

# 다양한 소독방법이 PPDO-hybrid-PLGA nanofiber scaffold의 형태와 세포부착에 미치는 영향에 관한 연구

이주현<sup>1,2</sup> · 민현기<sup>1,2</sup> · 정주영<sup>2</sup> · 강나라<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>이화여자대학교 의학전문대학 구강악안면외과

<sup>2</sup>이화여자대학교 임상치의학대학원 임플란트치의학과

**Abstract** (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2008;34:635-639)

## EFFECT OF DIFFERENT STERILIZATION METHODS ON THE SURFACE MORPHOLOGY OF PPDO-hybrid-PLGA NANOFIBER SCAFFOLD AND ATTACHMENTS OF PC12 CELL

Juhyon Lee<sup>1,2</sup>, Hyungi Min<sup>1,2</sup>, Juyoung Jung<sup>2</sup>, Nara Kang<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Ewha Womans University School of Medicine Department of Oral and Maxillofacial Surgery

<sup>2</sup> Ewha Womans University Graduate School of Clinical Dentistry Department of Implant Dentistry

**Objectives** : the effect of different sterilization methods on the surface morphology of PPDO-hybrid-PLGA nanofiber scaffold and attachments of PC12 cell were investigated.

**Methods** : Poly (p-dioxone)-hybrid-Poly (lactide-glycolide) (PPDO-hybrid-PLGA) nanofiber scaffold, fabricated in a tube form with 1.5 mm internal diameter, 0.2 mm thickness and 5 mm length, was prepared using electrospinning method. To study the surface morphology using SEM, The study group and control group in respective were; Control:Non-sterilized scaffold, **Group I**:scaffold sterilized with 70% Alcohol, **Group II**: scaffold sterilized with Ethylene Oxide at 65 °C , and **Group III** : scaffold sterilized with Ethylene Oxide at 37 °C. To investigate viability of the PC12 cell on the scaffold, The study group and control group in respective were; **Control**: sterilized with 70% Alcohol, **Group I**: sterilized with Ethylene Oxide at 65 °C, and **Group II**: sterilized with Ethylene Oxide at 37 °C.

**Results** : 1. The surface morphology was slightly changed in Group I, II and Group III, compared with control.

2. The attachment of PC12 cells in Group I, II was not higher than in control

**Discussion** : The attachment of PC12 cell is not influenced by different sterilization methods.

**Key words**: Sterilization, Nanofiber scaffold, Surface morphology, Attachment of cell

## I. 서 론

최근 인체 조직의 재생을 목적으로 다양한 생체 재료가 개발되어 상용되고 있다. 그 가운데 Poly(p-dioxanone)(PPDO) 과 poly(lactic-co-glycolic acid)(PLGA)는 콜라겐, 키토산, 히아루로닉산 등의 천연 고분자 물질을 대체하기 위해 개발된 합성 고분자 물질이다<sup>1)</sup>. 천연 고분자 물질은 자연 재료나 신체에서 추출하는 것이기 때문에 대량 생산의 제약을 가지고 있고, 또한 생체 효소에 의해 분해되기 때문에 고분자 물질의 분해 속도를 조절할 수 없다는 기계적 물성의 한계점을 가진다. 반면 합성

고분자 물질은 비효소적인 화학적 가수분해에 의해 분해되어 환자의 생체 환경에 영향을 받지 않고 고분자 물질의 재료의 조성 비율, 공극성, 결정성, 구조 등을 변화 시켜 분해 속도를 조절할 수 있기 때문에 천연 고분자 물질에 비해 폭넓게 사용되고 있다<sup>2-6)</sup>. 생분해성 합성 고분자 생체재료 중 PPDO와 PLGA는 조직 공학용 다공성 스캐폴드 재료의 주류를 이루고 있고 대량 생산되어 다양한 분야의 임상에 적용되고 있다.

PPDO는 골절부의 고정용 핀이나 클립, 인대 손상시 강화 등의 용도로 널리 쓰이는 재료로서 탄력성이 뛰어나고 체내에서 완전히 분해되는 성질을 가지고 있으며 염증 반응 등의 부작용이 거의 없는 것으로 알려져 있다<sup>7)</sup>. 치과 영역에서 PPDO는 악골절시 고정용 나사와 스크류로 이용되고 봉합사로 이용된다<sup>8,10)</sup>.

PLGA는 poly(lactic acid)와 poly(glycolic acid)를 일정 비율로 혼합시킨 물질인데 파괴된 치주 조직을 재생 시키기 위해 상피의 이주를 제한하는 차폐막으로서 이용되기도 하고<sup>11,12)</sup> 골이식술에서 자가 골편이나 인공 골대체 물질 등의 스캐폴드를 고

### 강 나라

158-710 서울 양천구 안양천길 804

이화여자대학교 의학전문대학원 구강악안면외과

### Na-Ra Kang

Dep. of OMFS, Ewha Womans University School of Medicine & Mokdong Hospital

204 Anyang cheon-gil, Yang chen-gu, Seoul 158-710 South Korea

Tel: 82-565-336-8478 Fax: 82-505-911-6637

E-mail: narakang@omfs.kr

※ This work was accomplished with Academic Research Fund provided by Ewha Womans University in 2004

정하고 유지 시키기 위해 사용되기도 한다. 골막 봉합 등의 경우 흡수성 봉합사로서 활용되고, 말초 신경의 말단부의 재생을 유도하는 물질로서 신경 단절부위에 연결체로서 이식되기도 한다<sup>12,13</sup>.

이처럼 다양한 방식으로 이용되는 생분해성 합성 고분자 생체 재료는 고온의 환경에서 구조가 붕괴되고 중량이 감소하는 등의 재료의 물성 변화가 쉽게 일어나는 취약점을 가진다<sup>14,15</sup>. 따라서 고분자 물질의 소독 시 고온을 유지해야 하는 소독 방식을 적용하기 곤란하다.

저온에서 이루어지는 소독법으로는 70% 알코올 침전 소독과 EO(ethylene oxide) 가스 소독, 감마선 소독, RFGD(radio-frequency glow discharge) 플라즈마 소독 등이 쓰이고 있다.<sup>16</sup>

고온에서 불안정한 합성 고분자 물질의 특성을 고려하여 저온에서 적용 가능하되 조직 재생을 저해하지 않는 소독법을 조사하여 적용하는 것이 중요하다고 생각된다.

본 연구에서는 전기방사법으로 제조한 PPDO-hybrid-PLGA scaffold의 70%알코올 소독과 65°C EO 가스 소독, 37°C EO가스 소독에 따른 scaffold 표면 형태 변화와 세포 부착 및 활성도의 차이를 비교, 평가 하였다.

## II. 재료 및 방법

### A. 전기방사법을 이용한 PPDO-hybrid-PLGA Scaffold 제작

전기방사법으로 PPDO-hybrid-PLGA scaffold를 제작하였는데, 내층은 PPDO, 외층은 PLGA(poly lactic acid: poly glycolic acid = 10:90)로 구성된 도관의 형태이며 내경 1.5 mm, 두께 0.2 mm로 제작하였다.

### B. 소독 후 SEM을 이용한 표면 관찰

실험군은 65°C에서 EO 가스 소독한 군(EO65), 37°C에서EO 가스 소독한 군(EO37), 상온에서 70% 알코올에 5분간 침전 소독한 군(Alcohol)으로 정하고, 대조군은 소독을 시행하지 않은 군으로 하였다. 각 군 별로 3개씩의 표본을 준비하여 분석한다. 모든 표본은 2.5% 글루타알데하이드(glutaraldehyde)액에서 10분간 저온으로 고정된 뒤 인산완충식염수(phosphate buffered saline: PBS)로 10분간 2회 수세하였다. 내층과 외층의 표면을 주사전자현미경(JEOL USA Inc, MA, USA)을 이용하여 관찰하였다.

### C. 소독 후SEM을 이용한 세포 부착 관찰

실험군은 65 °C에서 EO 가스 소독한 군(EO65), 37 °C에서 EO

가스 소독한 군(EO37)으로 정하고, 대조군은 상온에서 70% 알코올에 5분간 침전 소독한 군으로 하였다. 각 군 별로 5개씩의 표본을 준비하여 분석한다. 각 그룹의 모든 도관의 내면에 PC 12 세포를 동일 량 주입하고 제 1형 콜라겐에 침전시켜 각각의 well에서 95% 공기, 5% 이산화탄소, 37°C 조건하에서 48시간 배양시켰다. 2.5% 글루타알데하이드 (glutaraldehyde)액에서 10분간 저온으로 고정된 뒤 인산완충식염수(phosphate buffered saline: PBS)로 10분간 2회 수세하였다. 세포의 부착 양상을 주사전자현미경(JEOL USA Inc, MA, USA)을 이용하여 관찰하였다.

### D. 소독 후 세포 활성도 측정

실험군은 65 °C에서 EO 가스 소독한 군(EO65), 37 °C에서 EO 가스 소독한 군(EO37)으로 정하고, 대조군은 상온에서 70% 알코올에 5분간 침전 소독한 군으로 하였다. 각 군 별로 5개씩의 표본을 준비하여 분석한다. 각 그룹의 모든 도관의 내면에 PC 12 세포를 동일량 주입하고 제 1형 콜라겐에 침전시켜 각각의 well에서 95% 공기, 5% 이산화탄소, 37°C 조건하에서 48시간 배양시켰다. 세포 배양 48시간 후 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) 분석을 시행하였는데 ELISA microtiter plate를 이용하여 570 nm에서 광학 밀도(optical density :O.D)를 측정하여 세포활성도를 평가하였다.

### E. 통계분석

Window용 GraphPad Prism version 5.0 (GraphPad Software, CA, USA) 프로그램을 이용하여 자료를 통계 분석하였다. 다양한 소독 방법에 의한 세포활성도는 one-way analysis of variance (ANOVA)와 그룹간 비교를 위해 Bonferroni's multiple comparison test를 사용하였다. 모든 분석에서 통계학적 유의수준은  $P < 0.05$ 로 하였다.

## III. 결 과

### A. PPDO-hybrid-PLGA scaffold

전기방사법을 통해 제조된 PPDO-hybrid-PLGA scaffold는 나노섬유형태로 만들어졌다. 외층을 구성하는 PLGA 표면은 길고 미세한 섬유 구조가 복잡하게 얽혀있는 거친 표면을 보이며 섬유간 공간이 넓고 선명하다. 내층을 이루는 PPDO는 PLGA와 비교하여 보다 굵은 섬유가 조밀하게 배치된 형태를 보이며 공극의 크기가 작고 표면이 덜 거칠어 보인다(그림 1).

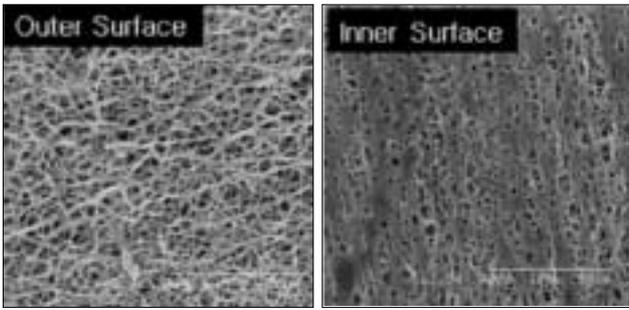


Fig. 1. SEM을 이용한 PPDO-hybrid-PLGA nanofiber scaffold의 내면 및 외면 관찰 (×1K)

외층표면(PLGA)은 큰 공극과 가는 섬유직경을 가지고 있으며 내층표면에 비해 거칠어 보인다. 내층표면(PPDO)은 작은 공극과 굵은 섬유직경을 가지고 있으며 매끈한 표면이 관찰된다.

B. 소독 후 SEM을 이용한 표면 관찰

외층을 구성하고 있는 PLGA의 경우 Alcohol군과 EO65군은 대조군과 비교하여 표면 형태의 괄목한 만한 차이를 보이지 않았다. EO37군은 대조군과 비교하여 소독 과정 후 전체적인 체적 감소가 일어나면서 고분자 나노섬유들이 다소 압착되고 섬유간 공간이 감소되어 밀도가 높아진 모습을 보였다.

내층을 이루고 있는 PPDO의 경우 Alcohol군에서는 대조군과

비교하여 표면 형태의 변화가 없었다. 그러나 EO65군과 EO37군은 기존의 섬유 구조를 찾아보기 힘들 정도로 표면이 변형되었고 다공성 구조를 유지하고 있기는 하였으나 섬유간 공간이 감소된 양상을 보였다(그림 2).

C. 소독 후 SEM을 이용한 세포 부착 관찰

세 군 모두에서 PPDO-hybrid-PLGA scaffold표면에 세포가 잘 부착된 형태를 보여준다.

D. 소독 후 세포 활성도 측정

PC 12 cell의 세포활성도에 있어서Alcohol군과 비교하여 EO65군, EO37군 모두에서 통계적으로 유의할 만한 수준의 변화를 보이지 않았다(그림 4).

IV. 고 찰

천연 고분자 물질의 한계점을 보완하기 위해 생분해성 합성 고분자 물질이 다양하게 개발되어 사용되고 있다. 합성 고분자 물질은 열에 취약하여 고온에서 진행되는 소독법을 적용하기 힘들다. 본 연구는 이러한 고분자 물질에 적합한 소독법을 규명하고자 PPDO-hybrid-PLGA scaffold를 이용하여 다양한 소독법을 적용한 후 주사전자현미경을 이용하여 표면의 형태 변

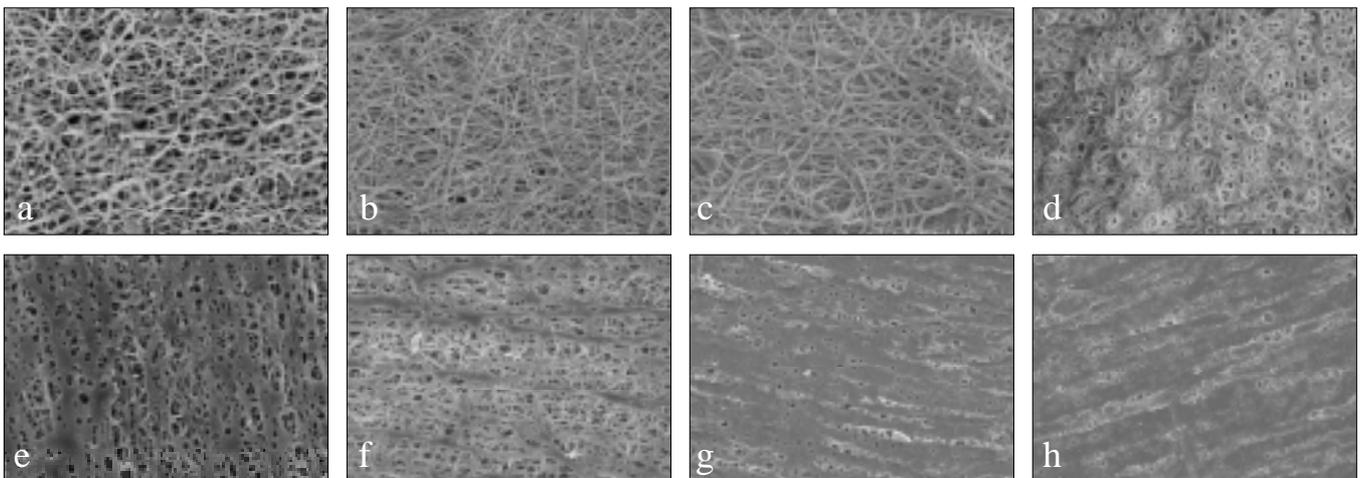


Fig. 2. 소독 후 PPDO-hybrid-PLGA scaffold의 SEM 사진 (× 1K) 외층표면(PLGA): a: 대조군, b: Alcohol, c: EO65, d: EO37 와 내층표면(PPDO): e: 대조군, f: Alcohol, g: EO65, h: EO37

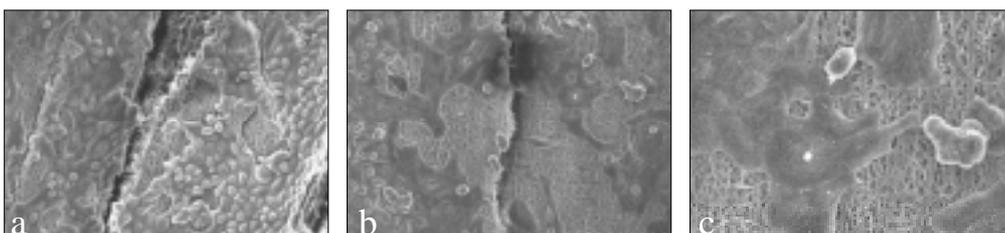


Fig. 3. 세포 배양 후 SEM을 이용한 관찰(x400) a: Alcohol, b: EO65, c: EO37

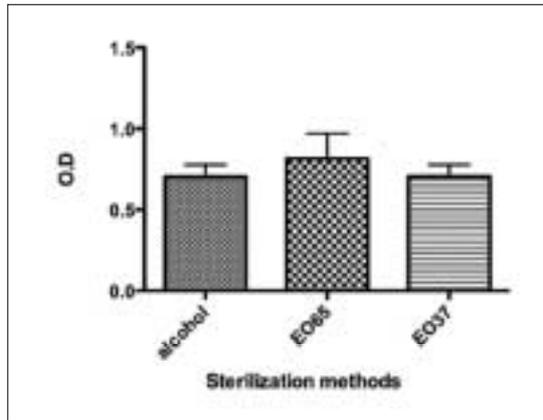


Fig. 4. 소독방법에 따른 PC12 세포의 세포활성도

화를 관찰하고, PC 12 세포 배양 후 MTT 분석을 통한 세포활성도를 조사하였다.

전기방사법으로 제조되는 PPDO-hybrid-PLGA scaffold의 표면은 주사전자현미경상에서 PLGA는 미세한 나노섬유가 복잡하게 얽혀있는 양상을 보이는데 섬유간 공간이 넓고 선명하며 전체적으로 거친 모습이다. 내층을 이루는 PPDO는 PLGA와 비교하며 보다 굵은 섬유가 조밀하게 배치된 형태이며 공극의 크기가 작다.

70% 알코올 소독과 65°C EO 가스 소독, 37°C EO 가스 소독 후 PLGA로 구성된 외면은 소독 전과 비교하여 명확한 표면 형태의 차이를 보이지 않았으나 내면을 이루고 있던 PPDO는 65°C EO 가스 소독과 37°C EO 가스 소독 두 경우에서 표면의 다공성이 감소하고 섬유 구조를 찾아볼 수 없을 정도로 변형되었다. 이는 녹는점이 96~98°C인 락타이드(L-lactide)와 82~85°C인 글라이코라이드(glycolide)로 이루어진 PLGA에 비해 PPDO는 녹는점이 26~28°C로 훨씬 낮은 값을 가지기 때문인 것으로 사료된다. PLGA는 65°C의 EO 가스 소독에도 변형되지 않은 반면 PPDO는 37°C의 EO 가스 소독에도 표면의 심한 변형을 보였다.

그러나 PC 12 cell의 배양 후 MTT 분석을 통한 세포활성도 조사에서는 소독 방식에 따른 유의할 만한 차이를 보이지 않아 소독 과정에서 일어나는 scaffold 표면의 형태 변화에도 불구하고 세포의 부착과 증식에는 지장을 주지 않는 것으로 사료된다.

알코올 소독은 피부에 자극이 적고 비교적 안전하게 사용할 수 있으며 침전시키거나 닦아내는 동작만으로도 표면 소독 효과를 얻을 수 있는 저온에서 적용 가능한 가장 간단한 소독 방법이다<sup>20</sup>. 알코올은 단백질을 변성시키고 세포질을 파괴하여 세균막을 분해시키므로 소독 작용을 나타낸다<sup>20</sup>. 주로 전체 농도 70%의 에틸알코올과 이소프로판올 혼합물을 이용하는 데 불용용화를 위해 보통 5% 정도의 메탄올이 포함되어 있다. 60~80% 농도의 알코올을 이용하여 상온에서 30분간 침전시켜 소독할 경우 그람 양성균, 그람 음성균, 친지질성 바이러스에 높은 감수성을 보이나 친수성 바이러스와 스포어를 형성하는 균에는 효과가 없다<sup>21</sup>. 따라서 알코올 소독은 완전한 멸균이라고 보기 힘들다.

그러나 합성 고분자 물질의 소독에 적용되는 EO 가스 소독,

감마선 소독, 고주파 글로방전 (Radio-frequency glow discharge ; RFGD) 플라즈마 소독 등이 고분자 물질의 급속한 분해를 일으키는 것에 비해<sup>15, 16, 22-26</sup> 알코올 소독은 물질의 형태적, 화학적 손상을 일으키지 않는 장점을 가진다.

Holy 등<sup>19</sup>은 PLGA의 소독 방식에 따른 분해 속도를 알아보기 위해 알코올 소독법을 대조군으로 하여 EO 가스 소독, 감마선 소독, RFGD 플라즈마 소독을 PLGA 블록에 적용한 뒤 소독 후의 분자량 변화와 8주간 인산완충식염수(phosphate buffered saline:PBS) 침전시 체적 감소율과 중량 감소율을 조사하였다. 그 결과 EO 가스 소독의 경우 소독 직후 초기 분자량의 12% 정도의 감소를 보이기는 했지만 8주간의 분해 양상은 알코올 소독과 가장 유사하였다. RFGD 플라즈마 소독은 EO 가스 소독과 유사한 결과를 보였으나 소독 직후 오히려 분자량이 증가하는 결과를 보였으며 감마선 소독은 소독 직후 분자량이 54%까지 감소하고 8주 이후 완전히 형태를 잃어버릴 정도로 분해되었다.

현재 소개된 합성 고분자 물질에 적용 가능한 소독 방식 중 가장 많이 쓰이는 소독법은 EO 가스 소독이라고 할 수 있다. EO 가스는 10.7°C의 끓는점을 가지는 침투성과 반응성이 아주 강한 무색의 발화성 가스이다. 세균의 핵산이나 기능 단백질을 알킬화하여 미생물의 대사를 억제하는데 박테리아와 스포어, 진균, 바이러스 등 대부분의 미생물을 멸균시킨다<sup>27</sup>. EO 가스를 이용한 소독은 보통 65°C, EO 가스와 이산화탄소의 혼합 가스 4기압 상태에서 2시간 소독 후 15시간 상온에서 가스를 제거하는 과정을 거친다. 그러나 65°C의 온도는 고분자 물질의 종류와 구성에 따라 그 물질의 구조와 분해 속도에 영향을 미칠만한 고온일 수 있다. Pietrzak 등<sup>28</sup>은 37°C를 기준으로 2°C 정도의 미세한 온도 차이에도 PLGA의 분해 속도가 25~30% 가량 증가한다고 보고했다. 또한 Grayson 등<sup>17</sup>은 25°C에 비해 37°C에서 PLGA 막의 더 빠른 분해 양상에 대해 보고했다.

In Vitro 실험에서 고분자 물질이 온도에 따라 분해 속도에 큰 차이를 가져오는 것을 고려할 때 EO 가스 소독 과정에서 발생하는 온도에 의한 영향도 장기적인 분해 속도에 영향을 미칠 것으로 보인다. 통상적으로 사용되는 65°C에서 소독한 경우와 체온에 가까운 37°C에서 소독한 경우 소독 능력에 차이가 없다면 고분자 물질의 급속한 분해를 초래하는 고온이 아닌 체온 수준에서 이루어지는 것이 바람직하다고 할 것이다.

Robert 등<sup>29</sup>은 EO 가스 농도와 압력, 습도 등을 변화시켜 EO 가스 소독의 유효성을 조사한 결과 440mg/l 농도의 EO 가스에서는 65°C, 880mg/l 농도의 EO 가스에서는 33.4°C를 멸균 가능한 임계 온도로 제시하였다. 고온의 소독 과정으로 인한 고분자 물질의 손상을 최소화 하되 Robert가 제시한 멸균 임계 온도 33.4°C를 넘는 온도로서 체온과 유사한 37°C는 EO 가스 소독의 최저 온도로 의미를 가질 것으로 보인다.

그러나 이 실험은 실험실 내에서 이루어진 것이므로 신체 내에서의 고분자 물질에 대한 세포 반응은 위와 상이할 수 있으며 최근 새롭게 소개되고 있는 다양한 고분자 물질의 각기 다른 녹는점을 고려하여 고분자 물질의 소독 방식에 대한 더 많

은 연구가 필요할 것이다.

## V. 결 론

전기방사법으로 제조한 PPDO-hybrid-PLGA scaffold의 다양한 소독 방식에 따른 표면 형태 변화와 세포활성도를 조사한 본 연구에서 다음과 같은 결론을 얻었다. 다양한 소독 처리 후 표면의 변화는 보이나 PC 12 cell의 세포활성도는 유의할 만한 차이를 보이지 않았다.

## 참고문헌

1. 김상현, 김수현, 김영하. 조직공학용 다공성 스펙폴드. 고분자 과학과 기술 2005;16(4):468-77.
2. Park TG. Degradation of poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres: effect of copolymer composition. Biomaterials 1995;16(15):1123-30.
3. Chia NK, Venkatraman SS, Boey FY, Cadart S, Loo JS. Controlled degradation of multilayered poly(lactide-co-glycolide) films using electron beam irradiation. J Biomed Mater Res A 2008;84(4):980-7.
4. Kang SW, Cho ER, Jeon O, Kim BS. The effect of microsphere degradation rate on the efficacy of polymeric microspheres as bulking agents: an 18-month follow-up study. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2007;80(1):253-9.
5. Wu L, Ding J. Effects of porosity and pore size on in vitro degradation of three-dimensional porous poly(D,L-lactide-co-glycolide) scaffolds for tissue engineering. J Biomed Mater Res A 2005;75(4):767-77.
6. Lu L, Garcia CA, Mikos AG. In vitro degradation of thin poly(DL-lactic-co-glycolic acid) films. J Biomed Mater Res 1999;46(2):236-44.
7. Watzinger F, Wutzl A, Wanschitz F, Ewers R, Turhani D, Seemann R. Biodegradable polymer membrane used as septal splint. Int J Oral Maxillofac Surg 2008;37(5):473-7.
8. Suuronen R. Biodegradable fracture-fixation devices in maxillofacial surgery. Int J Oral Maxillofac Surg 1993;22(1):50-7.
9. Kuzin MI, Adamian AA, Vinokurova TI. [Surgical absorbable suture materials]. Khirurgiia (Mosk) 1990(9):152-7.
10. Suuronen R, Kallela I, Lindqvist C. Bioabsorbable plates and screws: Current state of the art in facial fracture repair. J Craniomaxillofac Trauma 2000;6(1):19-27; discussion 28-30.
11. Owen GR, Jackson J, Chehroudi B, Burt H, Brunette DM. A PLGA membrane controlling cell behaviour for promoting tissue regeneration. Biomaterials 2005;26(35):7447-56.
12. Murphy KG, Gunsolley JC. Guided tissue regeneration for the treatment of periodontal intrabony and furcation defects. A systematic review. Ann Periodontol 2003;8(1):266-302.
13. de Ruyter GC, Onyeneho IA, Liang ET, Moore MJ, Knight AM, Malessy MJ, et al. Methods for in vitro characterization of multi-channel nerve tubes. J Biomed Mater Res A 2008;84(3):643-51.
14. Lleixa Calvet J, Grafahrend D, Klee D, Moller M. Sterilization effects on starPEG coated polymer surfaces: characterization and cell viability. J Mater Sci Mater Med 2008;19(4):1631-36.
15. Montanari L CM, Signoretti EC, Valvo L, Santucci M, Bartolomei M, Fattibene P, Onori S, Faucitano A, Conti B, Genta I. Gamma irradiation effects on poly(DL-lactide-co-glycolide) microspheres. J Control Release 1998;56:219-29.
16. Sintzel MB S-AK, Mader K, Stosser R, Heller J, Tabatabay C, Gurny R. Influence of irradiation sterilization on a semi-solid poly(ortho ester). Int J Pharm 1998(175):165-76.
17. Grayson AC, Cima MJ, Langer R. Size and temperature effects on poly(lactic-co-glycolic acid) degradation and microreservoir device performance. Biomaterials 2005;26(14):2137-45.
18. Loo JS, Ooi CP, Boey FY. Degradation of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and poly(L-lactide) (PLLA) by electron beam radiation. Biomaterials 2005;26(12):1359-67.
19. Holy CE, Cheng C, Davies JE, Shoichet MS. Optimizing the sterilization of PLGA scaffolds for use in tissue engineering. Biomaterials 2001;22(1):25-31.
20. Moorer WR. Antiviral activity of alcohol for surface disinfection. Int J Dent Hyg 2003;1(3):138-42.
21. Gardener JF PM. Introduction to sterilization, disinfection and infection control. NY:Churchill Livingstone; 1991.
22. Calis S, Bozdog S, Kas HS, Tuncay M, Hincal AA. Influence of irradiation sterilization on poly(lactide-co-glycolide) microspheres containing anti-inflammatory drugs. Farmaco 2002;57(1):55-62.
23. Carrascosa C, Espejo L, Torrado S, Torrado JJ. Effect of gamma-sterilization process on PLGA microspheres loaded with insulin-like growth factor-I (IGF-I). J Biomater Appl 2003;18(2):95-108.
24. Friess W, Schlapp M. Sterilization of gentamicin containing collagen/PLGA microparticle composites. Eur J Pharm Biopharm 2006;63(2):176-87.
25. Shearer H, Ellis MJ, Perera SP, Chaudhuri JB. Effects of common sterilization methods on the structure and properties of poly(D,L lactic-co-glycolic acid) scaffolds. Tissue Eng 2006;12(10):2717-27.
26. Yaman A. Alternative methods of terminal sterilization for biologically active macromolecules. Curr Opin Drug Discov Devel 2001;4(6):760-3.
27. Mendes GC, Brandao TR, Silva CL. Ethylene oxide sterilization of medical devices: a review. Am J Infect Control 2007;35(9):574-81.
28. Pietrzak WS, Kumar M, Eppley BL. The influence of temperature on the degradation rate of LactoSorb copolymer. J Craniofac Surg 2003;14(2):176-83.
29. Ernst RR, Shull JJ. Ethylene oxide gaseous sterilization. I. Concentration and temperature effects. Appl Microbiol 1962;10:337-41.