

## University of Groningen

### Bacterial transmission

Gusnaniar

**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:*

2017

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

*Citation for published version (APA):*

Gusnaniar (2017). *Bacterial transmission*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.

#### 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





Bacteriële adhesie is een omvangrijk probleem in veel biomedische, huishoudelijke en industriële omgevingen en is een eerste stap op weg naar biofilmvorming waarbij gehechte bacteriën uitgroeien tot conglomeraties van bacteriën die zichzelf hebben ingebed in een matrix van extracellulaire polymeerachtige substanties (EPS). In al deze verschillende omgevingen is bacteriële transmissie een belangrijke route voor bacteriële contaminatie van oppervlakken. Transmissie bestaat uit achtereenvolgens adhesie op het ontvangende oppervlak gevolgd door loslating van het donerende oppervlak. Omdat bacteriën het liefst groeien in de vorm van een biofilm is er met name meer duidelijkheid nodig over het mechanisme van bacteriële transmissie vanuit een biofilm.

In Hoofdstuk 1, geven we daarom eerst een beschrijving van gebruikelijke mechanismen van bacteriële transmissie en een overzicht van argumenten waarom bacteriële transmissie belangrijk is. Vervolgens is het doel van dit proefschrift geformuleerd als het verkrijgen van een beter begrip van bacteriële transmissie van een biofilm aan een donoroppervlak naar een ontvangend oppervlak en de rol die omgevings- en intrinsieke factoren daarin spelen. De belangrijkste omgevingsfactoren daarbij zijn de oppervlakte(nano-)structuur van de ontvangende oppervlakken en de druk en schuifspanning die tijdens de transmissie worden opgelegd. De belangrijkste intrinsieke factoren waren de bacteriesoorten en in het bijzonder de visco-elastische eigenschappen van de EPS matrix op biofilm transmissie.

In Hoofdstuk 2 is de biofilm transmissie onderzocht tussen twee roestvrijstalen vlakke platen. Biofilms van wel- en niet-EPS-producerende *Staphylococcus epidermidis* stammen zijn gebruikt en verschillen tussen transmissie bij hoge en een lage uitgeoefende druk werden bestudeerd. Biofilm dikte werd zowel voor als na de transmissie gemeten met optische

coherentie tomografie op zowel het donoroppervlak als het ontvangende oppervlak. Daarna werden de biofilms gedispergeerd en het aantal bacteriën werd geteld met behulp van een Bürker-Türk telkamer. Biofilms voor en na transmissie werden ook geanalyseerd met zowel enkel- als twee-foton confocale laserscanningmicroscopie. Na transmissie bleken donoroppervlakken nog volledig bedekt met een bacteriële biofilm, maar was deze wel dunner geworden. Dat wijst erop dat transmissie plaats vindt door een cohesieve breuk in de biofilm. De biofilm dikte op het donoroppervlak voor transmissie was groter dan de som van de biofilm diktes op de donor en het ontvangende oppervlak na transmissie. Omdat dit verschil niet werd waargenomen voor het aantal bacteriën suggereert dit dat de biofilms na transmissie compacter zijn, met name voor de niet-EPS producerende stammen. Door beide waarden, biofilmdikte en aantal bacteriën in de biofilm per oppervlakte eenheid, te combineren konden we uitrekenen dat na transmissie onder hoge druk de bacteriedichtheid van deze niet-EPS producerende stafylokokken per volume eenheid toenam van  $0.20 \mu\text{m}^{-3}$  naar  $0.52 \mu\text{m}^{-3}$ . De wel-EPS producerende stam ondervond geen dichtheidsverhoging na transmissie en de dichtheid bleef rond  $0.17 \mu\text{m}^{-3}$ . Op basis van deze waarnemingen suggereren we dat drie transmissiefases zijn te onderscheiden: 1) compressie van de biofilm wat tot een compactere biofilm leidt, 2) scheiding van de twee oppervlakken en 3) een relaxatie van de biofilm waarin de visco-elasticiteit van de al of niet aanwezige EPS de biofilm in staat stelt de oorspronkelijke dichtheid van voor de transmissie al of niet te herstellen.

Bij bacteriële transmissie kunnen twee belangrijke vormen van extern opgelegde druk worden onderscheiden: compressieve druk en druk bij afschuiving. Naast transmissie onder compressieve druk, zoals bestudeerd in hoofdstuk 2, is transmissie onder afschuifkrachten minstens

zo belangrijk, zo niet belangrijker. Transmissie onder afschuifkrachten komt bijvoorbeeld geregeld voor bij het snijden van vlees, bij intraveneuze katheter inbreng door de huid of bij urinewegkatheters, waarbij bacteriën vanuit de urethra de katheter kunnen koloniseren. Daarom is in Hoofdstuk 3 een nieuw model geïntroduceerd om druk bij afschuiving te bestuderen. Een roestvrijstalen pijpje wordt over een slangetje van siliconen rubber getrokken en onder de zo ontstane schuifspanning, transmissie van wel- en niet-EPS-producerende *Staphylococcus epidermidis* stammen kan plaats vinden. De transmissie van een volledige biofilm in de donor pijp naar het ontvangende oppervlak van het slangetje gebeurde niet, zodat hier opnieuw sprake was van een cohesieve breuk in de biofilm en niet van een adhesieve breuk aan het donor-biofilm grensvlak. Transmissie van de biofilm vond daarentegen meer geleidelijk plaats en dan vooral op de eerste 50 cm van het slangetje. Voor de niet-EPS producerende stam was de transmissie bij een hoge snelheid en dus grote afschuifspanning niet lineair met de positie op het slangetje, waarschijnlijk als gevolg van een snelle afname van de dikte van de stroeve biofilm in de pijp. Dit in tegenstelling tot de wel-EPS producerende stam, waarbij de afschuifkracht niet van invloed was op de transmissie. Juist door het gladde karakter van de EPS-rijke biofilm en het vermogen van spanningsrelaxatie kon een voortdurend contact met het slangetje gewaarborgd blijven. Het niet-lineaire gedrag van bacteriële transmissie onder hoge schuifspanningen is een nieuw fenomeen en mogelijk van belang voor snelle snij- en verpakkingsmachines in de voedselindustrie.

Er is een toenemende belangstelling voor klinisch gebruik van zogenaamde bewerkte oppervlakken in ziekenhuizen en verpleeginstellingen waar het risico van infectie en infectieoverdracht groot is. Daarom hebben we in Hoofdstuk 4 onderzoek gedaan naar de

bacteriële transmissie van biofilms van zowel wel- als niet-EPS producerende stafylokokken op gladde silicium donoroppervlakken naar ontvangende silicium oppervlakken met een structuur van kleine nanopilaartjes. Na transmissie van een biofilm dat het silicium donoroppervlak volledig bedekte werd er voor zowel de donor als de ontvangende oppervlakken met en zonder nano-structuur, gedeeltelijke bedekking met biofilm gevonden. In dit geval vond er dus zowel een cohesieve breuk in de biofilm als een adhesieve breuk op het grensvlak van de biofilm met het donoroppervlak plaats. Het aantal bacteriën per volume eenheid was voorafgaand aan transmissie twee keer lager in de wel-EPS producerende stam dan in de niet-EPS producerende stam. Een verschil dat na transmissie groter werd in de achterblijvende biofilm op het donoroppervlak door een verhoogde bacteriële dichtheid van de niet-EPS producerende stam. Dit suggereert dat biofilms van de niet-EPS producerende stam nog lang gecomprimeerd blijven na transmissie, terwijl wel-EPS producerende stammen door de druk gestimuleerd worden om meer EPS te produceren, wat hun vervolgens, als gevolg van de door EPS aan de biofilm geleverde visco-elasticiteit de capaciteit geeft terug te keren naar hun oorspronkelijke dichtheid.

Bacteriële adhesie is vaak beschreven in termen van in de thermodynamica gehanteerde begrippen of aan de hand van de analyse van de adhesiekracht. Bacteriële transmissie daarentegen is voor wat betreft het mechanisme duidelijk anders, omdat het zowel het hechten aan een ontvangend oppervlak betreft als het loslaten van een donoroppervlak. In de algemene discussie van dit proefschrift (Hoofdstuk 5) wordt de recente bacteriële adhesie literatuur op basis van oppervlakte thermodynamica afgezet tegen literatuur waarin bacteriële adhesie wordt beschreven aan de hand van adhesiekracht beschouwingen zoals met

behulp atomaire krachtmicroscopie en de hiervan afgeleide Weibull-analyse van transmissie-waarschijnlijkheid. Hierbij moet er duidelijk onderscheid gemaakt worden tussen (gedeeltelijke) enkel-laags biofilms en biofilms met een veelvoud van op elkaar groeiende bacterielagen op een donoroppervlak. Het vergelijken van adhesie en transmissie leidt niet alleen tot een beter begrip van bacteriële transmissie. Daar waar onderzoekers vaak routinematig grijpen naar adhesiemodellen kan het hen ook stimuleren beter na te denken over het gebruik van transmissie- of adhesiemodellen al naar gelang de specifieke toepassing daar aanleiding voor geeft



