

Impresión 3D de prótesis temporales: estudio de liberación e inhibición bacteriana de cloxacilina

Bernat Just Lucía ^{*1}, Tamarit Martínez Carlos¹, Alambiaga Caravaca Adrián¹, Bueno López Carlos¹, Rodilla Vicente¹, López Castellano Alicia¹

¹ Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad CEU Cardenal Herrera, C/Santiago Ramón y Cajal, s/n., Alfara del Patriarca, 46115, Valencia, España.

*Correspondencia: lucia.bernat@alumnos.uchceu.es

1. Introducción

Una de las principales complicaciones en artroplastias es la infección de la prótesis. Pese a su poca prevalencia (1-2 %), es difícil de tratar ya que las bacterias responsables, entre ellas *Staphylococcus aureus*, se acantonan en la prótesis formando un biofilm [1]. Existen estudios que justifican la incorporación de antibiótico en prótesis temporales para tratar la infección y generalmente se incorporan a cementos óseos [2].

Este trabajo forma parte de un proyecto de investigación cuyo objetivo es diseñar espaciadores (prótesis temporales) e imprimirlos en 3D para rellenarlos de antibióticos y usarlos en el tratamiento de infecciones de artroplastias. Con antibióticos incorporados al material impreso en 3D, sería posible crear una prótesis personalizada desde el punto de vista anatómico y terapéutico y se podría regular la liberación del fármaco modificando el tamaño de poro [3].

El objetivo de este trabajo fue estudiar la liberación e inhibición bacteriana de cloxacilina desde el interior de un cilindro hueco impreso en PLA (Polylactic Acid) como un modelo de prótesis.

2. Materiales y métodos

2.1. Formulación del gel y la solución

Se prepararon una solución y un gel de cloxacilina (Sigma-Aldrich, St Louis) a concentración 1 mg/

mL. El gel se elaboró con ácido hialurónico adquirido de Fagron Iberica SAU (Terrasa, Barcelona) al 1.5 % y la solución con tampón fosfatos PBS.

2.2. Diseño e Impresión 3D

El programa informático de modelado e impresión de la prótesis fue "Rhinoceros 3D" y se utilizó la impresora 3D "Flashforge Creator Pro". En estudios preliminares se valoraron varios materiales y diseños de espaciadores seleccionando un cilindro en PLA [4]. El cilindro (BQ®, Huesca, España) para el estudio de la liberación tenía un volumen de 30 mm³ y de 12 mm³ para el estudio realizado de inhibición de crecimiento bacteriano.

2.3. Estudio de liberación

Para analizar la liberación de la cloxacilina se utilizó el equipo disolutest Erweka DT-80 Series con 6 compartimentos de 500 mL de capacidad que se rellenaron con 200 mL de PBS manteniendo la temperatura a 37°C. Los cilindros se rellenaron con una solución de 1 mg/mL de cloxacilina y se tomaron muestras (0.5 mL) a intervalos de tiempo de 0.5 a 192 horas con reposición del mismo volumen de PBS para mantener constante el volumen inicial. Las muestras fueron analizadas con HPLC.

2.4. Inhibición de crecimiento bacteriano

El estudio de inhibición de crecimiento bacteriano en placas de agar Mueller Hinton, se realizó mediante la siembra masiva de *S. aureus*

(0.5 McFarland) colocando los cilindros sobre el agar horizontalmente e incubando a 37°C durante 24 horas.

Asimismo, se realizó el estudio de inhibición de crecimiento bacteriano mediante la incubación de cuatro tubos de ensayo con una solución de *S. aureus* 1/10 de 0.5 McFarland. Uno de ellos fue el control negativo, otro el control positivo y en los dos restantes, se introdujeron los cilindros, uno de los cuales contenía 250 µL de gel de cloxacilina (1 mg/mL). Paralelamente se preparó otro experimento con la solución de cloxacilina a la misma concentración (1 mg/mL) en el cilindro. Tras 24 horas de incubación, se midieron las absorbancias a 600 nm.

3. Resultados y Discusión

3.1. Estudio de liberación

Los resultados del estudio de la liberación de cloxacilina desde el cilindro en solución se muestran en la Fig 1. Se observa una liberación de fármaco de un 21 % en las primeras 24 horas que se incrementa gradualmente hasta un 74 %. Los resultados se han comparado con los obtenidos con el gel y no hay diferencias significativas.

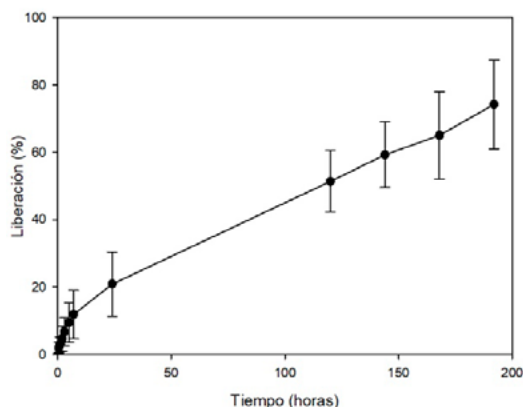


Figura 1: Porcentajes de liberación de solución de cloxacilina incorporada en cilindros de PLA impresos en 3D.

3.2. Inhibición de crecimiento bacteriano

La figura 2 muestra una placa de cultivo en la que se observa el halo de inhibición alrededor del cilindro. Sin embargo, la variabilidad de los resultados fue muy alta, que podría deberse a la diferente alineación de los microporos en los cilindros.

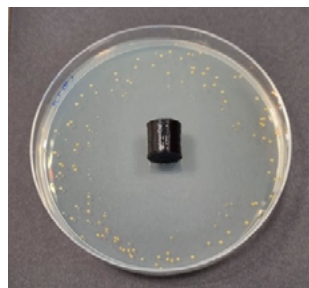


Figura 2: Placa de agar Mueller Hinton de *S.aureus* 0.5 McFarland con cilindro relleno de gel de cloxacilina tras 24 horas.

La figura 3 muestra la inhibición del crecimiento de cloxacilina en solución. El tubo correspondiente al cilindro con antibiótico incorporado (D) no presentó turbidez y se asemeja al control positivo (A). No obstante, el tubo sin presencia de antibiótico (C) presentó turbidez similar al control negativo (B). Los resultados de la cloxacilina en gel fueron semejantes.

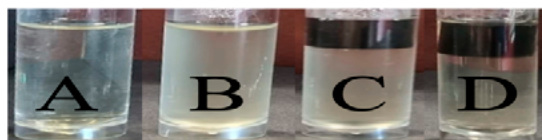


Figura 3: Tubos de ensayo de dilución 1/10 de 0.5 McFarland tras 24 horas de incubación. A: control positivo en solución; B: control negativo; C: cilindro sin antibiótico; D: cilindro con antibiótico en solución.

4. Conclusiones

- Se produce la liberación de la cloxacilina desde el interior de un cilindro de PLA impreso en 3D de manera progresiva.
- La cloxacilina, tanto en gel como en solución, difunde desde el interior del cilindro e inhibe el crecimiento bacteriano.

Agradecimientos

Financiación de la Universidad CEU Cardenal Herrera CEU 2019-2020, [FUSP-PPC-19-8166C64B].

Referencias bibliográficas

1. Davidson DJ, Spratt D, Liddle AD. Implant materials and prosthetic joint infection: the battle with the biofilm. EFORT Open Rev. 2019 Nov 5;4(11):633-9.
2. Rodriguez-Merchan EC. Antibiotic-loaded bone cement in primary total knee arthroplasty: does it reduce the risk of periprosthetic joint infection? Hosp Pract (1995). 2020 Oct;48(4):188-95.
3. Amekyeh H, Tarlochan F, Billa N. Practicality of 3D Printed Personalized Medicines in Therapeutics. Front Pharmacol. 2021 Apr 12; 12:646836.
4. Bueno C., Tamarit C., Alambiaga C, et al. 3D Printing of Temporary Prostheses for Controlled-Release of drugs: Design Physical characterization and Preliminary Studies. Pharmaceuticals. 2021. Enviado en proceso de revisión.

Este trabajo debe ser citado como:

Bernat Just L, Tamarit Martínez C, Alambiaga Caravaca A, Bueno López C, Rodilla V, López Castellano A. Impresión 3D de prótesis temporales: estudio de liberación e inhibición bacteriana de cloxacilina. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):118-20.