

**RELATÓRIO DE ENSAIO**

**"AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CITOTOXICIDADE "IN VITRO"  
MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR  
CTX - 044247.R**

**Cliente:** RMC - INDÚSTRIA BRASILEIRA DE PRODUTOS MÉDICOS  
**Endereço:** RUA RAMIRA MOREIRA SIQUEIRA, 239 - JD MOREIRINHA - 13903-340 - AMPARO - SP  
**Protocolo Ecolyzer:** 044247.R  
**Início do Processo:** 20/07/2017  
**Recebimento da Amostra:** 20/07/2017  
**Início do Ensaio:** 31/07/2017  
**Término do Ensaio:** 04/08/2017  
**Emissão do Relatório:** 29/09/2017  
**Amostra:** MEMBRANA ANTICONGELANTE PARA CRIOLIPÓLISE ALL CARE

**Quantidade de amostra recebida (mL ou g):** 4000,00  
**Lote/Val./Fab. Declarada:** 8002 22/05/2019 22/05/2017  
**Quantidade de amostra utilizada (mL ou g):** N/A

**METODOLOGIA**

Linhagens celulares NCTC Clone 929, célula de tecido conjuntivo de camundongo (ATCC CCL 1), na concentração de  $3,0 \times 10^5$  células/mL, semeadas em placas de Petri e incubadas por 48 horas a 37 °C em uma incubadora umidificada, com uma atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, para formação da monocamada celular. O meio de cultura líquido é substituído pelo meio de cobertura sólido, que é composto por partes iguais de meio duas vezes concentrado e ágar a 1,8% com 0,01% de vermelho neutro.

Fragments da amostra (0,25 cm<sup>2</sup>) são colocados sobre esse meio de cobertura antes de sua solidificação completa. As placas são novamente incubadas a 37 °C com uma atmosfera de 5% CO<sub>2</sub> por 24 horas. Para o controle negativo é utilizado disco de papel de filtro (0,5 cm de diâmetro) de natureza atóxica e como controle positivo fragmentos de látex (0,5 cm x 0,5 cm) de natureza comprovadamente tóxica. As amostras são testadas em triplicatas em placas separadas. As placas são analisadas microscopicamente quanto à integridade celular ao redor da amostra e macroscopicamente quanto à presença de um halo. A toxicidade é constatada quando há presença de um halo claro ao redor da amostra testada.

*PM*

## RELATÓRIO DE ENSAIO

### "AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CITOTOXICIDADE "IN VITRO" MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR CTX – 044247.R

A citotoxicidade é avaliada pela medida do diâmetro do halo claro formado e classificada de acordo com o índice de ação citotóxica.

ISO 10993 – Biological Evaluation of Medical Devices – Part 5: Tests For in Vitro Cytotoxicity. International Organization for Standardization, 2009.

## CONDIÇÕES DO ENSAIO

Faixa de temperatura de incubação: 37 °C com uma atmosfera de 5% CO<sub>2</sub>.

## TÉCNICA ANALÍTICA

PROCEDIMENTO Operacional Padronizado/ Manual da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/ FIOCRUZ. (65.3330.010). Ensaio de citotoxicidade in vitro – método de difusão em ágar.

ANVISA. Farmacopéia Brasileira, 5ª edição. Vol. 1, pág. 312-313, 2010.

## RESULTADO

A amostra não mostrou sinal de citotoxicidade, não foi observado halo de toxicidade ao redor ou sob a amostra e as células apresentaram integras sem nenhuma alteração morfológica, características idênticas a do controle negativo.

No controle positivo, foi constatada a característica de toxicidade pela presença de um halo claro ao redor da amostra, com diâmetro de 1,23 mm. Este halo é observado quando há lise e morte celular, no qual libera o corante vermelho neutro que está incorporado nas células, dando um aspecto transparente ao local, característica de toxicidade.

**RELATÓRIO DE ENSAIO**

**“AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE CITOTOXICIDADE “IN VITRO”  
MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR  
CTX – 044247.R**

Tabela 1. Resultados do teste de citotoxicidade.

MATERIAL	Diâmetro do halo em mm		
	1	2	3
Amostra	0	0	0
Controle negativo	0	0	0
Controle positivo	1,2	1,3	1,2

A citotoxicidade é avaliada pela medida do diâmetro do halo claro formado e classificada de acordo com a tabela de classificação de reatividade (Tabela 2).

Tabela 2. Classificação da reatividade.

DESCRIÇÃO DA ZONA DE REATIVIDADE	CITOTOXICIDADE	CLASSIFICAÇÃO
Nenhuma zona detectável ao redor ou sob a amostra	Nenhuma	0
Algumas células mal formadas ou degeneradas sob a amostra	Leve	1
Zona limitada à área sob a amostra	Suave	2
Zona estende-se de 0,5 a 1,0 cm além da amostra	Moderada	3
Zona estende-se mais que 1,0 cm além da amostra	Forte	4

As opiniões e interpretações expressas abaixo não fazem parte do escopo da acreditação deste laboratório.

**CONCLUSÃO**

A amostra, apresentou índice de ação citotóxica 0, apresentou efeito atóxico para a linhagem celular NCTC Clone 929 (ATCC CCL 1).

- Os resultados referem-se única e exclusivamente aos itens ensaiados.
- Amostragem realizada pelo cliente.
- As amostras foram analisadas como recebidas, isentando o laboratório de qualquer responsabilidade referente aos procedimentos e dados de amostragem, preservação e envio das amostras.
- Este relatório atende os requisitos da NBR ISO/IEC 17025, o qual garante a rastreabilidade dos dados gerados no ensaio.
- É proibida a reprodução parcial deste Relatório. A reprodução em partes requer aprovação por escrito da Ecolyzer.

Diego Salgado de Almeida  
Analista Responsável  
CRMV-RJ 10913

Gláucio Pereira Machado  
Gerente Técnico  
CRMV-SP 20396