

University of Groningen

Polymer brush-coatings to prevent biomaterials associated infection

Nejadnik, Mohammad Reza

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2009

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Nejadnik, M. R. (2009). *Polymer brush-coatings to prevent biomaterials associated infection: initial bacterial adhesion and biofilm formation*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Samenvatting

Samenvatting

Biomateriaal geassocieerde infecties vormen één van de belangrijkste oorzaken voor het falen van implantaten, en dat in een tijdperk waarin het aantal patiënten dat een biomateriaal implantaat nodig heeft sterk toeneemt. De behandeling van een biomateriaal infectie bestaat meestal uit langdurig gebruik van antibiotica, echter vaak zonder succes, zodat uiteindelijk het implantaat weer verwijderd moet worden. Implantaten die geïmplanteerd zijn bij een hersteloperatie hebben een nog groter risico van contaminatie, vanwege de reeds aanwezige bacteriën in het aangrenzende weefsel nabij het implantaat. Biomateriaal geassocieerde infecties beginnen met het hechten van bacteriën aan het implantaat oppervlak, die daarna groeien en een biofilm vormen. Bacteriële hechting aan oppervlakken wordt beïnvloed door de fysisch-chemische eigenschappen van het oppervlak en er zijn langs diverse wegen pogingen gedaan om een niet-adhesieve coating te ontwikkelen, zoals polymere borstel-coatings, om te voorkomen dat bacteriën zich kunnen hechten en dus een infectie veroorzaken. Borstel-coatings zijn momenteel de meest veelbelovende niet-adhesieve coatings. In veel gevallen verminderen ze de aanhechting van bacteriën met meer dan 90%. Ondanks zulke indrukwekkende resultaten kan nog niet eenduidig worden gesteld dat polymere borstel-coatings in staat zijn om biomateriaal implantaat infecties tegen te gaan.

Hoofdstuk 1 behandelt de belangrijkste knelpunten die eerst opgelost moeten worden voordat borstel-coatings in de praktijk gebruikt kunnen worden tegen biomateriaal geassocieerde infecties. Het belangrijkste punt is dat het gedrag van het kleine aantal bacteriën dat wel op een borstel-coating hecht niet bekend is. Daarnaast is er niets bekend over de werking van polymere borstel-coatings *in vivo*. Daarom is het hoofddoel van dit proefschrift te onderzoeken wat het effect is van het kleine aantal bacteriën dat op een polymere borstel-coating hecht en te evalueren hoe een polymere borstel-coating op een biomateriaal oppervlak zich *in vivo* gedraagt. Tri-blok

copolymeren van polyethyleen oxide (PEO) en polypropyleen oxide (PPO), d.w.z. $\text{PEO}_n\text{-PPO}_m\text{-PEO}_n$, beter bekend als Pluronic, kunnen aan oppervlakken adsorberen in een pannenkoek- of borstel-conformatie. De borstel-conformatie is voordelig in een aantal toepassingen: het functioneert als een niet hechtend oppervlak, ten aanzien van deeltjes, zoals eiwitten en micro-organismen. De conformatie van een geadsorbeerde Pluronic laag is afhankelijk van de hydrofobiciteit van het substraat oppervlak, maar de hydrofobiciteits grens waarboven een borstel-conformatie wordt aangenomen is onbekend. In **hoofdstuk 2** werd de configuratie van Pluronic F-127 ($\text{PEO}_{99}\text{-PPO}_{65}\text{-PEO}_{99}$) geadsorbeerd aan oppervlakken met verschillende hydrofobiciteiten onderzocht, gebruikmakend van een kwartskristal-microbalans met dissipatie. Uit metingen van de viscositeit, elasticiteit en dikte van de geadsorbeerde laag bleek dat een borstel-conformatie ontstaat op oppervlakken met een waterrandhoek groter dan 80° .

Wij hebben vervolgens Pluronic F-127 gebruikt om een PEO borstel-coating op medisch siliconenrubber te maken (watercontacthoek 112°). Deze coating was zeer gemakkelijk te maken met een dip-coating proces en is gebruikt in onze experimenten voor het bestuderen van de adhesie van drie bacteriestammen: *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Staphylococcus epidermidis* HBH 276 en *Pseudomonas aeruginosa* #3. Om een maat te hebben voor de interactiekrachten tussen hechtende bacteriën en het onderliggende oppervlak hebben wij een procedure ontwikkeld welke de afschuifkrachten bepaalt op de grens tussen bacteriële aanhechting en onthechting onder stroming. Dit protocol kan worden toegepast om interactiekrachten in zwak hechtende systemen, zoals polymere borstel-coatings, te bepalen, waar dit niet mogelijk is met conventionele methoden zoals beschreven in **hoofdstuk 3**. De interactiekracht van stafylokokken bleek sterk afgenomen in aanwezigheid van een PEO-coating, terwijl de interactiekracht van *P. aeruginosa* #3 nauwelijks beïnvloed werd. Polymere borstel-coatings zijn

tot nu toe alleen maar onderzocht met betrekking tot de vermindering van initiële aanhechting, maar nooit met betrekking tot de kinetiek van de groei van het kleine aantal gehechte bacteriën. In **hoofdstuk 4**, hebben we van drie bacteriestammen de hechting en groei gedurende 20 uren op siliconenrubber met en zonder een polymere borstel-coating, in een parallelle plaat-stroomkamer vergeleken. Borstel-coatings reduceerden de aanhechting van stafylokokken tot minder dan $5 \times 10^5 \text{ cm}^{-2}$ na 30 minuten, wat een 10-voudige reductie was ten opzichte van siliconenrubber zonder borstel. Biofilms groeiden op siliconenrubber zowel met als zonder borstel-coating, terwijl de levensvatbaarheid van biofilms op borstels hoger was dan op siliconenrubber. Echter, biofilms op borstel-coatings groeiden langzamer en onthechtten bijna volledig bij hogere stromingsterkten. Daarnaast namen wij waar dat de structuur van de biofilm was veranderd, t.w. van een continue laag op siliconenrubber naar verspreide microkoloniën op een polymeer borstel-coating. Borstel-coatings bleven hun werking behouden nadat een *S. epidermidis* biofilm was verwijderd. Aanhechting, groei en verwijdering van *P. aeruginosa* waren niet significant anders op siliconenrubber met en zonder borstel, al was ook hier de levensvatbaarheid van biofilms groter op borstel-coatings.

De vertraging in ontwikkeling van biofilms op borstels en de vorming van verspreide koloniën welke, in vergelijking met een volledig bedekkende biofilm beter doordringbaar zijn voor voedingsstoffen, deed ons speculeren dat biofilms op borstel-coatings ook beter toegankelijk blijven voor antibiotica. In **hoofdstuk 5** onderzochten we de groei van *S. aureus* biofilms, een veel voorkomende veroorzaker van biomateriaal geassocieerde infecties, op siliconenrubber met en zonder borstel-coating in de aan- en afwezigheid van drie concentraties gentamicine (0,5, 5 en $50 \mu\text{g ml}^{-1}$). Biofilms groeiden op het siliconenrubber en behielden hun levensvatbaarheid in aanwezigheid van gentamicine, ongeacht de concentratie. Op polymere borstel-coatings, daarentegen, onderdrukte de aanwezigheid van gentamicine in het groeimedium de vorming van een biofilm en verminderde het aantal levensvatbare

bacteriën. Biofilms groeiden nagenoeg niet meer op borstel-coatings in de aanwezigheid van $50 \mu\text{g ml}^{-1}$ gentamicine. Wij concludeerden dat biofilms op een polymere borstel-coating inderdaad makkelijker bereikbaar zijn voor antibiotica, hetgeen biofilm vorming voorkomt.

De goede resultaten op borstel-coatings wat betreft onderdrukking van de groei van een biofilm *in vitro*, wekten grote verwachtingen voor wat betreft de *in vivo* werkzaamheid, maar dit moest natuurlijk nog worden onderzocht. Het mogelijke *in vivo* voordeel van polymeer borstel-coatings *versus* kaal siliconenrubber voor hersteloperaties werd onderzocht in **hoofdstuk 6**. Biomateriaal geassocieerde infecties werden geïntroduceerd bij 26 muizen door middel van onderhuidse implantatie van siliconenrubberen schijfjes met een biofilm van *Staphylococcus aureus* Xen29. Gedurende drie dagen, werd de helft van de muizen behandeld met rifampicin/vancomycin. Na 5 dagen werden de geïnfecteerde siliconenrubberen schijfjes verwijderd bij alle muizen, en vervangen door een siliconenrubberen schijfje met of zonder polymeer borstel. Deze revisie-schijfjes werden verwijderd na 5 dagen en het aantal cfu's op siliconenrubber met en zonder borstel en het omliggende weefsel bepaald. Geen van de borstel-gecoate schijfjes bleek gekoloniseerd door stafylokokken na behandeling met antibiotica, terwijl 83% van de siliconenrubber schijfjes opnieuw geïnfecteerd was. Polymere borstel-coatings toonden ook een afname van kolonisatie in afwezigheid van antibiotica in vergelijking met siliconenrubberen schijfjes. Het omringende weefsel was in alle gevallen bacteriepositief. Concluderend stellen we dat polymeer borstel-coatings minder gevoelig zijn voor herkolonisatie dan siliconenrubberen in een revisie setting in een onderhuids model. In **hoofdstuk 7**, zijn de verschillende onderdelen van onze bevindingen in hoofdstuk 2 tot en met 6 besproken. Tenslotte zijn de hoofdconclusies van het project nogmaals weergegeven, samen met een paar suggesties voor vervolg onderzoek.

I gratefully thank Sara Panahkhahi for her help in translating the summary to Dutch.

