیری با روش استاندارد ISO 1099312، در ابتدا نمونه‌های برش داده شده و استریل شده در شرایط کاملاً استریل در محلول محیط کشت (either DMEM or RPMI- FBS free) قرار گرفتند. بدین منظور، به ازای هر 3 cm^2 نمونه، ۱ ml از محلول محیط کشت مورد نظر مصرف می‌شود. چنانچه نمونه‌ها جذب آزاد داشته باشند این میزان، به مقدار استاندارد اضافه خواهد شد بطوری که میزان محلول آزاد به ازای هر 3 cm^2 در ظرف نمونه ۱ mL باشد بدین معنی که بعنوان مثال، اگر نمونه‌ای $30 \times 20 \text{ mm}^2$ ۳ mL جذب آزاد داشته باشد میزان مصرف محلول معادل ۱ mL خواهد بود. بسته به آزمون مورد نظر، نمونه‌ها ۷۲ ساعت در این محلول و دمای 37°C در انکوباتور در شرایط استریل دقیقاً مشابه شرایط مناسب برای کشت سلول نگهداری شدند. سپس، به منظور بررسی سمیت سلولی، عصاره‌ی زخم‌پوش‌های فوم و هایدروفایبر (HF-V₂) به میزان مناسب و به صورت سریالی رقیق سازی و سپس $150 \mu\text{L}$ از هریک از رقت‌ها، به سلول‌های آماده که از قبل در پلیت ۹۶ خانه کشت و چسبیده‌اند اضافه شد.

ارزیابی سمیت سلولی

سمیت سلولی زخم‌پوش‌ها در محیط برون تن برای سلول‌های سرطان سینه^۳ MDA-MB 231، فیبروبلاست موشی^۴ (L929) از طریق آزمون ام تی تی^۵ (MTT) و بر اساس رنگ سنجی نمک تترازولیوم انجام شد. این روش، بر اساس

In vitro

Dulbecco's modified Eagle's medium

Human breast adenocarcinoma

کاهش محلول نمک MTT (با رنگ زرد) به یک فرآورده‌ی غیر محلول به رنگ بنفش، توسط فعالیت آنزیم ردوکتاز میتوکندری که تنها در سلول‌های زنده فعالیت می‌کند استوار است. بدین ترتیب، در معرض قرار گرفتن سلول‌های زنده با این محلول (MTT)، محصولی با رنگ بنفش ایجاد می‌کند که جذبی در طول موج ۵۷۰ nm خواهد داشت. کاهش شدت جذب در این طول موج به معنی کاهش درصد زنده‌مانی سلول‌های مورد بررسی است.

به منظور تعیین میزان سمیت سلولی و درصد زنده‌مانی سلول‌ها در مجاورت با زخم‌پوش‌های مورد آزمون، در ابتدا، سلول‌های مورد نظر در محیط کشت DMEM (که از قبل با ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS) و ۵٪ پنی سیلین-استروپتومايسين ترکیب شده است)، در یک انکوباتور با دمای ۳۷ °C و حاوی ۵٪ CO₂ و ۹۵٪ رطوبت قرار گرفته و رشد کردند. محیط کشت بصورت روزانه خارج و با محیط تازه جایگزین شده تا زمانی که سلول‌ها به رشد مناسب رسیدند. سپس، سلول‌ها با کمک تریپسین از سطح فلاسک پر شده جدا و با دانسیته‌ی 5×10^2 cells/well به داخل پلیت ۹۶ خانه (چاهک) اضافه و در شرایط مناسب کشت نگهداری شدند. بعد از حدود ۲۰ ساعت و چسبیدن سلول‌ها به کف هر یک از چاهک‌ها، محیط کشت سلول‌ها با محلول عصاره‌گیری جایگزین و زیست سازگاری و تکثیر سلولی برای مدت ۲۴ ساعت بوسیله‌ی آزمون MTT و مطابق با دستورالعمل انجام شد. بطور خلاصه، بعد از گذشت مدت زمان مورد نظر، محیط کشت هر یک از چاهک‌ها با ۱۵۰ μ L از محلول تازه‌ی DMEM حاوی ۱۰٪ MTT (با غلظت نهایی ۵ mg/mL از MTT^۰ در هر چاهک) جایگزین می‌گردد. در این مرحله، به منظور ایجاد شرایط مناسب جهت واکنش سلول‌ها با رنگ MTT، پلیت مجدداً به مدت ۴ ساعت در انکوباتور با شرایط کشت نگهداری می‌شود. در این بازه‌ی زمانی، سلول‌های زنده قادر خواهند بود مولکول‌های رنگ را در میتوکندری خود به ماده‌ی ارغوانی فورمازان تبدیل کنند. پس از گذشت این مدت زمان، محلول رویی در تاریکی با احتیاط خارج و به جای آن محلول dimethyl sulfoxide (DMSO) اضافه و به مدت ۱۵ min به شدت تحت تکانش قرار گرفتند تا کریستال‌های فورمازان در آن حل شوند. بعد از ۱۵ دقیقه، محلول روئی هر یک از چاهک‌ها کشیده و به یک پلیت ۹۶ خانه منتقل شدند. شدت رنگ در هر چاهک که نشان دهنده‌ی تبدیل رنگ MTT به فورمازان (متناسب با تعداد سلول‌های زنده) است، توسط دستگاه الایزا ریدر قرائت و داده‌های آن در طول موج‌های ۵۷۰ nm ثبت می‌شوند. برای هر نمونه، داده‌های ۳ چاهک (سه بار تکرار) میانگین‌گیری و نتایج حاصل از آن مطابق معادله‌ی زیر گزارش شد. به منظور مقایسه‌ی مناسب، زخم-پوش‌های مورد آزمون بدون استفاده از سلول بعنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد.

$$(I_s/I_B) = (\%) \text{ نسبت زنده‌مانی سلول‌ها}$$

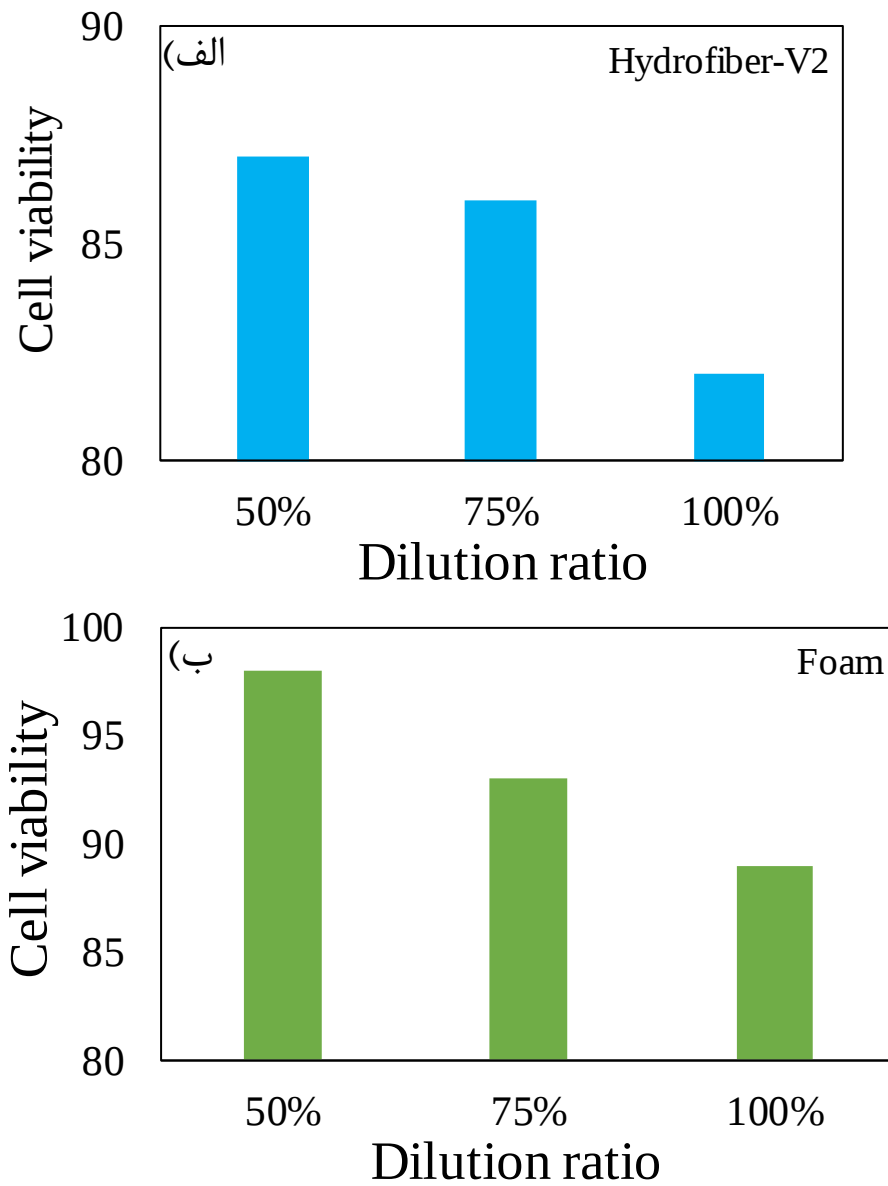
که در آن I_s شدت نور جذب شده برای نمونه‌ی تیمار شده در غلظت معین و I_B شدت نور جذب شده برای نمونه‌ی شاهد و یا تیمار نشده است.

⁴ Human dermal fibroblasts

⁵ 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide

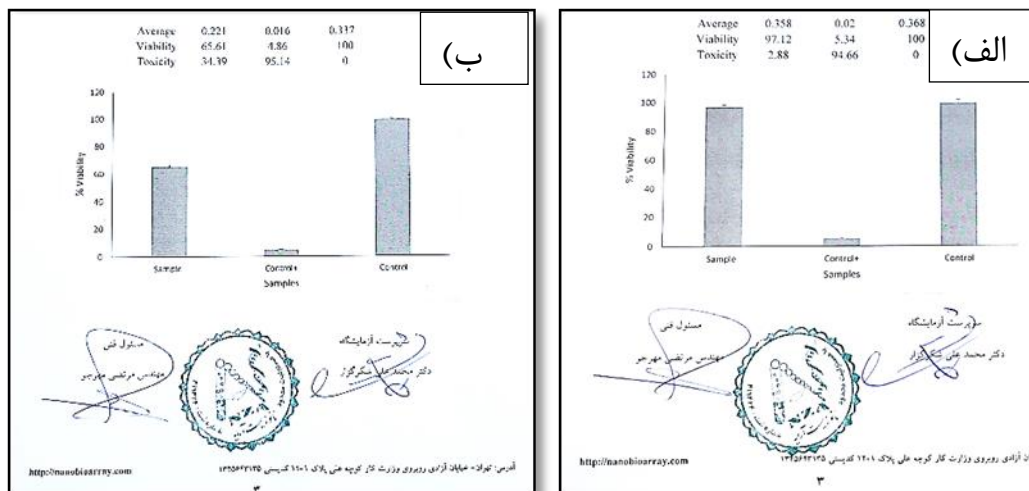
⁶ Dulbecco's modified Eagle's medium

نتایج آزمون سمیت سلولی انجام شده در شرکت نانو زیست آرایه وابسته به انستیتو پاستور ایران



شکل ۹. بررسی زیست سازگاری زخم پوش های الف) هایدروفایبر (HF-V₂) و ب) فوم بر سلول های MDA-MB231 (انجام شده در واحد زخم و ترمیم بافت یارا)

مطابق شکل نتایج تست سمیت نشان داد که در مدت زمان ۳ روز و تماس نمونه به ازای هر ۳ سانتی متر مربع سطح، ۱ میلی لیتر محیط کشت، مقدار غلظت ترکیبات رها شده از نمونه‌ی زخم پوش هایدروفایبر با مقدار ذکر شده در محدوده-ی سمیت سلولی قرار نداشته بدین معنی که این مدل زخم پوش زیست سازگاری سلولی مناسبی نشان می‌دهد. این درحالی است که نمونه‌ی زخم پوش فوم زیست سازگاری کمتری از خود نشان داده است بطوری که این آزمون برای این زخم پوش نیاز به تکرار و بررسی بیشتر دارد.



شکل ۱۰. بررسی زیست سازگاری زخم پوش های الف) هایدروفایبر (HF-V₂) و ب) فوم بر سلول های فیبروبلاست موشی L929 (انجام شده در شرکت نانو زیست آرایه)