

RESUMEN

El Test de Elución de Medios Mínimos Esenciales fue diseñado para determinar la citotoxicidad de sustancias extraíbles. Un extracto del artículo a evaluar, fue añadido a un cultivo de Células Monocapa. Las células Monocapa fueron examinadas y puntuadas basadas en el grado de destrucción celular. Todos los criterios de aceptación de la evaluación fueron cumplidos. El proceso de evaluación que se menciona fue seguido sin desviación.

RESULTADOS

Artículo a evaluar

Resultados: aprobo/ fallo	Puntajes				Proporción de extracción	Cantidad evaluada/ Cantidad de solvente de extracción
	1	2	3	Promedio		
Aprobado	0	0	0	0	3 cm2/ml	55.1 cm2 / 18.4 ml

Controles

Identificación	Puntajes				Proporción de extracción	Cantidad evaluada/ Cantidad de solvente de extracción
	1	2	3	Promedio		
Control Negativo – Comprimidos de Polipropileno	0	0	0	0	3 cm2/ml	55.1 cm2 / 18.4 ml
Control Medio	0	0	0	0	N/A	20 ml
Control Positivo – Goma de Látex Natural	4	4	4	4	0.2g/ml	4g / 20 ml

Criterio de Aceptación del método de prueba:

La Farmacopea y Formularios Nacionales, indican que el artículo de prueba cumple con los requerimientos, o recibe una puntuación de Aprobado, si el grado de reactividad no es mayor de grado 2 o reactividad leve. El ANSI/AAMI/ISO 10993-5 Estándar, declara que la obtención de un grado numérico mayor a 2 es considerado un efecto citotóxico, o un puntaje de fallo.

Los criterios de aceptación de los Laboratorios que han realizado el ensayo, están basados en Controles Negativos y Medios que tienen un 0 en grado de reactividad y controles positivos que tienen un grado de reactividad entre 3 y 4 (moderado a severo). La prueba fue considerada válida en vista que los resultados de control se encontraron en los parámetros aceptables.

Las Monocapas Celulares fueron examinadas microscópicamente. Fueron puntuadas en el grado de citotoxicidad morfológica discernible en la escala relativa de 0 a 4:

Condiciones de todos los Cultivos	Reactividad	Grado
Sin lisis Celular, Gránulos intracitoplasmáticos	Ninguna	0
Menor o igual a 20% de redondeo, lisis celular ocasional	Escasa	1
Mayor al 20% a menor o igual al 50% de redondeo, sin lisis celular extenso	Leve	2
Mayor a 50% a menor a 70% de redondeo y lisis celular	Moderada	3
Casi completa destrucción de las capas celulares	Severa	4

Los resultados de tres muestras fueron promediados para establecer el puntaje de citotoxicidad final.

Procedimiento

La cantidad de material de prueba extraído fue basado en las recomendaciones de área de superficie y peso del ANSI/AAMI/ISO y UPS. Los artículos de prueba y los controles fueron extraídos en Medio Mínimo Esencial 1X con 5% de suero bovino por 24-24 horas a 37+- 1°C con agitación. Múltiples muestras de cultivos celulares fueron sembradas con cantidad verificada por Celular L-929 (ATCC CCL-1) estándares e incubadas hasta 80 % de confluencia aproximadamente. Los extractos de prueba fueron retenidos a temperatura ambiente por menos de 4 horas, antes de iniciar las pruebas. Los fluidos extraídos no fueron filtrados, centrifugados o manipulados en ninguna forma luego del proceso de extracción. Los extractos probados fueron añadidos a las Monocapas celulares en triplicado. Las células fueron incubadas a 37+-1°C con 5+- 1% de CO2 por 72 +-3 horas.

Apariencia Pre y Post Extracto		
Artículo a Evaluar	Pre extracto	Claro sin partículas presentes
	Post Extracto	Claro sin particular presentes, no se notó cambio de coloración
Controles	Pre extracto	Claro sin partículas presentes
	Post Extracto	Claro sin particular presentes, no se notó cambio de coloración

REFERENCIAS

Norma ISO 10993-5/USP <87> - "Estudios para la citotoxicidad in-vitro"

DECLARACION DE CONTROL DE CALIDAD

Declaracion e contenido

La prueba fue conducida de acuerdo a las regulaciones impuestas por la USFDA (21 CFR Partes 58, 2010, 211 y 820). Este reporte final refleja los datos puros.

Actividad	Fecha
Inicio del Estudio	11 Agosto 2016
Preparación de las muestras: fase inspeccionada por Control de Calidad	11 Agosto 2016
Auditoria de resultados, reporte a Director del estudio	16 Agosto 2016
Auditoria de resultados, reporte a la Gerencia	15 Agosto 2016

Científicos	Título
Tracy Hubertz	Supervisor
Danielle Short	Director del Estudio