

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue evaluar la toxicidad sistémica de compuestos lixiviables de un artículo de estudio (dispositivo médico). Este estudio está dirigido a dispositivos médicos con duración de contacto categorizados como exposición repetida. Este estudio fue realizado para cumplir los requerimientos de las pruebas de biocompatibilidad.

METODO

Identificación de artículos a evaluar y de control

Como artículo a evaluar se utiliza el implante HW Ø4 x 10mm (LOT. 000552-0616A), no estéril, almacenado a temperatura ambiente. Se utilizan los siguientes artículos de control

Artículo	Proveedor	Lote	Fecha de expiración
Solución Salina 0.9%	Hospira	0	1 de Octubre de 2017
Aceite de Algodón	Spectrum	1	31 de marzo de 2017

Diseño experimental

Un total de 20 animales fueron usados para este estudio, con 5 animales por cada grupo. Los extractos de los artículos de prueba y control fueron inyectados en dosis de forma intravenosa (para el caso de la solución salina) o intraperitoneal (en el caso del Aceite de algodón). Los volúmenes de las dosis fueron basados en el peso individual de cada animal. Los pesos fueron obtenidos previamente a la administración de la dosis y diariamente por al menos 3 días después de la administración. Las observaciones clínicas fueron realizadas antes de la administración de la dosis, inmediatamente después, 4 +- 1 hora después de la administración y posteriormente diariamente por un periodo de 3 días. Todos los animales fueron sacrificados al finalizar el estudio.

Justificación para la selección del objeto de estudio

Los ratones son reconocidos como el modelo estándar para predecir toxicidad sistémica en humanos, y son recomendados por la FDA para exámenes de toxicidad. Por esta razón, fueron usados para este estudio ratones para evaluar el potencial de toxicidad sistémica del artículo en estudio.

Preparación

Todos los animales fueron pesados, previos a la administración de la dosis.

Los artículos a evaluar fueron colocados en un recipiente para su extracción. El implante, tornillo y base fueron probados juntos. El artículo a evaluar fue extraído con solvente en una proporción de 3 cm²/ml. El área total de superficie provista por unidad fue de 3.91 cm².

Artículo de Control (identificación del extracto)	Cantidad usada (ml/Vial)
Solución Salina 0.9% (SS50C)	15.0
Aceite de Algodón (AA50C)	15.0

Extracción de artículos evaluados y de control

Las condiciones de extracción fueron 50.0 +- 2°C por 72.0 +- 2 horas. Las muestras fueron agitadas al menos una vez al día. Los artículos evaluados y de control fueron tratados bajo las mismas condiciones. De acuerdo al ISO 10993 sobre la Evaluación Biológica de Dispositivos Médicos en su Parte 12: Preparación de Muestras y Referencia de Materiales, los extractos no fueron procesados por filtración, centrifugación u otros métodos para remover partículas suspendidas y el pH no fue ajustado.

Extractos de Artículo Evaluado	Condiciones de Extracción		Almacenado		
	Temperatura de comienzo y final	Duración (hrs)	Apariencia*	Temperatura+	Duración (hrs)
HW-SS	50.0°C/50.0°C	72.0	Claro	TA	2.1
HW-AA	50.0°C/50.0°C	72.0	Claro	TA	2.0

*Claro indica que no hubieron cambios en colocación o presencia de partículas +TA indica temperatura ambiente.

Administración de artículos evaluados y de control

Todos los animales estudiados fueron dosificados en un nivel de 50ml/kg. El volumen de la dosis de la formulación de la prueba fue determinado por el peso corporal individual registrado previa aplicación. Los extractos de control y de evaluación en solución salina fueron administrados por vía endovenosa, mientras que los de Aceite de Algodón fueron administrados por vía intraperitoneal. Se aplicó una sola dosis por cada animal evaluado.

Observaciones generales, clínicas y pesos corporales

Las observaciones generales fueron realizadas dos veces al día. Las observaciones clínicas fueron realizadas previas a la administración de la dosis, inmediatamente después y después de 4 horas. Los animales fueron observados y pesados a diario mientras duró el estudio. Las observaciones fueron guardadas por cada animal de acuerdo a la tabla 1.

Tabla 1: Clasificación de las Condiciones Generales

Apariencia Pre y Post Extracto	Descripción
Sin efectos colaterales observados	Normal
Disminución leve de la función motora, dificultad respiratoria o signos de irritación abdominal.	Ligero
Irritación abdominal moderada, dificultad respiratoria, disminución de la función motora, blefaroptosis o diarrea.	Moderado
Colapso, cianosis, tumoraciones o irritación abdominal marcada. Diarrea blefaroptosis, dificultad respiratoria.	Marcado
Mortalidad	Muerto

Criterios de evaluación

Información de los grupos evaluados y de control, fueron comparados y se usaron los siguientes criterios para determinar si los artículos evaluados pasaron o no las pruebas de toxicidad basadas en ISO.

Negativo: Si ninguno de los animales tratados con el artículo evaluado mostraron reacciones biológicas significativas comparadas con el grupo de animales tratados con el artículo control.

Positivo: Si dos o más animales tratados con el artículo a evaluar, murieron o mostraron signos de toxicidad (convulsiones, postración) o si tres o más animales perdieron más del 10% de su peso corporal en la prueba basada en ISO o 2 gr de peso corporal en la prueba basada en USP. Si esto ocurre, el artículo evaluado habrá fallado la prueba.

Repetición de los ensayos: Si algún animal tratado con el artículo a evaluar, muestra signos ligeros de reacción biológica y no más de un animal ha muerto o mostrado signos de toxicidad, se debe repetir el test usando 10 animales adicionales por cada grupo.

Validación de los ensayos

El ensayo fue considerado válido basado en que los animales se mantuvieron en el rango de peso correcto en el momento de administrar la dosis y el hecho de que todos los animales se encontraban sanos al comienzo del estudio.

Conformidad

Los procedimientos que incluyeron cuidado, alojamiento y manipulación de animales, fueron realizados conforme a la norma ISO 10993 de la Evaluación Biológica de Dispositivos Médicos – Segunda Parte: Requerimientos de Bienestar Animal. El estudio fue conducido y reportado en conformidad con la norma ISO 10993, Evaluación Biológica de Dispositivos Médicos – Parte 11: pruebas de toxicidad sistémica.

ca, las regulaciones de buenas prácticas en laboratorio prevista por la FDA y de acuerdo con el protocolo global y las formas asociadas a pruebas de requisición y procedimientos operacionales para instalaciones y la política número 12 de USDA.

RESULTADOS

Observaciones Generales y Clínicas.

Las observaciones generales fueron realizadas dos veces al día. Las observaciones clínicas fueron realizadas previas a la administración de la dosis, inmediatamente después y después de 4 horas. Los animales fueron observados y pesados a diario mientras duró el estudio. Todas las administraciones de dosis fueron exitosas y todos los animales tenían apariencia normal durante el periodo del estudio.

Análisis y conclusión

Basado en las observaciones clínicas y las evaluaciones de peso corporal, los extractos del artículo evaluado no mostraron reacciones biológicas significativas en relación a los extractos de control. En conclusión, los extractos del artículo evaluado, no causaron toxicidad sistémica aguda dentro de las condiciones de este ensayo.

Declaración de cumplimiento

La prueba fue conducida de acuerdo a las regulaciones de buenas prácticas de laboratorio impuestas por la FDA (21 CFR, Parte 58) y de acuerdo con los protocolos de estudios estándar.

REFERENCIAS

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