

# PRZECIWBAKTERYJNE WŁAŚCIWOŚCI PROTEZ NACZY- NIOWYCH MODYFIKOWANYCH CEFEPIMEM

MAŁGORZATA MIAZGA-KARSKA<sup>1</sup>, GRAŻYNA GINALSKA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII,  
AKADEMIA MEDYCZNA, 20-093 LUBLIN, POLSKA

<sup>2</sup> UNIWERSYTET MARII-CURIE SKŁODOWSKIEJ  
KATEDRA BIOCHEMII, 20-031 LUBLIN, POLSKA  
E-MAIL: MALINA.MIAZGA-KARSKA@WP.PL

*[Inżynieria Biomateriałów, 67-68, (2007), 19-20]*

## Wprowadzenie

W chirurgii naczyń oprócz auto- i allogennych materiałów stosuje się syntetyczne protezy naczyniowe wykonane z biomateriałów polimerowych (polietylenotereftalanu – PET, polimetylometakrylanu – PMMA, politetrafluoroetylen PTFE). Przy stosowaniu do implantacji tego typu materiałów istnieje ryzyko pojawienia się bakteryjnych zakażeń pooperacyjnych. W celu zmniejszenia ilości przypadków infekcji na oddziałach chirurgii naczyniowej stosuje się systemową antybiotykoterapię.

Celem naszej pracy było uzyskanie protez o przedłużonej aktywności przeciwbakteryjnej przez utworzenie kowalencyjnego wiązania między lekiem a protezą naczyniową uszczelnianą żelatyną.

## Metodyka

Wiązanie cefepimu (cefalosporyna IV generacji) do protez Uni-Graft® (Braun, Niemcy) prowadzono z użyciem aldehydu glutarowego – czynnika tworzącego ramię przestrzenne pomiędzy protezą a lekiem [1]. Ilość leku związanego z nośnikiem oraz wydajność procesu immobilizacji określono metodami wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) w opracowaniu własnym. Mikrobiologiczną kontrolę przeciwbakteryjnej aktywności modyfikowanych cefepimem biomateriałów prowadzono w stosunku do szczepów *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 i *E. coli* ATCC 25992.

## Wyniki

Przeprowadzone badania analityczne wskazują, że najwyższe wartości wydajności procesu wiązania cefepimu z protezą osiągnąć można, gdy:

- pH środowiska reakcji immobilizacji jest lekko kwaśne lub obojętne;
- stosuje się niskie wartości początkowych stężeń leku;
- do aktywacji białkowej protezy używa się wysokich (powyżej 6%) stężeń aldehydu glutarowego;
- reakcję wiązania cefepimu prowadzi się w temperaturze nie przekraczającej 37°C przez okres co najmniej 2 godzin.

Po tak przeprowadzonej immobilizacji cefepimu wykazano obecność różnych oddziaływań pomiędzy lekiem a protezą typu: adsorpcji fizycznej, wiązań jonowych i silnych wiązań kowalencyjnych. Procentowy ich skład określono przez odmywanie protez w wodzie (wymycie puli leku związanego fizycznie) a następnie w 0,1 M HCl (rozerwanie wiązań jonowych) (RYS.1).

# ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF VASCULAR GRAFTS MODIFIED WITH CEFEPIME

MAŁGORZATA MIAZGA-KARSKA, GRAŻYNA GINALSKA

<sup>1</sup> CHAIR AND DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY,  
MEDICAL UNIVERSITY OF LUBLIN, 20-093 LUBLIN, POLAND

<sup>2</sup> DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY,  
MARIA CURIE-SKŁODOWSKA UNIVERSITY, 20-031 LUBLIN, POLAND  
E-MAIL: MALINA.MIAZGA-KARSKA@WP.PL

*[Engineering of Biomaterials, 67-68, (2007), 19-20]*

## Introduction

Synthetic vascular prostheses made of polymeric biomaterials (polyethylene terephthalate vascular surgery aside of auto- and allogenuous materials – PET, polymethacrylate – PMMA, polytetrafluoroethylene PTFE) are used in vascular surgery. Common use of such biomaterials leads to postoperative bacterial infections. The systemic antibiotic therapy is used to lower the amount of such complications on vascular surgery departments.

The aim of our research was to obtain vascular prostheses with prolonged antibacterial activity by creation covalent bindings between drug and gelatin - sealed vascular prosthesis.

## Methods

Immobilization of cefepime (cephalosporin IV gen.) on Uni-Graft® (Braun, Germany) prostheses was performed using glutaraldehyde – factor creating the space-arm between a prosthesis and a drug [1]. The amount of cefepime bound to carrier and immobilization yield was estimated by HPLC technique suitable for our conditions.

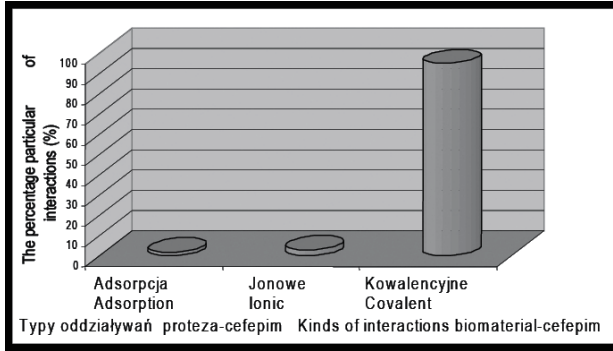
The microbiological control of antibacterial activity of cefepim modified biomaterials was performed with use of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 and *E. coli* ATCC 25992 strains.

## Results

Analytical experiments showed that the highest amount of cefepime bound can be obtained, when:

- pH value of reaction medium is slightly acidic or neutral,
- low initial concentration of drug is used,
- for activation gelatin-sealed prosthesis is using high concentration of glutaraldehyde (above 6%),
- immobilization process is performing during 2 hours in temperature not above than 37°C.

In next test, after the immobilization, we showed, that cefepime was bound by different types of interactions between prosthesis and drug: physical adsorption, ionic bonds, and strong covalent bonds. The percentage of particular interactions was estimated by washing out: first in water (removal of drug attached by physical adsorption) and next in 0,1 M HCl (disruption of ionic bonds) (FIG.1). It was observed that the biggest amount of interactions were covalent bonds (90%). It is very useful case, because this type of bounds cefepime is the stronger attached and the longer existing on prosthesis, so as a result it gives prolonged antibacterial protection. Hence, antibacterial growth inhibition in solid and liquid medium was observed (TABLE 1, FIG.2, FIG.3).



**RYS.1.** Procentowy udział wiązań wytworzonych między protezą a cefepimem.

**FIG.1.** The percentage particular interactions of cefepim with prosthesis.

Biomateriał hybrydowy / Hybrid biomaterial	Typ wiązań / Kind of interactions	Strefy zahamowania wzrostu / Zones of bacterial growth inhibition [mm]			Ilość bakterii po 25 dniach / Amount of bacteria after 25 days of incubation [CFU/ml]		
		E.coli	S. epidermidis	S.aureus	E.coli	S. epidermidis	S.aureus
Cefaklor + gel-PET	Adsorpcja + jonowe + kowalencyjne / Adsorption + ionic + covalent	36	22	32	0	0	0
	Jonowe + kowalencyjne / Ionic + covalent	31	18	17	0	0	0
	kowalencyjne / covalent	0	0,1	0,2	$3 \times 10^3$	$1 \times 10^2$	0

**TABELA 1.** Efekty przeciwbakteryjnego działania protez naczyniowych zmodyfikowanych cefepimem w hodowlach płynnych i stacjonarnych.

**TABLE 1.** Antibacterial effect of modified with cefepim prostheses in solid and liquid medium.

Stwierdzono, że wiązania kowalencyjne stanowią zdecydowaną większość (90%) całej puli oddziaływań. Jest to bardzo korzystne, bo właśnie ta pula leku będąca najmocniejszą, a przez to i najdłuższą związaną z protezą zapewnia przedłużoną w czasie ochronę przeciwbakteryjną. Zatem ocenie poddano hamowanie wzrostu bakterii w podłożu płynnym i agaryzowanym otaczającym zmodyfikowane cefepimem protezy naczyniowe (TAB.1, RYS.2, RYS.3).

## Wniosek

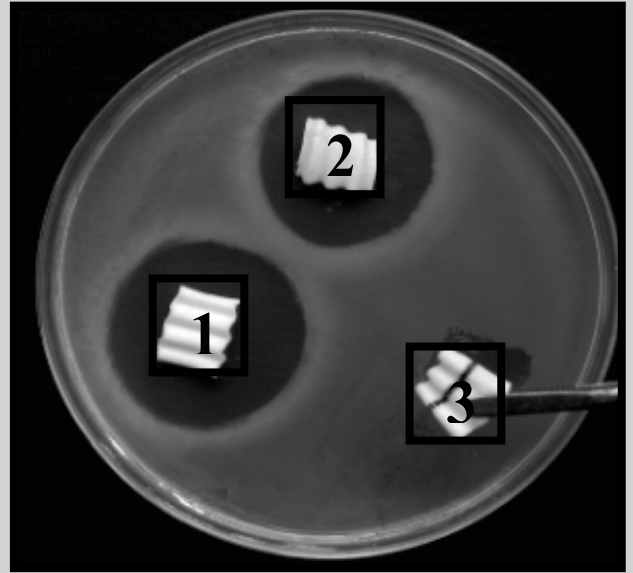
Powyższe testy dowiodły, że protezy naczyniowe modyfikowane cefepimem hamują wzrost badanych szczepów *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* i *E. coli* przez okres co najmniej 25 dni trwania eksperymentu.

## Podziękowania

Praca finansowana z grantu promotorskiego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego 2 PO5B 067 30.

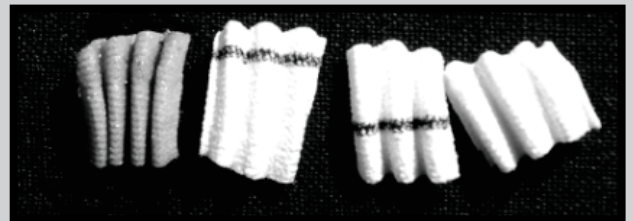
## Piśmiennictwo

[1]. Hermanson G.T, Mallia A.K, Smith P.K. (1992), Immobilized affinity ligand techniques Academic Press, INC.



**RYS.2.** Strefy zahamowania wzrostu jako przejaw aktywności przeciwbakteryjnej modyfikowanych cefepimem protez naczyniowych; 1.antybiotyk związany z protezą, w sposób mieszany: bierny, jonowy, kowalencyjny 2.antybiotyk związany z protezą w sposób jonowy i kowalencyjny, 3.antybiotyk związany z protezą kowalencyjnie.

**FIG.2.** Zones of bacterial growth inhibition as an antibacterial effect of modified biomaterial activity; 1. antibiotic bounded via adsorption, ionic and covalent interactions, 2. antibiotic bounded via ionic and covalent interactions, 3. antibiotic bounded via covalent interaction.



**RYS.3.** Ocena tworzenia biofilmu bakteryjnego jako przejaw działalności przeciwbakteryjnej modyfikowanych biomateriałów

**FIG.3.** Biofilm formation as a antibacterial effect of modified biomaterial.

## Conclusion

All above experiments showed, that growth of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *E. coli* strains is inhibited for at least 25 days with cefepime modified vascular grafts.

## Acknowledgements

This work was supported by Polish grant No2 P05B 067 30, financed by the Minister of Science and Higher Education.

## References