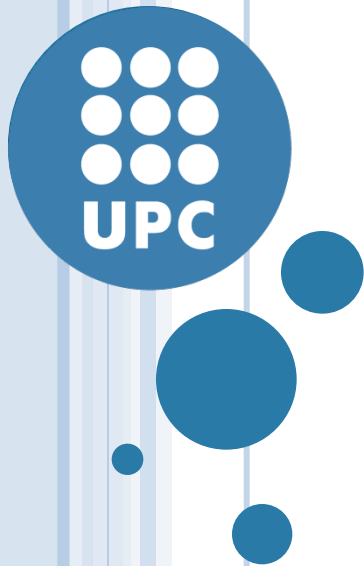
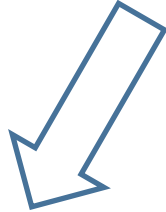


Nano-modificación para la obtención de textiles y dispositivos médicos con actividad antimicrobiana

Tzanko Tzanov



Grupo de Biotecnología Molecular e Industrial – GBMI



Biotecnología Molecular

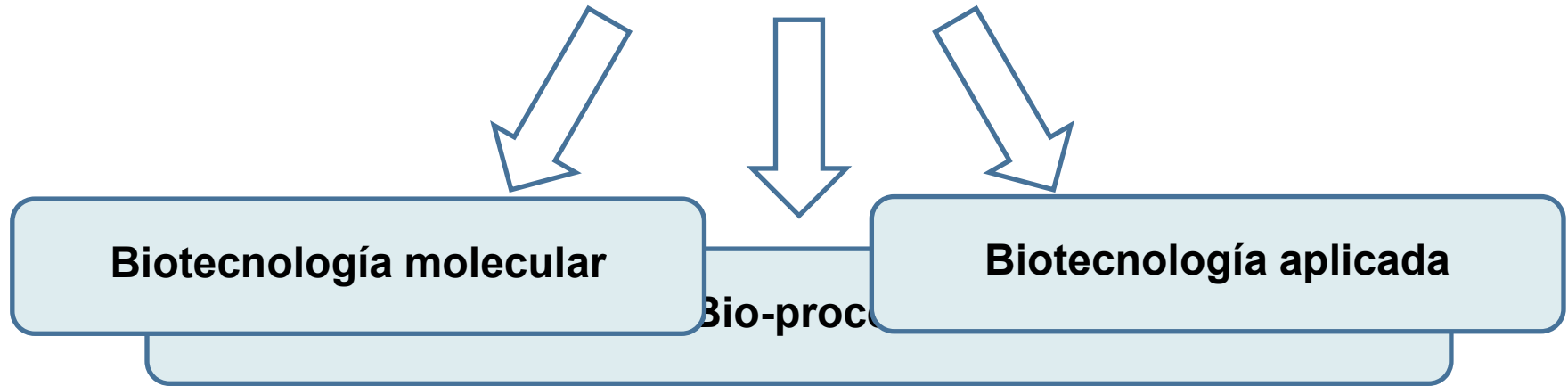


Biotecnología aplicada

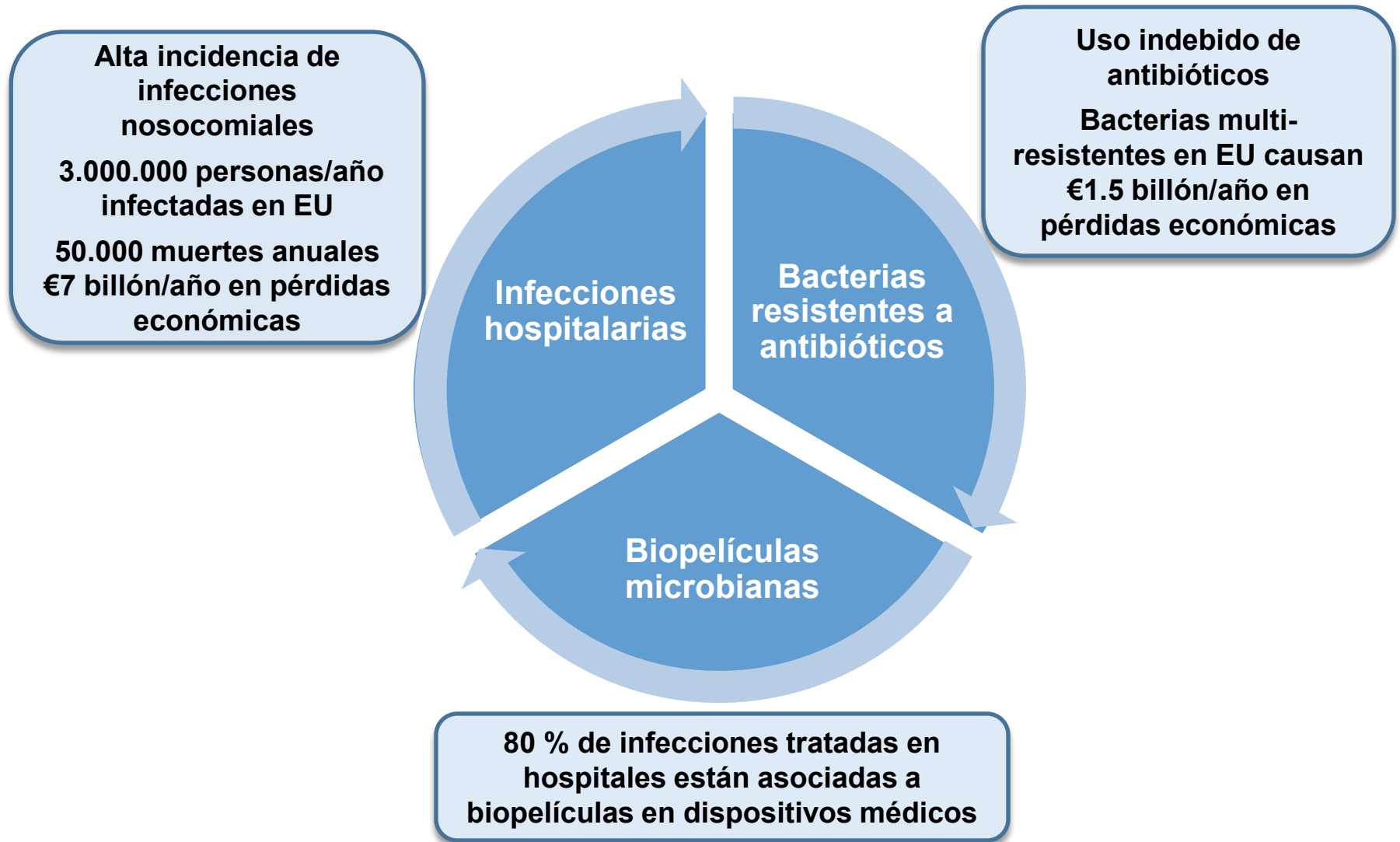


Proteínas de membrana - Identificación de dianas farmacológicas y desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas

Grupo de Biotecnología Molecular e Industrial – GBMI



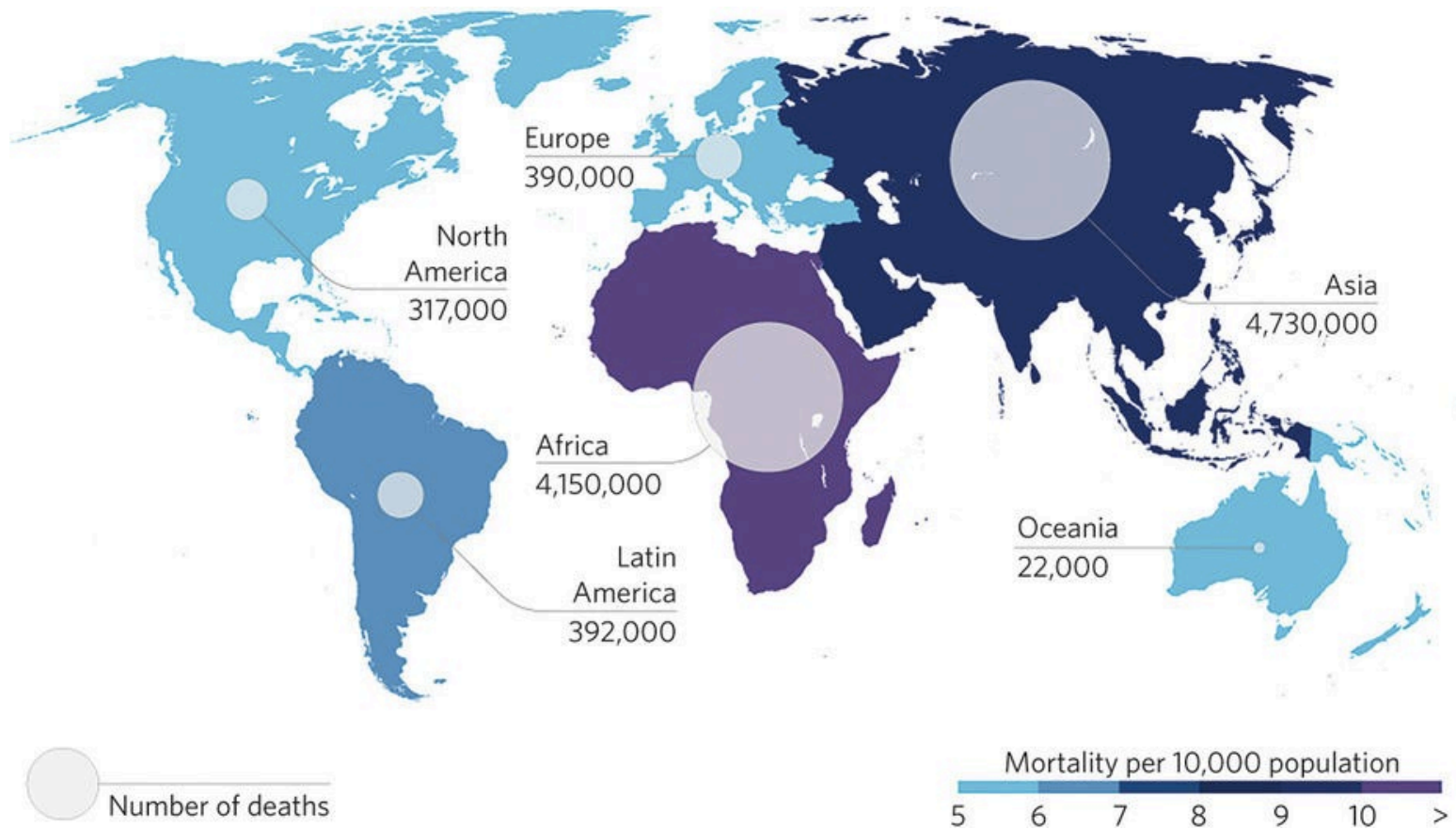
VISIÓN – EL HOSPITAL, UN LUGAR MÁS SEGURO



La amenaza de la resistencia antimicrobiana global



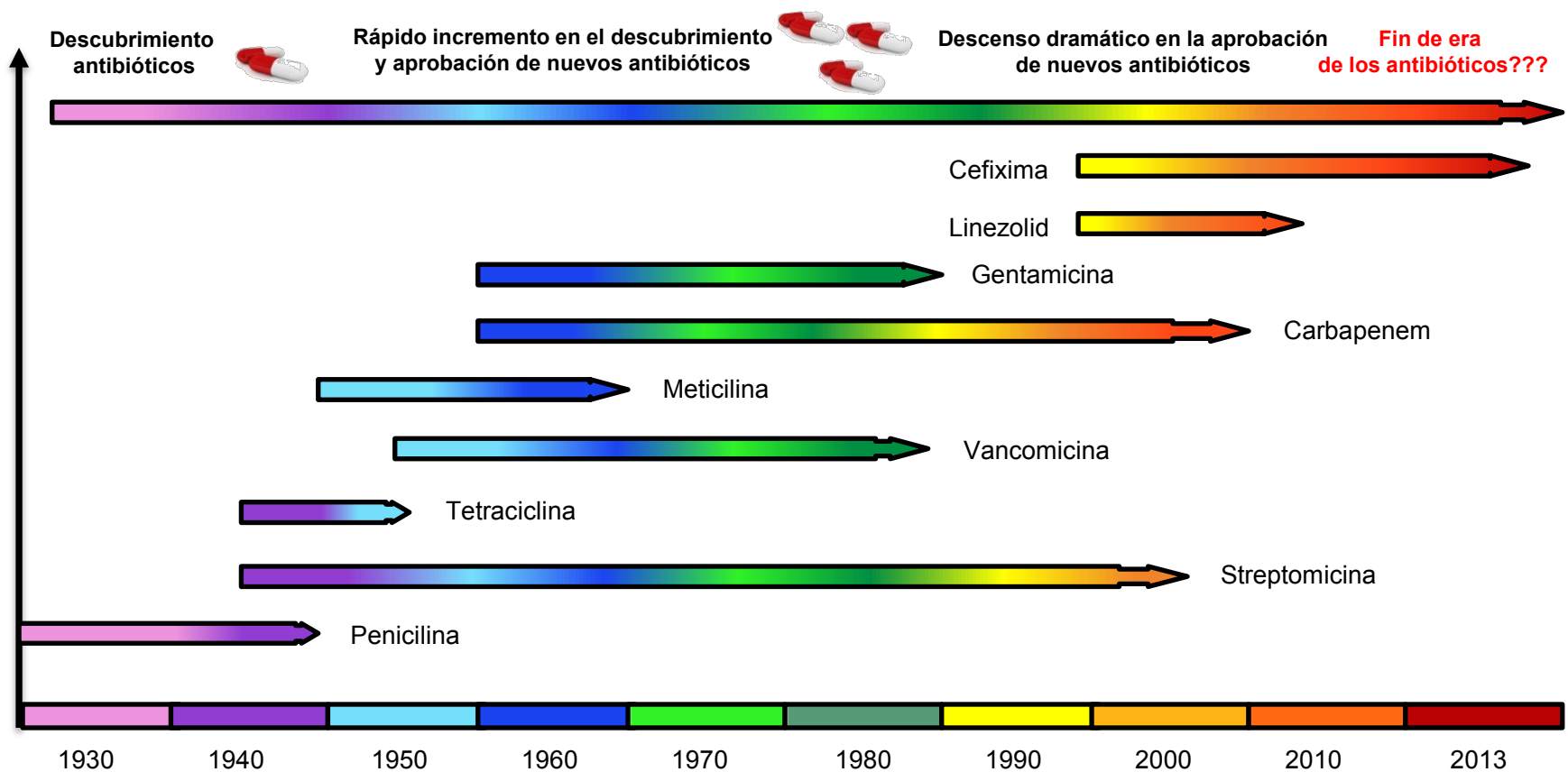
"En Europa las infecciones resistentes a antibióticos causan 25000 muertes anuales y se prevé que aumenten a 10M en 2050"



Previsión de la resistencia antimicrobiana en el 2050

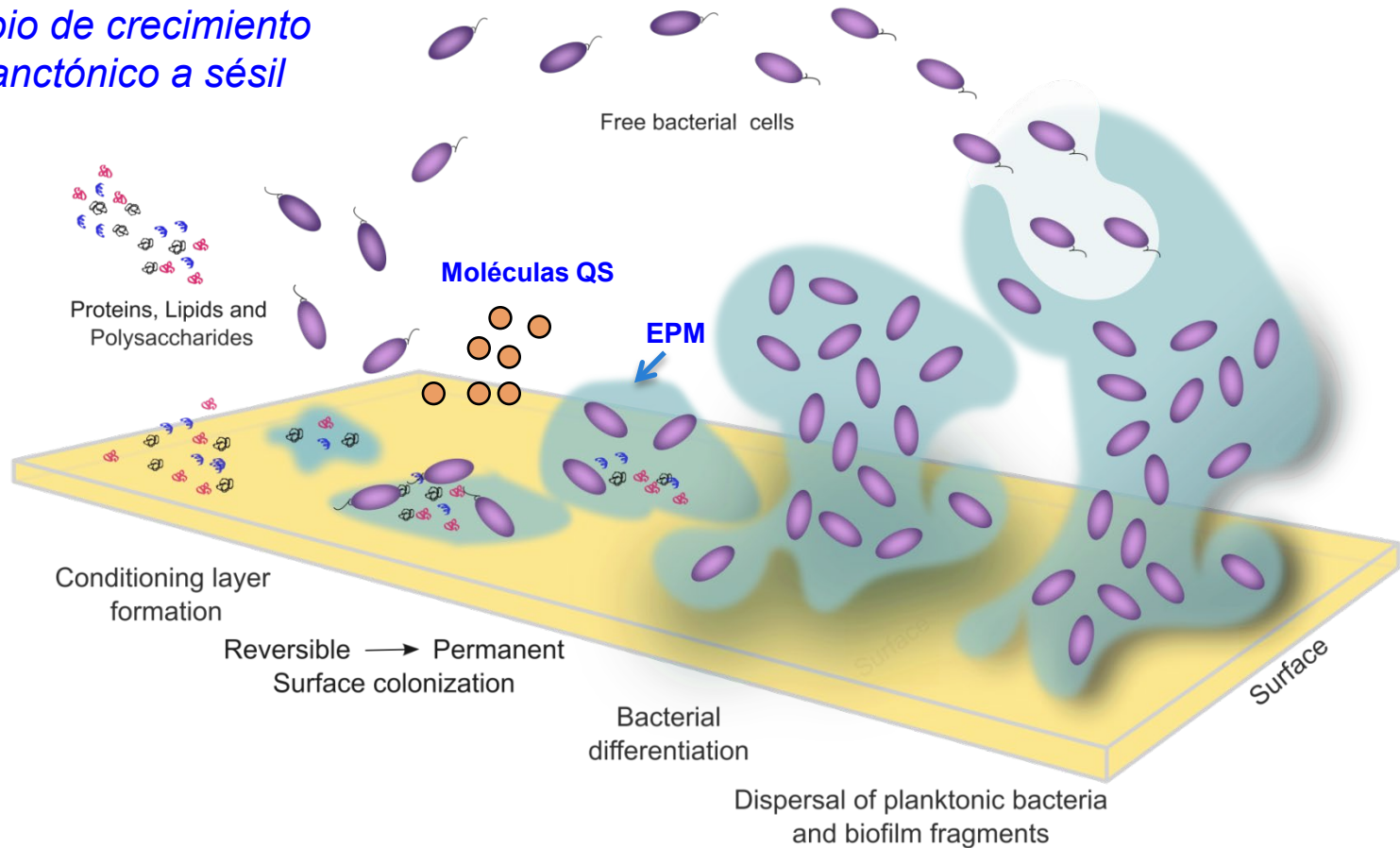


Descubrimiento de antibióticos vs. desarrollo de resistencia



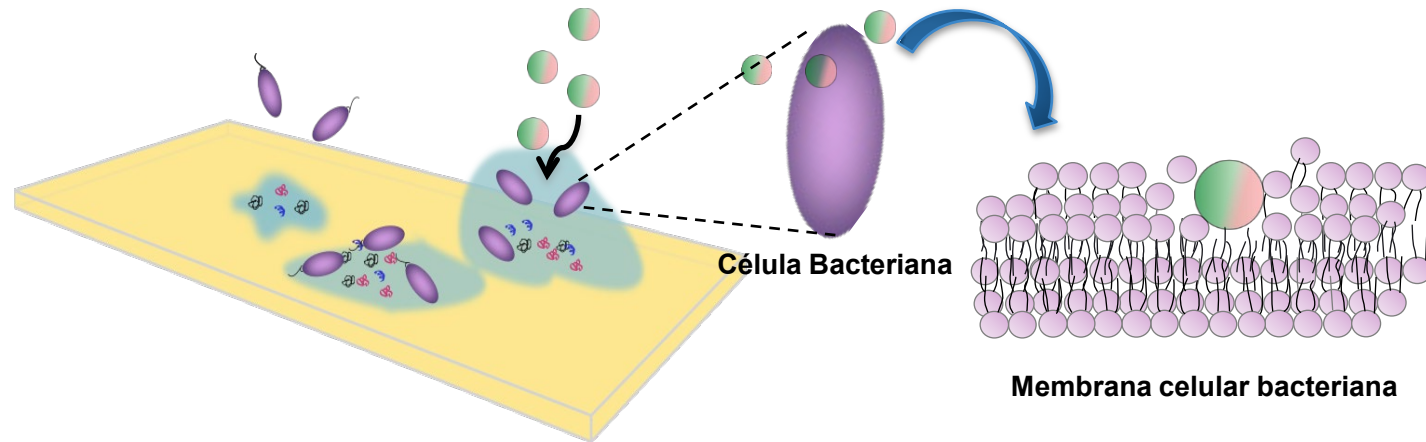
Biopelículas bacterianas

*Cambio de crecimiento
de planctónico a sésil*



- ✓ **Moléculas Quorum sensing (QS):** acil homoserina lactonas (AHL, bacterias Gram – negativa) y péptidos autoinductores AIP (bacterias Gram – positiva)
- ✓ **Matriz polimérica extracelular (EPM)** – exopolisacáridos, proteínas y ADN

CONCEPTO: Nano-formulación de agentes antimicrobianos



- ***Penetración de nanopartículas en la biopelícula e interacción con la membrana bacteriana***
- ***Interacción no específica - bajo riesgo de desarrollo de resistencia***

Agentes activos

- Enzimas capaces de:
 - ✓ Interrumpir la comunicación entre las bacterias, sin matarlas
 - ✓ Degradar la matriz extracelular
- Uso de las moléculas QS como dianas bacterianas
- Antibióticos en concentración reducida
- Biopolímeros antimicrobianos, óxidos metálicos
- Nano-partículas *safe-by-design*

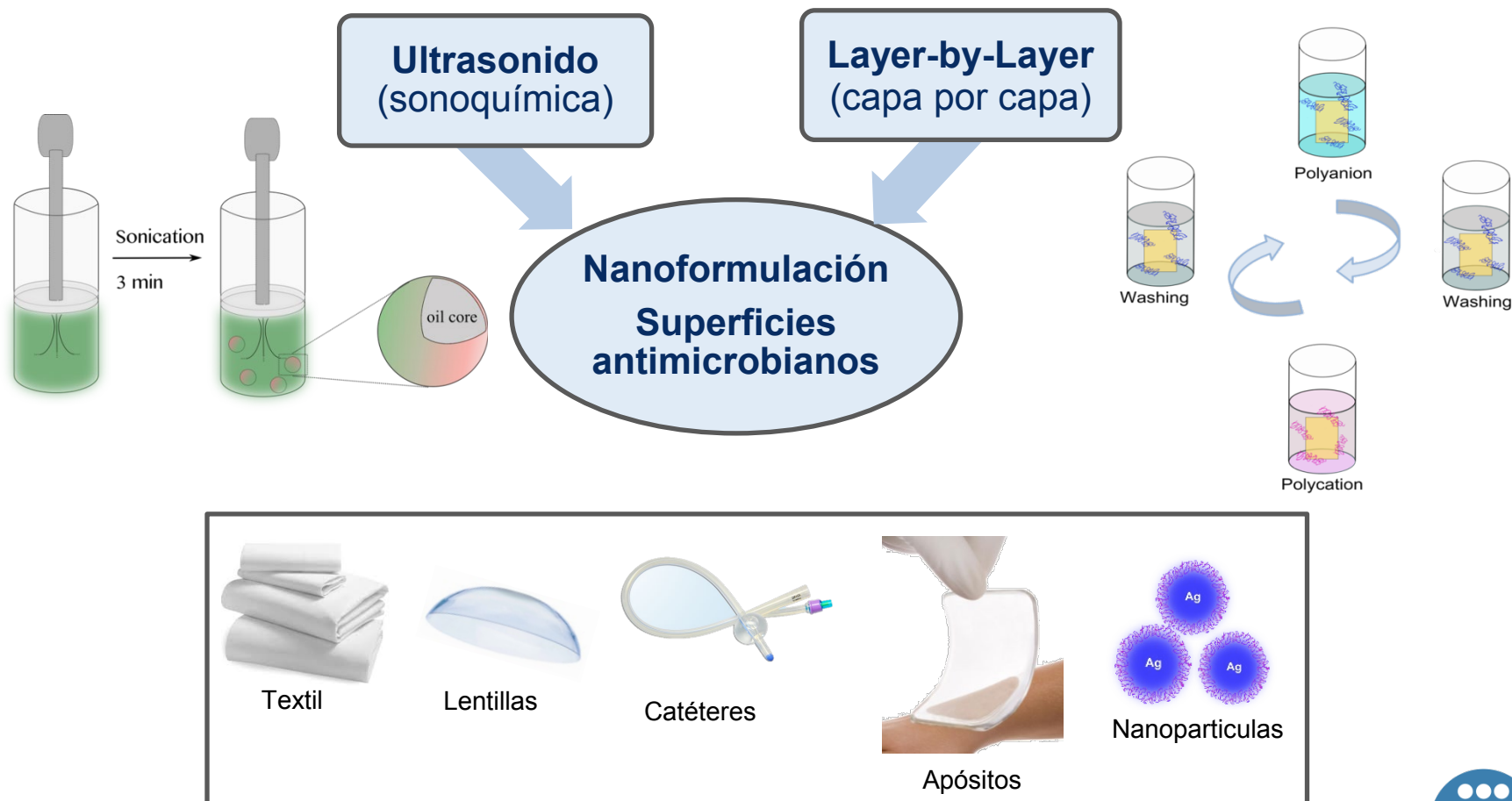
Modificación de superficies de textil y dispositivos médicos para la obtención de propiedades antibacterianas

Deficiencias de los materiales antimicrobianos usados actualmente

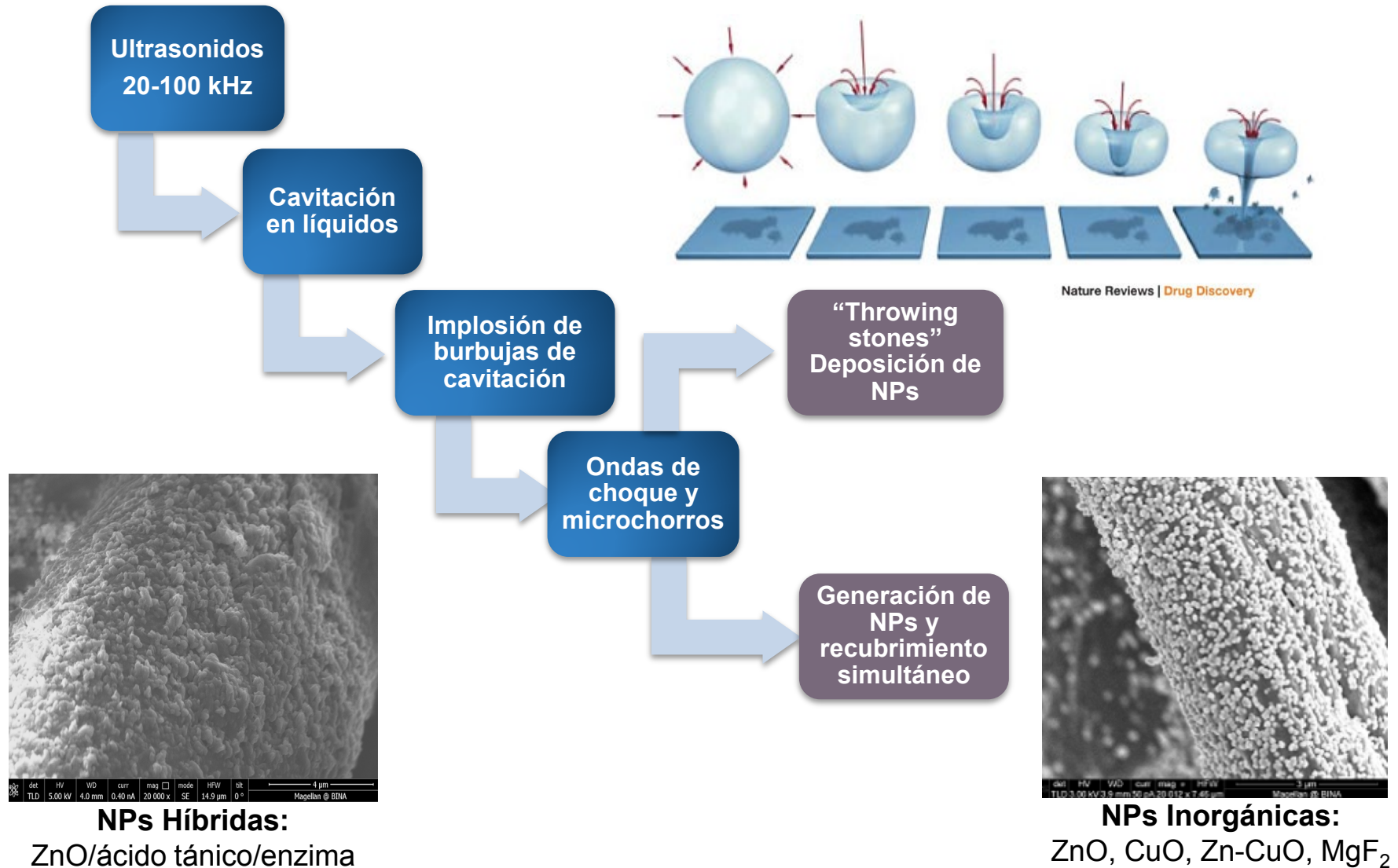
- ✓ Complicada química para obtener recubrimientos estables
- ✓ Baja actividad antimicrobiana
- ✓ Liberación de partículas (nano-toxicidad)
- ✓ Riesgo de aparición de resistencia a antibióticos
- ✓ Baja durabilidad de las funciones antimicrobianas

Síntesis de nanopartículas y recubrimientos antimicrobianos

Transformación de antimicrobianos en nanopartículas (NPs) biocompatibles con alta eficiencia contra patógenos y bajo potencial para el desarrollo de resistencia

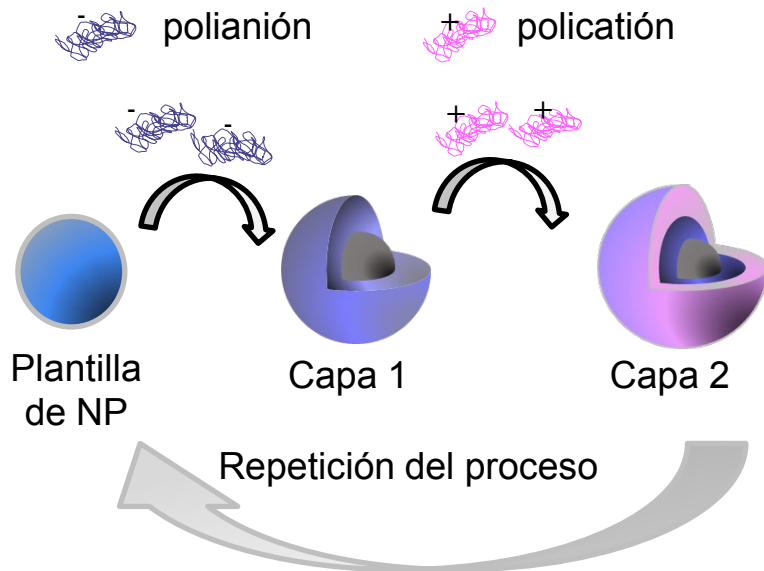


Sonoquímica para el diseño de nanopartículas y superficies nano-estructuradas

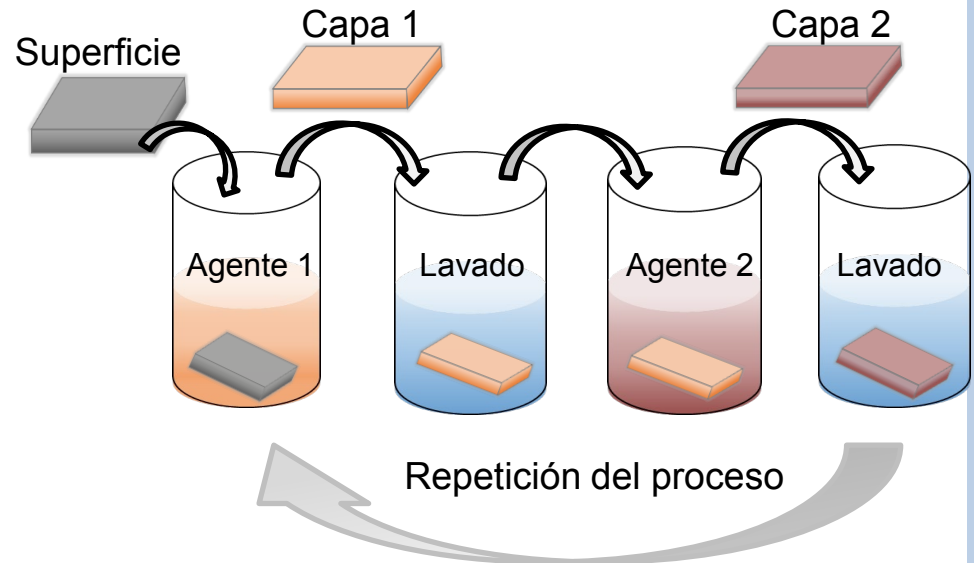


Tecnología de recubrimiento Layer-by-Layer

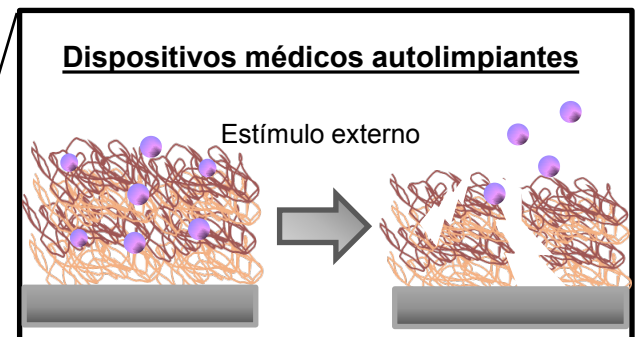
Nanopartículas (NPs)



Dispositivos médicos (MDs)

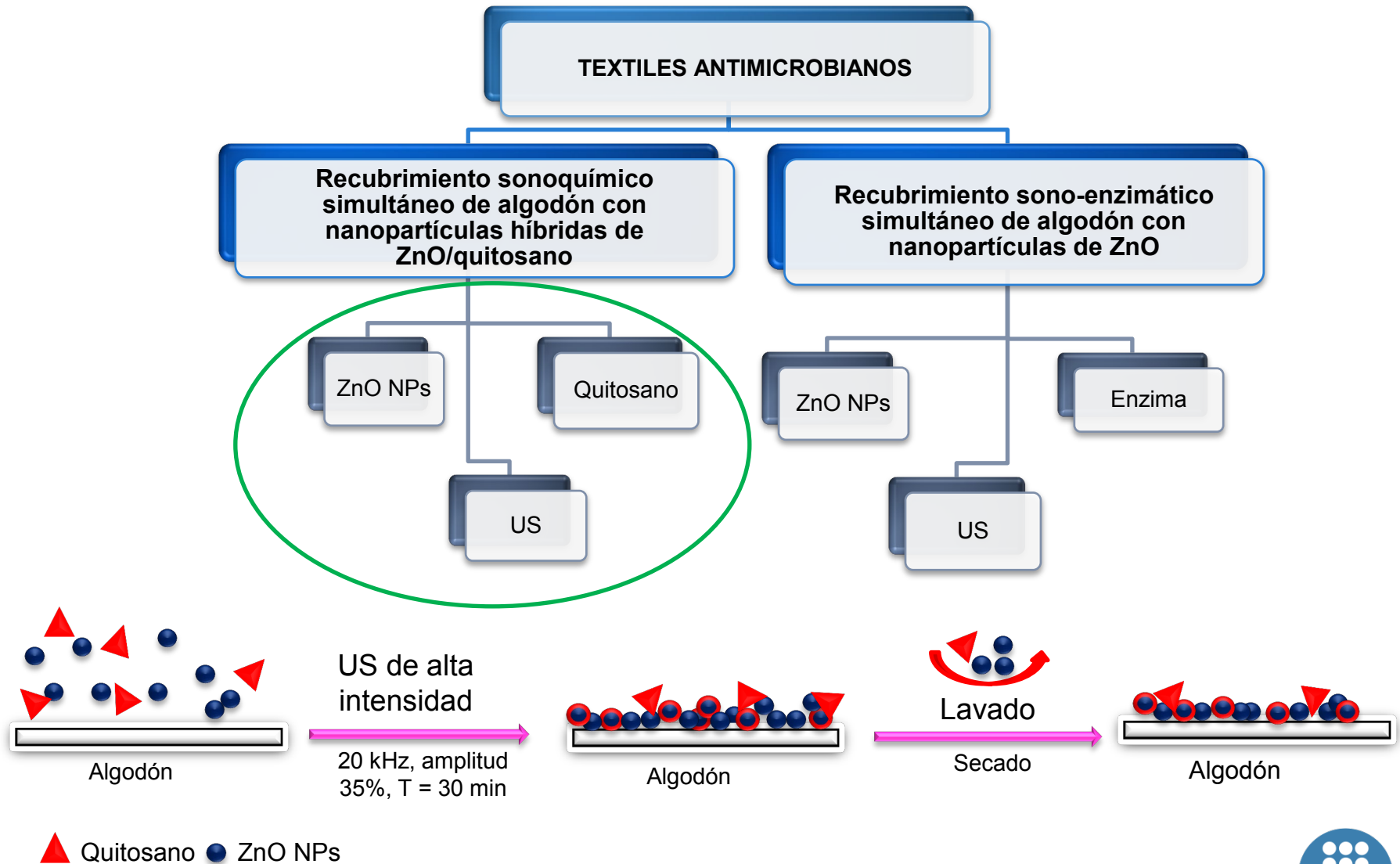


Multicapas plurifuncionales

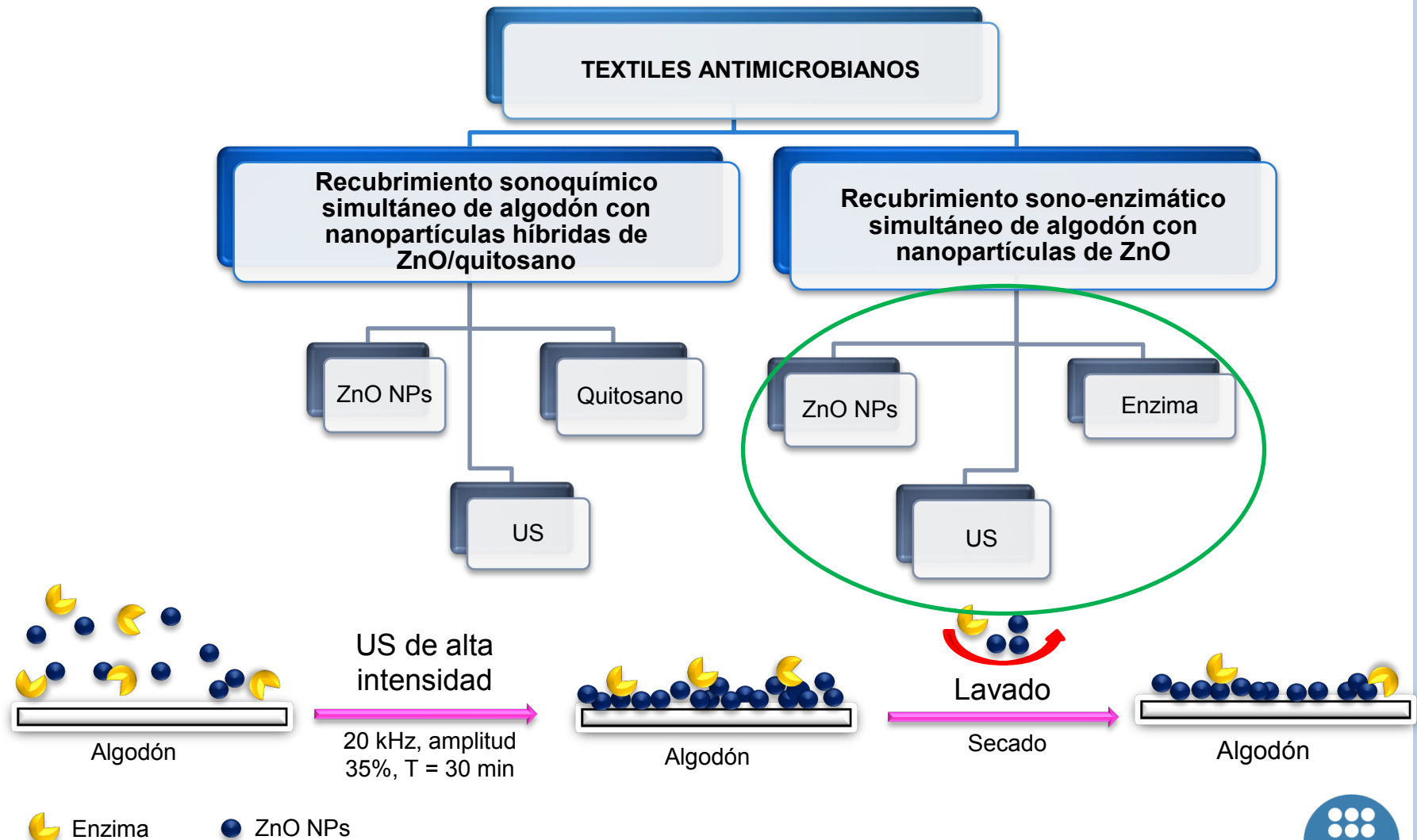


Multicapas nanoactivadas para controlar la contaminación bacteriana

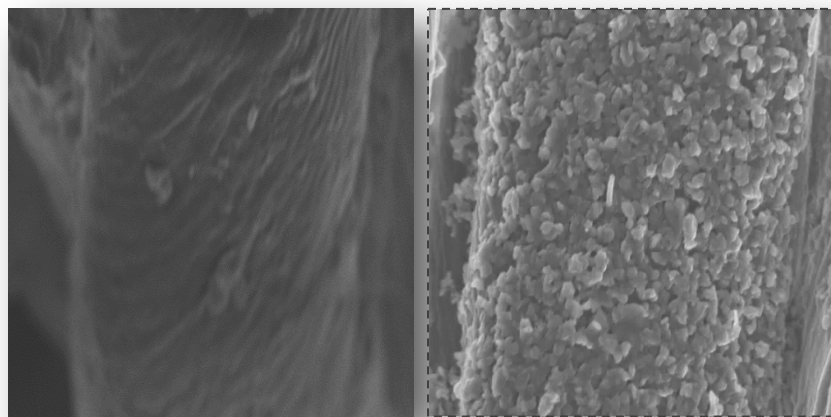
Recubrimiento de textiles con partículas híbridas de ZnO-quitosano utilizando US



Activación enzimática de textiles y su funcionalización con NPs de ZnO en un sólo paso por medio de US

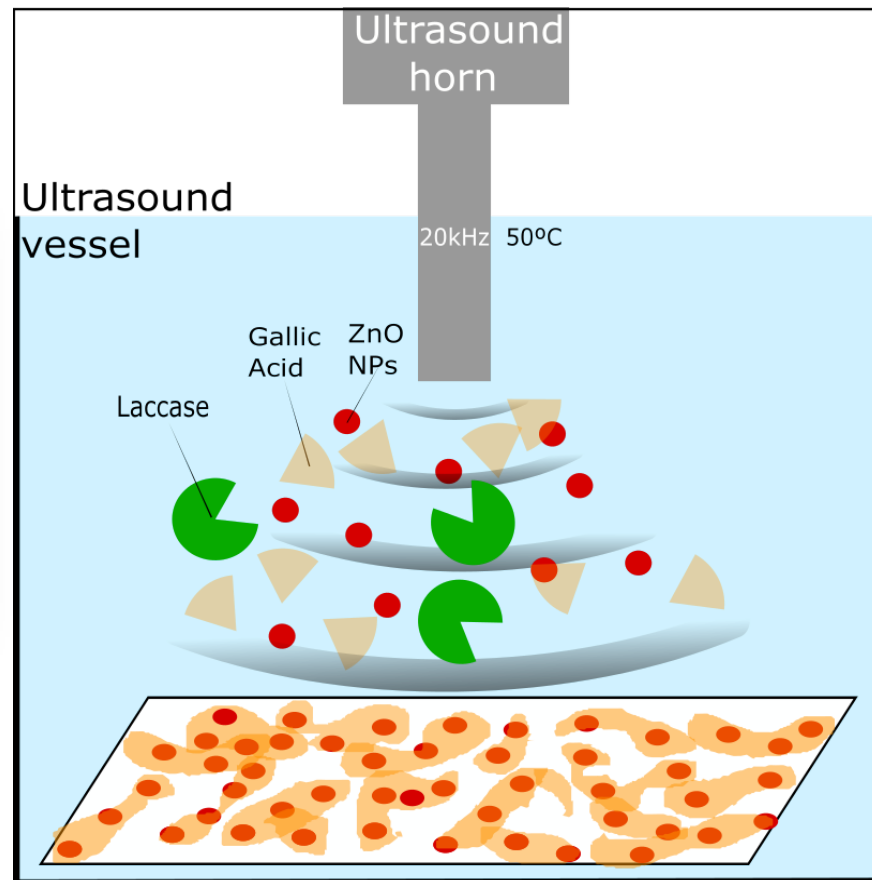


Textiles antimicrobianos recubiertos con NPs de ZnO y ácido gálico utilizando enzimas y US



**Superficie
inicial**

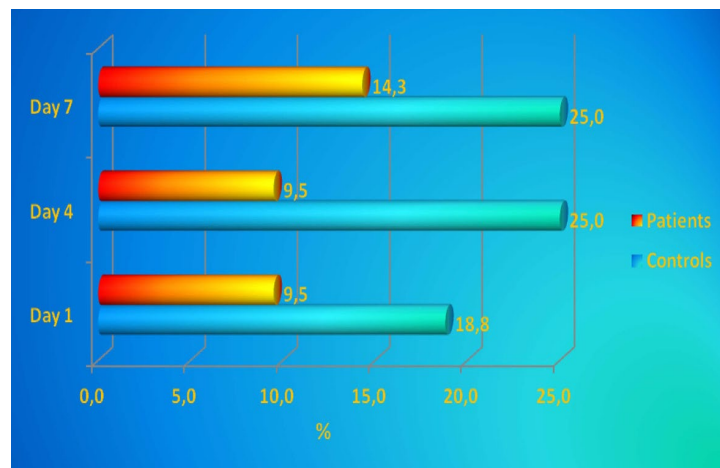
**Superficie
recubierta**



Estabilidad de las propiedades antimicrobianas frente a múltiples ciclos de lavado a 75°C

Proceso piloto basado en US (Roll-to-roll) R2R

Solo 15-20% pérdida de eficiencia antibacteriana después de 70 lavados en condiciones de hospital (75°C)



Presencia de *S. aureus* en la garganta

2500 m de tejido recubierto con ZnO para ropa de cama y batas de pacientes de hospital.

Bacteria
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>

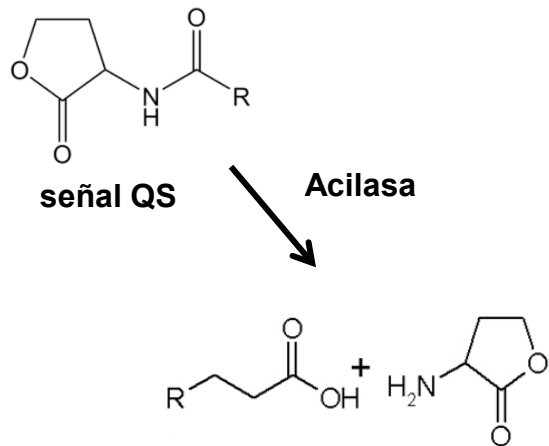
Estudio clínico con 37 pacientes usando durante 7 días tejidos con y sin recubrimiento de NP. Las muestras microbiológicas se recogieron de garganta, nariz, axila, perineo y de los tejidos.

Se observó menor nivel de infección bacteriana en los pacientes que usaron ropa de cama y batas recubiertas con nanoparticulas.

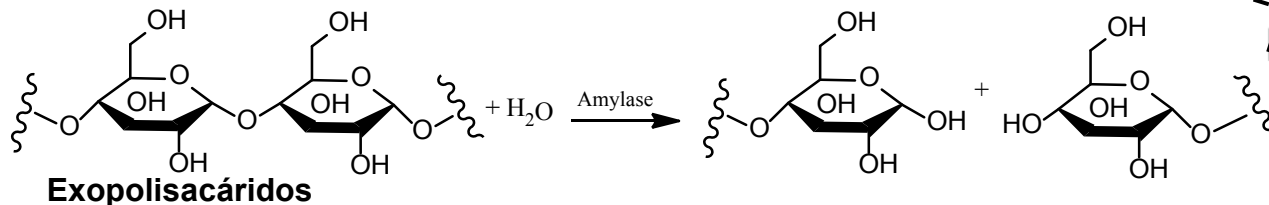
Estrategias novedosas para la prevención y disgregación de biopelículas bacterianas formadas en dispositivos médicos

Estrategia integral de:

1. Interrupción enzimática de la comunicación entre bacterias (enzimas acilasa o lactonasa)



2. Degradación enzimática de la biopelícula (amilasa)



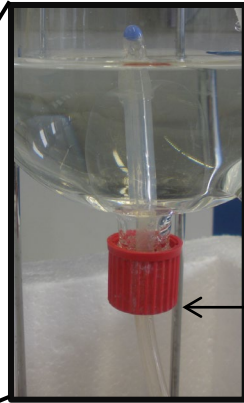
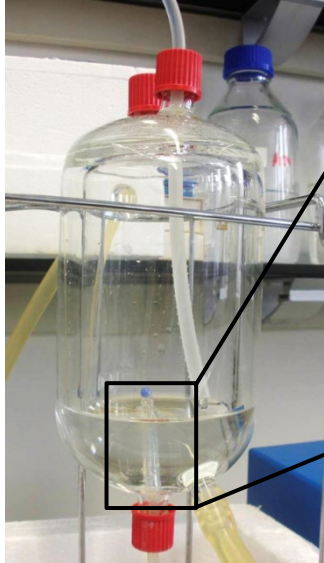
Inhibición *in vitro* e *in vivo* de biopelículas

acilasa + amilasa

Enzima Policación

Recubrimiento multicapa

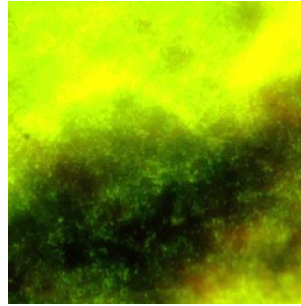
➤ Actividad *in vitro* en condiciones dinámicas



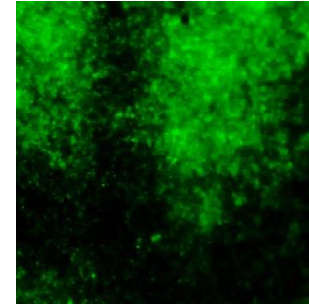
Modelo *in vitro* de una vejiga humana cateterizada

P. aeruginosa
P. aeruginosa
and *E. coli*

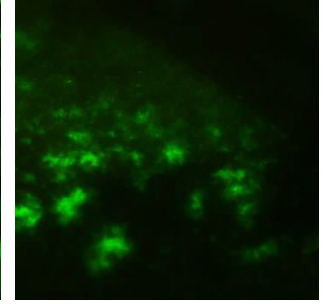
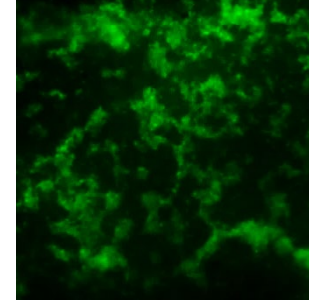
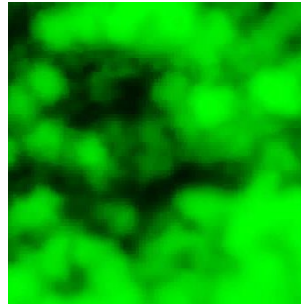
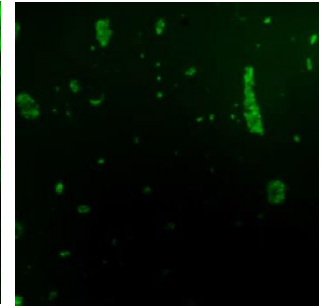
Uretra Control



LbL Hyb-Amy



LbL Hyb-Acy



➤ Test antibiopelícula *in vivo*

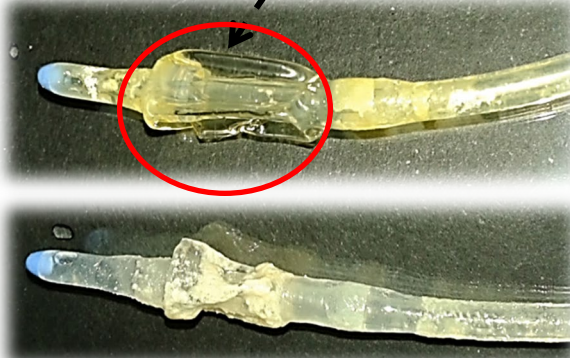
7 días de
cateterización

Acilasa interrumpe la
comunicación entre bacterias

Aamilasa degrada la
biopelícula

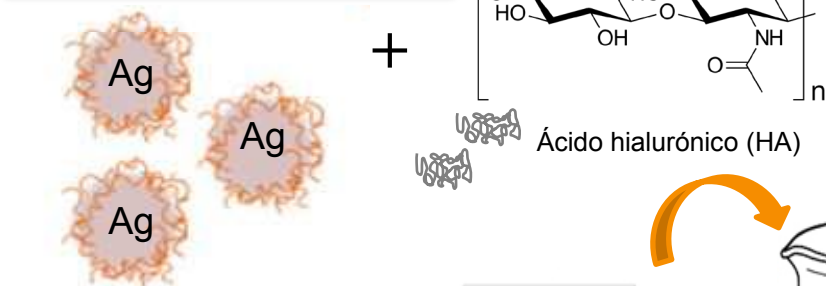
70 %
inhibición

LbL Hib-Aci
Silicona



Películas de nanocapas de AgNPs y biopolímero

1. Síntesis de NPs de Ag-biopolímero



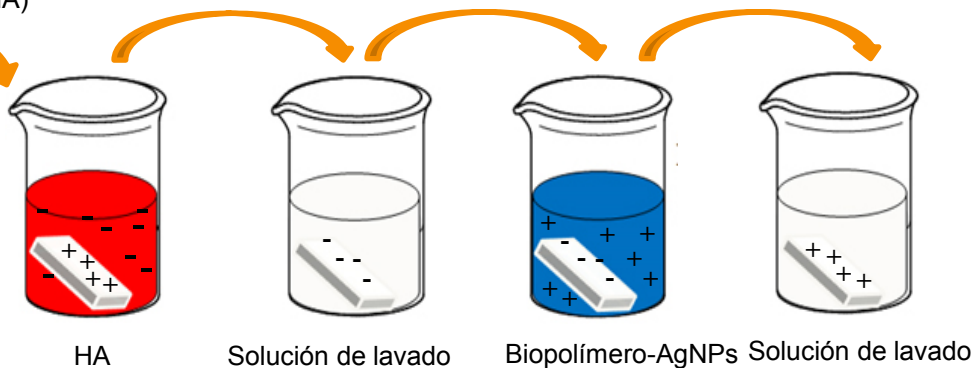
AgNO₃

Silicona
funcionalizada con
APTES

**Biopolímero: quitosano,
aminocelulosa, lignina**

**AgNPs recubiertas con
biopolímero**

2. Construcción Layer-by-Layer



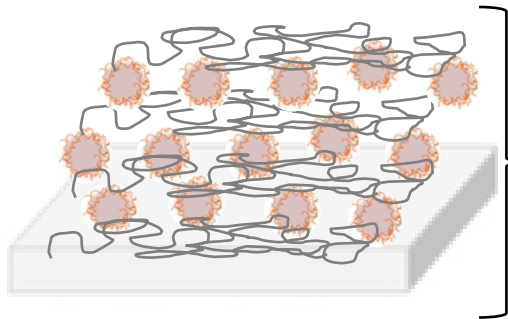
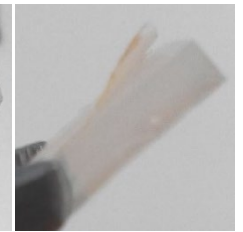
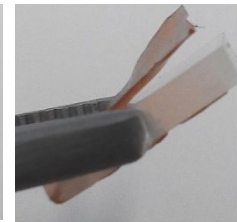
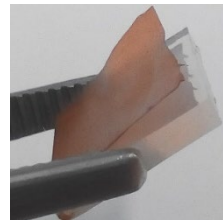
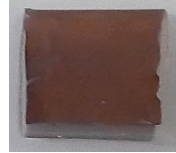
Repetición

- 10x
- 50x
- 100x
- 200x

Películas de nanocapas de AgNPs y biopolímero

CS/Ag NPs

AC/Ag NPs



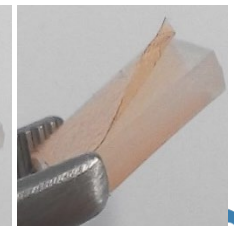
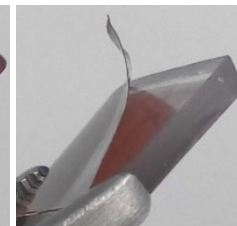
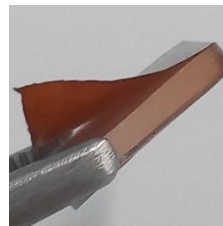
- 100x

- 200x

Construcción Layer by Layer

CS/Ag NPs

AC/Ag NPs

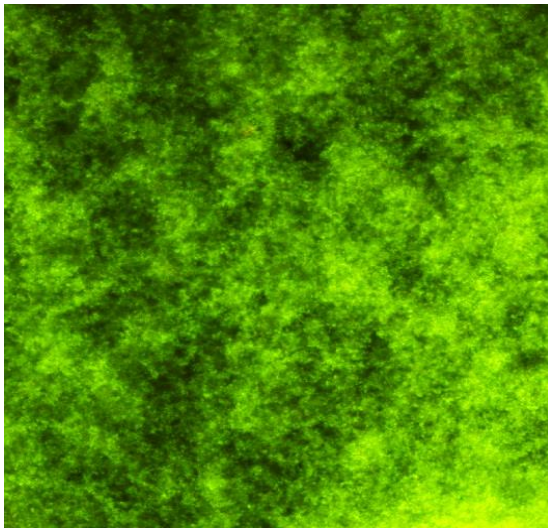


Actividad antibiopelícula

Live/Dead kit de tinción

S. aureus

HA-ACAgNPs

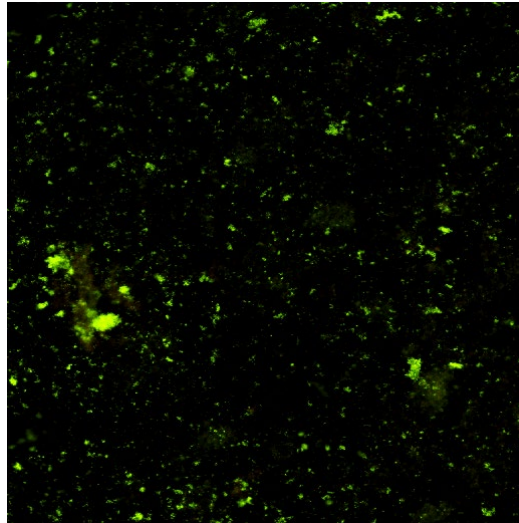


Silicona (control)

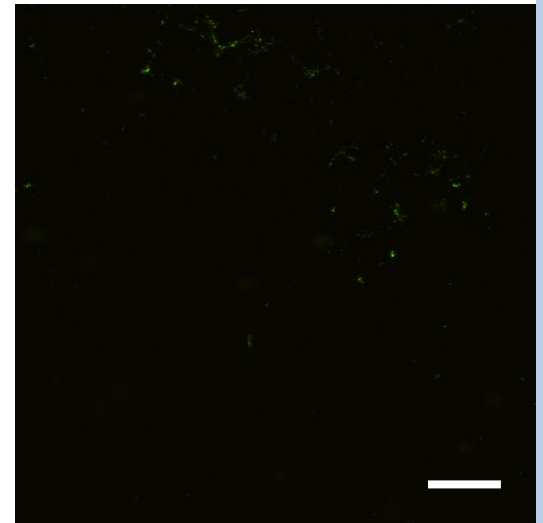
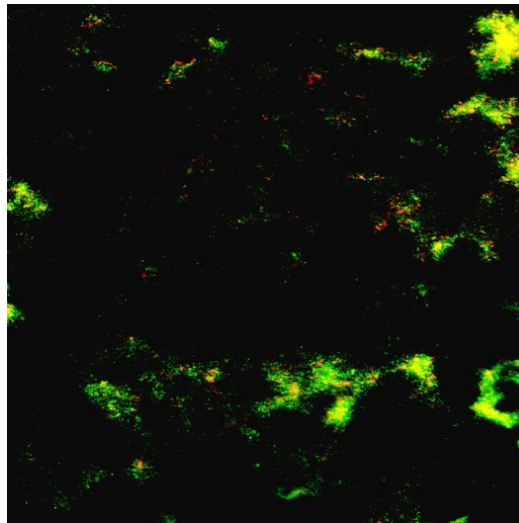
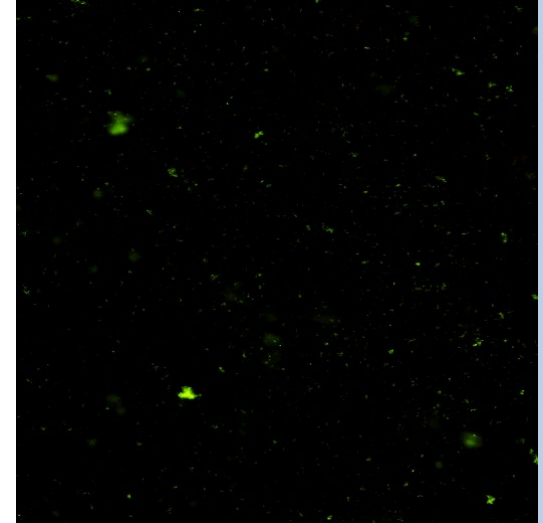
HA-CSAgNPs

Superposición de
imágenes Ex_{488-543nm}

● Bacterias vivas
100 bicapas

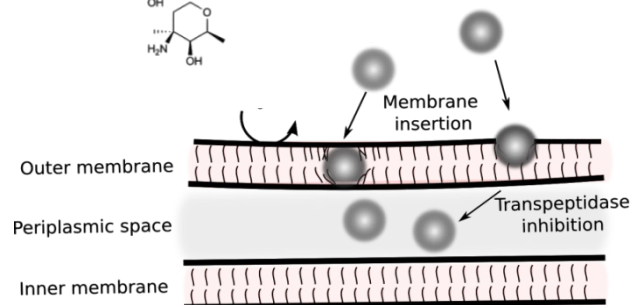
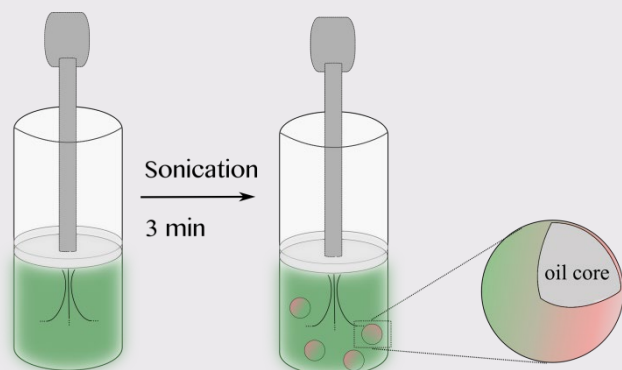


● Bacterias muertas
200 bicapas

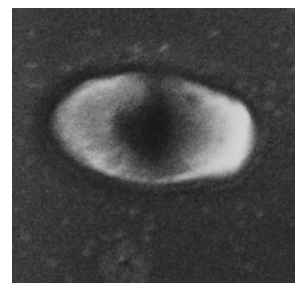


Nanotransformación de antibióticos: nanoesferas de vancomicina (NSs) para superar la resistencia intrínseca de bacterias Gram-negativas

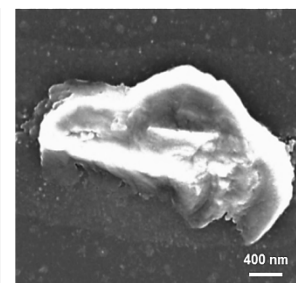
NSs de vancomicina generadas sonquímicamente



Tamaño (nm)	Zeta potencial (mV)	Concentración (NSs/mL)
$157 \pm 8,7$	$-50 \pm 0,5$	$2,07 \pm 0,13 \times 10^{13}$



E. coli



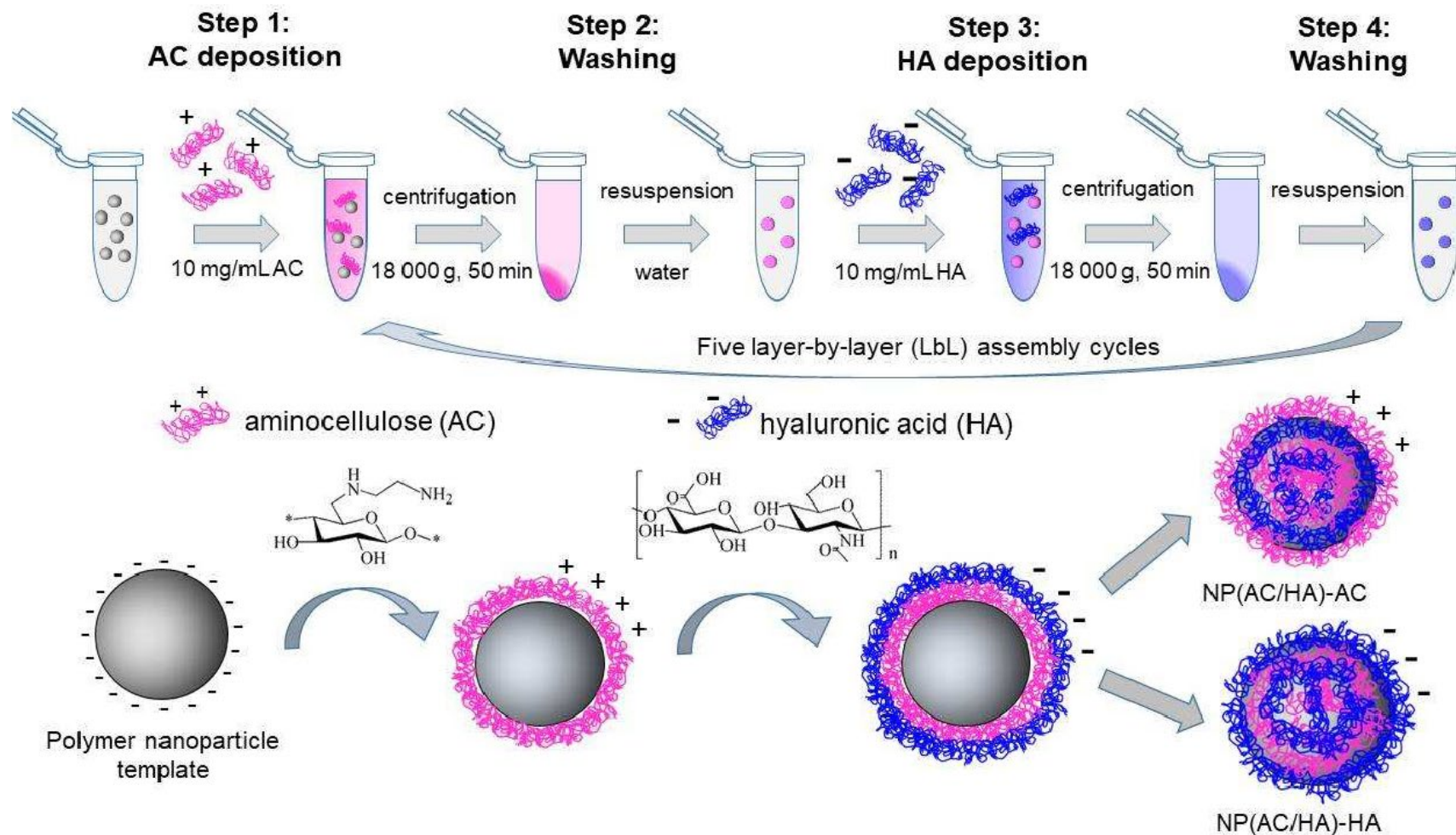
E. coli + Vancomycin NSs

Las NSs de vancomicina deterioran la membrana de *E. coli*

Fernandes M M, et al. *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* eradication by nano-penicillin, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* (2016).

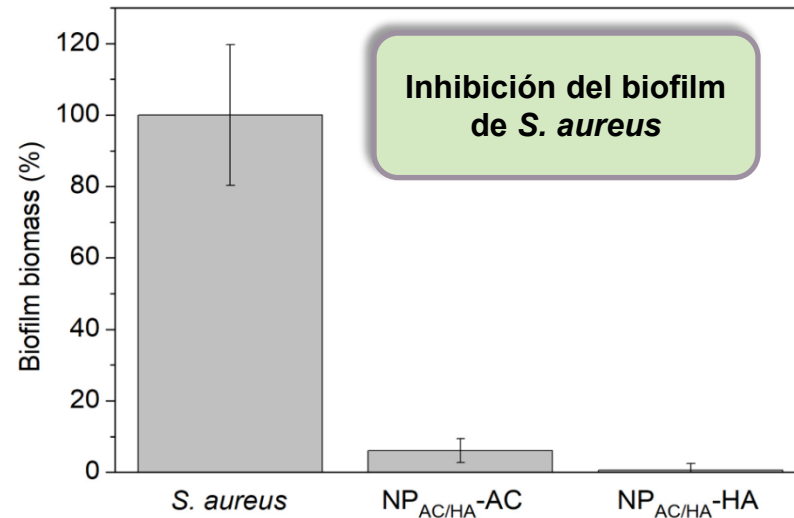
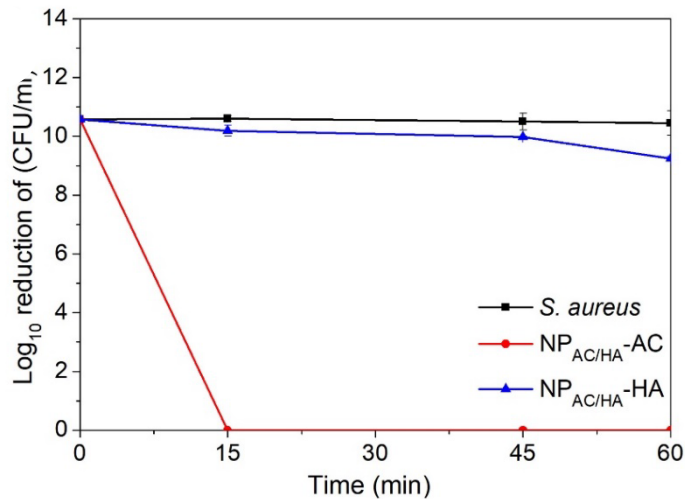
Fernandes M M, et al. Nanotransformation of vancomycin overcomes the intrinsic resistance of Gram-negative bacteria. *ACS Applied Materials & Interfaces* (2017).

NPs poliméricas recubiertas LbL con capas de aminocelulosa antibacteriana y ácido hialurónico biocompatible

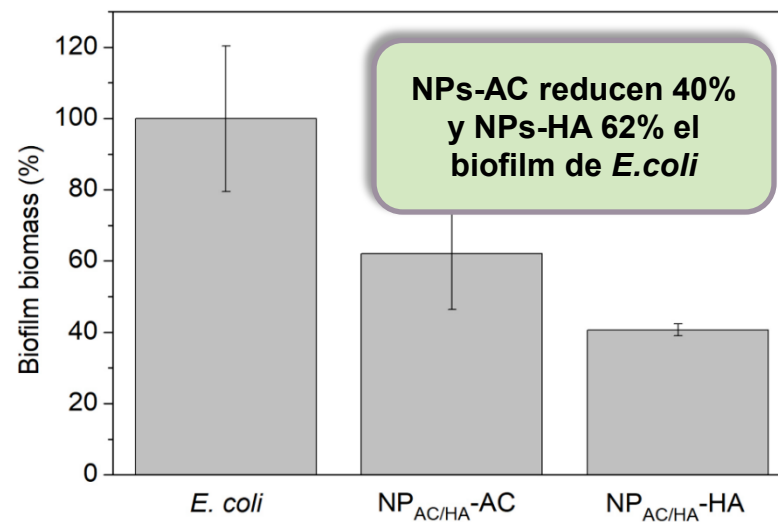
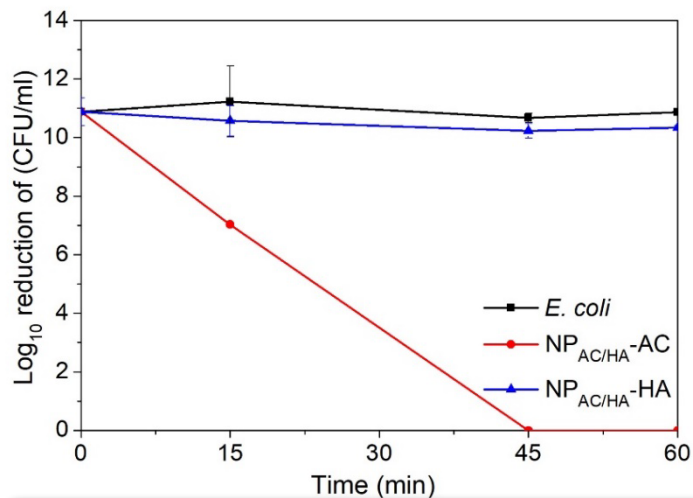


Eficiencia antibacteriana de LbL NPs frente *S. aureus* y *E. coli*

S. aureus - cinética antibacteriana



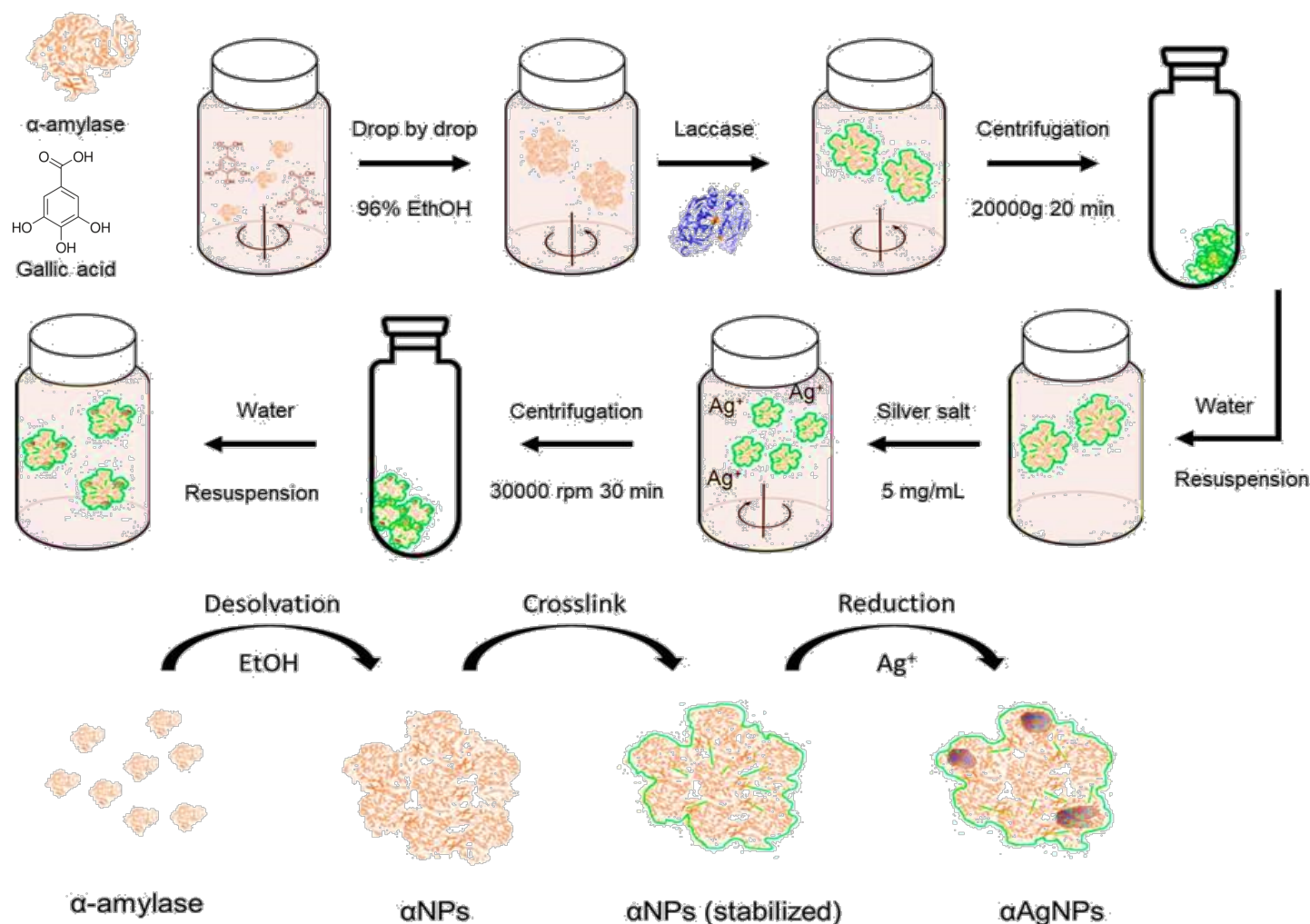
E. coli - cinética antibacteriana



Erradicación completa de *S. aureus* y *E. coli* con NPs-AC

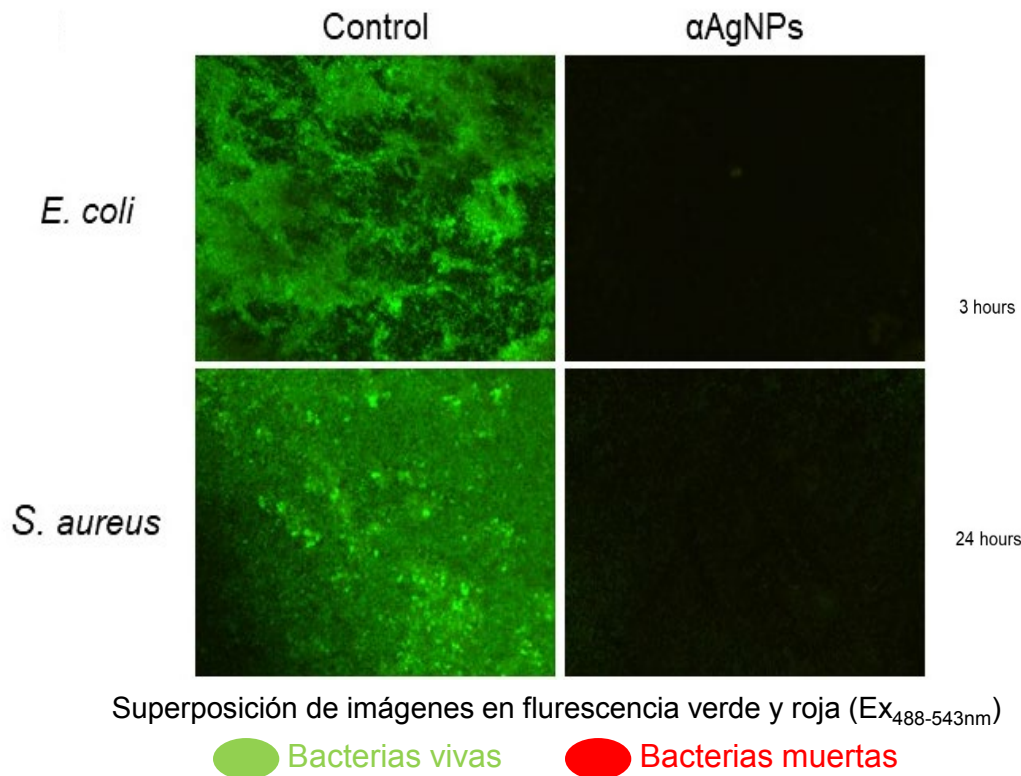
Nanopartículas híbridas de metal-enzima

Novedoso proceso para la generación de nanopartículas metal-enzima estables y biocompatibles con propiedades antibacterianas y antiopelícula

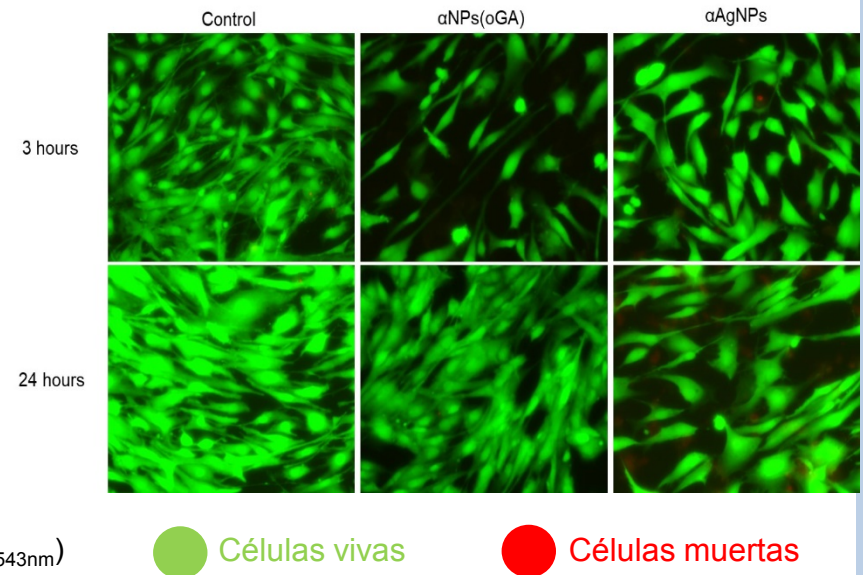


Actividad antimicrobiana y antibiopelícula

- ✓ Reducción de 5.4 and 6.1 logs del crecimiento de *S. aureus* y *E. coli* gracias a la presencia de Ag⁰ en las NPs híbridas
- ✓ Eliminación, tras 24 h de incubación con las NPs híbridas, del 100% de las biopelículas resistentes a antibióticos

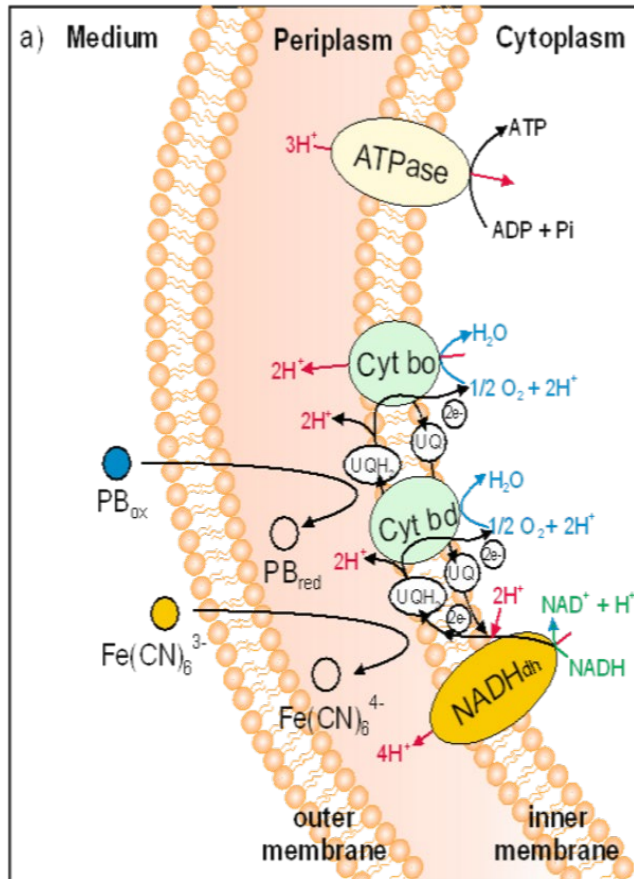


Biocompatibilidad frente a fibroblastos humanos

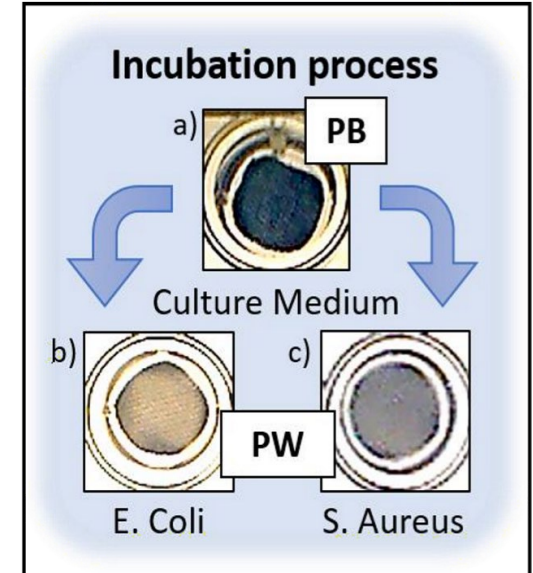
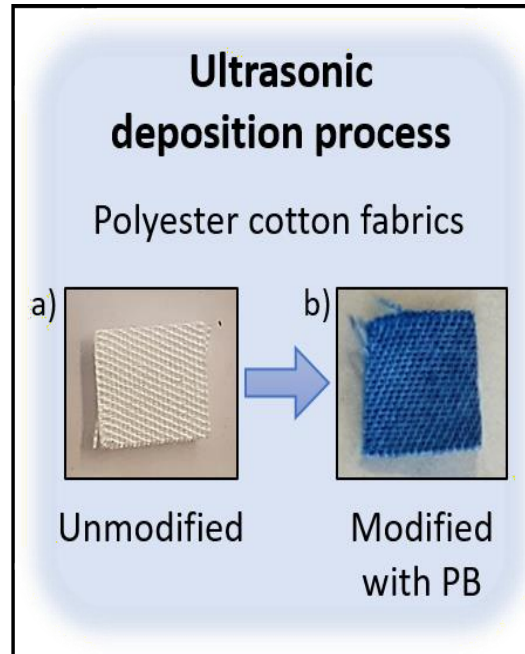


Tejidos inteligentes para la detección de infecciones bacterianas

Concepto – las moléculas de Azul de Prusia (PB) son susceptibles de ser electroquímicamente reducidas por el metabolismo bacteriano



Esquema de la cadena de transporte de electrones en *E. coli*.



(a) Tejidos funcionalizados con PB en medio de cultivo
 (b) Tejidos funcionalizados después de 24 horas de incubación con *E. coli* (5.7×10^{10} CFU/mL), y
 (c) *S. aureus* (5.9×10^{10} CFU/mL).

Tecnologías de aplicación de NPs sobre textiles y dispositivos médicos a escala industrial

- **Proceso basado en R2R US** - Escalado para recubrir tejidos de 165 cm de ancho a una velocidad de 3-5 m/min.
- **Proceso basado en R2R recubrimiento spray (US pulverizadores)** - Escalado para cubrir tejidos de 300 cm de ancho a una velocidad de 2-20 m/min.
- **Proceso US modo batch** - Escalado para recubrir 100-150 dispositivos médicos.



AGRADECIMIENTOS



PROTECT - "Pre-commercial lines for production of surface nanostructured antimicrobial and anti-biofilm textiles, medical devices and water treatment membranes"

H2020 - 720851



SONO - "A pilot line of antibacterial and antifungal medical textiles based on a sonochemical process"

FP7-228730

HybridNanoCoat - "Hybrid nanocoatings on indwelling medical devices with enhanced antibacterial and antibiofilm efficiency"

MAT2015-67648-R



NOVO - "Novel approaches for prevention of biofilms on medical indwelling devices"

FP7-278402