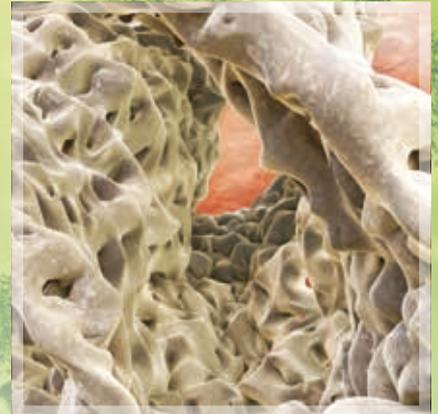
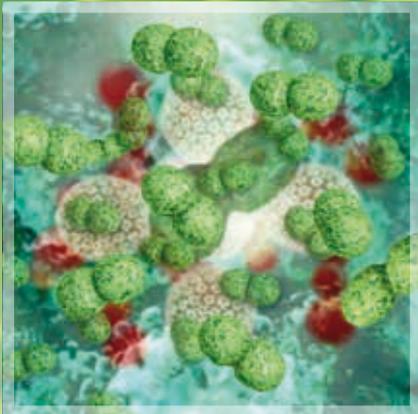


**Das FAIRE Premium  
Implantat-System**

# ICX

## **Biologische in-vivo und in-vitro Untersuchungen von ICX-templant®**



# **Biologische in-vivo und in-vitro Untersuchungen von ICX-templant®**

Nach dem Medizinproduktegesetz (MPG) müssen Medizinprodukte vor ihrem Inverkehrbringen zum Schutz der Patienten zahlreichen Prüfungen unterzogen werden. Eine dieser notwendigen Prüfungen ist der Nachweis der Körperverträglichkeit (Biokompatibilität), unabhängig davon, ob das Medizinprodukt für kurzzeitigen, langzeitigen oder gar dauerhaften Körperkontakt eingesetzt wird. Neben der Strukturkompatibilität, also der Anpassung der Implantatstruktur an das mechanische Verhalten des Empfängergewebes, ist die Oberflächenkompatibilität (chemisch, physikalisch, biologisch und morphologisch) von vorrangiger Bedeutung. Zur Sicherstellung unserer hohen Qualitätsansprüche führen wir regelmäßige Qualitätskontrollen an allen unseren Produkten durch.

Diese beinhalten u.a.:

1. Fachgerechte biologische Beurteilung gemäß DIN EN ISO 10993
2. Routine-Bioburdenbestimmung und Validierung der Keimzahlbestimmung nach DIN EN ISO 11737-1 zum mikrobiologischen Nachweis organischer Reinheit
3. Labor-Tests zum Nachweis von oberflächlich vorhandenen Endotoxinen gemäß des Europäischen Arzneibuches (Ph. Eur.) und nach Maßgabe der USP- und FDA (Food and Drug Administration)-Richtlinien
4. Bestimmung der Bruch- und Dauerfestigkeit nach DIN EN ISO 14801 und der Korrosionsanfälligkeit nach DIN Norm EN ISO 13927
5. Qualitative und quantitative Analyse der chemischen Oberflächenrückstände mittels Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (XPS) und EDX (Energy Dispersive X-Ray Fluorescence) zur Sicherstellung einer hohen Oberflächenreinheit
6. Mikrospalzmessungen
7. kontinuierliche Überprüfung der Fertigungs-Toleranzen
8. regelmäßige Kontrollen der Lieferanten
9. ständiger Austausch in Fachkreisen und universitären Einrichtungen für ein direktes Anwender-Feedback

Alle oben aufgeführten Punkte werden von medentis in regelmäßigen Qualitätskontrollen berücksichtigt. Die Qualitätskontrolle unserer Produkte wird in Laboren durchgeführt, welche mit modernen „state of the art“ Meß- und Prüfgeräten ausgestattet sind, ISO 9001 zertifiziert und für die Prüfung akkreditiert sind. Durch ständige Qualitätskontrolle, Verbesserung und Optimierung sind wir in der Lage, unser gemeinsames Hauptziel noch besser zu realisieren: Ihre Zufriedenheit und das Wohl der Patienten.

In den unteren Abschnitten wird auf die Punkte 1 bis 3 näher eingegangen. Informationen zu den Punkten 3 bis 9 finden Sie in unseren weiteren Broschüren.

## **1. Biokompatibilität**

Eine fachgerechte biologische Beurteilung ist Voraussetzung dafür, dass Medizinprodukte sicher und ohne unerwünschte Nebenwirkungen eingesetzt werden können. Die DIN EN ISO 10993 (harmonisierte, europäische Norm 2009) gibt den Rahmen vor, innerhalb dessen eine biologische Beurteilung geplant werden soll, um die Anzahl und Belastung von Versuchstieren zu minimieren. Sie beschreibt die allgemeinen Grundsätze, die für die biologische Beurteilung von Medizinprodukten gelten. Sie enthält eine Einteilung von Medizinprodukten nach Kontaktdauer (Tab. 1) und Applikationsort, sowie eine Auswahl geeigneter Prüfverfahren.

# Biologische in-vivo und in-vitro Untersuchungen von ICX-templant®

Tab. 1. Prüfungen für z.B. dauerimplantierbare Medizinprodukte ( Kontaktdauer > 30 Tage) zur grundlegenden Beurteilung der Biokompatibilität, die in Erwägung gezogen werden müssen in Anlehnung an DIN EN ISO 10993.

Einteilung		Biologischer Effekt							
Körperkontakt	Kontaktdauer (> 30 Tage)	Cytotoxizität	Sensibilisierung	Irritation oder intrakutane Reaktivität	Systemische Toxizität (akute)	Subchronische Toxizität (Subakute)	Gentoxizität	Implantation	Hämokompatibilität
Gewebe/Knochen		X	X	X	X	X	X	X	
Blut		X	X	X	X	X	X	X	X

Mit dem Werkstoff Titan Grad 4 und repräsentativen ICX-templant Implantaten sind vom Sichuan Testing Center for Biomaterials and Medical Devices Studien basierend auf den ISO Normen 10993-3, 4,5,6,10 und 11 durchgeführt worden (siehe Tabelle 2). Die Ergebnisse dieser Studie zeigten keinerlei Auffälligkeiten und waren ohne Befund. Zusätzlich wurden Tests gemäß ISO Norm 10993-3, 5 und 18 in akkreditierten deutschen Prüflaboren durchgeführt, um die Ergebnisse der Studie des Sichuan Testing Center zu bestätigen (siehe Abb.2 und Abb.3). Originaldaten liegen in Akten vor.

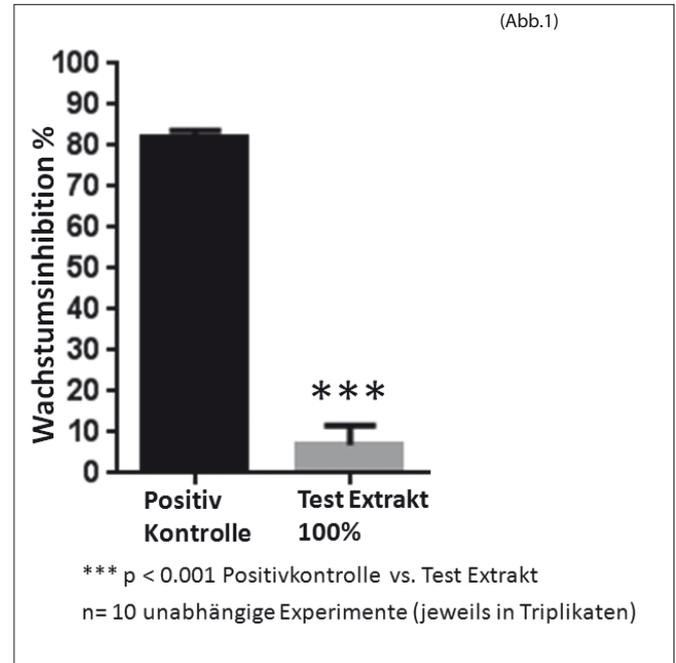
## Zytotoxizität gemäß der Norm ISO 10993-5

Zur Vermeidung und Verringerung von in vivo Versuchen erfolgt zunächst eine Überprüfung möglicher toxischer Effekte im Zellkulturversuch. Diese sogenannten Zytotoxizitätsuntersuchungen werden nach den Vorschriften der Norm ISO 10993-5 von akkreditierten Laboren durchgeführt. Hierbei werden Säugerzellen definierten Typs direkt oder indirekt mit dem Medizinprodukt konfrontiert und anschließend die Anzahl und Vitalität oder Wachstumsfähigkeit der Zellen überprüft. Nur bei ausreichend hoher Lebensfähigkeit dieser Testzellen von mind. 70% bzw. einer Wachstumsinhibition unter 30% (Abb.1) gilt der Test als unauffällig. Die Zytotoxizitätsprüfung liefert quantitative Daten, so dass die Qualität eines Produktes direkt mit der anderer Produkte verglichen werden kann (Abb.1)

# Biologische in-vivo und in-vitro Untersuchungen von ICX-templant®

Abbildung 1

Wachstumsinhibitionstest (n=10) zur Bestimmung der Zytotoxizität von ICX Implantaten. Drei identische Extraktionen desselben Materials (ICX Implantaten) werden unter standardisierten Bedingungen bei 37 °C (±1 °C) durchgeführt. Die Extrakte werden durch Inkubation der ICX Implantate in Zellkulturmedium hergestellt. Die Extraktionsdauer beträgt mindestens 24h. In der nachfolgenden Testung werden die so gewonnenen Originalextrakte auf einem subkonfluenten Zellrasen bezüglich ihres wachstumshemmenden (zytotoxischen) Potenzials getestet. Die Proliferation der Zellkultur wird quantitativ bestimmt. Anhand mitgeführter Kontrollen wird die Proliferation der Zellen berechnet und das wachstumshemmende Potenzial ermittelt. Zur Ermittlung der Signifikanz wurde ein One-Way ANOVA Test (Graph Pad Prism 6.0) durchgeführt (Auszug aus einer Wachstumsinhibitionsstudie durchgeführt (2014) von BSL Bioserv, Planegg, Deutschland Studiendirektor Dr. Dipl. Biol. Benjamin Hoy Originaldaten in Akten bei medentis hinterlegt).



## Prüfungen auf Gentoxizität, Karzinogenität und Reproduktionstoxizität mit dem AMES Test gemäß der Norm ISO 10993-3

Der Ames-Test ist ein Rückmutationstest unter Verwendung von Bakterien zum Nachweis von erbgutschädigenden (mutagenen) Eigenschaften einer Prüfsubstanz. Er wird wie der Zytotoxizitätstest in-vitro in einem akkreditierten Labor nach EN ISO 10993-3 durchgeführt (Abb.2).

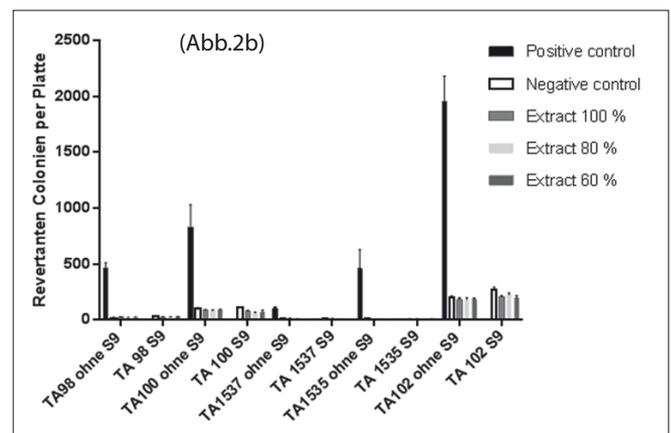
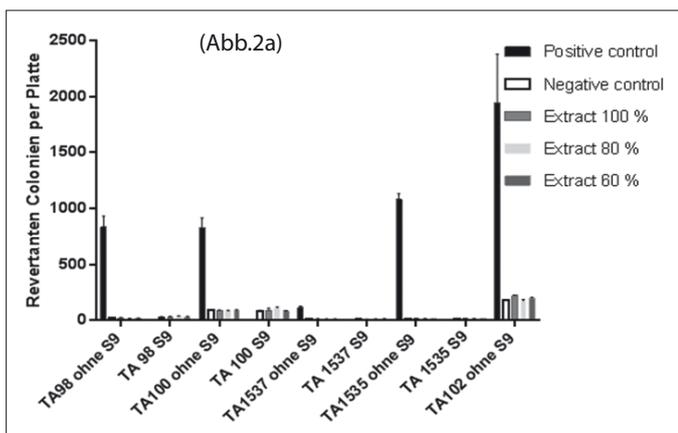


Abbildung 2a und 2b

Mit Extrakten wird ein Rückmutationstest (AMES) zur Bestimmung der Genotoxizität (Erbgutschädigung) durchgeführt. Die Extrakte werden durch Inkubation der ICX Implantate in wasserlöslichen (polaren) (Abb.2a) und nicht wasserlöslichen (unpolaren) (Abb. 2b) Lösungen hergestellt. Als Testorganismus werden Bakterienstämme (T98, TA100, TA1537 und TA 1535 und TA 102) verwendet, die aufgrund spezieller Erbgutveränderungen nicht auf Minimalnährböden wachsen können. Um den Metabolismus des Säugetierorganismus zu simulieren, werden einigen Proben Lebermikrosomen (z.B. TA 98 S9) hinzugefügt. Das Testprinzip beruht darauf, dass in Anwesenheit erbgutschädigend wirkender Substanzen gehäuft Rückmutationen auftreten. Diese „ermöglichen den Bakterien auch auf Minimalnährböden zu wachsen. Die Bakterienkolonien können gezählt werden und lassen so Rückschlüsse auf eventuelle erbgutschädigende Wirkungen der Proben zu. n = 1 (in Triplikaten) Durchschnitt + SD ANOVA ausgewertet mit Graph Pad Prism Vers.6 (Auszug aus einer Genotoxizitätsstudie durchgeführt (2014) von BSL Bioserv, Planegg, Deutschland, Studiendirektor Dipl. Biologin Anja Holz Originaldaten in Akten bei medentis hinterlegt).

# **Biologische in-vivo und in-vitro Untersuchungen von ICX-templant®**

## **2. Bioburdentest**

Beim Bioburdentest wurde die Population lebensfähiger Mikroorganismen auf dem Produkt und oder in ihrer Verpackung bestimmt. Die regelmäßige Ermittlung des Bioburdens auf dem Produkt (Feststellung der Vorverkeimung von für die Sterilisation vorgesehenen Produkten) zeigt die „Hygiene während der Produktion“ und ist erforderlich, um eine keimarme Herstellung nachzuweisen. Der Grenzwert liegt bei höchstens 5 CFU (Kolonie bildende Einheit)/Objekt (DIN EN ISO 11737:1).

## **3. USP Pyrogen test und Bacterial Endotoxin LAL test**

Die Endotoxine gramnegativer Bakterien gehören zu den stärksten bekannten Pyrogenen. Diese Substanzen sind in der Lage, beim Menschen Fieber hervorzurufen. Sie überstehen hohe Temperaturen und werden bei herkömmlichen Reinigungsprozessen nicht abgetötet. Der in-vitro-Pyrogentest gemäß USP 151 Richtlinie wird für die Prüfung auf

Pyrogenfreiheit von injizierbaren Arzneimitteln als vollständiger Ersatz des Tierversuchs entwickelt. Statt Fieber im Säugetierorganismus wird die Fieberreaktion im Reagenzglas nachgestellt: Beim in-vitro-Pyrogentest werden Fiebersignalstoffe (endogene Fiebermoleküle) in vitro in Humanblut detektiert. Beim LAL Test wird das Limulus-Amoebocyten-Lysat (LAL) aus gereinigten Amoebocyten des Pfeilschwanzkrebses (*Limulus polyphemus*) verwendet. Der Test basiert auf der Tatsache, dass bakterielles Endotoxin in LAL eine leicht zu erkennende Trübung und Gelierung auslöst. Der LAL-Test stellt eine Methode für den qualitativen Nachweis und der in-vitro-Pyrogentest einen quantitativen Nachweis von Endotoxin (Pyrogen) dar. Der Endotoxin-Grenzwert für steriles Medizinprodukt nach USP beträgt lediglich 20EU/Device (Ph. Eur. 6, 2.6.14).

# Biologische in-vivo und in-vitro Untersuchungen von ICX-templant®

Tabelle 2: Um die Biokompatibilität des ICX-templant Implant Titan Grad 4 zu überprüfen, wurden die in Tabelle 1 aufgeführten Biokompatibilitätstests in Anlehnung an die DIN EN ISO 10993, an OECD bzw. andere Richtlinien mit ICX-templant Implantssystemen durchgeführt:

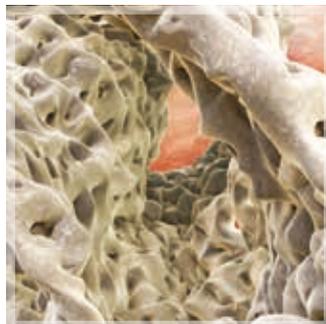
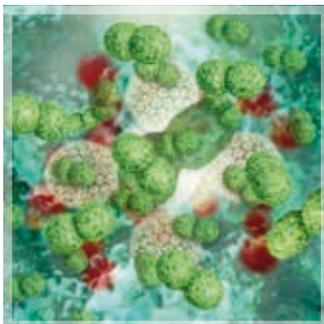
Biologisches Risiko	Norm/Richtlinie	Test	Resultat	Bemerkungen
Zytotoxizität	EN ISO 10993-5, DIN EN ISO 1174, USP 30 <87>, AS 2696 App. C. BS 5736 Part 10	Wachstumsinhibitionsstest <sup>1</sup>	Keine Wachstumsinhibition	
Gentoxizität	DIN EN ISO 10993-3, OECD 471	Rückmutationstest (Ames Test) <sup>1,2,3</sup>	Nicht genotoxisch	Bakterien
	DIN EN ISO 10993-3, OECD 476	TK Gene Mutation (Mouse Lymphoma Assay) <sup>3</sup>	Nicht genotoxisch	Säugetierzellen
	DIN EN ISO 10993-3, OECD 473	Chromosomenabberation Test <sup>3</sup>	Nicht genotoxisch	Säugetierzellen
Toxizität	DIN EN ISO 10993-11 OECD 473	Akute Toxizität <sup>3</sup>	Keine Hinweise auf akute Toxizität	28 Tage Studie
	DIN EN ISO 10993-11 OECD 473	Subchronische Toxizität <sup>3</sup>	Keine Hinweise auf subchronische oder chronische Toxizität	90 Tage Studie
Skin Sensitization Test	DIN EN ISO 10993-10 OECD 406	Intradermal <sup>3</sup>	Keine Irritation oder Sensibilisierung	
	DIN EN ISO 10993-10 OECD 406	Hypersensivität <sup>3</sup>	Keine Irritation oder Sensibilisierung	
Implantation	nach DIN EN ISO 10993-6	Subkutane Implantation <sup>3</sup>	Keine lokalen Effekte nach Implantation	12 Wochen Studie
	nach DIN EN ISO 10993-6	Knochen Implantation <sup>3</sup>	Keine lokalen Effekte nach Implantation	26 Wochen Studie
Hämokompatibilität	DIN EN ISO 10993-4	Hämolyse <sup>3</sup>	Kein hämolytischer Effekt	
Pyrogen/Endotoxin Test	Ph. Eur. 6, 2.6.14 Ph. Eur. 6, 2.6.8	LAL, Pyrogen (MAT) <sup>4</sup>	Ohne Befund	
Ermittlung der Population lebensfähiger Mikroorganismen auf dem Produkt	DIN EN ISO 11737:1	Bioburden <sup>3</sup>	Ohne Befund	
Extractables & Leachables	DIN EN ISO 10993-18	Test zur Extraktion (Extractables) und Migration (Leachables) von Substanzen <sup>5</sup>	Ohne Befund	

1) Test wurde durchgeführt (2014) von BSL Bioserv, Planegg, Deutschland Studiendirektor Dr. Dipl. Biol. Benjamin Hoy, 2) Test wurde durchgeführt von BSL Bioserve, Planegg, Deutschland Studiendirektor Dipl. Biol. Anja Huber, 3) Test wurde durchgeführt (2014) vom Sichuan Testing Center for Biomaterials and Medical Devices, Sichuan, China Studiendirektor Biol. Jie Liang, 4) Test wurde durchgeführt (2014) von Zwisler Laboratorium, Konstanz, Deutschland Studiendirektor Dr. Dipl. Biol. Christian Drainig, 5) Test wurde durchgeführt (2014) von BSL Bioserv, Planegg, Deutschland Studiendirektor Dipl. Ing (FH)

Das FAIRE Premium  
Implantat-System **ICX**

**Das FAIRE Premium  
Implantat-System**

# ICX



**Das FAIRE Premium  
Implantat-System**

# ICX

**Biologische in-vivo und in-vitro  
Untersuchungen von ICX-templant®**

