

F. Peters, K. Bahrini, A.M. Placht, M. Gelinsky

Beladung und kontrollierte Freisetzung von Antibiotika aus Biomaterialien für die Knochenregeneration

Einleitung

In der täglichen Operationsroutine dient die perioperative Antibiotikagabe als Prophylaxe zur Verhinderung einer Infektion bzw. die Bildung eines Biofilms. Diese Prophylaxe muss früh genug und in ausreichend hoher Dosierung verabreicht werden, damit am Operationsort eine ausreichend hohe Antibiotikakonzentration vorhanden ist.

Die intraoperative lokale Anwendung von Antibiotika ist seit der Einführung von Antibiotika-(Gentamicin-)haltigen PMMA-Zementen und -Ketten ein gängiges Verfahren in der Orthopädie und Unfallchirurgie geworden, v.a. zur Behandlung eines schon nachgewiesenen Infekts. Ein wesentlicher Nachteil dieser Substanzen ist jedoch die Notwendigkeit eines zweiten Eingriffs zur Entfernung des Materials nach Freisetzung. Ein weiterer wesentlicher Nachteil besteht darin, dass der Behandler von vorneherein auf ein bestimmtes Antibiotikum in einer bestimmten Dosierung festgelegt ist – ohne die Möglichkeit einer patienten- und situationspezifischen Anpassung.

Anzustreben ist somit eine freie Kombination aus resorbierbarem Knochenregenerationsmaterial plus Antibiotikum, wobei eines der Hauptziele ein sog. *burst release* sein muss, d.h. eine möglichst hohe Freisetzung des Antibiotikums innerhalb von 72 Stunden. Eine kontinuierliche, nachweisbare Freisetzung vom betreffenden Antibiotikum über mindestens 48 Stunden sollte erreicht werden.

Es steht eine Vielzahl von Knochenersatzmaterialien unterschiedlichster Herkunft und Zusammensetzung und mit verschiedenen Resorptionskinetiken zur Verfügung. Cerasorb® M Granulat aus Beta-Tricalciumphosphat (β -TCP)

liegt in verschiedenen Korngrößen vor und kommt im gesamten Skelettsystem zum Einsatz. Das in sich interkonnektierende Porensystem dient der progressiven Angiogenese und Vaskularisation und sorgt so für eine aktive Zellversorgung während des gesamten Resorptionsprozesses.

Cerasorb®-Foam ist ein hochporöses Komposit aus porcinem Kollagen (Typ I) und phasenreinem β -TCP-Granulaten von unterschiedlicher Größe und Dichte. Der Granulatanteil beträgt 85 % nach Gewicht und damit eine hohe Volumenstabilität nach Abbau des schneller resorbierenden Kollagens. Das Material wird im Verlauf von Monaten vollständig resorbiert und durch körpereigenen Knochen ersetzt.

Im Folgenden werden die Ergebnisse aus In-vitro-Beladungsversuchen und Freisetzungskinetiken von verschiedenen Antibiotika aus Cerasorb-Granulaten und Cerasorb-Foam vorgestellt. Ein wichtiger Aspekt ist dabei die minimale Hemmstoffkonzentration (MHK oder auch Minimum Inhibitory Concentration, MIC), d.h. die Minimalkonzentration des Wirkstoffs, der vor Ort sein muss, um eine antibakterielle Aktivität zu erreichen.

Materialien und Methoden

Granuläre Biomaterialien aus β -TCP (Cerasorb® M) in den Korngrößen 1000–8000 μm zur Knochenregeneration sowie Kompositmaterialien aus porcinem Kollagen und β -TCP (Cerasorb® Mouldable Foam, modellierbar, Dichte 0,1–0,3 g/cm^3 und Cerasorb® Flexible Foam Strip, elastisch rückstellend, Dichte 0,3–0,5 g/cm^3) wurden von der Firma curasan AG zur Verfügung gestellt. Die Antibiotikallösungen wurden gemäß Herstellerangaben eingesetzt.

Bezeichnung	LOT	Menge	Menge Wasser*	Ergibt mg/ml	MHK/MIC [$\mu\text{g}/\text{ml}$]
Vancomycin HIKMA CP 1 g	AK0127	1 g	20 ml	50	2
Meropenem HIKMA 1 g	MDEA 1068	1 g	20 ml	50	2
Gentamicin Ratiopharm 80 mg/2 ml SF Fertiglösung in Ampullen	T18942A	80 mg	2 ml	40	1

Tabelle 1 Eingesetzte Antibiotika. *Wasser für Injektionszwecke

F. Peters, K. Bahrini: curasan AG, 63801 Kleinostheim

A.M. Placht, M. Gelinsky: Zentrum für Translationale Knochen-, Gelenk- und Weichgewebeforschung, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus und Medizinische Fakultät der Technischen Universität Dresden

Beladungsversuche

Jeweils 1 cc Biomaterial wurde vorgelegt und die Lösungen in 100-µl-Schritten mit einer Präzisionspipette so lange zugegeben, bis die Flüssigkeit nicht mehr aufgesaugt wurde. Die Beladungskapazität wurde dann prozentual berechnet und mit kommerziell erhältlichen Materialien verglichen.

Freisetzungsversuche

Die Proben wurden gemäß der ermittelten Kapazitäten bis zur Sättigung beladen. Nach einer 5-minütigen Einwirkzeit wurden die Proben in Bechergläser mit jeweils 20 ml 0,9 %-iger Kochsalzlösung bei 37 °C inkubiert. Die Freisetzungslösung wurde zunächst alle 30 Minuten ausgetauscht, anschließend wurden die Zeiträume verlängert. Die quantitative Messung der Freisetzung erfolgte photometrisch mit einem Tecan Microplate Reader.

Ergebnisse

Beladungsversuche

Abbildung 1 zeigt die prozentuale Beladungskapazität im Vergleich zu Calciumsulfat (Gips)-Produkten zur Freisetzung von Antibiotika. Insbesondere die Kompositmaterialien können ein Vielfaches ihres Eigenvolumens an Flüssigkeit aufnehmen und können daher mit dem Wirkstoff so beladen werden, dass es der MHK entspricht. Die pulverförmigen Antibiotika Meropenem und Vancomycin können entsprechend höher konzentriert werden, um das Substrat stärker zu beladen (Tab. 2).

Freisetzungsversuche

Abbildung 2a–b zeigt die Freisetzung von Gentamicin aus Cerasorb® Foam im Labor. 60 % des Gentamicins wurden aus dem Mouldable Foam nach 1,5 h freigesetzt, aus dem Flexible Foam Strip erst nach 6 h.

Nach 120 h wurden aus dem Mouldable Foam ca. 80 % und aus dem Flexible Foam Strip ca. 70 % freigesetzt. Das heißt, dass nach 5 Tagen immer noch 20 bzw. 30 % des Wirkstoffs im Substrat verbleiben und zur Verfügung stehen. Zu keinem Zeitpunkt wird die MHK unterschritten.

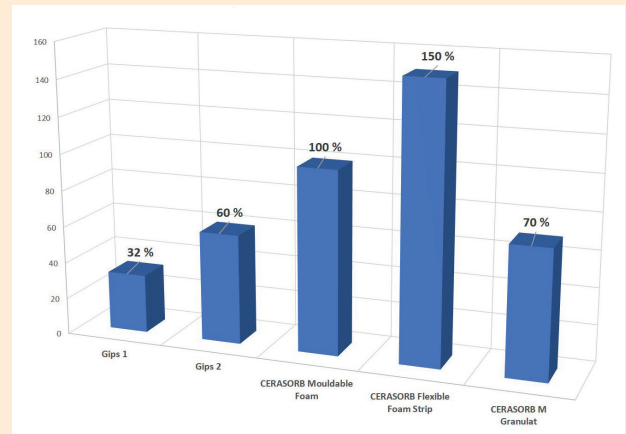


Abbildung 1 Beladungskapazität der Biomaterialien in Prozent im Vergleich zu Calciumsulfat-Produkten (Werte der Gipsprodukte aus den Werbematerialien der jeweiligen Hersteller)

Die Phase des *initial burst* ist bereits nach etwa einer Stunde abgeschlossen, sodass die Konzentration anschließend unterhalb des toxischen Bereichs bleibt.

Abbildung 2b zeigt, dass auch nach 48 Stunden noch ca. 30 % des eingesetzten Antibiotikums im Granulat 5000–8000 µm gebunden sind und ungefähr 10 % des Antibiotikums bei der Granulatgröße 3000–5000 µm. Dieses resultiert aus der Struktur der Granula: Die poröse Struktur des Cerasorb® M ist derart aufgebaut, dass ein interkonektierend mikroporöses System mit hoher Oberfläche und Kapillareffekten vorliegt. Dadurch erfolgt eine erhöhte Anhaftung der Antibiotika-Lösung im Granulat. Die Freisetzung dieser Restmenge an Antibiotika zieht sich dann während der Resorption/Degradation des Knochenaufbaumaterials über Wochen hin.

Abbildung 3a–b zeigt die Wirkstoffe Meropenem und Vancomycin. Auch hier ist bis auf eine anfängliche höhere Konzentration eine Freisetzung der Wirkstoffe über viele Tage gegeben. Es ist davon auszugehen, dass die Wirkstoffe derart an das Biomaterial adsorbiert sind, dass die Wirkstoffe während des biologischen Abbaus und Umbaus zu körpereigenem Knochen freigesetzt werden.

	Vancomycin		Meropenem		Gentamicin	
	ml pro cc Matrix	mg pro cc Matrix	ml pro cc Matrix	mg pro cc Matrix	ml pro cc Matrix	mg pro cc Matrix
Cerasorb® Flexible Foam	1,5	75,0	1,5	75	1,5	60,0
Cerasorb® Mouldable Foam	1	50,0	1	50	1	40,0
Cerasorb® Granulat 1000–2000 µm	0,65	32,5	0,63	31,6	0,65	26,0
Cerasorb® Granulat 2000–3000 µm	0,51	25,3	0,52	26,2	0,54	21,7
Cerasorb® Granulat 3000–5000 µm	0,31	15,4	0,34	17,2	0,38	15,3
Cerasorb® Granulat 5000–8000 µm	0,62	31,2	0,61	30,3	0,62	24,9

Tabelle 2 Beladung der Biomaterialien mit Wirkstofflösung in ml Flüssigkeit pro cc Matrix und die daraus resultierende Menge an Wirkstoff in mg

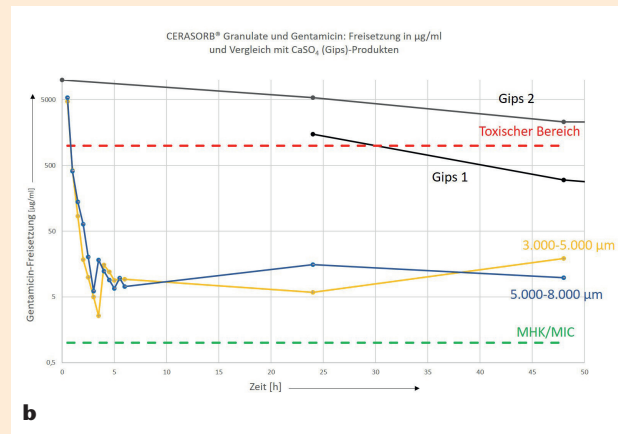
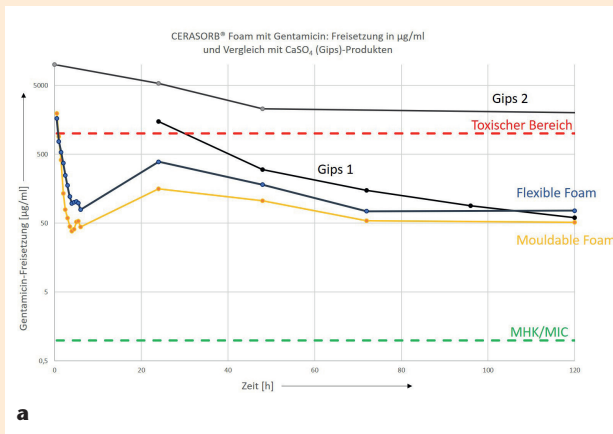


Abbildung 2a–b Freisetzungskinetik von Gentamicin aus Cerasorb® Foam und Cerasorb® Granulaten mit minimaler Hemmkonzentration und toxischem Bereich

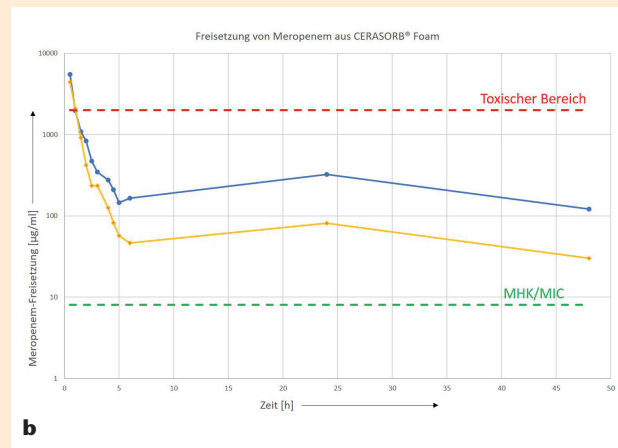
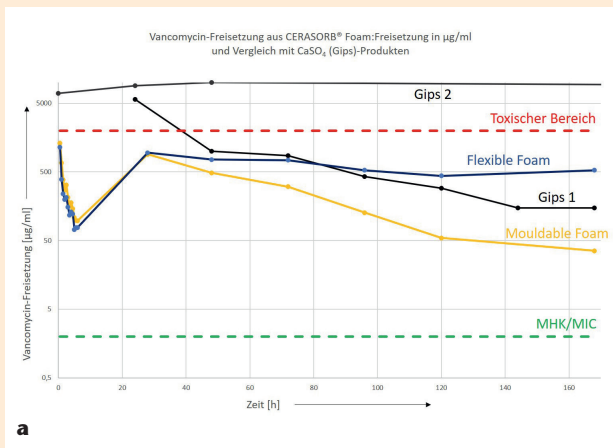


Abbildung 3a–b Freisetzungskinetik von a) Vancomycin und b) Meropenem aus Cerasorb® Foam

Zusammenfassung und Ausblick

Handelsübliche Antibiotikazubereitungen sind mischbar mit den biomimetischen Knochenaufbaumaterialien des Cerasorb-Produktprogramms. Es zeigt sich, dass sowohl die Beladungskapazität der Materialien als auch die Freisetzungskinetik, die Wirkstoffkonzentration über die Zeit, in der Umgebung der Biomaterialien immer oberhalb der MHK und unterhalb der toxischen Grenze liegen. Freisetzungsversuche in körperähnlicheren Medien, beispielsweise in fötalem Kälberserum (FKS), legen den Schluss nahe, dass die Freisetzung dort deutlich langsamer erfolgt und somit für längere Zeit Wirkstoff zur Verfügung steht.

Literatur

1. Witso E: Cancellous bone allograft as an antibiotic carrier – in-vitro, in-vivo and clinical studies. In: Walenkamp GHIM (Hrsg.): Local antibiotics in arthroplasty, Thieme Verlag 2007: 41–5
2. Frommelt L: Indikation für die Zugabe von Antibiotika. In: Jerosch J, Katthagen BD, Pruß A (Hrsg.): Knochentransplantation, Köln: Deutscher Ärzteverlag, 2012: 151–4
3. Rüger JM: Knochenersatzmittel. Orthopäde 1998; 27: 72–9
4. Soldner E, Herr G: Knochen, Knochentransplantate und Knochenersatzmaterialien. Trauma Berufskr. 2001; 3: 256–69

5. Seidenstücker M, Rühle J, Südkamp NP et al.: Composite Material consisting of microporous β -TCP ceramic and alginate for delayed release of antibiotics, Acta Biomater 2017; 51: 433–46
6. Faigl G, Bernstein A, Suedkamp NP et al.: Release behavior of VAN from four types of CaP-Ceramic granules using various loading methods at two different degrees of acidity, J Mater Sci: Mater Med 2018, 29: 12
7. Roth KE, Maier GS, Schmidtman I et al.: Release of Antibiotics Out of a Moldable Collagen-b-Tricalciumphosphate-Composite Compared to Two Calcium Phosphate Granules, Materials 2019; 12: 4056
8. Osartis GmbH: PerOssal® Resorbierbarer Knochenersatz. Broschüre Nr. 141–3010–02/032019, zuletzt aufgerufen 14.01.2020 www.osartis.de
9. Laycock PA, Brayford MJ, Cooper JJ et al.: A Simple Acoustic Technique To Assess The Setting Time of Antibiotic Loaded Calcium Sulphate. Poster Biocomposites Ltd, zuletzt aufgerufen 14.01.2020, www.biocomposites.com

Diese Sonderpublikation erscheint im Auftrag und inhaltlichen Verantwortungsbereich der Curasan AG, Lindigstraße 4, 63801 Kleinostheim

Diese Rubrik enthält Beiträge, die auf Unternehmensinformationen basieren. Einzelne Beiträge sind ganz oder teilweise von einem Unternehmen gesponsert und separat gekennzeichnet. Diese Rubrik erscheint außerhalb der Verantwortung der Schriftleitung der OUP – Orthopädische und Unfallchirurgische Praxis.