

<b>Tipo de Estudio:</b> Irritación Dérmica <b>Guía:</b> TM2012-05 (EU)	<b>Clasificación:</b> Ensayo In Vitro <b>GLP:</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>OECD:</b> <input type="checkbox"/>	<b>Muestra requerida:</b> 2 ml o 2 g
---	--	---



<b>Principio</b>	<p>El estudio de Sensibilidad Dérmica utiliza el modelo tridimensional de Epidermis Humana Reconstituida (EHR). El EHR se compone de Células humanas primarias, que han sido cultivadas para formar un Epitelio escamoso diferenciado morfológicamente similar al de la piel humana.</p> <p>Después de la exposición e incubación de un artículo de ensayo (AE), se determina el EC50 mediante la proliferación/viabilidad celular mediante la reducción del MTT [3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-bromuro difeniltetrazolio, azul de tiazol; número EINECS 206-069-5, número CAS 298-93-1] a formazan, el ensayo de MTT un método colorimétrico cuantitativo que permite determinar la proliferación o viabilidad celular del tejido, posteriormente se cuantifica la expresión del gen IL-18 mediante el método de Elisa. El ensayo de Sensibilidad Dérmica clasificará un líquido, polvo o sólido como <b>No Sensitizante</b> o <b>Sensitizante</b>.</p>
<b>Pre-Estudio</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se evalúa la posible reducción directa del MTT por el AE.</li> </ul>
<b>Desarrollo del Ensayo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Los insertos (tejidos) se incuban durante toda una noche previo a su exposición.</li> <li>Los tejidos se exponen por triplicado para cada concentración (5 Concentraciones por tratamiento) con 50 µl de líquido o 25 mg (+ 25 µl de H2O) de polvo o Material sólido (molido en polvo fino) de AE durante 24 h.</li> <li>Posteriormente se incuban en una solución de MTT de 1 mg/ml durante tres horas.</li> <li>Se determina la expresión del gen IL-18 mediante el ensayo ELISA.</li> <li>Se extraen el formazan los tejidos y se realiza la medición de su densidad óptica (OD) a 570 nm, la medición del formazan se utiliza para calcular la viabilidad del tejido.</li> </ul>
<b>Interpretación de resultados</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Si los tejidos tratados con AE tienen una sobreexpresión <math>\geq 2</math> para el gen IL-18, en correlación al EC50 mediante el ensayo de viabilidad Celular es clasificado como <b>Sensitizante</b>.</li> <li>Si los tejidos tratados con AE tienen una sobreexpresión <math>&lt; 2</math> para el gen IL-18, en correlación al EC50 mediante el ensayo de viabilidad Celular es clasificado como <b>No Sensitizante</b>.</li> </ul>