

"2021, Año de la Independencia"

COMENTARIOS

Con fundamento en el numeral 6.3.3.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2020, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de noviembre y hasta el 31 de diciembre de 2021, lo analicen, evalúen y envíen sus observaciones o comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante la CPFEUM, sito en Río Rhin número 57, colonia Cuauhtémoc, código postal 06500, Ciudad de México.

Correo electrónico: consultas@farmacopea.org.mx.

DATOS DEL PROMOVENTE

Nombre: _____
Institución o empresa: _____
Teléfono: _____

Cargo: _____
Dirección: _____
Correo electrónico: _____

Dice	Debe decir	Justificación*
MGA-DM 10993-3 PRUEBAS DE BIOCOMPATIBILIDAD. Pruebas para genotoxicidad, carcinogenicidad y toxicidad reproductiva (Informativo)		
1. ALCANCE		
Este MGA especifica las estrategias para la estimación del riesgo, la selección de ensayos para la identificación de peligros y gestión de riesgos, con respecto a la posibilidad de la presentación de los siguientes efectos biológicos potencialmente irreversibles, como resultado de la exposición a los dispositivos médicos:		
genotoxicidad;		
carcinogenicidad;		
toxicidad reproductiva y del desarrollo.		
Este MGA es aplicable cuando se ha establecido la necesidad de evaluar la genotoxicidad		

"2021, Año de la Independencia"

<p>potencial, carcinogenicidad y toxicidad para la reproducción de un dispositivo médico.</p>		
<p>Nota: La orientación sobre la selección de las pruebas se proporciona en el MGA-DM 10993-1. Pruebas de biocompatibilidad. Evaluación y pruebas dentro de un proceso de gestión de riesgos.</p>		
<p>2. REFERENCIAS NORMATIVAS</p>		
<p>Los siguientes documentos, en su totalidad o en parte, están referenciados normativamente en este documento y son indispensables para su aplicación. Para las referencias con fecha, sólo se aplica la edición citada. Para referencias sin fechar, la última edición del documento referenciado (incluyendo cualquier modificación).</p>		
<p><i>MGA-DM 10993-1, Pruebas de biocompatibilidad. Evaluación y pruebas dentro de un proceso de gestión de riesgos (informativo).</i></p>		
<p><i>MGA-DM 10993-2, Pruebas de biocompatibilidad. Requerimientos de bienestar animal (informativo).</i></p>		
<p>ISO 10993-6, Evaluación biológica de dispositivos médicos - Parte 6: Ensayos sobre efectos locales después de la implantación</p>		
<p><i>MGA-DM 10993-12, Pruebas de biocompatibilidad. Preparación de muestras y materiales de referencia (informativo).</i></p>		
<p><i>MGA-DM 10993-18, Pruebas de biocompatibilidad. Caracterización química de los materiales (informativo).</i></p>		
<p>OCDE 414, Estudio de toxicidad para el desarrollo prenatal</p>		

"2021, Año de la Independencia"

OCDE 415, Estudio de toxicidad de reproducción de una generación		
OCDE 416, Toxicidad de reproducción de dos generaciones		
OCDE 421, Prueba de detección de toxicidad reproductiva/de desarrollo		
OCDE 451, Estudios de carcinogenicidad		
OCDE 453, Estudios de toxicidad/carcinogenicidad crónica combinada		
OCDE 471, Ensayo de mutación inversa en bacterias		
OCDE 473, Prueba de aberración cromosómica en mamíferos <i>in vitro</i> OCDE 476, Prueba de mutación génica de células de mamífero <i>in vitro</i> OCDE 487, Prueba de micronúcleos de células de mamífero <i>in vitro</i>		
3. TÉRMINOS Y DEFINICIONES		
Para efectos de este documento, se aplican los siguientes términos y definiciones.		
Prueba de carcinogenicidad: Prueba para determinar el potencial carcinógeno de los dispositivos médicos, materiales, y/o extractos, en una exposición a dosis repetidas a lo largo de una parte importante del ciclo de vida del animales de ensayo.		
Dispositivos médico de deposición de energía: dispositivo destinado a ejercer su efecto terapéutico o diagnóstico mediante la entrega de radiación electromagnética, radiación ionizante o ultrasonido. Nota: esto no incluye los dispositivos médicos que proporcionan corriente eléctrica sencilla,		

"2021, Año de la Independencia"

tales como dispositivos médicos de electrocauterio, marcapasos o estimuladores eléctricos funcionales.		
Prueba de genotoxicidad: prueba que usa células de mamíferos o no mamíferos, bacterias, levaduras, hongos o animales enteros para determinar si las mutaciones de genes, cambios en la estructura cromosómica, u otros cambios en el ADN o genes son causadas por las muestras de ensayo.		
Dosis máxima tolerada (DMT): dosis máxima que un animal de ensayo puede tolerar sin efectos adversos.		
Prueba de toxicidad reproductiva y del desarrollo: prueba utilizada para evaluar los efectos potenciales sobre la función reproductiva, morfología embrionaria (teratogénesis), y desarrollo prenatal y postnatal temprano de las muestras de ensayo.		
Preparación de muestras de ensayo: materiales residuales, extraíbles, lixiviables o biodegradables de un dispositivo médico que se resuspenden en un vehículo compatible con el sistema de prueba.		
4. REQUERIMIENTOS GENERALES		
4.1 General		
El MGA-DM 10993-1 indica las circunstancias en las que el potencial de genotoxicidad, carcinogenicidad y toxicidad para la reproducción son un peligro, pertinente para su consideración en una evaluación global de seguridad biológica. Las pruebas para investigar estos peligros se		

"2021, Año de la Independencia"

<p>justifican sobre la base de una evaluación de riesgos. Para determinar si las pruebas de genotoxicidad, carcinogenicidad y de toxicidad reproductiva del dispositivo garantizan una evaluación del riesgo se deberán abordar los siguientes factores:</p>		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ un análisis de los componentes químicos del material del dispositivo(s), incluyendo los residuos del proceso de fabricación y los productos de degradación o metabolitos que se puedan producir dentro del organismo. Esto con la finalidad de identificar, con base en las relaciones estructura-actividad o demostración previa de la toxicidad relevante de cada compuesto, las causas de preocupación del riesgo. 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ la base del mecanismo de acción de la respuesta tóxica en cuestión, si está disponible, 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ información relevante existente para la genotoxicidad, carcinogenicidad y evaluación de la toxicidad reproductiva del dispositivo médico, 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ el grado de uso previo de materiales comparables en aplicaciones relevantes, 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ la consideración de la existencia de compuestos residuales de la manufactura en el dispositivo final con respecto a lo bien que estén caracterizados y su potencial actividad biológica (por ejemplo, relaciones estructura-actividad, o demostración previa de resultados relevantes). 		

"2021, Año de la Independencia"

<ul style="list-style-type: none"> vía de exposición, 		
<ul style="list-style-type: none"> población de pacientes que usarán el dispositivo, 		
<ul style="list-style-type: none"> extensión y duración de la exposición localizada (en el sitio de implantación o uso) y sistémica, 		
<ul style="list-style-type: none"> impacto anticipado de resultados de la prueba (o la falta de los mismos) en los juicios de gestión de riesgos, y 		
<ul style="list-style-type: none"> cambios en el tipo o la cantidad de residuos a que el paciente estará expuesto, ya sea mediante un aumento de la exposición del dispositivo, o un aumento en el tamaño del dispositivo, en comparación con un dispositivo equivalente. 		
<p>Herramientas de evaluación del riesgo comúnmente usadas (por ejemplo Threshold of Toxicological Concern, TTC) que pueden ser útiles en la evaluación de estos factores.</p>		
<p>Cuando un análisis de la composición de los materiales del dispositivo revela la presencia de componentes químicos que son motivo de preocupación, pero para los cuales se dispone de datos de toxicidad inadecuados, se tendrá en cuenta la evaluación química individual. Los productos químicos individuales se probarán con preferencia a los materiales compuestos o extractos, cuando ello suponga mejorar la estimación del riesgo. Cuando los ensayos para un material de un dispositivo estén indicados, la(s) prueba(s) se llevarán a cabo en el producto</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>final (incluida la esterilización en su caso), o en partes representativas de los productos finales, o con materiales procesados de la misma manera que el producto final (incluida la esterilización). La decisión de probar, y la naturaleza de la muestra de ensayo, deberán ser justificadas y documentadas.</p>		
<p>Realizar las pruebas necesarias y el análisis adecuado puede garantizar que compuestos adicionales al dispositivo, tales como: desechos por desgaste generados por el dispositivo o materiales que curan <i>in situ</i> (por ejemplo, cementos, adhesivos y mezclas de pre-polímero) a menos que la evaluación del riesgo toxicológico determine que no hay motivo de preocupación de estados adicionales de un dispositivo/material. Para obtener orientación sobre los dispositivos de curado <i>in situ</i>, véase MGA-DM 10993 -12.</p>		
<p>4.2 Requisitos adicionales para pruebas de carcinogenicidad</p>		
<p>Para los ensayos de carcinogénesis, además del 4.1, los siguientes factores deben ser considerados:</p>		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ características físicas (por ejemplo, tamaño de partícula y forma, tamaño de los poros, continuidad de la superficie, estado de la superficie, espesor del dispositivo); 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ resultados de genotoxicidad, implantación y otros estudios. 		
<p>4.3 Requisitos adicionales para pruebas de toxicidad reproductiva</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Para el ensayo reproductivo, además del 4.1, se abordará la duración total acumulada de contacto directo o indirecto con el del tejido reproductivo, el embrión/feto o las células germinales.		
Cualquier información de la literatura publicada sobre el efecto de los materiales de dispositivos en los órganos reproductores macho/hembra o del estudio subagudo/crónico en la histopatología del sistema reproductivo, también debe servir de base antes de realizar una prueba de toxicidad para la reproducción a gran escala.		
5. PRUEBAS DE GENOTOXICIDAD		
5.1 General		
Antes de que se tome una decisión de realizar un análisis de genotoxicidad, se debe de tomar en cuenta al MGA 10993-1. La justificación de un programa de prueba, considerando todos los factores pertinentes dados en 4.1 a 4.3, deberán estar justificados y documentados.		
Las pruebas de genotoxicidad están diseñadas para detectar las dos clases principales de daño genético:		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Mutaciones de genes (mutaciones puntuales); ▪ Daño cromosómico [aberraciones estructurales, tales como translocaciones, deleciones pequeñas o grandes e inserciones, y aberraciones cromosómicas numéricas (aneuploidías). 		
5.2 Estrategia de prueba		
5.2.1 General		
Ninguna prueba es capaz de detectar todos los agentes genotóxicos relevantes. Por lo tanto, el		

"2021, Año de la Independencia"

<p>enfoque usual es llevar a cabo una serie <i>in vitro</i> y bajo ciertas circunstancias también en ensayos <i>in vivo</i>.</p>		
<p>Los ensayos de mutación inversa en bacterias han demostrado detectar cambios genéticos pertinentes producidos por la mayoría de los carcinógenos genotóxicos detectados por ensayos en roedores. Ciertas clases de genotoxina, por ejemplo haluros de alquilo, no se detectan.</p>		
<p>El potencial de los materiales de prueba para producir daño en el ADN en sistemas bacterianos podría no ser relevante para sus efectos probables en células eucariotas, y por lo tanto, las pruebas en células de mamíferos se realizarán a menos que se justifique. Varios sistemas de células de mamíferos están en uso: los sistemas que detectan daño cromosómico bruto (pruebas <i>in vitro</i> de aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas), sistemas que detectan principalmente mutaciones de genes (ensayo de mutación HPRT), y un sistema que detecta mutaciones genéticas y efectos clastogénicos [ensayo de timidina quinasa (tk) de linfoma de ratón con número de colonias y determinación de tamaño]. Las pruebas <i>in vitro</i> para lesiones cromosómicas y los resultados del ensayo de rendimiento del linfoma tk de ratón son equivalentes. Los resultados de ambas pruebas tienen un nivel relativamente alto de congruencia para compuestos que se consideran genotóxicos pero dan resultados</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>negativos en el ensayo de mutación inversa en bacterias. Por lo tanto, el ensayo de aberraciones cromosómicas y el ensayo de linfoma tk de ratón son actualmente considerados igualmente aceptables cuando alguno se emplea con el ensayo de mutación inversa en bacterias en una serie estándar de pruebas de genotoxicidad.</p>		
<p>5.2.2 Serie de prueba</p>		
<p>Cuando se efectúan pruebas de genotoxicidad, la serie de pruebas incluirá</p>		
<p>a) una prueba de mutaciones de genes en bacterias (OCDE 471), modificada para dispositivos médicos para permitir, por ejemplo, pruebas con extractos de dispositivos, consulte ISO/TR 10993- 33: —, Cláusula 6, y, o bien</p>		
<p>b) una prueba <i>in vitro</i> con evaluación citogenética de daño cromosómico con células de mamíferos (OCDE 473), modificada para dispositivos médicos, consulte ISO/TR 10993-33:—, Cláusula 7,</p>		
<p>c) un ensayo <i>in vitro</i> de linfoma tk en ratón (OCDE 476), modificado para dispositivos médicos, incluyendo detección de colonias pequeñas (de crecimiento lento) y grandes colonias, consulte ISO/TR 10993-33:—, Cláusula 9, o</p>		
<p>d) un ensayo <i>in vitro</i> de micronúcleos en células de mamíferos para daño cromosómico y aneugenicidad (OCDE 487), modificado para dispositivos médicos, consulte ISO/TR 10993-33:—, Cláusula 8.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>Cuando existen factores relevantes adicionales (como mecanismo genotóxicos y farmacocinéticos) que pueden influir en la actividad de un compuesto genotóxico, se deben considerar al efectuar un ensayo <i>in vivo</i> si se justifica. Los ensayos <i>in vivo</i> para lesiones cromosómicas en células hematopoyéticas de roedores podrían ser o bien un análisis de aberraciones cromosómicas en células de médula ósea o un análisis de micronúcleos en médula ósea o eritrocitos de sangre periférica [consulte ISO/TR 10993-33:—, Cláusula 10 (OCDE 474) o ISO/TR 10993-33:—, Cláusula 11 (OCDE 475)].</p>		
<p>En su caso, el ensayo <i>in vivo</i> de lesiones cromosómicas en células hematopoyéticas de roedores se realizó utilizando dos extractos (véase ISO 10993-12 o el Anexo A). La ruta de aplicación preferida de vehículos polares es por vía intravenosa. La ruta de aplicación preferida para vehículos no polares es por vía intraperitoneal.</p>		
<p>Un ensayo <i>in vivo</i> no es necesario, si el usuario puede demostrar que las cantidades de extraíbles del artículo de prueba son menores que la cantidad de material que induciría una respuesta positiva con un compuesto genotóxico producto de micronúcleos <i>in vivo</i> bien caracterizado.</p>		
<p>Un ejemplo es el cisplatino (CAS no. 15663-27-1), que ha demostrado una respuesta positiva a 0.3 mg/kg, véase la Referencia.[35]</p>		
<p>5.2.3 Evaluación de seguimiento</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>Si la prueba de genotoxicidad se realiza conforme con 5.2.2 y si los resultados de los dos ensayos <i>in vitro</i> son negativos, son innecesarias más pruebas de genotoxicidad en animales.</p>		
<p>Si alguna prueba es positiva, es aplicable el siguiente procedimiento paso a paso (véase también el Anexo B).</p>		
<p>Paso 1: La identificación de factores de confusión en los resultados de la primera serie de pruebas de genotoxicidad, si es posible.</p>		
<p>a) Identificación de factores de confusión (por ejemplo, condiciones no fisiológicas, interacción del artículo de ensayo con el medio de cultivo, auto oxidación y citotoxicidad).</p>		
<p>b) Identificación de efectos metabólicos (por ejemplo, naturaleza del sistema metabólico exógeno, naturaleza del perfil metabólico, metabolitos únicos).</p>		
<p>c) Identificación de impurezas de la caracterización química (es decir, investigación de ingredientes de materiales o pruebas analíticas).</p>		
<p>Paso 2: Ponderación de la evaluación de evidencia (EE) con el mecanismo y modo de acción (MA) a ser considerado.</p>		
<p>a) Modo de acción de reactivos de que afectan el ADN de manera directa contra reactivos que afectan el ADN de manera indirecta.</p>		
<p>b) Cuestiones de aneuploidía y poliploidía. ¿Está implicado un mecanismo de aneuploidía?</p>		
<p>Paso 3: Punto de decisión.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Determinar si el extracto del dispositivo médico o sustancia química en cuestión es un compuesto genotóxico y,		
a) si la interpretación de los resultados y análisis de EE/MA dentro de un marco de evaluación del riesgo toxicológico representa una preocupación baja/insignificante para los pacientes bajo el uso esperado, o		
b) si la interpretación de los resultados y análisis de EE/MA dentro de un marco de evaluación del riesgo toxicológico sugiere que pueden existir riesgos potenciales para los pacientes bajo el uso esperado.		
Si la determinación es a) no se necesitan más pruebas o evaluaciones adicionales. Si la decisión es b), continúe con el paso 4.		
Paso 4: Realizar la gestión de riesgos.		
Ya sea gestionar los riesgos que asumen un peligro genotóxico o seleccionar las pruebas <i>in vitro</i> y/o <i>in vivo</i> de seguimiento apropiadas.		
Paso 5: Seleccionar y ejecutar pruebas adicionales <i>in vitro</i> o <i>in vivo</i> .		
Cualquier prueba <i>in vivo</i> se elegirá sobre la base del punto final más adecuado identificado por los ensayos <i>in vitro</i> .		
ensayos <i>in vivo</i> de uso común son		
▪ ensayo de micronúcleos en roedores (OCDE 474),		
▪ análisis de metafase en médula ósea de roedores (OCDE 475),		
▪ ensayos de mutagenicidad transgénica (OCDE 488).		

"2021, Año de la Independencia"

<p>La decisión en cuanto al sistema de ensayo más adecuado será justificada y documentada.</p>		
<p>Nota: recientemente, un proyecto de directriz de la OCDE para la evaluación de productos químicos en el ensayo de electroforesis en gel de células individuales alcalinas de roedores (Ensayo cometa) se encuentra en desarrollo para ensayos genotoxicidad. Esta prueba podría resultar valiosa para ensayos de dispositivos médicos, pero en el momento de la publicación de esta Norma Internacional de Directrices de la OCDE no fue publicada.¹ ¹ Proyecto de Directrices OCDE para la prueba de productos químicos - Ensayo Comet Alcalino en Mamíferos <i>in vivo</i>, disponible en: <http://www.oecd.org/></p>		
<p>Se realizará un intento de demostrar que la sustancia de ensayo ha llegado al órgano diana. Para la prueba de micronúcleos en roedores o análisis de la metafase en médula ósea de roedores, la biodisponibilidad puede ser probada por uno de los siguientes enfoques</p>		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ cuantificación analítica de compuestos extracto específicos en la sangre o suero, 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ citotoxicidad inducida por el extracto de ensayo a las células de la médula ósea, 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ vía intravenosa de exposición (para vehículos polares). 		
<p>Si la exposición de órganos diana no puede demostrarse, un segundo ensayo <i>in vivo</i> en otro órgano diana en se llevará a cabo para verificar la ausencia de genotoxicidad <i>in vivo</i>.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>Paso 6: Reinterpretar todos los datos acumulados y determinar si el artículo de prueba es genotóxico. En algunos casos, un compuesto positivo en las pruebas <i>in vitro</i> puede no ser relevante. Lo siguiente debe ser considerado para determinar la relevancia general de los resultados <i>in vitro</i>. Esta lista no es exhaustiva, pero se da como una ayuda para el proceso de toma de decisiones.</p>		
<p>a) Sólo una de las dos pruebas originales <i>in vitro</i> realizadas tuvieron un resultado positivo.</p>		
<p>b) Además de la investigación <i>in vitro</i> usando puntos finales mecanicistas similares, no se confirma el resultado positivo.</p>		
<p>c) La información mecanística positiva indica que los resultados <i>in vitro</i> no son relevantes para situaciones <i>in vivo</i> (por ejemplo, citotoxicidad de alta osmolaridad, etc.).</p>		
<p>d) El ensayo <i>in vivo</i> incluyendo la evidencia de que la muestra de ensayo llega al órgano diana no demostró un efecto genotóxico.</p>		
<p>El EE general y la interpretación de todo el conjunto de datos se documentarán con la conclusión final. En algunos casos, podrían ser necesarias pruebas específicas del sitio o punto final genético específico. En la mayoría de los casos, estas pruebas no tienen protocolos reconocidos internacionalmente.</p>		
<p>5.3 Preparación de muestras</p>		
<p>A menos que la muestra se pueda disolver en un disolvente compatible con el sistema de prueba, los disolventes de extracción apropiados se</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>elegirán sobre la base de su capacidad de maximizar la extracción del material o dispositivo médico a un nivel en el que la concentración de residuos genotóxicos sea suficiente para producir una respuesta positiva en el sistema de prueba, pero sin la degradación del dispositivo o de la muestra de ensayo. El vehículo(s) del sistema de prueba se elegirá sobre la base de su compatibilidad con el sistema de prueba de genotoxicidad. Las pruebas deben llevarse a cabo en soluciones, suspensiones (por ejemplo el Método A en el Anexo A), extractos (por ejemplo el Método C en el Anexo A) o extractos exagerados (por ejemplo el Método B en el Anexo A) del dispositivo terminado (incluida la esterilización en su caso), material del dispositivo, componente del dispositivo o químicos individuales del dispositivo.</p>		
<p>Los materiales de los dispositivos deben incluir toda la formulación y elaboración final, salvo que se justifique otra opción. Por lo general, no es apropiado conducir las pruebas sobre las materias primas, pues la formulación y el procesamiento podrían cambiar el potencial de toxicidad del dispositivo final.</p>		
<p>La justificación de la elección de evaluar los químicos individuales deberá estar justificada y documentada. La justificación deberá incluir consideraciones de las interacciones y efectos sinérgicos.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>Cuando sea pertinente, el material de ensayo debe ser extraído con los dos disolventes (véase ISO 10993-12 o el Anexo A).</p>		
<p>Cualquier decisión de omitir la evaluación con una clase de disolvente deberá estar justificada y documentada.</p>		
<p>6. PRUEBAS DE CARCINOGENICIDAD</p>		
<p>6.1 General</p>		
<p>Antes de que se tome la decisión de realizar un ensayo de carcinogenicidad, la ISO 10993 -1, se tendrá en cuenta. La decisión de realizar una prueba se justificará sobre la base de una evaluación del riesgo de carcinogénesis derivada de la utilización del dispositivo médico. Los ensayos de carcinogenicidad no deberán realizarse cuando los riesgos puedan evaluarse o gestionarse adecuadamente sin generar nuevos datos que provengan de un ensayo de carcinogenicidad.</p>		
<p>Estas pruebas pueden ser diseñadas para examinar simultáneamente en un único estudio la toxicidad crónica y carcinogenicidad. Cuando la toxicidad crónica y carcinogenicidad se evaluarían en un estudio único, debe tomarse especial cuidado en la fase de diseño del estudio para asegurar que las dosis a probar son adecuadas. Esto ayuda a prevenir o minimizar la mortalidad prematura derivada de la toxicidad sistémica crónica/acumulativa comprometiendo la evaluación estadística de los datos derivados de los animales supervivientes al final del periodo de estudio (es decir, de ciclo de vida normal).</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>Nota: los sistemas de transformación celular <i>in vitro</i> están disponibles para carcinogenicidad de preselección [p.ej. el ensayo de transformación celular de embrión de hámster Sirio (SHE) y ensayo de transformación celular Balb3T3]. En el momento de la publicación de esta Norma Internacional ninguna directriz de la OCDE se había publicado. Se da información adicional sobre sistemas de ensayo de transformación celular en el Anexo D.</p>		
<p>6.2 Estrategia de evaluación</p>		
<p>Los ensayos de carcinogenicidad de materiales genotóxicos estarán justificados científicamente. En la mayoría de los casos de materiales genotóxicos, se puede presumirse un riesgo carcinogénico y en consecuencia el riesgo al ser administrado.</p>		
<p>Ante la falta de pruebas para descartar riesgos carcinogénicos para materiales no genotóxicos, las situaciones en las que se examinará la necesidad de realizar pruebas de carcinogenicidad pueden incluir las siguientes:</p>		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ materiales para los que el tiempo de degradación es mayor a 30 días; 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ materiales introducidos en el cuerpo y/o sus cavidades con un contacto acumulativo de más de 30 días. 		
<p>Circunstancias en las que las pruebas no se pueden justificar, se incluyen:</p>		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ materiales con datos significativos y adecuados sobre uso o exposición humana; 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ materiales que se espera den lugar a la carcinogénesis de estado sólido (véase Anexo E) 		

"2021, Año de la Independencia"

<ul style="list-style-type: none"> limitaciones metodológicas u otras circunstancias que pudieran limitar el valor predictivo de una prueba. 		
<p>Para determinar si un dispositivo tiene antecedentes de uso humano significativos, el análisis debe incluir una evaluación que aborde si el dispositivo se somete a un proceso de fabricación similar, se utiliza para tratar una población similar de pacientes, en un sitio de tratamiento similar y con exposición acumulada similar o menor. El antecedente de uso humano debe documentar si la información de monitoreo de efectos secundarios está disponible, particularmente el riesgo de cáncer, entre la población de uso humano.</p>		
<p>Al considerar la posibilidad de realizar un estudio de carcinogénesis, el papel del estudio en la evaluación del riesgo para el humano debe describirse, la necesidad y el diseño del estudio, deberán justificarse. Esta justificación deberá tener en cuenta el diseño estadístico correspondiente para tener un número adecuado de animales.</p>		
<p>Si según la norma ISO 10993-1, la toxicidad crónica y la carcinogenicidad se consideran relevantes, es necesario que las pruebas se realizarán de acuerdo con la OCDE 453, si es posible.</p>		
<p>Si según la norma ISO 10993-1, solamente un estudio de carcinogénesis se considera relevante, y se determina que es necesario realizar pruebas, estas se realizarán de acuerdo con la OCDE 451.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>Una especie animal es normalmente suficiente para evaluar dispositivos médicos. La elección de las especies deberá ser conforme con la norma ISO 10993-2 documentando la justificación de la elección.</p>		
<p>6.3 Preparación de muestras</p>		
<p>Cuando las pruebas de carcinogenicidad sean necesarias como parte de una evaluación de la seguridad biológica deberán realizarse con cualquiera de los materiales, sustancias químicas definidas o extractos caracterizados de los dispositivos médicos.</p>		
<p>El dispositivo médico se someterá a ensayo en una forma representativa del dispositivo como producto terminado. Las pruebas adicionales pueden ser realizadas para estados adicionales del dispositivo, tales como: desechos de desgaste generados por el dispositivo o materiales que curan <i>in situ</i> (por ejemplo, cementos, adhesivos y mezclas pre-poliméricas). Para obtener orientación sobre dispositivos <i>in situ</i> de curado, véase MGA-DM 10993-12.</p>		
<p>La selección de la muestra de ensayo (material del dispositivo, extracto de material del dispositivo o químico definido) deberá justificarse y documentarse.</p>		
<p>La dosis máxima utilizada en los animales es o bien la dosis máxima tolerada o la que sea limitada por las restricciones físicas del modelo animal. Esta dosis se expresa como un múltiplo de la exposición humana máxima estimada (en peso y/o superficie por kilogramo).</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>6.4 Métodos de prueba</p>		
<p>Si la prueba de un extracto se considera relevante, el estudio de carcinogenicidad se llevarán a cabo de conformidad con la OCDE 451 o 453 de la OCDE.</p>		
<p>Los tejidos evaluados incluirán tejidos relevantes de la lista indicada en la OCDE 451 o de la OCDE 453, así como el lugar de implantación y los tejidos adyacentes.</p>		
<p>Para los estudios que utilizan extracto de materiales del dispositivo o sustancias químicas definidas, una explicación abordará el por qué las propiedades superficiales del material no son un aspecto carcinogénico. Se tendrán en cuenta las consideraciones para la realización de estudios de implantación (véase el Anexo E) y el papel de las propiedades de la superficie en la evaluación de riesgo humano será descrito y documentado.</p>		
<p>En los estudios de implantación para evaluar la carcinogenicidad, la cantidad de material implantado será representativo de una dosis humana exagerada que proporcione un margen de seguridad suficiente. La dosis más alta será limitada por las restricciones físicas del modelo animal. Esta dosis se expresa como un múltiplo de la exposición humana máxima estimada (en peso y/o superficie por kilogramo).</p>		
<p>Un factor de seguridad de 100 veces se aplica a la exposición humana máxima estimada (en peso y/o superficie por kilogramo), sin embargo, la dosis debe ser fisiológicamente compatible con el modelo. El grupo de control negativo</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>generalmente recibirá una forma comparable y la forma de un material de control o material de referencia clínicamente aceptable cuya falta de potencial carcinogénico haya sido documentada (por ejemplo el polietileno).</p>		
<p>Cuando sea apropiado, un implante adecuadamente formado de acuerdo con la norma ISO 10993 -6 deberá ser del material (es) de prueba, considerando correspondiente justificación a la posibilidad de inducir carcinogenicidad de estado sólido, (véase la Referencia[33]).</p> <p>Ejemplo Artículo de prueba: Polímero Escenario de exposición: Un paciente típico será expuesto a un máximo de 11 g de polímero en un dispositivo Dosis humana: 0.19 g/kg (basado en el promedio de peso corporal femenino de 58 kg). Si se va a utilizar en pacientes pediátricos, es recomendado 10 kg de peso corporal.</p>		
<p>Considerando un factor de seguridad de 100 veces, la dosis de ratón es igual a 19 g / kg. Por lo tanto, un ratón típico de 25 g recibirá 0.475 g.</p>		
<p>El polímero puede ser probado en forma de disco. Un disco que no exceda de aprox. 15 mm de diámetro es recomendado y 2 mm a 3 mm de espesor. Sin embargo, para materiales con alta densidad, puede ser reducido para evitar daño de tejido relacionado con el peso de la muestra. Muestras múltiples se pueden implantar para obtener la dosis deseada. Por lo tanto, en el ejemplo anterior, dos implantes en forma de disco</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>que contienen 0.2 g de polímero por implante se implantarán en cada ratón.</p>		
<p>Los tejidos evaluados incluirán tejidos relevantes de la lista indicada en la OCDE 451 o de la OCDE 453, así como la implantación y tejidos adyacentes.</p>		
<p>En los últimos años, el uso de animales transgénicos para los ensayos de carcinogénesis ha ganado una cierta aceptación, pero no ha sido validado para dispositivos médicos. El ensayo de carcinogenicidad en modelos transgénicos es más corto en duración (normalmente seis meses) y requiere un menor número de animales que en los ensayos de carcinogenicidad durante la vida útil de dos años en roedores. Además de su duración más corta, estos estudios ofrecen un beneficio adicional de no ser complicados por el fenómeno de la tumorigénesis de estado sólido. Dado que los estudios en modelos transgénicos duran sólo seis meses, y son necesarios para el desarrollo de 8 a 9 meses de tumores en estado sólido, este fenómeno no es un factor de confusión. El modelo de ratón transgénico <i>rasH2</i> ha sido el modelo transgénico principal utilizado para evaluar el riesgo de carcinogenicidad de los dispositivos médicos.</p>		
<p>Debido a la limitada información disponible, y la falta de estudios formales de validación con el modelo de ratón transgénico <i>rasH2</i>, el diseño del estudio con este modelo incluye frecuentemente un control positivo junto con el control negativo.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

7. Pruebas de toxicidad reproductiva y del desarrollo		
7.1 General		
<p>Antes de que se tome una decisión de realizar pruebas de toxicidad reproductiva y del desarrollo se tendrá en cuenta el MGA-DM 10993-1. La decisión de realizar una prueba se justificará sobre la base de una evaluación de la situación reproductiva de la población objeto, de la posibilidad de exposición de los materiales o sustancias lixiviables a evaluar en los tejidos reproductivos, el embrión/feto o lactante.</p>		
<p>No hay necesidad de pruebas de toxicidad para la reproducción de dispositivos médicos biodegradables o dispositivos médicos que contienen sustancias lixiviables en los que hay datos adecuados y tranquilizadores de estudios de absorción, metabolismo, distribución y excreción que demuestren la falta de exposición a los tejidos de referencia, o de estudios de toxicidad reproductiva y del desarrollo.</p>		
<p>Las pruebas de toxicidad reproductiva y del desarrollo no son necesarias cuando una evaluación aceptable del riesgo toxicológico del dispositivo médico tiene en cuenta el hecho de que el riesgo de toxicidad reproductiva y del desarrollo se ha mitigado adecuadamente.</p>		
7.2 Estrategia de prueba		
<p>Las pruebas de reproducción y desarrollo se considerarán para los siguientes dispositivos:</p>		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ dispositivos de contacto prolongado o permanente con materiales o subproductos de 		

"2021, Año de la Independencia"

<p>degradación o sustancias lixiviables, que puedan estar en contacto directo con los tejidos reproductivos, el embrión/feto o células germinales;</p> <ul style="list-style-type: none"> dispositivos médicos de deposición de energía. 		
<p>Para determinar si los ensayos de toxicidad reproductiva del dispositivo se deben realizar, se tendrá que hacer una evaluación del riesgo que aborde los siguientes factores:</p>		
<ul style="list-style-type: none"> grado de exposición sistémica a partir de compuestos lixiviables (si el dispositivo no está en contacto directamente con el tejido reproductivo); 		
<ul style="list-style-type: none"> características físicas del dispositivo; 		
<ul style="list-style-type: none"> metabolitos del material del dispositivo; 		
<ul style="list-style-type: none"> resultados de genotoxicidad. 		
<p>Las pruebas se indican cuando no hay información adecuada sobre uno o más de los factores anteriores y este riesgo no puede ser mitigado a través de otras medidas de control de riesgos (por ejemplo, información acerca de la falta de datos sobre la toxicidad reproductiva).</p>		
<p>El ensayo será realizado en el dispositivo como producto terminado o material de prueba.</p>		
<p>El uso de material de ensayo específico distinto del dispositivo como producto terminado tendrá que ser justificado y la racionalización será documentada.</p>		
<p>Si se requieren pruebas, esto puede comenzar con la OCDE 421 con el fin de proporcionar información inicial sobre posibles efectos en la</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>reproducción o desarrollo. Resultados positivos con estas pruebas son útiles para la evaluación inicial de riesgos y contribuyen a las decisiones con respecto a la necesidad pruebas adicionales.</p>		
<p>Si se consideran necesarias pruebas adicionales, deberán realizarse de conformidad con la OCDE 414, la OCDE 415 o la OCDE 416, según el caso.</p>		
<p>Puede ser posible comenzar con los sistemas de prueba apropiados que demuestren claramente la ausencia o presencia de toxicidad reproductiva según la OCDE 414, la OCDE 415 o la OCDE 416.</p>		
<p>7.3 Preparación de muestras</p>		
<p>La preparación de muestras se hará de conformidad con el MGA-DM 10993-12. Siempre que sea posible, el dispositivo médico se someterá a ensayo en una forma representativa de su estado final (producto terminado). Las pruebas adicionales pueden realizadas para estados adicionales del dispositivo, tales como, dispositivos o materiales que curan <i>in situ</i> (por ejemplo, cementos, adhesivos y mezclas prepoliméricas).</p>		
<p>En el caso de dispositivos médicos de deposición energía es adecuada la exposición de todo el cuerpo de los animales. Debe aplicarse un múltiplo previsto de la exposición humana a los órganos reproductores.</p>		
<p>La dosis máxima utilizada en los animales es o bien la dosis máxima tolerada o la que sea limitada por las restricciones físicas del modelo animal. Esta dosis se expresa como un múltiplo</p>		

"2021, Año de la Independencia"

de la exposición humana máxima estimada (en peso y/o superficie por kilogramo).		
En ensayos <i>in vivo</i> deberán realizarse de conformidad con el MGA-DM ISO 10993-2.		
7.4 Métodos de prueba		
La evaluación de los efectos sobre la primera generación (F1) o incluso de segunda generación (F2) se efectuará de acuerdo con la OCDE 414, la OCDE 415 u OCDE 416 y la OCDE 421. Como las directrices de la OCDE no estaban destinadas a dispositivos médicos se considerarán las siguientes modificaciones:		
▪ dosis (en el caso de dispositivos médicos de deposición energética);		
▪ vía de aplicación (implante, parenteral, otros);		
▪ medio de extracción;		
▪ tiempo de exposición (niveles elevados en la sangre durante la organogénesis cuando sea posible).		
Nota: dependiendo del uso humano destinado y las características del material, pueden indicarse estudios peri/posnatales.		
Si la información derivada de otras pruebas indica efectos potenciales en el sistema reproductor masculino, entonces se efectuarán pruebas adecuadas de toxicidad reproductiva masculina.		
Recientemente, se han desarrollado sistemas reproductivos de prueba <i>in vitro</i> . Pueden ser útiles como un método de ensayo de selección previa para la toxicidad reproductiva y del desarrollo.		
8. INFORME DE PRUEBA		

"2021, Año de la Independencia"

Si es relevante, el informe del ensayo debe incluir al menos los siguientes datos:		
a) descripción del material y/o dispositivo médico (por ejemplo, composición química, tratamiento, acondicionamiento y tratamiento de la superficie), incluyendo el uso previsto;		
b) descripción y racionalización/justificación de los métodos de prueba, condiciones de prueba, materiales de prueba, dosis de prueba y procedimientos de prueba;		
c) descripción de los métodos analíticos, incluidos los límites de cuantificación;		
d) declaración de cumplimiento de apropiación de las mejores prácticas/calidad vigentes/validaciones de laboratorio, por ejemplo, Good Laboratory Practices (GLP) y la ISO / IEC 17025, en su caso;		
e) resultados de las pruebas incluyendo resumen;		
f) métodos estadísticos;		
g) interpretación y discusión de los resultados;		
h) otros detalles especificados en las directrices pertinentes de la OCDE o el Anexo C y el Anexo D , e ISO/TR 10993-33;		
i) nombre y certificaciones del laboratorio de análisis;		
j) fecha de la prueba;		
k) nombre y firma de la persona responsable.		
ANEXO A ORIENTACIÓN SOBRE SELECCIÓN DE UN PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LA MUESTRA APROPIADO EN PRUEBAS DE GENOTOXICIDAD (INFORMATIVO)		
A.1 General		

"2021, Año de la Independencia"

<p>El presente anexo da orientación para la selección de un procedimiento apropiado de preparación de la muestra en las pruebas de genotoxicidad de dispositivos médicos. En la selección del método, el usuario debe considerar las propiedades físico-químicas de los materiales de los dispositivos médicos y el proceso de fabricación de los dispositivos médicos. Por ejemplo, muchos polímeros en dispositivos médicos contienen, además del polímero relativamente inerte, de alto peso molecular, otros componentes tales como monómeros residuales, oligómeros, catalizadores, coadyuvantes de elaboración, etc. Estos están presentes en diversos niveles dependiendo de las fuentes de materias primas, los procesos de fabricación, y la función de los aditivos destinados. También se pueden generar especies químicas adicionales durante los procesos de fabricación, tales como sellado por calor, soldadura, o esterilización del dispositivo. Todos estos pueden migrar desde el dispositivo al cuerpo humano y deben ser objeto de una evaluación de riesgos.</p>		
<p>La información relevante para el análisis de riesgos biológicos puede estar disponible desde la literatura del fabricante(es) y/o distribuidor(es).</p>		
<p>Si se dispone de suficiente información sobre las características cualitativas y cuantitativas del dispositivo o facsímil terminado, incluyendo los materiales y auxiliares de elaboración utilizados para la fabricación de dispositivos, no hay necesidad de hacer pruebas.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>Al evaluar si existe suficiente información, el usuario debe incluir en su análisis lo siguiente.</p>		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿El dispositivo acabado experimenta un proceso de fabricación equivalente (incluida la esterilización, en su caso)? 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿El dispositivo contiene los mismos aditivos y contaminantes (tales como coadyuvantes de elaboración, los monómeros sin reaccionar, catalizadores)? 		
<p>Con el fin de llevar a cabo una evaluación basada en el riesgo, de acuerdo con la norma ISO 14971, el procedimiento de análisis de riesgos debe incluir los siguientes tres pasos.</p>		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Caracterización de materiales/dispositivo. 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Identificación de peligros. 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ La estimación del riesgo. 		
<p>Sin embargo, si no existe alguna información necesaria, las pruebas deben llevarse a cabo. Los métodos de ensayo biológico incluido el procedimiento de preparación de las muestras deben tener un diseño adecuado para los fines de la identificación de los peligros biológicos y estimar sus riesgos.</p>		
<p>La selección de la preparación apropiada de la muestra es crítica para obtener resultados relevantes de pruebas de genotoxicidad. Una preparación de muestras inadecuada puede dar lugar a una subestimación del riesgo de genotoxicidad. Por ejemplo, la extracción de polímeros con agua fue considerada generalmente para simular la migración <i>in situ</i> de los lixiviados a partir de polímeros a la sangre.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>Sin embargo, en Tsuji <i>et al.</i> [76] se demostró que el di(etilhexil)ftalato (DEHP) no se extrajo de tubo del circuito de sangre de cloruro de polivinilo cuando se utilizó agua como un disolvente de extracción. Ellos demostraron que el plasma humano extrae cantidades significativas de DEHP y el porcentaje de DEHP extraíble con plasma humano fue similar al observado con 40 % de etanol. Sobre la base de este estudio, Oba <i>et al.</i> [77] tuvo éxito en la reproducción de las lesiones oculares, que ocurren entre los pacientes de diálisis tratados con una marca específica de dializador de etilo infundiendo al conejo con extractos obtenidos a partir del 40 % de etanol.</p>		
<p>A.2.1 Materiales del dispositivo</p>		
<p>Sustancias Químicas de Bajo Peso Molecular (QBPM)</p>		
<p>Los QBPM, sustancias no poliméricas contenidas en dispositivos médicos, pueden penetrar en las membranas celulares, para reaccionar con el ADN, genes, cromosomas o de modo que puedan dar lugar a reacciones genotóxicas (por ejemplo el adhesivo de cianoacrilato), véase A.2.2.1.</p>		
<p>A.2.2 Polímeros (incluyendo polímeros de origen natural)</p>		
<p>Un polímero es una sustancia química que consiste en moléculas caracterizadas por la secuencia de uno o más tipos de unidades de monómero y que comprende una mayoría ponderal simple de moléculas que contienen al menos 3 unidades de monómero. Estas unidades se unen covalentemente a, al menos, otra unidad</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>de monómero u otro reactante, y consisten en menos de una mayoría ponderal simple de moléculas del mismo peso molecular. Dichas moléculas deben repartirse en una distribución de pesos moleculares en la que las diferencias de peso molecular puedan atribuirse principalmente a diferencias en el número de unidades de monómero.</p>		
<p>Grupos de polímeros comunes son: polímeros sintéticos no degradables (por ejemplo, polietileno, polimetilmetacrilato, silicona); polímeros de origen natural (por ejemplo, celulosa, alginato, gelatina, colágeno); y polímeros biodegradables (por ejemplo poli(ácido L-láctico) (PLLA), ácido poliglicólico).</p>		
<p>A.2.2.1 QBPM contenido en polímeros</p>		
<p>Los materiales poliméricos a menudo contienen una pequeña cantidad de QBPM tales como aditivos, catalizadores, coadyuvantes de tratamiento, y productos de radiación. Estos QBPM pueden ser potencialmente genotóxicos. En caso de un contacto invasivo, los QBPM pueden migrar fuera del polímero y hacia el paciente. Por lo tanto, los QBPM en polímeros deben ser evaluados por su riesgo genotóxico.</p>		
<p>La migración de QBPM desde el dispositivo polimérico al fluido corporal se considera un fenómeno similar a la migración de QBPM desde el recipiente de comida a la comida. En el recipiente de alimentos, la tasa de migración se expresa como</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<ul style="list-style-type: none"> ▪ una función del contenido total de QBPM en el polímero, 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ el coeficiente de difusión de QBPM en el polímero, y 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ la constante de equilibrio de partición de QBPM entre el polímero y la comida (véase la Referencia[82]). 		
<p>Por tanto, los supuestos y ecuaciones hechas para envases de alimentos se pueden utilizar en las evaluaciones de riesgo de QBPMs en dispositivos médicos.</p>		
<p>A.2.2.2 Oligómeros</p>		
<p>Un oligómero es una molécula de polímero que consiste en sólo unas pocas unidades de monómero (dímero, trímero, tetrámero). Los oligómeros pueden estar presentes en los polímeros y pueden migrar fuera del polímero. Oligómeros con grupos funcionales reactivos químicos en su estructura son un problema de salud debido a su potencial de genotoxicidad. En 1993, la 3ra reunión de la OCDE de Expertos en polímeros[78] llegó a la conclusión de que los siguientes parámetros deben ser considerados por sus efectos sobre la salud del paciente al tomar una decisión sobre polímeros,</p>		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ número promedio de MW, 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ bajo contenido de MW, 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ presencia de grupos funcionales reactivos, y 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ presencia de metales biodisponibles, que eran parte de la estructura del polímero. 		
<p>Los grupos reactivos funcionales se definen, por ejemplo, de la siguiente manera: haluros de</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>ácido, anhídridos de ácidos, aldehídos, semiacetales, metilolamidas, aminas o -ureas, alcoxisilanos (> C2), aliléteres, olefinas conjugadas, cianatos, epóxidos, iminas, posiciones orto o sin sustitución de hidroxilo fenólico, acrilatos y metacrilatos, aziridinas, carbodiimidas, halosilanos, hidrosilanos, hidrazinas, isocianatos, isotiocianatos, alfa o beta lactonas, metoxi o etoxi silanos, vinilsulfonas o compuestos análogos (véase la Referencia[79]).</p>		
<p>A.2.2.3 Polímeros biodegradables</p>		
<p>Un polímero biodegradable es un polímero diseñado para degradarse sustancialmente, se descomponen, o despolimerizan, incluyendo aquellos polímeros que podrían descomponerse sustancialmente después de la fabricación y uso, a pesar de que en realidad no sean destinados a hacerlo. La mayoría de los polímeros biodegradables son similares al poliéster, y por lo general no tienen grupos funcionales reactivos como se define en el informe de la OCDE. Los QBPM contenidos en o añadidos al polímero biodegradable deben ser evaluados por su riesgo genotóxico.</p>		
<p>A.2.3 Materiales inorgánicos: desechos de desgaste de metales, aleaciones y cerámicas</p>		
<p>La cantidad y genotoxicidad de los iones metálicos liberados de materiales inorgánicos (por ejemplo, acero inoxidable, aleación de titanio, hidroxiapatita, fosfato tricálcico, óxido de aluminio y óxido de circonio) son un problema de salud. Por ejemplo, se han visto efectos</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>genotóxicos <i>in vivo</i> en los linfocitos periprotésicos de pacientes con implantes de cadera de metal. Muchos iones metálicos desempeñan un importante papel regulador en el cuerpo y este papel depende de sus características químicas y estado de valencia. Los iones metálicos se unen a las proteínas en los fluidos fisiológicos (como sangre, linfa y en la orina) y pueden biodistribuirse de maneras diversas. Los iones metálicos se internalizan en la célula en la que pueden unirse a los materiales nucleares y alterar la señalización celular a nivel local, sistémica o ambos. Por lo tanto, el perfil de genotoxicidad de los iones metálicos debe ser analizado y evaluado en lo posible sobre la base de datos de la literatura.</p>		
<p>A.3 Métodos de preparación de muestras</p>		
<p>A.3.1 General</p>		
<p>El diseño ideal de como realizar la preparación de las muestras para estimar el riesgo de genotoxicidad de un dispositivo se aplica a la cantidad total de las sustancias extraíbles del dispositivo entero. Sin embargo, este enfoque no es práctico para dispositivos de gran tamaño. Para dispositivos de gran tamaño, una porción de la muestra de ensayo se extrae con un procedimiento adecuado y se aplica al sistema de prueba.</p>		
<p>La selección de un procedimiento de preparación de muestras para cualquier material o dispositivo destinado para su uso en seres humanos, requiere un enfoque estructurado que lleve en</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>consideración la composición química y las propiedades físico-químicas del material o dispositivo. La preparación de las muestras debe seguir el árbol de decisiones en la <i>Figura A.1</i>. Este diagrama muestra el proceso de toma de decisiones que se utiliza para seleccionar el método de extracción (Método A, B, o C) para un material del dispositivo a menos que el dispositivo médico tenga que ser evaluado de acuerdo con un procedimiento especial de preparación de muestras como se describe en <i>A.4</i>.</p>		
<p>Los disolventes o disolventes de extracción utilizados no deben ser sospechosos de causar una reacción química con la muestra de ensayo.</p>		
<p>El método A requiere la aplicación directa de la muestra de ensayo al sistema de ensayo y se usa cuando la muestra de ensayo puede disolverse o suspenderse en un disolvente apropiado compatible con el sistema de prueba.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

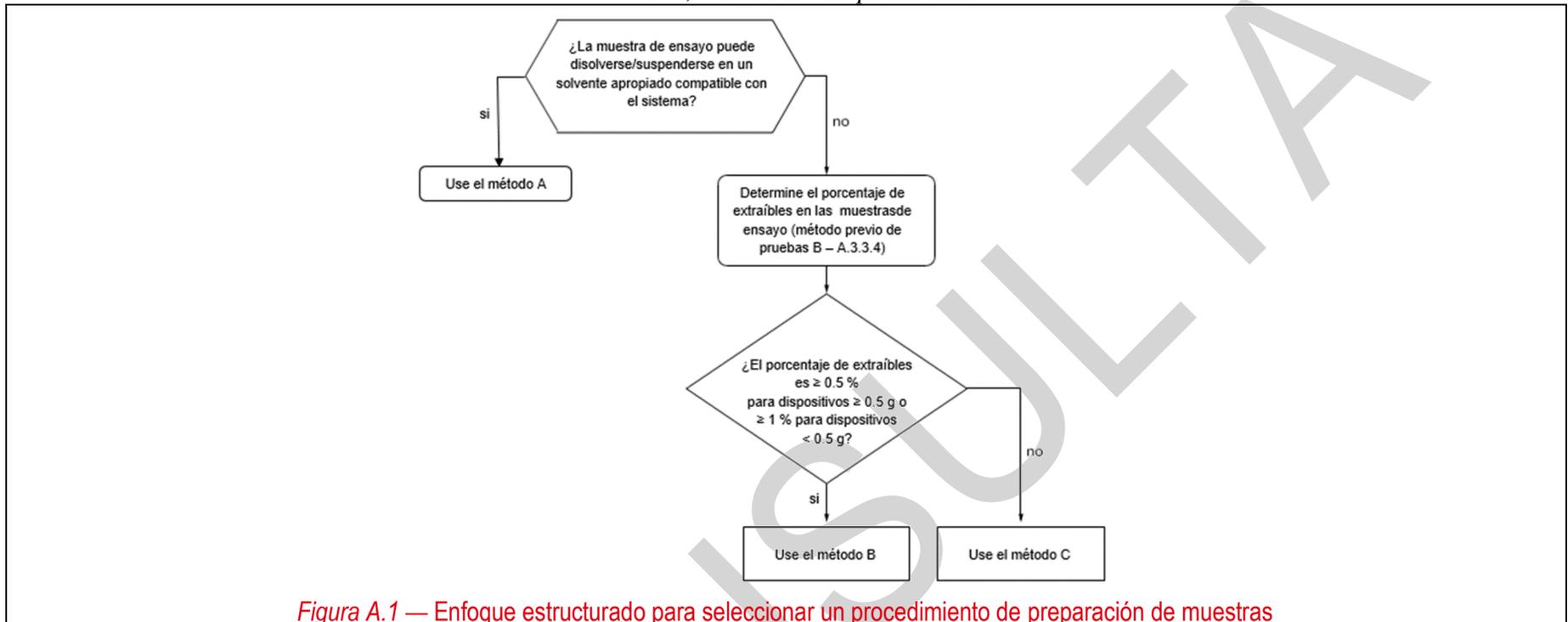


Figura A.1 — Enfoque estructurado para seleccionar un procedimiento de preparación de muestras

<p>Cuando la muestra de ensayo no es ni soluble ni suspendible en el disolvente, ya sea polar o no polar, los Métodos B y C, métodos de extracción, se eligen en función de las características físicas de los materiales que comprenden el dispositivo. La selección del Método B o C depende del porcentaje de extraíbles retirados de la muestra de ensayo.</p>		
<p>El porcentaje de extraíbles se debe reportar como porcentaje de la cantidad de residuos frente al peso total del dispositivo, (véase también</p>		

"2021, Año de la Independencia"

A.3.3.4). Disolventes de extracción comunes: metanol y acetona.		
El metanol es mejor en la extracción de sustancias solubles en agua mientras que la acetona es mejor en la extracción de sustancias solubles en grasa. Los extractos de metanol y acetona se evaporan a sequedad por separado para determinar el porcentaje de extraíbles dibujados fuera del sistema de prueba por cada disolvente. El porcentaje de extraíbles con cada disolvente debe ser informado.		
Disolventes adicionales se pueden utilizar en las pruebas preliminares de los materiales si se presenta una razón apropiada. Si se emplean disolventes volátiles, éstos pueden degradar el material de prueba o pueden no extraer el material residual eficazmente del material de prueba.		
La Tabla A.1 puede ser útil en la elección de un disolvente apropiado para la extracción de los dispositivos médicos. Esta tabla muestra los disolventes de extracción comunes y su coeficiente de reparto octanol-agua, log K_{ow} . Un solvente con más particiones en agua log K_{ow} más negativo es más eficientemente que el octanol. Un solvente con log K_{ow} más positivo disuelve en octanol más fácilmente que en agua. La selección del disolvente debe estar justificada.		
Tabla A.1 — Disolventes de extracción comunes		
Solvente	log K_{ow}	
Dimetilformamida	-1,01	

"2021, Año de la Independencia"

Metanol	-0.74		
Etanol	-0.30		
Acetona/2-propanona	-0.24		
Diclorometano ^a	+1,25		
Cloroformo ^a	+1,97		
Hexano ^a	+3,90		
^a Estas sustancias químicas pueden ser sujetas a controles para hacer frente a problemas de seguridad			
A.3.2 Método A			
<p>La muestra de ensayo o bien se disuelve o se suspende (o es parcialmente disuelta) en el solvente. El volumen final de preparación de la muestra de prueba en el sistema de ensayo <i>in vitro</i> de mamífero no debe exceder de 10 %, si el artículo de prueba se disuelve en un solvente acuoso tal como agua o solución salina. La concentración máxima probada en un sistema de prueba de mamífero <i>in vitro</i> es 5 mg/mL. En el ensayo de mutación inversa en bacterias, 100 µL de la preparación de la muestra de ensayo deben ser aplicados a una placa de agar. La concentración máxima para el ensayo de mutación inversa bacteriana es de 5 mg/placa.</p>			
<p>La selección de dosis debe basarse en el perfil de toxicidad en el contexto del ensayo genotoxicológico. En algunos casos los ensayos de rango de dosis preliminares pueden ser útiles para lograr la selección de la dosis apropiada. También puede ser apropiado dosificar en un solo nivel, el máximo si no se espera toxicidad.</p>			

"2021, Año de la Independencia"

<p>Véase las instrucciones para la evaluación de dosis dentro de cada ensayo en la norma ISO/TR 10993-33.</p>		
<p>Para la prueba <i>in vivo</i>, el volumen máximo de preparación de muestras de ensayo que se puede administrar mediante inyección a la vez, por lo general es de 20 mL/kg de peso corporal para ratones y 10 mL/kg para ratas. Para las preparaciones de muestras de ensayo no tóxicas, el nivel de dosis máxima es de</p>		
<p>2 000 mg/kg peso corporal. Para preparaciones de muestras de ensayo tóxicas, un estudio de determinación del rango de dosis debe llevarse a cabo antes del estudio <i>in vivo</i> principal con el fin de determinar la toxicidad de la preparación de la muestra de prueba y establecer las dosis utilizadas en el estudio principal.</p>		
<p>Si procede, los datos de estudios de toxicidad aguda pueden utilizarse debido a razones de bienestar animal. Los usuarios deben remitirse a la norma ISO/TR 10993-33 para más detalles.</p>		
<p>Los principios enunciados en la Referencia^[107] se pueden utilizar para soluciones de dosis más altas.</p>		
<p>A.3.3 Método B</p>		
<p>A.3.3.1 General</p>		
<p>Una prueba previa, de acuerdo con la preparación de muestras de ensayo (véase A.3.3.2) y el procedimiento de extracción (véase A.3.3.3) debe llevarse a cabo con el fin de seleccionar ya sea el método B o el método C.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>Se selecciona el método B si el porcentaje de extraíbles obtenido en una prueba previa cumple con los siguientes criterios:</p>		
<p>a) Para dispositivos con una masa < 0.5 g, tales como lentes de contacto o intraoculares, el método B se debe utilizar si el porcentaje de extraíbles en la muestra de ensayo es $\geq 1\%$.</p>		
<p>b) Para aparatos con una masa ≥ 0.5 g, el método B debe utilizarse si el porcentaje de extraíbles en la muestra de ensayo es $\geq 0.5\%$.</p>		
<p>Si el porcentaje de extraíbles no cumple con los criterios anteriores, el extracto debe ser preparado usando el método C.</p>		
<p>A.3.2 Preparación de muestras de ensayo</p>		
<p>La muestra de ensayo se sumerge en un vehículo de extracción orgánico volátil que extraiga los residuos de la muestra de prueba, pero no disuelva la muestra de ensayo. Si la apariencia de la muestra de ensayo o el peso confirma degradación parcial, utilice el Método C. Dos o más solventes se prueban para determinar qué disolvente extrae el mayor porcentaje de extraíbles de la muestra de ensayo (véase A.3.3.3 y A.3.3.4). Los disolventes de extracción mas comunes son metanol y acetona. El residuo evaporado extraído de la muestra de ensayo, se disuelve o suspende en un solvente compatible con el sistema de la prueba de genotoxicidad. El volumen final del solvente orgánico o acuoso en el cultivo no debe exceder de 1% (orgánico) y 10% (acuoso), en el ensayo de aberraciones cromosómicas o la prueba de linfoma de ratón.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>En el ensayo de mutación bacteriana, 100 µL de la solución/suspensión residual deben ser aplicados a una placa de agar. La concentración máxima evaluada en el ensayo de aberraciones cromosómicas <i>in vitro</i> o del ensayo de linfoma de ratón <i>in vitro</i> es de 5 mg/mL. La concentración máxima para el ensayo de mutación inversa de bacterias es de 5 mg/placa.</p>		
<p>El procedimiento de extracción de muestras es dado en A.3.3.3. Véase la Referencia.[86]</p>		
<p>Para las pruebas <i>in vivo</i>, el residuo extraído y evaporado de la muestra de ensayo se disuelve o suspende en vehículos compatibles con el sistema de prueba. La selección de la dosis más alta y vía de administración son iguales a los que están en el Método A.</p>		
<p>Los principios enunciados en la Referencia[107] se puede utilizar para guiar las soluciones de dosis superiores.</p>		
<p>A.3.3.3 Procedimiento</p>		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Picar una cantidad apropiada de muestra de análisis en trozos pequeños y colocarlos en un recipiente de vidrio junto con el vehículo de extracción. Se debe utilizar una relación de 1 g a 10 mL o un volumen suficiente para sumergir la muestra de ensayo. Si la muestra de ensayo no se puede cortar, utilizar un volumen suficiente para cubrir la muestra de ensayo, preferiblemente utilizando una relación de 1 g a 10 mL. 		
<p>Nota: detalles sobre la extracción de materiales absorbentes se incluyen en la ISO 10993-12.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<ul style="list-style-type: none"> Extraer la muestra de análisis durante (24 ± 2) h a temperatura ambiente con agitación constante. 		
<ul style="list-style-type: none"> Después de la extracción, filtrar los extractos a través de un filtro de unión bajo, químicamente resistente para eliminar la muestra de ensayo. 		
<ul style="list-style-type: none"> Verter el extracto en un matraz en forma de pera de masa constante conocida m_1 y evaporar el solvente de extracción en el extracto hasta la sequedad o hasta un peso constante con un aparato concentrador de presión reducida a ≤ 30 °C. Determinar la masa del matraz después de la evaporación m_2. 		
<ul style="list-style-type: none"> Calcular el porcentaje de extraíbles. 		
<ul style="list-style-type: none"> Una porción del residuo se puede utilizar para comprobar la solubilidad/uniformidad en solventes compatibles con el sistema de prueba. 		
<ul style="list-style-type: none"> Ni el extracto ni las soluciones de dosificación pueden ser calentados, para evitar cambios químicos de residuos o pérdida de compuestos volátiles. 		
<p>Nota: el método de extracción Soxhlet exhaustivo puede ser considerado como un método alternativo.</p>		
<ul style="list-style-type: none"> La evaporación del extracto después de la extracción no es aplicable para los casos en que se sospecha que el residuo en el dispositivo es altamente volátil (por ejemplo, óxido de etileno, monómeros de acrilato de bajo peso molecular). 		

"2021, Año de la Independencia"

<ul style="list-style-type: none"> Para la preparación de muestras de acuerdo con el método B, ambos extractos de la muestra de ensayo deben utilizarse de forma individual si se cumplen los criterios para el método B. Si sólo un extracto de la muestra de ensayo cumple con los criterios sólo este extracto se utiliza para las pruebas de genotoxicidad. El otro extracto no se utiliza. 		
<ul style="list-style-type: none"> Disolver o suspender el residuo de extraíbles en un solvente sobre la base de la maximización de la concentración de ensayo para el sistema de ensayo apropiado. Este disolvente se puede identificar, por ejemplo, utilizando el residuo obtenido en la prueba previa del método B. Utilizar esta solución dentro de las 24 h. 		
<p>A.3.3.4 Expresión de resultados</p>		
<p>Calcular la masa de los residuos extraídos, W_R, en el matraz en forma de pera mediante la determinación del cambio en la masa del matraz utilizando la Fórmula (A.1).</p>		
<p>$W_R = m_2 - m_1$ (A.1) donde m_1 es la masa del matraz vacío; m_2 es la masa del matraz después de la evaporación del extracto.</p>		
<p>Calcular el porcentaje de extraíbles mediante la determinación de la relación de la masa de los materiales extraíbles con la masa de la muestra de ensayo y multiplicando por 100 mediante el uso de Fórmula (A.2).</p>		

"2021, Año de la Independencia"

$\%e = \frac{W_R}{m_3} \times 100$	(A.2)	
<p>donde %e es el porcentaje de extraíbles; m_3 es la masa de la muestra de ensayo antes de la extracción.</p>		
<p>Registrar e informar el porcentaje de extraíbles para cada solvente.</p>		
<p>El informe del estudio debe incluir la justificación de la elección del solvente de extracción y el porcentaje de residuos para cada solvente probado.</p>		
<p>A.3.4 Método C</p>		
<p>A.3.4.1 General</p>		
<p>El método C es un método de extracción de uso simulado análogo al descrito en el MGA-DM 10993-12.</p>		
<p>La muestra de ensayo se extrae en un solvente / vehículo compatible con el sistema de prueba. La preparación de la muestra de ensayo se aplica al sistema de ensayo. Utilice este extracto dentro de las 24 h.</p>		
<p>A.3.4.2 Procedimiento</p>		
<p>A.3.4.2.1 Para el ensayo de mutación inversa en bacterias, la muestra de ensayo se corta en trozos pequeños, de ser posible, y se extrae tal como se especifica en el MGA-DM 10993-12.</p>		
<p>A.3.4.2.2 Para los ensayos <i>in vitro</i> de células de mamíferos, la muestra de ensayo se corta en trozos pequeños, si es posible, y se extrae tal como se especifica en el MGA-DM ISO 10993-12.</p>		
<p>A.3.4.2.3 Si se utiliza el medio de cultivo sin</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>suero como un solvente polar para la extracción, se analiza el extracto del ensayo después de la suplementación ordenada con suero antes de la dosificación de las células. El extracto de ensayo en el medio de cultivo celular con suero (como un solvente no polar) se prueba como extracto. Si la solución salina se usa como solvente polar para la extracción, el extracto del ensayo debe ser diluido a 10% con un medio de cultivo celular suplementado con suero antes de la dosificación de las células. El extracto del ensayo de DMSO o Etanol deberá ser probado al 1 % después de la dilución con un medio de cultivo celular suplementado con suero. Para los extractos de prueba citotóxicos, la citotoxicidad límite aceptable para los ensayos debe considerarse para la selección de la dosis de extracto de ensayo adecuada.</p>		
<p>Nota 1: (37 ± 1) °C durante (48 ± 2) h también puede aceptarse si se utiliza un medio de cultivo celular con o sin suero para la extracción.</p>		
<p>A.3.4.2.5 Para el ensayo <i>in vivo</i>, la muestra de ensayo se corta en trozos pequeños, si es posible, y se extrae como se especifica en esta parte de la norma ISO 10993.</p>		
<p>A.3.4.2.5 El extracto de ensayo se administra por vía intravenosa (solución salina) o por vía intraperitoneal (hidrofóbica) a los animales en función del solvente utilizado. El volumen no debe exceder de 20 mL / kg de peso corporal para ratones y 10 mL / kg para las ratas.</p>		
<p>A.4 Orientación adicional sobre</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>procedimientos de preparación de muestras especiales</p>		
<p>A.4.1 Polímeros biodegradables</p>		
<p>Para dispositivos hechos con polímeros biodegradables, un Método B modificado se puede utilizar para preparar el material de ensayo debido a la inquietud de que el QBPM total se libera en el paciente. Usando solventes que son adecuados para la disolución y re-precipitación se filtra la solución resultante para eliminar precipitados. Informe de cualquier precipitado en el filtro de papel después de la filtración. Evapore los solventes del filtrado (por ejemplo, podría usar el evaporador rotativo). Registre la cantidad de residuos generados.</p>		
<p>Disuelva o suspenda el residuo en un solvente/vehículo compatible con el sistema de prueba y aplíquelo al sistema de ensayo.</p>		
<p>A.4.2 Materiales inorgánicos: desechos de desgaste de metales, aleaciones y cerámicas</p>		
<p>Al evaluar la genotoxicidad de los dispositivos hechos de materiales inorgánicos, tales como prótesis de articulación de cadera, la mayor preocupación es el potencial genotóxico de los iones metálicos liberados de las partículas de desgaste o corrosión durante la exposición clínica y sus cantidades. Como los ensayos descritos en este documento están diseñados para medir el potencial genotóxico de los extractos finales de dispositivos (en solución) y no de las partículas, serán necesarios los enfoques alternativos para evaluar el potencial genotóxico de los residuos de</p>		

"2021, Año de la Independencia"

desgaste o partículas.		
A.4.3 QBPM		
<p>Cuando la muestra de ensayo se compone de un único o múltiples QBPM, su riesgo genotóxico se puede evaluar mediante la aplicación de su solución/suspensión en un vehículo compatible con el sistema de prueba. El Método A es aplicable.</p>		
<p>ANEXO B. DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA EVALUACIÓN DE SEGUIMIENTO(INFORMATIVO)</p>		

"2021, Año de la Independencia"

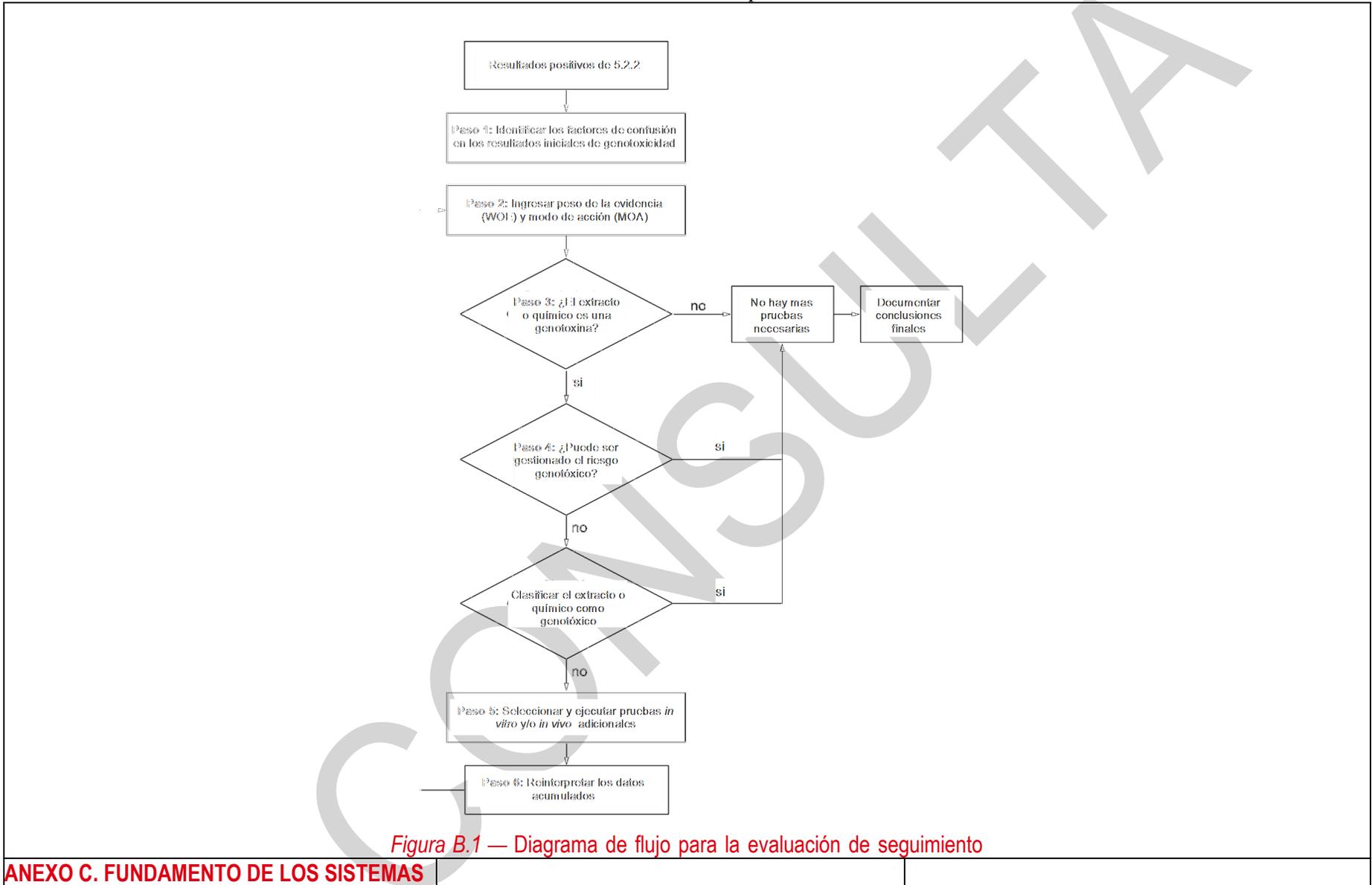


Figura B.1 — Diagrama de flujo para la evaluación de seguimiento

"2021, Año de la Independencia"

DE PRUEBA (INFORMATIVO)		
C. 1 Pruebas de genotoxicidad		
<p>La función principal de las pruebas de genotoxicidad es investigar, usando células u organismos de prueba, los riesgos de células germinales y cambios genéticos de células somáticas. Los datos científicos generalmente apoyan la hipótesis de que el daño al ADN en las células somáticas es un evento crítico en la iniciación del cáncer. Por lo tanto, algunas pruebas de daño al ADN son útiles para la investigación de la supuesta actividad cancerígena.</p>		
<p>Mientras que en las pruebas de toxicología clásica, varios parámetros pertinentes o puntos finales pueden ser observados dentro de un diseño experimental, ello mismo no es cierto en toxicología genética. La diversidad de los puntos finales genéticos normalmente se opone a la detección de más de uno de ellos en un sistema de una sola prueba.</p>		
<p>Aproximadamente 15 pruebas diferentes se citan en las directrices de ensayo. La selección de la más adecuada de estas para satisfacer un requisito particular se rige por una serie de factores. Estos incluyen, el tipo de cambio genético que necesita detectar la prueba o la capacidad metabólica del sistema de prueba.</p>		
<p>Debe hacerse hincapié en que no existe un acuerdo internacional sobre la mejor combinación de pruebas para un propósito particular, aunque ha habido intentos de armonizar la selección de</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>pruebas más adecuadas. También puede ser útil tener en cuenta que existen otras pruebas de mutagenicidad en uso o en desarrollo, las cuales, aunque sin una directriz de la OCDE, pueden ser también útiles. La existencia del acuerdo ICH/S2B para productos farmacéuticos debe tenerse en cuenta.</p>		
<p>Los productos químicos que interactúan con el ADN producen lesiones que, después de la influencia de varios procesos de reparación, pueden dar lugar a cambios genéticos a nivel del gen, por ejemplo, genes o mutaciones puntuales, deleciones pequeñas, recombinación mitótica, o diversos cambios en los cromosomas visibles al microscopio, y existen pruebas para investigar cada uno de estos eventos.</p>		
<p>Las pruebas actuales a corto plazo no pueden, desde luego, imitar todas las etapas en el proceso carcinogénico y se asumen con frecuencia para detectar sólo el evento que lleva a la fase de iniciación, es decir, la capacidad de inducir una lesión mutagénica o clastogénica. El valor principal de estos procedimientos, por lo tanto, reside en su capacidad para identificar sustancias que pueden, bajo ciertas condiciones de exposición, o bien causar cáncer por un mecanismo predominantemente genotóxico o inducir la fase inicial del proceso carcinogénico. Es evidente, a partir de la complejidad del proceso carcinogénico en comparación con la simplicidad relativa de las pruebas a corto plazo, que, a pesar de que proporcionan información</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>cuantitativa útil, se necesita mucha cautela en su interpretación en términos de actividad cancerígena.</p>		
<p>Dado que ninguna prueba ha demostrado ser capaz de detectar mutágenos y carcinógenos de mamífero con un nivel aceptable de precisión y reproducibilidad, es una práctica científica habitual aplicar estas pruebas en "series". La información inicial sobre la mutagenicidad de una sustancia puede ser obtenida mediante pruebas que miden las mutaciones genéticas y el daño cromosómico. Debido a que se requieren procedimientos separados para investigar estos efectos, se necesita una serie de pruebas.</p>		
<p>Si está disponible información adicional relevante, tal como la Absorción, la Distribución, el Metabolismo y Excreción (ADME), la cual podría indicar que hay lixiviables en sitios específicos de órganos, debe ser considerada para el diseño experimental de un ensayo <i>in vivo</i> de genotoxicidad. La elección de cuál prueba <i>in vivo</i> llevar a cabo estará influenciada por los sitios donde se acumulan las sustancias lixiviables. En muchos casos será apropiado un ensayo <i>in vivo</i> para daño cromosómico en las células hematopoyéticas de roedores. En algunos casos, pueden ser indicadas pruebas específicas del sitio específico o del punto final genético. En la mayoría de los casos, estas pruebas no tienen protocolos reconocidos internacionalmente. Para la mayoría de dispositivos o materiales médicos para los que se considere necesario pruebas de</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>genotoxicidad una serie de pruebas <i>in vitro</i> estándar es suficiente para proporcionar evidencia del potencial genotóxico de la muestra de ensayo.</p>		
<p>Pruebas de carcinogenicidad</p>		
<p>El objetivo de un estudio de carcinogenicidad a largo plazo es observar animales de prueba, durante una parte importante de su tiempo de vida, para conocer si hay desarrollo de lesiones neoplásicas, durante o después de la exposición a varias dosis de una muestra de ensayo. Esta prueba requiere una cuidadosa planificación y documentación del diseño experimental (véase el Anexo E), un estudio histopatológico de alta calidad y un análisis estadístico imparcial.</p>		
<p>Pruebas de toxicidad reproductiva/del desarrollo</p>		
<p>Las pruebas de toxicidad reproductiva cubren las áreas de reproducción, fertilidad y desarrollo del embrión-feto. La fertilidad puede ser afectada en machos y hembras y los efectos pueden variar desde leve disminución de la capacidad reproductiva a la esterilidad. Los efectos tóxicos en el embrión o feto en desarrollo pueden afectar la salud de la descendencia.</p>		
<p>La teratogenicidad trata de lo efectos adversos de una sustancia sobre el desarrollo del embrión y el feto. La toxicidad reproductiva es importante, ya que tiene una influencia importante en la salud de la humanidad. Se están desarrollando técnicas de ensayo y el concepto de pruebas combinadas, que cubran todos los aspectos de toxicología reproductiva, pareciendo prometedoras.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>ANEXO D SISTEMAS DE ENSAYO DE TRANSFORMACIÓN CELULAR (INFORMATIVO)</p>		
<p>Se utilizan modelos <i>in vivo</i> de roedores para la investigación experimental del riesgo carcinogénico de productos químicos para la salud humana. Sin embargo, el ensayo de carcinogenicidad en roedores es caro y consume mucho tiempo. Se han desarrollado varias alternativas <i>in vitro</i> a los métodos basados en animales. Entre estos métodos, los ensayos de transformación de células que imitan algunas etapas de la carcinogénesis de etapas múltiples <i>in vivo</i>, se han propuesto para predecir el potencial carcinogénico de los productos químicos.</p>		
<p>En comparación con ensayos basados <i>in vivo</i>, los ensayos <i>in vitro</i> de transformación celular son rápidos, rentables y proporcionan un medio para la selección inicial de potencial carcinogénico. La transformación de la célula se ha definido como la inducción de ciertas alteraciones fenotípicas en células cultivadas que son características de las células cancerígenas. Estas alteraciones fenotípicas pueden ser inducidas mediante la exposición de células de mamífero a carcinógenos. Las células transformadas que han adquirido las características de las células malignas tienen la capacidad de inducir tumores en animales susceptibles. Las células <i>in vitro</i> transformadas muestran cambios morfológicos relacionados con la neoplasia. Este fenómeno de</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>la transformación celular implica cambios en el comportamiento y control del crecimiento de las células en cultivo, tal como la alteración de la morfología celular, el patrón desorganizado de crecimiento de la colonia, y la adquisición de crecimiento independiente del anclaje.</p>		
<p>El ensayo de transformación de célula de embrión de hámster sirio (SHE) se ha descrito como la prueba más predictiva a corto plazo para carcinógenos en roedores. Schectman^[34] describe cómo la metodología para las pruebas de transformación de células de roedores ha cambiado con el tiempo para dar lugar a un ensayo de células SHE que es más reproducible que los métodos anteriores. Los ensayos de transformación celular son capaces de detectar también algunos carcinógenos no genotóxicos, lo cual es una ventaja particular en comparación con los ensayos de genotoxicidad. Sin embargo, los ensayos de transformación celulares son técnicamente difíciles y no se entiende bien mecánicamente.</p>		
<p>También un ensayo de transformación celular de dos etapas en ratones Balb/c 3T3 o en células SHE parece ser potencialmente útil no sólo para la detección de compuestos que inducen la transformación celular, sino también para promotores tumorales. La transformación celular morfológica ha demostrado que surge de una mutación puntual, lesiones cromosómicas, aneuploidía y otros efectos asociados con la proliferación celular. Sin embargo, debido a la amplia gama de mecanismos por los que los</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>carcinógenos no genotóxicos puede actuar, y especialmente como algunos efectos son específicos de tejidos, es poco probable que una combinación de este ensayo y uno para agentes aneugénicos sea suficiente para detectar todos los tipos de carcinógenos no genotóxicos. Por lo tanto, para aumentar el espectro de agentes carcinógenos no genotóxicos que se pueden detectar <i>in vitro</i>, será necesario desarrollar una serie de ensayos que impliquen la detección de los puntos finales principales por los cuales actúan estos agentes.</p>		
<p>La orientación y revisión de la prueba de la transformación celular <i>in vitro</i> se dan en las Referencias 13] y [14].</p>		
<p>ANEXO E CONSIDERACIONES PARA ESTUDIOS DE CARCINOGENICIDAD REALIZADOS COMO ESTUDIOS DE IMPLANTACIÓN (INFORMATIVO)</p>		
<p>Carcinogénesis de cuerpo extraño</p>		
<p>Los tumores inducidos por implantes son bien conocidos en experimentos con ratas y este fenómeno se llama "carcinogénesis de cuerpo extraño" o "carcinogénesis de estado sólido". El fenómeno se resume como sigue.</p>		
<p>Los tumores generalmente se desarrollan alrededor o cerca de un implante con una frecuencia que depende de varios factores.</p>		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ El tamaño del implante (grandes implantes generalmente producen más sarcoma que los pequeños). 		

"2021, Año de la Independencia"

<ul style="list-style-type: none"> ▪ Su forma. 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Su suavidad (aquellos con superficies rugosas son menos cancerígenos que aquellos con superficies lisas). 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ La continuidad de la superficie (cuanto más grande los orificios o poros en el implante, menor es la incidencia de tumores). 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Para ciertos materiales, sus espesores (implantes más gruesos producen más sarcomas). 		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ La duración de tiempo que el implante permanece en el tejido. 		
<p>El mismo material que produce tumores como película o lámina producirá, en mayor parte, menores o ningún tumor cuando se implante en forma de polvo, hilo o material poroso. Véase Referencias[37] y [38].</p>		
<p>Debido a este fenómeno los tumores empiezan a ser detectados de 8 a 9 meses después de la implantación. La incidencia continúa en aumento después de este período de latencia.</p>		
<p>Por otra parte, muchos informes indican una diferencia en la incidencia de la formación de tumores entre los diferentes materiales de forma y dimensiones similares, utilizando el mismo protocolo experimental animal.</p>		
<p>La comprensión mecanicista fue resumida en una Monografía IARC. Véase Referencias[36][37] y[38].</p>		
<p>Consideraciones de bienestar animal</p>		
<p>La realización de estudios de carcinogenicidad por implantación requiere procedimientos invasivos</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>de tipo quirúrgico en un gran número de ambos animales, de ensayo y control (operación simulada).</p>		
<p>ANEXO F. PRUEBAS DE TOXICIDAD EMBRIONARIA <i>IN VITRO</i> (INFORMATIVO)</p>		
<p>En el campo de la toxicidad del desarrollo, están disponibles una variedad de alternativas a la experimentación animal total. En los últimos 30 años, se han desarrollado un amplio espectro de pruebas <i>in vitro</i>, van desde cultivos de células, tejidos y órganos a cultivos de todo el embrión. En consonancia con las recomendaciones de un taller CEVMA sobre toxicidad reproductiva, véase la Referencia [87], el CEVMA inició y financió un estudio de validación de tres ensayos de toxicidad <i>in vitro</i> de embriones. En dos de estos ensayos, se usaron animales de laboratorio gestantes para obtener tejido embrionario – ya sea células embrionarias primarias en la prueba de micro masas de ratón (MM), véase la Referencia [88] o embriones en la prueba de cultivo embrionario entero de rata (WEC), véase la Referencia [89] [90] y [91] [92]. Por el contrario, en el ensayo con células madre embrionarias, véase las Referencias [92] [93] [94] y [95] se usa una línea de célula madre permanente embrionaria de ratón (EST). Los principales objetivos del estudio de validación fueron evaluar el desempeño de las tres pruebas <i>in vitro</i> para discriminar entre los compuestos no tóxicos embrionarios, tóxico embrionario débil y tóxico embrionario fuerte. Los tres ensayos <i>in vitro</i> de toxicidad embrionaria demostraron ser aplicables</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>a la prueba de un grupo diverso de productos químicos con diferentes potenciales tóxicos embrionarios, véase la Referencia[96]. Los resultados obtenidos en el ensayo ciego de la fase definitiva del estudio de validación CEVMA fueron reproducibles, tanto dentro y entre laboratorios, y las concordancias entre los potenciales tóxicos embrionarios derivados de los datos <i>in vitro</i> y de los datos <i>in vivo</i> fueron buenos para las pruebas EST y WEC (con un modelo de predicción [PM]), y suficientes para la prueba MM y la prueba WEC (con otro PM), de acuerdo con los criterios de rendimiento (<i>Tabla F.1</i>) definidos por el equipo de gestión antes del estudio de validación formal, véase la Referencia[96]. Un resumen de la comparación de las clasificaciones <i>in vitro</i> para las clasificaciones basadas <i>in vivo</i> en 14 productos químicos utilizados en el estudio de validación se da en la <i>Tabla F.2</i>. Se ha publicado un informe que resume los resultados del estudio de validación CEVMA y, además, un informe sobre la selección de las sustancias químicas de prueba y tres estudios detallados sobre el comportamiento bio estadístico de cada ensayo de toxicidad <i>in vitro</i> de embriones en el estudio de validación, véase las Referencias [96][97][98][99] y [100].</p>		
<p>El Comité Científico Asesor CEVMA (ESAC) concluyó de los resultados que los tres ensayos <i>in vitro</i> de toxicidad embrionaria habían sido suficientemente validados y podían aplicarse para la evaluación de la toxicidad potencial</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>embrionaria de fármacos y otras sustancias químicas, véase la Referencia [101]. Por otra parte, el ESAC recomendó la creación de un taller con el objetivo de producir un documento de orientación sobre la aplicabilidad de los tres métodos de ensayo científicamente válidos en el contexto de las pruebas de toxicidad reproductiva. El CEVMA y el ZEBET (Centro de Documentación y Evaluación de Alternativas a la Experimentación Animal), por lo tanto, llevan a cabo un segundo taller de toxicidad embrionaria para evaluar aún más las aplicaciones prácticas de las tres pruebas de toxicidad <i>in vitro</i> embrionarias. Los resultados de este taller han sido publicados, véase la Referencia [102].</p>												
<p><i>Tabla F.1. Criterios definidos por el equipo de gestión del estudio para evaluar la eficacia de las pruebas.</i></p>												
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Criterio</th> <th>Desempeño</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Por casualidad</td> <td>33 %</td> </tr> <tr> <td>Suficiente</td> <td>≥ 65 %</td> </tr> <tr> <td>Bueno</td> <td>≥ 75 %</td> </tr> <tr> <td>Excelente</td> <td>≥ 85 %</td> </tr> </tbody> </table>	Criterio	Desempeño	Por casualidad	33 %	Suficiente	≥ 65 %	Bueno	≥ 75 %	Excelente	≥ 85 %		
Criterio	Desempeño											
Por casualidad	33 %											
Suficiente	≥ 65 %											
Bueno	≥ 75 %											
Excelente	≥ 85 %											
<table border="1"> <tbody> <tr> <td>Por casualidad</td> <td>33 %</td> </tr> </tbody> </table>	Por casualidad	33 %										
Por casualidad	33 %											
<table border="1"> <tbody> <tr> <td>Suficiente</td> <td>≥ 65 %</td> </tr> </tbody> </table>	Suficiente	≥ 65 %										
Suficiente	≥ 65 %											
<table border="1"> <tbody> <tr> <td>Bueno</td> <td>≥ 75 %</td> </tr> </tbody> </table>	Bueno	≥ 75 %										
Bueno	≥ 75 %											
<table border="1"> <tbody> <tr> <td>Excelente</td> <td>≥ 85 %</td> </tr> </tbody> </table>	Excelente	≥ 85 %										
Excelente	≥ 85 %											

"2021, Año de la Independencia"

Tabla F.2. Resumen de los resultados de la clasificación (todos los datos [88]).

Clasificación	EST (%)	MM (%)	WEC	
			PM1 (%)	PM2 (%)
Predictibilidad (no tóxico embrionario)	72	57	56	70
Predictibilidad (tóxico embrionario débil)	70	71	75	76
Predictibilidad (tóxico embrionario fuerte)	100	100	79	100
Precisión (no tóxico embrionario)	70	80	70	80
Precisión (tóxico embrionario débil)	83	60	45	65
Precisión (tóxico embrionario fuerte)	81	69	94	100
Exactitud	78	70	68	80

BIBLIOGRAFÍA

[1] OECD 474, *Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test*

[2] OECD 475, *Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test*

[3] OECD 478, *Genetic Toxicology — Rodent Dominant Lethal Test*

[4] OECD 479, *Genetic Toxicology — In vitro Sister Chromatid Exchange Assay in Mammalian Cells*

[5] OECD 480, *Genetic Toxicology — Saccharomyces cerevisiae — Gene Mutation Assay*

[6] OECD 481, *Genetic Toxicology — Saccharomyces cerevisiae — Miotic Recombination Assay*

[7] OECD 482, *Genetic Toxicology — DNA Damage and Repair, Unscheduled DNA Synthesis in Mammalian Cells In vitro*

"2021, Año de la Independencia"

[8] OECD 483, <i>Mammalian Spermatogonial Chromosome Aberration Test</i>		
[9] OECD 484, <i>Genetic Toxicology — Mouse Spot Test</i>		
[10] OECD 485, <i>Genetic Toxicology — Mouse Heritable Translocation Assay</i>		
[11] OECD 486, <i>Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells In vivo</i>		
[12] OECD 488, <i>Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays</i>		
[13] Official Journal of the European Communities, L 133/73, Mayo 1988, referente a las pruebas de transformación celular <i>in vitro</i>		
Bibliografía para animales transgénicos		
[14] Gorelick N.J. Overview of mutation assays in transgenic mice for routine testing. <i>Environ. Mol. Mutagen.</i> 1995, 25 pp. 218–230		
[15] Provost G.S., Rogers B.J., Dyaico M.J., Carr G. Evaluation of the transgenic Lambda/Lacl mouse model as a short-term predictor of heritable risk. <i>Mutat. Res.</i> 1997, 388 pp. 129–136		
[16] Krishna G., Urda G., Theiss J. Principles and practice of integrating genotoxicity evaluation into routine toxicology studies: a pharmaceutical industry perspective. <i>Environ. Mol. Mutagen.</i> 1998, 32 pp. 115–120		
[17] Macgregor J.T. Transgenic animal models for mutagenesis studies: role in mutagenesis research and regulatory testing. <i>Environ. Mol. Mutagen.</i> 1998, 32 pp. 106–109		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[18] Kohler S.W., Provost G.S., Kretz P.L., Dyaico M.I., Sorge J.A., Short J.M. Development of a short- term <i>in vitro</i> mutagenesis assay: The effect of methylation on the recovery of a lambda phage shuttle vector from transgenic mice. <i>Nucleic Acids Res.</i> 1990, 18 pp. 3007–3013</p>		
<p>[19] Short, JM., Kohler, SW. y Provost, GS. The use of lambda phage shuttle vectors in transgenic mice for development of a short term mutagenicity assay. En: <i>Mutation and the environment.</i> Wiley-Liss, Nueva York, 1990, pp. 355–67.</p>		
<p>Bibliografía para ensayos de transformación celular</p>		
<p>[20] Leboeuf R.A., Kerckaert K.A., Aadema M.J., Isfort R.J. Use of the Syrian hamster embryo and BALB/c 3T3 cell transformation for assessing the carcinogenic potential of chemicals. <i>IARC Sci. Publ.</i> 1999, 146 pp. 409–425. Disponible en http://apps.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?sesslan=1&codlan=1&codcol=73&codcch=146</p>		
<p>[21] Leboeuf R.A., Kerckaert K.A., Aadema M.J., Gibson D.P., Brauning R., Isfort R.J. The pH 6.7 hamster embryo cell transformation assay for assessing the carcinogenic potential of chemicals. <i>Mutat. Res.</i> 1996, 356 pp. 65–84</p>		
<p>[22] Aadema M.J., Isfort R.J., Thompson E.D., Leboeuf R.A. The low pH Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation assay: a revitalized role in carcinogenic prediction. <i>Mutat. Res.</i> 1996, 356 pp. 5–9</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[23] Isfort R.J., & Leboeuf R.A. The Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation system: a biologically relevant <i>in vitro</i> model – with carcinogen predicting capabilities – of <i>in vivo</i> multistage neoplastic transformation. <i>Crit. Rev. Oncog.</i> 1995, 6 pp. 251–260</p>		
<p>[24] Advances in Modern Environment Toxicology, Vol.1. Mammalian Cell Transformation by Chemical Carcinogens. N. Mishra, V. Dunkel, y M. Mehlman (eds). Senate Press: Princeton Junction (Nueva Jersey, 08550), 1981</p>		
<p>[25] Transformation Assays of Established Cell Lines. Mechanisms and Application. T. Kakunaga and H. Yamasaki (eds). Proceedings of a Workshop Organized by IARC in Collaboration with the US National Cancer Institute and the US Environmental Protection Agency, Lyon 15-17 Feb. 1984. Publicación Científica IARC No. 67</p>		
<p>[26] Barrett J.C., Ohshimura M., Tanaka N., Tsutsui T. Genetic and Epigenetic Mechanisms of Presumed Nongenotoxic Carcinogens. En: Banbury Report 25. Nongenotoxic Mechanisms in Carcinogenesis, 1987, pp. 311–24.</p>		
<p>[27] Oshimura M., Hesterberg T.W., Tsutsui T., Barrett J.C. Correlation of Asbestos-induced Cytogenetic Effects with Cell Transformation of Syrian Hamster Embryo Cells in Culture. <i>Cancer Res.</i> 1984 Nov., 44 pp. 5017–5022</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[28] Barrett J.C., Oshimura M., Tanaka N., Tsutsui T. Role of Aneuploidy in Early and Late Stages of Neoplastic Progression of Syrian Hamster Embryo Cells in Culture. En: Aneuploidy, (Dellargo W.L., Voytek P.E., Hollaender A. eds.). Plenum Publishing, 1985</p>		
<p>[29] Fitzgerald D.J., & Yamasaki H. Tumor promotion: Models and assay systems. Teratogenesis Carcinog. Mutage. 1990, 10 (2) pp. 89-102</p>		
<p>[30] Kuroki T., & Matsushima T. Performance of short-term tests for detection of human carcinogens. Mutagenesis. 1987, 2 (1) pp. 333-337</p>		
<p>[31] Ray V.A. <i>et al.</i> An approach to identifying specialized batteries of bioassays for specific classes of chemicals: Class analysis using mutagenicity and carcinogenicity relationships and phylogenetic concordance and discordance patterns. 1. Composition and analysis of the overall data base. A report of phase II of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat. Res. 1987, 3 pp. 197-241</p>		
<p>[32] Dunkel VD., Schechtman LM., Tu AS., Sivak A., Lubet RA., Cameron TP. Interlaboratory evaluation of the C3H/10T1/2 cell transformation assay. Environ. Mol. Mutagen, 1988, 12 (1), No. 1, pp. 12-31</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[33] Jones C.A., & Huberman E. Callaham, MF., Tu, A., Halloween, W., Pallota, S., SIVAK, A., Lubet, RA., Avery, MD., Kouri, RE., Spalding, J. AND Tennant, RW. An interlaboratory evaluation of the Syrian hamster emryo cell transformation assay using eighteen coded chemicals. <i>Toxicol. In vitro</i>. 1988, 2 (2) pp. 103–116</p>		
<p>[34]. Schectman, Rodent cell transformation assays — A brief historical perspective. <i>Mutat. Res.</i> 2012, 744 (1) pp. 3–7</p>		
<p>[35] Morita T., Asano N., Awogi T., Sasaki Y.F., Sato S., Shimada H. <i>et al.</i> Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (groups 1, 2A and 2B) the summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS MMS. Collaborative Study of the Micronucleus Group Test. Mammalian Mutagenicity Study Group. <i>Mutat. Res.</i> 1997, 389 (1) pp. 3–122</p>		
<p>[36] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Some Monomers, Plastics, and Synthetic Elastomers and Acrolein, Vol. 19, 1979, pp. 41.</p>		
<p>[37] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Surgical Implants and Other Foreign Bodies, Vol. 74, 1999, pp. 225– 8.</p>		
<p>[38] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Surgical Implants and Other Foreign Bodies, Vol. 74, 1999, pp. 282– 97.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[39] Nakamura A. <i>et al.</i> Difference in tumor incidence and other tissue responses to polyetherurethanes and polydimethylsiloxane in long-term subcutaneous implantation into rats. <i>J. Biomed. Mater. Res.</i> 1992, 1992 pp. 631–650</p>		
<p>[40] Tsuchiya T., & Nakamura A. A new hypothesis of tumorigenesis induced by biomaterials: Inhibitory potentials of intercellular communication play an important role on the tumor- promotion stage. <i>J. Long Term Eff. Med. Implants.</i> 1995, 5 pp. 232–242</p>		
<p>[41] Departamento de Salud. Guidelines for the testing of chemicals for mutagenicity. Londres: HMSO, 1989. (Report on Health and Social Security Subjects No. 35)</p>		
<p>[42] Departamento de Salud. Guidelines for the evaluation of chemicals for carcinogenicity. Londres: HMSO, 1992. (Report on Health and Social Security Subjects No. 42)</p>		
<p>[43] Oppenheimer B.S., Oppenheimer E.T., Stout A.P. Sarcomas induced in rats by implanting cellophane. <i>Proc. Soc. Exp. Biol. Med.</i> 1948, 67 (33)</p>		
<p>[44] Brand K.G., Johnson K.H., Buon L.C. Foreign Body, Tumorigenesis <i>CRC Crit. Rev. Toxicology</i>, Octubre 1976, pp. 353.</p>		
<p>[45] Brand L., & Brand K.G. Testing of Implant Materials for Foreign Body Carcinogenesis. In <i>Biomaterials</i>, 1980, p. 819</p>		
<p>[46] Winter G.D., Gibbons D.F., Plenk H. Jr. eds. <i>Advances in Biomaterials</i>, Volumen 3, Nueva York, J. Wiley, 1982</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[47] Biological Bases for Interspecies Extrapolation of Carcinogenicity Data. Hill TA., Wands, RC., Leukroth RW. Jr. (eds). (Preparado por Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services, Washington, D.C.) Julio 1986, Bethesda (MD): Life Science Research Office, Federation of American Societies for Experimental Biology</p>		
<p>[48] National Toxicology Program Report of the BTP Ad Hoc Panel on Chemical Carcinogenesis Testing and Evaluation, Agosto 1984, Board of Scientific Counselors</p>		
<p>[49] ASTM F 1439-39 <i>Standard guide for performance of lifetime bioassay for the tumorigenic potential of implant materials</i></p>		
<p>[50] Carere A. <i>et al.</i> Methods and testing strategies for evaluating the genotoxic properties of chemicals, European Commission Report EUR 15945 EN, ISSN 1018-5593, Luxemburgo (1995)</p>		
<p>[51] Foran J.A. (ED), Principles for the selection of doses in chronic rodent bioassays, ILSI Risk Science Institute, Washington DC, EUA, ISBN 0.944398-71-5, 1997</p>		
<p>Bibliografía para pruebas de toxicidad reproductiva/del desarrollo</p>		
<p>[52] Guideline for toxicity studies of drugs manual, Capítulo 4: Reproductive and developmental toxicity studies. Primera edición. Supervisión Editorial de New Drugs Division, Pharmaceutical Affairs Bureau, Ministry of Health and Welfare, 1990, Yakuji Nippo Ltd</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[53] Gabrielson J.L., & Larsson K.S. Proposal for improving risk assessment in reproductive toxicology. <i>Pharmacol. Toxicol.</i> 1990, 66 pp. 10–17</p>		
<p>[54] Neubert D. <i>et al.</i> Results of <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> Studies for Assessing Prenatal Toxicity. <i>Environ. Health Perspect.</i> 1986, 70 pp. 89–103</p>		
<p>[55] Sadler T.W., Horton W.E., Warner C.W. Whole Embryo Culture: A Screening Technique for Teratogens? <i>Teratog. Carcinog. Mutagen.</i> 1982, 2 pp. 243–253</p>		
<p>[56] <i>In vitro</i> Methods in Developmental Toxicology: Use in Defining Mechanisms and Risk Parameters. GL. Kimmel and DM. Kochhar (eds.). Boca Raton (Florida): CRC Press, 1990</p>		
<p>[57] <i>In vitro</i> Embryotoxicity and Teratogenicity Tests. F. Homburger and AH. Goldberg (eds.). <i>Concepts in Toxicology</i>, Vol. 3. Karger, Basel, 1985</p>		
<p>[58] Brent R.L. Predicting Teratogenic and Reproductive Risks in Humans from Exposure to Various Environmental Agents Using <i>In vitro</i> Techniques and <i>In vivo</i> Animal Studies. <i>Cong. Anom.</i> 1988, 28 (Suppl.) pp. 41–55</p>		
<p>[59] Tsuchiya T., Nakamura A., Iio T., Takahasi A. Species Differences between Rats and Mice in the Teratogenic Action of Ethylenethiourea: <i>In vivo/In vitro</i> Tests and Teratogenic Activity of Sera Using an Embryonic Cell Differentiation System. <i>Toxicol. Appl. Pharmacol.</i> 1991, 109 pp. 1–6</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[60] Tsuchiya T. <i>et al.</i> Embryo lethality of new herbicides is not detected by the micromass teratogen tests. <i>Arch. Toxicol.</i> 1991, 65 pp. 145–149</p>		
<p>[61] Kistler A., Tsuchiya T., Tsuchiya M., KLAUS M. Teratogenicity of arotinoids (retinoids) <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i>. <i>Arch. Toxicol.</i> 1990, 64 pp. 616–622</p>		
<p>[62] Tsuchiya T. <i>et al.</i> Comparative Studies of Embryotoxic Action of Ethylenethiourea in Rat Whole Embryo and Embryonic Cell Culture. <i>Teratology.</i> 1991, 43 pp. 319–324</p>		
<p>[63] Report of the <i>in vitro</i> teratology task force, Organized by the Division of Toxicology, Office of Toxicological Sciences, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration. <i>Environ. Health Perspect.</i> 1987, 72 pp. 200–235</p>		
<p>[64] Bass R. <i>et al.</i> Draft guideline on detection of toxicity to reproduction for medical products. <i>Adverse Drug React. Toxicol. Rev.</i> 1991, 9 (3) pp. 127–141</p>		
<p>[65] Brown <i>et al.</i> Screening chemicals for reproductive toxicity: the current approaches - the report and recommendations of an CEVMA/EST workshop (CEVMA Workshop 12), ATLA, 1995, 23, pp. 868-882</p>		
<p>[66] Spielmann R. Reproduction and development. <i>Environ. Health Perspect.</i> 1998, 106 (Suppl. 2) pp. 571–576</p>		
<p>Bibliografía para ensayos con animales transgénicos como alternativa a ensayos de carcinogenicidad de tiempo de vida</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[68] Storer R.D. Current status and use of short/medium term models for carcinogenicity testing of pharmaceuticals - scientific perspective. <i>Toxicol. Lett.</i> 2000, 112-113 pp. 557-566</p>		
<p>[69] Dass S.B. <i>et al.</i> Evaluation of the transgenic p53± mouse for detecting genotoxic liver carcinogens in a short-term bioassay. <i>Cancer Lett.</i> 1999, 143 pp. 81-85</p>		
<p>[70] Tennant R.W. <i>et al.</i> Genetically altered mouse models for identifying carcinogens. <i>IARC Sci. Publ.</i> 1999, 146 pp. 123-150</p>		
<p>[71] Mahler J.F. <i>et al.</i> Spontaneous and chemically induced proliferative lesions in TG. AC transgenic and p53-heterozygous mice. <i>Toxicol. Pathol.</i> 1998, 26 pp. 501-511</p>		
<p>[72] Tamaoki N. The rasH2 transgenic mouse: Nature of the model and mechanistic studies on tumorigenesis. <i>Toxicol. Pathol.</i> 2001, 29 (Suplemento) pp. 81-89</p>		
<p>[73] Usui T., Mutai M., Hisada S., Takaoka M., Soper K.E., Mccullough B. <i>et al.</i> CB6F1-rasH2 mouse:</p>		
<p>Overview of available data. <i>Toxicol. Pathol.</i> 2001, 29 (Supplement) pp. 90-108</p>		
<p>[74] Macdonald J., French J.E., Gerson R.J., Goodman J., Inoue T., Jacobs A. <i>et al.</i> The utility of genetically modified mouse assays for identifying human carcinogens: A basic understanding and path forward. <i>Toxicol. Sci.</i> 2004, 77 pp. 188-194</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[75] Urano K., Suzuki S., Machida K., Sawa N., Eguchi N., Kikuchi K. <i>et al.</i> Use of IC Tags in short- term carcinogenicity study on CB6F1 TGrasH2 mice. J. Toxicol. Sci. 2006, 31 pp. 407–418</p>		
<p>Bibliografía para un procedimiento de preparación de la muestra apropiado en pruebas de genotoxicidad</p>		
<p>[68] Tsuji K. Mizumachi, S., Iida K., Oba T. Kobunshi Ronbunshu. 1977, 34 (4) pp. 287–290</p>		
<p>[69] Oba T., Tsuji K., Nakamura A., Shintani H., Mizumachi S., Kikuchi H. <i>et al.</i> Migration of acetylated hemicellulose from capillary hemodialyzer to blood, causing scleritis and/or iritis. Artif. Organs. 1984, 8 (4) pp. 429–435</p>		
<p>[70] OECD Environment Directorate. Chemical group and management committee, Third Meeting of OECD Experts on Polymers (Tokyo, 14-16 Abril, 1993) Informe Chairman's</p>		
<p>[71] EPA Proposed Rule 40, CFR Part 723 (58 FR 7679), Febrero 8, 1993</p>		
<p>[72] Nakamura A., Kawasaki Y., Takada K., AIDA Y., Kurokawa Y., Kojima S. <i>et al.</i> Difference in tumor incidence and other tissue responses to polyetherurethanes and polydimethylsiloxane in long- term subcutaneous implantation into rats. J. Biomed. Mater. Res. 1992, 26 pp. 631–650</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[73] Nakamura A., Kojima S., Isama K., Umemura T., Kawasaki Y., Takada K. <i>et al.</i> The effects of oligomers content and surface morphology on foreign-body tumorigenesis with polyetherurethanes: two years subcutaneous implantation study in rats. <i>J. Long Term Eff. Med. Implants.</i> 1995, 5 pp. 263–273</p>		
<p>[74] Reid, RC., Schwope, AD., Sidman, KR.: Modeling the migration of additives from polymer films to foods and food simulating liquids, MIT Industrial Liaison Program Report 1-14-84 Directorio de Investigación Actual (Directory of Current Research): 3.04.077</p>		
<p>[75] Muller B.P., Ensslen S., Dott W., Hollender J. Improved sample preparation of biomaterials for <i>in vitro</i> genotoxicity testing using reference materials. <i>J. Biomed. Mater. Res.</i> 2002, 61 pp. 83–90</p>		
<p>[76] Matsuoka A., Isama K., Tsuchiya T. <i>In vitro</i> induction of polyploidy and chromatid exchanges by culture medium extracts of natural rubbers compounded with 2-mercaptobenzothiazole as a positive control candidate for genotoxicity tests. <i>J. Biomed. Mater. Res.</i> 2005, 75 pp. 439–444</p>		
<p>[77] Matsuoka A., Haishima Y., Hasegawa C., Matsuda Y., Tsuchiya T. Organic-solvent extraction of model biomaterials for use in the <i>in vitro</i> chromosome aberration test. <i>J. Biomed. Mater. Res.</i> 2008, 86 pp. 13–22</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[78] MHLW Notification by Director. OMDE, Yakushokuki-hatsu 0301 No. 20, March 1, 2012: Basic Principles of Biological Safety Evaluation Required for Application for Approval to Market Medical</p>		
<p>Devices, Part 3 Genotoxicity Test. Yakuji Nippo Ltd, Tokyo, 2012</p>		
<p>Bibliografía para pruebas <i>in vitro</i> de embriotoxicidad</p>		
<p>[87] Brown N.A., Spielmann H., Bechter R., Flint O.P., Freeman S.J., Jelinek R.J. <i>et al.</i> Screening chemicals for reproductive toxicity: the current alternatives. Informe y recomendaciones de un taller de el CEVMA/ETS, CEVMA workshop 12. ATLA. 1995, 23 pp. 868–882</p>		
<p>[88] INVITTOX protocolo no. 114. (1996). <i>In vitro</i> Micromass Teratogen Assay. Banco de Datos ERGATT/FAME de Técnicas <i>In vitro</i> en Toxicología</p>		
<p>[89] Piersma A.H., Attenon P., Bechter R., Govers M.J.A.P., Krafft N., Schmid B.P. <i>et al.</i> Interlaboratory evaluation of embryotoxicity in the postimplantation rat embryo culture.</p>		
<p>Reprod. Toxicol. 1995, 9 pp. 275–280</p>		
<p>[90] Piersma A.H., Bechter R., Krafft N., SCHMID B.P., Stadler J., Verhoef A. <i>et al.</i> An interlaboratory evaluation of five pairs of teratogens in postimplantation rat embryo culture. ATLA. 1996, 24 pp. 201–209</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[91] INVITTOX protocolo no. 68. (1993). Embryotoxicity testing using a whole embryo culture WEC procedure. Banco de Datos ERGATT/FAME de Técnicas <i>In vitro</i> en Toxicología</p>		
<p>[92] Scholz G., Genschow E., Pohl I., Bremer S., Paparella M., RAABE H. <i>et al.</i> Prevalidation of the Embryonic Stem Cell Test (EST), a new <i>in vitro</i> Embryotoxicity Test. <i>Toxicol. In vitro.</i> 1999, 13 pp. 675–681</p>		
<p>[93] Spielmann H., Pohl I., Döring B., Liebsch M., Moldenhauer F. The embryonic stem cell test (EST), an <i>in vitro</i> embryotoxicity test using two permanent mouse cell lines: 3T3 fibroblasts and embryonic stem cells. <i>In vitro Toxicol.</i> 1997, 10 pp. 119–127</p>		
<p>[94] Seiler A., Buesen R., Visan A., Spielmann H. Use of Murine Embryonic Stem Cells in Embryotoxicity Assays: The Embryonic Stem Cell Test. <i>Methods Mol. Biol.</i> 2006, •••pp. 371–395</p>		
<p>[95] INVITTOX protocolo no. 113. (1996). Embryonic Stem Cell Test (EST). Banco de Datos ERGATT/FAME de Técnicas <i>In vitro</i> en Toxicología</p>		
<p>[96] Genschow E., Spielmann H., Scholz G., Seiler A., Brown N.A., Piersma A. <i>et al.</i> The CEVMA international validation study on <i>in vitro</i> embryotoxicity tests. Results of the definitive phase and evaluation of prediction models. <i>ATLA.</i> 2002, 30 pp. 151–176 embryotoxicity tests. <i>ATLA.</i> 2002, 30 pp. 177–198</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[98] Genschow E., Spielmann H., Scholz G., Pohl I., Seiler A., Clemann N. <i>et al.</i> Validation of the embryonic stem cell test (EST) in the international CEVMA validation study of three <i>in vitro</i> embryotoxicity tests. ATLA. 2004, 32 pp. 209–244</p>		
<p>[99] Spielmann H., Genschow E., Brown N.A., Piersma A.H., Verhoef A., Spanjersberg M.Q.I. <i>et al.</i> Validation of the postimplantation rat limb bud micromass (MM) test in the international CEVMA validation study of three <i>in vitro</i> embryotoxicity tests. ATLA. 2004, 32 pp. 245–274</p>		
<p>[100] Piersma A.H., genschow E., Verhoef A., Spanjersberg M.Q.I., Brown N.A., Brady M. <i>et al.</i> Validation of the rat postimplantation whole embryo culture test (WEC) in the international CEVMA validation study of three <i>in vitro</i> embryotoxicity tests. ATLA. 2004, 32 pp. 275–307</p>		
<p>[101] Balls M., & Hellsten E. Statement of the scientific validity of the embryonic stem cell test (EST)</p>		
<p>– an <i>in vitro</i> test for embryotoxicity. - Statement of the scientific validity of the micromass test – an <i>in vitro</i> test for embryotoxicity. - Statement of the scientific validity of the postimplantation rat whole embryo culture assay– an <i>in vitro</i> test for embryotoxicity. ATLA. 2002, 30 pp. 265– 273</p>		
<p>[102] Spielmann H., Seiler A., Bremer S., Hareng L., Hartung T., Ahr H. <i>et al.</i> The practical application of three validated <i>in vitro</i> embryotoxicity tests. Informe de pruebas y recomendaciones de un taller de CEVMA/ZEBET (CEVMA workshop 57). Altern. Lab. Anim. 2006, 5 pp. 527–538</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Bibliografía de pruebas para evaluar la genotoxicidad		
[103] Ashby J., & Tinwell H. The rodent bone marrow micronucleus assay: contrast between its sensitivity to human carcinogens and its insensitivity to NTP rodent carcinogens – . Mutat. Res. 1996, 352 pp. 181–184		
[104] Benigni R. Mouse bone marrow micronucleus assay: relationships with <i>in vitro</i> mutagenicity and rodent carcinogenicity – . J. Toxicol. Environ. Health. 1995, 45 pp. 337–347		
[105] Cimino M. Comparative Overview of Current International Strategies and Guidelines for Genetic Toxicology Testing for Regulatory Purposes. Environ. Mol. Mutagen. 2006, 47 pp. 362–390		
[106] Committee on Mutagenicity (2000) Guidance on a Strategy for Testing of Chemicals for Mutagenicity, Diciembre		
[107] ICH. Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use. Step. Noviembre 2011, 4 p. 9		
[108] Draft 2008 S2(R1) Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use		
[109] Elespuru R.K. <i>et al.</i> FORUM: Current and Future Application of Genetic Toxicity Assays: The Role and Value of <i>In vitro</i> Mammalian Assays. Toxicol. Sci. 2009, 109 pp. 172–179		
[110] Website F.D.A. Limits of Recognition of ISO 10993-3 disponible en http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfStandards/search.cfm		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[111] Glatt H., Padykula R., Berchtold G.A., Ludewig G., Platt K.L., Klein J. <i>et al.</i> Multiple Activation Pathways of benzene leading to products with varying genotoxic characteristics. <i>Environ. Health Perspect.</i> 1989, 82 pp. 81–89</p>		
<p>[112] Gollapudi B., Schisler M.R., Moore M.M. Evaluation of publicly available mouse lymphoma assay data using currently accepted standards to establish a curated data base. <i>Toxicologist.</i> 2010, 114 p. 148</p>		
<p>[113] Kim B.S., & Margolin B.H. Prediction of Rodent Carcinogenicity Utilizing a Battery of <i>In vitro</i> and <i>In vivo</i> Genotoxicity Tests – . <i>Environ. Mol. Mutagen.</i> 1999, 34 pp. 297–304</p>		
<p>[114] Kirkland D., Aardema M., Henderson L., Muller L. Evaluation of the ability of a battery of three <i>in vitro</i> genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens I. Sensitivity, specificity and relative predictivity – . <i>Mutat. Res.</i> 2005, 584 pp. 1–256</p>		
<p>[115] Morita T., Asano N., Awogi T., Sasaki Y.F., Sato S., Shimada H. <i>et al.</i> Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (groups 1, 2A and 2B) - The summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS • MMS. <i>Mutat. Res.</i> 1997, 389 pp. 3–122</p>		
<p>[116] Rosenkranz H., & Cunningham A. The high production volume chemical challenge program: the relevance of the <i>in vivo</i> micronucleus assay – . <i>Regul. Toxicol. Pharmacol.</i> 2000, pp. 182– 189</p>		

"2021, Año de la Independencia"

<p>[118] Shelby M.D., Erexson G.L., Hook G.J., Tice R.R. Evaluation of the three-exposure mouse bone marrow micronucleus protocol, results with 49 chemicals. <i>Environ. Mol. Mutagen.</i> 1993, 21 pp. 160–179</p>		
<p>[119] Shelby M.D., & Zeiger E. Activity of human carcinogens in the Salmonella and rodent bone marrow cytogenetics tests. <i>Mutat. Res.</i> 1990, 234 (3-4) pp. 257–261</p>		
<p>[120] Snyder R.D. An Update on the Genotoxicity and Carcinogenicity of Marketed Pharmaceuticals with Reference to In Silico Predictivity. <i>Environ. Mol. Mutagen.</i> 2009, 50 pp. 435–450</p>		
<p>[121] Tweats D.J., Blakey D., Heflich R.H., Jacobs A., Jacobsen S.D., Morita T. <i>et al.</i> Report of the IWGT working group on strategy/interpretation for regulatory <i>in vivo</i> tests II. Identification of <i>in vivo</i>- only positive compounds in the bone marrow micronucleus test. <i>Mutat. Res.</i> 2007, 627 pp. 92–105</p>		
<p>[122] Tweats D.J., Scott A.D., Westmoreland C., Carmichael P.L. Determination of genetic toxicity and potential carcinogenicity <i>in vitro</i> – challenges post the seventh amendment to the European Cosmetics Directive. <i>Mutagenesis.</i> 2007, 22 pp. 5–13</p>		

*Para una mejor comprensión de su solicitud adjunte bibliografía u otros documentos que sustenten sus comentarios.