

**RESUMEN** Los Dispositivos Médicos (DM) son insumos para la salud y se incluyen todo instrumento, aparato, utensilio, máquina, producto o material implantable, agente de diagnóstico, material, sustancia o producto similar, para ser empleado, solo o en combinación, directa o indirectamente con seres humanos. Se clasifican en 3 categorías, siendo la I aquellos insumos conocidos en la práctica médica, de eficacia comprobada y que generalmente no se introducen al organismo, la categoría II son aquellos insumos conocidos en la práctica médica, con algunas variaciones en la fabricación y que generalmente se introducen al organismo por menos de 30 días, la clase III son aquellos insumos recientemente aceptados en la práctica médica, o bien que se introducen al organismo y permanecen en él, por más de treinta días. En el caso de los DM clase III es necesario llevar a cabo pruebas de biocompatibilidad, estas pruebas están diseñadas para detectar las características físicas o químicas inespecíficas, biológicamente reactivas, de los dispositivos médicos o los materiales utilizados en su construcción.

**Introducción:** Las pruebas de Biocompatibilidad se describen por diferentes entidades regulatorias como la ISO (Organización Internacional de Estandarización) la USP (Farmacopea de los EEUU.) y la FEUM (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos) Estas pruebas se realizan tomando en cuenta el tipo de contacto y la duración del contacto (Fig. 1). En general se recomienda hacer una evaluación dependiendo de la información previa existente del material de fabricación.

**Ensayo:** Las placas son adicionadas con las preparaciones de muestras y estándares, se realiza una dilución 1:4 de los extractos con medio de cultivo de la muestra y controles. Agregar 250 µL del extracto y 750 µL del medio de cultivo y colocarlos en el pozo correspondiente. Agregar solo medio MEM+ 10 % SFB para el control celular. Incubar 48 h a 37 ± 1 °C en una atmósfera de 5 ± 1 % de CO<sub>2</sub>.

**Resultados:** Los resultados se evalúan a las 48 horas de la adición de los extractos de acuerdo a la tabla 1. Se muestran ejemplos en la Figura 2.

| Clasificación del dispositivo médico por: |                           | Efecto biológico                  |                 |                                      |                    |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
|---|---------------------------|-----------------------------------|-----------------|--------------------------------------|--------------------|----------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|-----------------|-------------------|---|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--|--|
| Naturaleza del contacto con el cuerpo     | Duración del contacto     | Indicaciones físicas y/o químicas |                 |                                      |                    |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
|   |                           | Chocabilidad*                     | Sensibilización | Irritación o reactividad transitoria | Pirogenicidad*     | Toxicidad sistémica aguda* | Toxicidad subaguda* | Toxicidad subcrónica* | Toxicidad crónica* | Hemocompatibilidad | Genotoxicidad*  | Carcinogenicidad* | Toxicidad reproductiva o del desarrollo** | Degradación†      |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
| Categoría                                 | Contacto                  | Normas                            |                 |                                      |                    |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
|   |                           | A, B o C                          | ISO-10993-19    | MGA-DM-10993-5                       | Norma ISO-10993-10 | Norma ISO-10993-10         | MGA-DM-10993-11     | MGA DM-10993-11       | MGA-DM-10993-11    | MGA-DM-10993-11    | MGA-DM-10993-11 | Norma ISO-10993-5 | Norma ISO-10993-5                         | Norma ISO-10993-4 | Norma ISO-10993-3 | Norma ISO-10993-3 | Norma ISO-10993-6 | Norma ISO-10993-13 | Norma ISO-10993-14 | MGA-DM-10993-15 |  |  |
| Dispositivo de superficie                 | Piel Intacta              | A                                 | X               | E                                    | E                  |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
|   |                           | B                                 | X               | E                                    | E                  |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
|   |                           | C                                 | X               | E                                    | E                  |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
|   | Membranas mucosas         | A                                 | X               | E                                    | E                  |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
|   |                           | B                                 | X               | E                                    | E                  |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
|   |                           | C                                 | X               | E                                    | E                  |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
|   | Superficie lisa o fibrosa | A                                 | X               | E                                    | E                  |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
|   |                           | B                                 | X               | E                                    | E                  |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |
|   |                           | C                                 | X               | E                                    | E                  |                            |                     |                       |                    |                    |                 |                   |   |                   |                   |                   |                   |                    |                    |                 |  |  |

Figura 1 Pruebas realizadas de acuerdo al tipo y tiempo de contacto:

- A = Contacto menor o igual a 24 h.
- B = Contacto mayor de 24 h a 30 días.
- C = Contacto mayor de 30 días.
- X = Información previa necesaria para una evaluación de riesgos.
- O = La FDA recomienda criterios de valoración adicional para la evaluación\*.
- E = Puntos finales que se evaluarán en la evaluación del Fuente MGA-DM 10993-1

**Pruebas de Biocompatibilidad:** De acuerdo a la clasificación de los Dispositivos Médicos se determinan las pruebas necesarias para demostrar la Biocompatibilidad entre las que se incluyen: Citotoxicidad, Sensibilización, Irritabilidad o reactividad intracutánea, Pirogenicidad, Toxicidad Sistémica Aguda, Toxicidad Subaguda, Toxicidad Subcrónica, Toxicidad Crónica, Implantación, Hemocompatibilidad, Genotoxicidad, Carcinogenicidad, Toxicidad Reproductiva.

**Uso de Animales:** Dentro de nuestra experiencia las principales pruebas solicitadas por la autoridad son Citotoxicidad, Sensibilización e Irritabilidad o reactividad intracutánea. De estas pruebas solo la prueba de citotoxicidad no requiere del uso de animales, básicamente todas las pruebas involucran la preparación de un extracto a los materiales del Dispositivo Médico y posteriormente se administra a los animales de experimentación dependiendo de la finalidad de cada prueba. En el caso de la regulación Mexicana el MGA-DM 10993-1 de la FEUM se clasifica como información de referencia y la COFEPRIS determina las pruebas requeridas para demostrar la biocompatibilidad de los Dispositivos Médicos.

**Método:** Células L929 (ATCC CCL-1), Estándar negativo Polietileno de alta densidad; Estándar positivo 0.1% ZDEC Película de poliuretano, Medio DMEM 10X, Suero Fetal Bovino, PBS 1X.

Las células L929 se cultivan de acuerdo a las recomendaciones de la ATCC, se parte de un cultivo confluyente de células L-929 en un área de 75 cm<sup>2</sup>, se lava la monocapa con 10 mL de DPBS 1X Colocar 3 mL de Tripsina-EDTA 0.25 % durante 3 min con el fin de desprender las células de la botella, una vez que las células se encuentren despegadas colocar 7 mL de medio MEM 10 x + 10 % SFB con el fin de neutralizar la Tripsina, resuspender las células y se prepara una suspensión celular adecuada, la cual se adiciona a una placa de 12 pozos las células deben quedar distribuidas de forma uniforme para que se forme la monocapa, Incubar durante 24 h a 37 °C en una atmósfera de 5 % de CO<sub>2</sub>.

**Muestras y estándares:** Para la preparación del extracto se usa medio de cultivo a 37 +/- 1°C durante 24 +/- 2 horas, a una concentración de 0,1 g/mL o 0,2 g/mL. Dependiendo del material del Dispositivo Médico.

| ELUSIÓN |             |  |
|---------|-------------|--|
| Grado   | Reactividad | Condiciones del cultivo celular  |
| 0       | Ninguna     | Gránulos intracitoplasmáticos discretos, sin lisis celular.  |
| 1       | Escasa      | No más del 20% de las células son redondas, sueltas y sin gránulos intracitoplasmáticos, pueden presentarse células lisadas.                         |
| 2       | Media       | Más del 20 % y no más del 50% de las células son redondas, sin gránulos intracitoplasmáticos sin lisis celular extensa y áreas vacías entre células. |
| 3       | Moderada    | Más del 50 % y no más del 70 % de la capa celular contienen células redondeadas o lisadas.   |
| 4       | Severa      | Destrucción casi completa de la capa celular.  |

Tabla 1. Grado de reactividad asignado según las condiciones del cultivo celular.

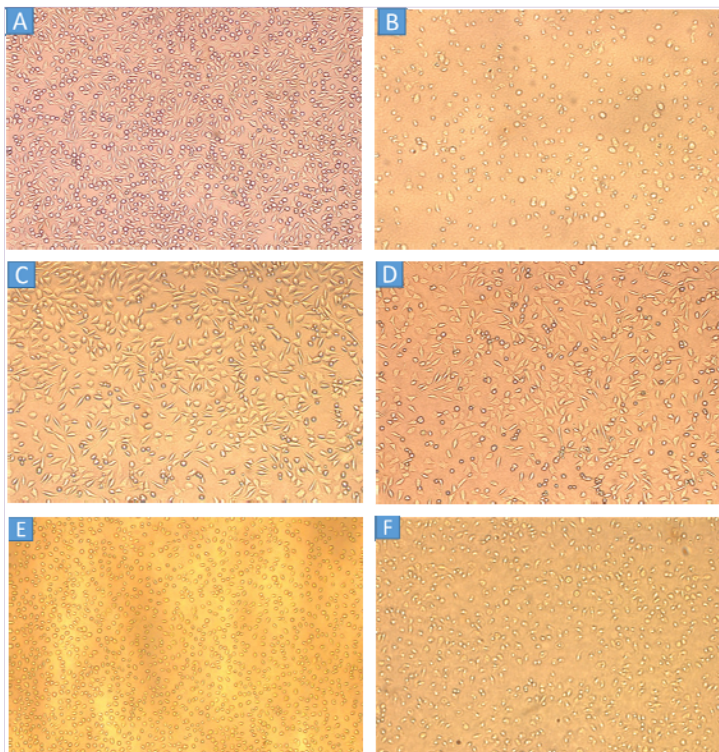


Figura 2: A) Control negativo; B) Control positivo; C) Control de cultivo; D) Muestra; E) y F) Muestras que no cumplen con la especificación de no mayor a grado 2.

**Conclusiones:** En el presente se comparte la experiencia de los Laboratorios de Especialidades Inmunológicas SA de CV en la evaluación de pruebas de biocompatibilidad para dispositivos médicos, esta prueba ha mostrado su utilidad para detectar respuestas indeseables en los componentes de los dispositivos médicos, es conveniente realizar esta prueba como un filtro previo a los ensayos que usan animales de experimentación con la finalidad de reducir el uso y sufrimiento de los mismos.