

OPTIMALIZACJA WARUNKÓW UNIERUCHAMIANIA SPARFLOKSACYNY NA BIOMATERIAŁACH WYKONANYCH Z POLITEREFTALANU ETYLENU

MAŁGORZATA MIAZGA-KARSKA¹, GRAŻYNA GINALSKA¹,
MONIKA OSIŃSKA-JAROSZUK²

¹ KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII, AKADEMIA MEDYCZNA,
20-093 LUBLIN, POLSKA

² ZAKŁAD BIOCHEMII, UNIWERSYTET M. CURIE-SKŁODOWSKIEJ,
20-031 LUBLIN, POLSKA
E-MAIL: MALINA.MIAZGA-KARSKA@WP.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 67-68, (2007), 21-22]

Wstęp

Istotnym zagrożeniem wynikającym z zastosowania w zabiegach chirurgii naczyniowej biomateriałów wykonanych z politereftalanu etylenu (PET) jest pojawianie się zakażeń. Spowodowane są one głównie kontaminacją podczas operacji oraz wysokim powinowactwem bakterii *Staphylococcus epidermidis* *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* do tego typu materiałów [1]. W celu zmniejszenia ryzyka takich infekcji stosuje się modyfikacje biomateriałów substancjami bakteriobójczymi.

Cel pracy

Głównym celem pracy była optymalizacja warunków wiązania sparfloksacyny do protez naczyniowych Tricogel® i Uni-Graft® wykonanych z PET i wykorzystywanych w chirurgii naczyń.

Metodyka

Wiązanie sparfloksacyny do protez Tricogel® (Tricomed, Polska) i Uni-Graft® (Braun, Niemcy) prowadzono z użyciem aldehydu glutarowego – czynnika tworzącego ramię przestrzenne pomiędzy protezą a lekiem. Imobilizację sparfloksacyny na wybranym nośniku prowadzono zgodnie z procedurą opisaną w zgłoszeniu patentowym [2]. Ilość leku związanego z nośnikiem oraz wydajność procesu imobilizacji określono metodami spektrofotometrycznymi w opracowaniu własnym. Mikrobiologiczną kontrolę aktywności modyfikowanych hybryd (proteza-lek) testowano w stosunku do szczepu *E. coli* ATCC 25992.

Badania własne

Na podstawie przeprowadzonych testów wstępnych stwierdzono możliwość wiązania sparfloksacyny za pomocą aldehydu glutarowego do testowanych biomateriałów. W następnej kolejności dokonano doboru odpowiedniego rodzaju i pH środowiska reakcji wiązania leku do obydwu testowanych materiałów (Tricogel® i Uni-Graft®) uzyskano stosując bufor Sørensen'a o pH 7,4.

Następnie sprawdzono zależność wydajności procesu imobilizacji od stężenia aktywatora – aldehydu glutarowego (GA). Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem stężenia tego aktywatora rośnie ilość związanego z testowaną protezą antybiotyku oraz wydajność procentowa imobilizacji (RYS.1).

OPTIMIZATION OF SPARFLOXACIN IMMOBILIZATION CONDITIONS ON POLYETHYLENE TEREPHTHALATE BIOMATERIALS

MAŁGORZATA MIAZGA-KARSKA¹, GRAŻYNA GINALSKA¹,
MONIKA OSIŃSKA-JAROSZUK²

¹ CHAIR AND DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY,
MEDICAL UNIVERSITY OF LUBLIN, 20-093 LUBLIN, POLAND

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

[Engineering of Biomaterials, 67-68, (2007), 21-22]

Introduction

The important problems are appearing while using in vascular surgery polyethylene terephthalate (PET) biomaterials postoperative bacterial infections. They are caused by contamination during operation and bacterial (*Staphylococcus epidermidis* *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*) adhesion with such type of biomaterials [1]. To avoid such infections, biomaterials are modified with antibacterial substances.

Research aim

The aim of our research was optimization of sparfloxacin immobilization conditions with vascular prosthesis Tricogel® i Uni-Graft® made by PET and used in vascular surgery.

Methods

The sparfloxacin immobilization process with prostheses Tricogel® (Tricomed, Poland) i Uni-Graft® (Braun, Germany) was performed using glutaraldehyde – the reagent created space-arm between prosthesis and drug. Immobilization process of sparfloxacin on selected biomaterials was performed according to procedure described in our Patent [2]. The amount of drug bound to biomaterial and immobilization yield was estimated according to spectrophotometric method suitable for our conditions. Microbiological tests of activity of hybrid (prosthesis – drug) were performed using *E. coli* ATCC 25992 strain.

Results

On the basis of our investigation it was found, that sparfloxacin binds by glutaraldehyde to all tested vascular biomaterials. Next, the type of buffer and its pH value for sparfloxacin binding to PET prostheses were optimized (TABLE 1). The best result of immobilization process for two examined biomaterials (Tricogel® and Uni-Graft®) were obtained for Sørensen buffer pH 7,4. Next, the correlations between immobilization yield and concentration of activator factor – glutaraldehyde (GA) was tested. It was observed, that the higher was used this concentration, the higher was the amount of bound antibiotic also higher was immobilization yield (FIG.1). Additionally in next experiment it was observed, that the higher was the amount of initial sparfloxacin concentration the higher was the amount of bound drug, but lower was immobilization yield. The similar effect of this type of dependence was obtained for sparfloxacin binding with Tricogel® and Uni-Graft® prostheses as well (TABLE 2).

Rodzaj 0,1 M buforu / Kind of 0,1 M buffer	pH	Ilość sparfloksacyny związanej przez protezę / Sparfloxacin bound with prosthesis [mg/g]		Wydajność immobilizacji / Immobilization yield (%)		Wzrost E. coli po 28 dniach / E. coli growth after 28 days CFU/ml	
		Tricogel®	UniGraft®	UniGraft®	Tricogel®	UniGraft®	Tricogel®
		fosfora- nowy	6,0	7,8	6,88	20,2	22,8
7,0	12,2		11,42	33,5	35,2	0	0
8,0	9,12		10	29,4	26,76	0	0
Só- rense- na	5,0	9,72	7,9	26	33,0	0	0
	6,0	11,73	10,28	34,4	38,5	0	0
	7,4	14,4	14,56	48,2	47,2	0	0
PBS	6,0	6,2	6,48	21,2	24,2	0	0
	7,0	10,4	10,96	34,44	31,8	0	0
	7,4	9,3	11,02	34,6	27,0	0	0

TABELA 1. Dobór optymalnego pH środowiska do immobilizacji sparfloksacyny na protezach PET.
TABLE 1. Optimization of type of medium pH for sparfloxacin immobilization on PET prostheses.

Dodatkowo, w kolejnym doświadczeniu zaobserwowano, że wraz ze wzrostem wyjściowego stężenia sparfloksacyny rośnie ilość unieruchomionego leku, maleje zaś wydajność immobilizacji. Analogiczny efekt powyższej zależności osiągnięto w przypadku łączenia leku zarówno do protez Tricogel® jak i Uni-Graft® (TAB.2).

Wnioski

Stwierdzono możliwość wiązania sparfloksacyny za pomocą aldehydu glutarowego do biomateriałów Tricogel® i Uni-Graft®. W celu zwiększenia ilości sparfloksacyny związanej z badaną protezą, dokonano optymalizacji warunków jej unieruchamiania. Ustalono korzystny wpływ na proces immobilizacji: środowiska obojętnego (pH do 7,4) oraz wykazano zależność wydajności procesu od malejących stężeń leku stosowanego do immobilizacji jak i zależność wydajności od wzrastających stężeń aktywatora – aldehydu glutarowego. Korzystne jest prowadzenie immobilizacji powyżej 2 godzin w temperaturze nie przekraczającej 37°C (dane nie zamieszczone w pracy). Stwierdzono że taki sposób unieruchamiania leku skutkuje wytworzeniem hybryd o przedłużonej do 28 dni ochronie przeciwbakteryjnej w stosunku do E.coli.

Podziękowania

Praca wykonana w ramach projektu badawczego Nr T09B05229, finansowanego przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Stężenie sparfloksacyny w r-ze przed immobilizacją (mg/ml) / Concentration of sparfloxacin before immobilization (mg/ml)	Ilość sparfloksacyny związanej przez protezę / Sparfloxacin bound with prosthesis (mg/g)		Wydajność immobilizacji / Immobilization yield (%)		Wzrost E. coli po 28 dniach / E. coli growth after 28 days CFU/ml	
	Tricogel®	UniGraft®	UniGraft®	Tricogel®	Tricogel®	UniGraft®
0,5	3,8	0,66	17,0	27,04	0	0
1	4,06	1,39	7,9	23,8	0	0
2	11,24	6,96	9,1	21,93	0	0
4 (wytrąca się osad) / sediment	-	-	-	-	-	-

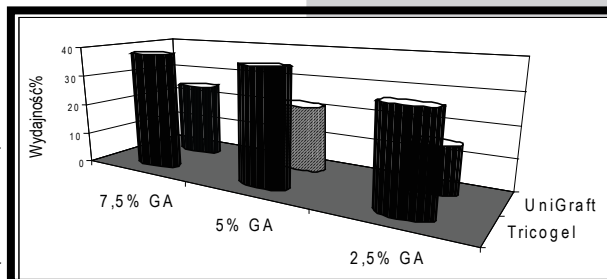
TABELA 2. Optymalizacja stężenia sparfloksacyny w procesie immobilizacji na protezach Tricogel® i Uni-Graft®
TABLE 2. Optimization of sparfloxacin concentration for immobilization process on Tricogel® and Uni-Graft® prostheses.

Conclusions

It was found that sparfloxacin binds to Tricogel® and Uni-Graft® biomaterials using glutaraldehyde. The immobilization conditions have been optimized to obtaining higher amount of sparfloxacin bound with examined prosthesis. Positive influence for immobilization process have: - neutral medium (pH to 7,4), - dependence of immobilization yield on glutaraldehyde's higher concentrations. Performing the immobilization process for more then 2 hours in temperature less then 37°C (data not shown) is positive.

Acknowledgements

This work was supported by Polish grant No T09B05229, financed by the Minister of Science and Higher Education.



RYS.1. Optymalizacja stężenia aldehydu glutarowego (GA) stosowanego w procesie immobilizacji sparfloksacyny na protezach Tricogel® i Uni-Graft®
FIG.1. Optimization of glutaraldehyde (GA) concentration for immobilization of sparfloxacin process on Tricogel® i Uni-Graft® prostheses.

Piśmiennictwo

- [1]. Ginalska G., Uryniak A., Łobarzewski J., Osińska M., (2004) Patent nr p-358934
- [2]. Hernández-Richter, H.M. Schardey, F.Wittmann, S. Mayr, M. Schmidt-Sody, S. Blasenbren, M.M. Heiss, C. Gabka, M.K. Angele, Rifampin and Triclosan but not silver is effective in preventing bacterial infection of vascular dacron graft material. Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. 26 (2003) 550-557.

References