



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
INSTITUTO ADOLFO LUTZ  
SEÇÃO DE CULTURAS CELULARES  
Av. Dr. Arnaldo, 355 - São Paulo - SP - CEP: 01246-902  
Fone/Fax: (11) 3068-2910  
email [cultcel@ial.sp.gov.br](mailto:cultcel@ial.sp.gov.br)

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CITOTOXICIDADE *IN VITRO***  
**(REATIVIDADE BIOLÓGICA *IN VITRO*)**  
**METODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR**

**LINHAGEM CELULAR:** NCTC Clone 929, células de tecido conjuntivo de camundongo (ATCC CCL-1) são semeadas em placas de Petri e incubadas por 48 horas para formação da monocamada celular. O meio de cultura líquido é substituído pelo meio de cobertura sólido, que é composto de partes iguais de meio 2x concentrado e ágar com vermelho neutro. As amostras são colocadas sobre esse meio de cobertura e as placas novamente incubadas por 24 horas. Observa-se macro e microscopicamente o índice de zona (IZ) que é a área não corada pelo corante vital. As amostras são testadas em quadruplicatas em placas separadas.

IZ	DESCRIÇÃO	CLASSIFICAÇÃO
0	Nenhuma Zona sob e ao redor da amostra	Nenhuma
1	Alguma alteração ou degeneração celular sob a amostra	Fraca
2	Zona limitada sob a amostra	Leve
3	Zona entre 0,5- 1,0 cm ao redor da amostra	Moderada
4	Zona maior que 1,0 cm ao redor da amostra	Severa

**Amostras sólidas:** são colocadas diretamente sobre o meio de cobertura.

**Amostras em pó:** são colocadas dentro de 1 cilindro fixado sobre o meio de cobertura

**Amostras líquidas:** disco de papel de filtro atóxico são embebidos com a amostra e colocados sobre o meio de cobertura.

**Amostras submetidas à extração:** A relação da área de superfície do material e o volume do veículo de extração não deve ser maior que 6cm<sup>2</sup>/ml e menor do que 0,5cm<sup>2</sup>/ml. Quando a superfície da amostra for indeterminada pesar de 0,1 - 0,2g/ml. Os veículos de extração utilizados são: solução salina ou óleo de semente de algodão. As condições de extração recomendadas são 37°C-24hs, 50°C-72hs ou 70°C-24hs. Embeber o extrato em discos de papel de filtro e colocar sobre o meio de cobertura.

**Controle positivo:** fragmento de 0,5cm x 0,5cm de látex tóxico

**Controle negativo:** discos de papel de filtro atóxico com 0,5cm de diâmetro

**Bibliografia:** ASTM F895-84:1984-Standard test method for agar diffusion cell culture screening for cytotoxicity  
ISO 10993.5:1999-Biological evaluation for medical devices tests for cytotoxicity: *in vitro* methods  
US Pharmacopéia XXVIII, 2005 pg.2268-2269-Biological reactivity tests *in vitro*

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CITOTOXICIDADE *IN VITRO*  
(REATIVIDADE BIOLÓGICA *IN VITRO*)**

**Requisitante:** Castrosul Indústria e Comércio de Plásticos Ltda  
**Endereço:** Rua D.Pedro II, 506-São José dos Pinhais-PR  
**A/C:** Claudia Rodrigues

**Amostra Teste:** 4202 - livro teste XI - pág. 175

**Descrição da Amostra:** Material em Silicone

**ANÁLISE DE ORIENTAÇÃO:** 717.00/09

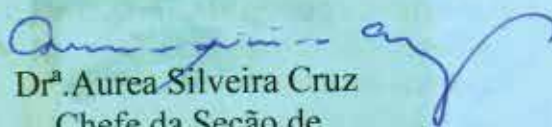
**PROCESSO:** 1593 (02.02.09)

AMOSTRA	ÍNDICE DE ZONA OBTIDO APÓS A LEITURA DAS PLACAS DE CULTURAS CELULARES			
	Nº1	Nº2	Nº3	Nº4
	IZ	IZ	IZ	IZ
Material em Silicone	0	0	0	0
- Controle Negativo	0	0	0	0
- Controle Positivo	4	4	4	4

Estes resultados têm valor restrito à amostra analisada, sendo vedado seu uso para fins de propaganda

**CONCLUSÃO:** A amostra nº 4202 não apresentou efeito tóxico para a linhagem celular NCTC Clone 929 (ATCC CCL-1).

São Paulo, 05 de fevereiro de 2009

  
Dr<sup>a</sup>.Aurea Silveira Cruz  
Chefe da Seção de  
Culturas Celulares-IAL  
CRBio 00544/84