DOI: 10.34658/tex.2009.65.5-17

ZESZYTY NAUKOWE POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ
Nr 1038 Włókiennictwo, z. 65 2009

EWELINA BORUSZEWSKA
Katedra Włókien Sztucznych
Politechniki Łódzkiej

MODYFIKOWANE WŁÓKNA POLIPROPYLENOWE DO ZASTOSOWAŃ MEDYCZNYCH

Promotor: **dr hab. inż. Jadwiga Bucheńska, prof. PŁ**

Recenzenci: **dr hab. inż. Tadeusz Wódka, prof. PŁ**
prof. dr hab. n. med. Piotr Kurnatowski

Opracowano dwustopniową metodę otrzymywania antybakteryjnych włókien oraz siatek polipropylenowych PP przepuklinowych, na które są wrażliwe bakterie Gram$^+$ i Gram$^-$. Modyfikacja polegała na wprowadzeniu, w pierwszym etapie, do makrocząsteczek polimeru grup karboksylowych. W drugim etapie modyfikacji wyroby PP napawano roztworem biocydu. Na podstawie badań stwierdzono, że siatki zawierające w swej budowie biocyd są w dużym stopniu aktywne w stosunku do badanych bakterii, nie wykazując przy tym działania cytotoksycznego. Wstępne badania (in vivo), wykazały, że modyfikowane siatki nie wykazują działania drażniącego.

1. WPROWADZENIE

Włókna polipropylenowe (PP) są obecnie szeroko wykorzystywane w praktyce chirurgicznej. Ze względu na korzystne właściwości fizyko-mechaniczne i chemiczne znajdują zastosowanie jako materiały chirurgiczne (nici chirurgiczne, siatki przepuklinowe). Wykazują dobrą tolerancję w tkankach i największą biozgodność obok wyrobów z poli (tetrafluoro etylenu) w porównaniu z innymi materiałami syntetycznymi stosowanymi w medycynie [1, 2]. Polipropylenowe nici chirurgiczne są przeznaczone do użycia w ogólnych zabiegach zbliżania i podwiązywania tkanki miękkiej, włącznie z zabiegami chirurgii naczyniowo-sercowej, okulistycznej i neurologicznej i innych [3, 4].

Przepukliny stanowią jedną z najczęstszych i najpoważniejszych patologii leczonych chirurgicznie. Siatka przepuklinowa ma za zadanie wzmocnić od wewnątrz osłabione miejsce po przepuklinie oraz zapobiegać ewentualnym jej nawrotom. Ilość zabiegów chirurgicznego usuwania przepuklin wciąż wzrasta.

Związane jest to zarówno ze wzrostem świadomości społecznej jak i postępem w zakresie chirurgii i anestezjologii.

Po operacjach w obszarze jamy brzusznej mogą wystąpić różne powikłania. Do najczęstszych i najpoważniejszych powikłań należą zakażenia bakteryjne, które w dalszym ciągu są przyczyną zwiększonej chorobowości, śmiertelności oraz zwiększają koszty leczenia [5]. Zakażenie rany upośledza gojenie w wyniku czego, może dojść do rozejścia tkanki pokrywającej mięśnie i nawrotu przepukliny. Powstaje wówczas przepuklina pooperacyjna [6, 7].

Przełomem w leczeniu przepuklin stały się siatki i nici polipropylenowe, ze względu na ich właściwości w głównej mierze bardzo dużą wytrzymałość, wysoką obojętność biologiczną i odporność na działanie płynów tkankowych [8-10]. Jak każdy implant tak i wyroby medyczne z polipropylenu mogą wywołać odczyn tkankowy, szczególnie u chorych z obniżoną odpornością immunologiczną oraz chorobami układowymi. W prewencji zakażeń stosuje się płukanie pola operacyjnego roztworami antybiotyków, lub nasączanie siatki środkami antybakteryjnymi. Z badań wynika, że siatki nasycone antybiotykami lub antyseptykami wykazują mniejszą podatność na zakażenia i mają wyraźne działanie bakteriobójcze w toku leczenia chorego. Jednak lek zastosowany w powyższy sposób ulega bardzo szybko wchłonięciu, pozbawiając implant właściwości antybakteryjnych. Dlatego też bardziej celowym jest związanie chemiczne leku z tworzywem implantu. Przez co uzyskuje się wielokrotnie wyższą aktywność przeciwbakteryjną utrzymującą się nawet przez kilka tygodni.

Wydaje się, że materiały związane chemicznie z biocydem mogą odgrywać coraz większą rolę w chirurgii implantacyjnej [6, 7, 11-14].

2. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

2.1. Cel badań

Przedmiotem rozprawy doktorskiej było otrzymanie wyrobów polipropylenowych o przedłużonych właściwościach antybakteryjnych do zastosowań medycznych. W założeniu chodziło o to, aby biocyd mógł się przyłączyć do wyrobów PP wiązaniami chemicznymi. Realizacja rozprawy doktorskiej wymagała rozwiązania szeregu zagadnień. Podstawową było opracowanie optymalnych warunków modyfikacji wyrobów polipropylenowych.

2.2. Materiały stosowane w pracy

Do badań zastosowano:

- teksturowane włókna polipropylenowe (z których wykonywane są siatki przepuklinowe) 35dtex/50f o skręcie 75 S firmy Chemosvit Fibrochem Svit. Slovak Republic z siedzibą w Łodzi,
- siatki przepuklinowe Hermesh 4 włosko – amerykańskiej firmy Herniamesh z siedzibą w Gdańsku. Parametry siatki: 30 x 30 cm z makroporami o grubości 0,45 mm i o dwukierunkowej elastyczności.

Wymienione protezy produkowane są zgodnie z normami ISO 9001, posiadają certyfikaty jakości i dopuszczenia do stosowania klinicznego Unii Europejskiej CE oraz Komisji Leków (FDA) w USA.
W Polsce zostały zarejestrowane w maju 2003 roku i otrzymały numer Rejestru Wyrobów Medycznych wystawiony przez Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych w Warszawie.

Do modyfikacji użyto siatek chirurgicznych niesterylnych.

2.3. Metodyka badań

W pracy zastosowano oryginalną metodę szczepienia, znamienną tym, iż centra aktywne na wyrobach PP wytwarzane były przed reakcją szczepienia a nie w toku reakcji. W tym celu włókna i siatki chirurgiczne napawano roztworem nadtlenki benzoilu wg [15, 16]. Tak przygotowane próbki wkładano do kąpieli szczepiącej, zawierającej kwas akrylowy KA o odpowiednim stężeniu oraz dodatki usprawniające ten proces, dyspergator NNO i aktywator reakcji DF. Ilość tych dodatków w kąpieli szczepiącej była stała i wynosiła po 0,4%wag [17]. Stosunek masy próbek do kąpieli szczepiącej wynosił 1:50. Szczepienie prowadzono w atmosferze azotu.

W celu nadania antybakteryjnych właściwości wstępnie szczepione włókna polipropylenowe i siatki chirurgiczne napawano roztworem Cefoperazonu, Netylmycyny i azotanu srebra; każdy lek osobno. Przy napawaniu roztworami antybiotyków Cefoperazonem lub Netylmycyną, włókien PP i siatek chirurgicznych moduł kąpieli wynosił 1:15.

Badania kinetyki uwalniania biocydów z włókien i siatek chirurgicznych polipropylenowych przeprowadzono metodą:

- spektrofotometryczną ((JASCO 570 UV/VIS NIR Spectrophometer, produkcji japońskiej, zakres pomiarów od 190 do 2500 nm) dla:
  Cefoperazonu (max. absorpcji λ = 265 nm) do wody destylowanej, soli fizjologicznej i buforu cytrynianowi-fosforanowego,
  Azotanu srebra (max. absorpcji λ = 206 nm) do wody destylowanej z dodatkiem kwasu azotowego (C = 0,02%),

– grawimetryczną dla:
  Netylmycyny (antybiotyku mającego max. absorpcji poza wymienionym zakresem) do wody destylowanej.
  Właściwości antybakteryjne siatek sprawdzono metodą:
– bezpośrednią; mierząc strefy zahamowania wzrostu poszczególnych drobnoustrojów testowych wokół badanej siatki chirurgicznej,
– krążkowo-dyfuzyjną; mierząc strefy zahamowania wzrostu bakterii wokół krążków bibuły o średnicy 15mm z naniesionym roztworem wodnym (20 μl) uzyskanym w wyniku namaczania próbek siatki z odpowiednim lekiem przez 1, 3 bądź 7 dni.

Badania działania cytotoksycznego przeprowadzono zgodnie z PN-EN ISO 10993-5 „Biologiczna ocena wyrobów medycznych**.** Badania cytotoksyczności: metody *in vitro*" – marzec 2001 przeprowadzono metodą pośrednią z zastosowaniem wyciągów. Badania przeprowadzono na referencyjnej linii komórkowej fibroblastów mysich. Zmiany ilościowe i morfologiczne, po kontakcie z badanymi materiałami oceniono po 24, 48 i 72 h w odwróconym mikroskopie kontrastowo-fazowym. W celu określenia ilości martwych komórek zastosowano barwienie błękitem trypanu. Stopień toksyczności materiałów oceniono na podstawie zmian w morfologii komórek, ich przeżywalności i zdolności do proliferacji

Badania działania drażniącego przeprowadzono w Katedrze i Zakładzie Histologii i Embriologii AM we Wrocławiu po wcześniejszym uzyskaniu zezwolenia Lokalnej Komisji Etycznej we Wrocławiu. Badania przeprowadzono zgodnie z normą PN-EN ISO 10993-10 (sierpień 2002). „Biologiczna ocena wyrobów medycznych. Badania działania drażniącego i uczulającego". Badania przeprowadzono metodą reaktywności śródskórnej z zastosowaniem wyciągów polarnych i niepolarnych. Badania przeprowadzono na 6 królikach albinosach (po 3 zwierzęta dla każdego rodzaju opatrunku) rasy białej nowozelandzkiej, obojga płci, o średniej masie ciała 2,85 kg.

3. WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Aby szczepiona kopolimeryzacja była efektywna powinna charakteryzować się zadowalającym stopniem szczepienia, krótkimi czasami prowadzenia reakcji oraz jak najmniejszą ilością tworzenia się homopolimeru. W pracy przeprowadzono trzy serie doświadczeń, uwzględniając wpływ następujących parametrów procesu szczepionej kopolimeryzacji, tj. :

– stężenie kwasu akrylowego zmieniano w zakresie od 2,5 do 15%, przy stałej T = 368 K i czasie prowadzenia reakcji: t = 30 min dla włókien t = 60 min dla siatek chirurgicznych,

- temperaturę zmieniano od 353 K do 373 K, przy stałym stężeniu C_{KA} = 7,5% i czasie t = 30 min dla włókien i t = 60 min dla siatek chirurgicznych,
- czas reakcji zmieniano w zakresie od 15 do 120 min przy zachowaniu stałej temperatury T = 368 K i stałym stężeniu kwasu akrylowego C_{KA} = 7,5%.

We wszystkich seriach szczepień zastosowano dodatki NNO i DF w ilości po 0,4%wag każdy w stosunku do masy kąpieli szczepiących.

Z przeprowadzonych badań wynika, że reakcja szczepienia zachodzi bardzo efektywnie przy następujących parametrach reakcji: T = 368 K, C_{KA} = 7,5% wag i t = 30 min w przypadku szczepienia włókien i t = 60 min dla siatek chirurgicznych. Przy zastosowaniu takich parametrów reakcji otrzymujemy stopień szczepienia włókien $X_{Wł}$ = 22,97% i 12,22% stopień szczepienia siatek chirurgicznych. Tworzy się przy tym niewielka ilość homopolimeru ok 10%.

Biorąc pod uwagę to, że końcowy wynik szczepienia włókien PP $X_{Wł}$ i siatek chirurgicznych X_S jest efektem wpływu poszczególnych parametrów reakcji, tj. temperatury T, czasu t i stężenia kwasu akrylowego C_{KA} w kąpieli szczepiącej przeprowadzono analizę statystyczną wpływu parametrów reakcji na proces szczepienia. Z analizy otrzymanych wyników stwierdzono, że największy wpływ na zmienną $X_{Wł}$ jak i X_S ma stężenie kwasu akrylowego C_{KA} w kąpieli szczepiącej.

Wstępnie modyfikowane monomerami winylowymi włókna polipropylenowe i siatki przepuklinowe posiadają grupy kwasowe, przez co posiadają właściwości jonowymienne. Oznacza to, że mogą przyłączyć biocyd zawierający odpowiednie grupy funkcyjne. W celu nadania włóknom PP i siatkom przepuklinowym właściwości antybakteryjnych napawano je antybiotykiem z grupy aminoglikozydów *Netylmycyną* oraz cefalosporyn III generacji *Cefoperazonem* – każdy antybiotyk osobno. Oprócz wymienionych antybiotyków do modyfikacji szczepionych PKA wyrobów polipropylenowych zastosowano azotan srebra. Na wymienione leki zwrócono uwagę przede wszystkim ze względu na ich aktywność bakteriobójczą w stosunku do szerokiego spektrum bakterii chorobotwórczych [18, 19]. Zbadano wpływ parametrów kąpieli napawającej zawierającej lek, tj: stężenia leku i czasu trwania napawania oraz stopnia szczepienia włókna bądź siatki na stopień napawania *Z* tych wyrobów. Otrzymane wyniki zamieszczono w tabelach 1-3.

Analizując dane przedstawione w tabeli 1-3, można zauważyć, że zarówno włókna PP jak i siatki chirurgiczne wejściowe (bez pierwszego etapu modyfikacji) nie przyłączają leku. Uwarunkowane jest to tym, iż wyroby PP nie posiadają w swojej budowie grup funkcyjnych zdolnych do przyłączenia leku. Natomiast wyroby polipropylenowe wstępnie szczepione poli(kwasem akrylowym) – a więc zawierających w swojej budowie grupy –COOH, efektywnie przyłączają lek, co uwidocznione jest tabelach 1-3.

Na wielkość stopnia napawania oprócz stopnia szczepienia wpływa również stężenie leku oraz czas trwania reakcji. Ze wzrostem badanych parametrów rośnie również stopień napawania.

Tabela 1

Stopnie napawania Cefoperazonem $Z_{Wł.Cef}$ włókien PP i $Z_{S.Cef}$ siatek chirurgicznych wstępnie szczepionych kwasem akrylowym

Np.	Parametry kąpieli napawającej			$Z_{Wł..Cef.}$ %
	stałe	zmienne		
1	2	3		4
1	$T_n = 313$ K	$C_{Cef.}$	5,0	2,03
2	$t_n = 60$min		7,5	5,47
3	$X_{Wł} = 22,97\%$		10,0	8,88
4			15,0	12,09
5	$T_n = 313$ K	t_n	30	0,52
2	X = 22,97%		60	5,47
6	$C_{Cef} = 7,5\%$		120	6,83
7	$T_n = 313$ K	$X_{Wł}$	0,00	0,00
8	$t_n = 60$min		2,73	0,43
9	$C_{Cef} = 7,5\%$		11,01	1,39
10			15,67	2,92
2			22,97	5,47
11			25,81	7,01

Np.	Parametry kąpieli napawającej			$Z_{S.\ Cef}$ %
	stałe	zmienne		
1	2	3		4
1	$T_n = 313$ K	$C_{cef.}$	5,0	1,38
2	$t_n = 60$min		7,5	4,24
3	$X_S = 12,22\%$		10,0	5,72
4			15,0	7,43
5	$t_n = 313$ K	t_n	30	0,23
2	$X_S = 12,22\%$		60	4,24
6	$C_{cef.} = 7,5\%$		120	5,08
7	$T_n = 313$ K	X_S	0,00	0,00
8	$t_n = 60$min		2,27	0,48
9	$C_{cef} = 7,5\%$		3,68	0,97
10			7,99	2,15
2			12,22	4,24
11			18,28	6,74

Tabela 2

Stopnie napawania Netylmycyną $Z_{Wł.Net}$ włókien PP i $Z_{S.Net}$ siatek chirurgicznych wstępnie szczepionych kwasem akrylowym

Np.	Parametry kąpieli napawającej			$Z_{Wł.Net}$ %
	stałe	zmienne		
1	2	3		4
1	$T_n = 313$K	$C_{Net.}$	5,0	6,05
2	$t_n = 60$min		7,5	8,94
3	$X_{Wł} = 22,97\%$		10,0	11,76
4	$T_n = 313$ K	t_n	30	0,86
2	$X_{Wł} = 22,97\%$		60	8,94
5	$C_{Net.} = 7,5$ %		120	9,04
6	$T_n = 313$K	$X_{Wł}$	0,00	0,00
7	$t_n = 60$min		2,73	1,97
8	$C_{Net.} = 7,5\%$		11,01	7,62
9			15,67	8,34
2			22,97	8,94
10			25,81	10,26

Np.	Parametry kąpieli napawającej			$Z_{S.Net}$ %
	stałe	zmienne		
1	2	3		4
1	$T_n = 313$K	$C_{Net.}$	5,0	3,19
2	$t_n = 60$min		7,5	5,36
3	$X_S = 12,22\%$		10,0	8,92
4	$T_n = 313$K	t_n	30	0,42
2	$X_S = 12,22\%$		60	5,36
5	$C_{Net.} = 7,5\%$		120	7,03
6	$T_n = 313$K	X_S	0,00	0,00
7	$t_n = 60$min		2,27	1,54
8	$C_{Net.} = 7,5\%$		3,68	2,31
9			7,99	3,87
2			12,22	5,36
10			18,28	8,70

Tabela 3

Stopnie napawania Azotanem srebra $Z_{Wł.Ag}$ włókien PP i $Z_{S.Ag}$ siatek chirurgicznych wstępnie szczepionych KA

Np.	Parametry kąpieli napawającej			$Z_{Wł.Ag}$ %
	stałe	zmienne		
1	2	3		4
1	$T_n = 358K$ $t_n = 90min$ $X_{Wł} = 22,97\%$	C_{AgNO3}	2,5	1,45
2			5,0	3,21
3			6,0	4,86
4			7,5	4,98
5	$T_n = 358K$ $X_{Wł} = 22,97\%$ $C_{AgNO3} = 6,0\%$	t_n	15	0,36
6			30	1,08
7			60	3,58
3			90	4,86
8			120	5,60
9	$T_n = 358K$ $t_n = 90min$ $C_{AgNO3} = 6,0\%$	$X_{Wł}$	0,00	0,00
10			2,73	0,11
11			4,35	0,37
12			15,67	3,24
3			22,97	4,86
13			25,81	5,99

Np.	Parametry kąpieli napawającej			$Z_{S.Ag}$ %
	stałe	zmienne		
1	2	3		4
1	$T_n = 358K$ $t_n = 90min$ $X_S = 12,22\%$	C_{AgNO3}	2,5	0,84
2			5,0	1,74
3			6,0	3,17
4			7,5	3,42
5	$T_n = 358K$ $X_S = 12,22\%$ $C_{AgNO3} = 6,0\%$	t_n	15	0,12
6			30	0,96
7			60	2,38
3			90	3,17
8			120	3,85
9	$T_n = 358K$ $t_n = 90min$ $C_{AgNO3} = 6,0\%$	X_S	0,00	0,00
10			2,27	0,10
11			3,68	0,31
12			7,99	2,43
3			12,22	3,17
13			18,28	3,82

Aby dołączony do włókien PP i siatek chirurgicznych lek spełniał swoją rolę, musi on uwalniać się od wyrobów do środowiska w odpowiednim czasie, zachowując swoją aktywność wobec mikroorganizmów chorobotwórczych. W celu zorientowania się o takich możliwościach wykonano próby kontrolowanego uwalniania biocydu z modyfikowanych włókien PP i siatek chirurgicznych. Uwalnianie prowadzono ok. 800 godzin. Po tym czasie na wyrobach polipropylenowych pozostaje jeszcze pewna część leku, która jest uzależniona od rodzaju leku i od jego początkowej ilości.

W praktyce wykorzystywane są równania modelowe uwalniania leków [20-21]. Wydzielanie cefoperazonu z wyrobów PP do odpowiedniego medium może być opisane równaniem o postaci:

$$C = C\infty * k*t_b^{w}$$

gdzie: C – stężenie leku po czasie t_b; C_∞ – stężenie leku w stanie równowagi; k, b – są to stałe charakterystyczne dla układu; w – wykładnik potęgowy.

Dobre przybliżenie uwalniania Netylmycyny i jonów srebra do wody destylowanej dają równania o charakterze logarytmicznym:

$$C = C_\infty \cdot k \cdot \log (t_b)$$

Stopień dopasowania krzywych C do wyników doświadczalnych we wszystkich przypadkach jest wysoki, na co wskazuje współczynnik korelacji r, który jest bliski jedności przy prawdopodobieństwie popełnienia błędu p = 0,0000.

Tabela 4

Oznaczanie aktywności przeciwbakteryjnej metodą bezpośrednią siatek przepuklinowych szczepionych PKA i napawanych biocydami (każdy biocyd osobno)

Siatka chirurgiczna	Bakterie testowe		
	Escherichiacoli	*Staphylococcus aureus*	Pseudomonas aeruginosa
	Strefa zahamowania wzrostu [mm]		
Próbka kontrolna	brak	brak	brak
Próbka PP-PKA-NET	20,5	16	18
Próbka PP-PKA-CEF	20,5	25	16
Próbka PP-PKA-Ag	4	4	4

Siatka niemodyfikowana (próbka kontrolna) nie wykazywała żadnych stref zahamowań wzrostu testowanych bakterii chorobotwórczych. Dla próbki oznaczonej PP-PKA-CEF obserwowano najsilniejsze działanie bakteriobójcze w stosunku do wszystkich badanych bakterii testowych. Strefa hamowania wzrostu wynosiła od 16 do 25 mm, w zależnie od rodzaju bakterii. Nieco niższą aktywność biobójczą odnotowano dla próby oznaczonej PP-PKA-NET, natomiast siatka napawana azotanem srebra wykazywała dużo słabszą aktywność przeciwbakteryjną w porównaniu do siatek napawanych testowanymi antybiotykami.

Oznaczanie aktywności przeciwbakteryjnej metodą krążkowo-dyfuzyjną wykazało, że przeciwbakteryjne działanie leków utrzymywało się w ciągu 7 dni ekspozycji.

Badanie działania cytotoksycznego przeprowadzono na siatkach przepuklinowych niemodyfikowanych oraz szczepionych PKA (X = 12,22%) i napawanych Cefoperazonem (Z = 5,08%). Wyniki badań działania cytotoksycznego siatek przepuklinowych przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5

Zmiany cytotoksyczne w hodowlach fibroblastów mysich 3T3Balb/C- z wyciągami kontrolnymi i wyciągami z siatek przepuklinowych

Hodowla	Zmiany morfologiczne	Gęstość komórek/ ml x 10^6	Komórki martwe %	Stopień toksyczności
	Czas badania - 24 h			
Hodowla macierzysta	nie stwierdzono	0,72 ±0,026	0	0
Siatki PP	nie stwierdzono	0,78 ±0,017	0	0
Siatki PP-PKA-CEF	nie stwierdzono	0,76 ±0,01	0	0
Czas badania - 48 h				
Hodowla macierzysta	nie stwierdzono	1,26 ±0,035	0	0
Siatki PP	nie stwierdzono	1,32 ±0,021	0	0
Siatki PP-PKA-CEF	nie stwierdzono	1,28 ±0,017	0	0
Czas badania - 72 h				
Hodowla macierzysta	nie stwierdzono	2,1 ±0,17	1	0
Siatki PP	nie stwierdzono	2,18 ±0,07	1	0
Siatki PP-PKA-CEF	nie stwierdzono	2,24 ±0,02	1	0

Po 24, 48 i 72 h w macierzystych hodowlach kontrolnych, wyciągami z siatek przepuklinowych PP oraz wyciągami z modyfikowanych siatek przepuklinowych PP-PKA-CEF komórki przylegały do podłoża i miały prawidłowe cechy morfologiczne. Nie stwierdzono aglutynacji, wakuolizacji, oddzielania od podłoża ani lizy błon komórkowych. Proliferacja komórek była prawidłowa. Komórki fibroblastów mysich tworzyły kolonie, które pokrywały całą płytkę. Po 24 i 48 h w hodowlach z wyciągami z badanych siatek PP oraz siatek PP-PKA-CEF nie stwierdzono komórek martwych. Po 72 h odsetek komórek martwych był identyczny jak w hodowlach macierzystych, 1% komórek martwych.

Badanie działania drażniącego po iniekcji badanych wyciągów i roztworów kontrolnych przeprowadzano po 24, 48 i 72 h.

Dla każdego zwierzęcia zsumowano Punktację Pierwotnego Podrażnienia oddzielnie dla rumienia i obrzęku, uzyskiwane dla każdego wyciągu i każdego czasu badania, po czym podzielono przez całkowitą liczbę obserwacji. Podobnej oceny dokonano w odniesieniu do miejsc kontrolnych. Na podstawie uzyskanej Punktacji Pierwotnego Podrażnienia dla każdego badanego wyciągu obliczono Wskaźnik Pierwotnego Podrażnienia: WPP = suma Punktacji Pierwotnego Podrażnienia wyciągów minus suma Punktacji Pierwotnego Podrażnienia roztworów kontrolnych, podzielona przez liczbę zwierząt. Punktację Pierwotnego Podrażnienia podano w tabeli 6.

Wskaźnik Pierwotnego Podrażnienia obejmuje następujące kategorie:

Bez znaczenia	0,0 do 0,4
Lekkie	0,5 do 1,9
Średnie	2,0 do 4,9
Ciężkie	5,0 do 8,0

W miejscach wstrzyknięć wyciągów polarnych przygotowanych z siatek przepuklinowych PP i PP-PKA-CEF oraz polarnych roztworów kontrolnych, bezpośrednio po wykonaniu iniekcji oraz po 24, 48 i 72 h, nie stwierdzono zmian skórnych w postaci rumienia lub obrzęku skóry. Po 24 h w miejscach wstrzyknięć wyciągów niepolarnych przygotowanych z siatek przeciw-przepuklinowych PP i PP-PKA-CEF oraz niepolarnych roztworów kontrolnych stwierdzono ledwie widoczne zaczerwienienie skóry. Po 48 i 72 h nie stwierdzono zmian skórnych w postaci rumienia lub obrzęku skóry.

Wskaźnik Pierwotnego Podrażnienia dla wyciągów polarnych i niepolarnych z siatek przepuklinowych PP i PP-PKA-CEF wyniósł 0 a zatem nie wykazują działania drażniącego.

Tabela 6

Punktacja Pierwotnego Podrażnienia dla wyciągów polarnych i niepolarnych z siatek PP przeciwprzepuklinowych

	Pierwotna Punktacja Podrażnienia			
	Wyciąg polarny siatek PP	Fizjologiczny roztwór soli-kontrola	Wyciąg niepolarny siatek PP	Olej sezamowy-kontrola
	Rumień			
1	0	0	0,33	0,33
2	0	0	0,33	0,33
3	0	0	0,33	0,33
Razem	**0**	**0**	**0,99**	**0,99**
	Obrzęk			
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
Razem	**0**	**0**	**0**	**0**
	Wyciąg polarny siatek PP-PKA-CEF	Fizjologiczny roztwór soli-kontrola	Wyciąg niepolarny siatek PP-PKA-CEF	Olej sezamowy-kontrola
	Rumień			
1	0	0	0,33	0,33
2	0	0	0,33	0,33
3	0	0	0,33	0,33
Razem	**0**	**0**	**0,99**	**0,99**
	Obrzęk			
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
Razem	**0**	**0**	**0**	**0**

4. WNIOSKI

1. Opracowano metodę otrzymywania antybakteryjnych wyrobów z polipropylenu: włókien i siatek chirurgicznych przepuklinowych, na które są wrażliwe bakterie Gram – dodatnie (gronkowiec złocisty) i Gram – ujemne (pałeczka okrężnicy i pałeczka ropy błękitnej). Metoda ta polegała na dwustopniowej modyfikacji wyrobów polipropylenowych. W pierwszym etapie modyfikacji do tworzywa włókna wprowadza się grupy karboksylowe metodą szczepienia, a następnie wyroby te napawa się roztworami biocydów: antybiotykami z grupy cefalosporyn (Cefoperazonem), aminoglikozydów (Netylmycyną) oraz azotanem srebra.
2. Szczepienie monomerów winylowych (kwasu akrylowego) na wyrobach polipropylenowych, polegało na wytworzeniu na włóknach i siatkach chirurgicznych grup wodoronadtlenkowych i nadtlenowych przed procesem

szczepienia w wyniku: napawania ich roztworem nadtlenku benzoilu w podwyższonej temperaturze. Zainicjowane wyroby szczepi się następnie w kąpieli zawierającej oprócz monomeru winylowego również dyspergator oraz aktywator reakcji. Dodatki te powodują zmniejszenie lub wyeliminowanie możliwości tworzenia się produktu ubocznego (homopolimeru), co czyni ten proces wysoce ekonomicznym.

3. Z wartości obliczonego stopnia szczepienia i ilości tworzącego się w toku reakcji homopolimeru oraz wartości efektywności szczepienia, stopnia przereagowania i stosunku szczepienia ustalono najkorzystniejsze parametry reakcji szczepienia, które przedstawiają się następująco:
   – dla włókien PP: C_{KA} = 7,5%, t = 30 min, T = 368K, C_{NNO} = 0,4%, C_{DF} = 0,4%;
   – dla siatek chirurgicznych: C_{KA} = 7,5%; t = 60min, T = 368K, C_{NNO} = 0,4%, C_{DF} = 0,4%.
4. Wyroby PP zawierające w swojej budowie grupy karboksylowe można modyfikować w dalszym ciągu biocydami o odpowiedniej budowie, nadając im efekt biocydowości w stosunku do bakterii chorobotwórczych.
5. Poprzez badania uwalniania biocydów do wody, soli fizjologicznej lub odpowiedniego buforu można przewidzieć ich działanie na wyżej wymienione bakterie.
6. W testach in vitro zbadano właściwości biocydowe wejściowych i modyfikowanych siatek chirurgicznych, które przedstawiają się następująco:
   – siatki chirurgiczne wejściowe (niemodyfikowane) nie wykazują stref zahamowania wzrostu bakterii,
   – siatki chirurgiczne modyfikowane, tj. zawierające w swojej budowie biocyd: antybiotyk Cefoperazon i Netylmycynę (każdy antybiotyk osobno) oraz srebra w grupie karboksylowej szczepionego wyrobu PP są aktywne w stosunku do bakterii chorobotwórczych co wyraża się strefami zahamowania ich wzrostu oznaczonych metodą bezpośrednią,
   – antybakteryjne działanie antybiotyków utrzymuje się w ciągu siedmiu dni badań, co stwierdzono badaniami in vitro,
   – wyciągi kontrolne i wyciągi z siatek przeciwprzepuklinowych wejściowych jak i napawanych Cefoperazonem nie wykazują działania cytotoksycznego w hodowlach fibroblastów mysich.
7. Z badań in vivo wynika, że wskaźnik pierwotnego podrażnienia dla wyciągów polarnych i niepolarnych z siatek przepuklinowych wyjściowych jak i napawanych Cefoperazonem wyniósł 0 a zatem nie wykazują one działania drażniącego.

LITERATURA

[1] **S. Mazurkiewicz:** *Polimery* 1999, **44**, nr 6.
[2] **M. Nałęcz:** *Biocybernetyka i Inżynieria Biomedyczna 2000* tom IV *Biomateriały*; redaktorzy tomu S. Błażewicz, L. Stoch; Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT Warszawa 2003, ISBN: 83-87674-58-3.
[3] **A. E. Cameron, R. C. Gray, R. W. Talbot, A. P. Wyatt:** Br. J. Surg. Vol 67, 487-488, 1980.
[4] **T. E. Bucknal, P.J. Cox, H. Ellis:** Br. Med. J., 284, 931-933, 1982.
[5] **M. W. King** et al.: *The Performance of Resorbable Coatings on braided Surgical Sutures*, Word Textile Conference 2nd AUTEX Conference, Bruges, Belgium, 1-3 July 2002.
[6] **J. A. Mąsior:** *Wiadomości Lekarskie,* 56(1-2): 82-84*,* 2003.
[7] Konferencja Naukowo – Szkoleniowa,,*Implanty syntetyczne w chirurgii przepuklin brzusznych*'' Świnoujście – Ystad 8-10. 06. 2001.
[8] **Z. Mackiewicz:** *Współczesne leczenie przepuklin brzusznych*, Wydawnictwo lekarskie PZWL, Warszawa 2006, ISBN 83-200-3227-X.
[9] **M. Józefowicz, A. Biskupski, L. Teresiński:** IV Międzynarodowa Konferencja Naukowa MEDTEX 2002 Łódź.
[10] **G. Welty, U. Klinge, B. Klosterhalfen** et al: *Hernia*, 5, 142, 2001.
[11] **M. Drews, R. Marciniak:** *Medycyna Praktyczna, Chirurgia,* 02, 17-26, 2006.
[12] **M. E. Falagas, S. K. Kasiakou**, *Clin. Microbiol. Infect*., 11, 3 – 8, 2005.
[13] **A. M. Carbonell, B. D. Matthews, D. Dreau**, et al: *Surg. Endosc*., 19, 430-435, 2005.
[14] **M. Miazga-Karska, G. Ginalska:** *Engineering of Biomaterials*, 67-68 p. 19-20, 2007,
[15] **J. Bucheńska:** Patent Polski 179483 (2000).
[16] **J. Bocheńska:** J. Appl. Polym. Sci., 80, 1914 (2001).
[17] **J. Bucheńska, E. Boruszewska:** Modification *of Polypropylene fibres by Grafting with Poly(methacrylic acid)*, Polymers for the 21st Century, Proceedings of the 5th International Polymer Seminar Gliwice 2003, p. 317 – 322, ISBN 83-87576-02-6.
[18] Praca zbiorowa, *Farmakopea Polska VI*, Wydawnictwo Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Warszawa 2002.
[19] **A. Chmiel, S. Grudziński:** *Biotechnologia i Chemia Antybiotyków,* Wydawnictwo Naukowe PWN Warszawa 1998.
[20] **A. Połowińska, L. Szosland, J. Szumilewicz, S. Połowiński:** *Polimery*, 34, 70 (1990),
[21] **A. Połowińska, L. Szosland, A. Pierzchlewska, S. Połowiński:** *Polimery*, 35, 444 (1990).

MODIFIED POLYPROPYLENE FIBRES FOR THE MEDICAL USE

Summary

The aim of the dissertation was to obtain fibres and polypropylene materials for medical use with prolonged biocidal activity.

The assumption was that biocide should be able to bond to the polypropylene fibre material through chemical bonds. This creates the possibility for biocide at appropriate concentration to detach at a certain time, keeping however, its activity against pathogenic microorganisms. Due to the fact that polypropylene fibres do not have appropriate functional groups that would be able to bond the drug so as to provide them with antibacterial properties, a two-stage modification of polypropylene fibres and hernia nesh was carried out.

Modification was based on introducing carboxylic groups at the first stage into the macroparticles of the polymer through PAA grafting. At the second stage of modification, polypropylene materials that included carboxylic groups were imbued with the biocidal solution of: cephalosphorine of the third generation (Cephoperazone), amicoglicozydes (Netylmycyne) and non-organic salts - silver nitrate (each medicine individually).

Grafting reaction parameters were adjusted in such a way that a by-product would be created in slight amounts only, thus this method proves to leave practically no by-products behind and is also very economical.

There was also an in vitro microbiological evaluation carried out of the antibacterial properties and cytotoxic activity of the modified hernia nesh. It has been concluded that hernia nesh that included biocide in their structure, are highly active against standardized Gram-positive and Gram-negative bacteria strains, e.g. S aureus, E-coli and P. aeruginosa, without showing any cytotoxic activity at the same time. Introductory tests (in vivo) shown that modified PP nesh do not present any irritating activities.

Technical University of Lodz