

- [1] F. Sardelic, P.Y. Ao, D.A. Taylor, J.P. Fletcher, Prophylaxis against Staphylococcus epidermidis vascular graft infection with rifampicin – soaked, gelatin-sealed Dacron, Cardiovasc. Surgery 4 (1996) 389-392.
- [2] M. Vicaretti, W.J. Hawthorne, P. Y. Ao, J.P. Fletcher, An increased concentration of rifampicin bonded to gelatin sealed Dacron reduces the incidence subsequent graft infection following a staphylococcal challenge, Cardiovasc. Surgery 6 (1998) 268-273.
- [3] A. Haverich, S. Hirt, M. Karak, F. Sialari, H. Wahling, Prevention of graft infection by bonding gentamicin to dacron prostheses, J. Vasc. Surg. 15 (1998) 187-193.

- [4] Ginalska G. Uryniak A., Łobarzewski J., Osińska M., A method of antibiotics immobilization. Polish Patent no P-358934, (2003), Biuletyn Urzędu Patentowego 18 (2004) (801) s.124.
- [5] Frutos Cabanillas P., Dičz Peña E., Barrales-Rienda I.M. and Frutos, G.: Validation and in vitro characterization of antibiotic-loaded bone cement release. Int. J. Pharm. 209 (2000)15-26.

## OKREŚLENIE OPTIMALNYCH WARUNKÓW IMMOBILIZACJI AMIKACYNY NA MATERIAŁACH NACZYNIOWYCH

MONIKA OSIŃSKA-JAROSZUK\*, GRAŻYNA GINALSKA\*\*

\*ZAKŁAD BIOCHEMII, UNIWERSYTET M. CURIE-SKŁODOWSKIEJ, 20-031 LUBLIN, POLSKA

\*\*KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII, AKADEMIA MEDYCZNA, LUBLIN, POLSKA

E-MAIL:MONIOSI@POCZTA.ONET.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),172-174]

Immobilizowane formy antybiotyków od lat budzą duże zainteresowanie zarówno w przemyśle biotechnologicznym jak i w medycynie. W naszych wcześniejszych badaniach wykazaliśmy możliwość trwałego wiązania gentamycyny i amikacyny do biomateriałów poliestrowych wykorzystywanych w angioplastyce naczyń [1-3]. Uzyskanie tego typu wiązania wydaje się mieć istotne znaczenie w ewentualnym leczeniu infekcyjnych powikłań pooperacyjnych, ze względu na możliwość utrzymywania odpowiedniej dawki leczniczej antybiotyku na powierzchni protezy naczyniowej w określonym czasie.

Głównym celem pracy było zoptymalizowanie warunków procesu immobilizacji amikacyny na różnych typach protez naczyniowych wykorzystywanych w chirurgii naczyniowej.

Wiązanie amikacyny z wybranymi biomateriałami naczyniowymi przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną w zgłoszeniu patentowym naszego autorstwa [4]. Badania przeprowadzono na firmowych protezach naczyniowych wykonanych z polietylenotereftalanu uszczelnianych białkami (żelatyną bądź kolagenem). Stężenie amikacyny określano metodą spektrofotometryczną z dialdehydem ftalowym z detekcją UV przy długości fali 335 nm opracowaną przez nas na podstawie metody oznaczania gentamycyny [5]. Wstępne badania nad optymalizacją procesu wiązania amikacyny obejmowały określenie środowiska reakcji poprzez dobór odpowiedniego typu buforu i jego pH. Wykazano, że najodpowiedniejszym

## ESTIMATION OF OPTIMAL CONDITIONS FOR AMIKACIN IMMOBILIZATION ON VASCULAR BIOMATERIALS

MONIKA OSIŃSKA-JAROSZUK\*, GRAŻYNA GINALSKA\*\*

\*DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY, MARIA CURIE-SKŁODOWSKA UNIVERSITY, 20-031 LUBLIN POLAND

\*\*CHAIR AND DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY, MEDICAL UNIVERSITY, LUBLIN, POLAND

E-MAIL:MONIOSI@POCZTA.ONET.PL

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),172-174]

Immobilized antibiotic for years attract the interest of both biotechnological industry and medicine. In our earlier works [1-3] we have shown the possibility of durable and stable bonding of gentamicin and amikacin to polyester biomaterials used in vessel angioplastics. Such a modification seems to be a great importance in likely treatment of postoperative infections, because such modified prostheses retain the appropriately high antibiotic concentration in sufficient time after the implantation.

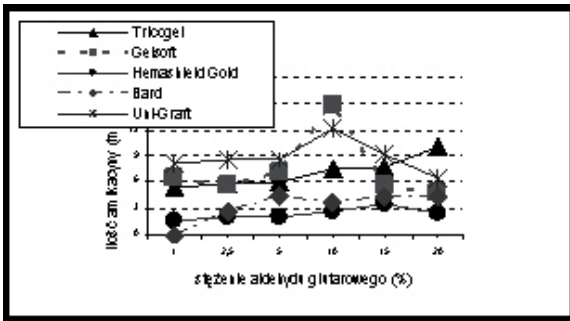
The main aim of this work was optimization of conditions of amikacin immobilization on different types of prostheses used in vascular surgery.

Immobilization of amikacin on selected vascular prostheses was performed according to procedure described in our patent pending [4]. The vascular prostheses were all made of polyethylene terephthalate and sealed either with gelatin or with collagen. Concentration of amikacin was estimated by spectrophotometric method with phtaldialdehyde and UV-detection at 335 nm, optimized for our conditions on base of gentamicin estimation method [5]. Pilot exper-

Rodzaj buforu Kind of buffer		Amikacyna związana z protezą Amikacin bound with prosthesis [mg/g]
0,1 M bufor Sörensen	pH 5.0	0.98
	pH 6.0	1.26
	pH 7.0	1.34
	pH 7.4	1.15
0,1 M bufor fosforanowy	pH 5.0	2.98
	pH 6.0	3.67
	pH 7.0	5.24
	pH 7.4	5.67
0,1 M buforowany roztwór soli (PBS)	pH 6.0	3.91
	pH 7.0	4.25
	pH 7.4	6.56

TABELA I. Dobór optymalnego typu buforu do immobilizacji amikacyny.

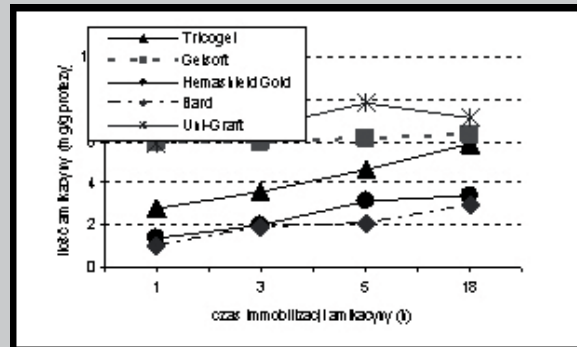
TABLE I. Optimization of type of buffer for amikacin immobilization



**RYS.1** Zależność ilości związanej amikacyny od stężenia aldehydu glutarowego.  
**FIG.1.** Dependence of amount of bound amikacin upon a concentration of glutaraldehyde.

typem buforu jest buforowany roztwór soli Na-K o pH=7.4, który umożliwia uzyskanie najwyższego stopnia związania amikacyny do wszystkich badanych typów protez (TABELA I). W dalszym etapie badań sprawdzano wpływ stężenia aldehydu glutarowego wykorzystywanego w procedurze wiązania amikacyny na ilości związanej z biomateriałami antybiotyku. Dla poszczególnych typów badanych protez uzyskiwano różne optymalne stężenia aldehydu glutarowego: 20% dla protezy Tricogel, 15% dla protez kolagenowych: Hemashield i Wovex i 10% dla pozostałych badanych protez (RYS.1). Następnie dokonano optymalizacji czasu immobilizacji amikacyny do poszczególnych typów protez. Wykazano, iż optymalnym czasem wiązania antybiotyku jest czas 18 h dla wszystkich badanych biomateriałów z wyjątkiem protezy Uni-Graft, dla której czas ten wyniósł 5 h (RYS.2).

W kolejnym eksperymencie badano wpływ stężenia amikacyny na ilość związanego antybiotyku i wydajność procesu immobilizacji. Uzyskane rezultaty wskazują na zależność statystyczną polegającą na wiązaniu małych ilości amikacyny przy zastosowaniu małych stężeń wyjściowych antybiotyku w procesie immobilizacji, ale z jednoczesnym uzyskaniem wysokiej wydajności procesu i na odwrót (TABELA II a, b, c, d e). Stwierdzono ponadto, że rodzaj białka uszczelniającego protezy ma wpływ na ilość leku unieruchamianego na biomateriale. W tym przypadku protezy pokryte kolagenem wiążą mniejszą ilość amikacyny w porównaniu z protezami żelatynowanymi. Reasumując: wykonano pro-



**RYS.2** Zależność ilości związanej amikacyny od czasu reakcji.  
**FIG.2.** Dependence of amount of bound amikacin upon a time of reaction with prosthesis.

periment on amikacin immobilization method included: estimation of optimal type of buffer and its pH. It was shown that the most appropriate buffer is Na-K phosphate buffered saline pH 7.4 which allow for obtaining of the highest amounts

of immobilized amikacin for all tested prostheses (TABLE I). Next, the influence of glutaraldehyde concentration (in prosthesis activation step) on amount of bound amikacin was tested. We have obtained different concentration of optimal glutaraldehyde solution for particular vascular prostheses: 20% for Tricogel, 15% for collagen sealed: Hemashield i Wovex prostheses and 10% for the remaining ones (FIG.1) Then, the immobilization time was optimized for all prostheses types. It was shown that the optimal time of amikacin bonding to prostheses is 18h for all biomaterials except of Uni-Graft prosthesis (5h) (FIG.2).

In next experiment concerned the effect of initial amikacin concentration on amount of antibiotic bound to prostheses and immobilization yield. Obtained results suggest the statistic correlation between the low initial concentration of antibiotic and low amounts of bound amikacin with high immobilization yields (TABLE II a, b, c, d, e). Moreover, we observed that kind of protein used for prosthesis sealing affects the amounts of drug immobilized on the biomaterial. In our experiments, collagen-sealed prostheses bound lower amounts of amikacin than gelatin-sealed ones.

To recapitulate: the procedure

	Ilość amikacyny przed immobilizacją (mg/g protezy) Amount of amikacin before immobilization (mg/g of prosthesis)	Ilość amikacyny związanej do protezy (mg/g protezy) Amount of amikacin bound to prosthesis (mg/g of prosthesis)	Wydajność immobilizacji % Immobilization yield %
a) proteza prosthesis Tricogel	0.13	0.66	60.4
	0.47	2.97	78.0
	0.91	1.48	20.1
	2.63	4.96	23.5
	5.65	6.06	13.2
b) proteza prosthesis Gelsoft	11.25	10.30	11.2
	0.36	1.01	35.1
	0.65	1.14	22.0
	1.32	2.71	25.5
	2.63	3.02	14.3
c) proteza prosthesis Uni-Graft	5.44	9.38	21.5
	10.94	15.70	17.8
	0.18	1.11	76.9
	0.45	2.02	55.4
	1.03	2.75	33.4
d) proteza prosthesis Hemashield Gold	2.40	6.30	32.7
	5.17	9.47	22.8
	11.07	18.03	20.3
	0.41	0.85	25.9
	0.65	0.74	14.3
e) proteza prosthesis Wovex	1.32	0.93	8.8
	2.55	1.78	8.7
	5.11	2.00	4.8
	10.41	10.58	12.6
	0.31	0.80	32.2
0.58	1.36	29.3	
1.29	1.76	17.0	
2.45	3.52	17.9	
4.21	4.48	13.3	
10.96	11.20	12.7	

**TABELA II.** Optymalizacja stężenia amikacyny w procesie immobilizacji.  
**TABLE II.** Optimization of amikacin concentration for immobilization process.

cedurę optymalizacji wiązania amikacyny do wybranych komercyjnych protez naczyniowych w celu uzyskania optymalnych parametrów procesu. Określono między innymi odpowiednie środowisko reakcji, stężenia poszczególnych reagentów i czasy reakcji wiązania antybiotyku.

## Podziękowania

Praca wykonana w ramach projektu badawczego Nr 3 T09B 052 29 (2005), finansowanego przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

of amikacin immobilization on selected commercial vascular prostheses was optimized. The appropriate reaction buffer, pH, concentrations of reagents used in the procedure and time of antibiotic immobilization were estimated.

## Acknowledgements

The work was supported by Polish grant No 3 T09B 052 29 (2005), financed by the Minister of Science and Higher Education.

## Pismienictwo

- [1] Osińska M., Ginalska G., Uryniak A. Immobilizacja amikacyny na różnych typach protez naczyniowych. Immobilization of amikacin to several vascular prostheses from different sources. Inżynieria Biomateriałów, Engineering of Biomaterials (2005), 47-53, 107-109.  
[2] Ginalska G., Osińska M., Uryniak A. A Covalent Method of Gentamicin Bonding to Silica Supports. J. Biomater. Applic., (2004), 18, (4), 279-289.

## References

- [3] Osińska M., Ginalska G., Belcarz A. Antyinfekcyjne właściwości żelatynowanych protez naczyniowych modyfikowanych gentamycyną. Anti-infection properties of gelatinated vascular prostheses modified by covalent gentamicin immobilization. Inżynieria Biomateriałów, Engineering of Biomaterials (2004), 38-42, 97-99.  
[4] Ginalska G., Uryniak A., Łobarzewski J., Osińska M., A method of antibiotics immobilization. Polish Patent no P-358934, (2003), Biuletyn Urzędu Patentowego 18 (2004) (801) s.124.  
[5] Frutos Cabanillas P., Dičz Peña E., Barrales-Rienda I.M. and Frutos, G.: Validation and in vitro characterization of antibiotic-loaded bone cement release. Int. J. Pharm. 209 (2000) 15-26.

## OCENA CYTOTOKSYCZNOŚCI KOMPOZYTU POROWATEJ CERAMIKI KORUNDOWEJ Z POLI(ALKOHOLEM WINYLU) I WANKOMYCYNĄ

STANISŁAW PIELKA\*, DANUTA PALUCH\*, WOJCIECH WOŹNY\*\*,  
JOANNA KARAS\*\*\*, LESZEK SOLSKI\*

\*ZAKŁAD CHIRURGII EKSPERYMENTALNEJ I BADANIA BIOMATERIAŁÓW  
AKADEMII MEDYCZNEJ WE WROCŁAWIU

\*\*OKRĘGOWY SZPITAL KOLEJOWY WE WROCŁAWIU, ODDZIAŁ CHIRURGII OGÓLNEJ I ONKOLOGICZNEJ

\*\*\*INSTYTUT SZKŁA I CERAMIKI W WARSZAWIE

## THE CYTOTOXICITY EVALUATION OF POLIVINYL ALCOHOL (PVOH) CORUNDUM POROUS COMPOSITE CERAMIC CONTAINING WANKOMYCINE

STANISŁAW PIELKA\*, DANUTA PALUCH\*, WOJCIECH WOŹNY\*\*,  
JOANNA KARAS\*\*\*, LESZEK SOLSKI\*

\*DEPARTMENT OF EXPERIMENTAL SURGERY AND BIOMATERIALS  
RESEARCH, MEDICAL UNIVERSITY OF WROCŁAW;

\*\*THE REGIONAL RAILWAY HOSPITAL IN WROCŁAW, DEPARTMENT  
OF GENERAL AND ONCOLOGY SURGERY;

\*\*\*INSTITUTE OF GLASS AND CERAMICS, WARSAW.

## Streszczenie

Obecnie trwają intensywne prace mające na celu udoskonalenie nośników miejscowej antybiotykoterapii w przewlekłym zapaleniu kości. Poszukiwane są materiały, które oprócz roli miejscowego dostarczyciela antybiotyku będą również spełniały funkcję podporową i uzupełniały powstałe w trakcie trwania procesu chorobowego ubytki kości.

W pracy zostały przedstawione wyniki badań cytotoksyczności kompozytu porowatej ceramiki korundowej z poli(alkoholem winylu) (PAW) i Wankomycyną

W przeprowadzonych badaniach porównywano oddziaływanie kompozytu ceramiki korundowej z PAW i Wankomycyną na fibroblasty mysie 3T3 Balb/C, z oddziaływaniem kompozytu nie zawierającego anty-

## Summary

The main target of the present intensive work is to improve the drug carriers for local antibiotic therapy in the chronic bone inflammation. The sought after materials should present not only the function of local antibiotic supplier but also should play the scaffold role for the new bone formation.

In this work we present the results of cytotoxicity evaluation of polyvinyl alcohol porous composite corundum ceramic containing wankomycine.

During this assessment we compared the influence of polyvinyl alcohol porous composite corundum ceramic with wankomycine on mouse fibroblasts 3T3 Balb/C, with the influence of the same composite material without antibiotics and with matrix culture.

On the basis of our investigation we can stated that the composite under study do not cause the