



Materials Science and Engineering C, Juillet 2014

Menghua Li , Tieying Yin , YazhouWang, Feifei Du, Xingzheng Zou , Hans Gregersen , Guixue Wang

Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

Nicolas MAILLARD

Pharmacien – CH VANNES

Le 9 octobre 2019





DECLARATIONS LIENS D'INTERÊTS

- Aucun



Contexte

- Les maladies coronariennes représente la première cause de morbi-mortalité
- Traitement interventionnel principal par la mise en place d'endoprothèse coronarienne
- Offre pléthorique sur ce segment
- Il existe une grande variété de matériaux constitutifs
 - Acier inox 316L
 - Alliage Chrome-Cobalt
 - Alliage Platine-Chrome
- Problématique : beaucoup de ces matériaux comprennent du Nickel > relargage d'ions Nickel pouvant entrainer des effets iatrogènes



Objectifs

- A partir de l'article « Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro » :
 - Analyser la méthodologie de l'étude
 - Comparer les résultats aux exigences réglementaires
 - Faire le point sur l'impact potentiel du Nickel et les alternatives possibles

Objectifs

Materials Science and Engineering C 43 (2014) 641–648



Contents lists available at ScienceDirect

Materials Science and Engineering C

journal homepage: www.elsevier.com/locate/msec



Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro



Menghua Li ^a, Tieying Yin ^a, Yazhou Wang ^a, Feifei Du ^a, Xingzheng Zou ^b, Hans Gregersen ^{c,d}, Guixue Wang ^{a,*}

^a Key Laboratory of Biorheological Science and Technology (Chongqing University), Ministry of Education, Chongqing Engineering Laboratory in Vascular Implants, Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing, China

^b Chongqing Materials Research Institute, Chongqing, China

^c GIOME Center, College of Bioengineering, Chongqing University, China

^d GIOME Institute, RAK, United Arab Emirates



Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

- Objectif de cet article :
 - Tester la biocompatibilité d'un nouvel acier inoxydable sans Nickel pour utilisation potentielle comme biomatériau de futures endoprothèses coronariennes



Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

- Matériels et méthodes :
 - Feuilles d'acier inoxydable sans nickel à haute teneur en azote :
 - ✓ Fabrication : fusion par induction sous vide et refusion dans électrocuve
 - ✓ Caractérisation du matériau
 - Lignée cellulaire : précurseur d'ostéoblaste
 - ✓ Test d'adhésion cellulaire
 - ✓ Test de cytotoxicité par MTT
 - ✓ Test d'adhésion plaquettaire
 - ✓ Taux d'hémolyse
 - ✓ Contenu protéique intra-cellulaire
 - ✓ Activité enzymatique
 - ✓ Minéralisation



1/ Que est l'élément chimique ajouté aux alliages de métal pour augmenter leur flexibilité ?

- Le Fer
- Le Manganèse
- Le Nickel
- Le Molybdène



1/ Que est l'élément chimique ajouté aux alliages de métal pour augmenter leur flexibilité ?

- Le Fer
- Le Manganèse
- **Le Nickel**
- Le Molybdène

Nombre de bonnes réponses : 33/36



2/ Sous quel autre nom est plus connu le nitrogène ?

- L'azote
- Le nitrate
- Le nitrure
- L'oxygène



2/ Sous quel autre nom est plus connu le nitrogène ?

- L'azote
- Le nitrate
- Le nitrure
- L'oxygène

Nombre de bonnes réponses : 32/36



Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

■ Résultats:

- Caractérisation de l'acier inoxydable : composition chimique

Table 1

Chemical compositions of the medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel (wt.%).

Element	Cr	Mn	Mo	C	Ti	N	Fe
Materials	17.62	15.34	2.10	0.0056	0.013	0.42, 0.54, 0.60	Bal.

Variation sur la composition en azote

3/ Quelle est la structure cristalline des aciers inox évoqués dans l'article de *Li et al.* ?

- Ferritiques
- Austénitiques
- Martensitiques
- Ferromagnétiques



3/ Quelle est la structure cristalline des aciers inox évoqués dans l'article de *Li et al.* ?

- Ferritiques
- **Austénitiques**
- Martensitiques
- Ferromagnétiques

Nombre de bonnes réponses : 29/36



Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

- Résultats:
 - Caractérisation de l'acier inoxydable : microstructure austénitique

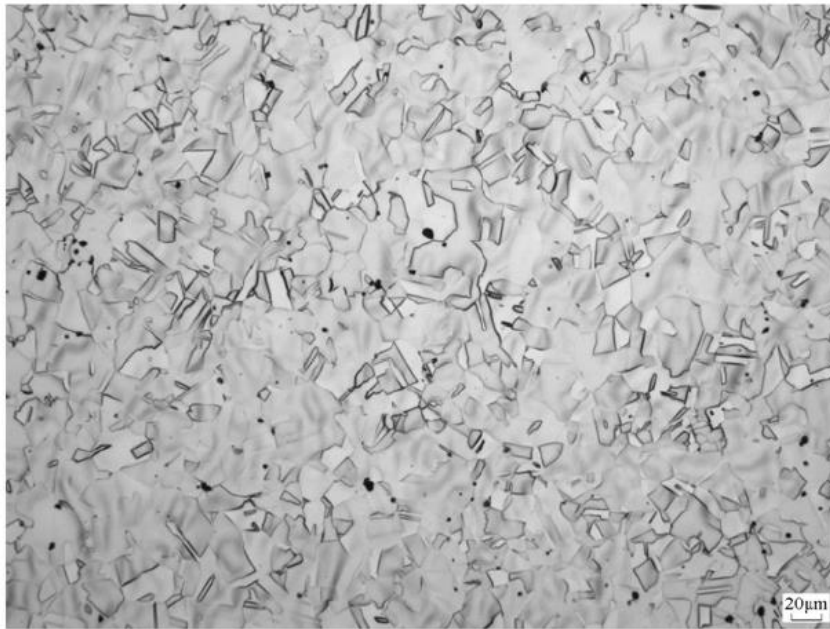


Fig. 1. Microstructure of medical grade nickel-free austenitic stainless steel with high nitrogen (200× magnification).



4/ Quel matériau présente la meilleure résistance à la traction ?

- Cr17Mn15Mo2NO.42 wt%
- Cr17Mn15Mo2NO.54 wt%
- Cr17Mn15Mo2NO.60 wt%
- 316L



4/ Quel matériau présente la meilleure résistance à la traction ?

- Cr17Mn15Mo2NO.42 wt%
- Cr17Mn15Mo2NO.54 wt%
- Cr17Mn15Mo2NO.60 wt%
- 316L

Nombre de bonnes réponses : 25/36



Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

- Résultats :
 - Caractérisation de l'acier inoxydable austénitique : propriétés mécaniques

Table 2

Mechanical properties of medical grade nickel-free austenitic stainless steel with high nitrogen.

Stainless steel material	Tensile strength (MPa)	Yield strength (MPa)	Nominal strain (%)	Reduction in area (%)	Impact property (J/cm ²)
Cr17Mn15Mo2N0.42 wt.%	1010	800	34.5	62.5	220
Cr17Mn15Mo2N0.54 wt.%	1020	855	29	63.5	232
Cr17Mn15Mo2N0.60 wt.%	1060	905	27.5	60	254
316L	550	252	64	72	290

→ Meilleure élasticité et résistance à la traction que l'acier 316L, plus faible index d'élongation augmentant avec la teneur en azote



5/ Quel est le type cellulaire utilisé dans l'article de *Li et al.* ?

- Des cellules souches mésenchymateuses adipocytaires humaines hASC
- Des fibroblastes murins L929
- Des précurseurs ostéoblastiques murins MC3T3-E1
- Des cellules ostéosarcomes humaines Saos-2



5/ Quel est le type cellulaire utilisé dans l'article de *Li et al.* ?

- Des cellules souches mésenchymateuses adipocytaires humaines hASC
- Des fibroblastes murins L929
- Des précurseurs ostéoblastiques murins MC3T3-E1
- Des cellules ostéosarcomes humaines Saos-2

Nombre de bonnes réponses : 32/36



6/ Dans l'article, quel est le type de contact entre le biomatériau et les cellules pour le test MTT ?

- Essais par contact direct
- Essais par contact indirect
- Essais utilisant un extrait
- Aucune des réponses



6/ Dans l'article, quel est le type de contact entre le biomatériau et les cellules pour le test MTT ?

- Essais par contact direct
- Essais par contact indirect
- Essais utilisant un extrait
- Aucune des réponses

Nombre de bonnes réponses : 19/36



Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

- Résultats :
 - Test de cytotoxicité : MTT assay par contact indirect

Table 3
The results of toxicity test.

Materials	1 day			3 days			5 days		
	O.D	RGR/%	Toxicity level	O.D	RGR/%	Toxicity level	O.D	RGR/%	Toxicity level
Cr17Mn15Mo2N0.42 wt.%	0.173 ± 0.075	83.57	1	0.372 ± 0.059	88.01	1	0.547 ± 0.079	84.67	1
Cr17Mn15Mo2N0.54 wt.%	0.174 ± 0.080	84.38	1	0.353 ± 0.022	83.51	1	0.558 ± 0.034	86.38	1
Cr17Mn15Mo2N0.60 wt.%	0.179 ± 0.084	86.63	1	0.381 ± 0.063	90.00	1	0.573 ± 0.048	88.70	1
Nitinol alloy	0.174 ± 0.053	84.21	1	0.372 ± 0.056	88.09	1	0.610 ± 0.097	94.48	1
Negative control	0.207 ± 0.077	100	0	0.422 ± 0.036	100	0	0.646 ± 0.120	100	0
Positive control	0.047 ± 0.022	22.70	4	0.092 ± 0.019	21.8	4	0.160 ± 0.049	24.77	4

→ Capacité des cellules à se fixer sur le matériau et à proliférer jusqu'à 5 jours



7/ L'adhésion cellulaire des MC3T3-E1 est plus importante au contact des biomatériaux composés de nickel qu'en absence de nickel ?

- Vrai
- Faux



7/ L'adhésion cellulaire des MC3T3-E1 est plus importante au contact des biomatériaux composés de nickel qu'en absence de nickel ?

- Vrai
- Faux

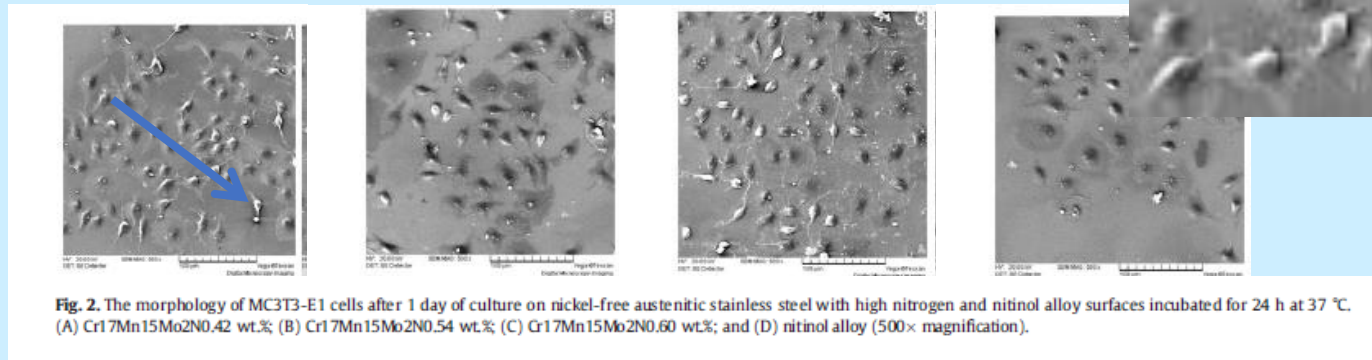
Nombre de bonnes réponses : 14/36



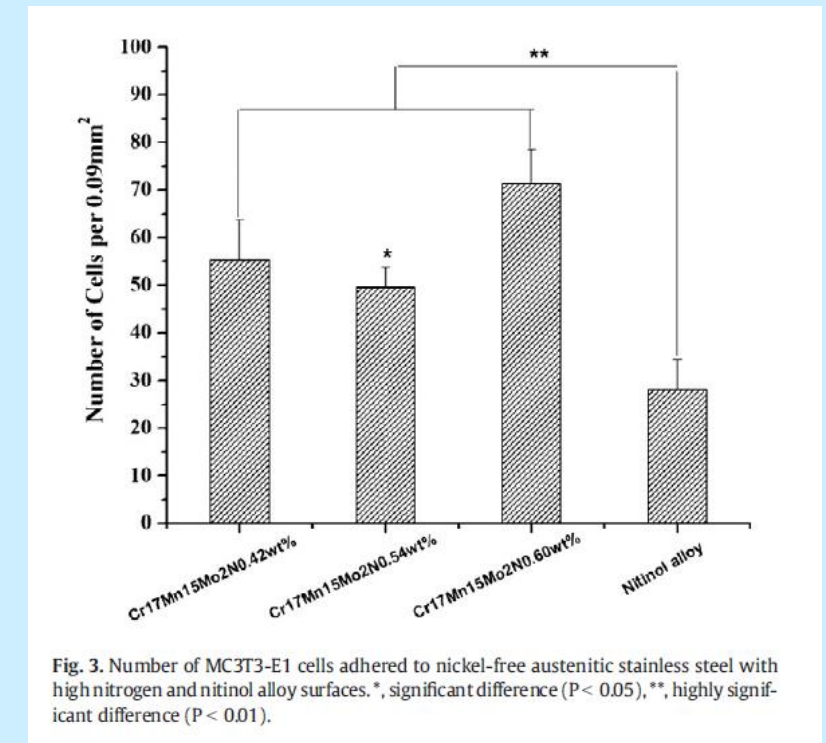
Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

■ Résultats :

- Adhésion et Morphologie des cellules :



→ Capacité des cellules à adhérer significativement supérieure à un alliage de Nitinol et à conserver une morphologie typique de précurseurs d'ostéoblastes (↗teneur en azote)





8/ Quelle est la norme harmonisée relative aux tests d'hémocompatibilité ?

- NF EN ISO 10993-5
- NF EN ISO 10993-4
- NF EN ISO 10993-7
- NF EN ISO 10993-12



8/ Quelle est la norme harmonisée relative aux tests d'hémocompatibilité ?

- NF EN ISO 10993-5
- **NF EN ISO 10993-4**
- NF EN ISO 10993-7
- NF EN ISO 10993-12

Nombre de bonnes réponses : 30/36



Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

- Résultats :
 - Adhésion plaquettaire :

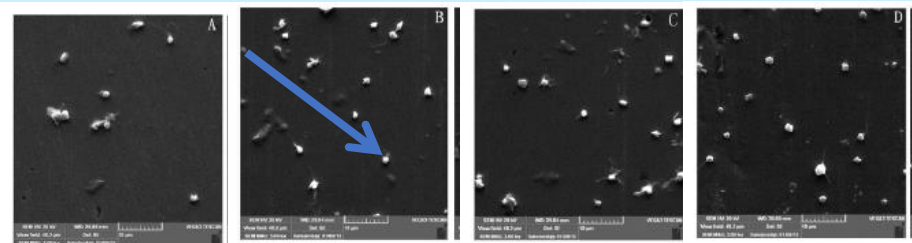


Fig. 4. The morphology of SEM of the adherent platelets on the surface of austenitic stainless steel and nitinol alloy. (A) Cr17Mn15Mo2N0.42 wt%; (B) Cr17Mn15Mo2N0.54 wt%; (C). Cr17Mn15Mo2N0.60 wt%; and (D) nitinol alloy (3000 $\times$ magnification).

→ Adhésion plaquettaire significativement moindre pour l'acier inoxydable riche en azote

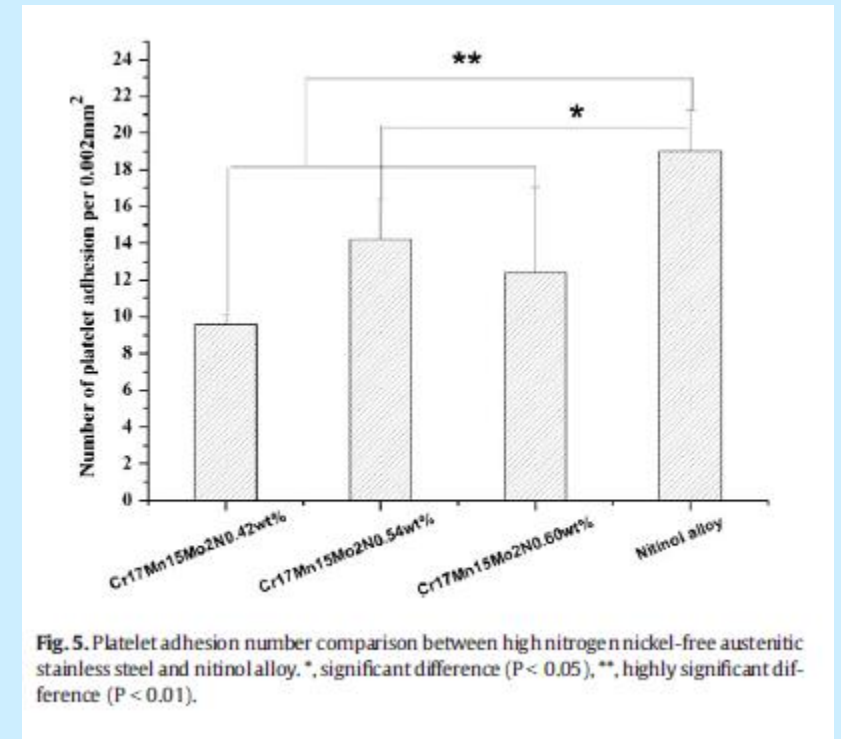


Fig. 5. Platelet adhesion number comparison between high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel and nitinol alloy. *, significant difference ($P < 0.05$), **, highly significant difference ($P < 0.01$).



9/ Quel est le taux d'hémolyse accepté lors du contact direct entre les biomatériaux et les cellules sanguines ?

- $> 5\%$
- $> 10\%$
- $< 10\%$
- $< 5\%$



9/ Quel est le taux d'hémolyse accepté lors du contact direct entre les biomatériaux et les cellules sanguines ?

- $> 5\%$
- $> 10\%$
- $< 10\%$
- $< 5\%$

Nombre de bonnes réponses : 30/36



Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

- Résultats :
 - Taux d'hémolyse :

Table 4

The results of hemolysis rate testing positive control: distilled water, negative control: 0.9% NaCl.

Samples	Absorbance (A)	Hemolysis proportion
Positive control	0.9846 $\pm$ 0.0002	
Negative control	0.0077 $\pm$ 0.0001	
Cr17Mn15Mo2N0.42 wt%	0.0250 $\pm$ 0.0001	1.77%
Cr17Mn15Mo2N0.54 wt%	0.0251 $\pm$ 0.0001	1.78%
Cr17Mn15Mo2N0.60 wt%	0.0347 $\pm$ 0.0001	2.76%
Nitinol alloy	0.0517 $\pm$ 0.0003	4.50%

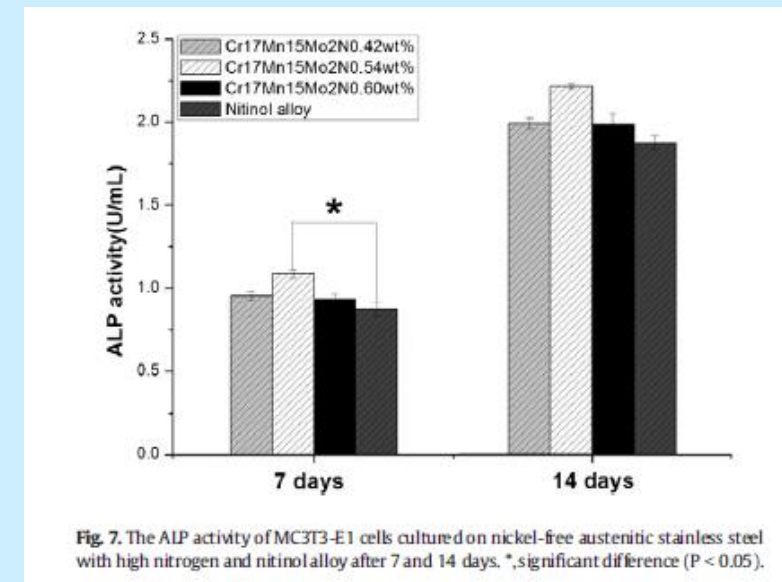
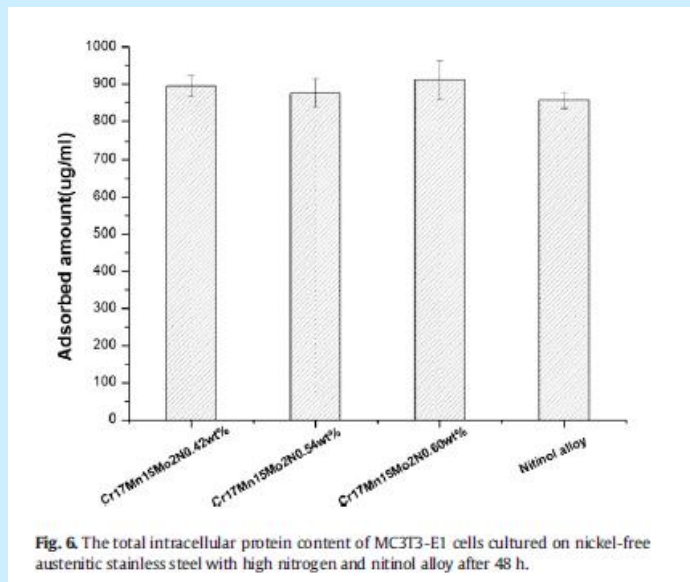
➡ Taux d'hémolyse inférieur au nitinol



Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

■ Résultats :

- Contenu protéique intracellulaire et activité enzymatique :



→ Pas d'impact sur le contenu protéique des cellules

→ Pas d'impact sur l'activité enzymatique cellulaire (augmentation après 14j)



10/ L'absence de nickel dans la composition des biomatériaux favorise la différenciation des cellules MC3T3-E1 ?

- Vrai
- Faux



10/ L'absence de nickel dans la composition des biomatériaux favorise la différenciation des cellules MC3T3-E1 ?

- Vrai
- Faux

Nombre de bonnes réponses : 23/36

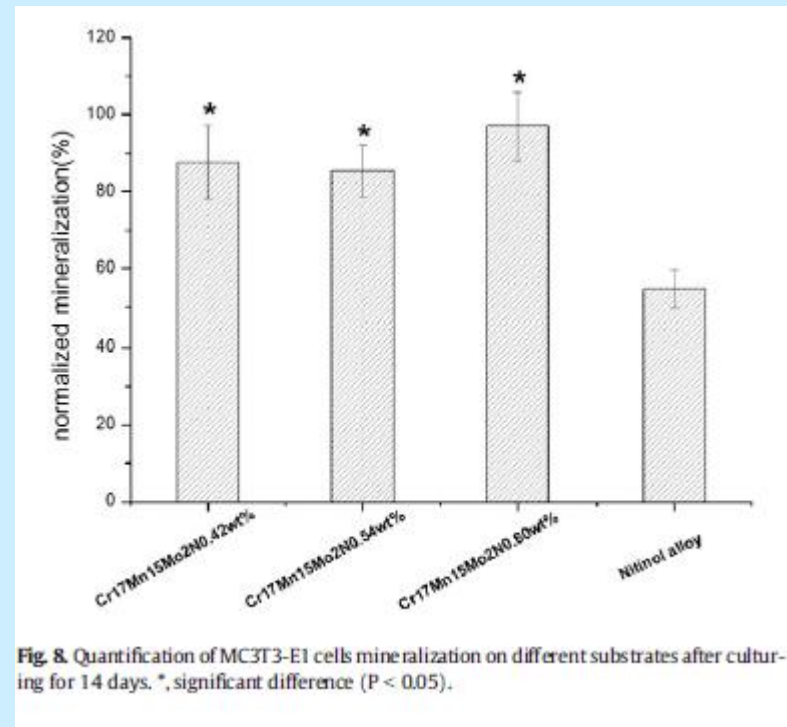


Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

■ Résultats :

- Minéralisation :

→ Minéralisation plus importante avec l'acier inoxydable riche en azote





Référentiel

Du point de vue de la norme EN-ISO 10993 pour une endoprothèse coronarienne :

- 11 tests à effectuer incluant l'hémocompatibilité
 - Caractérisation chimique des matériaux rentrant dans la composition
 - Caractérisation des substances extractibles et produits de dégradation
 - Tests sur tissu en contact

Référentiel

Génotoxicité, cancérogénicité

-> NF ISO 10993-3

Hémocompatibilité

-> NF EN ISO 10993-4

Cytotoxicité

-> NF EN ISO 10993-5

Sensibilisation et irritation

-> NF EN ISO 10993-10

Toxicité systémique

-> NF EN ISO 10993-11

Identification et quantification des produits de dégradation issus des métaux et alliages

-> NF EN ISO 10993-15

...

Nature du contact corporel		Temps de contact	Information physique et/ou chimique	Cytotoxicité	Sensibilisation	Irritation ou réaction cutanée	Pyrogénicité due au matériau ^a	Toxicité systémique aiguë	Toxicité subaiguë	Toxicité subchronique	Toxicité chronique	Implantation ^b	Hémocompatibilité	Génotoxicité	Cardiogénicité	Toxicité sur la reproduction/le développement ^c	Biodégradation ^d
Catégorie	Contact	A- limité (≤24h)	x ^e	y ^f	E	E											
		B- prolongé (>24h à 30j)															
		C- long terme (>30j)															
Dispositif de surface	Peau non lésée	A			E	E											
		B	X	E	E	E											
		C	X	E	E	E											
	Muqueuse	A	X	E	E	E											
		B	X	E	E	E	E	E	E		E						
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E		E				
	Surface lésée	A	X	E	E	E	E	E									
		B	X	E	E	E	E	E	E		E						
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E		E	E			
Dispositif de communication externe	Voie sanguine indirecte	A	X	E	E	E	E	E					E				
		B	X	E	E	E	E	E	E				E				
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E		
	Tissu / os / dentine	A	X	E	E	E	E	E									
		B	X	E	E	E	E	E	E		E		E				
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E		E	E	E		
	Sang circulant	A	X	E	E	E	E	E					E	E [*]			
		B	X	E	E	E	E	E	E		E		E	E			
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E		
Dispositif implanté	Tissu / os	A	X	E	E	E	E	E									
		B	X	E	E	E	E	E	E		E		E				
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E		E	E	E		
	Sang	A	X	E	E	E	E	E					E	E	E		
		B	X	E	E	E	E	E	E		E		E	E			
		C	X	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E		

^a cf ISO 10993-11 annexe F

^b Considérer les voies d'implantation adaptée. Par exemple, les dispositifs devant être en contact avec des muqueuses non lésées doivent être étudiés en contact avec des muqueuses non lésées

^c La toxicité sur la reproduction et sur le développement doivent être indiquée pour les nouveaux matériaux, les matériaux avec une toxicité connue sur la reproduction ou sur le développement, les dispositifs ciblant une population particulière (ex: femmes enceintes), et/ou les dispositifs dont les matériaux peuvent potentiellement se retrouver dans les organes de reproduction

^d Les informations de biodégradation doivent être fournies pour tous les dispositifs, composants ou matériaux restant dans le patient, qui peuvent potentiellement être dégradés

^{*} X signifie qu'une information préalable est nécessaire pour évaluer les risques

^E signifie critère à prendre en compte dans l'évaluation des risques (soit en utilisant des données existantes, soit en effectuant des tests supplémentaires sur des critères d'évaluation, soit en expliquant pourquoi le critère d'évaluation ne nécessite pas d'évaluation supplémentaire)

^f Tissu comprend les tissus fluides et les espaces sous-cutanés. Pour les dispositifs permettant le passage d'un gaz ou les composants ayant seulement un contact indirect avec les tissus, se référer aux normes spécifiques du dispositif pour avoir l'information de biocompatibilité appropriée. Les renseignements obtenus lors des évaluations de l'implantation peuvent être pertinents concernant la toxicité systémique aiguë, la toxicité subaiguë, la toxicité subchronique et la toxicité chronique



Study of biocompatibility of medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel in vitro

■ Conclusion :

- Caractérisation de ce nouvel acier inoxydable
- Pas de cytotoxicité
- Hémocompatibilité
- Minéralisation plus importante avec ce nouveau type d'acier :
 - ✓ Effet recherché avec ce type de prothèse ?
 - ✓ Lignée cellulaire bien choisie ? (HUVEC,...)
- Matériau comparateur : Nitinol

Comparing overall results from cytocompatibility (cell proliferation assays and cell attachment), blood compatibility (platelet adhesion and hemolysis rate test) and cell response (total intracellular protein content, alkaline phosphatase assay and mineralization) indicates that the newly developed high nitrogen nickel-free stainless steel exhibits better biocompatibility than nitinol alloy. The mechanical properties and biocompatibility showed that the medical grade high nitrogen nickel-free austenitic stainless steel might be used as alternative materials of stent. However, it still needs to be further modified for clinical use.



Le Nickel dans les alliages métalliques

- Rationnel de cet article : tester la biocompatibilité d'un acier inoxydable sans Nickel
- Le Nickel rentre dans la composition de nombreux alliages :
 - Acier inoxydable 316L
 - Alliage Chrome-Cobalt
 - Alliage Platine-Chrome
 - Nitinol
- Alliages utilisés dans de nombreuses indications :
 - Implants orthopédiques
 - Implants intra-vasculaires
 - Implants gynécologiques (Essure®)
 - Implants dentaires
 - ...



Le Nickel dans les endoprothèses coronariennes

- Présent dans la composition des endoprothèses suivantes (liste non exhaustive)
 - ✓ Sierra[®] (Abbott) : Chrome-Cobalt
 - ✓ Resolute Onyx[®] (Medtronic) : Chrome-Cobalt + Platine-Iridium
 - ✓ Orsiro[®] (Biotronik) : Chrome-Cobalt
 - ✓ Promus Premier[®] (Boston Scientific)
 - ✓ Biomatrix[®] (Biosensors) : Chrome-Cobalt
 - ✓ Lumeno Alpha[®] (Cardinal Health) : Chrome-Cobalt
 - ✓ Cre8[®] (Alvimedica) : Chrome-Cobalt
 - ✓ Ultimaster[®] (Terumo) : Chrome-Cobalt
 - ✓ ...
- Allergie au Nickel est une CI à la pose de ces endoprothèses



Le Nickel dans les alliages métalliques

- Dans la littérature :
 - Corrosion des endoprothèses métalliques à différents degrés en fonction de leur composition
 - Relargage d'ions Nickel à l'origine de réactions inflammatoires
 - Données contradictoires sur lien entre hypersensibilité au Nickel (et autres métaux relargués) et resténose intra-stent :
 - ✓ Premières études sur faible nombre de patients ne montraient pas de lien entre allergies au Nickel et resténose intra-stent
 - ✓ Une méta-analyse de 2013 (Gong et al.) montre une augmentation du risque de resténose supérieure pour les patients présentant une allergie
 - Difficulté à élucider les mécanismes :
 - ✓ Patient
 - ✓ Alliage de l'endoprothèse
 - ✓ Polymère utilisé (DES)

REVIEWS

Hypersensitivity Reactions to Implanted Metal Devices: Facts and Fictions

Teo ZWW, Schalock PC

Department of Dermatology, Massachusetts General Hospital, Harvard School of Medicine, Boston, Massachusetts, USA

J Investig Allergol Clin Immunol 2016; Vol. 26(5): 279-294
doi: 10.18176/jiaci.0095

Review

Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review

N.S. Manam ^a, W.S.W. Harun ^{b,*}, D.N.A. Shri ^b, S.A.C. Ghani ^b, T. Kurniawan ^c, M.H. Ismail ^d, M.H.I. Ibrahim ^e

^a Institute of Postgraduate Studies, Universiti Malaysia Pahang, Lebuhraya Tun Razak, 26300, Gambang, Kuantan, Pahang, Malaysia

^b Green Research of Advanced Materials Laboratory (Grams Lab), Human Engineering Group, Faculty of Mechanical Engineering, Universiti Malaysia Pahang, 26600, Pekan, Pahang, Malaysia

^c Corrosion & Fracture Focus Group, Faculty of Mechanical Engineering, Universiti Malaysia Pahang, 26600, Pekan, Pahang, Malaysia

^d Faculty of Mechanical Engineering Universiti Teknologi MARA, Shah Alam, Selangor, Malaysia

^e Faculty of Mechanical and Manufacturing Engineering, Universiti Tun Hussien Onn Malaysia, 86400, Parit Raja, Batu Pahat, Johor, Malaysia

Acier inoxydable sans Nickel

- Dans la littérature :
 - Intérêt pour ce nouveau matériau
 - Développement sur différents types de prothèses : implants orthopédiques et endoprothèses coronariennes
 - Etude de biocompatibilité avec microsphères d'Héparine et de Poly-L-Lysine
 - Etude de biocompatibilité avec autre lignée cellulaire
 - Etude de la resténose intra-stent avec ce type d'acier inoxydable





Conclusion

- Article intéressant proposant un nouveau type d'acier inoxydable sans Nickel
 - Permet de s'interroger sur le rôle du Nickel dans les endoprothèses coronariennes
 - S'affranchir des problématiques d'allergie au Nickel
 - Résultats controversés quant à l'implication du Nickel sur la resténose
- Répond en partie à la question posée
- Méthodologie utilisée
 - Discutable sur la lignée cellulaire choisie
 - Discutable sur certains tests quant au matériau comparateur utilisé
 - Extrapolation envisageable à partir de feuilles d'acier ?



Conclusion

- Offre très large sur le segment des endoprothèses coronariennes
- Publications nombreuses mais trop souvent incomplètes
- Positionnement des ON par rapport aux exigences de la norme NF ISO10993
- Dans la pratique quotidienne : exigence des études de biocompatibilité



Merci pour votre attention

Nickel-free stainless steel avoids neointima formation following coronary stent implantation

Katsuhito Fujii^{1,2}, Ichiro Manabe¹, Makoto Sasaki^{3,4}, Motoki Inoue⁴, Hiroshi Iwata¹, Eriko Hasumi¹, Issei Komuro¹, Yasuyuki Katada⁴, Tetsushi Taguchi^{1,3,4} and Ryozyo Nagai⁵

¹ Department of Cardiovascular Medicine, University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo, 113-8655 Tokyo, Japan

² Translational Systems Biology and Medicine Initiative (TSBMI), University of Tokyo, Graduate School of Medicine, Tokyo, Japan

³ Graduate School of Pure and Applied Science, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan

⁴ Biomaterials Unit, Nano-Bio Field, International Center for Materials Nanoarchitectonics (MANA), National Institute for Materials Science, Tsukuba, Japan

⁵ Jichi Medical University, Tochigi, Japan

E-mail: manabe-ty@umin.ac.jp and nagai-ty@umin.ac.jp

Received 8 October 2012

Accepted for publication 2 December 2012

Published 28 December 2012

