

# Har nanostrukturer effekt på bakterienes evne til å feste seg til overflater?

Pawel Kallas har studert bakterienes festeegenskaper på biomaterialers overflater i sin avhandling. Det er grunn til å tro at bakterienes festeevne blir påvirket av nanostrukturer på overflaten. Funnene kan få betydning for fremtidig utforming av implantater.

 **KARI ØVERBY, OD/UIO**  
 **MARIE LINDEMAN JOHANSEN, OD/UIO**

**P**awel Kallas avhandling ved avdeling for biomaterialer ved Det odontologiske fakultet ved Universitetet i Oslo har tittelen “Bacterial and Host Response to Nanostructured Surfaces”. – Formålet med prosjektet var å utforske hvordan nanostrukturerte overflater påvirker bakterienes evne til å feste seg, forteller Pawel.

Pawel ønsket å se om nanostrukturerte overflater har en innvirkning på bakterienes evne til å feste seg, og om ulike overflater har ulik effekt på denne evnen. Målet er å bekjempe infeksjoner i munnhulen forårsaket av biomaterialer. Dette inkluderer ikke bare materialer som brukes som erstatning for tenner, som implantater, men også biomaterialer som brukes til medisinsk behandling, og kan forårsake infeksjoner i kroppen.

Forskningen til Pawel Kallas har bidratt til å forstå hvordan nanostrukturerte overflater påvirker bakterienes evne til å feste seg. Dette kan ha betydning for utviklingen av implantater og medisinsk utstyr i fremtiden. Ved å kunne kontrollere overflatens struktur, kan man potensielt forhindre infeksjoner og forbedre pasienters livskvalitet.

## Elementer på nanonivå – en bit av puslespillet

Nanostrukturerte overflater er overflater med mikroskopiske elementer på nanonivå. Nano refererer til en milliarddel av vanlig størrelse, og måles i nanometer, som er svært små enheter. Disse overflatene er så små at de ikke kan sees med det blotte øye eller vanlige mikroskoper. For å observere dem, må man bruke spesialiserte mikroskoper med svært høy oppløsning, som elektronmikroskoper.

Selv om bakterier er mye større enn nanostrukturer, har disse små elementene en effekt på bakterienes evne til å feste seg. Det er ulike teorier om hvordan nanostrukturerte overflater påvirker bakterienes evne. Vi ville se på avstanden mellom nanopartiklene og se om det førte til at bakteriene fester seg eller ikke, sier Pawel.

– Hva var de viktigste funnene i prosjektet ditt?

– Resultatene våre viste at nanostrukturerte overflater hadde en påvirkning på bakterienes evne til å feste seg. I noen tilfeller ble festeegenskapene redusert når nanostrukturerte overflater var til stede. Studien viste også at tilstedeværelsen av proteiner på overflatene hadde betydning for bakterienes festeegenskaper. Selv om dette prosjektet ikke



Pawel Kallas har forsket på bakteriers festeegenskaper på biomaterialers overflater. Her er Kallas avbildet med en bakterie i kosedyrformat.

forandrer verden, er denne avhandlingen et bidrag til fagfeltet, som en liten del av et større puslespill. Så håper jeg at det kan bidra til å gjøre perspektivet og betydningen forståelig for fremtidens generasjoner, sier Pawel.

### **Preparering og modifisering av overflater**

Vi brukte to forskjellige typer overflater. I den første artikkelen laget vi overflater dekket med silica nanopartikler i en gradient eller stigende form. Siden vi ønsket å teste overflatens nanotopografi og hvilken effekt denne hadde på bakterienes festeegenskaper trengte vi overflater med bestemt avstand mellom nanopartiklene. Først da kunne vi vite hvordan det påvirket hvordan bakterier festet seg til biomaterialoverflatene. Den store utfordringen var å kunne lage mange nok overflater som var helt identiske da vi trenger mange helt like overflater til forsøkene. De første overflatene med silica-partikler var ikke reproduerbare nok og skapte en del trøbbel. Men dette problemet løste vi med å samarbeide med et laboratorium i Glasgow. De kunne bruke litografi til å skape helt bestemte overflater som vi designet, deretter kunne vi bruke denne overflaten

til å «trykke» hundrevis av identiske overflater med hjelp av sprøytstøping.

Metoden var perfekt, sier Pawel. Og dessuten var det en god ting vi laget i løpet av dette prosjektet, vi skapte såkalte graderinger, stigninger. Det vil si at nanomønsteret forandrer seg underveis. Selve dekkningen av overflaten forandret seg underveis. Så vi kunne begynne fra høy dekkning av overflaten, og det minsket etter hvert til et lite nivå av likt nanomønster som dekket overflaten. Takket være dette systemet kunne vi teste et substrat på en overflate innenfor et eksperiment, mens vi samtidig testet mange ulike typer avstander mellom nanopartiklene, og det var fantastisk at vi fikk til, forteller Pawel.

Vanligvis tester andre grupper eller andre prosjekter kun én type overflate med et spesifikt mønster samtidig. Og de må gjenta eksperimentet svært mange ganger eller teste med ulike overflater og ulike oppsett. Men vi kunne teste mange scenarier innenfor samme enkle overflate. Så det var veldig praktisk for oss og dessuten var det ikke så ressurskrevende som det ellers kunne vært. Så testet vi ut dette i et flytcellesystem.

### Bakterier i flytcellesystem

– Hva er et flytcellesystem?

– Det er praktisk talt som et lite kammer. Vi plasserte overflaten i kammeret, satte på et glasslokk så vi faktisk kunne se hva som skjedde. Så sprøytet vi inn bakterier, og vi skylte overflaten med bakterier. Takket være dette systemet blir ikke bakterienes festeevne påvirket av eksterne faktorer. Det blir ikke kontaminert av støv som faller eller lignende. Det dreier seg kun om bakterienes evne til å feste seg på overflaten. På denne måten får vi dekket mange forskjellige overflatedekker med bakterier på en flate. Og vi kan teste innenfor de samme forholdene. Andre grupper eller prosjekter må bytte overflater hele tiden for å teste ulike overflatedekker, og da kan det oppstå små feil med flytcellesystemet eller noe. Så det var fint at vi kunne gjennomføre eksperimentet på dette viset.

### Bakterier og ulike overflater

Så testet vi noen få ulike bakterier. I forbindelse med den første artikkelen om nanopartiklene testet vi bakteriene *Staphylococcus aureus* og *Streptococcus mitis*. *Staphylococcus aureus* har en svært vanlig utbredelse blant generelle infeksjoner når det gjelder implantater, men det er ikke så vanlig hos tannimplantater. Og *Streptococcus mitis* er en bakterie som finnes i munnhulen og er en av de første implantatkolonisatorene, så den er mer relevant for materialer som brukes i tannimplantater. På disse overflatene observerte vi at festeegenskapene ble redusert ved forekomst av nanopartikler.

Den andre tilnæringsmåten med EBL, eller elektronstråle litografi, nanoprintet overflate, testet vi for *Escherichia coli* (*E. coli*), som er en kjent bakterie for urinveisinfeksjon forårsaket med kateter.

Vi testet også ulike typer *E. coli*. En som viser fimbria, et protein som finnes på noen typer *E. coli*. Fimbria har små tubeformete kjennetegn, som kan påvirke bakterienes evne til å feste seg. Og det er en virulent faktor som kan bidra til infeksjoner i kateter. I tillegg testet vi også to *E. coli*-mutanter, som var uten protein, ansvarlig for å skape fimbria. Og vi viste at tilstedeværelsen av fimbria reduserte festeegenskapene til *E. coli* på de overflatene vi testet. Forskjellige typer *E. coli* oppfører seg annerledes, selv om de kanskje kommer fra den samme familien eller typen. Det er også veldig interessant. Det har vi tatt i betraktning for den senere testingen.

I den andre artikkelen, da vi bare testet *E. coli* og dens mutanter på overflater, som ikke var dekket med proteiner, viser det et mønster over hvilke områder bakterier foretrekker å feste seg til, men med et klinisk aspekt. Vi må ta med i betraktning at overflatene også vil påvirkes av andre faktorer, for eksempel tilstedeværelsen av proteiner, som gjør at bakterier vil feste seg til dem. Det er flere forhold som må tas i betraktning for å komme fram til en avgjørende konklusjon.

Alt i alt viste vi at bakterier og deres festeegenskaper, ble påvirket av overflatene vi utformet. Det var også viktig for tilstedeværelsen av proteiner. Hvilket er svært viktig for dette forskningsfeltet generelt sett.

### Proteinbelagte overflater

Den siste delen av prosjektet handler også om proteinbelagte overflater. Det øyeblikket vi setter inn et implantat i munnhulen eller i en menneskekropp er proteiner det første implantatet blir dekket med, fordi det er til stede i kroppsvæsker som blod og spytt. Vi gjorde forsøk med fire forskjellige typer proteiner eller oppløsninger.

Det var fibrinogen, som finnes oppløst i blodet, i tillegg til collagen, spytt og menneskelig serum. I alle oppløsningene er fibrinogen det første proteinet som fester seg til overflaten på implantatet. Vi dekket overflatene som var laget med elektronstråle litografi. Så gjorde vi forsøk med *E. coli* for å se hvilken effekt det hadde på overflater dekket av proteiner. Vi observerte at tilstedeværelsen av proteiner også reduserte mengden av bakterier som festet seg til overflaten.

– Hva var det viktigste du oppdaget i prosjektet ditt?

– Overflater i nanostrukturert størrelse påvirker bakterienes evne til å feste seg og dette kan brukes i fremtidig utforming av implantater. Proteinlaget styrer også hvordan bakterier fester seg, som i implantater til bruk i munnhulen og i utstyr til medisinsk bruk der overflatene kan dekkes på denne måten.

### Utsette infeksjoner?

Fremtidens generasjoner vil kanskje kunne gjøre dette for å unngå at bakteriene fester seg på implantatet slik at vi unngår infeksjon. Kanskje blir det mulig å utsette infeksjonen. Det kan bli vanskelig å bli fullstendig kvitt infeksjonen, fordi det er bakterier til stede i munnhulen. Men kanskje kan vi utsette det, slik at pasienter unngår å måtte ha en ny operasjon etter ett år eller at det tar flere år før de når det

punktet at de må fjerne implantatet. Det avgjørende er at vi ønsker å forbedre pasienters livskvalitet og prosjektet mitt er en liten brikke i et større puslespill.

– Hvilke metoder brukte du?

– Jeg lærte teknikkene for partikler på nanonivå, de dekkede overflatene, i Göteborg. Labben der utviklet teknikken og vi ønsket å ta det til et nytt nivå og prøve det ut i forbindelse med bakterier og deres evne til å feste seg på overflater. Utfordringen er å skape like overflater. Vi kunne lage overflater av nanopartikler innenfor samme eksperiment, og de ble forskjellige.

Det var vanskelig, fordi det er så mange feil som kan oppstå, faktorer du må ta med i betraktning. Er det fordelingen av nanopartikler på overflaten som blir påvirket eller er det hele dekningsen av overflaten som påvirkes? Det var utfordrende.

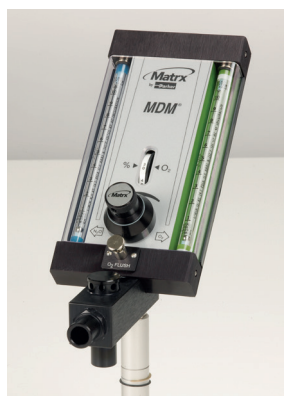
Da beveget vi oss fremover til de andre overflatetyperne med elektronstråle litografi som allerede er etablert. Men poenget er at man kan lage eller utvikle enhver type overflate man ønsker og i enhver form man har ønske om. Vi hadde ønske om reproduserte nanostrukturerte overflater, så vi lagde nanosøyler, de er runde eller

halvkuleformet. Men man kan også lage dem piggete eller akkurat slik man ønsker dem, og det er utrolig at man kan få laget dem akkurat slik man vil ha dem. For så å teste dem for evnen bakterier har til å feste seg.

Prosjektet er gjort i samarbeid med Nordisk Institutt for Odontologiske Materialer (NIOM) og Universitet i Glasgow. Jeg jobbet med å studere bakterier på NIOM, fordi de har utstyret og mulighetene til å jobbe med det. Chalmers tekniska högskola i Göteborg bisto med første delen av prosjektet der vi utviklet overflater dekket med nanopartikler. Veiledere og samarbeidspartnere har vært Håkon Valen Rukke, Mats Hulander, Martin Andersson og Håvard J. Haugen.

## REFERANSER

1. Paper I Effect of Silica Nano-spheres on Adhesion of Oral Bacteria and Human Fibroblasts  
P. Kallas, H. Kang, H. Valen, H.J. Haugen, M. Andersson, M. Hulander  
Biomaterial Investigations in Dentistry, 2020, 7(1), 134–145.
2. Paper II Adhesion of Escherichia coli to Nanostructured Surfaces and the Role of Type 1 Fimbriae  
P. Kallas, H.J. Haugen, N. Gadegaard, J. Stormonth-Darling, M. Hulander, M. Andersson, H. Valen  
Nanomaterials, 2020, 10(11), 2247.
3. Paper III Protein-coated Nanostructure Surfaces Affect Adhesion of Escherichia coli  
P. Kallas, H. Valen, M. Hulander, N. Gadegaard, J. Stormonth-Darling, P. O'Reilly, B. Thiede, M. Andersson, H.J. Haugen  
Nanoscale, 2022, 14(20), 7736–7746.



# Nå finnes vi også i Norge

## Utvid klinikkens tilbud - tilby lystgass

X-dental har i over 30 år vært leverandør i Sverige og Finland for både Matrx og Porters lystgassapparater som er markedsledere innen tannhelsetjenesten. Våre teknikere er sertifiserte fra produsentene Porter og Matrx.

Vi er med hele veien, fra nord til sør – i hele Norge.

**Kontakt oss:**

info@x-dental.se  
www.x-dental.se  
+46 70-574 55 82

