

REPORTE

Copia del original

REPORTE DEL ESTUDIO FINAL

TITULO DEL ESTUDIO

Estudio de Toxicidad y Biocompatibilidad de Trece semanas de Implantación de BG-BioPaste en Conejos

IDENTIFICACIÓN DEL ARTICULO DE PRUEBA

BG-BioPaste, DR000608
Lote No. 2-11

FECHA DE TERMINACIÓN DEL ESTUDIO

27 de agosto del 2009

LABORATORIO QUE REALIZA LA PRUEBA

WuXi Aprobación Tec, Inc.
2540 Executive Drive
St. Paul, MN 55120

PATROCINADOR

Novoinjertos SC
Amores 1554 Col del Valle
Del Benito Juárez
03100
MÉXICO

PROTOCOLO

C7364

NÚMERO DE PROYECTO

117333



Copia del Original

RESUMEN DE LA UNIDAD DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

ESTUDIO: Estudio de Toxicidad y Biocompatibilidad de Trece semanas de BG-BioPaste en Conejos.

El objetivo de la Unidad de Aseguramiento de Calidad es monitorear la conducta e informar los estudios de laboratorio no clínicos. Estos estudios se han realizado de acuerdo con las regulaciones de las Buenas Prácticas de Laboratorio (FDA, 21 CFR, Parte 58 – Buena Práctica de Laboratorio para Estudios de Laboratorio No Clínicos) y de acuerdo con los procedimientos de operación estándar y los protocolos estándar. La Unidad de Aseguramiento de Calidad guarda copias de los protocolos del estudio y de los procedimientos de operación estándar e inspeccionó éste estudio en las fechas que se mencionan a continuación. Los estudios se inspeccionan en intervalos de tiempo para asegurar la integridad del estudio.

Fase Inspeccionada	Fecha	Director del Estudio	Gestión
Dosis	02/24/09	02/24/09	08/27/09
Terminación /Necropsia	05/26/09	05/26/09	08/27/09
Reporte de Patología	06/26/09	06/26/09	08/27/09
Borrador del Reporte	07/09/09	07/13/09	08/27/09
Reporte Final	08/21/09	08/21/09	08/27/09

Estos hallazgos de estas inspecciones fueron reportados a gestión y al Director del Estudio.

Auditor de Aseguramiento de Calidad: -Firma ilegible- Fecha: 8/27/09
Scott W. Sheman

DECLARACIÓN DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO

El estudio mencionado en éste reporte se llevó a cabo en cumplimiento con las regulaciones de las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP, por sus siglas en inglés) de la Administración de Alimentos y Medicamentos de E.U. establecidas en 21 CFR parte 58.

Los estudios no realizados por o bajo la dirección de WuXiAppTec, Inc., están exentos de esta Declaración de las Buenas Prácticas de Laboratorio e incluye la selección y estabilidad del (los) componente(s) / artículo de prueba.

Director del Estudio: -Firma ilegible- Fecha: 8/27/09
ChristineOlson

Personal Profesional participante:

BS. Lisa Olsons	Vice presidenta de Operaciones St. Paul
Dr. Don Palme	Vicepresidente de Toxicología y Prueba en Vivo
Dr. Randy D. White	Director Senior, Toxicología
BS. ChristineOlson	Directora Senior del Estudio
AA, CVTRoxanne Miller	Administradora, Servicios Técnicos en Vivo
AA. Jean Mesarich	Administrador de Relaciones del Cliente
VET. Bárbara Waurzyniak	Administradora, Histología



Copia del Original

NÚMERO DEL PROYECTO: 117333

PATROCINADOR: Novoinjertos SC
Amores 1554 Col del Valle
Del. Benito Juárez 03100
MÉXICO

ARCHIVO DE DATOS: Se guardará una copia certificada del reporte original final y de todos los datos de origen pertinentes a éste estudio en WuXiAprobaciónTec, Inc., 2540 Executive Drive, St. Paul, MN 55120. Era responsabilidad del Patrocinador guardar una muestra del artículo de prueba.

ALMACENAJE DE LA MUESTRA: Bajo recepción por parte del Departamento de Recepción de la Muestra, se colocaron las muestras de prueba en un área de almacenamiento con acceso controlado bajo las condiciones de temperatura adecuadas. Las áreas de almacenaje del artículo de control son designadas para descartar la posibilidad de mezclarse, contaminarse, deteriorarse o dañarse. Las muestras permanecieron en el área de almacenaje hasta que fueron recuperadas por el técnico para la preparación de la muestra y/o prueba. Muestras de prueba sin usarse permanecieron en el área de almacenaje hasta que se completó el estudio. Una vez terminado, la disposición de las muestras se manejarán a solicitud del Patrocinador.

SELECCIÓN: El Patrocinador era el responsable de todos los datos de selección del artículo de prueba de conformidad con las regulaciones de las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP). La identidad, fuerza, estabilidad, pureza y composición química del artículo de prueba fueron responsabilidad única del Patrocinador. El Patrocinador fue el responsable de proporcionar los resultados del laboratorio de pruebas de éstas determinaciones y cualquier otra que pudiera tener un impacto directo en la prueba realizada por el laboratorio de pruebas, antes de iniciar la prueba. Además, fue responsabilidad del Patrocinador asegurarse de que el artículo de prueba sometido a prueba fuera representativo del producto final que estaba sujeto a selección de materiales. Cualquier requerimiento especial sobre el manejo o almacenamiento fue acordado previo a la recepción y el artículo de prueba se recibió en buenas condiciones.

PROPÓSITO: El propósito de éste estudio era evaluar el potencial de los efectos sistémicos y locales del BG-BiPaste, para uso humano, cuando se implantan en el tejido subcutáneo del conejo por un tiempo de trece días.

INSTALACIONES DE LA PRUEBA: WuXiAppTec, Inc.
2540 Executive Drive
St. Paul, MN 55120

FECHA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA: 02/19/09
FECHA DE INICIO DEL ESTUDIO: 02/20/09
FECHA DE TERMINACIÓN DEL ESTUDIO: 08/27/09
NÚMERO DE APROBACIÓN DE IACUC: 08-163A/Marzo del 2008

RESUMEN DE MÉTODOS EXPERIMENTALES: Para la evaluación del artículo de prueba, 0.35 mL del material de prueba preparados fueron implantados en el tejido subcutáneo dorsolateral en cuatro lugares diferentes (dos en cada lado posterior) de cuatro conejos machos y cuatro hembras cada uno con un total de 1.4 mL del material de prueba. El material de Polietileno de Alta Densidad (HDPE) del mismo diámetro a 0.35 mL del material de prueba se implantó en el tejido subcutáneo dorsolateral en cada uno de los cuatro lugares (dos en cada lado posterior) en un grupo separado de cuatro conejos machos y cuatro hembras. Después de un periodo de implantación de 13 días, se sacó sangre para la hematología, coagulación y evaluación química clínica y los lugares de implantación y tejidos sistémicos seleccionados se recolectaron en la necropsia. Los lugares de implantación y los tejidos sistémicos seleccionados se evaluaron microscópicamente.



Copia del Original

TABLA 1: DISEÑO DEL ESTUDIO

NÚMERO DE GRUPO	ARTÍCULO	DOSIS a	NECROPSIA A LA SEMANA 13 (MACHOS/HEMBRAS)
1	Control	HDPE Diámetro similar a 0.35 mL del artículo de prueba por cada uno de los 4 lugares por conejo (total = 1.4 mL/conejo)	4/4
2	Prueba	BG_BioPaste 0.35 mL por cada uno de los 4 lugares por conejo (total = 1.4 mL/conejo)	4/4

a - Implante/inyección subcutánea

DESVIACIÓN: En la implantación, las incisiones del artículo de control y del artículo de prueba fueron cerradas con suturas absorbibles y no se usaron las no absorbibles o con grapas para suturar heridas conforme se describe en el protocolo. Esta desviación del protocolo no causa un impacto en la interpretación del estudio.

ENMIENDAS:

1. Sección 8.2, Administración del Material, las primeras dos oraciones del cuatro párrafo deberán decir; dos incisiones laterales e la piel (de 3 cm aproximadamente) se realizarán en la línea media dorsal. Se creará una bolsa subcutánea en cada lado de la incisión, de la parte posterior, creando 4 bolsas en donde se implantará el artículo.
2. El protocolo en su totalidad cambiará el nombre del patrocinador de BioGraft de Mexico a Novoinjertos SC.

IDENTIFICACIÓN DEL ARTÍCULO

Identificación del artículo de prueba:

Nombre del artículo de prueba:	BG-BiPaste
No. de Lote:	2 al 11
Otro no. de identificación :	DR000608
Método de Esterilización:	Radiación
Estado Físico:	Polvo Seco – Dibutil maleato (DBM)
Estabilidad (Vigencia):	No Aplicable
Condiciones de Almacenamiento:	A temperatura ambiente
Precauciones de Seguridad:	Precauciones estándar
	Procedimientos Quirúrgicos para Implantes Humanos

Identificación del artículo de control:

Nombre del artículo de control:	Polietileno de Alta Densidad (HDPE)
No. de Lote:	H0F046
Método de Esterilización:	Gravedad
Fecha de Esterilización:	02/23/09
Estado Físico:	Sólido

SISTEMA DE LA PRUEBA

Especie/Raza: Conejos Albinos (*Oryctolagus cuniculus*), Raza blanca de Nueva Zelanda.
Sexo: Se usaron para el estudio tanto machos como hembras. Las hembras eranno gestantes y no estaban embarazadas.
Origen: Charles River Laboratories, St. Constant, Quebec, Canadá.
Peso Corporal de los Animales: Los machos pesaban entre 2.5 y 2.9 kilogramos y las hembras entre 2.6 y 3.1 kilogramos al inicio del estudio.
Edades: Los conejos eran adultos jóvenes de aproximadamente 14 semanas de edad al inicio del estudio.



Copia del Original

Cantidad: Se usaron para el estudio 8 machos y 8 hembras, 4 conejos de cada sexo para cada grupo de implantación, un total de 16 animales.

Identificación del Animal: Tarjetas en cajas fueron etiquetadas y se identificaron a los animales de manera individual con placas con números en las orejas.

CRÍA

Recepción: Se recibieron los animales el 02/18/09. Se examinó a cada animal sobre alguna señal de enfermedad o lesión antes de ingresarlo al área de investigaciones.

Ubicación de vivienda: Los animales fueron ubicados solos en cajas de acero inoxidable con piso suspendido. EL espacio de la caja cumpliría con las directivas Internacionales de NIH y AAALAC para estas especies.

Entorno: Las habitaciones de los animales se mantuvieron de acuerdo con las recomendaciones Internacionales de NIH y AAALAC y la "Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio" de NIH. El laboratorio y las habitaciones de los animales fueron de acceso limitado a las instalaciones.

Dieta: Se les dio a los conejos una dieta comercial certificada para roedores. Se supuso que los contaminantes presentes no conocidos en el alimento no interferían con los resultados de la prueba.

Agua: Se les proporcionó agua potable del suministro de agua municipal, *ad libitum*. Se supuso que los contaminantes presentes no conocidos en el agua no interferían con los resultados de la prueba.

Cumplimiento: El cuidado, ubicación de la vivienda y manejo de los animales cumplieron con las directivas Internacionales de NIH y AAALAC como se informa en la "Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio" del Consejo Internacional de Investigaciones - ILAR, Revisadas en 1996; (OPRR) "Política de Servicio de Salud Pública sobre el Cuidado y Uso Humano de Animales de Laboratorio", Extensión del Acta de Investigaciones de Salud de 1985 (Ley Pública 99-158), Revisada en 1986, y USDA, Departamento de Agricultura, Servicio de Inspección de Salud de Plantas y Animales, 9 CFR, Partes 1, 2 y 3, Bienestar Animal, Regla Final de 1989.

MÉTODOS DE PRUEBA

Selección de los Animales: Se seleccionó y examinó a los animales para asegurarse que estaban dentro del rango adecuado de peso y se mostraron clínicamente sanos. Se identificaron y pesaron casi 0.1 kilogramos.

Preparación del Artículo: El artículo de prueba del Patrocinador consistió aparentemente de una masilla de color crema. El artículo de prueba (5 gramos cada muestra 2 y 11) fue colocado en un contenedor estéril con 7 gramos aprox. de solución salina estéril y mezclado con una espátula, luego se amasó durante 20-60 segundos aprox. hasta que el producto tuvo la consistencia de una masilla. El artículo de prueba fue introducido en una jeringa y cortado asépticamente en 32 piezas cilíndricas. El artículo de control fue cortado en piezas de 2cm, equivalentes a piezas de 3 cm de diámetro aprox. (equivalente al tamaño de 0.35 mL aprox. del artículo de prueba) y esterilizado al vapor (gravidad).

Administración del Artículo

A los animales del Control del Grupo 1 se les implantó el material de polietileno de alta densidad (HDPE) y a los animales de Prueba del Grupo 2 se les implantó el artículo de prueba.

A los animales del Control del Grupo 1 se les implantó 2cm equivalentes a 3 cm de diámetro aprox. (equivalente al tamaño de 0.35 mL aprox. del artículo de prueba) del material de control, HDPE, implantado en cada uno de los 4 lugares del tejido subcutáneo dorsolateral. A cada uno de los animales del Grupo 2 se les inyectó 1.4 mL del material de prueba distribuidos en los cuatro lugares



Copia del Original

(dos en cada lado de la línea media dorsal, 0.35 mL/lugar implantados en el tejido subcutáneo dorsolateral).

Se les administró previamente una inyección subcutánea de buprenorfina (analgésico; 0.05 mg/kg). Se les dio anestesia general mediante una inyección combinada de 20 mg/kg de ketamina -acepromacina (0.5 mg/kg). Además, se uso gas isoflurano junto con anestesia inyectable para mantener el plano quirúrgico. Después de la anestesia general, se prepararon los conejos para la cirugía aséptica. Se raparon del área toracolumbardorsolateral. Se restregó la piel con un cepillo quirúrgico con iodínapiovidona y después se limpió con algodón mojado en alcohol.

Se realizaron dos incisiones laterales en la piel (de 3 cm aprox.) del lado de la línea media dorsal. Se creó una bolsa subcutánea en cada lado de la incisión, en la parte posterior, creando cuatro bolsas en donde se implantó el artículo. Se cerró la incisión con sutura absorbible. Se regresaron los animales a sus cajas originales, una vez recuperados de la anestesia y se mantuvieron bajo observación durante trece semanas. Se les administró una inyección subcutánea adicional de buprenorfina (0.05 mg/kg) la mañana siguiente al procedimiento, a discreción del veterinario encargado.

Signos Clínicos / Observaciones de Salud Generales: Se observó diariamente los signos clínicos de toxicidad y salud general de los animales.

Peso Corporal: Se pesó a los animales sin ayuno antes de la administración del artículo y posteriormente cada semana hasta la terminación de la prueba.

Ensayos de Hematología: Después del periodo de implantación de 13 semanas, se tomó una muestra de la arteria central de la oreja para la evaluación hematológica. Antes de la recolección de sangre, se sedó a los animales con acepromacina (0.1-1.0 mg/kg) para facilitar su manejo. Se recolectó la sangre antes de la necropsia de los animales que no estuvieron en ayuno. Toda la sangre se colocó en tubos EDTA y se evaluaron los siguientes parámetros:

Conteo de Eritrocitos (RBC)
Recuento de Leucocitos (WBC)
Hemoglobina (Hgb)

Hematocitos (HCT)
Conteo Diferencial de Glóbulos Blancos

Conteo de Plaquetas (PLT)
Hemoglobina Corpuscular Media (MCH)
Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CCMH ó MCHC)
Volumen Corpuscular Medio (MCV)

Ensayos de Coagulación: Después del periodo de implantación de 13 semanas, se tomaron muestras de sangre para la evaluación de coagulación. Se recolectó la sangre antes de realizar la necropsia de los animales sin ayuno. Se recolectaron las muestras de sangre y se centrifugaron hasta suero. Se evaluaron los siguientes parámetros del suero:

Aspartato Aminotransferasa (AST)
Alanina Aminotransferasa (ALT)
Gama Glutamyltransferasa (GGT)
Glucosa
Nitrógeno Ureico Sanguíneo (BUN)

Creatinina
Proteína total
Globulina y Radio A/G
Sodio
Potasio

Cloruro
Calcio
Fósforo Inorgánico
Colesterol
Triglicéridos

Terminación: Después de 13 semanas de implantación y de la recolección de sangre, se inyectó a todos los animales Pentobarbital de Sodio a base de una solución de eutanasia seguida de la necropsia y recolección de tejido.

Necropsia: Después de la implantación de 13 semanas, se realizó la necropsia a todos los animales. La necropsia incluyó la examinación de lo siguiente, para lo que se registró cualquier hallazgo importante: superficies corporales externas, todos los orificios, cavidad craneal y contenido, cavidad



Copia del Original

torácica y contenido y cavidad abdominal y contenido. Los animales programados para la necropsia tenían todos los tejidos mencionados en la Lista de Tejidos de Necropsia (Ver abajo) recolectados en la necropsia y preservados en formalina al 10%.

Se tomaron y se pesaron los siguientes tejidos: cerebro, timo, hígado, riñones, glándulas suprarrenales (pares), espina y gónadas (testículos/ovarios; pares).

Los tejidos enlistados abajo fueron recolectados en la necropsia después de la exposición de 13 semanas y preservados en formalina al 10%.

Lista de Tejidos recolectados en la necropsia

Cualquier lesión gruesa	Lugares de implantación (4)	Nervio Ciático
Glándulas suprarrenales	Jejunum*	Vesículas seminales
Aorta (torácica)	Riñones	Músculo esquelético
Cerebro	Glándulas lagrimales	Piel
Ciego	Hígado	Espina
Colon	Pulmones	Cordón espinal
Duodeno	Nódulo Linfático (drenado)	Esternón (con médula)
Epidídimo	Nódulo Linfático (mesentérico)	Estómago
Esófago	Glándulas mamarias (hembras)	Timo
Ojos	Páncreas	Tiroides / paratiroides
Fémur	Glándula Pituitaria	Tráquea
Gónadas	Próstata	Vejiga urinaria
Corazón	Recto	Útero
Ileon	Glándulas salivales	Vagina

incluyendo secciones de médula/Puente de Varolio (Protuberancia), corteza del cerebelo, y corteza cerebral.
incluyendo cervix y oviductos

Histopatología: Los tejidos recolectados de los animales de prueba y de control enlistados en la Lista de Tejidos de Histopatología (ver abajo) se evaluaron microscópicamente. Los lugares de implantación fueron evaluados sobre la respuesta del tejido e inflamación.

Lista de Tejidos recolectados - Histopatología

Cualquier lesión gruesa	Intestino: delgado	Nódulo Linfático (drenado)
Glándulas suprarrenales	Intestino: grueso	Páncreas
Cerebro	Riñones	Espina
Gónadas (testículos/ovarios)	Hígado	Vejiga urinaria
Corazón	Recto	Timo
Lugares de implantación (1)	Nódulo Linfático (mesentérico)	

MÉTODO PARA EL CONTROL DE BIAS

Se pesaron los animales y fueron asignados sistemáticamente por sexo en dos grupos. La asignación sistemática de los grupos fue como sigue: el animal más pesado por sexo asignado al Grupo 1, el siguiente animal más pesado para dicho sexo asignado al Grupo 2, el siguiente animal más pesado hacia el Grupo 2, el siguiente animal más pesado hacia el Grupo 1, siguiendo con este patrón hasta que cada grupo tuviera un total completo de animales.

ANÁLISIS DE DATOS

Las desviaciones estándar y promedios de los pesos corporales de los animales semanalmente, peso de los órganos y química clínica, coagulación y parámetros hematológicos se compararon entre los grupos de control y de prueba.

MÉTODOS ESTADÍSTICOS

El análisis estadístico se realizó en los pesos de los órganos, hematología, coagulación, química sanguínea y datos de peso corporal semanales para comparar los grupos de tratamiento (Prueba vs



Copia del Original

Control). Los datos se analizaron por separado para los machos y hembras. Los métodos estadísticos usados para los datos fueron seleccionados conforme a lo apropiado: los datos paramétricos se analizaron usando un Análisis de Variación de una vía, los datos no paramétricos fueron analizados usando la prueba de Kruskal-Wallis. La Probabilidad (p) < 0.05 se consideró significativa.

RESULTADOS

Administración del Artículo: Se muestran los datos de los animales por individual en la Tabla A1. A cada animal se le implantó el artículo de control o de prueba en el tejido subcutáneo dorsal sin complicaciones.

Mortalidad/Signos Clínicos/Observaciones de Salud General: Los datos individuales de los animales se muestran en la Tabla A2. Todos los animales sobrevivieron durante el tiempo del estudio. No hubieron observaciones relacionados con el artículo de prueba. Se observó que en el Día 7 un macho del Grupo 2 de prueba tenía una incisión abierta (de 0.5 cm aprox.) en el sitio de prueba caudal dorsal. El sitio fue secado y raspado y se le colocó una media para proteger el sitio hasta el Día 10.

Pesos Corporales: Los datos individuales de los animales se muestran en la Tabla A3 y A4 y se resumen en la Tabla 2. Todos los animales ganaron peso durante el transcurso del estudio. El promedio de peso corporal fue similar sin diferencias estadísticas observadas entre las hembras o machos del grupo de prueba o de control.

Hematología y Coagulación: Los datos individuales de los animales se muestran en la Tabla A5 y Tabla A6 y se resumen en la Tabla 3. No existieron diferencias estadísticas en los parámetros entre los animales del grupo de prueba o de control. Aunque hubo una diferencia estadística en un parámetro hematológico de una hembra (RDW), entre los animales del grupo de control y de prueba, no se consideró biológicamente o toxicológicamente significativa. No existieron diferencias estadísticas en los parámetros de coagulación entre los animales del grupo de control y los de prueba.

Química Clínica: Los datos individuales de los animales se muestran en la Tabla A7 y Tabla A8 y se resumen en la Tabla 4. No existieron diferencias estadísticas en la química clínica de los machos entre los animales del grupo de prueba o de control. Hubo una diferencia estadística en un parámetro químico clínico de una hembra (Rango A/G), entre el grupo de control y de prueba, pero no se consideró biológicamente o toxicológicamente significativa.

Peso de los Órganos: Los datos individuales de los animales se muestran en la Tabla A9 y Tabla A10 y se resumen en la Tabla 5. No existieron diferencias estadísticas en el peso de los órganos entre los animales del grupo de prueba o de control.

Hallazgos en la Necropsia: Los datos individuales de los animales se muestran en la Tabla A11. Se observó que en dos grupos de control, machos, animales (no. 9848, 9854) tenían puntos oscuros, de aprox. 2 mm de diámetro, en el páncreas al momento de la necropsia. Un macho del grupo de prueba (no. 9847) tuvo sólo un glándula suprarrenal, que se pesó y recolectó al momento de la necropsia. Esto se consideró una anomalía anatómica. Por que sólo hubo una glándula y el peso del órgano no podía ser comparado como con los otros animales de éste grupo, éste pero de la glándula suprarrenal del animal no se incluyó en el promedio y el cálculo de la desviación estándar o el análisis estadístico. Todos los demás animales fueron observados como macroscópicamente normales.

Histopatología: El Reporte de Histopatología completo se encuentra en el Apéndice B. No existieron cambios de tejido microscópicos que indicaran toxicidad sistémica en éste estudio. Una cápsula de tejido conectivo bien desarrollada caracterizó los lugares de implantación en los animales de control. Fueron evidentes en la cápsula y en los tejidos subyacentes macrófagos y cantidades pequeñas de heterófilos y linfocitos. Los lugares de implantación para los animales de prueba estuvieron presentes en dos formas diferentes. Fragmentos del material de prueba se esparcieron libremente dentro de los



Copia del Original

tejidos subcutáneos o se agruparon en una sola cápsula de tejido conectivo. La cápsula era más delgada que la que se observó en los lugares de implantación del grupo de control. La cápsula estaba compuesta de tejido conectivo maduro generalmente desprovisto de células inflamatorias. El material de prueba tenía una apariencia parecida a un tejido osteoide y estaba rodeado de algunos pocos a algunos más macrófagos, linfocitos y células gigantes multinucleares. También se observaron heterófilos y eosinófilos en algunos lugares. Neovascularización, notada algunas veces en presencia de microhemorragias se detectaron en los tejidos blandos de alrededor de los fragmentos del material de prueba. La evaluación del potencial no irritante de BP-BioPaste estuvo basada en la diferencia entre los registros de nivel de irritación del BP-BioPaste (8.9) y el Polietileno de Alta Densidad o HDPE (6.1), el artículo de control.

RESUMEN

Se le implantó a cada animal el artículo de prueba o de control en el tejido subcutáneo dorsal sin complicaciones. Todos los animales sobrevivieron durante el tiempo del estudio. No existieron observaciones de salud general o clínicas relacionadas con el artículo de prueba. Todos los animales ganaron peso durante el transcurso del estudio y el promedio del peso corporal fue similar sin diferencias estadísticas observadas entre las hembras o machos del grupo de control y los del grupo de prueba. Aunque hubo una diferencia estadística en el parámetro hematológico y un parámetro químico clínico, no fueron considerados biológicamente o toxicológicamente significativos. No existieron diferencias estadísticas en los parámetros de coagulación entre los animales del grupo de control y del grupo de prueba. No hubieron diferencias estadísticas en el peso de órganos entre los animales del grupo de control y del grupo de prueba. El Día 91 del estudio (13 semanas) no hubieron observaciones relacionadas con el artículo de prueba sobre la necropsia. No hubieron cambios de tejido microscópicos que indicaran toxicidad sistémica en éste estudio. Una cápsula de tejido conectivo caracterizó los lugares de implantación en los animales de control. Fueron evidentes macrófagos y pequeñas cantidades de heterófilos y linfocitos en la cápsula y en tejidos subyacentes. Los lugares de implantación para los animales de prueba estuvieron presentes en dos formas. Fragmentos del material de prueba fueron liberados libremente dentro de los tejidos subcutáneos y agrupados en una sola cápsula de tejido conectivo. La cápsula era más delgada que la que se observó en los lugares de implantación del grupo de control. La cápsula estaba compuesta de tejido conectivo maduro generalmente desprovisto de células inflamatorias. El material de prueba tenía una apariencia parecida a un tejido osteoide y estaba rodeado de algunos pocos a algunos más macrófagos, linfocitos y células gigantes multinucleares. También se observaron heterófilos y eosinófilos en algunos lugares. Neovascularización, notada algunas veces en presencia de microhemorragias se detectaron en los tejidos blandos de alrededor de los fragmentos del material de prueba. La evaluación del potencial no irritante de BP-BioPaste estuvo basada en la diferencia $(8.9 - 6.1 = 2.8)$ entre los registros de nivel de irritación del BP-BioPaste (8.9) y el Polietileno de Alta Densidad o HDPE (6.1), el artículo de control.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de éste estudio, el artículo de prueba, BG-BioPaste, DR000608, Lote No. 2-11, fue considerado no irritante sin evidencia microscópica de toxicidad sistémica o tendencia toxicológica atribuida al artículo de prueba al compararlo con el artículo de control (HDPE) después de 13 semanas de implantación subcutánea.

REFERENCIAS TÉCNICAS

- ISO 10993-1, Evaluación Biológica de Dispositivos Médicos – Parte 1: Evaluación y Prueba Dentro de una Sistema de Gestión de Riesgos (2003).
- ISO 10993-6, Evaluación Biológica de Dispositivos Médicos – Parte 6: Prueba de Efectos Locales Posteriores a la Implantación (2001).
- ISO 10993-11, Evaluación Biológica de Dispositivos Médicos – Parte 11: Prueba de Toxicidad Sistémica (2006).

Copia del Original

Tabla 2: Resumen del Peso Corporal (Kg) y Cambios en el Peso Corporal (Kg)
Desviación Estándar Promedio $\pm$ (SD, por sus siglas en inglés)

		Males		Females	
		Group 1 - Control N=4	Group 2 - Test N=4	Group 1 - Control N=4	Group 2 - Test N=4
Pre-implant	Mean	2.7	2.7	2.8	2.8
	SD	0.2	0.2	0.2	0.2
Week 1	Mean	3.0	2.8	3.0	3.0
	SD	0.2	0.2	0.1	0.2
Week 2	Mean	3.1	3.1	3.0	3.1
	SD	0.2	0.1	0.1	0.4
Week 3	Mean	3.3	3.2	3.3	3.2
	SD	0.2	0.1	0.2	0.3
Week 4	Mean	3.4	3.3	3.4	3.4
	SD	0.3	0.2	0.2	0.4
Week 5	Mean	3.5	3.3	3.5	3.5
	SD	0.3	0.2	0.2	0.4
Week 6	Mean	3.6	3.4	3.6	3.6
	SD	0.3	0.2	0.2	0.3
Week 7	Mean	3.7	3.4	3.8	3.7
	SD	0.3	0.3	0.2	0.5
Week 8	Mean	3.8	3.5	3.8	3.7
	SD	0.3	0.1	0.2	0.3
Week 9	Mean	3.8	3.6	4.0	3.7
	SD	0.3	0.2	0.2	0.5
Week 10	Mean	3.9	3.7	4.0	3.9
	SD	0.3	0.2	0.2	0.6
Week 11	Mean	4.0	3.8	4.1	3.9
	SD	0.4	0.2	0.2	0.7
Week 12	Mean	4.1	3.8	4.1	3.9
	SD	0.4	0.3	0.2	0.7
Week 13	Mean	4.1	3.8	4.2	4.0
	SD	0.3	0.3	0.2	0.8
Weight Change (Week 13 - Pre-implant)	Mean	1.4	1.2	1.3	1.2
	SD	0.2	0.3	0.2	0.7

Males
Females
Group 1 - Control
Group 2 - Test
Pre-implant
Week 1
WeightChange
Week 13 - pre-implant
SD
Mean

Machos
Hembras
Grupo de Control 1
Grupo de Prueba 2
Antes del Implante
Semana 1
Cambio del peso
semana 13 - antes de la implantación
Desviación Estándar
Promedio / Media

Copia del Original

**Tabla 3: Media de los Valores de Hematología - Desviación Estándar Promedio/Media $\pm$ [SD]
Células blancas, Células rojas, Plaquetas y Coagulación**

		MALES		FEMALES	
		GROUP 1 - CONTROL N=4	GROUP 2 - TEST N=4	GROUP 1 - CONTROL N=4	GROUP 2 - TEST N=4
WBC (K/uL)	Mean	5.98	6.37	5.35	5.65
	SD	1.61	1.64	0.84	1.35
NEU (K/uL)	Mean	1.83	1.75	1.37	2.25
	SD	0.38	0.42	0.20	0.47
LYM (K/uL)	Mean	3.95	4.57	3.34	3.25
	SD	1.26	1.04	0.77	1.13
MONO (K/uL)	Mean	0.14	0.15	0.10	0.14
	SD	0.03	0.12	0.05	0.09
EOE (K/uL)	Mean	0.04	0.03	0.04	0.02
	SD	0.04	0.02	0.01	0.01
BASO (K/uL)	Mean	0.02	0.01	0.02	0.02
	SD	0.01	0.01	0.01	0.01
% NEU	Mean	31.45	27.62	35.36	40.44
	SD	5.22	2.21	5.23	5.65
% LYMPH	Mean	65.25	69.17	61.73	55.99
	SD	5.11	2.03	5.61	6.57
% MONO	Mean	2.33	2.29	1.80	2.34
	SD	0.35	1.25	0.81	0.99
% EOE	Mean	0.51	0.45	0.67	0.39
	SD	0.46	0.23	0.27	0.17
% BASO	Mean	0.35	0.18	0.40	0.23
	SD	0.18	0.13	0.71	0.20
RBC (M/uL)	Mean	6.20	6.63	6.63	6.92
	SD	0.39	0.49	0.16	0.40
HGB (G/dL)	Mean	12.5	12.9	11.6	11.8
	SD	0.8	0.7	0.3	0.7
HCT (%)	Mean	37.5	38.7	35.2	35.2
	SD	2.2	1.8	1.1	2.6
MCV (fL)	Mean	60.5	59.6	58.4	59.6
	SD	1.7	1.8	3.2	2.4
MCH (PG)	Mean	20.1	19.5	19.2	19.9
	SD	0.7	0.4	1.0	0.9
MCHC (G/dL)	Mean	33.2	32.6	32.9	33.5
	SD	0.6	0.3	1.0	0.6
RDW (%)	Mean	14.6	15.1	14.9	13.9
	SD	0.5	0.5	0.6	0.4
PLT (K/uL)	Mean	259	282	242	252
	SD	37	65	62	96
MPV (fL)	Mean	4.6	7.1	6.3	6.7
	SD	3.3	1.3	1.4	1.4
PT (SEC)	Mean	6.7	7.0	6.9	7.0
	SD	0.1	0.3	0.3	0.4
APTT (SEC)	Mean	14.5	13.9	21.8	21.9
	SD	1.2	0.8	2.6	0.9

*p<0.05

Males
Females
Group 1 - Control
Group 2 - Test
Pre-implant
Week 1
Weight/Change
Week 13 - pre-implant
SD
Mean

Machos
Hembras
Grupo de Control 1
Grupo de Prueba 2
Antes del Implante
Semana 1
Cambio del peso
semana 13 - antes de la implantación
Desviación Estándar
Promedio / Media

Copia del Original

Tabla 4: Resumen del los Valores Químico Clínicos - Desviación Estándar Promedio/Media $\pm$ [SD]

		MALES		FEMALES	
		GROUP 1 - CONTROL n=4	GROUP 2 - TEST n=4	GROUP 1 - CONTROL n=4	GROUP 2 - TEST n=4
ALP (IU/L)	Mean	108	53	82	47
	SD	72	27	58	22
ALT (IU/L)	Mean	31	31	36	28
	SD	5	9	19	7
AST (IU/L)	Mean	20	18	12	10
	SD	7	6	6	3
CREAT (mg/dL)	Mean	1.0	0.9	1.2	1.2
	SD	0.1	0.1	0.1	0.2
GGT (IU/L)	Mean	5	5	10	10
	SD	2	2	2	2
BUN (mg/dL)	Mean	18	18	24	24
	SD	4	3	5	3
TBIL (mg/dL)	Mean	0.2	0.2	0.2	0.2
	SD	0.0	0.1	0.0	0.0
GLU (mg/dL)	Mean	179	165	160	157
	SD	11	12	26	29
CHOL (mg/dL)	Mean	37	30	52	55
	SD	13	20	6	8
TRIG (mg/dL)	Mean	238	224	58	88
	SD	127	157	7	23
Tprot (g/dL)	Mean	5.4	5.7	5.5	5.2
	SD	0.2	0.5	0.3	0.4
ALB (g/dL)	Mean	4.0	4.2	3.9	3.9
	SD	0.2	0.2	0.2	0.3
GLOB (g/dL)	Mean	1.4	1.5	1.6	1.4
	SD	0.2	0.2	0.1	0.2
A/G Ratio	Mean	2.9	2.8	2.4	2.9
	SD	0.4	0.4	0.1	0.3
Ca ⁺⁺ (mg/dL)	Mean	13.0	13.1	13.4	13.2
	SD	0.3	0.5	0.7	0.7
PHOS (mg/dL)	Mean	3.4	3.5	3.2	3.4
	SD	0.5	0.6	0.1	0.6
Na ⁺ (mM/L)	Mean	139.0	139.6	141.6	139.0
	SD	2.2	0.7	6.7	0.8
K ⁺ (mM/L)	Mean	3.48	3.52	3.75	3.54
	SD	0.57	0.22	0.35	0.48
Cl ⁻ (mM/L)	Mean	104.0	104.1	105.6	104.5
	SD	0.9	4.0	4.8	2.3

*p<0.05

Males
Females
Group 1 - Control
Group 2 - Test
Pre-implant
Week 1
Weight Change
Week 13 - pre-implant
SD
Mean

Machos
Hembras
Grupo de Control 1
Grupo de Prueba 2
Antes del implante
Semana 1
Cambio del peso
semana 13 - antes de la implantación
Desviación Estándar
Promedio / Media



Copia del Original

Tabla 5: Resumen del Peso Corporal (g) – Desviación Estándar Promedio/Media $\pm$ [SD]

		MALES		FEMALES	
		GROUP 1 – CONTROL N=4	GROUP 2 – TEST N=4	GROUP 1 – CONTROL N=4	GROUP 2 – TEST N=4
BRAIN	Mean	10.287	9.337	9.955	9.600
	SD	1.176	1.444	1.013	0.657
THYMUS	Mean	8.606	12.001	8.566	8.657
	SD	2.922	6.001	2.835	3.263
ADRENALS	Mean	0.032	0.715	0.423	0.593
	SD	0.253	0.216	0.067	0.197
LIVER	Mean	151.425	131.750	110.725	100.560
	SD	20.744	22.090	11.535	28.009
KIDNEYS	Mean	20.251	25.188	20.805	10.018
	SD	3.533	4.813	2.704	3.744
SPLEEN	Mean	2.307	1.979	2.818	2.507
	SD	0.686	0.435	0.640	0.983
TESTES	Mean	8.875	6.554	0.530	0.593
	SD	0.783	1.467	0.235	0.108

A Machos del Grupo de Prueba 2 n = 3

Males
Females
Group 1 – Control
Group 2 – Test
Pre-implant
Week 1
Weight Change
Week 13 – pre-implant
SD
Mean
Brain
Thymus
Adrenals
Liver
Kidneys
Testes

Machos
Hembras
Grupo de Control 1
Grupo de Prueba 2
Antes del Implante
Semana 1
Cambio del peso
semana 13 - antes de la implantación
Desviación Estándar
Promedio / Media
Cerebro
Timo
Glándulas suprarrenales
Hígado
Riñones
Testículos



Copia del Original

Apéndice

Datos Individuales de los Animales



Copia del Original

Tabla A1: Confirmación del Implante y Administración Analgésica

GROUP	SEX	ANIMAL #	IMPLANT COMPLETED	COMMENTS	BUPRENORPHINE ADMINISTRATION (NL)	
					PRE-OP	POST-OP
Group 1 - Control	Males	9848	✓	NC	0.47	0.47
		9851	✓	NC	0.48	0.48
		9852	✓	NC	0.42	0.42
		9854	✓	NC	0.43	0.43
	Females	9840	✓	NC	0.47	0.47
		9841	✓	NC	0.47	0.47
		9845	✓	NC	0.43	0.43
		9846	✓	NC	0.52	0.52
Group 2 - Test	Males	9847	✓	NC	0.43	0.43
		9849	✓	NC	0.43	0.43
		9850	✓	NC	0.47	0.47
		9855	✓	NC	0.48	0.48
	Females	9834	✓	NC	0.45	0.45
		9839	✓	NC	0.50	0.50
		9842	✓	NC	0.50	0.50
		9843	✓	NC	0.43	0.43

✓ = Terminado
NC = Sin complicaciones

GROUP
SEX
IMPLANTCOMPLETED
COMMENTS
NC
BUPRENORPHINE
Males
Females
Group 1 - Control
Group 2 -Test
Pre-implant
PRE-OP
POST-OP

GRUPO
SEXO
IMPLANTACIÓN TERMINADA
COMENTARIOS
SIN COMPLICACIONES
BUPRENORFINA
Machos
Hembras
Grupo de Control 1
Grupo de Prueba 2
Antes del implante
PRE OPERATORIO
POST OPERATORIO



Copia del Original

Tabla A2: Observaciones Generales de Salud

DAY	GROUP 1 - CONTROL	GROUP 2 - TEST
1	✓	✓
2	✓	✓
3	✓	✓
4	✓	✓
5	✓	✓
6	✓	✓
7	✓	0855: Dorsal caudal implantation site incision open (~0.5cm) but dried and wound is closed 'scabbed', Stockinet applied to protect until sutures resolved.
8	✓	0855: Replaced stockinet
9	✓	0855: Replaced stockinet
10	✓	0855: Caudal incision closed and scabbed. Stockinet removed.
11	✓	✓
12	✓	✓
13	✓	✓
14	✓	✓
15	✓	✓
16	✓	✓
17	✓	✓
18	✓	✓
19	✓	✓
20	✓	✓
21	✓	✓
22	✓	✓
23	✓	✓
24	✓	✓
25	✓	✓
26	✓	✓
27	✓	✓
28	✓	✓
29	✓	✓
30	✓	✓
31	✓	✓
32	✓	✓
33	✓	✓
34	✓	✓
35	✓	✓
36	✓	✓
37	✓	✓
38	✓	✓
39	✓	✓
40	✓	✓
41	✓	✓
42	✓	✓
43	✓	✓
44	✓	✓
45	✓	✓
46	✓	✓
47	✓	✓
48	✓	✓
49	✓	✓

✓ = Apariencia normal de los animales

DAY

Group 1 - Control

Group 2 - Test

Pre-implant

PRE-OP

POST-OP

Replaced stockinet

7 -

Caudal incision closed and scabbed
Stockinet removed

DÍA

Grupo de Control 1

Grupo de Prueba 2

Antes del Implante

PRE OPERATORIO

POST OPERATORIO

media de nylon remplazada

incisión abierta en el sitio de implantación caudal dorsal (0.5 cm) seca y con costra. Malla de nylon colocada al animal hasta suturar.

incisión caudal cerrada y con costra

Malla de nylon retirada



Copia del Original

Tabla A2: Observaciones Generales de Salud (continuación)

DAY	GROUP 1 - CONTROL	GROUP 2 - TEST
50	✓	✓
51	✓	✓
52	✓	✓
53	✓	✓
54	✓	✓
55	✓	✓
56	✓	✓
57	✓	✓
58	✓	✓
59	✓	✓
60	✓	✓
61	✓	✓
62	✓	✓
63	✓	✓
64	✓	✓
65	✓	✓
66	✓	✓
67	✓	✓
68	9949: clumps of hair at bottom of cage	✓
69	9949: No hair in cage present	✓
70	✓	✓
71	✓	✓
72	✓	✓
73	✓	✓
74	✓	✓
75	✓	✓
76	✓	✓
77	✓	✓
78	✓	✓
79	✓	✓
80	✓	✓
81	✓	✓
82	✓	✓
83	✓	✓
84	✓	✓
85	✓	✓
86	✓	✓
87	✓	✓
88	✓	✓
89	✓	✓
90	✓	✓
91	✓	✓

✓ = Apariencia normal de los animales
DAY
Group 1 - Control
Group 2 - Test
Clumps of hair at bottom of cage
No hair in cage present

D/A
Grupo de Control 1
Grupo de Prueba 2
Grupos de cabello al fondo de la caja
No hubieron señales de cabello en la caja

Tabla A3: Datos del Peso Corporal (Todos los Pesos corporales en Kilogramos) - Hembras

GROUP	ANIMAL #	PRE-IMPLANT	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4	WEEK 5	WEEK 6	WEEK 7	WEEK 8	WEEK 9	WEEK 10	WEEK 11	WEEK 12	WEEK 13	WEIGHT CHANGE
Group 1 - Control	9845	2.8	3.1	3.2	3.4	3.5	3.5	3.7	3.9	4.0	4.0	4.1	4.2	4.3	4.3	1.4
	9851	2.9	3.2	3.3	3.4	3.7	3.8	3.9	4.0	4.0	4.1	4.2	4.4	4.4	4.5	1.5
	9852	2.5	2.8	2.9	3.0	3.1	3.2	3.2	3.3	3.3	3.4	3.5	3.5	3.5	3.7	1.2
	9854	2.5	2.8	3.0	3.2	3.3	3.3	3.5	3.5	3.7	3.7	3.9	3.9	3.9	4.1	1.5
Group 2 - Test	9847	2.9	2.7	3.0	3.1	3.2	3.2	3.4	3.5	3.5	3.6	3.8	3.8	4.0	4.0	1.1
	9849	2.5	2.7	2.9	3.1	3.1	3.0	3.1	3.0	3.3	3.3	3.5	3.5	3.5	3.5	0.9
	9850	2.8	3.0	3.2	3.3	3.5	3.5	3.7	3.7	3.8	3.8	3.9	4.0	4.2	4.2	1.4
	9855	2.9	2.9	3.1	3.2	3.2	3.2	3.4	3.4	3.5	3.6	3.6	3.7	3.8	3.8	0.9

Tabla A4: Datos del Peso Corporal (Todos los Pesos corporales en Kilogramos) - Hembras

GROUP	ANIMAL #	PRE-IMPLANT	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4	WEEK 5	WEEK 6	WEEK 7	WEEK 8	WEEK 9	WEEK 10	WEEK 11	WEEK 12	WEEK 13	WEIGHT CHANGE
Group 1 - Control	9840	2.8	3.0	3.1	3.4	3.6	3.6	3.7	3.9	3.9	3.9	3.8	3.5	4.1	4.1	1.3
	9841	2.8	2.9	2.9	3.1	3.3	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.7	3.9	3.9	3.9	1.1
	9845	2.6	2.9	2.9	3.2	3.3	3.4	3.5	3.5	3.9	4.1	4.1	4.3	4.3	4.2	1.6
	9846	3.1	3.1	3.1	3.4	3.5	3.6	3.6	3.9	4.0	4.1	4.2	4.3	4.2	4.4	1.3
Group 2 - Test	9838	2.7	2.8	2.9	3.1	3.1	3.2	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.6	3.6	3.6	0.9
	9839	3.0	3.0	3.2	3.3	3.4	3.5	3.5	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	3.4	3.5	0.5
	9842	3.0	3.3	3.5	3.5	3.6	3.6	4.0	4.3	4.0	4.0	4.0	4.9	4.9	5.1	2.1
	9843	2.5	2.7	2.7	2.9	3.0	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.5	3.6	3.7	3.7	1.1

Grupo de Control 1
Grupo de Prueba 2
Antes del Implante
Semana 1
Cambio del peso

Group 1 - Control
Group 2 - Test
Pre-implant
Week 1
WeightChange



Copia del Original

Tabla A5: Valores Hematológicos Individuales de los Machos
Células Blancas

GROUP #	Animal #	WBC K/uL	Neu K/uL	Lym K/uL	Mono K/uL	Eos K/uL	Baso K/uL	% Neu	% Lymph	% Mono	% Eos	% Baso
GROUP 1	9848	7.00	1.75	5.03	0.14	0.08	0.01	24.99	71.79	1.99	1.11	0.12
	9851	3.78	1.42	2.23	0.09	0.00	0.01	37.78	59.82	2.51	0.07	0.38
	9852	7.32	2.33	4.74	0.15	0.06	0.03	31.89	64.77	2.09	0.85	0.49
	9854	6.62	1.81	3.79	0.16	0.02	0.03	31.17	68.65	2.73	0.40	0.54
GROUP 2 - TEST	9847	4.74	1.46	3.14	0.11	0.02	0.01	30.00	66.30	2.33	0.45	0.12
	9849	6.54	1.89	4.58	0.06	0.05	0.00	29.61	73.85	0.79	0.71	0.08
	9850	5.80	1.50	4.14	0.13	0.01	0.02	29.43	71.34	2.26	0.16	0.37
	9855	8.40	2.37	5.55	0.32	0.04	0.02	28.22	67.31	3.80	0.49	0.18

Tabla A5: (Continuación)
Valores Hematológicos Individuales de los Machos.
Células Rojas, Plaquetas & Coagulación

GROUP #	Animal #	RBC M/uL	Hgb g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	RDW %	PLT K/uL	MPV fL	PT (sec)	APTT (sec)
GROUP 1	9848	6.64	12.7	39.7	58.3	19.1	32.8	15.2	270	5.8	6.0	18.5
	9851	5.89	11.9	39.2	61.5	20.0	32.6	14.1	242	6.5	6.3	17.5
	9852	6.43	13.4	39.9	62.0	20.8	33.6	14.0	321	6.0	6.7	17.6
	9854	5.85	11.9	35.2	60.1	20.3	33.8	15.0	241	7.1	6.7	20.2
GROUP 2 - TEST	9847	6.12	12.3	37.9	61.8	20.1	32.5	15.1	304	7.6	6.6	18.2
	9849	6.86	13.3	40.8	59.5	19.4	32.0	14.4	219	8.5	6.6	17.9
	9850	6.35	12.4	38.4	60.4	19.5	32.2	15.7	233	5.4	7.3	18.7
	9855	7.19	13.7	41.6	57.9	19.1	32.9	15.3	241	7.9	7.2	19.9

Group No.
Group 1 - Control
Group 2 - Test
Animal no.
Lym
Lymph

No. de Grupo
Grupo de Control 1
Grupo de Prueba 2
No. de Animal
Lim
Linf



Copia del Original

Tabla 6A: Datos hematológicos de cada animal hembra
Glóbulos Blancos

GRUPO #	ANIMAL #	WBC K/uL	Neu K/uL	Lym K/uL	Mono K/uL	Eos K/uL	Baso K/uL	% Neu	% Linfa	%Mono	% Eos	% Baso
GRUPO 1	9840	4.92	1.89	2.97	0.03	0.03	0.01	38.35	60.37	0.56	0.53	0.19
	9841	5.78	1.66	3.96	0.12	0.03	0.02	28.68	68.44	1.99	0.59	0.31
	9845	4.44	1.80	2.44	0.12	0.05	0.03	40.49	55.02	2.74	1.07	0.68
CONTROL	9846	6.30	2.14	3.99	0.12	0.03	0.03	33.90	63.30	1.92	0.47	0.41
GRUPO 2	9838	4.68	1.55	2.99	0.12	0.02	0.00	33.13	63.83	2.62	0.38	0.04
	9839	7.62	2.46	4.88	0.26	0.01	0.02	32.22	64.00	3.37	0.19	0.22
	9842	4.80	2.38	2.28	0.11	0.02	0.01	49.57	47.52	2.37	0.38	0.16
CONTROL	9843	5.54	2.60	2.83	0.05	0.03	0.03	46.85	51.03	0.99	0.61	0.51

Tabla 6A: (continua)
Valores hematológicos de cada animal hembra
Glóbulos rojos, Plaquetas y Coagulación

GRUPO #	ANIMAL #	WBC K/uL	Neu K/uL	Lym K/uL	Mono K/uL	Eos K/uL	Baso K/uL	% Neu	% Linfa	%Mono	% Eos	% Baso
GRUPO 1	9840	6.14	11.6	34.0	55.3	18.9	34.1	14.9	326	5.6	7.2	23.2
	9841	5.89	11.8	35.4	60.1	20.0	33.3	14.5	211	6.1	6.5	22.8
	9845	5.91	11.8	36.6	62.0	20.0	32.2	14.3	182	8.1	7.0	19.4
CONTROL	9846	6.16	11.1	34.6	56.1	18.0	32.1	15.7	248	4.7	7.0	17.8
GRUPO 2	9838	6.38	12.3	37.1	58.2	19.3	33.2	14.1	326	7.6	7.3	22.0
	9839	5.81	11.1	33.1	57.0	19.1	33.5	14.1	115	5.1	7.3	22.8
	9842	6.05	12.6	37.8	62.4	20.8	33.3	13.9	307	6.0	6.4	21.9
CONTROL	9843	5.42	11.3	32.8	60.6	20.8	34.5	13.2	258	8.1	7.1	20.7

Tabla A7: Datos químicos de cada animal - Machos

Grupo #	Animal #	ALP U/L	ALT U/L	AST U/L	Creat mg/dL	GGT U/L	BUN mg/dL	TBIL mg	GLU mg/dL	COL mg/dL	TRIG mg/dL	Tprot g/dL	ALB g/dL	Glob g/dL	Indice A/G	Ca ⁺⁺ mg/dL	FOSF mg/dL	Na ⁺ mM/L	K ⁺ mM/L	Cl mM/L
Grupo 1	9848	81	33	17	1.0	10	14	0.2	181	53	393	5.5	3.9	1.6	2.4	13.2	3.7	138.6	3.83	104.1
	9851	59	30	17	0.8	9	17	0.2	191	22	143	5.5	4.1	1.4	2.9	12.5	2.7	141.2	2.83	104.6
	9852	213	24	15	1.1	8	22	0.2	180	39	128	5.1	3.8	1.3	2.9	13.0	3.8	136.0	4.04	102.7
	9854	71	35	31	0.9	6	20	0.2	164	34	293	5.3	4.1	1.2	3.4	13.2	3.2	140.0	3.13	104.4
Grupo 2	9847	66	40	21	1.1	8	20	0.2	171	35	335	5.9	4.2	1.7	2.5	13.1	4.4	138.1	3.21	98.2
	9849	26	31	18	0.9	11	16	0.1	178	23	110	5.7	4.3	1.4	3.1	13.4	3.0	139.6	3.68	104.9
	9850	84	33	17	0.8	6	14	0.2	158	69	382	6.0	4.3	1.7	2.5	13.6	3.9	138.5	3.50	95.7
	9855	36	19	8	0.9	8	21	0.1	152	30	70	5.0	3.8	1.2	3.2	12.4	2.6	138.1	3.68	105.8
Prueba																				

Tabla A8: Datos químicos de cada animal - Hembras

Grupo #	Animal #	ALP U/L	ALT U/L	AST U/L	Creat mg/dL	GGT U/L	BUN mg/dL	TBIL mg	GLU mg/dL	COL mg/dL	TRIG mg/dL	Tprot g/dL	ALB g/dL	Glob g/dL	Indice A/G	Ca ⁺⁺ mg/dL	FOSF mg/dL	Na ⁺ mM/L	K ⁺ mM/L	Cl mM/L
Grupo 1	9840	63	31	6	1.0	7	17	0.2	148	54	63	5.5	3.9	1.6	2.4	13.2	3.3	135.8	4.18	107.2
	9841	45	28	11	1.3	12	25	0.2	155	59	48	5.1	3.6	1.5	2.4	13.2	3.2	139.9	3.81	107.6
	9845	86	64	20	1.2	10	24	0.2	198	44	52	5.3	3.8	1.5	2.5	12.7	3.0	139.2	3.32	104.3
	9846	175	22	9	1.1	10	28	0.2	140	50	60	5.9	4.1	1.8	2.3	14.3	3.2	151.3	3.73	115.4
Grupo 2	9838	52	19	10	1.2	9	23	0.2	131	53	50	5.0	3.7	1.3	2.9	12.9	4.0	138.8	2.99	103.2
	9839	26	26	8	1.3	9	24	0.2	133	65	58	5.1	3.9	1.2	3.3	13.8	2.7	138.9	4.01	104.2
	9842	75	33	14	1.3	8	27	0.2	176	45	102	5.8	4.2	1.6	2.6	13.7	3.9	138.1	3.87	102.4
	9843	33	34	9	0.9	12	20	0.2	187	57	60	4.9	3.6	1.3	2.8	12.4	3.0	140.1	3.28	107.8
Prueba																				

Copia del original



Copia del Original

TABLA A9: Datos de peso de los órganos de cada animal (g) – Machos

GRUPO	ANIMAL #	Cerebro	Timo	Adrenales	Hígado	Riñones	Bazo	Testículos
Grupo 1	9848	10.8836	5.9575	0.9535	159.3	26.9261	2.6615	7.5115
	9851	11.5365	12.7819	0.4351	151.7	30.6502	2.7610	6.1334
	9852	8.8350	7.9023	0.4255	122.9	23.1497	1.4315	6.2650
Control	9854	9.9317	7.7915	0.7148	171.8	24.2770	2.3758	7.5918
	9847	7.5975	17.8809	0.3496 ^a	158.6	25.3420	1.4570	5.1210
Grupo 2	9849	10.5985	7.4816	0.6374	117.6	24.5304	2.2357	7.2050
	9850	8.7029	18.1129	0.9595	140.6	30.9410	2.4237	8.4342
	9855	10.4489	7.7291	0.5490	110.2	19.9397	1.7995	5.8575

^aAnimal #9847: Sólo una glándula adrenal incluida en el peso de los órganos, por lo tanto el peso de este órgano no fue incluido en la media y en el análisis de desviación estándar

TABLA A10: Datos de peso de los órganos de cada animal (g) – Hembras

GRUPO	ANIMAL #	Cerebro	Timo	Adrenales	Hígado	Riñones	Bazo	Testículos
Grupo 1	9840	11.4320	5.5429	0.4769	120.1	24.4876	1.9854	0.8603
	9841	9.7138	11.4028	0.3288	93.8	20.0142	2.7493	0.3136
	9845	9.5319	9.6183	0.4660	118.0	20.9490	3.5218	0.5198
Control	9846	9.1411	11.6983	0.4222	111.0	17.7708	3.0073	0.4283
	9838	8.4004	13.2300	0.7824	85.3	16.0314	2.2632	0.4215
Grupo 2	9839	9.7051	5.7720	0.4362	93.3	15.9892	2.1782	0.5378
	9842	9.8697	9.3241	0.6583	163.1	23.7393	4.2648	0.6513
	9843	10.4261	7.1026	0.4535	96.5	20.3121	1.5208	0.6427



Copia del Original

Tabla A11: Observaciones de la necropsia

SEXO	GRUPO	NÚMERO DE ANIMAL	OBSERVACIONES DE LA NECROPSIA
Macho	Grupo 1	9848	El páncreas tenía tres manchas negras oscuras de aproximadamente 2 mm de diámetro.
		9851	Normal de manera macroscópica
		9852	Normal de manera macroscópica
	Control	9854	El páncreas tenía una mancha oscura de aproximadamente 2 mm de diámetro.
		9847	Normal de manera macroscópica, sólo una glándula adrenal incluida en los pesos del órgano
		9849	Normal de manera macroscópica
	Grupo 2	9850	Normal de manera macroscópica
		9855	Normal de manera macroscópica
		9840	Normal de manera macroscópica
		9841	Normal de manera macroscópica
Hembra	Grupo 1	9845	Normal de manera macroscópica
		9846	Normal de manera macroscópica
		9838	Normal de manera macroscópica
	Control	9839	Normal de manera macroscópica
		9842	Normal de manera macroscópica
		9843	Normal de manera macroscópica
	Grupo 2		
	Prueba		

373



Copia del Original

APÉNDICE B – Reporte de patología

372

**Estudio de Toxicidad y Biocompatibilidad de Trece Semanas BC-BioPaste en Conejos****PROPÓSITO:**

El propósito de este estudio fue evaluar el potencial para los efectos sistémicos y locales del artículo de prueba para uso humano cuando es implantado en el tejido subcutáneo de conejos durante trece semanas.

MÉTODOS:

Para esta evaluación, el artículo de prueba fue implantado en el tejido subcutáneo dorso lateral de 4 conejos macho y 4 conejos hembra. El material de control de referencia fue implantado en el tejido subcutáneo dorso lateral de un grupo separado de 4 conejos macho y 4 conejos hembra como se indica en la Tabla 1. Cuatro áreas (dos en el lado izquierdo y dos en el lado derecho) por animal fueron implantados ya sea con el material de control o de prueba.

Especie de animal: Conejos**Cepa o raza del animal:** Nueva Zelanda, Blanco**Duración del estudio:****13 semanas****Identificación del artículo de prueba:****BG-BioPaste, DR000608, Lote No. 2-11****Identificación del artículo de control:****USP Polietileno de alta densidad (HDPE), Lote No. H0F046****Tabla 1: Diseño del estudio**

Grupo	Artículo	Dosis	Animales	
			Machos	Hembras
1	Control	HDPE	4	4
2	Artículo de prueba	BG-BioPaste	4	4

Los animales fueron humanamente sacrificados después de la implantación de trece semanas. Se realizaron necropsias totales y todas las alteraciones macroscópicas en los órganos y tejidos estudiados fueron registrados. El cerebro, hígado, bazo, ambos riñones, nódulo linfático mesentérico y drenaje del nódulo linfático en el área del implante, tanto glándulas adrenales (la excepción fue el Grupo 2 de animales machos No. 9847 en el que una glándula adrenal fue encontrada durante la necropsia), corazón, timo, pulmones, ambas glándula gónada, intestino delgado y grueso, páncreas, tiroides/paratiroides y área de implante (la excepción fue el Grupo 2 de animales hembra No. 9839 en el cual una sola área de implante del lado izquierdo fue identificado y llevado a necropsia) fueron recolectados de cada conejo y fijado en 10% tampón de formalina neutral. Los tejidos fueron procesados utilizando técnicas histológicas estándar, seccionadas y entintadas con hematoxilina y eosina (H&E) por parte de los Servicios de Patología de WuXi. Las secciones de tejidos fueron estudiadas de manera microscópica por un patólogo veterinario para los cambios relacionados al tratamiento en severidad y tasa de incidencia de lesiones de fondo y efectos del tratamiento basados en género. Las áreas de implante fueron estudiadas y calificadas para irritación local. Distribución (focal = F, multifocal = MF, difusa = D) y severidad (1 = mínima/leve, 2 = ligero, 3 = moderado y 4 = marcado/severo) de los resultados microscópicos, al estar presentes, fueron codificados en paréntesis después del resultado.

Se intentó preparar los nuevos cortes de cualquier tejido, por ejemplo, áreas de implante y paratiroideal, que no se encontraron después de la evaluación microscópica inicial. Los nuevos cortes de las secciones histológicas fueron estudiados. El número de paratiroides faltantes (Tablas 2-6) 3/13 áreas de implantes faltantes (que no se encontraron en la necropsia, no fueron identificados posterior al estudio microscópico o no había suficiente tejido que tuviera el área de implante para evaluar; véase Tablas 9 y 10 después de que los nuevos cortes no tuvieron impacto en la interpretación de este estudio.

Los criterios específicos histopatológicos (1) para evaluar la irritación del tejido fueron seguidos en el estudio de los cambios del tejido en cada área de implante. Se registraron y generaron las calificaciones de la prueba basados en estos criterios fueron determinados; las calificaciones promedio de las pruebas para cada grupo. Para evaluar el potencial de irritación del artículo de prueba se realizaron comparaciones entre las calificaciones promedio para las áreas de prueba en relación con las áreas de control.



- (1) Evaluación biológica de dispositivos médicos. Parte 6: Pruebas para efectos locales después de la implantación. Estándares Internacionales ISO 10993-6. 2da. Edición. 2007

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados microscópicos para cada animal en los grupos de prueba y de control están enlistados en las Tablas 2-5. Las incidencias de los resultados en los animales de prueba y de control están resumidas en la Tabla 6. Las clasificaciones de irritación en las áreas de implante en los animales de prueba y de control están resumidos en las Tablas 7-10.

No hubo cambios microscópicos en el tejido indicativos de toxicidad sistémica en este estudio. Los resultados microscópicos fueron típicos de cambios de fondo incidentales comúnmente observados en el conejo. La incidencia y severidad de lesiones espontáneas estuvieron dentro del rango esperado y las diferencias significativas de manera biológica en la incidencia y severidad de las lesiones espontáneas entre los grupos de prueba y los de control no fueron identificados. De manera similar, no se encontraron diferencias basadas en género en estas alteraciones de fondo.

En el grupo del artículo de prueba, las áreas de implante no fueron identificadas en cinco (4 machos; 1 hembra) de las 32 secciones de tejido de piel/subcutáneo. De manera adicional, una sección del área de implante no fue remitida (grupo 2 hembra Animal No. 9839). De manera importante, hubo un número suficiente de áreas de implante estudiadas aún con estas secciones faltantes para evaluar el potencial de irritación del artículo de prueba.

Observaciones microscópicas notables en las áreas de los grupos de control y del artículo de prueba incluyeron lo siguiente:

1. (Grupo 1) de Control: El área de implante estaba caracterizado por una cápsula de tejido conector bien desarrollado. Los Macrófagos y pequeños números de heterófilos y linfocitos fueron evidentes en la cápsula y tejidos subyacentes.
2. (Grupo 2) de Prueba: Las áreas de implante presentadas en dos formas diferentes. Los fragmentos del material de prueba fueron ya sea esparcidos de manera holgada dentro de los tejidos subcutáneos o en racimo dentro de una cápsula de tejido conector. La cápsula estaba comprendida de tejido conectivo maduro que por lo general no tenía células inflamatorias. El material de prueba tenía una apariencia de tipo osteoide y estaba rodeada de un mínimo número leve de macrófagos, linfocitos y células gigantes multinucleadas. La heterofilia y eosinofilia también estuvieron presente en algunas áreas. La neovascularización, frecuentemente observada en la presencia de microhemorragias, fue detectada en tejidos blandos alrededor de los fragmentos de material de prueba.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de este estudio de toxicidad y biocompatibilidad en el cual BG-BioPaste fue implantado de manera subcutánea en ratas durante trece semanas, se concluyó que: 1) no hubo evidencia de toxicidad sistémica y 2) BG-BioPaste no es un irritante de tejido. La evaluación del potencial no irritante de BP-BioPaste se basó en la diferencia ($8.9 - 6.1 = 2.8$) entre las calificaciones de rango de irritación para BP-BioPaste (8.9) y una alta densidad de Polietileno o HDPE (6.1), del artículo de control.

/firma ilegible/
Alec Gough, DVM, MSc, DACVP
Patólogo Veterinario

08/20/09
Fecha del reporte

344

Tabla 2: Evaluación histopatológica de órganos viscerales seleccionados: Datos de cada animal en machos de control.

Grupo 1 Sexo: Machos	No. Animal			
	9848	9851	9852	9854
Adrenal	E	E	E	E
• Congestión	0	0	0	0
Cerebro	E	E	E	E
Colon	E	E	E	E
Corazón	E	E	E	E
• Heterofilis en el miocardio	0	0	0	0
• Infiltración de células inflamatorias mixtas en el miocardio	0	0	0	0
• Manguita perivascular de células inflamatorias mixtas	0	0	0	0
Riñones	E	E	E	E
• Mineralización tubular	MF(1)	MF(1)	MF(1)	MF(1)
• Degeneración tubular	0	MF(1)	MF(1)	0
Hígado	E	E	E	E
• Vacuolación hepatocelular centrilobular	0	0	0	0
Pulmones	E	E	E	E
• Manguita perivascular de heterofilis	F(1)	0	0	0
• Infiltración de células inflamatorias mixtas en los alveolos	0	F(1)	0	0
Nódulo linfático, drenaje	E	E	E	E
Nódulo linfático, mesentérico	E	E	E	E
Páncreas	E	E	E	E
Intestino delgado	E	E	E	E
Bazo	E	E	E	E
Testículos	E	E	E	E
Timo	E	E	E	E
Tiroides / paratiroides	E*	E*	E	E
• Infiltración de heterofilis en paratiroides	0	0	0	0

Tabla 3: Evaluación histopatológica de órganos viscerales seleccionados: Datos de cada animal en las hembras de control

Grupo 1 Sexo: Hembras	No. Animal			
	9840	9841	9845	9846
Adrenal	E	E	E	E
• Congestión	0	0	0	0
Cerebro	E	E	E	E
Colon	E	E	E	E
Corazón	E	E	E	E
• Heterofilis en el miocardio	0	0	F(1)	0
• Infiltración de células inflamatorias mixtas en el miocardio	0	0	0	0
• Manguita perivascular de células inflamatorias mixtas	0	0	0	0
Riñones	E	E	E	E
• Mineralización tubular	MF(1)	MF(1)	MF(1)	MF(1)
• Degeneración tubular	0	MF(1)	MF(1)	0
Hígado	E	E	E	E
• Vacuolación hepatocelular centrilobular	0	0	0	0
Pulmones	E	E	E	E
• Manguita perivascular de heterofilis	0	0	0	0
• Infiltración de células inflamatorias mixtas en los alveolos	0	0	F(1)	0
Nódulo linfático, drenaje	E	E	E	E
Nódulo linfático, mesentérico	E	E	E	E
Páncreas	E	E	E	E
Intestino delgado	E	E	E	E
Bazo	E	E	E	E
Testículos	E	E	E	E
Timo	E	E	E	E
Tiroides / paratiroides	E	e	E	E
• Infiltración de heterofilis en paratiroides	0	0	0	0

Tabla 5: Evaluación histopatológica de órganos viscerales seleccionados: datos de cada animal en los hembras de prueba

Grupo 2 Sexo: Hembras	No. Animal			
	9838	9839	9842	9843
Adrenal	E	E	E	E
• Congestión	0	0	0	0
Cerebro	E	E	E	E
Colon	E	E	E	E
Corazón	E	E	E	E
• Heterofilis en el miocardio	0	0	0	0
• Infiltración de células inflamatorias mixtas en el miocardio	0	0	F(1)	0
• Manguita perivascular de células inflamatorias mixtas	0	0	F(1)0	0
Riñones	E	E	E	E
• Mineralización tubular	MF(1)	MF(1)	MF(1)	MF(1)
• Degeneración tubular	MF(1)	0	MF(1)	MF(1)
Hígado	E	E	E	E
• Vacuolación hepatocelular centrilobular	0	0	D(1)	0
Pulmones	E	E	E	E
• Manguita perivascular de heterofilis	0	0	0	0
• Infiltración de células inflamatorias mixtas en los alveolos	0	0	0	0
Nódulo linfático, drenaje	E	E	E	E
Nódulo linfático, mesentérico	E	E	E	E
Páncreas	E	E	E	E
Intestino delgado	E	E	E	E
Bazo	E	E	E	E
Testículos	E	E	E	E
Timo	E	E	E	E
Tiroides / paratiroides	E*	E	E	E
• Infiltración de heterofilis en paratiroides	0	0	0	MF(1)

CLAVE PARA LAS TABLAS 2-5

G1 = Grupo 1

G2 = Grupo 2

E = Se evaluó el tejido. El tejido es normal a menos que se enlisten la(s) lesión(es).

F = Focal

MF = Multifocal

D = Difuso

TF = Tejido Faltante

* = paratiroides ausente (en las plaquillas originales y nuevos cortes)

Los números en cada columna se refieren a la severidad de la lesión

0 = La lesión mencionada no está presente.

1 = mínima / leve

2 = ligera

3 = moderada

4 = marcada / severa

Grupo 2 macho Animal No. 9847 sólo una glándula adrenal fue encontrada en la necropsia.

Tabla 4: Evaluación histopatológica de órganos viscerales seleccionados: datos de cada animal en los machos de prueba

Grupo 2 Sexo: Machos	No. Animal			
	9847	9849	9850	9855
Adrenal	E	E	E	E
• Congestión	D(2), TF	0	0	0
Cerebro	E	E	E	E
Colon	E	E	E	E
Corazón	E	E	E	E
• Heterofilis en el miocardio	0	0	F(1)	0
• Infiltración de células inflamatorias mixtas en el miocardio	F(1)	0	0	0
• Manguita perivascular de células inflamatorias mixtas	0	0	0	0
Riñones	E	E	E	E
• Mineralización tubular	MF(1)	MF(1)	MF(1)	MF(1)
• Degeneración tubular	0	F(1)	MF(1)	MF(1)
Hígado	E	E	E	E
• Vacuolación hepatocelular centrilobular	D(1)	0	0	0
Pulmones	E	E	E	E
• Manguita perivascular de heterofilis	0	0	0	0
• Infiltración de células inflamatorias mixtas en los alveolos	0	0	0	0
Nódulo linfático, drenaje	E	E	E	E
Nódulo linfático, mesentérico	E	E	E	E
Páncreas	E	E	E	E
Intestino delgado	E	E	E	E
Bazo	E	E	E	E
Testículos	E	E	E	E
Timo	E	E	E	E
Tiroides / paratiroides	E	E	E	E
• Infiltración de heterofilis en paratiroides	0	0	0	0

Tabla 6: Tala de incidencia. Evaluación histopatológica de órganos viscerales seleccionados: Datos de grupo de animales de prueba y control.

N:	4	4	4	4
Grupo:	G1	G2	G1	G2
Sexo:	Machos		Hembras	
Adrenal	4	4*	4	4
• Congestión	0	1	0	0
Cerebro	4	4	4	4
Colon	4	4	4	4
Corazón	4	4	4	4
• Heterofilis en el miocardio	0	0	1	0
• Infiltración de células inflamatorias mixtas en el miocardio	0	1	0	1
• Manguita perivascular de células inflamatorias mixtas	0	0	0	1
Riñones	4	4	4	4
• Mineralización tubular	4	4	4	4
• Degeneración tubular	2	3	2	3
Hígado	4	4	4	4
• Vacuolación hepatocelular centrilobular	0	1	0	1
Pulmones	4	4	4	4
• Manguita perivascular de heterofilis	1	0	0	0
• Infiltración de células inflamatorias mixtas en los alveolos	1	0	1	0
Nódulo linfático, drenaje	4	4	4	4
Nódulo linfático, mesentérico	4	4	4	4
Ovarios	NA	NA	4	4
Páncreas	4	4	4	4
Intestino delgado	4	4	4	4
Bezo	4	4	4	4
Testículos	4	4	NA	NA
Timo	4	4	4	4
Tiroides / paratiroides	4/2	4/4	4/3	1/3
• Infiltración de heterofilis en paratiroides	0	0	0	1

Clave para los datos Tabla 6:

G 1 = Grupo 1

G 2 = Grupo 2

N = Número de animales / grupo.

N/A = No aplica; *uno de dos glándulas adrenales faltaban en 1 animal.

El número después del tejido indica el número de animales en que se evaluó el tejido.

El número de la lista de lesiones indica el número de animales con dicha lesión.

Para tiroides / paratiroides: el primer número después de tiroides / paratiroides indica el número de animales para el cual se evaluó la tiroides; el segundo número indica el número de animales en el que se evaluó la paratiroides.

Tabla 7: Rango de irritación para implante (control): Grupo 1 Machos

NÚMERO DE ANIMAL	9848				9851				9852				9854			
ÁREA	D1	D2	I1	I2	D1	D2	I1	I2	D1	D2	I1	I2	D1	D2	I1	I2
Inflamación (I)																
Heterofilia	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Eosinofilia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mastocitos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Linfocitos	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Células de plasma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Macrófagos	1	2	1	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	2	2
Células gigantes multinuclear	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SUBTOTAL	2	3	2	4	2	3	2	4	2	2	2	2	2	3	3	3
Respuesta del tejido (RT)																
Necrosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulación del tejido	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibroplasia / cápsula	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1	2
Neovascularización	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Mineralización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulomas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Necrosis de miofibras / degeneración	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Regeneración de miofibras	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hemorragia	0	0	0	1	1	0	1	1	2	0	0	1	0	1	0	0
Crecimiento del tejido dentro del dispositivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Desechos extraños	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SUBTOTAL	2	3	2	4	4	3	3	4	5	3	3	4	3	4	2	3
TOTAL (I + TR)	4	6	4	8	6	6	5	8	7	5	5	6	5	7	5	6
Cavidad pseudo-bursal*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Media de la zona de Rx en micrones	81	98	151	55	132	79	82	82	157	107	129	115	121	112	70	84

Clave para la tabla 7:

0 = Ausente
1 = Mínima / leve
2 = Ilgera
3 = Moderada
4 = Marcada / severa

N/A = No aplica

NI = Área de implante no identificado en el tejido presentado.

NS = Área del implante no presentado

*No calificado; una cavidad pseudo-bursal está presente = +, o ausente = -.

Tabla 8: Rango de irritación para implante (control): Grupo 1 Hembras

NUMERO DE ANIMAL	9840				9841				9845				9846			
	D1	D2	I1	I2	D1	D2	I1	I2	D1	D2	I1	I2	D1	D2	I1	I2
Inflamación (I)																
Heterofilis	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eosinofilis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mastocitos	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Linfocitos	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1
Células de plasma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Macrófagos	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Células gigantes multinucleares	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SUBTOTAL	3	3	3	2	3	4	2	2	3	2	3	2	2	3	2	3
Respuesta del tejido (RT)																
Necrosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulación del tejido	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibrosis / cápsula	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	2
Neovascularización	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Mineralización	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulomas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Necrosis de miofibras / degeneración	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Regeneración de miofibras	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hemorragia	1	1	1	1	2	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Crecimiento del tejido dentro del dispositivo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Desechos extraños (otro además del implante)	0															
SUBTOTAL	4	4	4	4	5	4	4	3	4	4	3	3	3	4	3	4
TOTAL (I + TR)	7	7	7	6	8	8	6	5	7	6	6	5	5	7	5	7
Cavidad pseudo-bursal*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Media de la zona de Rx en micrones	139	116	108	129	174	144	179	55	106	125	79	182	90	81	30	77

Clave para la tabla 8:

0 = Ausente

1 = Mínima / leve

2 = ligera

3 = Moderada

4 = Marcada / severa

N/A = No aplica

NI = Área de implante no identificado en el tejido presentado.

NS = Área del implante no presentado

*No calificado; una cavidad pseudo-bursal está presente = +, o ausente = -.

Tabla 9: Rango de irritación para implante (control): Grupo 2 Machos

NÚMERO DE ANIMAL	9847				9849				9850				9855			
ÁREA	D1	D2	H	I2	D1	D2	H	I2	D1	D2	H	I2	D1	D2	H	I2
Inflamación (I)																
Heterofilia	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	NI
Eosinofilia	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	NI
Mastocitos	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Linfocitos	NI	NI	2	NI	2	2	2	2	2	1	1	2	2	0	2	NI
Células de plasma	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Macrófagos	NI	NI	2	NI	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	NI
Células gigantes multinucleares	NI	NI	2	NI	2	2	2	2	2	1	2	2	2	0	1	NI
SUBTOTAL	NI	NI	6	NI	6	6	6	6	7	4	6	8	7	1	6	NI
Respuesta del tejido (RT)																
Necrosis	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Granulación del tejido	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Fibroplasia / cápsula	NI	NI	1	NI	1	1	1	1	2	2	1	2	1	2	1	NI
Neovascularización	NI	NI	1	NI	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	NI
Mineralización	NI	NI	1	NI	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	NI
Granulomas	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Necrosis de miofibras / degeneración	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Regeneración de miofibras	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Hemorragia	NI	NI	1	NI	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Crecimiento del tejido dentro del dispositivo	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Desechos extraños (otro además del implante)	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
SUBTOTAL	NI	NI	4	NI	3	3	4	3	4	3	3	3	3	3	3	NI
TOTAL (I + TR)	NI	NI	10	NI	9	9	10	9	11	7	9	11	10	4	9	NI
Cavidad pseudo-bursal*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Medida de la zona de Rx en micrones	NI	NI	71	NI	57	66	29	17	69	41	58	52	57	63	43	NI

Clave para la tabla 9:

0 = Ausente

1 = Mínima / leve

2 = ligera

3 = Moderada

4 = Marcada / severa

N/A = No aplica

NI = Área de implante no identificado en el tejido presentado.

NS = Área del implante no presentado

*No calificado; una cavidad pseudo-bursal está presente = +, o ausente = -.

Tabla 10: Rango de irritación para implante (control): Grupo 2 Hembras

NÚMERO DE ANIMAL	9838				9839				9842				9843			
	D1	D2	I1	I2	D1	D2	I1	I2	D1	D2	I1	I2	D1	D2	I1	I2
Inflamación (I)																
Heliofilis	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	1	0	0	0	1
Eosinofilia	0	1	1	1	1	NS	0	1	NI	1	1	1	1	1	1	0
Mastocitos	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Linfocitos	0	1	1	1	1	NS	1	1	NI	1	2	2	1	1	1	2
Células de plasma	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Macrófagos	1	2	2	2	2	NS	2	2	NI	1	2	2	2	2	2	2
Células gigantes multinucleares	0	2	1	2	2	NS	2	2	NI	1	2	1	2	1	1	2
SUBTOTAL	1	6	5	6	6	NS	5	6	NI	4	7	7	6	5	5	7
Respuesta del tejido (RT)																
Necrosis	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Granulación del tejido	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Fibrosis / cápsula	2	2	2	2	1	NS	1	1	NI	2	1	1	2	1	1	2
Neovascularización	0	0	1	1	1	NS	0	1	NI	1	1	0	1	1	1	1
Mineralización	1	1	1	1	0	NS	1	1	NI	0	1	1	1	1	1	1
Granulomas	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Necrosis de miofibras / degeneración	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Regeneración de miofibras	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Hemorragia	0	0	0	1	0	NS	0	0	NI	0	1	1	1	0	0	0
Crecimiento del tejido dentro del dispositivo	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Desechos extraños (otro además del implante)	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
SUBTOTAL	3	3	4	5	2	NS	2	3	NI	3	4	3	5	3	3	4
TOTAL (I + TR)	4	9	9	11	8	NS	7	9	NI	7	11	10	11	8	8	11
Cavidad pseudo-bursal*	-	-	-	-	-	NS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Medida de la zona de Rx en micrones	61	24	25	33	57	NS	29	67	NI	58	24	58	12	49	27	19

Clave para la tabla 10:

0 = Ausente

1 = Mínima / leve

2 = ligera

3 = Moderada

4 = Marcada / severa

N/A = No aplica.

NI = Área de implante no identificado en el tejido presentado.

NS = Área del implante no presentado

*No calificado; una cavidad pseudo-bursal está presente = +, o ausente = -.

El promedio del grupo de prueba se deriva de lo siguiente:

Se suman las calificaciones totales para cada área de prueba de cada animal; el total acumulativo se divide entre el total # de áreas de prueba calificadas.

Suma total de las calificaciones de la prueba	<u>231</u>
# de áreas de prueba calificadas	<u>26</u>
Calificación promedio del grupo de prueba	<u>8.9</u>

El promedio del grupo de prueba se deriva de lo siguiente:

Se suman las calificaciones totales para cada área de prueba de cada animal; el total acumulativo se divide entre el total # de áreas de prueba calificadas.

Suma total de las calificaciones de la prueba	<u>195</u>
# de áreas de prueba calificadas	<u>32</u>
Calificación promedio del grupo de prueba	<u>6.1</u>

La calificación de rango de irritante se deriva de la siguiente manera:

Calificación promedio del grupo de artículo de prueba – calificación promedio del grupo de control = calificación de rango de irritación.

Suma total de las calificaciones de la prueba	<u>8.9</u>
# de áreas de prueba calificadas	<u>6.1</u>
Calificación promedio del grupo de prueba	<u>2.8</u>

Interpretación de la calificación del rango de irritación (los valores negativos son considerados como cero):

- ☒ No irritante (0.0 – 2.9)
- ☐ Irritante leve (3.0 – 8.9)
- ☐ Irritante moderado (9.0 – 15.0)
- ☐ Irritante severo (15.1 o >), en comparación con la calificación de control negativa

Tabla 11: Medidas de la zona de reacción (μm) para (control) implante:

Grupo/Sexo	Animal No.	Área	Medida 1	Medida 2	Medida 3	Media
Grupo 1 Machos	9848	I1	87	45	112	81
		I2	56	98	139	98
		D1	253	126	74	151
		D2	72	33	60	55
	9851	I1	99	56	240	132
		I2	70	65	103	79
		D1	113	93	41	82
		D2	48	115	83	82
	9852	I1	168	218	85	157
		I2	121	105	96	107
		D1	83	137	166	129
		D2	94	145	106	115
	9854	I1	116	47	201	121
		I2	90	66	180	112
		D1	104	58	49	70
		D2	93	130	28	84

Tabla 12: Medidas de la zona de reacción (μm) para (control) implante:

Grupo/Sexo	Animal No.	Área	Medida 1	Medida 2	Medida 3	Media
Grupo 1 Hembras	9840	I1	221	118	77	139
		I2	125	171	53	116
		D1	114	143	68	108
		D2	106	93	188	129
	9841	I1	232	164	127	174
		I2	81	241	109	144
		D1	149	157	230	179
		D2	61	48	57	55
	9845	I1	136	82	99	106
		I2	86	160	130	125
		D1	53	80	105	79
		D2		287	169	90
	9846	I1	75	144	51	90
		I2	66	92	86	81
		D1	27	34	30	30
		D2	71	52	109	77

Tabla 13: Medidas de la zona de reacción (μm) para (control) implante:

Grupo/Sexo	Animal No.	Área	Medida 1	Medida 2	Medida 3	Media
Grupo 2 Machos	9847	I1	El área de implante no está presente/cantidad insuficiente del área a evaluar			
		I2	El área de implante no está presente/cantidad insuficiente del área a evaluar			
		D1	82	100	32	71
		D2	El área de implante no está presente/cantidad insuficiente del área a evaluar			
	9849	I1	61	84	26	57
		I2	95	39	33	56
		D1	57	18	12	29
		D2	8	35	7	17
	9850	I1	88	66	53	69
		I2	5	16	103	41
		D1	75	27	72	58
		D2	80	29	46	52
	9855	I1	71	40	59	57
		I2	36	84	38	53
		D1	19	13	97	43
		D2	El área de implante no está presente/cantidad insuficiente del área a evaluar			

Tabla 14: Medidas de la zona de reacción (μm) para (control) implante:

Grupo/Sexo	Animal No.	Área	Medida 1	Medida 2	Medida 3	Media
Grupo 2 Hembras	9838	I1	54	60	68	61
		I2	9	27	37	24
		D1	16	47	13	25
		D2	73	6	19	33
	9839	I1	86	43	42	57
		I2	No se presentó ningún tejido para esta área de implante			
		D1	30	45	11	29
		D2	59	80	61	67
	9842	I1	No hubo área de implante/no hubo la suficiente cantidad de área para evaluar			
		I2	78	41	56	58
		D1	25	37	10	24
		D2	68	62	43	58
	9843	I1	6	17	12	12
		I2	82	30	36	49
		D1	51	4	26	27
		D2	7	43	8	19

Promedio del área de reacción:

Suma de la media total del área de RX en micrones

Número total de áreas de implante medidas

Promedio de la media total del área de Rx en micrones

Prueba Control

1146 3469

26 32

44 108

Claves para las Tablas 11 a 14:

Las medidas del área de reacción están calculadas en: μm = Micrones.

Las áreas de implante de control y prueba: Las medidas del área de reacción son un cálculo del ancho del tejido de peri-implante, de donde el material de implante tiene contacto con tejido ha donde los tejidos son normales. Esto incluye el área de fibrosis e inflamación alrededor del implante pero excluye el material de implante. Las medidas son tomadas en tres diferentes lugares y la media es el promedio de estas tres medidas.

FINAL STUDY REPORT

STUDY TITLE

**Thirteen Week Biocompatibility and Toxicity Study of
BG-BioPaste in Rabbits**

TEST ARTICLE IDENTIFICATION

**BG-BioPaste, DR000608
Lot # 2-11**

STUDY COMPLETION DATE

August 27, 2009

PERFORMING LABORATORY

**WuXi AppTec, Inc.
2540 Executive Drive
St. Paul, MN 55120**

SPONSOR

**Novoinjertos SC
Amores 1554 Col del Valle
Del Benito Juarez 03100
MEXICO**

PROTOCOL

C7364

PROJECT NUMBER

117333



QUALITY ASSURANCE UNIT SUMMARY

STUDY: Thirteen-Week Biocompatibility and Toxicity Study of BG-BioPaste in Rabbits

The objective of the Quality Assurance Unit is to monitor the conduct and reporting of nonclinical laboratory studies. These studies have been performed under Good Laboratory Practices regulations (FDA, 21 CFR, Part 58 - Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies) and in accordance to standard operating procedures and standard protocols. The Quality Assurance Unit maintains copies of study protocols and standard operating procedures and has inspected this study on the dates listed below. Studies are inspected at time intervals to assure the integrity of the study.

<u>Phase Inspected</u>	<u>Date</u>	<u>Study Director</u>	<u>Management</u>
Dosing	02/24/09	02/24/09	08/27/09
Termination/Necropsy	05/26/09	05/26/09	08/27/09
Pathology Report	06/26/09	06/26/09	08/27/09
Draft Report	07/09/09	07/13/09	08/27/09
Final Report	08/21/09	08/21/09	08/27/09

The findings of these inspections have been reported to management and the Study Director.

Quality Assurance Auditor: _____

Scott W. Sherman

Date: _____

8/27/09

GOOD LABORATORY PRACTICES STATEMENT

The study referenced in this report was conducted in compliance with U.S. Food and Drug Administration Good Laboratory Practice (GLP) regulations set forth in 21 CFR part 58.

The studies **not** performed by or under the direction of WuXi AppTec, Inc., are exempt from this Good Laboratory Practice Statement and include characterization and stability of the test compound(s)/test article.

Study Director: _____

Christine Olson

Date: _____

8/27/09

Professional Personnel Involved:

Lisa Olson, BS
Don Palme, PhD
Randy D. White, PhD
Christine Olson, BS
Roxanne Miller, AA, CVT
Jean Mesarich, AA
Barbara Waurzyniak, MS, DVM

Vice President St. Paul Operations
Vice President of Toxicology and In-Life Testing
Senior Director, Toxicology
Senior Study Director
Manager, In-Life Technical Services
Client Relations Manager
Manager, Histology

370



PROJECT NUMBER: 117333

SPONSOR: Novoinjertos SC
Amores 1554 Col del Valle
Del Benito Juarez 03100
MEXICO

DATA RETENTION: A certified copy of the original final report and all raw data pertinent to this study will be stored at WuXi AppTec, Inc., 2540 Executive Drive, St. Paul, MN 55120. It was the responsibility of the Sponsor to retain a sample of the test article.

SAMPLE STORAGE: Upon receipt by the Sample Receiving Department, the test samples were placed in a designated, controlled access storage area ensuring proper temperature conditions. Test and control article storage areas are designed to preclude the possibility of mix-ups, contamination, deterioration or damage. The samples remained in the storage area until retrieved by the technician for sample preparation and/or testing. Unused test samples remained in the storage area until the study was completed. Once completed, sample disposition will be handled per the Sponsor's request.

CHARACTERIZATION: The Sponsor was responsible for all test article characterization data as specified in the GLP regulations. The identity, strength, stability, purity, and chemical composition of the test article were solely the responsibility of the Sponsor. The Sponsor was responsible for supplying to the testing laboratory results of these determinations and any others that may have directly impacted the testing performed by the testing laboratory, prior to initiation of testing. Furthermore, it was the responsibility of the Sponsor to ensure that the test article submitted for testing was representative of the final product that was subjected to materials characterization. Any special requirements for handling or storage were arranged in advance of receipt and the test article was received in good condition.

PURPOSE: The purpose of this study was to evaluate the potential for local and systemic effects of BG-BioPaste, intended for human use, when implanted into the subcutaneous tissue of the rabbit for thirteen weeks.

TEST FACILITY: WuXi AppTec, Inc.
2540 Executive Drive
St Paul, MN 55120

DATE SAMPLE RECEIVED: 02/19/09
STUDY INITIATION DATE: 02/20/09
STUDY COMPLETION DATE: 08/27/09
IACUC APPROVAL NUMBER: 08-163A/March, 2008

EXPERIMENTAL METHODS SUMMARY: For the evaluation of a test article, 0.35 mL of prepared test material was implanted into the dorsolateral subcutaneous tissue per each of four sites (two on either side of the back) of four male and four female rabbits each for a total of 1 1/4 mL of test material. High density polyethylene (HDPE) material of similar diameter to 0.35 mL of test material was implanted into the dorsolateral subcutaneous tissue per each of four sites (two on either side of the back) into a separate group of four male and four female rabbits each. After a 13-week implantation period, blood was drawn for hematology, coagulation, and clinical chemistry assessment and the implantation sites and selected systemic tissues were collected at necropsy. The implantation sites and selected systemic tissues were microscopically evaluated.

TABLE 1: STUDY DESIGN

GROUP NUMBER	ARTICLE	Dose ^a	13 WEEK NECROPSY (MALES/FEMALES)
1	Control	HDPE Similar diameter to 0.35 mL of test article per each of 4 sites per rabbit (total = 1.4 mL/rabbit)	4/4
2	Test	BG-BioPaste 0.35 mL per each of 4 sites per rabbit (total = 1.4 mL/rabbit)	4/4

^a subcutaneous injection/implant

DEVIATION: Upon implantation, the test and control article incisions were closed with absorbable sutures and not the non-absorbable or wound clips as described in the protocol. This deviation to the protocol does not impact the interpretation of the study.

AMENDMENTS:

- Section 8.2, Material Administration, the first two sentences of the forth paragraph should read; Two lateral skin incisions (approximately 3 cm) will be made lateral to the dorsal midline. A subcutaneous pocket will be created on each side of the incision, of the back, creating 4 pockets and the article will be implanted therein.
- Protocol in its entirety, to change the name of the sponsor from BioGraft de Mexico to Novoinjertos SC.

ARTICLE IDENTIFICATION

Test Article Identification:

Test Article Name:	BG-BioPaste
Lot/Batch #:	2 and 11
Other Identifier:	DR000608
Sterilization Method:	Radiation
Physical State:	Dry DBM Powder
Stability (Expiration):	Not Applicable
Storage Conditions:	Room Temperature
Safety Precautions:	Standard Precautions
Intended Use/Application:	Human Implantation Surgery Procedures

Control Article Identification:

Control Article Name:	High Density Polyethylene (HDPE)
Lot/Batch #:	H0F046
Sterilization Method:	Gravity
Date of Sterilization:	02/23/09
Physical State:	Solid

TEST SYSTEM

Species/Strain: Albino rabbits (*Oryctolagus cuniculus*), New Zealand White strain.

Sex: In this study both male and female animals were used. The females were nulliparous and non-pregnant.

Source: Charles River Laboratories, St. Constant, Quebec, Canada

Animal Body Weights: The males weighed between 2.5 - 2.9 kilograms and the females weighed between 2.6 - 3.1 kilograms at the start of the study.

Age: The rabbits were young adults, approximately 14 weeks of age at the start of the study.

368



Number: This study required 8 males and 8 females, 4 rabbits of each sex for each implant group, for a total of 16 animals.

Animal Identification: Cage cards were labeled and individual animals were identified by numbered ear tags.

HUSBANDRY

Receipt: Animals were received on 02/18/09. Each animal was examined for signs of disease and injury prior to entry into the research area.

Housing: The animals were housed singly in stainless steel caging with suspended flooring. Housing space will comply with NIH and AAALAC International guidelines for this species.

Environment: Animal rooms were maintained according to NIH and AAALAC International recommendations and the NIH "Guide for Care and Use of Laboratory Animals". The laboratory and animal rooms were maintained as limited-access facilities.

Diet: The rabbits were supplied with a certified commercial rodent diet. No known contaminants present in the feed were expected to interfere with the test results.

Water: Potable water was supplied from the municipal water supply, *ad libitum*. No known contaminants present in the water were expected to interfere with the test results.

Compliance: The care, housing and handling of the animals was in compliance with AAALAC International and NIH guidelines as reported in the "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals", National Research Council - ILAR, Revised 1996; (OPRR), "Public Health Service Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals", Health Research Extension Act of 1985 (Public Law 99-158), Revised 1986, and USDA, Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service, 9 CFR, Parts 1, 2 and 3, Animal Welfare, Final Rule 1989.

TEST METHODS

Selection of Animals: Animals were selected and examined to insure that they were within the proper weight range and appeared clinically healthy. The animals were identified and weighed to the nearest 0.1 kilogram.

Article Preparation: The Sponsor-submitted test article appeared to consist of a cream colored putty. The test article (5 grams each of sample 2 and 11) was placed in a sterile container with approximately 7 grams of sterile saline and mixed by spatula then kneaded for approximately 20-60 seconds until the product reached a putty consistency. The test article was loaded into a syringe and aseptically cut into 32 (0.35 mL) cylindrical pieces. The control article was cut to 2cm² pieces, which was equal to approximately 3 cm diameter pieces (approximately equivalent to the size of 0.35 mL of test article) and steam (gravity) sterilized.

Article Administration

The Group 1 Control animals had the high density polyethylene (HDPE) material implanted and the Group 2 Test animals had the test article implanted.

The Group 1 Control animals had 2cm², which was equal to approximately 3 cm diameter (approximately equivalent to the size of 0.35 mL of test article), of control material, HDPE, implanted into each of 4 sites of dorsolateral subcutaneous tissue. The Group 2 animals each had 1.4 mL of test material distributed over four sites (two on each side of the dorsal midline, 0.35 mL/site) implanted into the dorso-lateral subcutaneous tissue.

A subcutaneous injection of buprenorphine (analgesic; at 0.05 mg/kg) was administered pre-operatively. General anesthesia was induced with an intramuscular injection of a combination 20

367



mg/kg of ketamine, acepromazine (0.5 mg/kg). In addition, isoflurane gas anesthesia was used in conjunction with the injectable anesthesia to maintain the surgical plane. Following induction of general anesthesia, rabbits were prepared for aseptic surgery. The hair was clipped from the dorsolateral thoracolumbar area. The skin was scrubbed with a povidone-iodine surgical scrub followed by an alcohol wipe.

Two lateral skin incisions (approximately 3 cm) were made lateral to the dorsal midline. A subcutaneous pocket was created on each side of the incision, of the back, creating four pockets and the article was implanted therein. The incision was closed with either absorbable suture. The animals were returned to their original cages, recovered from anesthesia, and observed for thirteen weeks. An additional subcutaneous injection of buprenorphine (0.05 mg/kg) was administered the morning after the procedure, at the discretion of the attending veterinarian.

Clinical Signs / General Health Observations: Animals were observed daily for clinical signs of toxicity and general health.

Body Weights: Animals were weighed non-fasted prior to article administration and then weekly to termination.

Hematology Assays: After a 13-week implantation period, blood was drawn from the central ear artery for hematology assessment. Prior to blood collection animals were sedated with acepromazine (0.1-1.0 mg/kg) to facilitate handling. Blood was collected prior to necropsy from non-fasted animals. The whole blood will be placed into EDTA tubes and evaluated for the following parameters

Erythrocyte Count (RBC)	Platelet Count (PLT)
Leukocyte Count (WBC)	Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH)
Hemoglobin (Hgb)	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)
Hematocrit (HCT)	Mean Corpuscular Volume (MCV)
Differential White Count	

Coagulation Assays: After a 13-week implantation period, blood was drawn for coagulation assessment. Blood was collected prior to necropsy from non-fasted animals. The whole blood was placed into sodium citrate tubes and evaluated for the following parameters: PT, and APTT.

Clinical Chemistry Assays: After a 13-week implantation period, blood was drawn for clinical chemistry assessment. Blood was collected prior to necropsy from non-fasted animals. Blood samples were collected and centrifuged to yield serum. The serum was evaluated for the following parameters:

Aspartate aminotransferase (AST)	Creatinine	Chloride
Alanine Aminotransferase (ALT)	Total Protein	Calcium
Alkaline Phosphatase (ALP)	Albumin	Total Bilirubin
Gamma glutamyltransferase (GGT)	Globulin and A/G Ratio	Inorganic Phosphorus
Glucose	Sodium	Cholesterol
Blood Urea Nitrogen (BUN)	Potassium	Triglycerides

Termination: After 13 weeks of implantation and following blood collection, all animals were terminated by an injection of a Sodium Pentobarbital based euthanasia solution followed by necropsy and tissue collection.

Necropsy

After 13 weeks of implantation, a necropsy was performed on all animals. Necropsy included examination of the following, for which any gross findings were recorded: external body surfaces, all orifices, cranial cavity and contents, thoracic cavity and contents, and abdominal cavity and contents. Animals scheduled for necropsy had all tissues listed in the Necropsy Tissue List (see below) collected at necropsy and preserved in 10% formalin.



The following tissues were taken and weighed: brain, thymus, liver, kidneys, adrenals (paired), spleen, and gonads (testes/ovaries; paired).

The tissues listed below were collected at necropsy after 13-week of exposure and preserved in 10% formalin

Necropsy Tissue List

Any gross lesion	Implantation sites (4)	Sciatic nerve
Adrenals	Jejunum	Seminal vesicles
Aorta (thoracic)	Kidneys	Skeletal muscle
Brain ^a	Lacrimal glands	Skin
Cecum	Liver	Spleen
Colon	Lungs	Spinal cord
Duodenum	Lymph node (draining)	Sternum (with marrow)
Epididymides	Lymph node (mesenteric)	Stomach
Esophagus	Mammary gland (female)	Thymus
Eyes	Pancreas	Thyroid / parathyroid
Femur	Pituitary	Trachea
Gonads	Prostate	Urinary bladder
Heart	Rectum	Uterus ^b
Ileum	Salivary glands	Vagina

^a including sections of medulla/pons, cerebellum cortex, and cerebral cortex.

^b Including cervix and oviducts.

Histopathology: The tissues collected from the control and test animals listed in the Histopathology Tissue List (see below) were microscopically evaluated. The implant sites were evaluated for inflammation and tissue response.

Histopathology Tissue List

Any gross lesion	Intestine: small	Lymph node (draining)
Adrenals	Intestine: large	Pancreas
Brain	Kidneys	Spleen
Gonads (testes/ovaries)	Liver	Thymus
Heart	Lungs	Thyroid / parathyroid
Implantation site (1)	Lymph node (mesenteric)	

METHOD FOR CONTROL OF BIAS

Animals were weighed and systematically assigned by sex to two groups. The systematic assignment to groups was as follows: the heaviest animal for a sex was assigned to Group 1, the next heaviest for that sex was assigned to Group 2, the next heaviest to Group 2, the next heaviest to Group 1, then continuing with this pattern until each group had a full compliment of animals.

DATA ANALYSIS

Group means and standard deviations of individual weekly animal body weights, organ weights, and clinical chemistry, coagulation, and hematology parameters were compared between test and control groups.

STATISTICAL METHODS

Statistical analysis was conducted on the organ weights, hematology, coagulation, blood chemistry, and weekly body weight data to compare the treatment groups (Test vs. Control). The data was analyzed separately for males and females. The statistical methods used for the data was selected as appropriate: parametric data was analyzed using a one way Analysis of Variance, non-parametric data was analyzed using the Kruskal-Wallis test. Probability (p) < 0.05 was considered significant.



RESULTS

Article Administration: Individual animal data are shown in Table A1. Each animal had the prescribed control or test article implanted into the dorsal subcutaneous tissue without complications.

Mortality/Clinical Signs/General Health Observations: Individual animal data are shown in Table A2. All animals survived throughout the duration of the study. There were no test article related observations. One Group 2 test male was observed on Day 7 to have an open incision (approximately 0.5 cm) at the dorsal caudal test site. The site was dry and scabbed and a stockinet was applied to the animal to protect the site until Day 10.

Body Weights: Individual animal data are shown in Table A3 and A4 and summarized in Table 2. All animals gained weight over the course of the study. Mean body weights were similar with no statistical differences observed between test and control group males or females.

Hematology and Coagulation: Individual animal data are shown in Table A5 and Table A6 and summarized in Table 3. There were no statistical differences in the male hematology parameters between the test and control group animals. Although there was a statistical difference in one female hematology parameter (RDW), between the test and control group animals, it was not considered biologically or toxicologically significant. There were no statistical differences in the coagulation parameters between the test and control group animals.

Clinical Chemistry: Individual animal data are shown in Table A7 and Table A8 and summarized in Table 4. There were no statistical differences in the male clinical chemistries between the test and control group animals. There was a statistical difference in one female clinical chemistry parameter (A/G Ratio), between the test and control group, but it was not considered biologically or toxicologically significant.

Organ Weights: Individual animal data are shown in Table A9 and Table A10 and summarized in Table 5. There were no statistical differences in organ weights between the test and control group animals.

Necropsy Findings: Individual animal data are shown in Table A11. On study Day 91 (13-weeks), all animals were terminated. Two Control group, male, animals (# 9848, 9854) were observed with dark spots, approximately 2 mm in diameter, on the pancreas at the time of necropsy. One test group male (# 9847) had only one adrenal gland located, weighed and collected at the time of necropsy. This was considered an anatomical anomaly. Because there was only one gland and the organ weight could not be paired, as in the other animals for this group, this animal's adrenal gland organ weight was not included in the mean and standard deviation calculation or the statistical analysis. All other animals were observed as macroscopically normal.

Histopathology: The complete Histopathology Report is found in Appendix B. There was no microscopic tissue changes indicative of systemic toxicity in this study. A well developed, connective tissue capsule characterized the implant sites for the control animals. Macrophages and smaller numbers of heterophils and lymphocytes were evident in the capsule and subjacent tissues. The implant sites for the test animals were present in two different forms. Fragments of the test material were either loosely scattered within the subcutaneous tissues or clustered within a single connective tissue capsule. The capsule was much thinner than that observed at the control implant sites. The capsule was comprised of mature connective tissue that was generally devoid of inflammatory cells. The test material had an osteoid-like appearance and was surrounded by minimal to mild numbers of macrophages, lymphocytes and multinucleated giant cells. Heterophils and eosinophils were also present at some sites. Neovascularization, often noted in the presence of microhemorrhages, was detected in the soft tissues surrounding the test material fragments. Assessment of the non-irritant potential of BP-BioPaste was based upon the difference between the irritant ranking scores for BP-BioPaste (8.9) and High Density Polyethylene or HDPE (6.1), the control article.



SUMMARY

Each animal had the prescribed control or test article implanted into the dorsal subcutaneous tissue without complications. All animals survived throughout the duration of the study. There were no test article related clinical or general health observations. All animals gained weight over the course of the study and mean body weights were similar with no statistical differences observed between test and control group males or females. Although there was a statistical difference in the hematology parameter and a clinical chemistry parameter, these were not considered biologically or toxicologically significant. There were no statistical differences in coagulation parameters between the test and control group animals. There were no statistical differences in organ weights between the test and control group animals. On study Day 91 (13-weeks) there were no test article related observations made upon necropsy. There was no microscopic tissue changes indicative of systemic toxicity in this study. A well developed, connective tissue capsule characterized the implant sites for the control animals. Macrophages and smaller numbers of heterophils and lymphocytes were evident in the capsule and subjacent tissues. The implant sites for the test animals were present in two different forms. Fragments of the test material were either loosely scattered within the subcutaneous tissues or clustered within a single connective tissue capsule. The capsule was much thinner than that observed at the control implant sites. The capsule was comprised of mature connective tissue that was generally devoid of inflammatory cells. The test material had an osteoid-like appearance and was surrounded by minimal to mild numbers of macrophages, lymphocytes and multinucleated giant cells. Heterophils and eosinophils were also present at some sites. Neovascularization, often noted in the presence of microhemorrhages, was detected in the soft tissues surrounding the test material fragments. Assessment of the non-irritant potential of BP-BioPaste was based upon the difference (8.9 - 6.1=2.8) between the irritant ranking scores for BP-BioPaste (8.9) and High Density Polyethylene or HDPE (6.1), the control article.

CONCLUSION

Under the conditions of this study, the test article, BG-BioPaste, DR000608, Lot # 2-11, was considered a non-irritant with no microscopic evidence of systemic toxicity or toxicological trends attributed to the test article when compared to the control article (HDPE) after 13-weeks of subcutaneous implantation.

TECHNICAL REFERENCES:

ISO 10993-1, Biological Evaluation of Medical Devices - Part 1: Evaluation and Testing Within a Risk Management System (2003).

ISO 10993-6, Biological Evaluation of Medical Devices -- Part 6: Tests for Local Effects After Implantation (2001).

ISO 10993-11, Biological Evaluation of Medical Devices -- Part 11: Tests for Systemic Toxicity (2006).



Table 2: Body Weight (kg) And Body Weight Change (kg) Summary
Mean $\pm$ Standard Deviation (SD)

		Males		Females	
		Group 1 - Control N=4	Group 2 - Test N=4	Group 1 - Control N=4	Group 2 - Test N=4
Pre-Implant	Mean	2.7	2.7	2.8	2.8
	SD	0.2	0.2	0.2	0.2
Week 1	Mean	3.0	2.8	3.0	3.0
	SD	0.2	0.2	0.1	0.3
Week 2	Mean	3.1	3.1	3.0	3.1
	SD	0.2	0.1	0.1	0.4
Week 3	Mean	3.3	3.2	3.3	3.2
	SD	0.2	0.1	0.2	0.3
Week 4	Mean	3.4	3.3	3.4	3.4
	SD	0.3	0.2	0.2	0.4
Week 5	Mean	3.5	3.3	3.5	3.5
	SD	0.3	0.2	0.2	0.4
Week 6	Mean	3.6	3.4	3.6	3.5
	SD	0.3	0.2	0.2	0.5
Week 7	Mean	3.7	3.4	3.8	3.7
	SD	0.3	0.3	0.2	0.5
Week 8	Mean	3.8	3.5	3.8	3.7
	SD	0.3	0.1	0.2	0.5
Week 9	Mean	3.8	3.6	4.0	3.7
	SD	0.3	0.2	0.2	0.6
Week 10	Mean	3.9	3.7	4.0	3.9
	SD	0.3	0.2	0.2	0.6
Week 11	Mean	4.0	3.8	4.1	3.9
	SD	0.4	0.2	0.2	0.7
Week 12	Mean	4.1	3.9	4.1	3.9
	SD	0.4	0.3	0.2	0.7
Week 13	Mean	4.1	3.9	4.2	4.0
	SD	0.3	0.3	0.2	0.8
Weight Change (Week 13 - Pre-Implant)	Mean	1.4	1.2	1.3	1.2
	SD	0.2	0.3	0.2	0.7



**Table 3: Hematology Values Mean $\pm$ Standard Deviation [SD]
White Blood Cells, Red Blood Cells, Platelets, and Coagulation**

		MALES		FEMALES	
		GROUP 1 – CONTROL N=4	GROUP 2 – TEST N=4	GROUP 1 – CONTROL N=4	GROUP 2 – TEST N=4
WBC (K/ μ L)	Mean	5.98	6.32	5.36	5.66
	SD	1.61	1.54	0.84	1.36
NEU (K/ μ L)	Mean	1.83	1.76	1.87	2.25
	SD	0.38	0.42	0.20	0.47
LYM (K/ μ L)	Mean	3.95	4.37	3.34	3.25
	SD	1.26	1.04	0.77	1.13
MONO (K/ μ L)	Mean	0.14	0.15	0.10	0.14
	SD	0.03	0.12	0.05	0.09
Eos (K/ μ L)	Mean	0.04	0.03	0.04	0.02
	SD	0.04	0.02	0.01	0.01
BASO (K/ μ L)	Mean	0.02	0.01	0.02	0.02
	SD	0.01	0.01	0.01	0.01
% NEU	Mean	31.45	27.92	35.36	40.44
	SD	5.22	2.21	5.23	9.06
% LYMPH	Mean	65.26	69.17	61.78	56.60
	SD	5.11	2.83	5.61	8.57
% MONO	Mean	2.33	2.29	1.80	2.34
	SD	0.35	1.25	0.91	0.99
% Eos	Mean	0.61	0.45	0.67	0.39
	SD	0.46	0.23	0.27	0.17
% BASO	Mean	0.35	0.18	0.40	0.23
	SD	0.18	0.13	0.21	0.20
RBC (M/ μ L)	Mean	6.20	6.63	6.03	5.92
	SD	0.39	0.49	0.15	0.40
Hgb (g/dL)	Mean	12.5	12.9	11.6	11.8
	SD	0.8	0.7	0.3	0.7
HCT (%)	Mean	37.5	39.7	35.2	35.2
	SD	2.2	1.8	1.1	2.6
MCV (fL)	Mean	60.5	59.9	58.4	59.6
	SD	1.7	1.6	3.2	2.4
MCH (pg)	Mean	20.1	19.5	19.2	20.0
	SD	0.7	0.4	1.0	0.9
MCHC (g/dL)	Mean	33.2	32.6	32.9	33.6
	SD	0.6	0.3	1.0	0.6
RDW (%)	Mean	14.6	15.1	14.9	13.8*
	SD	0.6	0.5	0.6	0.4
PLT (K/ μ L)	Mean	269	282	242	252
	SD	37	65	62	96
MPV (fL)	Mean	4.8	7.1	6.1	6.7
	SD	3.3	1.3	1.4	1.4
PT (SEC)	Mean	6.7	7.0	6.9	7.0
	SD	0.1	0.3	0.3	0.4
APTT (SEC)	Mean	18.5	18.5	20.8	21.9
	SD	1.2	0.8	2.6	0.9

*p<0.05



Table 4: Summary of Clinical Chemistry Values - Mean $\pm$ Standard Deviation [SD]

		MALES		FEMALES	
		GROUP 1 - CONTROL N=4	GROUP 2 - TEST N=4	GROUP 1 - CONTROL N=4	GROUP 2 - TEST N=4
ALP (IU/L)	Mean	106	53	92	47
	SD	72	27	58	22
ALT (IU/L)	Mean	31	31	36	28
	SD	5	9	19	7
AST (IU/L)	Mean	20	16	12	10
	SD	7	6	6	3
CREAT (mg/dL)	Mean	1.0	0.9	1.2	1.2
	SD	0.1	0.1	0.1	0.2
GGT (IU/L)	Mean	8	8	10	10
	SD	2	2	2	2
BUN (mg/dL)	Mean	18	18	24	24
	SD	4	3	5	3
TBIL (mg/dL)	Mean	0.2	0.2	0.2	0.2
	SD	0.0	0.1	0.0	0.0
GLU (mg/dL)	Mean	179	165	160	157
	SD	11	12	26	29
CHOL mg/dL	Mean	37	39	52	55
	SD	13	20	6	8
TRIG mg/dL	Mean	239	224	56	68
	SD	127	157	7	23
Tprot (g/dL)	Mean	5.4	5.7	5.5	5.2
	SD	0.2	0.5	0.3	0.4
ALB (g/dL)	Mean	4.0	4.2	3.9	3.9
	SD	0.2	0.2	0.2	0.3
GLOB (g/dL)	Mean	1.4	1.5	1.6	1.4
	SD	0.2	0.2	0.1	0.2
A/G Ratio	Mean	2.9	2.8	2.4	2.9*
	SD	0.4	0.4	0.1	0.3
Ca ⁺⁺ (mg/dL)	Mean	13.0	13.1	13.4	13.2
	SD	0.3	0.5	0.7	0.7
PHOS (mg/dL)	Mean	3.4	3.5	3.2	3.4
	SD	0.5	0.8	0.1	0.6
Na ⁺ (mM/L)	Mean	139.0	138.6	141.6	139.0
	SD	2.2	0.7	6.7	0.8
K ⁺ (mM/L)	Mean	3.46	3.52	3.76	3.54
	SD	0.57	0.22	0.35	0.48
Cl ⁻ (mM/L)	Mean	104.0	101.1	108.6	104.5
	SD	0.9	4.9	4.8	2.3

*p<0.05



Table 5: Summary of Organ Weights (g) - Mean $\pm$ Standard Deviation [SD]

		MALES				FEMALES	
		GROUP 1 – CONTROL N=4	GROUP 2 – TEST N=4			GROUP 1 – CONTROL N=4	GROUP 2 – TEST N=4
BRAIN	Mean	10.297	9.337	BRAIN		9.955	9.600
	SD	1.176	1.444			1.013	0.857
THYMUS	Mean	8.608	12.801	THYMUS		9.566	8.857
	SD	2.922	6.001			2.835	3.263
ADRENALS ^A	Mean	0.632	0.715	ADRENALS		0.423	0.583
	SD	0.253	0.216			0.067	0.167
LIVER	Mean	151.425	131.750	LIVER		110.725	109.550
	SD	20.744	22.090			11.935	36.009
KIDNEYS	Mean	26.251	25.188	KIDNEYS		20.805	19.018
	SD	3.333	4.513			2.794	3.744
SPLEEN	Mean	2.307	1.979	SPLEEN		2.816	2.807
	SD	0.606	0.435			0.640	0.983
TESTES	Mean	6.875	6.654	OVARIES		0.530	0.563
	SD	0.783	1.467			0.235	0.108

^A Group 2 Test males n=3



Appendix
Individual Animal Data



Table A1: Implant Confirmation and Analgesia Administration

GROUP	SEX	ANIMAL #	IMPLANT COMPLETED	COMMENTS	BUPRENORPHINE ADMINISTRATION (ML)	
					PRE-OP	POST-OP
Group 1 - Control	Males	9848	√	NC	0.47	0.47
		9851	√	NC	0.48	0.48
		9852	√	NC	0.42	0.42
		9854	√	NC	0.43	0.43
	Females	9840	√	NC	0.47	0.47
		9841	√	NC	0.47	0.47
		9845	√	NC	0.43	0.43
		9846	√	NC	0.52	0.52
Group 2 - Test	Males	9847	√	NC	0.43	0.43
		9849	√	NC	0.43	0.43
		9850	√	NC	0.47	0.47
		9855	√	NC	0.48	0.48
	Females	9838	√	NC	0.45	0.45
		9839	√	NC	0.50	0.50
		9842	√	NC	0.50	0.50
		9843	√	NC	0.43	0.43

√ = Completed
NC = No complications



Table A2: General Health Observations

DAY	GROUP 1 - CONTROL	GROUP 2 - TEST
1	✓	✓
2	✓	✓
3	✓	✓
4	✓	✓
5	✓	✓
6	✓	✓
7	✓	9855: Dorsal caudal implantation site incision open (~0.5cm) but dried and wound is closed "scabbed". Stockinet applied to animal until sutures resolved.
8	✓	9855: Replaced stockinet
9	✓	9855: Replaced stockinet
10	✓	9855: Caudal incision closed and scabbed. Stockinet removed.
11	✓	✓
12	✓	✓
13	✓	✓
14	✓	✓
15	✓	✓
16	✓	✓
17	✓	✓
18	✓	✓
19	✓	✓
20	✓	✓
21	✓	✓
22	✓	✓
23	✓	✓
24	✓	✓
25	✓	✓
26	✓	✓
27	✓	✓
28	✓	✓
29	✓	✓
30	✓	✓
31	✓	✓
32	✓	✓
33	✓	✓
34	✓	✓
35	✓	✓
36	✓	✓
37	✓	✓
38	✓	✓
39	✓	✓
40	✓	✓
41	✓	✓
42	✓	✓
43	✓	✓
44	✓	✓
45	✓	✓
46	✓	✓
47	✓	✓
48	✓	✓
49	✓	✓

✓ = Animals appeared normal



Table A2: General Health Observations (continued)

DAY	GROUP 1 - CONTROL	GROUP 2 - TEST
50	√	√
51	√	√
52	√	√
53	√	√
54	√	√
55	√	√
56	√	√
57	√	√
58	√	√
59	√	√
60	√	√
61	√	√
62	√	√
63	√	√
64	√	√
65	√	√
66	√	√
67	√	√
68	9840: clumps of hair at bottom of cage	√
69	9840: No hair in cage present	√
70	√	√
71	√	√
72	√	√
73	√	√
74	√	√
75	√	√
76	√	√
77	√	√
78	√	√
79	√	√
80	√	√
81	√	√
82	√	√
83	√	√
84	√	√
85	√	√
86	√	√
87	√	√
88	√	√
89	√	√
90	√	√
91	√	√

√ = Animals appeared normal

A3: Body Weight Data (All Body Weights in Kilograms) - Males

GROUP	ANIMAL #	PRE-IMPLANT	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4	WEEK 5	WEEK 6	WEEK 7	WEEK 8	WEEK 9	WEEK 10	WEEK 11	WEEK 12	WEEK 13	WEIGHT CHANGE
Group 1 - Control	9848	2.8	3.1	3.2	3.4	3.5	3.5	3.7	3.9	4.0	4.0	4.1	4.2	4.3	4.2	1.4
	9851	2.9	3.2	3.3	3.5	3.7	3.8	3.9	4.0	4.0	4.1	4.2	4.4	4.4	4.5	1.6
	9852	2.5	2.8	2.9	3.0	3.1	3.2	3.2	3.3	3.3	3.4	3.5	3.5	3.6	3.7	1.2
	9854	2.6	2.8	3.0	3.2	3.3	3.3	3.5	3.5	3.7	3.7	3.9	3.9	3.9	4.1	1.5
	9847	2.6	2.7	3.0	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5	3.6	3.6	3.8	3.8	4.0	4.0	1.4
Group 2 - Test	9849	2.6	2.7	2.9	3.1	3.1	3.0	3.1	3.0	3.3	3.3	3.5	3.5	3.5	3.5	0.9
	9850	2.8	3.0	3.2	3.3	3.5	3.5	3.7	3.7	3.6	3.9	3.9	4.0	4.2	4.2	1.4
	9855	2.9	2.9	3.1	3.2	3.2	3.2	3.4	3.4	3.5	3.6	3.6	3.7	3.8	3.8	0.9

Table A4: Body Weight Data (All Body Weights in Kilograms) - Females

GROUP	ANIMAL #	PRE-IMPLANT	WEEK 1	WEEK 2	WEEK 3	WEEK 4	WEEK 5	WEEK 6	WEEK 7	WEEK 8	WEEK 9	WEEK 10	WEEK 11	WEEK 12	WEEK 13	WEIGHT CHANGE
Group 1 - Control	9840	2.8	3.0	3.1	3.4	3.6	3.6	3.7	3.8	3.8	3.9	3.8	3.9	4.1	4.1	1.3
	9841	2.8	2.8	2.9	3.1	3.3	3.3	3.4	3.5	3.6	3.7	3.7	3.9	3.9	3.9	1.1
	9845	2.6	2.9	2.9	3.2	3.3	3.4	3.5	3.8	3.9	4.1	4.1	4.3	4.3	4.2	1.6
	9846	3.1	3.1	3.1	3.4	3.5	3.6	3.8	4.0	4.0	4.1	4.2	4.3	4.2	4.4	1.3
Group 2 - Test	9838	2.7	2.8	2.9	3.1	3.1	3.2	3.3	3.4	3.4	3.5	3.6	3.6	3.6	3.6	0.9
	9839	3.0	3.0	3.2	3.3	3.4	3.5	3.3	3.6	3.6	3.5	3.6	3.6	3.4	3.5	0.5
	9842	3.0	3.3	3.5	3.6	3.9	4.0	4.2	4.4	4.5	4.6	4.8	4.9	4.9	5.1	2.1
	9843	2.6	2.7	2.7	2.9	3.0	3.1	3.2	3.3	3.4	3.3	3.5	3.6	3.7	3.7	1.1



**Table A5: Individual Male Animal Hematology Values
White Blood Cells**

GROUP #	Animal #	WBC K/uL	Neu K/uL	Lym K/uL	Mono K/uL	Eos K/uL	Baso K/uL	% Neu	% Lymph	% Mono	% Eos	% Baso
GROUP 1 - CONTROL	9848	7.00	1.75	5.03	0.14	0.08	0.01	24.99	71.79	1.99	1.11	0.12
	9851	3.76	1.42	2.23	0.09	0.00	0.01	37.75	59.32	2.51	0.07	0.35
	9852	7.32	2.33	4.74	0.15	0.06	0.03	31.89	64.77	2.09	0.85	0.40
	9854	5.82	1.81	3.79	0.16	0.02	0.03	31.17	65.15	2.73	0.40	0.54
GROUP 2 - TEST	9847	4.74	1.46	3.14	0.11	0.02	0.01	30.90	66.20	2.33	0.45	0.12
	9849	6.34	1.69	4.56	0.05	0.05	0.00	26.61	71.85	0.75	0.71	0.06
	9850	5.80	1.50	4.14	0.13	0.01	0.02	25.93	71.30	2.26	0.16	0.37
	9855	8.40	2.37	5.65	0.32	0.04	0.02	28.22	67.31	3.80	0.49	0.18

**Table A5: (continued)
Individual Male Animal Hematology Values
Red Blood Cells, Platelets, & Coagulation**

GROUP #	Animal #	RBC M/uL	Hgb g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	RDW %	PLT K/uL	MPV fL	PT (sec)	APTT (sec)
GROUP 1 - CONTROL	9848	6.64	12.7	38.7	58.3	19.1	32.8	15.2	270	5.6	6.6	18.5
	9851	5.89	11.8	36.2	61.5	20.0	32.6	14.1	242	6.5	6.8	17.5
	9852	6.43	13.4	39.9	62.0	20.8	33.6	14.0	321	0.0	6.7	17.8
	9854	5.85	11.9	35.2	60.1	20.3	33.8	15.0	241	7.1	6.7	20.2
GROUP 2 - TEST	9847	6.12	12.3	37.8	61.8	20.1	32.5	15.1	304	7.6	6.8	18.2
	9849	6.86	13.3	40.8	59.5	19.4	32.6	14.4	219	8.5	6.6	17.5
	9850	6.35	12.4	38.4	60.4	19.5	32.3	15.7	363	5.4	7.3	18.7
	9855	7.19	13.7	41.6	57.9	19.1	32.9	15.3	241	7.0	7.2	19.5



**Table A6: Individual Female Animal Hematology Data
White Blood Cells**

GROUP #	Animal #	WBC K/uL	Neu K/uL	Lym K/uL	Mono K/uL	Eos K/uL	Baso K/uL	% Neu	% Lymph	% Mono	% Eos	% Baso
GROUP 1 - CONTROL	9840	4.92	1.89	2.97	0.03	0.03	0.01	38.35	60.37	0.56	0.53	0.19
	9841	5.78	1.66	3.96	0.12	0.03	0.02	28.68	68.44	1.99	0.59	0.31
	9845	4.44	1.80	2.44	0.12	0.05	0.03	40.49	55.02	2.74	1.07	0.68
	9846	6.30	2.14	3.99	0.12	0.03	0.03	33.90	63.30	1.92	0.47	0.41
GROUP 2 - TEST	9838	4.68	1.55	2.99	0.12	0.02	0.00	33.13	63.83	2.62	0.38	0.04
	9839	7.62	2.46	4.88	0.26	0.01	0.02	32.22	64.00	3.37	0.19	0.22
	9842	4.80	2.38	2.28	0.11	0.02	0.01	49.57	47.52	2.37	0.38	0.16
	9843	5.54	2.60	2.83	0.05	0.03	0.03	46.85	51.03	0.99	0.61	0.51

**Table A6: (continued)
Individual Female Animal Hematology Values
Red Blood Cells, Platelets, & Coagulation**

GROUP #	Animal #	RBC M/uL	Hgb g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	RDW %	PLT K/uL	MPV fL	PT (sec)	APTT (sec)
GROUP 1 - CONTROL	9840	6.14	11.6	34.0	55.3	18.9	34.1	14.9	326	5.6	7.2	23.2
	9841	5.89	11.8	35.4	60.1	20.0	33.3	14.5	211	6.1	6.5	22.8
	9845	5.91	11.8	36.6	62.0	20.0	32.2	14.3	182	8.1	7.0	19.4
	9846	6.16	11.1	34.6	56.1	18.0	32.1	15.7	248	4.7	7.0	17.8
GROUP 2 - TEST	9838	6.38	12.3	37.1	58.2	19.3	33.2	14.1	326	7.6	7.3	22.0
	9839	5.81	11.1	33.1	57.0	19.1	33.5	14.1	115	5.1	7.3	22.8
	9842	6.05	12.6	37.8	62.4	20.8	33.3	13.9	307	6.0	6.4	21.9
	9843	5.42	11.3	32.8	60.6	20.8	34.5	13.2	258	8.1	7.1	20.7

Table A7: Individual Animal Chemistry Data - Males

Group #	Animal #	ALP U/L	ALT U/L	AST U/L	Creat mg/dL	GGT U/L	BUN mg/dL	TBIL mg/dL	GLU mg/dL	CHOL mg/dL	TRIG mg/dL	Tprot g/dL	ALB g/dL	Glob g/dL	A/G Ratio	Ca ⁺⁺ mg/dL	PHOS mg/dL	Na ⁺ mM/L	K ⁺ mM/L	Cl ⁻ mM/L
Group 1 Control	9848	81	33	17	1.0	10	14	0.2	181	53	393	5.5	3.9	1.6	2.4	13.2	3.7	138.6	3.83	104.1
	9851	59	30	17	0.8	9	17	0.2	191	22	143	5.5	4.1	1.4	2.9	12.5	2.7	141.2	2.83	104.6
	9852	213	24	15	1.1	8	22	0.2	180	39	128	5.1	3.8	1.3	2.9	13.0	3.8	136.0	4.04	102.7
	9854	71	35	31	0.9	6	20	0.2	164	34	293	5.3	4.1	1.2	3.4	13.2	3.2	140.0	3.13	104.4
Group 2 - Test	9847	66	40	21	1.1	8	20	0.2	172	35	335	5.9	4.2	1.7	2.5	13.1	4.4	138.1	3.21	98.2
	9849	26	31	18	0.9	11	16	0.1	178	23	110	5.7	4.3	1.4	3.1	13.4	3.0	139.6	3.68	104.7
	9850	84	33	17	0.8	6	14	0.2	158	69	382	6.0	4.3	1.7	2.5	13.6	3.9	138.5	3.50	95.7
	9855	36	19	8	0.9	8	21	0.1	152	30	70	5.0	3.8	1.2	3.2	12.4	2.6	138.1	3.68	105.8

Table A8: Individual Animal Chemistry Data - Females

Group #	Animal #	ALP U/L	ALT U/L	AST U/L	Creat mg/dL	GGT U/L	BUN mg/dL	TBIL mg/dL	GLU mg/dL	CHOL mg/dL	TRIG mg/dL	Tprot g/dL	ALB g/dL	Glob g/dL	A/G Ratio	Ca ⁺⁺ mg/dL	PHOS mg/dL	Na ⁺ mM/L	K ⁺ mM/L	Cl ⁻ mM/L
Group 1 Control	9840	63	31	6	1.0	7	17	0.2	148	54	63	5.5	3.9	1.6	2.4	13.3	3.3	135.8	4.18	107.2
	9841	45	28	11	1.3	12	25	0.2	155	59	48	5.1	3.6	1.5	2.4	13.2	3.2	139.9	3.81	107.6
	9845	86	64	20	1.2	10	24	0.2	198	44	52	5.3	3.8	1.5	2.5	12.7	3.0	139.2	3.32	104.3
	9846	175	22	9	1.1	10	28	0.2	140	50	60	5.9	4.1	1.8	2.3	14.3	3.2	151.3	3.73	115.4
Group 2 - Test	9838	52	19	10	1.2	9	23	0.2	131	53	50	5.0	3.7	1.3	2.9	12.9	4.0	138.8	2.99	103.2
	9839	26	26	8	1.3	9	24	0.2	133	65	58	5.1	3.9	1.2	3.3	13.8	2.7	138.9	4.01	104.2
	9842	75	33	14	1.3	8	27	0.2	176	45	102	5.8	4.2	1.6	2.6	13.7	3.9	138.1	3.87	102.7
	9843	33	34	9	0.9	12	20	0.2	187	57	60	4.9	3.6	1.3	2.8	12.4	3.0	140.1	3.28	107.8



TABLE A9: Individual Animal Organ Weight Data (g) - Males

GROUP	ANIMAL #	Brain	Thymus	Adrenals	Liver	Kidneys	Spleen	Testes
GROUP 1 - CONTROL	9848	10.8836	5.9575	0.9535	159.3	26.9261	2.6615	7.5115
	9851	11.5365	12.7819	0.4351	151.7	30.6502	2.7610	6.1334
	9852	8.8350	7.9023	0.4255	122.9	23.1497	1.4315	6.2650
	9854	9.9317	7.7915	0.7146	171.8	24.2770	2.3758	7.5918
GROUP 2 - TEST	9847	7.5975	17.8809	0.3496*	158.6	25.3420	1.4570	5.1210
	9849	10.5985	7.4816	0.6374	117.6	24.5304	2.2357	7.2050
	9850	8.7029	18.1129	0.9595	140.6	30.9410	2.4237	8.4342
	9855	10.4489	7.7291	0.5490	110.2	19.9397	1.7995	5.8575

* Animal #9847: only one adrenal gland included in organ weight, therefore this organ weight was not included in the mean and standard deviation analysis.

TABLE A10: Individual Animal Organ Weight Data (g) - Females

GROUP	ANIMAL #	Brain	Thymus	Adrenals	Liver	Kidneys	Spleen	Ovaries
GROUP 1 - CONTROL	9840	11.4320	5.5429	0.4769	120.1	24.4876	1.9854	0.8603
	9841	9.7138	11.4028	0.3288	93.8	20.0142	2.7493	0.3136
	9845	9.5319	9.6183	0.4660	118.0	20.9490	3.5218	0.5198
	9846	9.1411	11.6983	0.4222	111.0	17.7708	3.0073	0.4283
GROUP 2 - TEST	9838	8.4004	13.2300	0.7824	85.3	16.0314	2.2632	0.4215
	9839	9.7051	5.7720	0.4362	93.3	15.9892	2.1782	0.5378
	9842	9.8697	9.3241	0.6583	163.1	23.7393	4.2648	0.6513
	9843	10.4261	7.1026	0.4535	96.5	20.3121	2.5208	0.6427



Table A11: Necropsy Observations

SEX	GROUP	ANIMAL NUMBER	NECROPSY OBSERVATIONS
Males	Group 1 - Control	9848	Pancreas had three dark black spots approximately 2 mm in diameter.
		9851	Macroscopically normal
		9852	Macroscopically normal
		9854	Pancreas had a dark spot approximately 2 mm in diameter.
	Group 2 - Test	9847	Macroscopically normal, only one adrenal gland included in organ weights
		9849	Macroscopically normal
		9850	Macroscopically normal
		9855	Macroscopically normal
Females	Group 1 - Control	9840	Macroscopically normal
		9841	Macroscopically normal
		9845	Macroscopically normal
		9846	Macroscopically normal
	Group 2 - Test	9838	Macroscopically normal
		9839	Macroscopically normal
		9842	Macroscopically normal
		9843	Macroscopically normal



APPENDIX B – Pathology Report

348

Thirteen-Week Biocompatibility and Toxicity Study of BG-BioPaste in Rabbits

PURPOSE:

The purpose of this study was to evaluate the potential for local and systemic effects of a test article, intended for human use, when implanted into the subcutaneous tissue of rabbits for thirteen weeks.

METHODS:

For this evaluation, test article was implanted in the dorsolateral subcutaneous tissue of 4 male and 4 female rabbits. The reference control material was implanted in the dorsolateral subcutaneous tissue of a separate group of 4 male and 4 female rabbits as indicated in Table 1. Four sites (two on the left side and two on the right side) per animal were implanted with either test or control material.

Animal Species: Rabbits Animal Strain or Breed: New Zealand White

Study Duration: 13 Weeks

Test Article Identification: BG-BioPaste, DR000608, Lot No. 2-11

Control Article Identification: USP High Density Polyethylene (HDPE), Lot No. H0F046

Table 1: Study Design

Group	Article	Dose	Animals	
			Males	Females
1	Control	HDPE	4	4
2	Test Article	BG-BioPaste	4	4

Thirteen weeks post-implantation, the animals were humanely sacrificed. Complete necropsies were performed and all macroscopic alterations in the examined organs and tissues were recorded. The brain, liver, spleen, both kidneys, mesenteric lymph node and lymph node draining the implant site, both adrenal glands (exception was Group 2 male Animal No. 9847 in which only one adrenal was found at necropsy), heart, thymus, lung, both gonads, small and large intestine, pancreas, thyroid/parathyroid, and implant site (exception was Group 2 female Animal No. 9839 in which only one implant site from the left side was identified and taken at necropsy) were collected from each rabbit and fixed in 10% neutral buffered formalin. The tissues were processed using standard histological techniques, sectioned and stained with hematoxylin and eosin (H&E) by the WuXi AppTec Pathology Services. Tissue sections were evaluated microscopically by a veterinary pathologist for treatment-related changes in the severity and incidence rate of background lesions, and gender-based treatment effects. The implant sites were evaluated and graded for local irritation. Distribution (focal =F, multifocal= MF, diffuse=D) and severity (1=minimal / slight, 2=mild, 3=moderate and 4=marked / severe) of microscopic findings, when present, were coded in parentheses after the finding.

An attempt was made to prepare re-cuts of any tissues i.e. parathyroid and implant sites, that were found missing after the initial microscopic examination. The re-cut histologic sections were examined. The number of parathyroids missing (Tables 2-6) and implant sites missing (that is not found at necropsy, not identified following microscopic evaluation or insufficient tissue containing implant site to evaluate; see Tables 9 & 10) after re-cuts did not impact interpretation of this study.

Specific histopathologic criteria (1) to assess tissue irritation were followed in the evaluation of tissue changes at each implant site. Test scores, based on these criteria, were determined; average test scores for each group were generated and recorded. To assess the irritation potential of the test article, comparisons were made between the average scores for test sites relative to control sites.

(1) Biological evaluation of medical devices. Part 6: Tests for local effects after implantation. International Standards ISO 10993-6. 2nd Edition. 2007.

RESULTS AND DISCUSSION

Microscopic findings for individual animals in the test and control groups are listed in Tables 2-5. Incidences of findings in test and control animals are summarized in Table 6. Irritation rankings at the implant sites in test and control animals are summarized in Tables 7-10.

There was no microscopic tissue changes indicative of systemic toxicity in this study. Microscopic findings were typical of incidental background changes commonly observed in the rabbit. Incidence and severity of spontaneous lesions were within the expected range and biologically significant differences in the incidence and severity of spontaneous lesions between the test and control groups were not identified. Similarly, there were no gender-based differences in these background alterations.

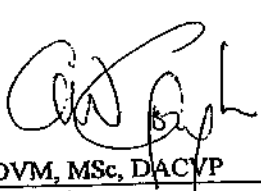
In the test article group, implant sites were not identified in five (4 males; 1 female) out of 32 sections of skin/subcutaneous tissue. Additionally, one section of implant site was not submitted (group 2 female Animal No. 9839). Importantly, there was sufficient number of examined implant sites, even with these missing sections, to assess the irritation potential of the test article.

Noteworthy microscopic observations at implant sites of control and test article groups included the following:

1. Controls (Group 1): The implant site was characterized by a well-developed, connective tissue capsule. Macrophages and smaller numbers of heterophils and lymphocytes were evident in the capsule and subjacent tissues.
2. Test (Group 2): The implant sites presented in two different forms. Fragments of test material were either loosely scattered within the subcutaneous tissues or clustered within a single connective tissue capsule. The capsule was much thinner than that observed at the control implant sites. The capsule was comprised of mature connective tissue that was generally devoid of inflammatory cells. The test material had an osteoid-like appearance and was surrounded by minimal to mild numbers of macrophages, lymphocytes and multinucleated giant cells. Heterophils and eosinophils were also present at some sites. Neovascularization, often noted in the presence of microhemorrhages, was detected in the soft tissues surrounding the test material fragments.

CONCLUSIONS:

Under the conditions of this biocompatibility and toxicity study in which BG-BioPaste was implanted subcutaneously in rats for thirteen weeks, it was concluded that: 1) there was no evidence of systemic toxicity and 2) BG-BioPaste was not a tissue irritant. Assessment of the non-irritant potential of BP-BioPaste was based upon the difference ($8.9 - 6.1 = 2.8$) between the irritant ranking scores for BP-BioPaste (8.9) and High Density Polyethylene or HDPE (6.1), the control article.


Alec Gough, DVM, MSc, DACVP
Veterinary Pathologist

08/20/09
Date of Report

Table 2: Histopathological Evaluation of Selected Visceral Organs: Individual Animal Data in Control Males

Group: 1 Sex: Males	Animal No.			
	9848	9851	9852	9854
Adrenal	E	E	E	E
• Congestion	0	0	0	0
Brain	E	E	E	E
Colon	E	E	E	E
Heart	E	E	E	E
• Heterophils in myocardium	0	0	0	0
• Mixed inflammatory cell infiltrate in myocardium	0	0	0	0
• Perivascular cuff of mixed inflammatory cells	0	0	0	0
Kidneys	E	E	E	E
• Tubular mineralization	MF(1)	MF(1)	MF(1)	MF(1)
• Tubular degeneration	0	MF(1)	MF(1)	0
Liver	E	E	E	E
• Centrilobular hepatocellular vacuolation	0	0	0	0
Lungs	E	E	E	E
• Perivascular cuff of heterophils	F(1)	0	0	0
• Mixed inflammatory cell infiltration in alveoli	0	F(1)	0	0
Lymph node, draining	E	E	E	E
Lymph node, mesenteric	E	E	E	E
Pancreas	E	E	E	E
Small Intestine	E	E	E	E
Spleen	E	E	E	E
Testes	E	E	E	E
Thymus	E	E	E	E
Thyroid / parathyroid	E*	E*	E	E
• Infiltration of heterophils in parathyroid	0	0	0	0

Final Pathology Report

Table 3: Histopathological Evaluation of Selected Visceral Organs: Individual Animal Data in Control Females

Group: 1 Sex: Females	Animal No.			
	9840	9841	9845	9846
Adrenal	E	E	E	E
• Congestion	0	0	0	0
Brain	E	E	E	E
Colon	E	E	E	E
Heart	E	E	E	E
• Heterophils in myocardium	0	0	F(1)	0
• Mixed inflammatory cell infiltrate in myocardium	0	0	0	0
• Perivascular cuff of mixed inflammatory cells	0	0	0	0
Kidneys	E	E	E	E
• Tubular mineralization	MF(1)	MF(1)	MF(1)	MF(1)
• Tubular degeneration	0	MF(1)	MF(1)	0
Liver	E	E	E	E
• Centrilobular hepatocellular vacuolation	0	0	0	0
Lungs	E	E	E	E
• Perivascular cuff of heterophils	0	0	0	0
• Mixed inflammatory cell infiltration in alveoli	0	0	F(1)	0
Lymph node, draining	E	E	E	E
Lymph node, mesenteric	E	E	E	E
Ovary	E	E	E	E
Pancreas	E	E	E	E
Small Intestine	E	E	E	E
Spleen	E	E	E	E
Thymus	E	E	E	E
Thyroid / parathyroid	E*	E	E	E
• Infiltration of heterophils in parathyroid	0	0	0	0

Table 4: Histopathological Evaluation of Selected Visceral Organs: Individual Animal Data in Test Males

Group: 2 Sex: Males	Animal No.			
	9847	9849	9850	9855
Adrenal	E	E	E	E
• Congestion	D(2), MT	0	0	0
Brain	E	E	E	E
Colon	E	E	E	E
Heart	E	E	E	E
• Heterophils in myocardium	0	0	0	0
• Mixed inflammatory cell infiltrate in myocardium	F(1)	0	0	0
• Perivascular cuff of mixed inflammatory cells	0	0	0	0
Kidneys	E	E	E	E
• Tubular mineralization	MF(1)	MF(1)	MF(1)	MF(1)
• Tubular degeneration	0	F(1)	MF(1)	MF(1)
Liver	E	E	E	E
• Centrilobular hepatocellular vacuolation	D(1)	0	0	0
Lungs	E	E	E	E
• Perivascular cuff of heterophils	0	0	0	0
• Mixed inflammatory cell infiltration in alveoli	0	0	0	0
Lymph node, draining	E	E	E	E
Lymph node, mesenteric	E	E	E	E
Pancreas	E	E	E	E
Small Intestine	E	E	E	E
Spleen	E	E	E	E
Testes	E	E	E	E
Thymus	E	E	E	E
Thyroid / parathyroid	E	E	E	E
• Infiltration of heterophils in parathyroid	0	0	0	0

Table 5: Histopathological Evaluation of Selected Visceral Organs: Individual Animal Data in Test Females

Group: 2 Sex: Females	Animal No.			
	9838	9839	9842	9843
Adrenal	E	E	E	E
• Congestion	0	0	0	0
Brain	E	E	E	E
Colon	E	E	E	E
Heart	E	E	E	E
• Heterophils in myocardium	0	0	0	0
• Mixed inflammatory cell infiltrate in myocardium	0	0	F(1)	0
• Perivascular cuff of mixed inflammatory cells	0	0	F(1)	0
Kidneys	E	E	E	E
• Tubular mineralization	MF(1)	MF(1)	MF(1)	MF(1)
• Tubular degeneration	MF(1)	0	MF(1)	MF(1)
Liver	E	E	E	E
• Centrilobular hepatocellular vacuolation	0	0	D(1)	0
Lungs	E	E	E	E
• Perivascular cuff of heterophils	0	0	0	0
• Mixed inflammatory cell infiltration in alveoli	0	0	0	0
Lymph node, draining	E	E	E	E
Lymph node, mesenteric	E	E	E	E
Ovary	E	E	E	E
Pancreas	E	E	E	E
Small Intestine	E	E	E	E
Spleen	E	E	E	E
Thymus	E	E	E	E
Thyroid / parathyroid	E*	E	E	E
• Infiltration of heterophils in parathyroid	0	0	0	MF(1)

KEY TO TABLES 2-5:

G1=Group 1

G2=Group2

E = The tissue was evaluated. The tissue is normal unless lesion(s) are listed.

F = Focal

MF = Multifocal

D = Diffuse

MT = Missing Tissue

*= parathyroid absent (in original and re-cut slides)

The numbers in each column refer to lesion severity:

0 = The listed lesion is not present.

1= minimal / slight

2=mild

3=moderate

4=marked/severe

Group 2 male Animal No. 9847 – only one adrenal was found at necropsy.

Table 6: Incidence Table. Histopathological Evaluation of Selected Visceral Organs: Group Data from Control and Test Animals.

N:	4	4	4	4
Group:	G1	G2	G1	G2
Sex:	Males		Females	
Adrenals	4	4*	4	4
• Congestion	0	1	0	0
Brain	4	4	4	4
Colon	4	4	4	4
Heart	4	4	4	4
• Heterophils in myocardium	0	0	1	0
• Mixed inflammatory cell infiltrate in myocardium	0	1	0	1
• Perivascular cuff of mixed inflammatory cells	0	0	0	1
Kidneys	4	4	4	4
• Tubular mineralization	4	4	4	4
• Tubular degeneration	2	3	2	3
Liver	4	4	4	4
• Centrilobular hepatocellular vacuolation	0	1	0	1
Lungs	4	4	4	4
• Perivascular cuff of heterophils	1	0	0	0
• Mixed inflammatory cell infiltration in alveoli	1	0	1	0
Lymph node, draining	4	4	4	4
Lymph node, mesenteric	4	4	4	4
Ovaries	NA	NA	4	4
Pancreas	4	4	4	4
Small Intestine	4	4	4	4
Spleen	4	4	4	4
Testes	4	4	NA	NA
Thymus	4	4	4	4
Thyroid / parathyroid	4/2	4/4	4/3	4/3
• Infiltration of heterophils in parathyroid	0	0	0	1

KEY FOR DATA TABLE 6:

G1 = Group 1

G2 = Group 2

N = number of animals/ group.

NA = Not applicable; * one out of the two adrenals was missing for 1 animal.

The number following the tissue indicates the number of animals for which that tissue was evaluated.

The number following the list of lesions indicates the number of animals with that lesion.

For the thyroid / parathyroid: the first number following thyroid / parathyroid indicates the number of animals for which the thyroid was evaluated; the second number indicates the number of animals for which the parathyroid was evaluated.

Table 7: Irritation Ranking for (Control) Implant: Group 1 Males

ANIMAL NUMBER	9848				9851				9852				9854			
SITE	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2
Inflammation (I)																
Heterophils	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Eosinophils	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mast Cells	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lymphocytes	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Plasma Cells	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Macrophages	1	2	1	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1	2	2
Multinucleated Giant Cells	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SUBTOTAL	2	3	2	4	2	3	2	4	2	2	2	2	2	3	3	3
Tissue Response (TR)																
Necrosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulation Tissue	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibroplasia / capsule	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1	2
Neovascularization	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Mineralization	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulomas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Myofiber Necrosis / Degeneration	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Myofiber Regeneration	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hemorrhage	0	0	0	1	1	0	1	1	2	0	0	1	0	1	0	0
Tissue Ingrowth into Device	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Foreign Debris (other than implant)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SUBTOTAL	2	3	2	4	4	3	3	4	5	3	3	4	3	4	2	3
TOTAL (I + TR)	4	6	4	8	6	6	5	8	7	5	5	6	5	7	5	6
Pseudo-Bursal Cavity*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mean Rx Zone in Microns	81	98	151	55	132	79	82	82	157	107	129	115	121	112	70	84

KEY FOR TABLE 7:

0 = Absent
1 = Minimal / Slight
2 = Mild
3 = Moderate
4 = Marked / Severe

NA = Not applicable.

NI = Implant site not identified in the submitted tissue.

NS = Implant site not submitted

*Not graded; a pseudo-bursal cavity is present = +, or absent = -

Table 8: Irritation Ranking for (Control) Implant: Group 1 Females

ANIMAL NUMBER	9840				9841				9845				9846			
SITE	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2
Inflammation (I)																
Heterophils	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eosinophils	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mast Cells	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lymphocytes	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1
Plasma Cells	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Macrophages	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2
Multinucleated Giant Cells	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SUBTOTAL	3	3	3	2	3	4	2	2	3	2	3	2	2	3	2	3
Tissue Response (TR)																
Necrosis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulation Tissue	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibroplasia / capsule	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1	2
Neovascularization	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Mineralization	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Granulomas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Myofiber Necrosis / Degeneration	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Myofiber Regeneration	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hemorrhage	1	1	1	1	2	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Tissue Ingrowth into Device	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Foreign Debris (other than implant)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SUBTOTAL	4	4	4	4	5	4	4	3	4	4	3	3	3	4	3	4
TOTAL (I + TR)	7	7	7	6	8	8	6	5	7	6	6	5	5	7	5	7
Pseudo-Bursal Cavity*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mean Rx Zone in Microns	139	116	108	129	174	144	179	55	106	125	79	182	90	81	30	77

KEY FOR TABLE 8:

0 = Absent
1 = Minimal / Slight
2 = Mild
3 = Moderate
4 = Marked / Severe

NA = Not applicable.

NI = Implant site not identified/ insufficient amount of implant site to evaluate

NS = Implant site not submitted

*Not graded; a pseudo-bursal cavity is present = +, or absent = -.

Final Pathology Report

Table 9: Irritation Ranking for (Test) Implant: Group 2 Males

ANIMAL NUMBER	9847				9849				9850				9855			
SITE	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2
Inflammation (I)																
Heterophils	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	NI
Eosinophils	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	NI
Mast Cells	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Lymphocytes	NI	NI	2	NI	2	2	2	2	2	1	1	2	2	0	2	NI
Plasma Cells	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Macrophages	NI	NI	2	NI	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	NI
Multinucleated Giant Cells	NI	NI	2	NI	2	2	2	2	2	1	2	2	2	0	1	NI
SUBTOTAL	NI	NI	6	NI	6	6	6	6	7	4	6	8	7	1	6	NI
Tissue Response (TR)																
Necrosis	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Granulation Tissue	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Fibroplasia / capsule	NI	NI	1	NI	1	1	1	1	2	2	1	2	1	2	1	NI
Neovascularization	NI	NI	1	NI	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	NI
Mineralization	NI	NI	1	NI	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	NI
Granulomas	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Myofiber Necrosis / Degeneration	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Myofiber Regeneration	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Hemorrhage	NI	NI	1	NI	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Tissue Ingrowth into Device	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
Foreign Debris (other than implant)	NI	NI	0	NI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	NI
SUBTOTAL	NI	NI	4	NI	3	3	4	3	4	3	3	3	3	3	3	NI
TOTAL (I + TR)	NI	NI	10	NI	9	9	10	9	11	7	9	11	10	4	9	NI
Pseudo-Bursal Cavity*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mean Rx Zone in Microns	NI	NI	71	NI	57	56	29	17	69	41	58	52	57	53	43	NI

KEY FOR TABLE 9:

0 = Absent

1 = Minimal / Slight

2 = Mild

3 = Moderate

4 = Marked / Severe

NA = Not applicable.

NI = Implant site not identified/ insufficient amount of implant site to evaluate

NS = Implant site not submitted

*Not graded; a pseudo-bursal cavity is present = +, or absent = -.

Table 10: Irritation Ranking for (Test) Implant: Group 2 Females

ANIMAL NUMBER	9838				9839				9842				9843			
SITE	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2	L1	L2	R1	R2
Inflammation (I)																
Heterophils	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	1	0	0	0	1
Eosinophils	0	1	1	1	1	NS	0	1	NI	1	1	1	1	1	1	0
Mast Cells	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Lymphocytes	0	1	1	1	1	NS	1	1	NI	1	2	2	1	1	1	2
Plasma Cells	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Macrophages	1	2	2	2	2	NS	2	2	NI	1	2	2	2	2	2	2
Multinucleated Giant Cells	0	2	1	2	2	NS	2	2	NI	1	2	1	2	1	1	2
SUBTOTAL	1	6	5	6	6	NS	5	6	NI	4	7	7	6	5	5	7
Tissue Response (TR)																
Necrosis	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Granulation Tissue	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Fibroplasia / capsule	2	2	2	2	1	NS	1	1	NI	2	1	1	2	1	1	2
Neovascularization	0	0	1	1	1	NS	0	1	NI	1	1	0	1	1	1	1
Mineralization	1	1	1	1	0	NS	1	1	NI	0	1	1	1	1	1	1
Granulomas	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Myofiber Necrosis / Degeneration	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Myofiber Regeneration	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Hemorrhage	0	0	0	1	0	NS	0	0	NI	0	1	1	1	0	0	0
Tissue Ingrowth into Device	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
Foreign Debris (other than implant)	0	0	0	0	0	NS	0	0	NI	0	0	0	0	0	0	0
SUBTOTAL	3	3	4	5	2	NS	2	3	NI	3	4	3	5	3	3	4
TOTAL (I + TR)	4	9	9	11	8	NS	7	9	NI	7	11	10	11	8	8	11
Pseudo-Bursal Cavity*	-	-	-	-	-	NS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mean Rx Zone in Microns	61	24	25	33	57	NS	29	67	NI	58	24	58	12	49	27	19

KEY FOR TABLE 10:

0 = Absent
1 = Minimal / Slight
2 = Mild
3 = Moderate
4 = Marked / Severe

NA = Not applicable.

NI = Implant site not identified/ insufficient amount of implant site to evaluate

NS = Implant site not submitted (Group 2 female Animal No. 9839 – only one implant site from the left side was identified and taken at necropsy).

*Not graded; a pseudo-bursal cavity is present = +, or absent = -.

Final Pathology Report

The Test Group Average is derived as follows:

The Total scores for each test site for each animal are added; the cumulative total is divided by the total # of test sites scored.

Sum Total Test Scores	231
# Test Sites Scored	26
Test Group Average Score	8.9

The Control Group Average is derived as follows:

The Total scores for each control site for each animal are added; the cumulative total is divided by the total # of control sites scored.

Sum Total Control Scores	195
# Control Sites Scored	32
Control Group Average Score	6.1

The Irritant Ranking Score is derived as follows:

Test Article Group Average Score – Control Group Average Score = The Irritant Ranking Score.

Test Article Group Average Score	8.9
Control Group Average Score	6.1
Irritant Ranking Score	2.8

Interpretation of Irritant Ranking Score (negative values are treated as zero):

<u>X</u>	Non-irritant (0.0-2.9)
<u> </u>	Slight irritant (3.0-8.9)
<u> </u>	Moderate irritant (9.0-15.0)
<u> </u>	Severe irritant (15.1 or >), as compared to the negative control score.

Table 11: Reaction Zone Measurements (μm) for (Control) Implant:

Group/Sex	Animal No.	Site	Measurement 1	Measurement 2	Measurement 3	Mean
Group 1 Males	9848	L1	87	45	112	81
		L2	56	98	139	98
		R1	253	126	74	151
		R2	72	33	60	55
	9851	L1	99	56	240	132
		L2	70	65	103	79
		R1	113	93	41	82
		R2	48	115	83	82
	9852	L1	168	218	85	157
		L2	121	105	96	107
		R1	83	137	166	129
		R2	94	145	106	115
	9854	L1	116	47	201	121
		L2	90	66	180	112
		R1	104	58	49	70
		R2	93	130	28	84

Table 12: Reaction Zone Measurements (μm) for (Control) Implant:

Group/Sex	Animal No.	Site	Measurement 1	Measurement 2	Measurement 3	Mean
Group 1 Females	9840	L1	221	118	77	139
		L2	125	171	53	116
		R1	114	143	68	108
		R2	106	93	188	129
	9841	L1	232	164	127	174
		L2	81	241	109	144
		R1	149	157	230	179
		R2	61	48	57	55
	9845	L1	136	82	99	106
		L2	86	160	130	125
		R1	53	80	105	79
		R2	287	169	90	182
	9846	L1	75	144	51	90
		L2	66	92	86	81
		R1	27	34	30	30
		R2	71	52	109	77



Table 13: Reaction Zone Measurements (μm) for (Test) Implant:

Group/Sex	Animal No.	Site	Measurement 1	Measurement 2	Measurement 3	Mean
Group 2 Males	9847	L1	Implant site not present/insufficient amount of site to evaluate			
		L2	Implant site not present/insufficient amount of site to evaluate			
		R1	82	100	31	71
		R2	Implant site not present/insufficient amount of site to evaluate			
	9849	L1	61	84	26	57
		L2	95	39	33	56
		R1	57	18	12	29
		R2	8	35	7	17
	9850	L1	88	66	53	69
		L2	5	16	103	41
		R1	75	27	72	58
		R2	80	29	46	52
	9855	L1	71	40	59	57
		L2	36	84	38	53
		R1	19	13	97	43
		R2	Implant site not present/insufficient amount of site to evaluate			

Table 14: Reaction Zone Measurements (μm) for (Test) Implant:

Group/Sex	Animal No.	Site	Measurement 1	Measurement 2	Measurement 3	Mean
Group 2 Females	9838	L1	54	60	68	61
		L2	9	27	37	24
		R1	16	47	13	25
		R2	73	6	19	33
	9839	L1	86	43	42	57
		L2	No tissue submitted for this implant site			
		R1	30	45	11	29
		R2	59	80	61	67
	9842	L1	Implant site not present/insufficient amount of site to evaluate			
		L2	78	41	56	58
		R1	25	37	10	24
		R2	68	62	43	58
	9843	L1	6	17	12	12
		L2	82	30	36	49
		R1	51	4	26	27
		R2	7	43	8	19

Average Reaction Zone:

Sum of the total Mean Rx Zone in Microns
Total Number of Implant Sites Measured
Average Implant Mean Rx Zone in Microns

Test	Control
1146	3469
26	32
44	108

KEY FOR TABLES 11 to 14:

Reaction zone measurements are estimated; μm = Microns.

Test and Control Implant sites: Reaction zone measurements are an estimate of the width of peri-implant tissue, from where implant material contacts tissue, to where tissues are normal. This includes the zone of fibrosis and inflammation around the implant, but excludes the implant material. The measurements are taken at 3 different places, and the mean is the average of these three measurements.