

University of Groningen

Photothermal nanoparticles for the control of infectious biofilms

Gao, Ruifang

DOI:
[10.33612/diss.194693235](https://doi.org/10.33612/diss.194693235)

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:
2021

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

Citation for published version (APA):
Gao, R. (2021). *Photothermal nanoparticles for the control of infectious biofilms*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.194693235>

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

Antibiotica resistente bacteriële infecties worden een steeds ernstiger probleem in de gezondheidszorg en dreigen in 2050 de belangrijkste doodsoorzaak te zijn. In **Hoofdstuk 1** wordt de huidige stand van zaken en de meningen van deskundigen op het gebied van infectiebestrijding samengevat. De ontwikkeling van nieuwe antibiotica met een steeds 'betere' bacteriedoding werd lange tijd beschouwd als de juiste reactie op de groeiende dreiging van antibiotica resistente infecties. De tijd tussen de introductie van een nieuw antibioticum en het optreden van resistentie bij bacteriën wordt echter steeds korter. Dit suggereert dat alternatieve, niet op antibiotica gebaseerde routes moeten worden genomen om bacteriële infecties uit te roeien. Nanotechnologie biedt veel nieuwe strategieën voor infectiebeheersing die kunnen helpen bij het voorkomen en behandelen van infecties door antimicrobiële resistente bacteriën. In het bijzonder kunnen foto-thermische nanodeeltjes worden gebruikt om lokaal warmte te genereren door bestraling met nabij-infrarood (NIR). Daarom is het doel van dit proefschrift om de voor- en nadelen van foto-thermische nanodeeltjes voor de bestrijding van bacteriële infecties te onderzoeken en te evalueren.

In **Hoofdstuk 2** hebben we polydopamine, foto-thermische nanodeeltjes (PDA-NPs) gesynthetiseerd en onderzocht of ze een afdodend effect hebben op bacteriële, infectieuze biofilms. De meeste ESKAPE-panel pathogenen in suspensie waaraan foto-thermische nanodeeltjes waren toegevoegd lieten een drie tot vier log reductie zien na NIR bestraling, behalve voor enterokokken voor welke maar twee log reductie werd gemeten. Behandeling van een *Staphylococcus aureus*-biofilm met foto-thermische nanodeeltjes gevolgd door NIR-bestraling doodde de bacteriën in de biofilm niet. Dit geeft aan dat de groeiwijze van de biofilm een barrière vormt voor de penetratie van foto-thermische nanodeeltjes, waardoor warmte wordt afgevoerd naar de omgeving van de biofilm in plaats van binnen in de biofilm. In de aanwezigheid van foto-thermische nanodeeltjes tijdens de groei van een stafylokokken biofilm werden de foto-thermische nanodeeltjes opgenomen in een biofilm en na NIR-bestraling werden de bacteriën gedood omdat de PDA-NPs de warmte in de biofilm genereerden. Foto-thermische PDA-NPs kunnen gebruikt worden voor profylactische infectiebeheersing, maar de slechtere doding van enterokokken is een waarschuwing voor mogelijke ontwikkeling van thermoresistentie bij infectieuze pathogenen.

Klinische toepassing van foto-thermische nanodeeltjes omvatte aanvankelijk alleen tumorbehandeling. Toepassing op veel kleinere bacteriële infecties ter grootte van enkele micrometers geeft risico op schade aan omliggend gezond weefsel door warmteafgifte naar het weefsel rondom een infectie. Daarom hebben we in **Hoofdstuk 3** mogelijke thermische weefsel schade onderzocht door foto-thermische coatings van PDA-NPs op titanium oppervlakken aan te brengen en in verschillende co-cultuur modellen te evalueren. We hebben een stafylokokken contaminatie aangebracht op een PDA-NPs gecoat titanium oppervlak, vergelijkbaar met de bacteriële contaminatie die kan plaatsvinden tijdens een operatie. Deze stafylokokken contaminatie verminderde de oppervlakte bedekking door fibroblasten. Echter, 5 min NIR-bestraling (of langer) van het PDA-NPs gecoat titanium oppervlak voordat fibroblasten zich konden hechten, gaf voldoende afdoding van bacteriën om fibroblasten ongestoord te laten groeien. Negatieve effecten van vroege postoperatieve stafylokokken contaminatie op een bestaande fibroblasten laag die een gecoat oppervlak bedekt, werden voorkomen door 3 min NIR-

bestraling. Langere bestralingstijden veroorzaakten bijkomende fibroblast schade. Late postoperatieve stafylokokken contaminatie voor een fibroblasten laag die beschermd werd door een keratinocyten laag, vereiste 10 min NIR-bestraling om de stafylokokken contaminatie te behandelen. Samenvattend, foto-thermische behandeling van een biomateriaal geassocieerde infectie vereist een nauwkeurige timing van NIR-bestraling om bijkomende schade aan gezond weefsel rond een infectie te voorkomen.

Omdat de foto-thermische nanodeeltjes bacteriën in een bestaande biofilm niet doodden (hoofdstuk 2) en vanwege het risico op schade aan omliggend gezond weefsel door warmteafgifte naar het weefsel rondom een infectie (hoofdstuk 3), zijn de nanodeeltjes in hoofdstuk 4 “self-targeting” gemaakt. In **Hoofdstuk 4** zijn de foto-thermische PDA-NPs ingekapseld in pH-responsieve gemengde polymere micellen, samengesteld uit “stealth” polyethyleenglycol (PEG) en pH-gevoelig poly(β -amino-ester) (PAE). Om inkapseling in micellen mogelijk te maken, werden PDA-NPs hydrofoob gemaakt door koppeling van indocyanine groen (ICG). Koppeling van ICG verbeterde ook de foto-thermische conversie-efficiëntie van PDA-NPs van 33% naar 47%. *In vitro* werd aangetoond dat de PEG-PAE ingekapselde PDA-ICG-NPs niet toxisch zijn voor weefsel en er trad ook geen hemolyse van bloed op. De PEG-PAE ingekapselde PDA-ICG-NPs penetreerden goed in een *S. aureus* biofilm en lieten een goede interactie met de biofilm zien. PEG-micellen zonder een pH-responsieve groep penetreerden niet in de biofilm en hadden geen interactie met de biofilm. PDA-ICG-NPs ingekapseld in PEG-PAE-micellen vonden hun weg door de bloedcirculatie naar een subcutane infectie na injectie in de staartader van muizen in tegenstelling tot PEG-micellen. Nadat de PDA-ICG-NPs ingekapseld in PEG-PAE micellen bij de infectie waren aangekomen werden de bacteriën uitgerooid door te bestralen met NIR. Bovendien was ook het aantal stafylokokken in het omringende weefsel verminderd, wat een snellere wondgenezing mogelijk maakte. Het gecombineerde effect van nanodeeltjes specifiek gericht op bacteriën in een biofilm en gelokaliseerde NIR-bestraling voorkwam schade aan het gezonde weefsel. Op basis van deze resultaten zijn ingekapselde foto-thermische nanodeeltjes in pH-responsieve micellen een belangrijke stap dichterbij klinische toepassing gebracht.

In **Hoofdstuk 5** worden de voor- en nadelen van foto-thermische nanodeeltjes als een niet op antibiotica gebaseerde infectie bestrijdingsstrategie uitgebreid besproken in het licht van de bevindingen in dit proefschrift. Allereerst wordt geconcludeerd dat pH-responsieve micellen en andere middelen om penetratie en accumulatie van foto-thermische nanodeeltjes in bestaande infectieuze biofilms te vergemakkelijken, veelbelovend zijn voor klinische toepassing, mits correct gedoseerd en NIR bestraald met het juiste vermogen en voor de juiste duur om schade aan gezond weefsels te voorkomen. Verder inzicht in de mogelijke ontwikkeling van thermoresistente menselijke pathogenen is echter vereist voordat klinische vertaling van foto-thermische infectiecontrole bij mensen gerechtvaardigd is. Klinische vertaling moet ook worden voorafgegaan door dierproeven, anders dan in modellen voor geïnfecteerde wondgenezing bij muizen, om te bepalen of diepere infecties baat kunnen hebben bij foto-thermische uitroeiing van bacteriën in een biofilm.