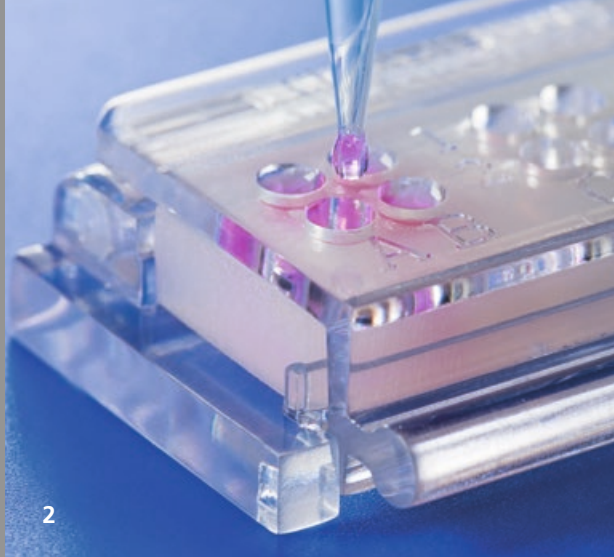


1



2



3

1 cm




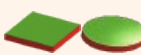
BIO- UND MEDIZINTECHNIK

BIOMATERIALTESTUNG 2.0 – STANDARDISIERT, RESSOURCENSPPAREND: ClickKit-Well

M.Sc. Constantin Ibleib, Dr. Susanne Kurz, Dipl.-Ing. Elisabeth Preuße, Dr. Juliane Spohn

Die rasante Entwicklung innovativer, an Patientenbedürfnisse angepasster Implantatmaterialien erfordert verlässliche standardisierte Testverfahren und Prüfsysteme. Nur so lassen sich Material-sicherheit und -funktionalität präventiv beurteilen. Aktuell werden biologische Tests in einer Plastik-Zellkulturplatte (Goldstandard) durchgeführt. Hierbei werden die Materialprüfkörper in jeweils eine Vertiefung (Well) gelegt. Das birgt jedoch eine Reihe von Fehlerquellen (Tabelle):

Analytische Fehlerquellen während Materialtestung in der Zellkulturplatte (Goldstandard) und Behebung dieser durch das eigens entwickelte In-vitro-Testsystem

Fehlerquellen (Zellkulturplatte)	In-vitro-Testsystem
 Seiten und Kanten	Nur die behandelte Seite wird betrachtet
 Unterseite (inkl. ID-Tag)	Nur die behandelte Seite wird betrachtet
 Einfluss der Umgebung in Abhängigkeit von Materialdimension	Einfluss auf alle Materialproben identisch
 Unterschiede in Materialdimensionen	Standardisierung für verschiedene Problemdimensionen

Neuartiges In-vitro-Testsystem (ClickKit-Well)

Um diese Fehler zu reduzieren, wurde am Fraunhofer IKTS das In-vitro-Testsystem »ClickKit-Well« entwickelt (DE 10 2018 221 415.8, 12/18). Das System bietet größenstandardisierte Oberflächen und Wells (analog gängiger Zellkulturformate). Dies wird durch ein verformbares, durchlochtetes Aufnahmeelement realisiert, das auf der Oberseite des zu testenden Materials

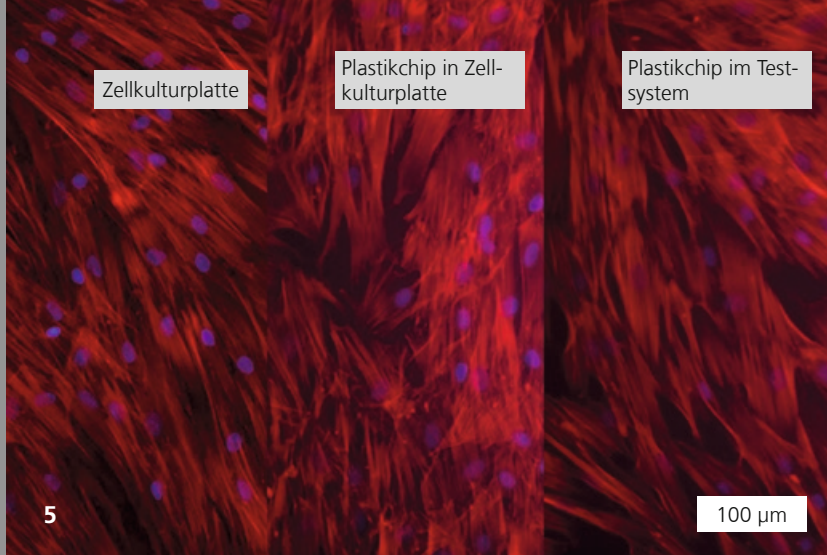
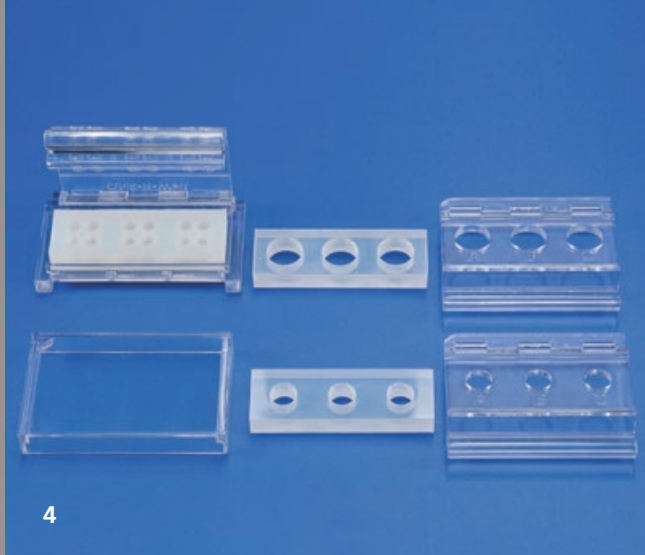
fixiert wird. In die erzeugten Wells kann Biomaterial eingebracht werden und so die Wechselwirkung zum Materialprüfkörper untersucht werden. Durch diesen spezifischen Aufbau des Testsystems werden unterschiedliche Oberflächeneigenschaften (z. B. Rauheiten) toleriert und die Durchführung multipler Tests auf einer Materialprobe ermöglicht.

Das In-vitro-Testsystem beschränkt den Kontakt des biologischen Materials mit dem Materialprüfkörper auf die zu testende Seite des Materialprüfkörpers. Der eigens entwickelte Verschleißmechanismus erlaubt einen dauerhaften, fluiddichten Verschluss zwischen Aufnahmeelement und Materialprüfkörper. Das Testsystem ist modular konzipiert und in den gängigen Zellkulturformaten 96-Well, 48-Well und 24-Well konstruiert. Im 96-Well-Format ist das Aufnahmeelement so gestaltet, dass bis zu 4 Wells gleichzeitig auf einem eingelegten Materialprüfkörper erzeugt werden. Ein Sterildeckel, der auf das geschlossene System aufgesetzt wird, erlaubt steriles Arbeiten.

Der neue Ansatz, größenstandardisierte Oberflächen auf Materialprüfkörpern zu erzeugen, sorgt für ein einheitliches Test-szenario, das unabhängiger von Materialdimensionen ist und bisherige Fehlerquellen in der In-vitro-Testung minimiert.

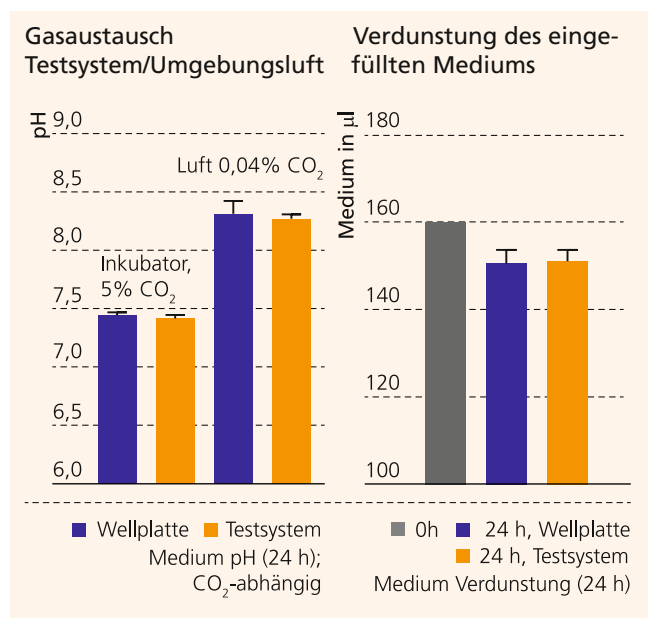
Machbarkeitsuntersuchung

In Machbarkeitsuntersuchungen wurde der Gasaustausch zwischen Testsystem und umgebender Luft sowie Verdunstungsrate des eingefüllten Mediums im Vergleich zur Standard-Zellkulturplatte getestet.



BIO- UND MEDIZINTECHNIK

Für optimale Wachstumsbedingungen der kultivierten Zellen muss der Gasaustausch mit der umgebenden Luft gewährleistet sein. Unter Verwendung eines Bicarbonat-Medien-Puffersystems enthält diese standardgemäß 5 % CO₂ (Brutschrank).



Der korrekte Gasaustausch wurde über die Bestimmung des Zellkulturmedien-pH-Wertes nach 24 Stunden Inkubation in 5 % und 0,04 % CO₂-haltiger Luft getestet (Graphik Gasaustausch). Die Inkubation des Mediums in 0,04 % CO₂-haltiger Luft führt sowohl im In-vitro-Testsystem als auch in der Zellkulturplatte gleichermaßen zu einem pH-Wert-Anstieg. Erwartungsgemäß zeigt die Inkubation in 5 % CO₂-haltiger Luft sowohl im Testsystem als auch in der Zellkulturplatte eine optimale Medienpufferung um einen pH-Wert von 7,4. Durch die Abhängigkeit des Bicarbonat-Puffersystems vom CO₂-Gehalt der umgebenden Luft konnte so der korrekte Gasaustausch des Testsystems mit der Umgebungsluft gezeigt werden.

Ähnliche Ergebnisse konnten für die Analyse der Medienverdunstungsrate über 24 Stunden Inkubation unter Brutschrankbedingungen (37 °C, feuchte Atmosphäre) gezeigt werden

(Graphik Verdunstung). In einem vergleichenden Zellversuch wurden humane Knochenmarksstammzellen (MSCs) in einer Dichte von $2,5 \times 10^3/\text{cm}^2/0,5 \text{ ml}$ in eine 96-Well-Zellkulturplatte auf einen Plastik-Materialprüfkörper, der in der Zellkulturplatte sowie im In-vitro-Testsystem eingelegt wurde, ausgesät. Nach 24 Stunden zeigt sich ein nahezu identisches Bild der Zelldichte und -ausbreitung in allen drei Testansätzen.

Die Versuche zeigen, dass sich das In-vitro-Testsystem zur Untersuchung von Zellkulturen eignet. Im nächsten Schritt wird die Eignung des Testsystems für den breiten Einsatz in der Zellkultur, u. a. für Zellsekretions- und Zell-Metabolismus-Analysen, validiert. Es sollen technische Anforderungen für marktrelevante Anwendungen an das System gestellt und geprüft werden.

Leistungs- und Kooperationsangebot

- Biologische Materialbeurteilung (Sicherheit und Funktionalität)
- Zellbiologische Assays für die direkte Anwendung auf Materialoberflächen
- Miniaturisierung biologischer In-vitro-Tests
- Entwicklung standardisierter Testszenarien
- Biointerface-Studien: Oberflächeneffekte

- 1 *Das In-vitro-Testsystem »ClickIt-Well« (DE 10 2018 221 415.8, 12/18) ermöglicht standardisierte Tests direkt am Material mit reproduzierbaren Ergebnissen.*
- 2 *Zelltest im 96-Well-Format.*
- 3 *Beispiele für Materialproben.*
- 4 *Einzelkomponenten des Testsystems.*
- 5 *Zelldichte und -ausbreitung in verschiedenen Testszenarien.*