
NORMA CUBANA

NC

ISO 10993-6: 2010
(Publicada por la ISO en: 2007)

**EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE EQUIPOS MÉDICOS —
PARTE 6: ENSAYOS RELATIVOS A LOS EFECTOS
LOCALES DESPUÉS DE LA IMPLANTACIÓN
(ISO 10993-6:2007, IDT)**

**Biological evaluation of medical devices — Part 6: Tests for local effects
after implantation**

ICS: 11.040.40

1. Edición Mayo 2010
REPRODUCCIÓN PROHIBIDA

Oficina Nacional de Normalización (NC) Calle E No. 261 Vedado, Ciudad de La Habana. Cuba. Teléfono: 830-0835 Fax: (537) 836-8048; Correo electrónico: nc@ncnorma.cu; Sitio Web: www.nc.cubaindustria.cu



Cuban National Bureau of Standards

NC-ISO 10993-6: 2010

Prefacio

La Oficina Nacional de Normalización (NC), es el Organismo Nacional de Normalización de la República de Cuba y representa al país ante las organizaciones internacionales y regionales de normalización.

La elaboración de las Normas Cubanas y otros documentos normativos relacionados se realiza generalmente a través de los Comités Técnicos de Normalización. Su aprobación es competencia de la Oficina Nacional de Normalización y se basa en las evidencias del consenso.

Esta Norma Cubana:

- Ha sido elaborada por el Comité Técnico de Normalización NC/CTN 11 de Equipos Médicos integrado por representantes de las siguientes entidades:

- | | |
|--|---|
| - Centro de Biomateriales | - Grupo Nacional de Estomatología |
| - Centro de Control Estatal de Equipos Médicos | - Instituto Central de Investigación Digital |
| - Centro Nacional de Electromedicina | - Instituto de Investigaciones en Metrología |
| - Centro Nacional de Ensayos Clínicos | - Instituto de Investigaciones en Normalización |
| - Centro Nacional de Investigaciones Científicas | - MEDICUBA |
| - Centro para el Control Estatal de la Calidad de Medicamentos | - Ministerio de Informática y Comunicaciones |
| - Comisión Asesora de Equipos Médicos | - Oficina Nacional de Normalización |
| - Complejo Ortopédico "Frank País" | - Red Funcional de Implantología |
| - Grupo Nacional de Anestesiología | |

- Sustituye a la NC-ISO 10993-6:2004 Evaluación biológica de equipos médicos Parte 6: Ensayos relativos a los efectos locales después de la implantación.
- Comprende varios Anexos informativos.

© NC, 2010

Todos los derechos reservados. A menos que se especifique, ninguna parte de esta publicación podrá ser reproducida o utilizada en alguna forma o por medios electrónicos o mecánicos, incluyendo las fotocopias, fotografías y microfilmes, sin el permiso escrito previo de:

Oficina Nacional de Normalización (NC)

Calle E No. 261, Vedado, Ciudad de La Habana, Habana 4, Cuba.

Impreso en Cuba.

Índice

Prólogo	4
1 Objeto y campo de aplicación	5
2 Normas para consulta	5
3 Términos y definiciones	6
3.1 Degradación:.....	6
3.2 Producto de degradación:	6
4 Provisiones comunes para los métodos de ensayo de la implantación.....	6
4.1 Generalidades.....	6
4.2 Preparación de las muestras para implantación.....	6
5 Métodos de ensayo, aspectos generales.....	7
5.1 Tejido y sitio de implantación.....	7
5.2 Animales.....	8
5.3 Períodos de ensayo	8
5.4 Condiciones quirúrgicas y de ensayo.....	10
5.5 Evaluación	11
6 Informe del ensayo	13
Anexo A (informativo) consideraciones generales sobre los períodos de implantación y las respuestas del tejido a los materiales degradables/resorbibles.....	14
Anexo B (normativo) métodos de ensayo para la implantación en tejido subcutáneo	15
Anexo C (normativo) método de ensayo para la implantación en músculo.....	17
Anexo D (normativo) método de ensayo para la implantación ósea	19
Anexo E (informativo) ejemplos de la evaluación de los efectos biológicos locales después de la implantación	21
Bibliografía.....	24

Prólogo

ISO (la Organización Internacional de Normalización) es una federación mundial de organismos nacionales de normalización (organismos miembros de ISO). El trabajo de preparación de las normas internacionales normalmente se realiza a través de los comités técnicos de ISO. Cada organismo miembro interesado en una materia para la cual se haya establecido un comité técnico, tiene el derecho de estar representado en dicho comité. Las organizaciones internacionales, públicas y privadas, en coordinación con ISO, también participan en el trabajo. ISO colabora estrechamente con la Comisión Electrotécnica Internacional (IEC) en todas las materias de normalización electrotécnica.

La tarea principal de los comités técnicos nacionales es la adopción de normas internacionales.

La Norma Internacional ISO 10993-6 fue preparada por el Comité Técnico ISO/TC 194, Evaluación biológica de equipos médicos.

La segunda edición anula y sustituye la primera edición (ISO 10993-6:1994), que ha sido actualizada técnicamente.

La Norma Internacional ISO 10993 incluye las siguientes partes, bajo el título general Evaluación biológico de equipos médicos:

- Parte 1: Evaluación y ensayos.
- Parte 2: Requisitos relativos a la protección de los animales.
- Parte 3: Ensayo de genotoxicidad, carcinogenicidad y toxicidad para la reproducción.
- Parte 4: Selección de los ensayos para las interacciones con la sangre.
- Parte 5: Ensayos de citotoxicidad in vitro.
- Parte 6: Ensayos relativos a los efectos locales después de la implantación.
- Parte 7: Residuos de la esterilización por óxido de etileno.
- Parte 9: Marco para la identificación y cuantificación de productos potenciales de degradación.
- Parte 10: Ensayos de irritación y de hipersensibilidad retardada.
- Parte 11: Ensayos de toxicidad sistémica.
- Parte 12: Preparación de muestras y materiales de referencia.
- Parte 13: Identificación y cuantificación de los productos de degradación de equipos médicos poliméricos.
- Parte 14: Identificación y cuantificación de los productos de degradación de materiales cerámicos.
- Parte 15: Identificación y cuantificación de los productos de degradación de metales y aleaciones.
- Parte 16: Diseño del estudio toxicocinético de productos de degradación y sustancias lixiviables.

EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE EQUIPOS MÉDICOS — PARTE 6: ENSAYOS RELATIVOS A LOS EFECTOS LOCALES DESPUÉS DE LA IMPLANTACIÓN

1 Objeto y Campo de Aplicación

Esta parte de la Norma NC ISO 10993 especifica los métodos de ensayo para la evaluación de los efectos locales después de la implantación de biomateriales previstos para su utilización en equipos médicos.

Esta parte de la Norma NC ISO 10993 se aplica a los materiales que son:

- sólidos y no biodegradables;
- degradables y/o resorbibles;
- no sólidos, tales como materiales porosos, líquidos, pastas y material particulado.

La muestra de ensayo se implanta en el sitio y en la especie animal apropiada para la evaluación de la seguridad biológica del material. Estos ensayos de implantación no están previstos para evaluar o determinar el funcionamiento de la muestra de ensayo respecto a la carga mecánica o funcional. Esta parte de la Norma NC ISO 10993 se puede aplicar también a los equipos médicos previstos para uso tópico en indicaciones clínicas donde la superficie o el revestimiento se pueden haber erosionado, para evaluar las respuestas del tejido local.

Los efectos locales se evalúan mediante una comparación de la respuesta del tejido causada por una muestra de ensayo y la causada por los materiales de control utilizados en los equipos médicos cuyas características de aceptabilidad clínica y biocompatibilidad han sido establecidas. El objetivo de los métodos de ensayo es caracterizar el historial y la evolución de la respuesta del tejido después de la implantación de un producto sanitario/biomaterial incluyendo la integración final o la resorción/degradación del material. En particular para los materiales degradables/resorbibles, se deberían determinar las características de degradación del material y la respuesta del tejido resultante.

Esta parte de la Norma NC ISO 10993 no trata de la toxicidad sistémica, carcinogenicidad, teratogenicidad o mutagenicidad. Sin embargo, los estudios de implantación a largo plazo previstos para la evaluación de los efectos biológicos locales pueden proporcionar una nueva percepción sobre algunas de estas propiedades. Los estudios de toxicidad sistémica efectuados por implantación pueden satisfacer los requisitos de esta parte de la Norma NC ISO 10993.

2 Normas para Consulta

Las normas que a continuación se indican son indispensables para la aplicación de esta norma. Para las referencias con fecha, sólo se aplica la edición citada. Para las referencias sin fecha se aplica la última edición de la norma (incluyendo cualquier modificación de ésta).

NC-ISO 10993-1 Evaluación biológica de equipos médicos. Parte 1: Evaluación y ensayos.

NC-ISO 10993-2 Evaluación biológica de equipos médicos. Parte 2: Requisitos relativos a la protección de los animales.

NC-ISO 10993-11 Evaluación biológica de equipos médicos. Parte 11: Ensayos de toxicidad sistémica.

NC-ISO 10993-12 Evaluación biológica de equipos médicos. Parte 12: Preparación de muestras y materiales de referencia.

NC-ISO 10993-16 Evaluación biológica de equipos médicos. Parte 16: Diseño del estudio toxicocinético de productos de degradación y sustancias lixiviables.

3 Términos y Definiciones

Para los fines de esta norma, se aplican los términos y definiciones dados en las Normas NC ISO 10993-1, NC ISO 10993-2, NC ISO 10993-12, NC ISO 10993-16 y los siguientes:

3.1 Degradación:

Descomposición de un material.

[Véase la definición 3.1 de la Norma NC ISO 10993-9]

3.2 Producto de degradación:

Producto de un material que se genera por la degradación o descomposición del material.

[Véase la definición 3.1 de la Norma NC ISO 10993-16]

3.3 Biomaterial:

Material previsto para que interaccione con sistemas biológicos para evaluar, tratar, aumentar o sustituir cualquier tejido, órgano o función corporal.

[Tomada de la European Society Biomaterials Conference II]

4 Provisiones comunes para los métodos de ensayo de la implantación

4.1 Generalidades

Es importante que el estudio se planifique en detalle suficiente para poder extraer toda la información pertinente de la utilización de cada animal y de cada estudio (véanse las Normas NC ISO 10993-2, NC ISO 10993-11 y NC ISO 10993-16).

Todos los estudios con animales se deben realizar en una instalación aprobada por una organización reconocida nacionalmente y conforme con todas las reglamentaciones apropiadas sobre el bienestar de los animales de laboratorio. Estos estudios se deben realizar conformes con las buenas prácticas de laboratorio u otros sistemas de aseguramiento de la calidad reconocidos, y deben cumplir los requisitos de la Norma NC ISO 10993-2.

Las provisiones de este capítulo se deben aplicar a los métodos de ensayo descritos en los anexos B, C y D.

4.2 Preparación de las muestras para implantación

La preparación de la muestra de ensayo y del material de referencia o de control debe cumplir la Norma NC ISO 10993-12. Se debe justificar el tamaño y la forma del implante. Las muestras de ensayo para los diversos sitios de implantación se describen en los anexos B, C y D. Las características físicas (tales como la forma, la densidad, la dureza y la superficie) pueden influir en el tipo de respuesta del tejido al material de ensayo y se deben registrar y tener en cuenta cuando se tipifica la respuesta.

Cada implante se debe fabricar, procesar, limpiar de contaminantes y esterilizar por el método previsto para el producto final y esto se debe confirmar en la documentación del estudio. Después de la preparación final y de la esterilización, las muestras del implante se deben manipular asépticamente y de manera que se asegure que no se dañan ni contaminan de ninguna forma antes o durante la implantación.

Para los materiales utilizados como soportes para los productos médicos de ingeniería tisular, puede ser apropiado no utilizar la preparación final pre poblada con células, dado que la reacción inmune del animal a los componentes celulares de tales productos y la reacción de las células al animal, pueden interferir con la respuesta del tejido local resultante.

Para los materiales compuestos (por ejemplo, cementos óseos, materiales dentales), los componentes se pueden mezclar antes del uso y dejar que se endurezcan antes de la implantación. Sin embargo, los materiales que están destinados para uso en productos con polimerización in situ se deben introducir de forma que ocurra la polimerización in situ. Para ciertos tipos de estudio se pueden utilizar otros procedimientos. Se debe documentar y justificar el procedimiento utilizado.

Los materiales no sólidos (incluidos los polvos) pueden estar contenidos en tubos cilíndricos abiertos por un extremo para los ensayos de los efectos locales después de la implantación (véase la Norma NC ISO 10993-12 para la selección de los materiales para los tubos). El material de ensayo se prepara según las instrucciones del fabricante y el material se inserta en el tubo hasta que queda a ras con el extremo, teniendo cuidado de no contaminar la superficie exterior del tubo con el material de ensayo; si se produce la contaminación la muestra no se debe implantar. Se deben evitar las burbujas de aire en el tubo y asegurar que las superficies del extremo del material insertado en el tubo y los extremos del tubo son suaves.

NOTA 1 Se utilizan comúnmente tubos de polietileno (PE), polipropileno (PP) o politetrafluoroetileno (PTFE) para este fin. Los tubos de PE se pueden deformar cuando se utilizan en la autoclave. Los tubos de PTFE son difíciles de seccionar en el micrótopo, y puede ser mejor la sustitución por tubos de PE o PP de las mismas dimensiones cuando los tubos han de permanecer en los bloques del tejido durante el proceso de seccionado.

La evaluación se debe efectuar comparando la reacción del tejido con la de una muestra/material similar cuyas características de aceptabilidad clínica y compatibilidad hayan sido establecidas.

NOTA 2 Para recomendaciones adicionales, véase la Norma NC ISO 10993-12.

Las características físicas tales como la forma, y especialmente la condición superficial del (de los) control(es) deben ser lo más similares a las de las muestras de ensayo del implante como sea prácticamente posible, con cualquier desviación explicada y justificada. Cuando el material de ensayo está contenido en un tubo, el control debe ser del mismo material que el del tubo y tener el mismo diámetro que el diámetro exterior del tubo. Se debe documentar y justificar la elección de la varilla o tubo de control.

5 Métodos de ensayo, aspectos generales

5.1 Tejido y sitio de implantación

La muestra de ensayo se debe implantar en los tejidos más adecuados a la utilización clínica prevista del material. Se debe documentar la justificación de la elección del número de muestras, del tejido y de los sitios de implantación. Los métodos de ensayo para los diversos sitios de implantación se dan en los anexos B, C y D. Si se escogen otros sitios de implantación, se deben también respetar y proporcionar la justificación de los principios científicos generales de los métodos de ensayo descritos en los anexos B, C y D.

NOTA 1 Para el ensayo de utilización dental especial, véase la Norma NC ISO 7405.

Para los materiales degradables/resorbibles, el sitio de implantación se debe marcar de forma adecuada para la identificación del sitio al final de los períodos de tiempo designados. Se recomienda la utilización de un marcador de piel permanente no invasivo y/o de una plantilla que marque la colocación de la muestra. En ciertas circunstancias se puede utilizar un control negativo apropiado como un marcador para la localización del sitio del implante. De forma excepcional, se podría utilizar un procedimiento quirúrgico simulado para evaluar el impacto del procedimiento en el tejido implicado; en estos casos se debe proporcionar la justificación específica.

NOTA 2 Los marcadores para la identificación del sitio del implante de muestras de ensayo resorbible pueden ser suturas no absorbibles o pinturas de la piel.

5.2 Animales

Todos los aspectos del cuidado y alojamiento de los animales deben ser conformes con la Norma NC ISO 10993-2. En general, se prefieren animales de laboratorio pequeños tales como ratones, ratas, hámsters o conejos.

La utilización de animales mayores se puede justificar basada en las consideraciones científicas especiales del biomaterial particular objeto del estudio.

Se selecciona una especie animal en línea con los principios establecidos en la Norma NC ISO 10993-2, prestando la debida consideración al tamaño de las muestras de ensayo del implante, al número de implantes por animal, a la duración prevista del ensayo en relación con la duración de la vida esperada de los animales, así como a las diferencias potenciales entre especies respecto a la respuesta biológica (véase el anexo B).

Para los ensayos a corto plazo, se utilizan comúnmente animales tales como roedores o conejos. Para los ensayos a largo plazo, son adecuados animales tales como roedores, conejos, perros, ovejas, cabras, cerdos y otros animales con una esperanza de vida relativamente larga.

Antes de empezar un estudio animal con materiales degradables, se debería considerar la información relevante de los estudios de degradación *in vitro*. Para los materiales biodegradables se debería efectuar un estudio piloto en roedores para determinar la velocidad esperada de degradación antes de comenzar los estudios con animales más grandes.

Las muestras de los materiales de ensayo y de control se deben implantar en las mismas condiciones en los animales de la misma especie y de la misma edad, sexo y cepa en los sitios anatómicos correspondientes. El número y tamaño de los implantes insertados en un animal dependen del tamaño de la especie y del sitio anatómico. Siempre que sea posible, el control de referencia y las muestras de ensayo se deberían implantar en el mismo animal.

Sin embargo, cuando los efectos locales después de la implantación se investigan como parte de un estudio de toxicidad sistémica por implantación, las muestras de control y de ensayo no se deberían colocar en el mismo animal.

5.3 Períodos de ensayo

El período de ensayo se debe determinar por el tiempo de exposición clínica probable o se debe continuar hasta haber alcanzado o superado un estado estacionario con respecto a la respuesta biológica. Se deben explicar y justificar los puntos temporales seleccionados.

Para los materiales no degradables y no resorbibles las respuestas a corto plazo se evalúan normalmente de 1 semana a 4 semanas y las respuestas a largo plazo en ensayos de más de 12 semanas.

La respuesta biológica local a los materiales implantados depende tanto de las propiedades de los materiales como de la respuesta al traumatismo o cirugía asociada. La configuración del tejido en la inmediación de un implante cambia con el tiempo transcurrido después de la cirugía. Durante las dos primeras semanas después de la implantación, la reacción debida al propio procedimiento quirúrgico puede ser difícil de distinguir de la reacción del tejido provocada por el implante.

En el tejido muscular y conectivo, dependiendo de la especie, y de la severidad del traumatismo quirúrgico, se ve un estado estacionario en la población de células después de 9 semanas a 12 semanas. La implantación en tejido óseo puede necesitar períodos de observación mayores antes de que se alcance un estado estacionario. En general, se espera que para la evaluación de los materiales degradables, se necesitan experimentos que lleguen hasta el punto de absorción o lo sobrepasan.

Para los materiales degradables/resorbibles, el período de ensayo debe estar relacionado con el tiempo de degradación estimado del producto de ensayo. El anexo A da consideraciones generales

sobre los materiales degradables/absorbibles. Antes de empezar en estudios animales y determinar los puntos temporales para la evaluación de la muestra, se debe hacer una estimación del tiempo de degradación. Esto se puede hacer in vitro mediante estudios de degradación en tiempo real o acelerada o en ciertas circunstancias, mediante modelación matemática. En general, para la evaluación de materiales degradables, se necesitan experimentos que lleguen hasta el punto de absorción o lo sobrepasan. La evaluación de los materiales degradables dependerá en parte de la velocidad de degradación de los materiales.

Las respuestas del tejido local se deben evaluar respecto al proceso de degradación del implante en diversos puntos temporales:

- cuando no existe o es mínima la degradación, normalmente se evalúa transcurridas de 1 semana a 12 semanas después de la implantación;
- cuando se está produciendo la degradación;
- cuando se ha alcanzado un estado estacionario originando la reparación o la degradación del tejido casi completa.

En ausencia de una degradación, absorción o reparación completa hasta una estructura y función tisular normal, los datos globales recogidos pueden ser suficientes para permitir la caracterización de los efectos locales después de la implantación.

NOTA La degradación in vivo puede necesitar un período de tiempo bastante grande, a veces más de un año. Puede ser beneficioso utilizar animales adicionales para extender el período de observación cuando el implante no se ha degradado completamente dentro del período de tiempo de investigación esperado.

Aunque esta parte de la Norma NC ISO 10993 no contempla las cuestiones de la toxicidad sistémica dadas en la Norma NC ISO 10993-11, se recomienda que la información requerida para cumplir esta parte de la Norma NC ISO 10993 se obtenga a partir de cualquier estudio de toxicidad sistémica que utilice la implantación.

Para los estudios de implantación a largo plazo, los períodos de observación aceptados generalmente se dan en la tabla 1.

A los animales se les debería practicar la eutanasia en cada punto temporal, en línea con la Norma NC ISO 10993-2. La recogida en serie bajo anestesia general con recuperación se puede aceptar en circunstancias especiales, que se deben documentar y justificar.

Tabla 1 — Selección de períodos de ensayo para la implantación a largo plazo

Especie	Período de implantación en semanas				
	12	26	52	78	(104) ^a
Ratas	X	X	X		
Cobayas	X	X	X		
Conejos	X	X	X	X	X
Perros	X	X	X	X	X
Ovejas	X	X	X	X	X
Cabras	X	X	X	X	X
Cerdos	X	X	X	X	X

a. Dependiendo de la utilización prevista del material de ensayo, pueden no ser necesarios todos los períodos de implantación (véase la Norma NC ISO 10993-12). En determinados casos puede ser interesante un período de observación de 104 semanas.

5.4 Condiciones quirúrgicas y de ensayo

La cirugía se debe efectuar bajo anestesia general. Si se utiliza otro tipo de anestesia, se debe justificar y debe ser conforme con la Norma Internacional ISO 10993-2. Los procedimientos de inserción o implantación específicos para la implantación subcutánea, intramuscular u ósea se describen en los anexos B, C y D respectivamente.

El número de implantes por animal y el número de animales por período de observación se describen en los anexos B, C y D. Se debe insertar un número suficiente de implantes para asegurar que el número final de muestras a evaluar dará resultados válidos.

La técnica quirúrgica puede influir bastante en el resultado de cualquier procedimiento de implantación. La cirugía se debe efectuar en condiciones asépticas y de una forma que minimice el traumatismo en el sitio del implante. El pelo del área quirúrgica se elimina mediante rasurado, afeitado u otro medio mecánico. Se desinfecta el área expuesta de la piel con un antiséptico apropiado. Se asegura que los implantes o las superficies de la herida no entren en contacto con el pelo. Después de la cirugía se cierra la herida, utilizando suturas o grapas quirúrgicas, tomando precauciones para mantener las condiciones asépticas.

Se debe observar y registrar la salud de los animales a intervalos regulares durante el estudio. Después de la cirugía, cada animal se debe observar a intervalos apropiados durante el período de ensayo, y se debe registrar cualquier manifestación anómala, incluyendo las anomalías locales, sistémicas y de comportamiento, y su influencia potencial sobre los resultados obtenidos se debe describir en los informes del ensayo.

Cuando se observen síntomas de mala salud, se deberían realizar medidas de la masa corporal a intervalos apropiados. La utilización de analgésicos postoperatorios debe estar en línea con los requisitos de la Norma NC ISO 10993-2.

Al final del período experimental, los animales se someten a eutanasia con una sobredosis de anestésico o mediante otro método humanitario en línea con los principios establecidos en la Norma NC ISO 10993-2.

5.5 Evaluación

5.5.1 Generalidades

Se evalúa la respuesta biológica documentando las respuestas macroscópicas e histopatológicas en función del tiempo. Se comparan las respuestas a la muestra de ensayo con las respuestas obtenidas con la muestra de control o en los sitios operados simulados.

NOTA Los ejemplos de los sistemas de evaluación se dan en el anexo E y en la bibliografía.

Se efectúa la comparación de los implantes de control y de la muestra en los sitios equivalentes relativos a cada implante, de forma que se minimice el efecto del movimiento relativo entre el tejido y el implante.

Para una muestra cilíndrica esta región es el punto medio entre sus extremos. Para los implantes cilíndricos con surcos son adecuadas para la evaluación las porciones centrales entre los surcos así como las superficies planas del extremo superior del implante.

Para cada uno de los criterios de evaluación se debe evaluar un número de muestras definido en los anexos B, C y D. Estas muestras se deben obtener a partir de al menos 3 animales diferentes.

5.5.2 Evaluación macroscópica

Cada sitio del implante se debe examinar para detectar las alteraciones de la estructura normal. Esto debería incluir la evaluación de los nódulos linfáticos con drenaje en la región (Tilney^[32]). Se recomienda la utilización de una lente de bajo aumento. Se registra la naturaleza y el alcance de cualquier reacción tisular observada, tales como hematoma, edema, encapsulación y/o manifestaciones mayores adicionales. Se registra la presencia, la forma y la localización del implante incluyendo los restos posibles de los materiales degradables. Se debe utilizar la macrofotografía para la documentación.

Además de la inspección del sitio del implante, siempre que un animal haya mostrado síntomas de mala salud o reacciones al implante, se debe efectuar una necropsia mayor según proceda.

5.5.3 Recuperación del implante y recogida de la muestra del tejido

Después de que el animal se ha sacrificado de forma humanitaria, se corta el implante junto con tejido circundante no afectado que permita la evaluación de la respuesta histopatológica local. Si la muestra no es evidente en el sitio examinado (materiales degradables/resorbibles), se extiende el sitio de explantación para incluir varios milímetros de tejido normal alrededor de todos los lados del sitio del implante esperado. Para los implantes no degradables, se deberían recoger los nódulos linfáticos drenantes según lo indique la patología gruesa. Para los implantes degradables, se deberían recoger, cuando sea factible, los nódulos linfáticos drenantes dado que la evaluación de éstos es importante para demostrar la migración de los materiales degradables.

NOTA 1 Se reconoce que no es posible siempre localizar los nódulos linfáticos drenantes de todas las muestras.

Si lo indica la mala salud y la patología macroscópica, o por diseño experimental para evaluar la toxicidad sistémica, se deben recoger otros órganos según proceda.

Las muestras de tejido cortadas se procesan según los procedimientos apropiados necesarios para la evaluación histológica, incluyendo la fijación, la excisión, la inclusión, el seccionado y la tinción. Si procede, se registra la orientación del implante, el número de secciones y la geometría de corte.

Cuando se utilizan técnicas convencionales, la envoltura del tejido se puede abrir antes o después de la exposición al fijador y se debe incluir en el informe la condición de la superficie del implante y del lecho del tejido. Se debe tener cuidado de no destruir la interfaz del implante/tejido.

Cuando se ha de estudiar la interfaz del implante/tejido, se prefiere la inclusión de la envoltura del tejido intacta con el implante in situ utilizando plásticos duros; se utilizan las técnicas de seccionado o pulido apropiadas para la preparación de las secciones histológicas. Se debe demostrar que la técnica de inclusión en plásticos no altera notablemente el tejido interfaz.

NOTA 2 Para los implantes "blandos" en tejidos blandos, el procesado de las muestras de tejido se puede efectuar sin retirar el implante.

5.5.4 Evaluación microscópica

El sistema de valoración utilizado para la evaluación histológica debe tener en cuenta el alcance del área afectada, ya sea cuantitativamente (por ejemplo, en micrómetros) o semicuantitativamente (véase el anexo E). Se registra la orientación del implante, el número de secciones y la geometría de corte. Se registra la orientación de la sección relativa a las dimensiones del implante.

Los parámetros de la respuesta biológica, que se deben evaluar y registrar, incluyen:

- el alcance de la fibrosis/cápsula fibrosa (la capa en micrómetros) y de la inflamación;
- la degeneración determinada por los cambios en la morfología del tejido;
- el número y la distribución como una función de la distancia desde la interfaz del material/tejido de los tipos de células inflamatorias, a saber leucocitos neutrófilos, polimorfo nucleares, linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos, macrófagos y células multinucleadas;
- la presencia, alcance y tipo de la necrosis;
- otras alteraciones del tejido tales como la vascularización, infiltración adiposa, formación de granulomas y formación ósea;
- los parámetros del material tales como la fragmentación y/o la presencia de detritos, la forma y localización de los restos del material degradado;
- la calidad y cantidad del crecimiento interior del tejido, para los materiales de implante porosos y degradables.

Las respuestas histológicas adversas se deben documentar mediante fotomicrografías.

Para los materiales degradables/resorbibles, en los niveles de degradación intermedia o casi completa, debería estar presente algún material residual del implante degradable en las muestras de tejido examinadas. Además, para la evaluación de la reparación hasta la estructura normal, se deben evaluar las áreas representativas del sitio del implante, indicadas por marcador o plantilla.

Para los implantes en hueso, es de interés especial la interfaz entre el tejido y el material. Se evalúa el área de contacto óseo y la cantidad de hueso en la vecindad del implante así como la presencia de tejidos no calcificados intermedios. Se registra la presencia de resorción ósea u osteogénesis si están presentes.

5.5.5 Evaluación de las respuestas

Los ejemplos de los sistemas de valoración cuantitativos se describen en las referencias bibliográficas [17], [18], [25] y [26].

Los ejemplos de los sistemas de valoración semicuantitativos se muestran en el anexo E. Además, se incluyen en la bibliografía ejemplos de otros sistemas de valoración.

6 Informe del Ensayo

El informe del ensayo debe ser suficientemente detallado para permitir una evaluación independiente de los resultados. El informe debe incluir los artículos enumerados en los apartados 5.1 a 5.5. Además, se deben incluir los elementos siguientes:

a) Muestras del implante

- Descripción de los materiales de ensayo y de control, tales como la identificación, la condición superficial, y la forma geométrica, tamaño, peso y forma física de los implantes. Se debe dar la justificación de la elección de la muestra de control y de la forma física del material implantado.

b) Animales e implantación

- Se deben notificar y justificar la especie, línea o la raza, el sexo, la edad y/o el peso y el origen. Se deben notificar las condiciones de ensayo incluyendo el alojamiento y la dieta. Se deben registrar y documentar todas las observaciones durante el estudio.
- Se deben registrar y notificar las técnicas de inserción incluyendo el procedimiento quirúrgico, la anestesia y la analgesia posquirúrgica, y la localización y el número de implantes por animal. Se deben registrar los problemas asociados con la implantación o la explantación y todas las observaciones hechas durante el estudio.

c) Recuperación y procedimiento histológico

- El informe debe incluir una descripción de la técnica de recuperación. Se debe registrar el número de implantes recuperados por animal y por período de observación.
- Se debe registrar la evaluación del implante, incluyendo las observaciones macroscópicas de los implantes, tejidos y órganos. Se deben registrar las técnicas empleadas para la fijación y preparación de las secciones histológicas.
- Los métodos y los resultados de la evaluación histológica del sitio del implante y cualquier órgano que muestre alteraciones en la necropsia, cuando esté indicada.
- Para los materiales degradables, el informe debe incluir una descripción del grado de degradación, incluyendo las características del material en la explantación (partículas libres, formación de fibras, gel amorfo, cristalinidad).

d) Evaluación macroscópica y microscópica

- Las observaciones macroscópicas deben incluir las observaciones hechas en cada implante así como el aspecto macroscópico del tejido que rodea al implante. Cuando proceda, esto debe incluir la observación de los nódulos linfáticos drenantes.
- El informe debe incluir los resultados obtenidos de cada examen histológico y el análisis (estadístico) correspondiente.

e) Evaluación final

- El informe debe incluir una evaluación comparativa de los efectos locales después de la implantación en cuanto a las respuestas biológicas a los materiales de ensayo y de control.

NOTA Cuando el objetivo ulterior de un implante es tener como resultado una remodelación del tejido, se podría considerar la evaluación de la formación del tejido normal esperado en el sitio en vez de la degradación completa.

ANEXO A
(Informativo)

Consideraciones generales sobre los períodos de implantación y las respuestas del tejido a los materiales DEGRADABLES/RESORBIBLES

Se espera que la respuesta del tejido a los materiales degradables será diferente de la respuesta a los materiales sólidos no resorbibles. Se debería hacer hincapié en que en contraste con los materiales no resorbibles, un estado estacionario se puede obtener solamente después de la degradación y adsorción completas del implante. Hasta que se alcance tal etapa, existe una interacción continua del material en degradación con el tejido circundante. En general, se puede observar una respuesta inflamatoria crónica durante la fase de degradación, pero la histología local debería regresar a la normalidad después de la degradación del implante. Por lo tanto, la respuesta mínima del tejido residual, normalmente equiparada con la "biocompatibilidad", puede requerir períodos de implantación que sean tan largos como el perfil de degradación del material. Dado que la degradación es un proceso continuo, y que es posible que pueda ocurrir una liberación "pico" de productos ácidos de degradación, es necesario también evaluar la respuesta del tejido a las etapas de degradación intermedias para la evaluación de las respuestas adversas locales al implante residual y a sus productos de degradación.

La degradación en tiempo real in vivo puede hacer necesario un período de tiempo bastante largo antes de que se alcance la degradación completa o un estado estacionario en la respuesta del tejido. Por tanto, se puede considerar la implantación de material predegradado in vitro (por ejemplo, hasta el 50% de pérdida en peso o 50% de pérdida de resistencia mecánica) para simular los episodios de ocurrencia tardía después de la implantación. Sin embargo, estos estudios exploratorios no sustituirían a otros estudios de implantación que serían necesarios para caracterizar totalmente el perfil de degradación in vivo en tiempo real del material.

Las provisiones en este anexo son aplicables también a la evaluación de los efectos locales de los materiales degradables utilizados, por ejemplo, como portadores para la liberación lenta de medicamentos, soportes degradables para productos médicos de ingeniería tisular o como recubrimientos superficiales resorbibles para implantes no degradables.

ANEXO B (Normativo)

Métodos de ensayo para la implantación en tejido subcutáneo

B.1 Campo de aplicación

Este método de ensayo se utiliza para evaluar la respuesta biológica de tejido subcutáneo a un material implantado.

El estudio se puede utilizar para comparar el efecto de texturas o condiciones superficiales diferentes del mismo material, o para evaluar el efecto de diversos tratamientos o modificaciones de un material.

B.2 Principio

El método compara la respuesta biológica a implantes de las muestras de ensayo con la respuesta biológica a implantes de las muestras de control. Los materiales de control son aquellos utilizados en equipos médicos cuyas características de aceptabilidad clínica y biocompatibilidad han sido establecidas.

B.3 Muestras de ensayo

Las provisiones comunes para la preparación de las muestras de ensayo y de control se describen en el apartado 4.2. Los tamaños del implante se basan en el tamaño del animal de ensayo. Se deben considerar las dimensiones siguientes:

- a) Las muestras hechas de material laminar deben ser de 10 mm a 12 mm de diámetro y de 0,3 mm a 1,0 mm de espesor.

NOTA El sitio subcutáneo, profundo en el músculo panniculus carnosus, es particularmente adecuado para la evaluación del material laminar polimérico. En una lámina en un sitio intramuscular, el material se puede plegar, lo que hace difícil evaluar el efecto del material per se.

- b) Los materiales en bruto se deben fabricar en muestras de 1,5 mm de diámetro y 5 mm de longitud, y deben tener extremos redondeados.
- c) Las muestras no sólidas (incluyendo los polvos) se deben preparar en tubos de 1,5 mm de diámetro y 5 mm de longitud (véase el apartado 4.2).

B.4 Animales de ensayo y sitios de implante

Los implantes se deben insertar en el tejido subcutáneo dorsal de ratones, ratas, cobayas o conejos adultos. Se selecciona una especie entre éstas según las provisiones de la Norma Internacional ISO 10993-2.

Se utilizan al menos tres animales y sitios suficientes para dar un total de 10 muestras de ensayo y 10 muestras de control para cada material y período de implantación. Cuando se toman muestras de tejido múltiples de un único sitio de implante, las secciones para histología deben estar separadas al menos 1 cm.

Cuando se utiliza un material de control bien conocido (no degradable), puede estar justificado evaluar la respuesta al material de control en un punto temporal solamente. Esto se debe justificar y documentar.

B.5 Procedimiento de implantación

Se selecciona uno de los procedimientos descritos en el apartado B.5.1 y B.5.2.

B.5.1 Implantación a lo largo de la línea media dorsal

Se hace una incisión en la piel y se hacen uno o más bolsillos subcutáneos por disección roma. La base del bolsillo debe distar más de 10 mm de la línea de incisión. Se coloca un implante en cada bolsillo. Los implantes no se deben poder tocar entre sí. De forma alternativa, se pueden utilizar ambos flancos.

NOTA De forma alternativa, los implantes pueden ser colocados mediante un trocar en el sitio deseado.

B.5.2 Implantación en el cuello

En los ratones, se hace una incisión larga de 10 mm por encima del sacro y se prepara un túnel subcutáneo por disección roma hacia el cuello. Se empuja un implante a través del túnel para posicionarlo en el cuello (véanse las referencias bibliográficas [23] y [24]).

En las ratas, se insertan sendos implantes de los materiales de control y experimental o ensayo separadamente en cada lado del cuello. Los implantes no se deben poder tocar entre sí. De forma alternativa, se pueden utilizar ambos flancos y/o patas traseras.

A cierta distancia desde el implante, se cierra el túnel con puntos del material de sutura apropiado para impedir que el implante se mueva.

B.6 Período de implantación

Para asegurar un estado estacionario de la respuesta biológica del tejido, el(los) período(s) de implantación deben ser los especificados en el apartado 5.3.

B.7 Evaluación de la respuesta biológica

La evaluación debe tener en cuenta los apartados especificados en el capítulo 5.

B.8 Formato del informe del ensayo

La presentación de los resultados del ensayo y el informe del ensayo final deben incluir los requisitos especificados en el capítulo 6 y deben incluir la justificación de los métodos específicos seleccionados.

ANEXO C (Normativo)

MÉTODO DE ENSAYO PARA LA IMPLANTACIÓN EN MÚSCULO

C.1 Campo de aplicación

Este método de ensayo se utiliza para evaluar la respuesta biológica de tejido muscular a un material implantado.

C.2 Principio

El implante se inserta en el músculo de un animal de ensayo. El método compara la respuesta biológica a implantes de las muestras de ensayo con la respuesta biológica a implantes de las muestras de control. Los materiales de control son aquellos utilizados en equipos médicos cuyas características de aceptabilidad clínica y biocompatibilidad han sido establecidas.

C.3 Muestras de ensayo

Las provisiones comunes para la preparación de las muestras de ensayo y de control se describen en el apartado 4.2. Los tamaños del implante se basan en el tamaño del grupo muscular escogido.

Para los músculos paravertebrales de conejo, se utilizan normalmente implantes de una anchura de 1 mm a 3 mm con una longitud de 10 mm aproximadamente. De forma alternativa, se pueden implantar quirúrgicamente muestras mayores de hasta 10 mm de diámetro y 3 mm de espesor.

Las muestras deben tener los bordes redondeados y los extremos terminados en un semicírculo completo.

C.4 Animales de ensayo y sitios de implante

Los implantes se insertan bajo anestesia en el músculo de los animales. Se asegura que los músculos sean de tamaño suficiente para alojar a las muestras del implante. Se utiliza solamente una especie por ensayo.

NOTA Los músculos paravertebrales de los conejos son los sitios de implante preferidos. De forma alternativa, para muestras más pequeñas, se pueden utilizar los músculos glúteos de las ratas o los músculos del muslo de los conejos.

Se utilizan al menos tres animales y sitios de implante suficientes para realizar un total de 10 muestras de ensayo y 10 muestras de control para cada período de implantación.

En los casos en que se espera que un material de control comparativo produzca más de una respuesta mínima, se utiliza un material de control adicional conocido como causante de una reacción tisular mínima en un sitio enfrente al de los materiales de ensayo.

Cuando se utiliza un material de control bien conocido (no degradable), puede estar justificado evaluar la respuesta al material de control sólo en un punto. Esto se debe justificar y documentar.

C.5 Procedimiento de implantación

La implantación debe ser mediante aguja hipodérmica o trocar. Para los implantes de mayor tamaño se pueden utilizar otras técnicas de implantación quirúrgica apropiadas.

Las muestras de ensayo se implantan en el cuerpo del músculo con el eje longitudinal paralelo a las fibras musculares.

Para los músculos para vertebrales del conejo, se implantan muestras suficientes de los materiales de ensayo a lo largo de un lado de la columna vertebral, 25 mm a 50 mm desde la línea media y paralelas a la columna vertebral, y separadas 25 mm aproximadamente entre sí. De forma similar, se implantan muestras suficientes del material de control en el músculo contralateral de cada animal.

C.6 Período de implantación

Para asegurar un estado estacionario de la respuesta biológica del tejido, el (los) períodos(s) de implantación deben ser los especificados en el apartado 5.3.

C.7 Evaluación de la respuesta biológica

La evaluación debe tener en cuenta los artículos especificados en el capítulo 5.

C.8 Formato del informe del ensayo

La presentación de los resultados del ensayo y el informe del ensayo final deben incluir los requisitos especificados en el capítulo 6.

ANEXO D (Normativo)

MÉTODO DE ENSAYO PARA LA IMPLANTACIÓN ÓSEA

D.1 Campo de aplicación

Este método de ensayo se utiliza para evaluar la respuesta biológica del tejido óseo a un material implantado. El sitio de implante en hueso canceloso (esponjoso) o compacto denso se debería seleccionar según la utilización final del material.

El estudio se puede utilizar para comparar el efecto de texturas o condiciones superficiales diferentes del mismo material, o para evaluar el efecto de diversos tratamientos o modificaciones de un material.

D.2 Principio

El implante se inserta en el tejido óseo de los animales de ensayo. El método compara la respuesta biológica a implantes de las muestras de ensayo con la respuesta biológica a implantes de las muestras de control. Los materiales de control son aquellos utilizados en equipos médicos cuyas características de aceptabilidad clínica y biocompatibilidad han sido establecidas.

D.3 Muestras de ensayo

D.3.1 Generalidades

Las provisiones para la preparación de las muestras de ensayo y de control se describen en el apartado 4.2.

D.3.2 Forma de las muestras del implante

Las muestras sólidas pueden ser en forma de tornillo o roscadas para proporcionar la estabilidad inicial de los implantes en el hueso. Si la preparación de una forma de tornillo no es práctica, se puede utilizar una forma cilíndrica.

Se pueden utilizar otras formas de la muestra (por ejemplo, cilindros, varillas, pastas) dependiendo de la naturaleza de los materiales y del objetivo del estudio.

D.3.3 Tamaño de las muestras de ensayo

Los tamaños del implante se basan en el tamaño del animal de ensayo y del hueso escogido. Se deben considerar las dimensiones típicas siguientes para los implantes en el hueso cortical a mitad de su longitud:

- conejos - implantes cilíndricos de 2 mm de diámetro y 6 mm de longitud;
- perros, ovejas y cabras - implantes cilíndricos de 4 mm de diámetro y 12 mm de longitud;
- conejos, perros, ovejas, cabras y cerdos - implantes tipo tornillo óseo ortopédico de 2 mm a 4,5 mm.

D.4 Animales de ensayo y sitios de implante

D.4.1 Animales de ensayo

Los implantes se deben insertar en el hueso de roedores, perros, ovejas, cabras, cerdos o conejos. Se selecciona una especie entre éstas en línea con los principios establecidos en la Norma Internacional ISO 10993-2. Las diferencias entre especies son importantes en la fisiología ósea y se deberían evaluar antes de iniciar los estudios de implantación. Además, la calidad del hueso puede variar entre

los animales de la misma especie no criados para tal fin, y se puede necesitar la densitometría ósea para identificar a los animales de ensayo adecuados y para interpretar los resultados del ensayo. Se debe justificar y documentar la selección.

D.4.2 Sitios de implante

Se deben utilizar sitios anatómicos equivalentes para las muestras de ensayo y de control. Los implantes de ensayo deben ser contralaterales a los implantes de control. El sitio de implante se selecciona para minimizar el riesgo de movilidad del implante. Se deben evaluar al menos 10 muestras de ensayo y 10 muestras de control para cada período de implantación. Las muestras de control no degradables se pueden evaluar en un punto temporal solamente. Esto se debe justificar y documentar.

NOTA El fémur y la tibia son adecuados. Se pueden considerar otros sitios.

El número de sitios de implante debe ser el siguiente:

- a) en cada conejo debe existir un máximo de seis sitios de implante: tres para las muestras de ensayo y tres para las muestras de control;
- b) en cada perro, oveja, cabra o cerdo, debe existir un máximo de doce sitios de implante: seis para las muestras de ensayo y seis para las muestras de control.

No se insertan más de doce muestras en ningún animal.

El tamaño, el peso y la edad del animal y el sitio de implante escogido deberían asegurar que la colocación del implante no causa un riesgo significativo de fractura patológica del sitio de ensayo. En los animales más jóvenes es especialmente importante asegurarse de que los implantes eviten el área epifisiaria u otro sitio óseo inmaduro.

D.5 Procedimiento de implantación

La implantación ósea se efectúa utilizando una velocidad de perforación baja y perforación intermitente con irrigación profusa con solución salina fisiológica y aspiración, porque el sobrecalentamiento originará necrosis tisular local.

Es importante que el diámetro del implante y el lecho del implante en el hueso se correspondan bastante bien para evitar el crecimiento interno de tejido fibroso.

Se expone el córtex de cada fémur o tibia y se perfora el número apropiado de orificios para recibir los implantes. Para los conejos, se preparan hasta tres orificios; para los animales mayores se preparan hasta seis orificios. Se taladra hasta el diámetro final o se atornilla una rosca de tornillo antes de la inserción. Los cilindros se insertan mediante presión con el dedo para permitir el encaje a presión. Los implantes en forma de tornillo se aprietan en su sitio con un instrumento capaz de aplicar un par predeterminado. Se registra el valor del par.

D.6 Período de implantación

Para asegurar un estado estacionario de la respuesta biológica del tejido, el (los) períodos(s) de implantación deben ser los especificados en el apartado 5.3.

D.7 Evaluación de la respuesta biológica

La evaluación debe tener en cuenta los requisitos especificados en el capítulo 5.

D.8 Formato del informe del ensayo

La presentación de los resultados del ensayo y el informe del ensayo final deben incluir los requisitos especificados en el capítulo 6.

ANEXO E
(Informativo)

EJEMPLOS DE LA EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS BIOLÓGICOS LOCALES DESPUÉS DE LA IMPLANTACIÓN

En la bibliografía se dan ejemplos de los sistemas de valoración cuantitativos (véanse las referencias [16], [17], [25] y [26] de la bibliografía).

Para cada característica histológica evaluada, tal como la formación de cápsula, la inflamación, la presencia de células polimorfonucleares, de células gigantes, de células plasmáticas y/o la degradación del material, el sistema de valoración semicuantitativa utilizada se debería describir en el informe de evaluación.

Algunos ejemplos de tales sistemas de valoración semicuantitativos se describen a continuación y en la bibliografía (véanse las referencias [25], [26], [31], [40] y [41]). El sistema de evaluación según se describe las tablas E.1 y E.2 se puede convertir a un sistema de evaluación de implantes según se describe en la tabla E.3.

Para ejemplos de los sistemas de valoración utilizados para la evaluación biológica de los materiales degradables, véase la referencia bibliográfica [19].

Tabla E.1 — Ejemplos de un sistema de evaluación histológica - Tipo celular/respuesta

Tipo celular/respuesta	0	1	Valoración 2	3	4
Células polimorfonucleares	0	Raro, l-5/phf ^a	5-10/phf	Infiltrado alto	Saturado
Linfocitos	0	Raro, l-5/phf	5-10/phf	Infiltrado alto	Saturado
Células plasmáticas	0	Raro, l-5/phf	5-10/phf	Infiltrado alto	Saturado
Macrófagos	0	Raro, l-5/phf	5-10/phf	Infiltrado alto	Saturado
Células gigantes	0	Raro, l-2/phf	3-5/phf	Infiltrado alto	Láminas
Necrosis	0	Mínima	Suave	Moderada	Severo
phf = campo de alto aumento (400 x).					

Tabla E.2 — Ejemplos de un sistema de evaluación histológica – Respuesta

Respuesta	0	1	Score 2	3	4
Neovascularización	0	Proliferación capilar mínima, focal, 1 -3 brotes	Grupos de 4-7 capilares con estructuras fibroblásticas de soporte	Banda ancha de capilares con estructuras de soporte	Banda extensa de capilares con estructuras fibroblásticas de soporte
Fibrosis	0	Banda estrecha	Banda moderadamente ancha	Banda gruesa	Banda extensa
Infiltrado adiposo	0	Cantidad mínima de grasa asociada con fibrosis	Varias capas de grasa y fibrosis	Acumulación elongada y ancha de células adiposas alrededor del sitio de implante	Grasa extensa que rodea completamente al implante

Tabla E.3 — Ejemplo de un sistema de evaluación semicuantitativo
Intervalo de Implantación

Muestra de ensayo

	Muestra de ensayo			Muestra de control		
Número del animal:						
Inflamación						
Polimorfonuclear						
Linfocitos						
Células plasmáticas						
Macrófagos						
Células gigantes						
Necrosis						
SUB-TOTAL (x 2)						
Neovascularización						
Fibrosis						
Infiltrado adiposo						
SUB-TOTAL						
TOTAL						
TOTAL DEL GRUPO						
PROMEDIO ^a	ENSAYO (-) CONTROL =					
Necrosis traumática						
Detritos extraños						
Nº de sitios examinados						

^a Se utiliza para determinar la valoración irritante mostrada a continuación como la conclusión. Una diferencia negativa se registra como cero.

Conclusión: En las condiciones de este estudio, la muestra de ensayo se consideró como:

- no irritante (0,0 a 2,9)
- ligeramente irritante (3,0 a 8,9)
- moderadamente irritante (9,0 a 15,0)
- severamente irritante (> 15)

para el tejido comparada con la muestra de control negativo.

Bibliografía

- [1] ISO 5832-1 Implants for surgery — Metallic materials — Part 1: Wrought stainless steel.
- [2] ISO 5832-2 Implants for surgery — Metallic materials — Part 2: Unalloyed titanium.
- [3] ISO 5832-3 Implants for surgery— Metallic materials— Part 3: Wrought titanium 6-aluminium 4-vanadium alloy.
- [4] ISO 5832-4 Implants for surgery — Metallic materials — Part 4: Cobalt-chromium-molybdenum casting alloy.
- [5] ISO 5832-5 Implants for surgery — Metallic materials — Part 5: Wrought cobalt-chromium-tungsten-nickel alloy.
- [6] ISO 5832-6 Implants for surgery — Metallic materials — Part 6: Wrought cobalt-nickel-chromium-molybdenum alloy.
- [7] ISO 5832-7 Implants for surgery — Metallic materials — Part 7: Forgeable and cold-formed cobalt-chromium-nickel-molybdenum-iron alloy.
- [8] ISO 5832-8 Implants for surgery — Metallic materials — Part 8: Wrought cobalt-nickel-chromium-molybdenum-tungsten-iron alloy.
- [9] ISO 5834-2 Implants for surgery — Ultra-high-molecular-weight polyethylene — Part 2: Moulded forms.
- [10] ISO 6474 Implants for surgery — Ceramic materials based on high purity alumina.
- [11] ISO 7405, Odontología. Evaluación preclínica de la biocompatibilidad de los equipos médicos usados en odontología. Métodos de ensayo para materiales dentales.
- [12] ISO 10993-9, Evaluación biológica de productos sanitarios. Parte 9: Marco para la identificación y cuantificación de productos potenciales de degradación.
- [13] ASTM F748, Standard Practice for Selecting Generic Biological Test Methods for Materials and Devices.
- [14] ASTM F763, Standard Practice for Short-Term Screening of Implant Materials.

- [15] ASTM F981, Standard Practice for Assessment of Compatibility of Biomaterials for Surgical Implants with Respect to Effect of Materials on Muscle and Bone.
- [16] ASTM F1983, Standard Practice for Assessment of Compatibility of Absorbable/Resorbable Biomaterials for Implant Applications.
- [17] MHLW Notification, Principles for Biological Safety Evaluation of Medical Devices: IYAKUSHIN No.0213001 (2003.02.13).
- [18] Memorandum, Guidance for Specific Biological Tests relevant to the Principles issued by the MHLW Notification No.0213001 (2003.02.13): IRYOKIKI-SHINSANo.36 (2003.3.19).
- [19] COHÉN, J., Assay of Foreign-Body Reaction, *Journal of Bone and Joint Surgery*, **41A**, 1959, pp. 152-166.
- [20] DE JONG, W.H., BERGSMA, J.E., ROBINSON, J.E. And Bos, R.R.M., Tissue response to partially in vitro predegraded poly-L-lactide implants, *Biomaterials*, 26, 2005, pp. 1781-1791.
- [21] WISE, D.L., TRANTOLO, D.J., ALTOBELLI, D.E., YASZEMSKI, M.J., GRESSER, J.D., SCHWARTZ, E.R. and DEKKER, M., Evaluating the Biological Effects of Medical Devices, *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering*, 1, New York, 1995, pp. 422-424.
- [22] FERGUSON, A.B. Jr., LAING, P.G. and HODGE, E.S., The Ionization of Metal Implants in Living Tissues, *Journal of Bone and Joint Surgery*, 42A, 1960, pp. 77-90.
- [23] GERET, V., RAHN, B.A., MATHYS, R., STRAUMANN, F. and PERREN, S.M., In vivo Testing of Tissue Tolerance of Implant Materials: Improved Quantitative Evaluation through Reduction of Relative Motion at the Implant Tissue Interface, from Current Concepts of Internal Fixation of Fracture, H.K. Uthoff (ed.), Springer Verlag, 1980.
- [24] GERET, V., RAHN, B.A., MATHYS, R., STRAUMANN, F. and PERREN, S.M., Chapter 35: A Method for Testing Tissue Tolerance for Improved Quantitative Evaluation through Reduction of Relative Motion at the Implant-Tissue Interface. *Evaluation of Biomaterials*, G.D. Winter, J.L. Leray, K. de Groot (eds), John Wiley & Sons Ltd., 1980.
- [25] IKARASHI, Y., TOYODA, K., OHSAWA, N., UCHIMA, T., TSUCHIYA, T., KANIWA, M., SATO, M., TAKAHASHI, M. and NAKAMURA, A., Comparative Studies by Cell Culture and in vivo Implantation Test on the Toxicity of Natural Rubber Latex Materials, *JBiomaterRes*, 26, 1992, pp. 339-356.

- [26] IKARASHI, Y., TSUCHIYA, T., TOYODA, K., KOBAYASHI, E., DOI, H., YONEYAMA, T. and HAMANAKA, H., Tissue Reactions and Sensitivity to Iron Chromium Alloys, *Mater Trans*, 43, 2002, pp. 3065-3071.
- [27] KAMINSKI, E. J., OGLESBY, R. J., WOOD, N.K. and SANDRIK, J., The Behavior of Biological Materials at Different Sites of Implantation, *J Biomed Mater Res*, 2, 1968, pp. 81-88.
- [28] LAING, P.G., FERGUSON, A.B. Jr. and HODGE [28] LAING, P.G., FERGUSON, A.B. Jr. and HODGE, E.S., Tissue Reaction in Rabbit Muscle Exposed to Metallic Implants, *J Biomed Mater Res*, 1, 1967, pp. 135-149.
- [29] LANGELAND, K., GUTTUSO, J., LANGELAND, L.L. and TOBON, G., Methods in the study of biological response to endodontic materials. Tissue response to N2 (root canal sealer), *Oral Surg*, 27, 1969, p. 522.
- [30] PREUL, M.C., BICHARD, W.D., MUENCH, T. and SPETZLER, R.F., toward optimal tissue sealants for neurosurgery: use of a novel hydrogel in a canine durotomy repair model, *Neurosurgery*, 2003.
- [31] RAHN, B.A., GERET, V., CAPAUL, C, LARDI, M. and SOLOTHURNMANN, B., Morphometric Evaluation of Tissue Reaction to Implants Using Low Cost Digitizing Techniques, *Clinical Applications of Biomaterials*, A.J.C. Lee, T. Albrektsson and P.-I. Branemark (eds), John Wiley & Sons Ltd., 1982.
- [32] TILNEY, N.L., Pattern of lymphatic drainage in the adult laboratory rat, *J. Anat.* 109(3), 1971, pp. 369-383.
- [33] TORNECK, C.D., Reaction of Rat Connective Tissue to Polyethylene Tube Implants, *Oral Surg*, 21, 1966, p. 379.
- [34] TORNECK, C.D., Reaction of Rat Connective Tissue to Polyethylene Implants, *Oral Surg*, 24, 1967, p. 674.
- [35] TURNER, E., LAWRENCE, W.H. and AUTIAN, J., Subacute Toxicity Testing of Biomaterials Using Histological Evaluation of Rabbit Muscle Tissue, *Journal of Biomedical Materials Research*, 7, 1973, pp. 39-58.
- [36] UPMAN, P.J., Toxicity Testing (of medical devices), *Handbook of Biomaterials Evaluation*, A. Von Recum (ed.), 2nd ed., Taylor & Francis, 1998, pp. 285-286.

- [37] UPMAN, P.J. and MUENCH, T., Comprehensive Histopathology Scoring System for Biomaterial Implants, Am. College of Toxicology meeting, Palm Springs, CA, Nov 7-10, 2004; Abstract published International Journal Toxicol, 23, 2004, p. 384.
- [38] US FDA-CDRH Guidance document for testing biodegradable polymer implant devices; available under: <http://www.fda.gov/cdrh/ode/odegr914.html>.
- [39] U.S. Pharmacopeia XXII: 1990, Biological reactivity tests, in-vivo.
- [40] WALLIN, R.F. and UPMAN, P.J., Evaluating Biological Effects, Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering, D.L. Wise et. al (eds), Part A, Vol 1, Ch 12, 1995, p. 422.
- [41] ZoFFERATO, S., SAVARINO, L., STEA, S. and TARABUSI, C, Result of Histologicon 100 cases of Hip Prosthesis Failure, Biomaterials, 9, 1988, pp. 314-318