



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**SÍNTESIS DE BIOMATERIALES ZWITTERIÓNICOS CON PROPIEDADES
ANTIMICROBIANAS**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. LORENA DUARTE PEÑA

Dr. EMILIO BUCIO CARRILLO
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**SÍNTESIS DE BIOMATERIALES ZWITTERIÓNICOS CON PROPIEDADES
ANTIMICROBIANAS**

**TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. LORENA DUARTE PEÑA

Dr. EMILIO BUCIO CARRILLO
INSTITUTO DE CIENCIAS NUCLEARES, UNAM



Ciudad de México, junio 2023

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dra. Flora Adriana Ganem Rondero
Dra. María Josefa Bernad Bernad

JURADOS

Presidente: Dra. Alicia Negrón Mendoza - Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM
Vocal: Dra. Flora Adriana Ganem Rondero - FES-Cuautitlán, UNAM
Vocal: Dra. Luz María Melgoza Contreras - UAM, Unidad Xochimilco
Vocal: Dr. Gerardo Leyva Gómez - Facultad de Química, UNAM
Secretario: Dra. Corina-Diana Ceapă - Instituto de Química, UNAM

ADSCRIPCIÓN, CONGRESOS Y PUBLICACIÓN

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Química de Radiaciones en Macromoléculas del Instituto de Ciencias Nucleares de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la asesoría del Dr. Emilio Bucio Carrillo con recursos financieros de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM (IN204223).

Producto del doctorado se realizaron las siguientes publicaciones:

Artículos

- **Duarte-Peña, L.;** Magaña, H.; Bucio, E. Catheters with Dual-Antimicrobial Properties by Gamma Radiation-Induced Grafting. *Pharmaceutics* **2023**, 15, doi:10.3390/pharmaceutics15030960.
- **Duarte-Peña, L.;** Bucio, E. Antifouling PVC catheters by gamma radiation-induced zwitterionic polymer grafting. *Polymers (Basel)*. **2022**, 14, doi: 10.3390/polym14061185.

Capítulos de libros

- **Duarte-Peña, L.;** Fragoso-Medina, A.J.; Bucio, E.; López-Saucedo, F. Chapter 3 - Improving the therapeutic value of sutures. In *Advanced Technologies and Polymer Materials for Surgical Sutures*; Thomas, S., Coates, P., Whiteside, B., Joseph, B., Nair, K., Eds.; Woodhead Publishing Series in Biomaterials; Woodhead Publishing, **2023**; pp. 45–76 ISBN 978-0-12-819750-9.
- **Duarte-Peña, L.;** Sánchez-Velandia, J.E.; López-Saucedo, F.; Bucio, E. Materials and Their Classifications in Bioelectronics. In; **2022**; pp. 19–34 ISBN 9781003263265.
- **Duarte, L.;** López-Saucedo, J.; Vázquez, E.; Flores-Rojas, G.G.; López-Saucedo, F.; Bucio, E. Antimicrobial materials for local drug delivery. In; Springer Singapore, **2020**; pp. 285–319. doi: 10.1007/978-981-15-7098-8_12.
- Vázquez, E.; **Duarte, L.;** López-Saucedo, F.; Flores-Rojas, G.G.; Bucio, E. Cellulose-based antimicrobial materials. In; Springer Singapore, **2020**; pp. 61–85. doi: 10.1007/978-981-15-7098-8_3.
- M.A. Velazco-Medel, L.A. Camacho-Cruz, **L. Duarte-Peña**, and E. Bucio, Properties of aerogels, *Materials Research Foundations*, Vol. 84, pp 172-200, **2020**. doi: 10.21741/9781644900994-7.

Presentaciones en congresos

- *Dual-antimicrobial system by gamma radiation-induced grafting.* 32th Miller Conference on Radiation Chemistry, Bastia, Francia, **2023**.
- *Synthesis of catheters with antifouling properties using gamma radiation-induced zwitterionic grafts.* The Ionizing Radiation and Polymers symposium (IRaP), **2022**.
- *Use of gamma radiation for the synthesis of dual thermal- and pH- response PVC catheters for drug release.* E7. Polymers and Nanopolymers: Chemistry, Characterization and Applications Symposium at the XXIX International Materials Research Congress. Cancun, Mexico, **2021**.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la fortaleza y la vida para luchar por mis sueños.

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), por darme esta oportunidad de desarrollo profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico a través de la beca de manutención. CVU: 887494

Al financiamiento del proyecto DGAPA-UNAM No. IN204223.

Al Dr. Emilio Bucio Carrillo por haberme brindado su apoyo y guía durante todos estos años.

A los miembros de mi comité tutor las doctoras Adriana Ganem y Josefa Bernad por su apoyo y guía durante el desarrollo de este proyecto y por alentarme en las dificultades.

A los miembros del jurado Dra. Alicia Negrón Mendoza, Dra. Flora Adriana Ganem, Dra. Luz María Melgoza, Dr. Gerardo Leyva Gómez y Dra. Corina-Diana Ceapă por su comentarios y correcciones que me ayudaron a obtener un mejor resultado final.

A la Dra. Guillermina Burillo por compartir sus experiencias y enseñanzas.

Al Dr. Benjamín Leal y su equipo por su apoyo en la irradiación de muestras.

Al Sr. Martín Cruz por su asistencia técnica con los equipos de cómputo.

Al Dr. Héctor Magaña de la UABC Tijuana, a su equipo y estudiantes, por su apoyo durante la realización de la estancia de investigación, que además de aprendizaje técnico me dejó experiencias muy gratas de vida.

A mi familia por su amor, consejo y apoyo constante. Por enseñarme que la vida se vive al ritmo que uno quiere, que por los sueños se trabaja y que a pesar de las dificultades vale la pena.

A mis amigos, especialmente a Daniela Campiño y a Luis Carlos Parada, por ser mi apoyo en estos años, y ayudarme sobrevivir una pandemia lejos de casa.

A mis compañeros del Laboratorio de Macromoléculas por hacer mi estancia muy agradable, por compartir experiencias y apoyarme.

A México y a su gente por haberme brindado esta oportunidad de conocer su cultura y crecer en todos los ámbitos de mi vida.

CONTENIDO

ABSTRACT	11
1. INTRODUCCIÓN	12
2. MARCO TEÓRICO.....	13
2.1. Contaminación de superficies.....	13
2.2. Contaminación de dispositivos médicos.....	14
2.3. Biopelículas bacterianas	15
2.4. Adhesión de proteínas a las superficies	18
2.5. Superficies resistentes a la contaminación	21
2.6. Polímeros zwitteriónicos	22
2.7. Fuerzas de inter e intramoleculares	25
2.8. Materiales con capacidad antimicrobiana dual.....	28
2.9. Radiación ionizante	29
2.10. Interacción de la radiación con la materia	31
2.11. Cobalto 60 (⁶⁰ Co).....	32
2.12. Métodos de irradiación	33
3. HIPOTESIS.....	35
4. OBJETIVOS	35
4.1. Objetivo general	35
4.2. Objetivos particulares	35
5. METODOLOGIA EXPERIMENTAL: SINTESIS	36
5.1. Síntesis de PVC-g-4VP	36
5.2. Síntesis de los injertos de SBMA en catéteres de PVC-g-4VP: (PVC-g-4VP)-g-SBMA -	37
5.3. Síntesis de los injertos de 4VPPS por funcionalización de catéteres PVC-g-4VP con PS: (PVC-g-4VP)F(4VPPS)	38
5.4. Síntesis de los injertos de 4VPPS en catéteres de PVC-g-4VP: (PVC-g-4VP)-g-4VPPS	38
6. METODOLOGIA EXPERIMENTAL: CARACTERIZACIÓN	40
6.1. Espectroscopia infrarroja con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)	40
6.2. Hinchamientos	40
6.3. Efecto de la fuerza iónica	41
6.4. Efecto del pH.....	41

6.5.	Ángulos de contacto	41
6.6.	Análisis termogravimétrico (TGA)	41
6.7.	Adsorción de proteínas	42
6.8.	Carga y liberación de ciprofloxacino.....	43
6.9.	Actividad antimicrobiana	44
6.10.	Adhesión de bacterias	44
6.11.	Viabilidad celular	45
7.	RESULTADOS: INJERTO DE PVC-g-4VP	46
8.	RESULTADOS: SINTESIS [PVC-g-4VP]-g-SBMA	48
8.1.	Efecto del porcentaje de 4VP injertado	48
8.2.	Efecto de la dosis	49
8.3.	Efecto de la tasa de dosis	50
8.4.	Efecto de la concentración.....	51
8.5.	Efecto del disolvente	52
8.6.	Efecto de la temperatura y el tiempo de reacción.....	53
9.	RESULTADOS: CARACTERIZACIÓN [PVC-g-4VP]-g-SBMA	54
9.1.	Espectroscopia infrarroja con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)	54
9.2.	Análisis termogravimétrico (TGA)	54
9.3.	Hinchamientos	56
9.4.	Ángulos de contacto	58
9.5.	Efecto de la fuerza iónica	59
9.6.	pH sensibilidad	59
9.7.	Adsorción de proteínas en muestras de (PVC-g-4VP)-g-SBMA	60
9.8.	Carga de ciprofloxacino.....	61
9.9.	Liberación de ciprofloxacino.....	62
9.10.	Viabilidad celular	65
9.11.	Actividad antimicrobiana.....	66
9.12.	Adhesión bacteriana.....	67
10.	RESULTADOS: FUNCIONALIZACIÓN DE CATÉTERES PVC-g-4VP CON PS [(PVC-g-4VP)F(4VPPS)].....	69
10.1.	Efecto de la concentración de PS	70
10.2.	Efecto de la temperatura	71
10.3.	Efecto del tiempo de reacción.....	71

11.	RESULTADOS: CARACTERIZACIÓN DE (PVC-g-4VP)F(4VPPS).....	73
11.1.	Espectroscopia infrarroja	73
11.2.	Análisis térmico por TGA.....	74
11.3.	Hinchamientos en agua y PBS.....	75
11.4.	Ángulo de contacto	76
11.5.	pH sensibilidad.....	77
11.6.	Adsorción de proteínas en muestras de (PVC-g-4VP)F(4VPPS).....	78
11.7.	Carga y liberación de ciprofloxacino	78
11.8.	Viabilidad celular.....	83
11.9.	Actividad antimicrobiana.....	83
11.10.	Adhesión bacteriana.....	85
12.	RESULTADOS: SINTESIS DIRECTA DE (PVC-g-4VP)-g-4VPPS.....	86
13.	CONCLUSIONES	88
	REFERENCIAS	89
	ANEXO 1. Preparación de soluciones amortiguadoras	96
	ANEXO 2. Curva de calibración para cuantificar adsorción de BSA	96
	ANEXO 3. Curva de calibración para la carga de ciprofloxacino	97
	ANEXO 4. Curva de calibración para la liberación de ciprofloxacino.....	97

SIGLAS Y ABREVIATURAS

4VP	4-vinil piridina
4VPPS	4-vinil piridina propil sulfobetaina
AIC	Criterio de información de Akaike
BCA	Ácido bicinconinico
BSA	Albumina de suero bovino
CAUTI	Infecciones del tracto urinario asociadas a catéteres
CIPROX	Ciprofloxacino
CLABSI	Bacteriemia asociada al uso de catéteres de línea central
DLVO	Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek
EDL	Doble capa eléctrica
FI	Fuerza iónica
FTIR-ATR	Espectroscopia infrarroja con reflectancia total atenuada
HCAI	Health Care Associated Infections
HEMA	2-hidroxietil metacrilato
LET	Transferencia lineal de energía
M	Molaridad
MSC	Criterio de selección de modelo
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
OEG	Oligo (etilenglicol)
PEG	Poli(etilenglicol)
PGA	Poli (ácido glicólico)
PBS	Solución buffer de fosfatos
PLA	Poli (ácido láctico)
PP	Polipropileno
PS	1,3-propano sulfona
PU	Poliuretano
PVC	Poli(cloruro de vinilo)
R²	Índice de correlación
SBMA	Hidróxido de [2-(metacriloxi) etil] dimetil-(3-sulfopropil) amonio
SDS	Dodecilsulfato sódico
T	Temperatura
TGA	Análisis termo gravimétrico
UCI	Unidad de cuidados intensivos
VAP	Infecciones en el tracto respiratorio
VDW	Van der Waals

ABSTRACT

The biocontamination of both urinary and central line catheters is one of the principal causes of nosocomial infections, mainly in patients who are in intensive care units. One of the reasons is that these devices are made with polymeric materials that tend to microorganisms contamination in biological environments. Therefore, searching for materials resistant to bacterial contamination is relevant to the health field. There are two kinds of materials that prevent microbial infection in medical tools, antimicrobial and antifouling materials. The formers inhibit or kill microorganisms by some active agent release or by the presence of one on their surface. And the seconds prevent microorganism adhesion through hydration layers or lower the surface energy since low surface energy leads to high interfacial tension between the liquid and the substrate, which minimizes adhesion.

In the search for materials that combine the two antimicrobial mechanisms to provide more resistance to bacterial contamination and avoid the formation of biofilms in medical devices. This work proposed the modification using ionizing radiation of PVC catheters with 4-vinyl pyridine, a pH-sensitive polymer, which endowed the catheter with the ability to load and release an antibiotic (ciprofloxacin). The grafted catheters (PVC-g-4VP) were modified in two ways: First was used ionizing radiation to graft sulfobetaine methacrylate (SBMA), an aliphatic zwitterionic polymer recognized for its antifouling capacity, to form (PVC-g-4VP)-g-SBMA catheters. And for the second modification, the functionality of PVC-g-4VP catheters with 1,3-propanesultone (PS) to form (PVC-g-4VP)F(4VPPS) catheters was realized. 4VPPS is an aromatic zwitterionic polymer that provides antifouling capability and thermal resistance. All the materials were characterized by infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis, swelling tests, and contact angle to determine surface characteristics. In addition, the capacity of the materials to deliver ciprofloxacin, inhibit bacterial growth, decrease bacterial and protein adhesion, and stimulate cell growth was evaluated. These materials have potential applications for manufacturing medical devices with antimicrobial properties, which can reinforce the prophylactic potential or even help treat infections.

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación de las superficies poliméricas es un problema que afecta en gran medida a la industria médica, ya que al trabajar en un ambiente biológico los materiales tienden a sufrir biocontaminación, desencadenando en el desarrollo de infecciones por microorganismos, especialmente bacterias. La contaminación biológica de dispositivos médicos conduce a la formación de infecciones propias de la asistencia médica o nosocomiales, las cuales afectan a una gran cantidad de pacientes a nivel mundial, siendo una de las principales causas de aumento en el tiempo de hospitalización; elevando la mortalidad y el gasto de recursos.

Por lo anterior el desarrollo de biomateriales se ha enfocado en la búsqueda de superficies resistentes a la contaminación, como una alternativa para la prevención de enfermedades nosocomiales. Una de las posibilidades para alcanzar este objetivo es la modificación superficial de los polímeros convencionales para mejorar sus capacidades antimicrobianas. Existen dos categorías de materiales que previenen las infecciones microbianas, ya sean como materia base o como recubrimientos, los materiales antimicrobianos y los antiincrustantes. Los primeros inhiben o matan a los microorganismos, y los segundos evitan la adhesión. Actualmente, la mayoría de productos comercializados se basan en la liberación de agentes activos adsorbidos o impregnados en el material de la herramienta, principalmente plata y antibióticos.

En este trabajo de tesis se buscó el desarrollo de catéteres con capacidad antimicrobiana dual, es decir, una combinación de propiedades antimicrobianas y antiincrustantes para reforzar el potencial profiláctico o incluso ayudar al tratamiento de infecciones; a partir de la modificación con radiación gamma de catéteres de poli(cloruro de vinilo) (PVC) con 4-vinilpiridina (4VP) y polímeros zwitteriónicos, para dotarlos de pH-sensibilidad y capacidad antiincrustante. La pH-sensibilidad permitió crear un sistema estímulo responsivo que se empleó para la carga y liberación de ciprofloxacino, un antibiótico de amplio espectro, y los polímeros zwitteriónicos dieron características antifouling o antiincrustantes al sistema.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Contaminación de superficies

Las superficies de los materiales sufren contaminación dependiendo de la aplicación, es decir, cualquier superficie expuesta a un medio, líquido, gaseoso o sólido, interactúa con este, lo cual altera sus propiedades químicas y físicas. El grado y tipo de contaminación dependerá de la naturaleza de la superficie y del medio en contacto. Según el tipo de contaminante se presentan generalmente cuatro formas de contaminación, las cuales se esquematizan en la Figura 1 [1,2].

Contaminación coloidal: se da por la acumulación de partículas coloidales en la superficie del material, tales como partículas de sílice, hierro, azufre, arcilla, polisacáridos, proteínas y agregados húmicos. Un sistema coloidal está formado por dos fases generalmente una fase fluida (líquido o gas) y una dispersa (sólido o líquido) en menor cantidad. El tamaño de las partículas dispersas en estos sistemas se encuentra entre 1 nm y 1 μm , por lo que las fases no se separan con facilidad, sin embargo, tienden a generar agregados o coágulos al someter el medio a algún estímulo. Este tipo de contaminación es uno de los principales problemas de las membranas ósmosis inversa, nanofiltración, y ultrafiltración, ya que las partículas se acumulan en la superficie disminuyendo la efectividad de la membrana.

Contaminación orgánica: resulta de la deposición de sustancias orgánicas presentes en el medio, principalmente contaminantes no biológicos como ácidos grasos, tensoactivos, ácido húmico, agentes antiespumantes, colorantes e hidrocarburos. Aunque también pueden incluirse sustancias coloidales complejas como macromoléculas, proteínas y polisacáridos. Estas sustancias generan una capa de gel orgánico sobre la superficie.

Contaminación inorgánica o incrustación mineral: es el resultado de la deposición y cristalización de sales, óxidos e hidróxidos en la superficie. Entre los principales contaminantes de este tipo están los carbonatos, fosfatos y sulfatos de calcio y bario, el cloruro de sodio, los óxidos de hierro y aluminio y los silicatos. Los iones y sales en solución precipitan debido a cambios de pH, por oxidación o poca solubilidad, generando depósitos cristalizados. Esta es una dificultad para el trabajo con medios de alta concentración de sales como procesos de ósmosis inversa e intercambiadores de calor con agua dura.

Biocontaminación o contaminación biológica: envuelve la contaminación con organismos activos biológicamente, microorganismo como algas unicelulares, hongos, bacterias y virus, así

como sus matrices extracelulares. Estos microorganismos tienen a formar biopelículas en las superficies, cuando el medio ofrece condiciones favorables de temperatura y nutrientes, siendo un problema grave especialmente para la industria médica y alimenticia.



Figura 1. Tipos de contaminación de superficies

2.2. Contaminación de dispositivos médicos

El área médica es uno de los principales promotores del desarrollo tecnológico y científico, puesto que siempre se busca mejorar las condiciones para mantener el bienestar físico. En este ámbito, el empleo de materiales poliméricos ha tenido auge en las últimas décadas para la fabricación de herramientas de uso común en los tratamientos médicos como implantes ortopédicos, catéteres, líneas de infusión y diálisis, stents vasculares e injertos, y suturas; debido a la versatilidad de sus propiedades físicas y químicas como resistencia al ataque químico, biocompatibilidad, bajo peso, disponibilidad, versatilidad y facilidad de fabricación, que les permiten adaptabilidad y compatibilidad con los tejidos vivos [3–5]. Los materiales poliméricos son macromoléculas formadas por la unión covalente de moléculas más pequeñas llamadas monómeros, de cuya estructura dependen las características del material, pudiendo ajustarlas con la formación de copolímeros o modificaciones tipo injerto. Entre los biomateriales poliméricos más utilizados se encuentran: poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido glicólico) (PGA), poli(caprolactona) (PCL), polipropileno (PP), poliuretano (PU) y poli(cloruro de vinilo) (PVC).

Sin embargo, al entrar en contacto con el entorno biológico las superficies poliméricas son propensas a la contaminación tanto biológica por microorganismos como coloidal por formación de trombos en respuesta al rechazo del cuerpo extraño. La contaminación biológica de dispositivos médicos conduce a la formación de infecciones propias de la asistencia médica, las cuales se conocen como infecciones nosocomiales o HCAI por sus siglas en inglés *Health Care Associated Infections* [6,7]. Estas pueden ser el resultado de la proliferación bacteriana, fúngica o de la presencia de virus. La gravedad, resistencia y recurrencia de la infección dependerán del tipo de microorganismo invasor, la vulnerabilidad paciente, las condiciones ambientales y las instalaciones médicas. Las infecciones nosocomiales afectan a una gran cantidad de pacientes a nivel mundial, siendo una de las principales causas de aumento en el tiempo de hospitalización; elevando la mortalidad y el gasto de recursos [8–10].

Según encuestas realizadas en diferentes países se estima que aproximadamente una de cada siete hospitalizaciones presenta incidencia de infección nosocomial, de las cuales aproximadamente el 25% están asociadas al uso de dispositivos médicos, así las infecciones del tracto urinario asociadas a catéteres (CAUTI) constituyen ~34.3% (68% de todas las infecciones urinarias), al tracto respiratorio (VAP) ~33.1% (39% de las infecciones respiratorias) y bacteriemia asociada al uso de catéteres de línea central (CLABSI) ~32.7 % (84% de infecciones en el torrente sanguíneo) [11,12]. La mayor incidencia se presenta en pacientes de la unidad de cuidados intensivos (UCI), donde cerca del 51% de los pacientes tienen este tipo de afecciones; o en pacientes con predisposición a infecciones por: edades extremas, pobre estado nutricional, obesidad, diabetes o infecciones coexistentes [13]. Estas estadísticas provienen de países desarrollados, se estima que en países en vía de desarrollo las tasas de este tipo de infecciones pueden aumentar de 3 a 5 veces [14].

2.3. Biopelículas bacterianas

Las bacterias constituyen los patógenos más comunes asociados a infecciones nosocomiales, cerca del 80% de las HCAI se deben a estos microorganismos, principalmente a *Staphylococcus aureus* y *epidermidis*, *Acinetobacter*, *Bacteriodes fragilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* [15]. Mientras que solo el 5% son causadas por virus, que se transmiten a través de la interacción paciente-personal médico, por vía respiratoria o por la ruta fecal-oral [14]. El control de las infecciones bacterianas se dificulta porque estos

microorganismos pueden provenir de la flora natural del paciente y se desarrollan al grado de infección cuando su sistema inmune se debilita a causa de alguna enfermedad, lo que dificulta la prevención [16]. Aproximadamente, el 65% de las infecciones bacterianas involucran la formación de una biopelícula bacteriana, causada por la adhesión de bacterias planctónicas a una superficie formando una estructura característica y cubriéndolas con una matriz extracelular, barrera de polisacáridos, que les brinda protección [17]. Esta barrera física provee al patógeno de resistencia a los antibióticos y a las defensas del huésped, debido a diferentes mecanismos como penetración lenta e incompleta del fármaco, disminución en la velocidad metabólica de las bacterias y cambios génicos que conllevan a la formación de células persistentes [18]. Para los dispositivos médicos el tratamiento de este tipo de infecciones requiere la eliminación del dispositivo.

El ciclo vital de una biopelícula está constituido por tres etapas: adhesión, crecimiento y separación. En la Figura 2 se muestra el proceso, la primera fase (I) implica el acondicionamiento de la superficie y la acumulación y unión de una pequeña población de microorganismos; al poner en contacto un dispositivo médico con los tejidos, la superficie es recubierta de proteínas y otras moléculas del medio, las cuales al adherirse forman una película de acondicionamiento que permite una interacción más amigable entre el material y los microorganismos. Así cuando las bacterias encuentran una superficie sólida acondicionada, proceden a formar una unión vía apéndices (fibrinas, flagelos) o por secreción de proteínas que facilitan la adhesión. Posteriormente, durante la fase de crecimiento (II) el microorganismo, adherido a la superficie, inicia la división celular formando microcolonias que elaboran los exopolisacáridos que compondrán la barrera protectora del “biofilm” o biopelícula, la cual dependerá del tipo de bacteria y las condiciones en las que se desarrolla. En la etapa final (III) se da la maduración de la biopelícula, llegados a este punto las bacterias se liberan de la superficie, ya sea individualmente o por conglomerados que pueden colonizar nuevamente la superficie cerrando el ciclo, y causando la propagación de la infección [19,20].

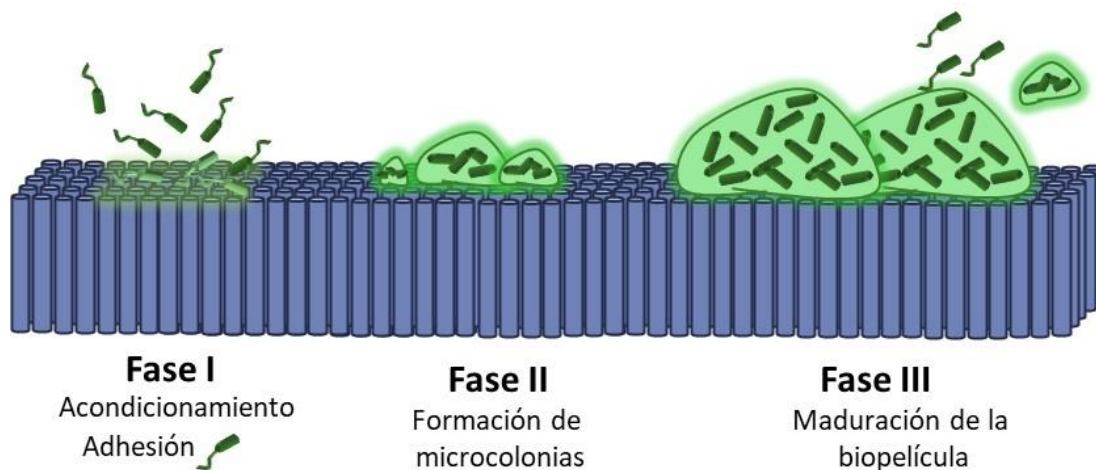


Figura 2. Procesos de formación de una biopelícula bacteriana

La contaminación coloidal es otro de los problemas de los dispositivos médicos y está asociada a la poca hemocompatibilidad [21]. Cuando un material entra en contacto con la sangre humana y no cuenta con la suficiente compatibilidad, desencadena una respuesta multimecanística del sistema, que conlleva a complicaciones trombóticas, causadas por los procesos de coagulación, los mecanismos inflamatorios celulares y la acción de plaquetas, lo cual afecta el rendimiento de los dispositivos, manifestándose clínicamente con oclusión trombótica y embolización de este principalmente en dispositivos cardiovasculares como stents vasculares, injertos y catéteres, así como equipos de derivación y oxigenación cardiopulmonar, válvulas protésicas y dispositivos de asistencia ventricular [22,23], lo que conlleva a la necesidad de recurrir a fármacos antitrombóticos con algunos efectos secundarios [24].

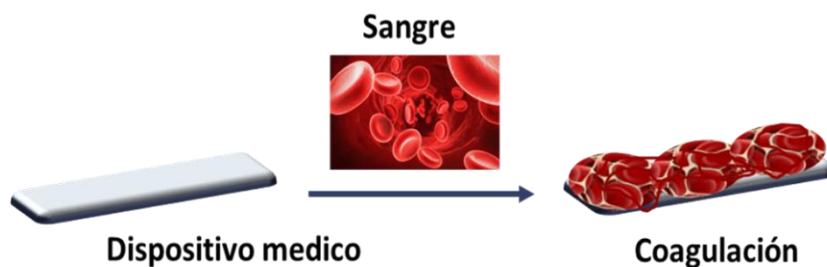


Figura 3. Coagulación en dispositivos médicos

Por lo anterior el desarrollo de biomateriales se ha enfocado en la búsqueda de superficies resistentes a la contaminación y hemocompatibles, como una alternativa para la prevención de enfermedades nosocomiales y la generación de trombos. Una de las posibilidades para alcanzar

este objetivo es la modificación superficial de los polímeros convencionales para mejorar sus capacidades antimicrobianas, antiincrustantes y hemocompatibilidad, manteniendo sus propiedades mecánicas. Las propiedades mecánicas del biomaterial dependerán directamente de la aplicación; por ejemplo, una prótesis de cadera debe ser fuerte, rígida y de uso prolongado, mientras que un catéter debe ser flexible y su tiempo de empleo solo de días [25–28].

2.4. Adhesión de proteínas a las superficies

La adsorción de proteínas en las superficies es un fenómeno común de los procesos biológicos, como la señalización transmembrana y la coagulación. Al entrar en contacto con una interfaz sólida las proteínas tienen adherirse constituyendo a la formación de la película acondicionadora de la superficie, que es el primer paso para cualquier tipo de contaminación en superficies expuestas a medios biológicos; siendo un método efectivo para la prevención de contaminación el empleo de superficies capaces de evitar su adsorción. Sin embargo, lograr este tipo de materiales es complicado puesto que hay muchos factores que influyen en este proceso que es guiado por las fuerzas inter e intra moleculares y van a depender del sistema empleado. Para entender un poco mejor el fenómeno se debe tener en cuenta las fuerzas intermoleculares y las propiedades de las proteínas. Por lo cual, para el desarrollo de biomateriales es importante considerar el microambiente en el cual va a emplearse el dispositivo, por ejemplo: en los catéteres vasculares la película acondicionadora es una acumulación de plaquetas y proteínas plasmáticas (albúmina, fibrinógeno y fibronectina), mientras que en los catéteres urinarios se acumulan capas de proteínas y electrolitos de la orina [29,30].

El proceso de adhesión envuelve varios fenómenos como rearrreglos estructurales, cambios en la afinidad de la superficie, efectos cooperativos positivos, efectos por exclusión de tamaño y agregación superficial. Todo influenciado por el medio (parámetros externos), la proteína y la superficie, que determinan el tipo y el grado de interacción que describen la adhesión.

Influencia de los parámetros externos: Las fuerzas de interacción tanto inter como intramoleculares son dependientes de los factores externos como temperatura (T), pH y fuerza iónica (FI). La temperatura tiene efecto sobre el estado de equilibrio y la cinética de adsorción, al incrementar la T hay una aceleración de la difusividad a través de la superficie, las moléculas tienen mayor energía para superar las barreras energéticas de repulsión. El pH por su parte determina el estado electrostático de la proteína y la superficie; las proteínas son moléculas

zwitteriónicas cuya carga está determinada por el pH del medio, el pH al cual la mayoría de moléculas zwitteriónicas existen como ion dipolar neutro se conoce como punto isoeléctrico, bajo este hay mayor proporción de moléculas catiónicas y sobre este más aniónicas, lo que influye en el grado de empaquetamiento por los cambios en la doble capa eléctrica e interacciones ion-ion e ion-dipolo [31]. Por su parte la FI determina la distancia de amortiguación del potencial eléctrico en un electrolito (longitud de Debye), a mayor FI hay una disminución de la doble capa eléctrica repulsiva por un apantallamiento de los iones, permitiendo la agregación de la proteína [32].

Influencia de las propiedades de la superficie: Las características de la superficie como energía superficial, polaridad, carga y morfología juegan un papel importante en su contaminación, puesto que es lo que predispone la superficie a la adhesión de agentes externos proporcionando sitios de unión. En el campo de los biomateriales, se buscan superficies biomiméticas, es decir, superficies que imiten el entorno biológico, permitiendo la compatibilidad y evitando contaminación no deseada. En general, las proteínas tienen una afinidad más alta por sustratos no polares, de tensión superficial alta y cargados, los materiales con estas características logran interacciones sustrato-proteína más fuertes en la interfaz (ion-ion, ion-dipolo e interacciones hidrofóbicas). Además, según Belfort, et al. las superficies no polares facilitan la reorientación conformacional de las proteínas, ya que ejercen un efecto desestabilizador, lo que permite una mayor interacción con la superficie [33]. Además, se ha encontrado que la afinidad entre una superficie y una proteína cargada negativamente, aumenta si la superficie es hidrofóbica o tiene menor potencial eléctrico.

Influencia de las propiedades de las proteínas: Las proteínas son macromoléculas formadas por la unión de aminoácidos mediante enlaces peptídicos, la secuencia de aminoácidos determina la función de la proteína. Además, son moléculas suaves y que cambian de configuración estructural dependiendo del ambiente [34]. Entonces para comprender cómo las proteínas interactúan con las superficies es importante considerarlas un sistema complejo, móvil y en tres dimensiones. En una sola proteína existen muchas posibilidades de interacción con la superficie, debido a la presencia de diferentes dominios cuya abundancia varía dependiendo de la proteína (Figura 4) [35].

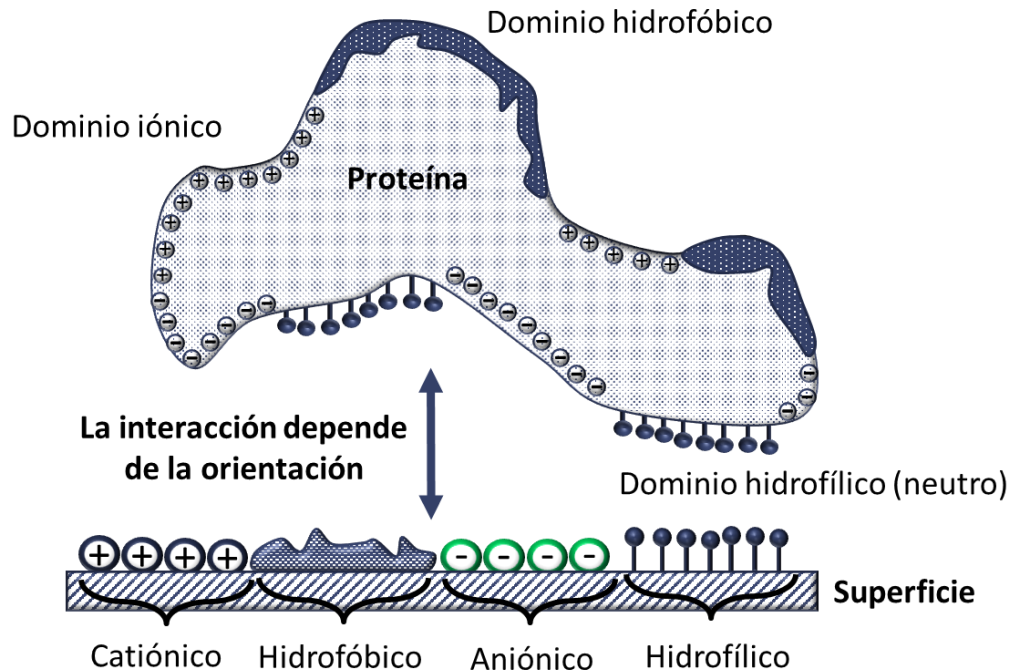


Figura 4. Interacción superficie-proteína, dependencia de la orientación y los dominios

Las proteínas generalmente son moléculas asimétricas, que rotan libremente, pero en contacto con una superficie se orientan dependiendo de la parte de la proteína que interactúe y de su concentración, puesto que la interfaz proteína-superficie, se ve afectada por interacciones proteína-proteína, que pueden ser repulsivas o atractivas. La interacción con la superficie induce ganancias de energía que la proteína trata de minimizar reorganizándose y perdiendo su estructura, en la adhesión reversible la unión es tan débil que no induce cambios conformacionales, sin embargo, al producirse el cambio la unión se fortalece y la adhesión se vuelve irreversible. Esto ocurre porque la adhesión de macromoléculas es un proceso que generalmente no se encuentra en equilibrio (debido al gran tamaño de las moléculas), por lo que depende del tiempo y los estados metaestables [33]. Además, es necesario considerar que un medio multicomponente la adhesión es competitiva, las moléculas pequeñas y en mayor concentración se unen primero y luego se intercambian por moléculas que se adsorben con más fuerza [36]. El proceso de adhesión a menudo es impulsado por la ganancia entrópica que surge de la deshidratación de las superficies y los reordenamientos estructurales de la proteína.

En general se tiene que las proteínas pequeñas y rígidas (~15 kDa) tiene poca tendencia a alteraciones estructurales por adsorción, como la lisozima, la β -lactoglobulina y la α -

chymotrisina. Las proteínas medianas (~70 kDa) son las más abundantes en el plasma (>1 mg/mL) usualmente presentan reorientaciones conformacionales en contacto con superficies, ejemplos son la albumina, la transferrina, el fibrinógeno y las inmunoglobulinas. Las proteínas de alto peso molecular (~300 kDa) tienen mayor afinidad puesto que tienen más puntos de unión, se destacan las lipoproteínas, estructuralmente lábiles por lo que son propensas a cambios estructurales además poseen alta afinidad por superficies hidrofóbicas, y las glicoproteínas que prefieren superficies hidrofílicas [32]. Los cambios conformacionales pueden afectar la funcionalidad de la proteína, pero permiten generar la capa acondicionadora para la unión de contaminantes más complejos.

2.5. Superficies resistentes a la contaminación

A lo largo de los años, el desarrollo de polímeros resistentes a la contaminación ha pasado por varios modelos básicos, se reconocen tres generaciones de polímeros que brindan esta resistencia: los polímeros a base de 2-hidroxietil metacrilato (HEMA), los polímeros basados en polietilenglicol (PEG) u oligo (etilenglicol) (OEG) y los polímeros zwitteriónicos [37].

Los polímeros a base de HEMA, se destacan por ser la primera generación de materiales antiincrustantes, estos están formados por monómeros eléctricamente neutros, con alta cantidad de grupos hidroxilo, que le permiten interactuar con medios acuosos, es decir, son polímeros hidrofílicos. Esta hidrofiliidad es lo que brinda su resistencia a la contaminación, ya que los grupos hidroxilo forman enlaces de hidrógeno con el agua e intramoleculares, que brinda estabilidad a la interfaz polímero-solvente, dando como resultado una capa de hidratación o solvatación estable debido a las fuerzas de VDW, sin embargo, en medios complejos como los medios biológicos, esta estabilidad se ve superada por las interacciones con macromoléculas en sitios afines [38]. Además, al no poseer carga las fuerzas de EDL son débiles y la barrera puesta por fuerzas estéricas se supera fácilmente.

Segunda generación, los polímeros basados en PEG u OEG presentan una resistencia significativa a la contaminación por coloides (adsorción de proteínas) y a la biocontaminación (adhesión celular), que depende del sistema estudiado. Esta resistencia a la contaminación se atribuye principalmente a efectos de exclusión o repulsión estérica, puesto que son polímeros neutros con alta movilidad lo que incrementa su radio de giro, el grado de resistencia en estos sistemas está estrechamente relacionado con su densidad en superficie, que determina el grado

de empaquetamiento y la flexibilidad de sus cadenas, además son polímeros hidrofílicos que presentan una capa de solvatación estable. Aunque este es un material empleado frecuentemente en condiciones que promueven la contaminación, los grupos PEG y OEG tienden a descomponerse por hidrólisis en presencia de oxígeno, además sistemas con PEG injertado han presentado pérdida de su capacidad anticontaminante a temperatura fisiológica [39].

La tercera generación son los polímeros zwitteriónicos, macromoléculas neutras que poseen un gran número de iones con carga opuesta a lo largo de su cadena, esta característica les permite interactuar fácilmente con el agua siendo muy hidrofílicos. Su resistencia a la contaminación se debe a la formación de una capa de hidratación electrostáticamente estabilizada. En este caso la hidratación se da por interacciones ion-dipolo, más fuertes que las dadas por las fuerzas VDW, los iones generan fuerzas repulsivas de doble capa eléctrica, que producen una barrera energéticamente alta que evita la contaminación de la interfaz [40,41]. La eficacia de estos sistemas depende de factores como la fuerza iónica del medio, la densidad de polímero en la superficie y el tipo de polímero. Además, se ha estudiado la resistencia a la contaminación en superficies superhidrofóbicas y sistemas combinados.

2.6. Polímeros zwitteriónicos

Los polímeros zwitteriónicos también conocidos como polibetaínas son una subclase de polianfolitos que se caracterizan porque las unidades monoméricas que los conforman, que tiene igual número de grupos catiónicos y aniónicos, que se encuentran ionizados en un rango de pH amplio. Por lo que generalmente en condiciones fisiológicas la carga neta del polímero es cero, pese a tener gran cantidad de iones en la estructura. Esto les permite tener fuertes interacciones de Coulomb (ion-ion, ion-dipolo) siendo muy hidrofílicos, a la vez que no muestran comportamientos típicos de polielectrolitos como la fuerte repulsión interna, sino que se asemejan a polímeros polares no iónicos, además son polímeros biocompatibles y tolerantes a ambientes con alta fuerza iónica [42].

Existen diferentes estructuras monoméricas zwitteriónicas (Figura 5), sin embargo, la estructura (3) es la más estudiada puesto que presenta facilidad de síntesis, que se da por la cuaternización de grupos amonio. Los grupos imitadores de la fosfatidilcolina presentan una estructura tipo (2) [43].

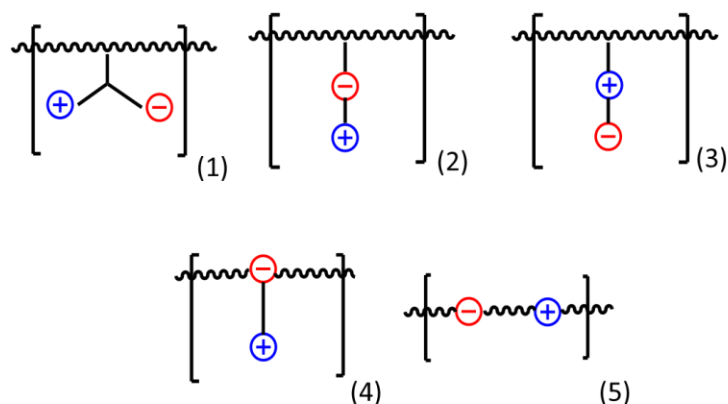


Figura 5. Esquemas de las estructuras de polímeros zwitteriónicos

Existen diferentes caminos que llevan a la formación de un polizwitterion, como se muestra en la Figura 6. El método directo es la polimerización de un monómero zwitteriónico (ruta 1), sin embargo, por esta ruta la síntesis se ve afectada por la baja solubilidad del polizwitterion, debido las fuertes interacciones electrostáticas inter moleculares, por lo que encontrar solventes apropiados que permitan la polimerización con lleva un reto en los procesos de fabricación. En general, disolventes próticos polares como trifluoroetanol y el hexafluoroisopropanol y soluciones salinas acuosas permiten buena solubilidad, ya que apantallan la interacción electrostática por solvatación de los iones, sin embargo, estos no suelen ser compatibles con muchos métodos de polimerización, pudiendo interferir con los catalizadores o generar impurezas en el producto final. Adicionalmente, la preparación de un monómero de ion híbrido estable presenta dificultades. Por lo que se han desarrollo otras estrategias de síntesis; en las rutas 2 y 3 se da la formación del zwitterion después de la polimerización, es decir, se forman polímeros catiónicos o aniónicos que finalmente son funcionalizados con grupos de carga opuesta. Esto se puede hacer por reacciones de adición, sustitución o eliminación de grupos precursores (x). Finalmente, la ruta 4 se da por la polimerización de grupos precursores neutros, que una vez polimerizados, permiten la formación de los sitios tanto catiónicos como aniónicos.

Pese a que existen gran cantidad de cationes y aniones que pueden combinarse para formar un zwitterion, la síntesis de monómeros zwitteriónicos estables en condiciones ambientales es compleja debido a:

- Deben tener una ventana de ionización alta (pH de 2 a 12), cuya ionización no dependa de equilibrios de protonación/deprotonación, lo que se logra con grupos apagados como

aminas cuaternarias o restos fuertemente ácidos o básicos (ácido sulfónico o los grupos guanidina).

- La molécula debe permitir la adición de un grupo polimerizable y los grupos iónicos deben ser inertes en ambientes acuosos.
- La molécula requiere estabilidad a ataques químicos.

En general, los grupos catiónicos están formados por especies de amonio cuaternario o aminas protonadas, principalmente alifáticas cuyas formas protonadas tienen pKa en el rango de 8 a 10. Por su parte en los grupos aniónicos los que brindan mayor estabilidad y facilidad de fabricación son los fosfatos, sulfonatos y carboxilatos, también se han intentado con fosfonatos, sulfatos, boronatos, sulfonamidas y sulfonimidias, pero son menos eficientes. Los carboxilatos se caracterizan por que su acidez depende de la distancia al sitio catiónico, por ejemplo, para aminocarboxilatos el pKa varía dependiendo del número de metilenos entre sitios iónicos así: 1-1.8, 2-3.3, 3-4.0 y 4-4.2, lo cual se atribuye al efecto de atracción de la carga positiva, que estabiliza la base conjugada con mayor facilidad. La estabilidad de la base conjugada determina en gran medida la acidez de las moléculas, bases conjugadas estables son propias de ácidos fuertes. Esta estabilidad también disminuye la interacción con el medio y son más inertes, por lo que la hidrofilia de los grupos aniónicos disminuye así $-\text{COO}^- > (\text{RO})_2 - \text{P} (= \text{O}) \text{O}^- > -\text{SO}_3^- > -\text{O} - \text{SO}_3^-$.

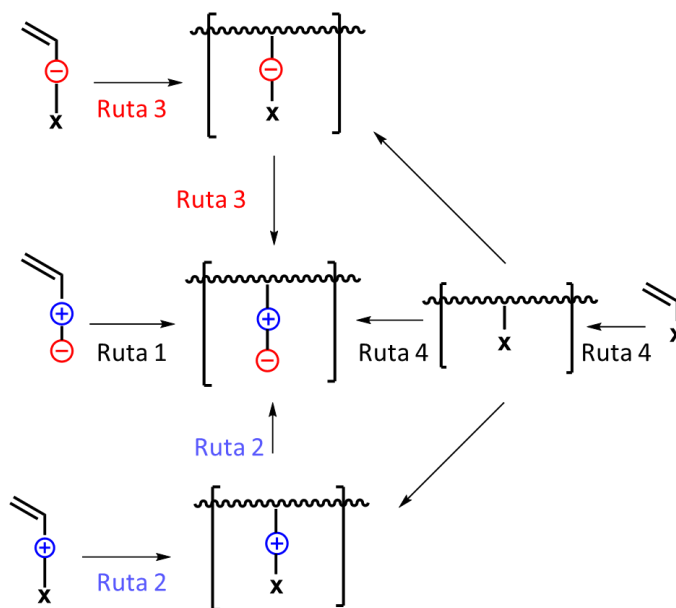


Figura 6. Esquema de las rutas para la síntesis de polímeros zwitteriónicos

En la síntesis de compuestos zwitteriónicos el punto clave es el acoplamiento de los grupos de carga opuesta; la reacción más común es la alquilación de aminas con grupos con radicales aniónicos. La formación directa de la betaína por este método ha sido efectiva principalmente para fosfobetainas y sulfobetainas, siendo estas últimas de mayor estabilidad por la baja reactividad de los grupos sulfonatos. La alquilación presenta mayor cantidad de ventajas al realizarse por reacciones de adición puesto que se evitan pasos mejorando el rendimiento de la reacción, y se logran mediante alquilaciones de apertura de anillo con heterociclos, sin embargo, estas solo funcionan con heterociclos tensos de 3 o 4 componentes [44].

2.7. Fuerzas de inter e intramoleculares

Las fuerzas intramoleculares son las que mantienen unidos los átomos dentro de una molécula, son fuerzas atractivas fuertes que pueden tener origen cuántico (enlaces covalentes) o electrónico (enlaces iónicos). Por otra parte, las fuerzas intermoleculares son las que regulan la interacción entre las moléculas, o de moléculas con otro tipo de partículas como átomos o iones, estas pueden ser atractivas o repulsivas, y pese a ser más débiles que las fuerzas intramoleculares y de corto alcance, rigen gran parte del comportamiento macroscópico de las moléculas, determinando propiedades físicas como la presión de vapor, la viscosidad, el punto de fusión, la tensión superficial, el estado de agregación, la densidad y los fenómenos de absorción, ya que son muy numerosas [45]. Las diferentes clases de fuerzas intermoleculares se muestran en la Figura 7, tanto entre moléculas individuales como en sistemas complejos de interacción de superficies.

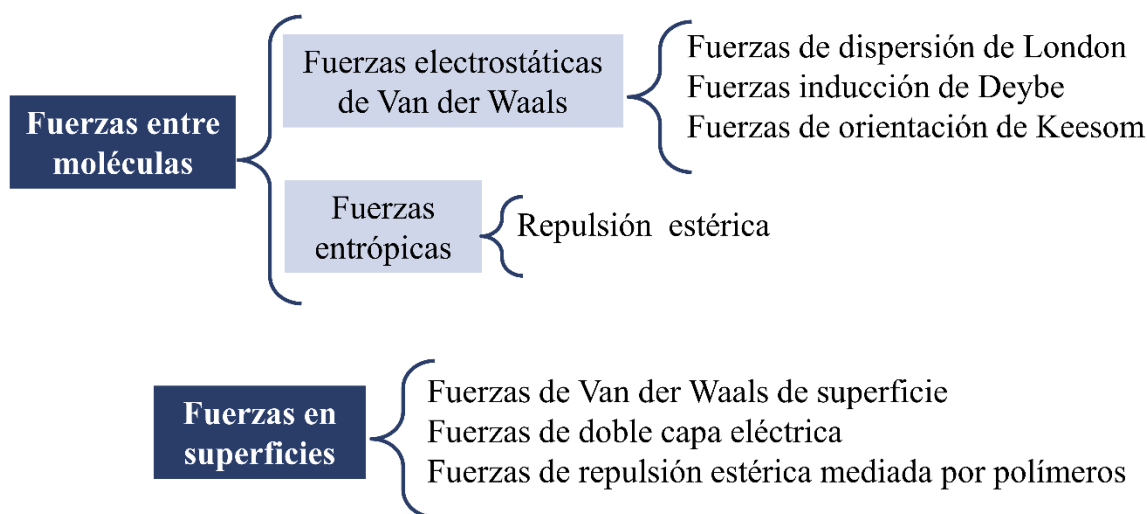


Figura 7. Clasificación de las fuerzas intermoleculares

En la mayoría de los sistemas no se presenta solo un tipo de fuerza intermolecular, sino que es un conjunto de estas, así las características del sistema están dadas por un balance entre fuerzas de repulsión y atracción, que dependiendo de las condiciones se dominan e intercambian. Debido a que las fuerzas intermoleculares dependen del sistema, existe una brecha evidente entre conocer la ley de fuerza entre dos moléculas y comprender como se comportará un conjunto de éstas donde hay interacción con múltiples vecinos.

Doble capa eléctrica: La doble capa eléctrica es una organización que aparece en la interfaz entre una superficie y un fluido, siendo más evidente para superficies cargadas en medios con alta constante dieléctrica, como el agua. Esta doble capa genera una fuerza repulsiva que junto con la solvatación y las fuerzas estéricas previenen la coalescencia de coloides en medios acuosos, siendo muy importante para los sistemas biológicos. En soluciones coloidales o suspensiones el colapso de la doble capa conlleva a la aglomeración de las partículas, el grado de estabilidad de la doble capa se puede medir con el potencial zeta [46]. La estructura de doble capa eléctrica, Figura 8, consiste en un ordenamiento de capas paralelas de carga opuesta que se organizan alrededor de una superficie.

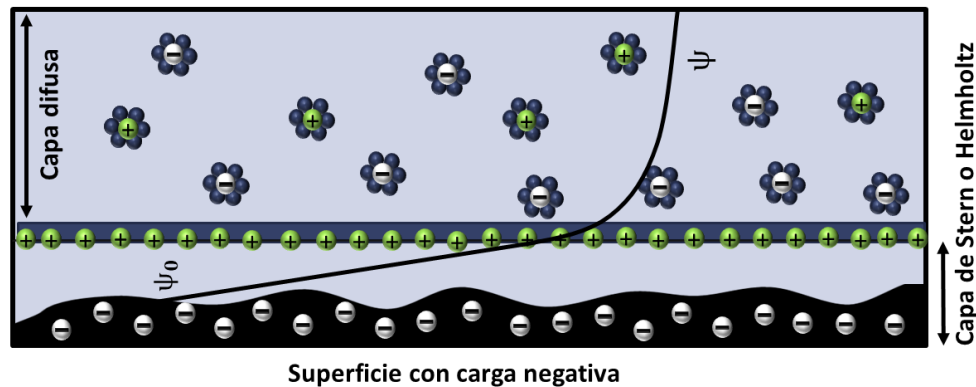


Figura 8. Esquema de la doble capa según el modelo de Stern

El modelo más aceptado actualmente para describir este fenómeno es el modelo de Stern, el cual es la combinación de los dos modelos propuestos anteriormente el modelo Helmholtz y el modelo Gouy-Chapman. En el cual la doble capa se manifiesta en dos secciones. La primera, es la capa generada entre la carga superficial y los iones adsorbidos debido a la interacción electrostática (capa de Stern o capa de Helmholtz) es el plano de máxima aproximación de los iones a la superficie. Y la segunda capa que está compuesta por los iones de polaridad opuesta

a los atraídos por la primera capa de iones, esta capa está asociada libremente al objeto por lo que no están anclados sino perturbados por el campo y es llamada capa difusa [47,48].

Una superficie en un medio líquido puede interactuar de diferentes maneras, por carga innata (existencia de iones o por ionización o disociación de grupos expuestos), adsorción o unión a los iones del medio, o intercambio de carga entre superficies. Sin importar la forma de carga ésta es estabilizada por los contraiones en la capa de Stern, que a su vez está protegida por la capa difusa. Para que se genere una estructura de doble capa no necesariamente debe haber iones en la solución, por ejemplo, una superficie iónica que interactúa con agua puede formar una doble capa debido a la polaridad del agua, es una solvatación reforzada por el efecto conjunto de los iones, esto puede llevar por ejemplo a la formación de capas gruesas de agua sobre el vidrio en un ambiente húmedo.

La teoría DLVO propuesta por Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek en 1940, describe la estabilidad de una dispersión coloidal como un equilibrio entre fuerzas atractivas y repulsivas, considerando que depende tanto de las fuerzas de Van der Waals (VDW) como de la doble capa eléctrica (EDL). Las fuerzas de Van der Waals son la parte atractiva de la ecuación y aumentan a medida que se acercan las moléculas, estas fuerzas son independientes de las fuerzas iónicas. Por otro lado, la interacción entre dos superficies con doble capa eléctrica produce una fuerza repulsiva de origen entrópico, debido a la restricción de movimiento de las moléculas de solvente entre las superficies.

Así, la atracción de Van der Waals da un término negativo y es una función de la ley de potencia inversa de la separación mientras que la fuerza de la doble capa decae exponencialmente con la separación y depende de la fuerza iónica de la suspensión. La energía potencial total del sistema ($W_T(D)$) corresponde la suma del potencial de atracción ($W_{VDW}(D)$) y el potencial de repulsión ($W_{EDL}(D)$), esta combinación resulta en perfiles de energía similares al mostrado en la Figura 9. A cortas distancias entre las superficies se observa un pozo profundo y atractivo resultado de las fuerzas de Van der Waals, que se conoce como el mínimo primario, al aumentar la distancia el perfil de energía atraviesa un máximo, o barrera de energía, y luego pasa a través de un mínimo superficial, que se conoce como el mínimo secundario, en el cual la suspensión es estable. En el punto máximo de la barrera energética, la repulsión sobrepasa la atracción, por lo que las partículas rebotan al acercarse y se mantienen dispersas. Esta barrera puede superarse

cuando la energía térmica es mayor o cuando la colisión entre partículas tiene la suficiente energía cinética. Si las superficies se logran acercar atravesando la barrera energética en el mínimo primario se da la floculación y coagulación del coloide, por lo cual la energía de la barrera indica la estabilidad del sistema [48,49].

$$W_T(D) = W_{VDW}(D) + W_{EDL}(D)$$

$$W_T(D) = \frac{1}{2}RZe^{-kD} - \frac{AR}{12D} \quad \text{Ecuación 1}$$

Z y A son las constantes de interacción de doble capa y de Van der Waals. La ecuación y las constantes van a depender de la geometría del sistema, este caso es para la aproximación de una superficie plana y la superficie de una partícula [48].

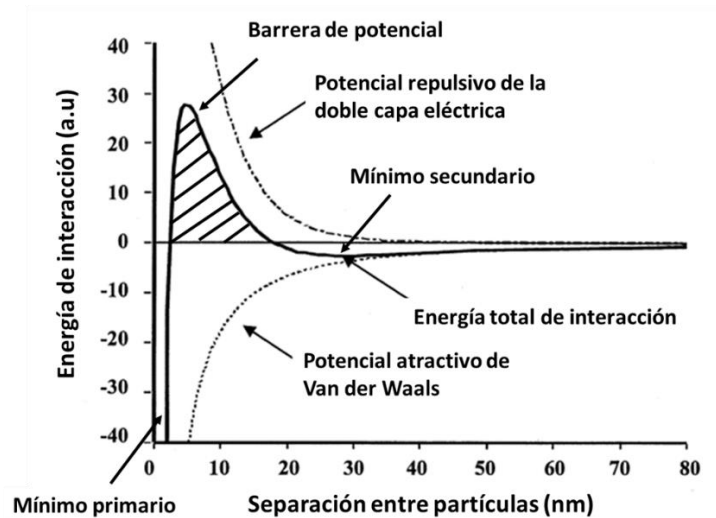


Figura 9. Teoría DLVO [48]

2.8. Materiales con capacidad antimicrobiana dual

Existen dos categorías de materiales que previenen las infecciones microbianas, en herramientas médicas ya sean como materia base o como recubrimientos, los materiales antimicrobianos y los antiincrustantes. Los primeros inhiben o matan a los microorganismos, es decir, presentan actividad antimicrobiana lo cual se logra por la liberación de algún agente activo como antibióticos y nanopartículas metálicas [50–52] o por la presencia de uno en la superficie, como la adicción de sales de amonio cuaternario o moléculas biocidas [53,54]. Los segundos evitan la adhesión, recurriendo a capas de hidratación, interacción de proteínas específicas o bajando la energía de superficie, cuando la energía de superficie es baja la tensión interfacial entre el

líquido y el sustrato es alta y la adhesión mínima, esto ocurre en superficies muy hidrofóbicas. Actualmente, la mayoría de productos comercializados se basan en la liberación de agentes activos adsorbidos o impregnados en el material de la herramienta [55,56]. Uno de los mecanismos para lograr esta administración es a través de los sistemas modificados para la liberación, lo cuales han sido un centro de interés en el área médica, puesto que permiten proveer la cantidad óptima de fármaco en el momento y lugar adecuado, dando lugar a una liberación continua en dosis terapéuticas sin llegar a niveles máximos, evitando así efectos secundarios producidos por grandes descargas de fármaco y concentrándolo en la zona afectada [57–59]. Dentro de estos sistemas están los polímeros inteligentes, es decir, polímeros que responden a estímulos externos, como temperatura, pH, fuerza iónica o luz, cambiando su estructura, lo que permite controlar la carga y liberación de agentes activos dependiendo de las condiciones del ambiente.

La pH sensibilidad es una característica de polímeros que tienen grupos ionizables (catiónicos o aniónicos) a lo largo de la cadena, los cuales presentan cargas dependiendo de las condiciones del medio, generalmente por un equilibrio de protonación/deprotonación, así polímeros como la poli 4-vinilpiridina y el poli ácido acrílico presentan esta característica. Los polímeros zwitteriónicos pese a tener grupos cargados, se caracterizan por que su ionización se mantiene en un amplio rango de pH por lo que solo muestran sensibilidad a pH extremos, por lo que en condiciones biológicas se comportan de forma estable [28]. Sin embargo, son muy sensibles a la fuerza iónica, debido al efecto de apantallamiento que ejercen los iones sobre la doble capa eléctrica, en concentraciones bajas refuerza la repulsión, pero en altas concentración pueden llevar al colapso del polímero [60].

Actualmente, el reto consiste en el desarrollo de materiales compuestos, es decir, una combinación de propiedades antimicrobianas y antiincrustantes para reforzar el potencial profiláctico o incluso ayudar al tratamiento de infecciones [61].

2.9. Radiación ionizante

La radiación ionizante es aquella con energía suficiente para ionizar la materia, generalmente es producida por sustancias radiactivas. La radiactividad es un fenómeno físico que ocurre en materiales cuyos núcleos atómicos emiten partículas subnucleares o radiación de alta energía al sufrir degradación. Durante este proceso el núcleo se convierte en otro elemento de menor

energía, llevando a la estabilización del sistema. Se pueden emitir cuatro tipos de radiaciones, los tres primeros son producto de cambios nucleares y el último de la estabilización de un núcleo excitado.

Radiación alfa (α): son partículas subatómicas que consisten en dos neutrones y dos protones, también conocidas como núcleos de helio, ${}^4_2\text{He}^{2+}$. Poseen una masa atómica de 4 uma y dos cargas positivas. Al ser partículas grandes y cargadas interactúan fácilmente con la materia perdiendo energía con rapidez por lo que su rango de penetración es limitado.

Radiación beta (β): son partículas con la masa de un electrón (5.486×10^{-4} uma), pueden ser de carga negativa o positiva, su energía depende del elemento radiactivo que las emite y no es monoenergética, es decir, se presenta como una distribución de diferentes energías con un máximo específico.

Radiación de neutrones: es la emisión de partículas sin carga de igual peso que el protón (1 uma), que se producen durante la fisión nuclear de metales pesados.

Radiación gamma (γ): es radiación electromagnética de alta energía, con una longitud de onda del orden de 10^{-2} nm, menor a la de los rayos X. Producidos por la transición de niveles de energía en el núcleo del átomo. Este tipo de radiación es monoenergética y depende del isotopo radioactivo que la emite. Al ser fotones no interactúan fácilmente con la materia, por lo que poseen el mayor poder de penetración de todas las radiaciones.

La radioactividad se produce por el decaimiento de elementos muy pesados, o con exceso de

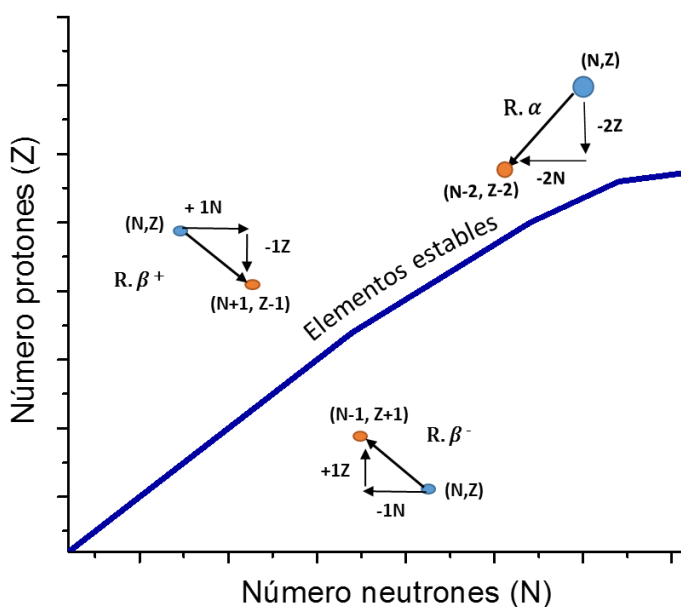


Figura 10. Curva de estabilidad

neutrones o protones respecto al equilibrio. Generalmente, los elementos naturales presentan igual número de neutrones (N) y protones (Z) en el núcleo, $N/Z = 1$ cuando $Z \leq 20$. Cuando el número de protones en el núcleo aumenta ocurre su desestabilización por repulsión, por lo que en elementos pesados N es mayor que Z. La Figura 10, muestra el esquema de estabilidad de los núcleos, entonces cuando los elementos se

encuentran alejados de la curva natural tienen a degradarse transformándose hasta llegar a su forma más estable. Si tienen exceso de protones emiten partículas beta positivas (β^+), un neutrón y un neutrino. Si tiene exceso de neutrones se libera un protón, un beta negativo (β^-) y antineutrino. Cuando el elemento se encuentra muy alejado de la curva, átomos muy pesados ($Z > 82$) emiten α para llegar con mayor facilidad al equilibrio. La radiación gamma es emitida por la reorganización de partículas nucleares a menores niveles de energía, este proceso se conoce como transición isomérica y los elementos que la realizan se encuentran en estados metaestables [62].

2.10. Interacción de la radiación con la materia

Al incidir radiación sobre los átomos, está transfiriere energía principalmente a los electrones disipándolos y formando un par iónico (ionización). Una característica importante de las diferentes clases de radiación es la transferencia lineal de energía (LET, Linear Energy Transfer), la cual se define como la cantidad de energía trasferida por una partícula ionizante al material que atraviesa por unidad de distancia, es decir, la velocidad de pérdida de energía. El valor de LET depende tanto del tipo de radiación como del tipo de material irradiado. En la Figura 11, se presenta un esquema de la capacidad de penetración de los diferentes tipos de radiación, se observa que los rayos α muestran mayor LET [63].

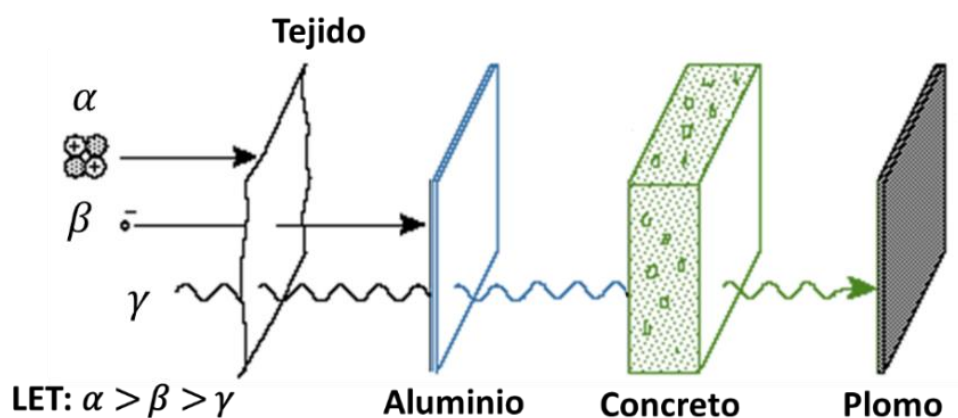


Figura 11. Capacidad de penetración de las radiaciones y LET

Las radiaciones alfa y beta al ser partículas cargadas interactúan más fácilmente con la materia disipando la energía a través de colisiones. La radiación gamma por su carácter de onda

electromagnética monoenergética presenta tres mecanismos de interacción con la materia dependiendo de su energía: efecto fotoeléctrico, efecto Compton y producción de pares.

Efecto fotoeléctrico: el fotón interactúa con un electrón de las capas internas del átomo transfiriéndole toda su energía, como resultado el electrón es lanzado del átomo, produciendo una vacancia que pasa a ser ocupada por un electrón de una capa de mayor energía, este cambio de nivel produce la emisión de un fotón con energía igual a la diferencia energética de los orbitales. En algunos casos este fotón tiene la energía suficiente para arrancar un electrón de otro átomo, esto es conocido como el efecto Auger. Este efecto se presenta con radiaciones electromagnéticas de baja energía.

Efecto Compton: si la energía radiación electromagnética es mayor a la del caso anterior, al colisionar con uno de los electrones no es completamente adsorbida al arrancarlo, por lo que continua como una onda de menor energía con una trayectoria desviada, hasta disipar totalmente su energía. Este es el mecanismo que más aporta a la interacción de la radiación γ con la materia.

Formación de pares: se produce con radiación de muy alta energía como mínimo 1.02 MeV, se da la interacción del fotón con el campo magnético del núcleo, dando como resultado la formación de dos partículas β , un positrón y un negatrón. El primero interactúa con un electrón produciendo la aniquilación el par y la formación de dos fotones de 0.51 MeV, y el segundo causa la ionización del sistema.

2.11. Cobalto 60 (^{60}Co)

Las fuentes radioactivas de cobalto 60 son unas de las más utilizadas, ya que está disponible sintéticamente, presenta decaimiento moderado con producción de radiación gamma de energía suficiente para ionizar la materia. El ^{60}Co es un radioisótopo sintético, que se produce mediante el bombardeo de ^{59}Co con una fuente de neutrones en el proceso adicionalmente se produce radiación γ , $^{59}\text{Co}(\eta, \gamma)^{60}\text{Co}$. Este tiene un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 5.24 años y una actividad radiactiva de 44 TBq por gramo. En la Figura 12 se presenta el esquema decaimiento radiactivo de ^{60}Co a ^{60}Ni .

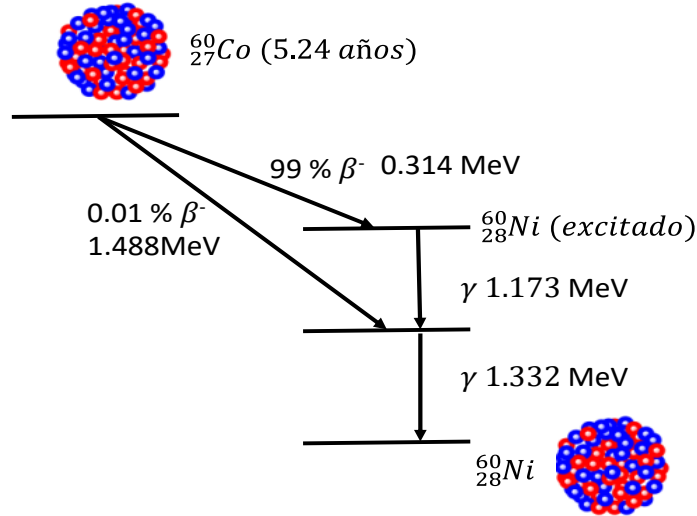


Figura 12. Decaimiento radiactivo del ^{60}Co

2.12. Métodos de irradiación

La modificación de matrices poliméricas por la formación de polímeros injerto utilizando radiación de alta energía (radiación γ), puede realizarse a través de diversas metodologías las más empleadas son el método directo, el método de preirradiación y el método de preirradiación oxidativa.

Método directo o simultáneo

Se realiza una irradiación simultánea de la matriz polimérica y el monómero a injertar. El sustrato polimérico es sumergido en una solución de monómero de concentración determinada, la muestra es desgasificada y posteriormente sometida a la radiación. Es el método más sencillo y económico, sin embargo, requiere que el rendimiento radioquímico del polímero a irradiar sea mayor que el del monómero, de lo contrario se favorece la formación del homopolímero y disminuye el injerto [64].

Método de preirradiación

La matriz polimérica se coloca en atmósfera inerte (vacío o gas inerte) y es irradiado, lo que lleva a la formación de radicales libres, posteriormente se introduce el monómero, el cual se injerta y polimeriza por acción de dichos radicales. La principal ventaja es que presenta baja formación de homopolímero, sin embargo, es costoso debido a la necesidad de mantener una atmósfera inerte y tiene bajo rendimiento de injerto, por la poca estabilidad de los radicales [65].

Método de preirradiación oxidativa

La irradiación del sustrato se realiza en una atmósfera con oxígeno, lo cual conlleva a la formación de grupos peróxido e hidroperóxidos a lo largo de la cadena polimérica. Posteriormente, se agrega la solución de monómero, y bajo atmósfera inerte se somete a calentamiento, produciendo un rompimiento homolítico de los grupos peróxidos, estos radicales formados actúan como iniciadores de la polimerización del injerto [64].

3. HIPOTESIS

La modificación de matrices poliméricas de PVC con polímeros zwitteriónicos, debido a la presencia abundante de iones, incrementará la hidrofiliicidad de los materiales creando una capa de hidratación que disminuirá la adhesión bacteriana, evitando la formación de biopelículas.

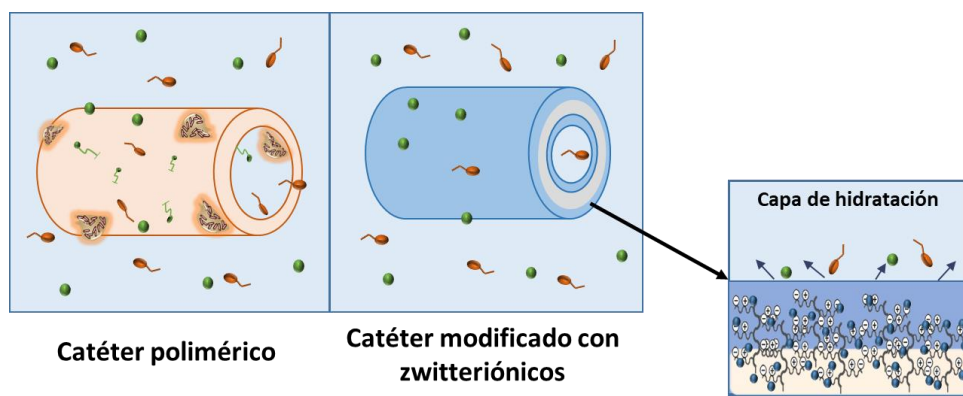


Figura 13. Propiedad antiincrustante de un catéteres de PVC modificado con polímero zwitteriónico

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Modificación de matrices poliméricas de poli(cloruro de vinilo) (PVC) con injertos superficiales de polímeros zwitteriónicos para proveerlas de propiedades antimicrobianas.

4.2. Objetivos particulares

- Síntesis de copolímero de injerto con hidróxido de [2-(metacriloxi) etil] dimetil-(3-sulfopropil) amonio (SBMA), PVC-g-SBMA, utilizando radiación gamma e identificación de los parámetros óptimos de la reacción.
- Síntesis, purificación y caracterización del monómero zwitteriónico 4-vinilpiridina propilsulfobetaina (4VPPS).
- Síntesis del copolímero de injerto PVC-g-4VPPS utilizando radiación gamma, identificando los parámetros óptimos de la reacción.
- Caracterización de los biomateriales sintetizados por espectroscopia infrarroja (FTIR-ATR), resonancia magnética nuclear (RMN), calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA), microscopia electrónica de barrido (SEM), hinchamiento límite de los copolímeros de injerto y ángulo de contacto.
- Evaluación de la adsorción superficial de proteínas y de la actividad antimicrobiana de los biomateriales sintetizados.

5. METODOLOGIA EXPERIMENTAL: SINTESIS

5.1. Síntesis de PVC-g-4VP

El injerto de 4VP sobre PVC se realizó utilizando el método de irradiación directa. Para lo cual una muestra de PVC de aproximadamente 6 cm se colocó en una ampolla de vidrio, se agregó la solución de H₂O/MeOH y 4VP, se eliminó el oxígeno por desplazamiento de aire con burbujeo de argón durante 15 minutos. La ampolla sellada se mantuvo a 5 °C durante 4 horas y finalmente se irradió empleando radiación gamma. Los catéteres injertados se extrajeron y limpiaron con metanol. Por último, las muestras se secaron 12 h a 30 °C en estufa de vacío y se calculó el porcentaje de injerto por diferencia de peso utilizando la Ecuación 1, en la Figura 14 se ilustra el procedimiento.

$$\text{Injerto (\%)} = \frac{(W_f - W_i) * 100}{W_i} \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde W_f es el peso de la muestra injertada (g) y W_i es el peso inicial de la muestra (g).



Figura 14. Esquema del proceso de síntesis de injerto por método de irradiación directa

5.2. Síntesis de los injertos de SBMA en catéteres de PVC-g-4VP: (PVC-g-4VP)-g-SBMA

El injerto de SBMA se realizó sobre catéteres de PVC previamente modificados con 4VP (PVC-g-4VP) utilizando el método de preirradiación oxidativa. La 4VP modifica la superficie del catéter haciéndola compatible con el monómero de SBMA y posibilitando la formación del injerto. Para la síntesis, se pesaron catéteres de PVC-g-4VP secos y se colocaron en ampolletas de vidrio, las cuales se irradiaron en presencia de aire. A las muestras irradiadas se agregó solución de SBMA en MeOH:H₂O, se eliminó el oxígeno por desplazamiento de aire con burbujeo de argón durante 10 minutos. Las muestras fueron selladas y se calentaron en un baño maría por determinado tiempo. Finalmente, se retiraron y lavaron una vez con una solución saturada de NaCl durante 3 horas, dos veces con agua destilada durante 2 horas y una vez con etanol, para retirar residuos de homopolímero y monómero no injertado, se secaron al vacío 12 h a 40 °C, y se calculó el porcentaje de injerto siguiendo la ecuación 1, en la Figura 15 se muestra el proceso.

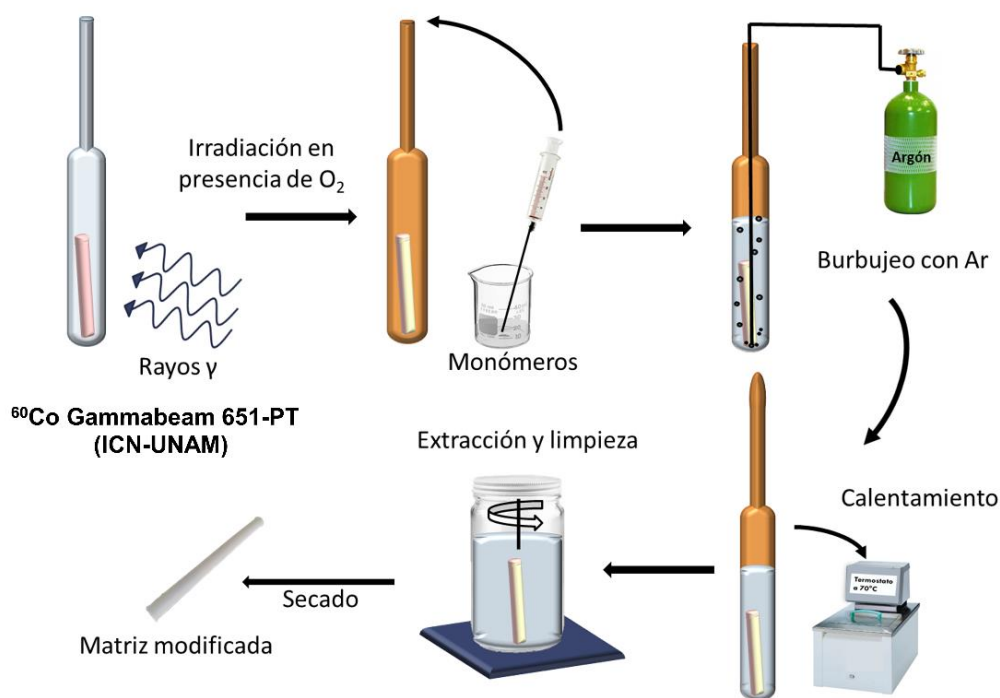


Figura 15. Esquema del procedimiento experimental para la síntesis de [PVC-g-4VP]-g-SBMA por el método de preirradiación oxidativa.

Se estudió el efecto de las diferentes condiciones de reacción sobre el porcentaje de injerto de SBMA, por lo que se varió la dosis (1, 2, 5, 10, 15 y 20 kGy), la intensidad de radiación (5.4 y 13 kGy/h), la concentración de SBMA (0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.5, 0.75 y 1 M), el tiempo de reacción (4, 6, 8, 12, 18 h), la temperatura de reacción (50, 60 y 70 °C) y el porcentaje de injerto de 4VP (4, 12 y 20 %).

5.3. Síntesis de los injertos de 4VPPS por funcionalización de catéteres PVC-g-4VP con PS: (PVC-g-4VP)F(4VPPS)

Una muestra de PVC-g-4VP seca y pesada se colocó en una ampollita de vidrio, y se dejó al vacío durante 20 minutos, posteriormente se agregó la solución de PS en dimetil formamida (DMF) anhídrida, con exceso de PS, y se calentó durante el tiempo determinado. Finalmente, se retiró el material modificado, se lavó con metanol y agua durante 12 horas y se secó a 30 °C en vacío durante 12 h. El PS reacciona fácilmente con el agua, hidrolizándose a ácido hidroxisulfónico; por lo que la reacción debe realizarse en condiciones anhidras. El rendimiento de la reacción se calculó empleando la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{(M_f - M_i) * 8607.7}{M_i * 4VP(\%)} \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde M_f es el peso del material final, M_i es el peso del material inicial y 4VP (%) es el porcentaje de injerto de 4VP en el material inicial.

Se estudió el efecto de las diferentes condiciones de reacción variando la temperatura (50, 60 y 70 °C), el tiempo de reacción (30, 45, 60 y 75 min) y la concentración de PS (0.35, 0.5, 0.65, 0.8 y 1 M). Para determinar el tiempo máximo de reacción se realizó un ensayo de hinchamiento en DMF de las muestras con 4, 12 y 21% de injerto de 4VP.

5.4. Síntesis de los injertos de 4VPPS en catéteres de PVC-g-4VP: (PVC-g-4VP)-g-4VPPS

Se buscó el injerto de 4VPPS sobre catéteres de PVC, pero no fue posible sin realizar un acondicionamiento de la superficie, para la cual se aumentó su hidrofiliidad con un injerto de 4VP. El injerto de 4VPPS sobre los catéteres modificados se realizó por el método de preirradiación oxidativa siguiendo el proceso que se describe en la sección 5.2 (Figura 15). En este caso se estudió el efecto la dosis (10, 15, 20 y 25 kGy), la concentración de 4VPPS (0.2,

0.3, 0.4 y 0.5 M), y la concentración de la solución salina (0.6, 0.8 y 1.0 M). El monómero 4VPPS fue sintetizado utilizando del procedimiento que se describe a continuación.

Síntesis del monómero de 4VPPS: Se realizó la síntesis y purificación del monómero 4VPPS para posteriormente injertarlo en sobre catéteres de PVC, siguiendo el proceso mostrado por Venaut, et al. [66]. La síntesis consistió en una alquilación con apertura de anillo (Figura 16), se llevó a cabo en condiciones anhidras. La reacción se dejó a 70 °C durante 1 hora, se utilizó una relación molar de 4VP:PS de 1:2 y un total en peso 30% en dimetilformamida (DMF) anhidra. En este caso los reactivos son solubles en el solvente, pero el producto no lo es, por lo que se separa del medio y puede purificarse por filtración. El producto sintetizado se lavó con una mezcla de acetona y metanol hasta que el sobrenadante perdió el color y el sólido tomó una coloración amarilla clara, y se realizó una placa cromatográfica para corroborar la pureza.

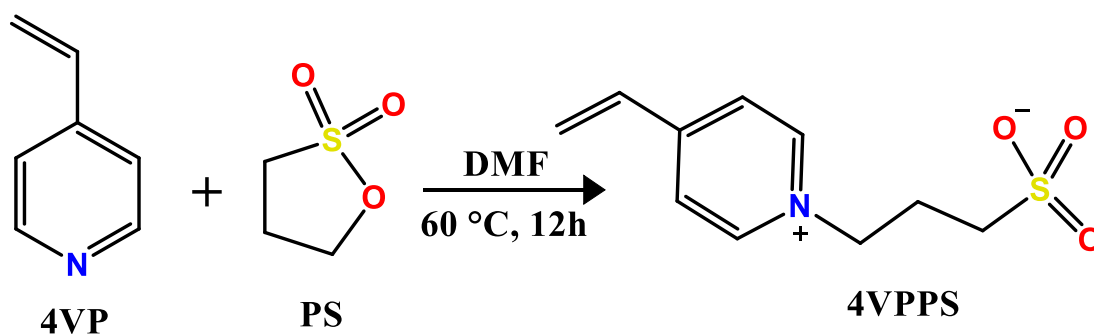


Figura 16. Reacción para la formación de 4VPPS

6. METODOLOGIA EXPERIMENTAL: CARACTERIZACIÓN

6.1. Espectroscopia infrarroja con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)

Los análisis de espectroscopía FTIR se realizaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Spectrum 100 (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT) con 16 escaneos, en el módulo de ATR, en el rango de 4000 a 650 cm^{-1} .

6.2. Hinchamientos

Para determinar el tiempo de hinchamiento límite se utilizó el siguiente procedimiento, los solventes empleados fueron agua y buffer de fosfatos (PBS) y las temperaturas fueron 25 y 37 °C, cada medición se realizó por triplicado.

Procedimiento: Pesar la muestra seca y colocarla en un vaso con el solvente a estudiar a temperatura controlada. Retirar la muestra del vaso, eliminar el solvente excedente y pesar, cada 5 minutos durante los primeros quince minutos, después a las 0.5, 1, 2, 4, 6 y 12 horas. El porcentaje de hinchamiento (H %) se determina utilizando la ecuación 3. Donde W_2 es el peso de la muestra hinchada y W_1 es el peso de la muestra seca.

$$H (\%) = \frac{(W_2 - W_1) * 100}{W_1} \quad \text{Ec. (3)}$$

Preparación de la solución PBS: La solución buffer PBS es una solución a base de sales de fosfato, que permite mantener pH constante a 7.4, con una fuerza iónica de 0.14 M, estas condiciones coinciden con las encontradas en la sangre humana, siendo ampliamente utilizada para evaluar materiales con aplicación biomédica. Para su elaboración se mezclaron los componentes que se muestran en la Tabla 1, en su respectiva concentración.

Tabla 1. Composición de la solución buffer PBS

Componente	Concentración (g/L)
NaCl	8.00
KCl	0.20
Na_2HPO_4	1.42
KH_2PO_4	0.24

6.3. Efecto de la fuerza iónica

Las muestras previamente secadas fueron pesadas y sumergidas en solución salina por dos 2h a 25 °C, después de lo cual se midió su grado de hinchamiento por diferencia de peso, utilizando la ecuación 3. Se varió la fuerza iónica utilizando con diferentes concentraciones de NaCl (0, 0.07, 0.14, 0.28, 0.42 y 1 M).

6.4. Efecto del pH

Para determinar la respuesta al pH de las muestras, se prepararon soluciones amortiguadoras de fosfatos de pH: 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 y 12. Una muestra seca se pesó y se adicionó la primera solución, manteniendo temperatura controlada a 25 °C durante 2 h, posteriormente se retiró el exceso de solución y se calculó el porcentaje de hinchamiento con la ecuación 3, el mismo procedimiento fue utilizado con las demás soluciones.

Preparación de soluciones amortiguadoras: se realizaron dos soluciones base. La primera (solución I) fue una solución acida de ácido bórico 0.2 M y ácido cítrico 0.05 M y la segunda (solución II) una solución básica de ortofosfato trisódico dodecahidratado ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 0.1 M. Las cuales se mezclaron en diferentes proporciones dependiendo del pH deseado, en el Anexo 1 se muestran las cantidades a emplear.

6.5. Ángulos de contacto

El grado de mojabilidad fue estudiado utilizando un goniómetro DSA 100 Krüss GmbH, Germany, mediante el método de gota en reposo. Para lo cual, las muestras fueron partidas, aplanadas, empleando placas de vidrio, y secados a 40 °C en estufa de vacío durante 4 horas. Para la determinación se depositó una gota de agua destilada sobre la superficie plana, y se midió el ángulo que se forma entre la superficie y el líquido, todas las medidas fueron realizadas cuatro veces.

6.6. Análisis termogravimétrico (TGA)

El comportamiento térmico de los materiales se monitoreó mediante TGA bajo una atmósfera de nitrógeno de 30 a 700 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min en un TGA Q50 (TA Instruments, New Castle, DE, EE. UU.).

6.7. Adsorción de proteínas

Aproximadamente 80 mg de muestra se colocaron en solución buffer PBS a 37 °C por 24 horas, posteriormente la muestra se extrajo y se incubó en solución de proteína en PBS, albumina de suero bovino (BSA) a una concentración de 30 mg/mL, a 37 °C. Terminado este tiempo los materiales se lavaron tres veces con PBS, y se procedió a realizar la extracción de la proteína depositada para posteriormente cuantificarla usando métodos espectroscópicos.

Extracción de la proteína: Se agregaron 600 µL de solución de SDS 1% p/p a la muestra, previamente incubada en BSA, se agitó a 130 rpm durante 20 min y se sonicó por 10 minutos, finalmente se agitó en el vortex 30 s. En este caso se evaluó la efectividad del proceso con 1, 2 y 3 extracciones, concluyéndose que lo mejor es realizar 3 extracciones.

Cuantificación: Para la cuantificación se empleó el método de ácido bicinoninico (BCA), el cual se basa en la formación de un complejo púrpura intenso entre el BCA y los iones Cu^+ en medio alcalino que absorbe a aproximadamente 560 nm; los iones Cu^+ son producidos por la reacción entre el Cu^{2+} y los grupos amino de las proteínas en medio básico. La estabilidad del reactivo y el cromóforo proporcionan un método para la cuantificación de proteínas de alta sensibilidad y que presenta pocas interferencias, de hecho, es el método más recomendado para muestras que contienen detergentes como el SDS [67,68].

Solución A: diluir bicinonato de sodio (0.1 g), carbonato de sodio dihidratado (2.0 g), tartrato de sodio (dihidrato) (0.16 g), hidróxido de sodio (0.4 g), bicarbonato de sodio (0.95 g), en 100 mL de agua destilada, ajustando el pH a 11.25 con NaOH.

Solución B: diluir sulfato de cobre (II) pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) al 4% (w/v) en agua destilada.

En este trabajo las soluciones A y B fueron obtenidas de Sigma-aldrich.

Solución de trabajo: mezclar 50 partes de solución A con 1 parte de solución B. Esta solución tiene una tonalidad verde clara.

Procedimiento: Se colocó 1 mL de la muestra en un vial de vidrio y se agregaron 2 mL de la solución de trabajo, la mezcla se agitó suavemente y se dejó reaccionar a 60 °C durante 30 minutos. Finalizado este tiempo, la muestra enfrió a temperatura ambiente y se midió por

espectroscopia UV-Vis a 556 nm, donde presentó el máximo de absorción, la cuantificación se realizó empleando curva de calibración. En todos los casos la referencia fue una muestra blanco de solución de SDS 1% a la que se le realizó el proceso descrito anteriormente.

Curva de calibración: La curva de calibración se realizó en el rango de 0.5 a 5 µg/mL, se prepararon soluciones patrón de 0.5, 1, 2, 3, 5 µg/mL en SDS al 1% (w/v), las cuales fueron tratadas como se describe en la sección: Extracción de la proteína. Se realizaron cuatro mediciones de cada valor y se realizó una regresión lineal para obtener la ecuación de la curva (Anexo 2).

6.8. Carga y liberación de ciprofloxacino

Carga de ciprofloxacino: Muestras de aproximadamente 100 mg, se colocaron en viales con 3 mL de solución acuosa de ciprofloxacino a una concentración determinada, a 25 °C, durante 30 h. El tiempo de carga se determinó midiendo la absorbancia a diferentes intervalos de tiempo para evaluar el progreso de la carga (0.5, 1, 2, 4, 6, 24, 30, 48 y 56 h). Se determinó la cantidad de fármaco cargado al medir la diferencia de absorbancia entre la solución inicial y la solución en cada intervalo de tiempo a una longitud de onda de 266 nm, empleando una curva de calibración. Para dicha determinación, se empleó un espectrofotómetro marca SPECORD 200 PLUS de Analytikjena (Germany). Transcurrido el tiempo, se extrajeron las muestras, se lavaron suavemente con agua destilada.

Curva de calibración de carga: para la cuantificación se realizó una curva de calibración a 266 nm, para lo cual se prepararon soluciones de ciprofloxacino de las siguientes concentraciones 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 µg/mL, Las mediciones se realizaron por triplicado, utilizando agua destilada como disolvente. La ecuación de la curva fue $Abs = 0.0685 [ciprox]$ con $r^2 = 0.999$, Anexo 3.

Liberación de ciprofloxacino: Las muestras cargadas con ciprofloxacino se depositaron en viales que contenían 3 mL de solución amortiguadora de fosfatos a pH 7.4 y a 37 °C en agitación constante (130 opm). Se realizó el seguimiento a la liberación acumulativa tomando mediciones a 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 30 y 48 horas, a 266 nm en el espectrofotómetro UV-vis.

Curva de calibración de liberación: para la cuantificación se realizó una curva de calibración, para lo cual se prepararon soluciones de concentraciones entre 0.07 y 2 µg/mL, mismas que se

analizaron a 266 nm. Las mediciones se realizaron por triplicado. La ecuación de la curva fue $Abs = 0.0656 [ciprox] + 0.0171$ con $r^2 0.994$, Anexo 4.

6.9. Actividad antimicrobiana

Se realizaron dos pruebas de actividad antimicrobiana, la prueba de Kirby-Bauer o difusión en disco y la prueba de inhibición al crecimiento bacteriano.

Método de difusión en disco (prueba de Kirby-Bauer): Muestras de aproximadamente 30 mg se insertaron en una caja Petri que contenía medio Müeller-Hinton sembrado con *Staphylococcus aureus* o *Escherichia coli*, a una concentración de 1.5×10^8 ufc/ml, de cultivos de 24 h. Las muestras se dejaron incubar 24 h a 37 °C y se midió el halo de inhibición desde el centro de la muestra hasta la periferia donde se observaba el crecimiento bacteriano.

Prueba de inhibición al crecimiento bacteriano por dilución en caldo: Se preparó una solución de *E. coli* de 0.5 MF (1.5×10^8 ufc/mL) en agua peptonada (pH: 7.2), este medio mantiene la viabilidad de la bacteria. Se colocaron 2 mL de solución un tubo de ensayo, previamente esterilizado (121 °C, 15 min y presión de 1.6 kg/cm²). Y se colocó el material a analizar en él, y se dejó incubar a 37 °C por 24 h, Se sacó el material de medio de cultivo y se midió la absorbancia del medio a 600 nm para cuantificar la inhibición de crecimiento por diferencia con una solución bacteriana blanco, es decir, cuyo crecimiento no se vio afectado por ningún material externo.

6.10. Adhesión de bacterias

Muestras de aproximadamente 30 mg fueron incubados en solución de *E.coli* de 0.5 MF durante 24 horas, se retiraron y lavaron suavemente con agua estéril para eliminar las bacterias no adheridas, para luego colocar el material en un tubo de vidrio con 1 mL de agua estéril y llevar al vórtex por 3 min. Después del vórtex, se tomó una alícuota de 0.1 mL y se diluyó a 1 mL, de esta dilución se sacó 0.1 mL y se sembraron usando la técnica de placa invertida. Para lo cual, se colocaron 0.1 mL del lavado en el centro de la caja y agregó el medio, homogenizando por agitación suave 6 giros a la izquierda, 6 a la derecha y 6 hacia delante y hacia atrás, se dejó incubar 24 h y se realizó un conteo de colonias. Como medio de cultivo para la placa se utilizó agar nutritivo.

6.11. Viabilidad celular

Se estudió la viabilidad celular observando el crecimiento de fibroblastos del tipo BALB/3T3 (ratón) en presencia de los materiales modificados. Muestras de aproximadamente 6 µg de material modificado se incubaron 24 horas en una solución con una concentración de 4×10^4 células/mL que fue incubada durante 24 h en una bandeja de 96 pozos. Pasadas las 24 h se retiran los catéteres y el medio y se agrega nuevo medio con 10 µL de MTT por cada 100 µL de medio. El MTT se dejó metabolizar por 4 h y después se agregó el revelador MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio), en presencia de metosulfato de fenazina (PMS), produce un producto de formazán que tiene un máximo de absorbancia en el visible. Este se deja un mínimo de 12 h y se mide la absorbancia a 620 nm, la viabilidad celular se obtiene comparando el crecimiento celular en presencia de las muestras con los blancos que las contienen, el ensayo se realizó por triplicado.

7. RESULTADOS: INJERTO DE PVC-g-4VP

La interacción del PVC con la radiación gamma como en la mayoría de moléculas, produce dos reacciones primarias, una de ionización y otra de excitación que posteriormente desencadenan en un amplio número de reacciones secundarias, en la Figura 17 se muestran las principales reacciones que ocurren. El radical I es el producto mayoritario, ya que el radical cloro es más estable que el radical hidrógeno [69]. Las reacciones de injerto tienen lugar a través del radical formado en la cadena principal del polímero.

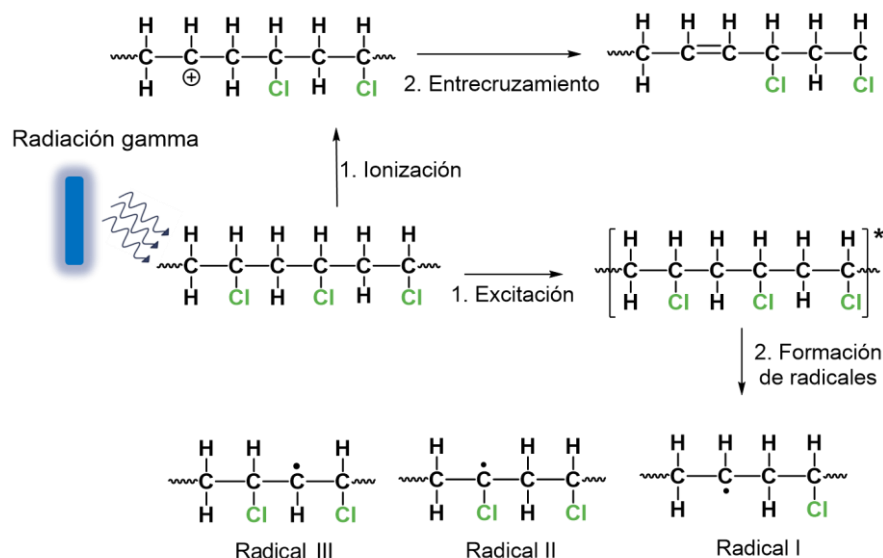


Figura 17. Efecto de la radiación gamma sobre el PVC

Se buscó la estandarización de condiciones para obtener diferentes porcentajes de injerto de 4VP, entre 2 y 20 %; basados en los resultados obtenidos en un trabajo anterior sobre el efecto que tienen el solvente, la dosis y la concentración de monómero en el porcentaje de injerto de 4VP en una matriz de PVC cuando se emplea el método directo [70], ver Figura 18; con el fin de estudiar el efecto de este injerto sobre la modificación con SBMA y sobre las propiedades del material. La modificación se realizó por el método de irradiación directa y se varió la dosis aplicada, de 10, 15 y 20 kGy; las condiciones empleadas fueron concentración de 40 % (v/v) 4VP en una mezcla metanol: agua con 30% de MeOH. En la Figura 19 se muestran los resultados obtenidos, encontrándose desviaciones estándar relativas de aproximadamente el 15%, las cuales son aceptables debido a la complejidad de la metodología.

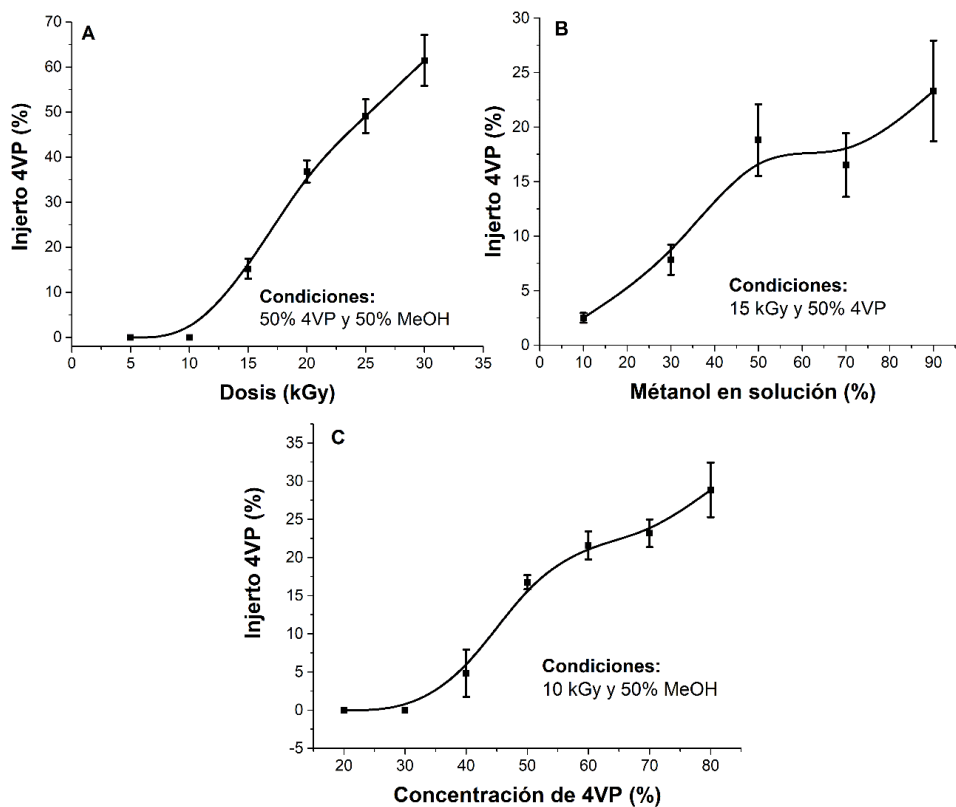


Figura 18. Condiciones de síntesis de PVC-g-4VP por método directo: A) Efecto de la dosis de irradiación, B) Efecto del porcentaje de MeOH en el solvente y C) Efecto de la concentración de monómero de 4VP. Reporta: media \pm error estándar de la media, n=3

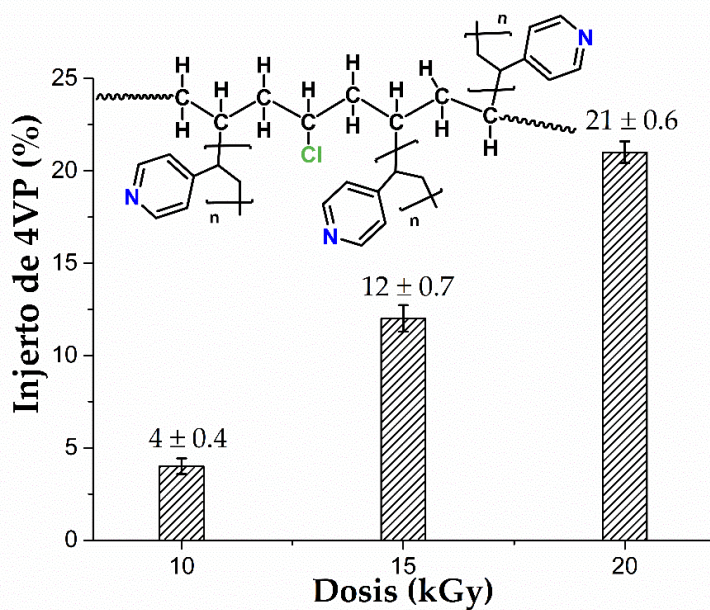


Figura 19. Efecto de la dosis sobre el injerto de 4VP en PVC. Reporta: media \pm error estándar de la media, n=14

8. RESULTADOS: SINTESIS [PVC-*g*-4VP]-*g*-SBMA

El injerto de SBMA sobre los catéteres de PVC-*g*-4VP se realizó por el método de preirradiación oxidativa. El PoliSBMA es un polímero zwitteriónico que debido a las fuertes interacciones electrostáticas a nivel intramolecular es insoluble en prácticamente todos los solventes, a excepción de soluciones electrolíticas acuosas y solventes próticos polares como trifluoroetanol y el hexafluoroisopropanol. Este polímero ha mostrado tener alta funcionalidad como recubrimiento antiincrustante [43]. Sin embargo, debido a su baja solubilidad, la modificación de superficies mediante injerto covalente es limitada. La radiación gamma es un tipo de radiación ionizante de alta energía, que al interactuar con la materia la excita y da lugar a la formación de radicales libres, en el método de preirradiación oxidativa los radicales se generan sobre la superficie lo que favorece el injerto en lugar de la homopolimerización. Dentro de los parámetros que afectan este proceso se encuentran, el porcentaje de injerto de 4VP, la dosis, la tasa de dosis, la concentración de monómero, el disolvente, la temperatura y el tiempo de reacción.

8.1. Efecto del porcentaje de 4VP injertado

El injerto de 4VP además de proporcionar características de pH sensibilidad a los materiales, se

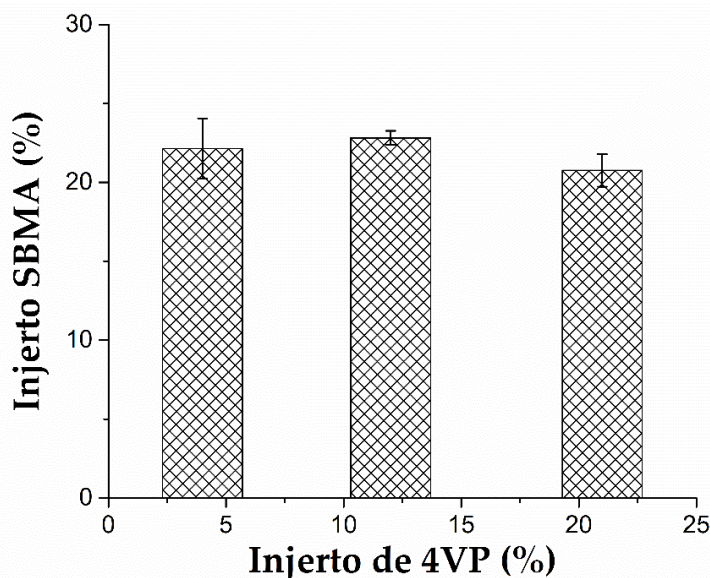


Figura 20. Efecto del injerto de 4VP en el injerto de SBMA. Reporta: media \pm error estándar de la media, $n=3$. Condiciones: 1 kGy, 0.25 M, 75% MeOH, 60 °C, y 12 h.

utilizó para acondicionar la superficie de PVC, dándole hidrofiliidad lo que permitió la interacción entre la superficie y el SBMA, ya que no fue posible injertar el SBMA directamente sobre el PVC porque las fuerzas electrostáticas entre monómeros favorecerían la formación de homopolímero. La Figura 20 muestra que el porcentaje de injerto de SBMA no se ve significativamente

afectado por el porcentaje de 4VP en la superficie, aunque si es necesaria la modificación con 4VP para que la superficie adquiriera hidrofiliidad.

8.2. Efecto de la dosis

La dosis adsorbida es una medida de la cantidad de energía proveniente de la radiación ionizante que es recibida por un material. Generalmente, la dosis se da en unidades de greys (Gy) donde 1 Gy es igual a 1 J/kg, según el sistema internacional. Este parámetro influye directamente en el porcentaje de injerto, ya que determina la cantidad de radicales formados [63]. Las reacciones de injerto tienen lugar a través del radical formado en la cadena principal del polímero. Al emplearse el método de preirradiación oxidativa el oxígeno interactúa con los radicales formando enlaces peróxido e hidroperóxido que posteriormente se rompen con la temperatura y dan lugar a la reacción en cadena para formar el injerto [64]. La Figura 21 muestra un esquema del proceso de reacción mediante preirradiación oxidativa para la formación del material [PVC-g-4VP]-g-SBMA.

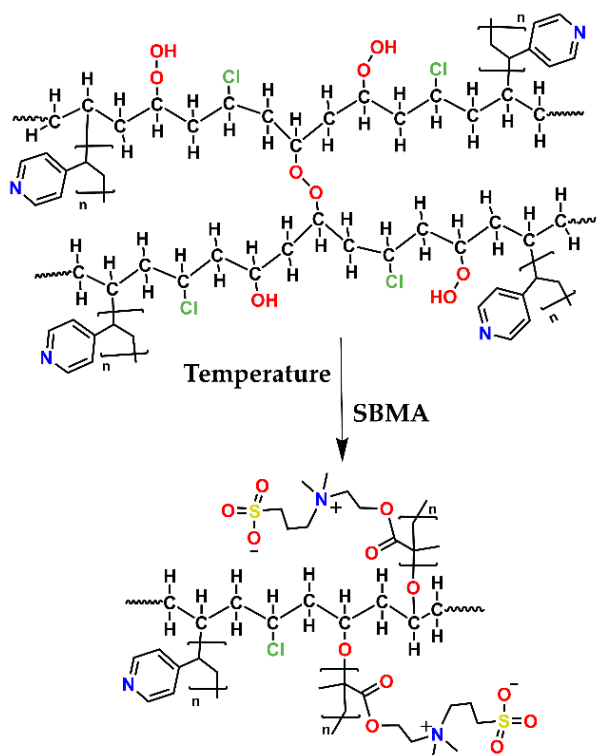


Figura 21. Estructura del injerto binario (PVC-g-4VP)-g-SBMA por preirradiación oxidativa.

En la Figura 22 se muestra el comportamiento de injerto de SBMA por preirradiación oxidativa sobre una muestra de PVC-g-4VP (4%) al ser irradiada con diferentes dosis, 0.5, 1, 2, 5, 10, 15 y 20 kGy. Se observa un comportamiento constante, lo cual indica que, en este rango de dosis, este parámetro no tiene un efecto significativo sobre el porcentaje de injerto. En las muestras de PVC-g-4VP, la 4VP no se ve afectada por la radiación fácilmente, ya que el anillo aromático ejerce un efecto protector, por lo que posiblemente en su mayoría ocurra la formación de radiales sobre el PVC, dando lugar a la formación de un injerto binario combinado y no por capas.

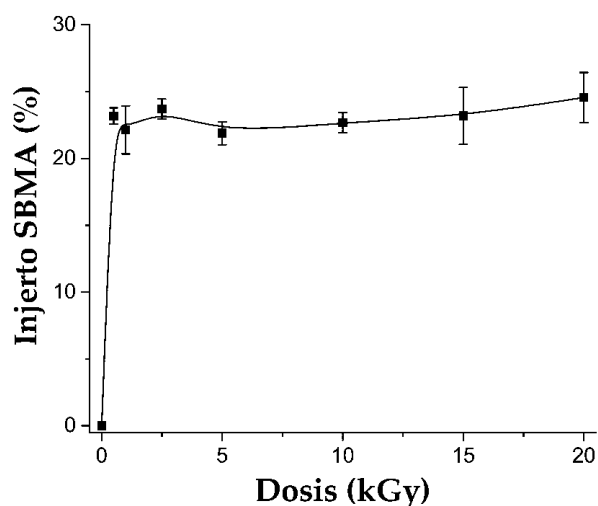


Figura 22. Efecto de la dosis sobre el porcentaje de injerto de SBMA en PVC-g-4VP (4%). Condiciones: 0.25 M SMBA, 13 kGy/h, MeOH:H₂O (3:1), 60 °C y 12 h. Reporta: media \pm error estándar de la media, n=3.

No se emplearon dosis menores ya que con la tasa de dosis manejada, el error debido al manejo de la muestra sería muy alto. Teniendo en cuenta esto, se emplearon dosis de 1 kGy para las siguientes determinaciones.

8.3. Efecto de la tasa de dosis

La tasa de dosis es la cantidad de dosis absorbida por la muestra por unidad de tiempo. Este parámetro afecta la velocidad de formación de radicales, a una mayor tasa de dosis abra más radicales disponibles al inicio de la reacción, influyendo en la velocidad de formación del polímero, además disminuye el peso molecular del polímero formado. Esto es muy importante en reacciones que se llevan a cabo por el método directo, donde tiene lugar la formación simultanea del homopolímero y el injerto [71].

Para determinar si hay algún efecto asociado a la tasa de dosis durante la síntesis de (PVC-g-4VP)-g-SBMA, se injertó SBMA sobre PVC-g-4VP (4%) empleando tasas de dosis de 5.4 y 13 kGy/h. En la Figura 23 se comparan los porcentajes de injerto obtenidos, no se observa una diferencia significativa, lo que se confirmó con la prueba de contraste de significación t, ver Tabla 2. Esto indica que el injerto no se verá afectado por el cambio en la tasa de dosis propio del desgaste de la fuente.

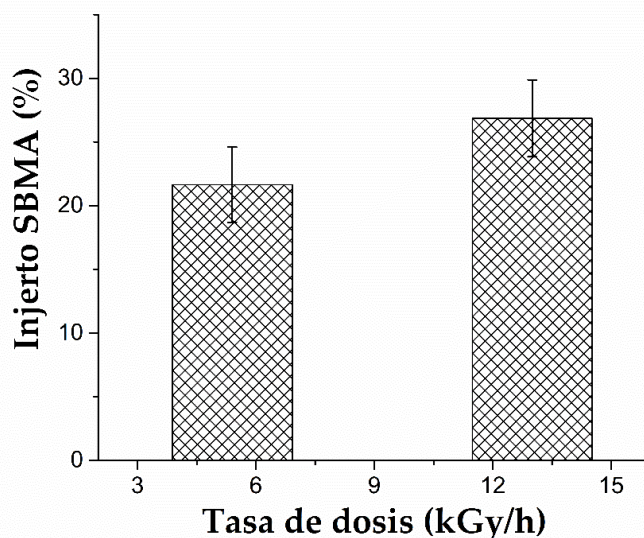


Figura 23. Efecto de la intensidad de dosis PVC-g-4VP (4%). Condiciones: 1 kGy, 0.25 M SMBA, MeOH:H₂O (3:1), 60 °C y 12 h. Reporta: media ± error estándar de la media, n=3.

Tabla 2. Prueba de t de contraste de significación para medir efecto de la intensidad de dosis

Tasa de dosis (kGy/h)	Injerto (%)	SD	t-experimental*	Valor crítico de t, para 5 GL 0.05 %
5.4	22	5.1	1.20	2.57
13	27	6.0		

*t-experimental < valor crítico de t, indica que no hay diferencia significativa en el porcentaje de injerto al emplear diferentes tasas de dosis.

8.4. Efecto de la concentración

La concentración de monómero en solución afecta los procesos de difusión sobre la superficie a injertar, así como la formación de homopolímero. A concentraciones muy elevadas se produce el efecto Trommsdorff o efecto gel, el cual consiste en una autoaceleración de la polimerización por radicales libres, producida por un aumento en la viscosidad del medio que dificulta las

reacciones de terminación, resultando en formación de geles. Sin embargo, en el caso de los monómeros zwitteriónicos incluso a concentraciones relativamente bajas se produce la aglomeración del monómero por ensamblaje electrostático, lo que disminuye el injerto [44]. Se observa un comportamiento campana con un máximo de injerto, a una concentración de 0.5 M (Figura 24). Se escogió la concentración de 0.25 M de SBMA para los análisis, ya que permite un rango amplio de injerto.

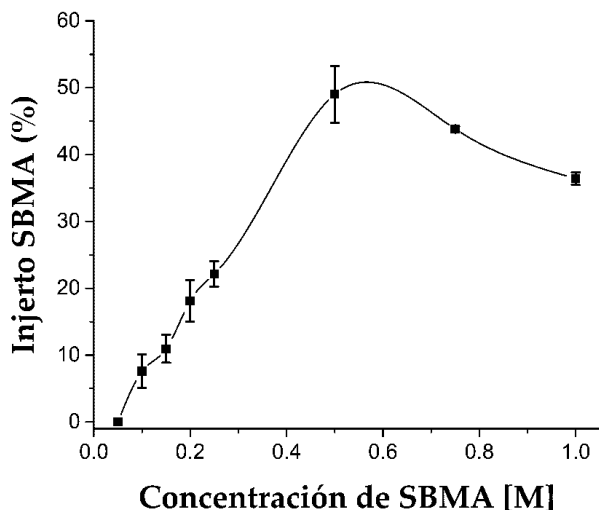


Figura 24. Efecto de la concentración de SBMA. Condiciones: 1 kGy, 13 kGy/h, MeOH:H₂O (3:1), 60 °C y 12 h. Reporta: media ± error estándar de la media, n=3.

8.5. Efecto del disolvente

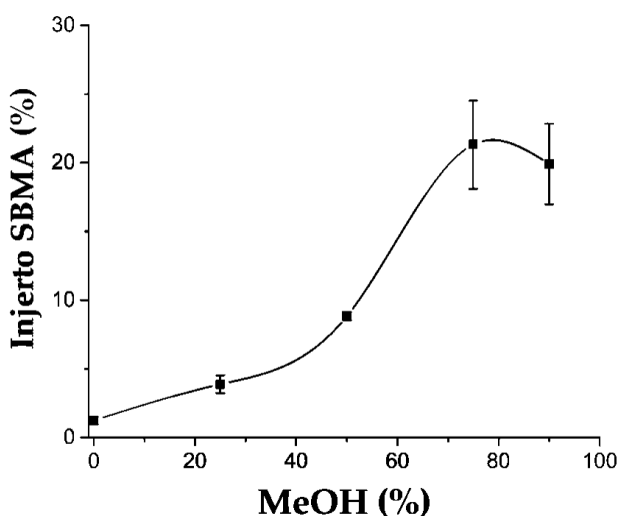


Figura 25. Efecto del porcentaje de MeOH en el solvente. Condiciones: 1 kGy, 13 kGy/h, 0.25 M,

Para lograr el injerto de SBMA sobre los catéteres PVC-g-4VP (4%) el disolvente fue fundamental, ya que era necesario que permitiera la disolución del monómero y la interacción monómero/superficie. La Figura 25 muestra la gráfica de porcentaje de injerto de SBMA en función del porcentaje de metanol en el disolvente que consistió en una mezcla metanol: agua. Al utilizar solo agua o porcentajes de MeOH bajos, el injerto no ocurrió lo cual se atribuye a la estabilización del monómero

por solvatación, que evita la interacción con la superficie. Las mezclas con mayor contenido de MeOH (75 y 90 %) mostraron el mayor porcentaje de injerto, sin embargo, con un 90 % de MeOH no se lograba una disolución completa del SBMA.

8.6. Efecto de la temperatura y el tiempo de reacción

La temperatura de reacción permitirá el rompimiento de los peróxidos e hidroperóxidos formados al irradiar en presencia de oxígeno. En la Figura 26A se muestran los porcentajes de injerto obtenidos a diferentes temperaturas, donde se observa a que temperaturas de 60 °C o menores presentaron baja modificación, mientras que a 70 °C el porcentaje de injerto incrementó. Finalmente, la Figura 26B muestra el efecto del tiempo de reacción sobre el porcentaje de injerto, observándose un incremento proporcional entre los dos parámetros.

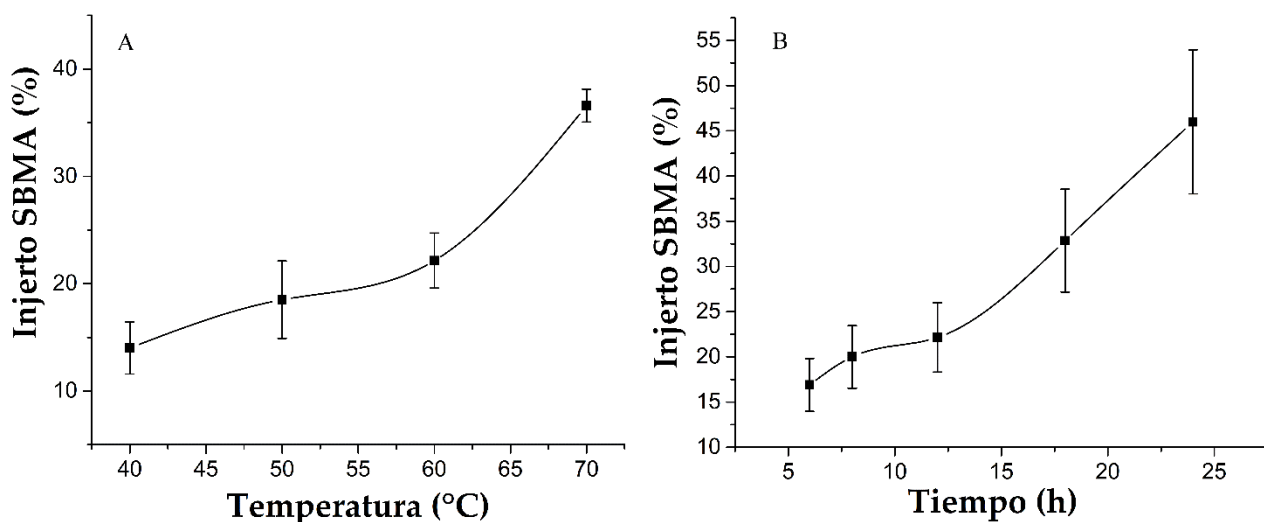


Figura 26. A. Efecto de la temperatura, condiciones: PVC-g-4VP (4%), 1 kGy, 0.25 M, 75% MeOH, y 12 h; and B. Efecto del tiempo de reacción, condiciones: PVC-g-4VP (4%), 1 kGy, 0.25 M, 75% MeOH, y 60 °C. Reporta: media \pm error estándar de la media, n=3.

9. RESULTADOS: CARACTERIZACIÓN [PVC-g-4VP]-g-SBMA

9.1. Espectroscopia infrarroja con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)

Los catéteres injertados se caracterizaron por espectroscopia infrarroja (ATR-FTIR) para determinar la presencia de los distintos grupos funcionales, Figura 27. El espectro FTIR del catéter de PVC testigo presentó bandas a 2992 cm^{-1} de los estiramientos C-H de grupos $-\text{CH}_2-$, 1267 cm^{-1} de las flexiones C-H; adicionalmente, bandas a 1745 y 1459 cm^{-1} características del plastificante [72]. El espectro de PVC-g-4VP, a parte de las bandas anteriores presentó señales de estiramiento C=C a 1597 y 1557 cm^{-1} y a 830 cm^{-1} de las flexiones C-H fuera del plano de la amina aromática [73]. Finalmente, el espectro del (PVC-g-4VP)-g-SBMA, adicionalmente muestra bandas a 1039 y 1265 cm^{-1} correspondiente a los estiramientos simétricos y asimétricos del grupo sulfonato (SO_3^-) [74]. La banda 1736 cm^{-1} del estiramiento del grupo carboxílico (C=O), a 1440 cm^{-1} de la amina cuaternaria [75].

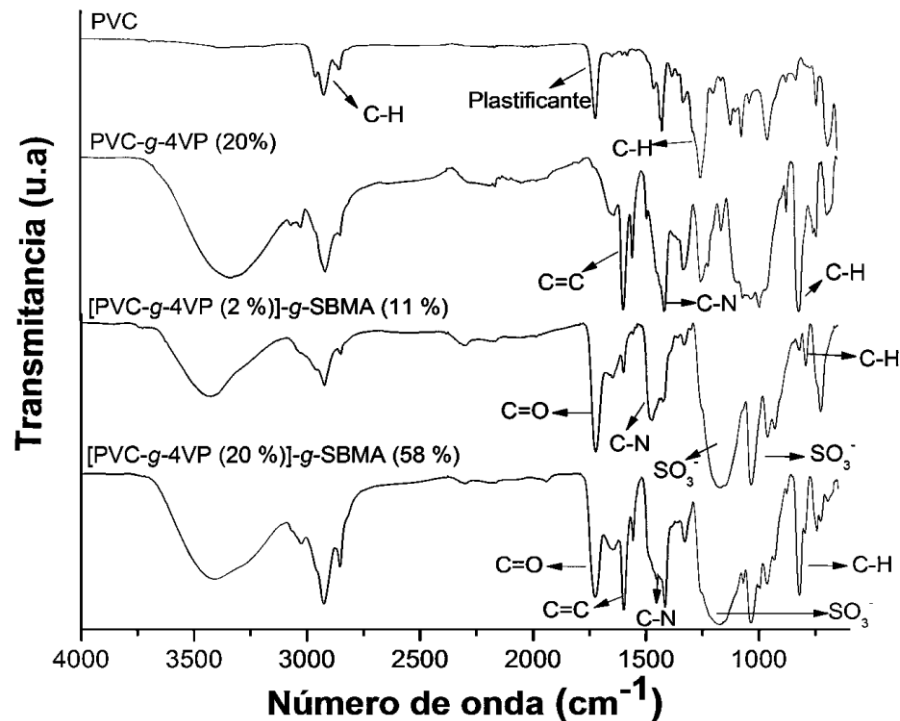


Figura 27. Espectros infrarrojos de los injertos de SBMA en PVC-g-4VP

9.2. Análisis termogravimétrico (TGA)

El TGA mostró que tanto el PVC-g-4VP como el (PVC-g-4VP)-g-SBMA, tienen una estabilidad térmica regida por la matriz de PVC, ya que presentan pérdidas del 10 % en peso

aproximadamente a la misma temperatura ($238 \pm 2^\circ\text{C}$). Los homopolímeros de 4VP y SBMA mostraron mayor estabilidad con pérdidas del 10 % en peso a 362 y 310°C respectivamente. El catéter de (PVC-g-4VP)-g-SBMA presentó tres temperaturas de descomposición, la primera a 266 grados por la dehidrocloración del PVC [76], la cual se presentó a temperaturas cercanas tanto para el PVC como para el PVC-g-4VP; la segunda a 328°C que concuerda con la primera descomposición del poli SBMA a 341°C [77], por la degradación de la amina cuaternaria, y la segunda descomposición del PVC a 288°C , y la tercera a 451°C corresponde a la descomposición de la cadena carbonada. En la Figura 28 se muestran los termogramas de cada muestra y en la Tabla 3 las respectivas temperaturas de descomposición.

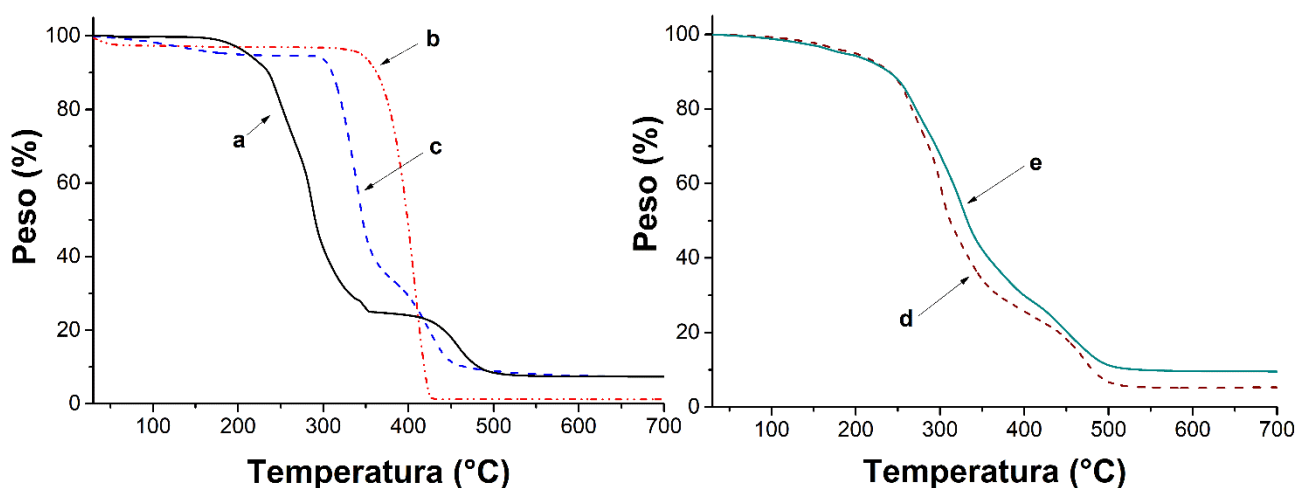


Figura 28. Termogramas a) PVC, b) poli(4VP), c) poli(SBMA), d) PVC-g-4VP y e) (PVC-g-4VP)-g-SBMA

Tabla 3. Resultados TGA

Muestra	10% pérdida en peso ($^\circ\text{C}$)	Temperatura de descomposición ($^\circ\text{C}$)	Residuo (%)
PVC	236	243	7
		287	
		457	
Poli 4VP	362	407	1
Poli SBMA	310	341	7
		428	
PVC-g-4VP	240	261	5
		301	
		470	
(PVC-g-4VP)-g-SBMA	239	266	9
		328	
		451	

9.3. Hinchamientos

Hinchamiento en agua a 25 °C: El hinchamiento en agua es un indicativo de la hidrofiliidad del material, en las Figuras 29A y 29B se muestran las gráficas de hinchamiento para las muestras de (PVC-*g*-4VP)-*g*-SBMA con base en PVC-*g*-4VP(4%) y PVC-*g*-4VP(12%) y diferente contenido de SBMA respectivamente, y se comparan con el PVC testigo. En ambos casos se observa que a diferencia del PVC los materiales modificados tienen mayor afinidad con el agua y por lo tanto se hinchan, la afinidad es significativamente mayor para las muestras modificadas con SBMA, donde el hinchamiento es hasta dos veces mayor que el presentado por el material que solo tiene el injerto de 4VP. Al comparar las muestras con mismo contenido de SBMA, pero diferente contenido de 4VP (4 y 12%), no hay diferencias entre los hinchamientos indicando que la interacción con el agua está dominada por contenido de SBMA. Para todas las muestras el tiempo de hinchamiento límite fue 2 horas.

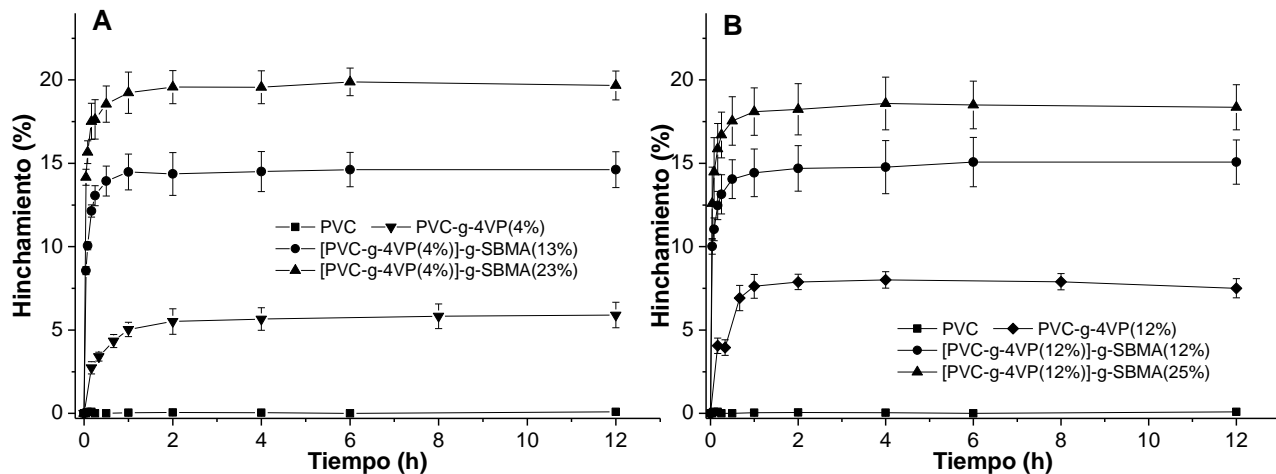


Figura 29. Hinchamientos en agua a 25 °C. A) Muestras basadas en PVC-*g*-4VP(4%) y B) muestras basadas en PVC-*g*-4VP(12%) Se reporta media \pm error estándar de la media (SEM) n=3

Hinchamiento en buffer de PBS a 37 °C: Los ensayos de hinchamiento en PBS se realizaron a 37 °C para simular condiciones corporales, en las Figuras 30A y 30B se muestran los resultados para los materiales con [(PVC-*g*-4VP(4%)]-*g*-SBMA y [(PVC-*g*-4VP(12%)]-*g*-SBMA, al igual que en el caso del agua se observa un incremento significativo del hinchamiento para materiales que contienen SBMA y el porcentaje de éste es el que determina el comportamiento del material. En la Figura 30A se observa que las muestras con 13 y 23% de SBMA presentan un comportamiento singular, con un máximo a los 30 minutos que

posteriormente se estabiliza a las 2h, este comportamiento es debido a intercambio iónico que ocurre en el material, en el caso de las muestras con 12% 4VP este porcentaje permite una mayor estabilización.

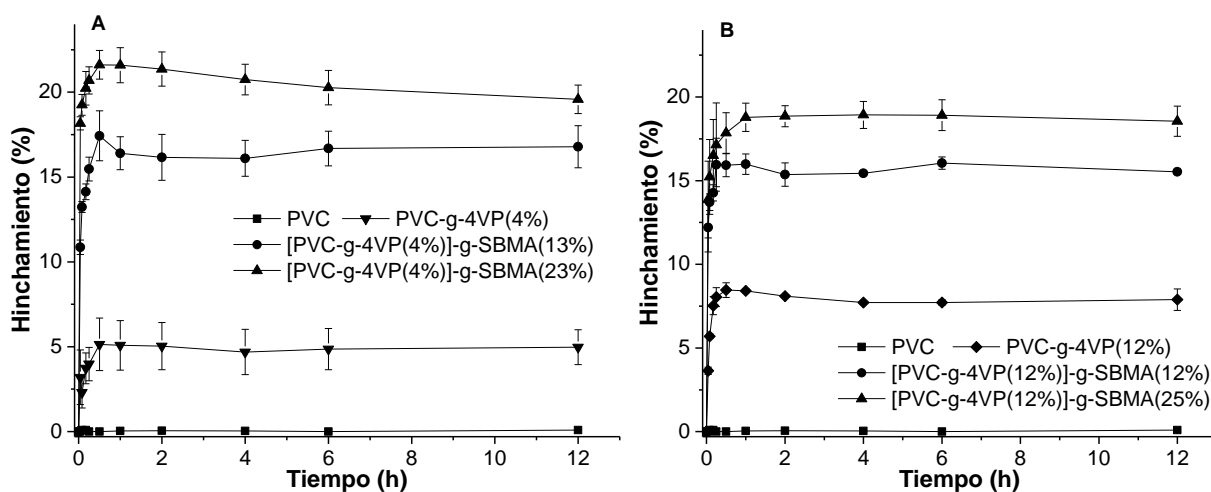


Figura 30. Hinchamiento en PBS a 37 °C. Se reporta media \pm SEM, n=3.

En la Figura 31 se muestra la comparación entre el hinchamiento de las diferentes muestras con 4% de 4VP a 2h tanto en agua como en PBS. En los dos casos se conserva el aumento del hinchamiento con la cantidad de injerto de SBMA y no se observa una diferencia significativa entre emplear agua o PBS.

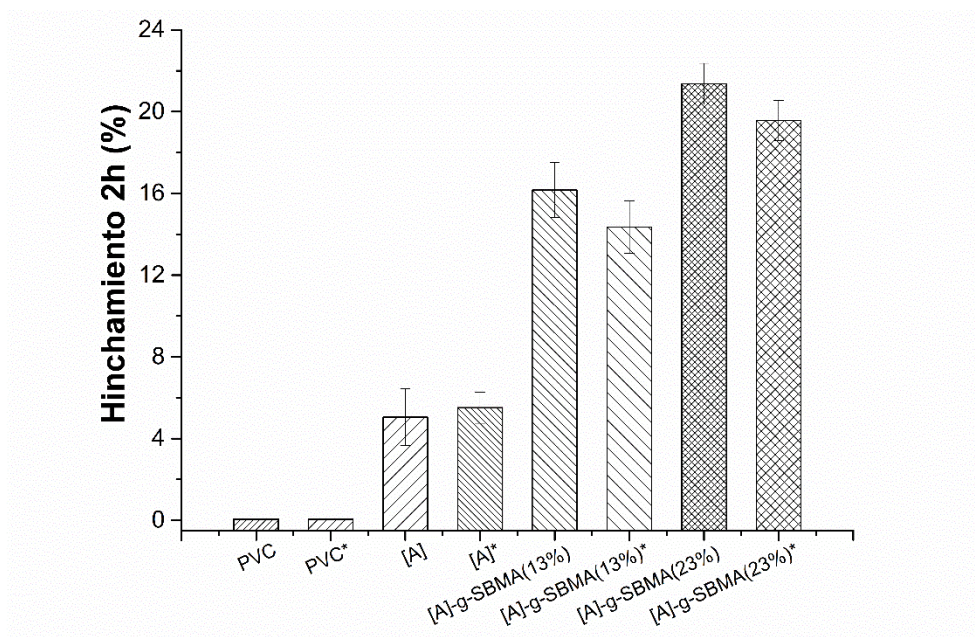


Figura 31. Comparación hinchamiento en agua y en PBS en el hinchamiento límite (2h). *Muestras en H₂O y A= PVC-g-4VP(4%). Se reporta media \pm SEM, n=3.

9.4. Ángulos de contacto

El ángulo de contacto permite observar la interacción entre un líquido y una superficie sólida, en un sistema trifásico (sólido, líquido y gaseoso), en función del ángulo que forma la superficie del líquido al entrar en contacto con el sólido. Dicho ángulo dependerá principalmente de la relación que existe entre las fuerzas adhesivas que se forman entre el líquido y el sólido y las fuerzas cohesivas del líquido. Por ejemplo, una gota de agua se adhiere a cierto material si sus moléculas y las moléculas de agua experimentan una atracción entre ellas superior a la fuerza de cohesión del agua. En ambos casos las fuerzas de atracción se refieren a las interacciones intermoleculares de los materiales. Cuando las moléculas líquidas son fuertemente atraídas por las moléculas sólidas, la gota se extiende sobre la superficie sólida, lo que corresponde a un ángulo de contacto menor a 90° , por lo contrario, si las fuerzas de cohesión son mayores, el ángulo tendrá un valor mayor a 90° [78]. En la Figura 32 se muestran los ángulos de contacto con agua para las muestras de (PVC-g-4VP)-g-SBMA y se comparan con las bases PVC-g-4VP y el PVC testigo. El PVC testigo es un material hidrófobo con un ángulo de contacto mayor a 90° , al ser modificado con 4VP este ángulo disminuye proporcionalmente a la modificación a 55° para 12% y a 65° para 4%, al realizar el segundo injerto con SBMA los ángulos caen a valores cercanos a 30° para injertos de SBMA del 12% y a 20° para injertos del 23%. Estos resultados concuerdan con lo observado en las gráficas de hinchamiento en agua, corroborando que en los materiales con injerto de SBMA, es éste el que controla la afinidad del material con el agua.

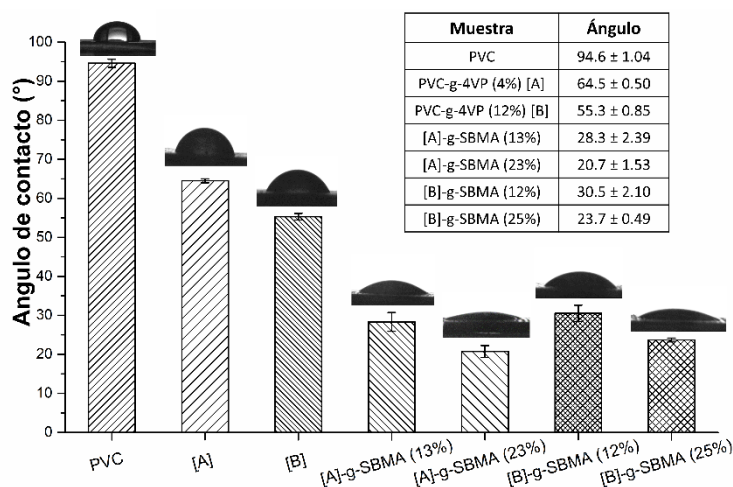


Figura 32. Ángulos de contacto. Se reporta media \pm SEM, $n=8$ a los 5 minutos de depositada la gota. A= PVC-g-4VP(4%) y B= PVC-g-4VP(12%).

9.5. Efecto de la fuerza iónica

La fuerza iónica está determinada por la concentración de iones en una solución, este parámetro es importante en sistemas biológicos puesto que determina la estabilidad de las proteínas y los sistemas coloidales. Los polímeros zwitteriónicos se caracterizan por tener respuesta a la fuerza iónica, debido al efecto de apantallamiento que ejercen los iones sobre la doble capa eléctrica, en concentraciones bajas refuerza la repulsión, pero en altas concentración pueden llevar al colapso del polímero [48].

Para determinar el comportamiento de los materiales [PVC-*g*-4VP]-*g*-SBMA(~23%) frente a la fuerza iónica, se midió el hinchamiento a las 2 h en soluciones con diferente concentración de NaCl (0, 0.07, 0.14, 0.28, 0.42 y 1 M). En la Figura 33 se muestra la comparación de los valores obtenidos. No se observa un efecto significativo de la fuerza iónica de la solución sobre el porcentaje de hinchamiento sobre ninguno de los materiales. La estabilidad de los materiales modificados con SBMA podría indicar que el sistema de injerto estabiliza al polímero zwitteriónico, e impide su colapso, puesto que se ha reportado que el homopolímero de SBMA tiene respuesta a la fuerza iónica [32].

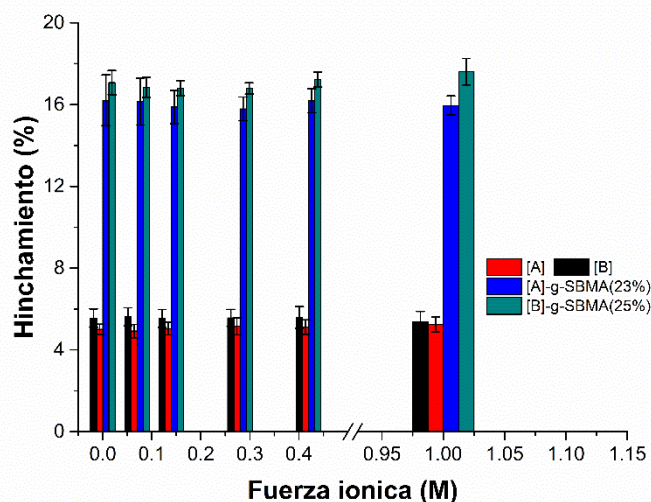


Figura 33. Efecto de la fuerza iónica. Se reporta media \pm SEM, $n=3$. A= PVC-*g*-4VP(4%) y B= PVC-*g*-4VP(12%).

9.6. pH sensibilidad

La pH sensibilidad es una característica de polímeros que contienen grupos ionizables en su estructura, los cuales presentan cargas dependiendo de las condiciones del medio. Al cargarse, las cadenas con cargas iguales se repelen incrementando el hinchamiento para reducir el estrés.

En este caso la 4VP es un polímero pH sensible, que presenta un pKa de 5.4 en su forma de homopolímero, pero al unirse a otros grupos este valor se desplaza. En la Figura 34 se muestran las curvas de hinchamiento en función del pH para las muestras de PVC modificadas con 4VP y SBMA, se puede concluir que la presencia del SBMA no altera de forma significativa el pH crítico del material, aunque si incrementa considerablemente su adsorción de agua.

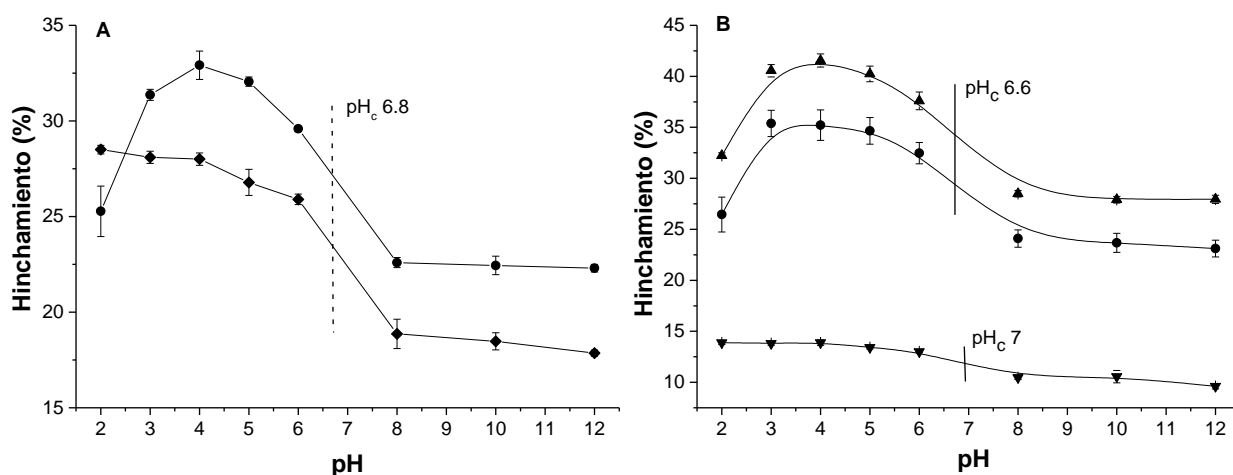


Figura 34. Curvas de pH sensibilidad. A) (●) [PVC-g-4VP(12%)]-g-SBMA(25%) y (◆) PVC-g-4VP(12%); B) (▼) PVC-g-4VP(4%), (●)[PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(13%) y (▲) [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%). Se reporta: media \pm error estándar de la media, n=3

Adicionalmente se calculó la pH sensibilidad, la cual es una medida del grado de cambio en el hinchamiento a presentarse la transición en el pH crítico; se define como la razón entre el hinchamiento antes y después del cambio. Para este caso se tomaron como puntos de referencia los hinchamientos a pH 4 y 8, se encontraron valores similares para las muestras modificadas con 4% de 4VP y 13 y 23% SBMA y las modificadas solo con 4% 4VP alrededor de 1.4, en la Tabla 7 se muestran los valores.

9.7. Adsorción de proteínas en muestras de (PVC-g-4VP)-g-SBMA

La Figura 35 muestra la cantidad de proteína BSA adsorbida sobre cada superficie al interactuar con una solución que contiene la concentración en plasma de esta sustancia (30 mg/mL). El PVC testigo adsorbió alrededor de 121.7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, esta cantidad disminuyó 31 y 59 % para las muestras modificadas con 4VP al 4 y 12%, sin embargo, la muestra con 23% de injerto de 4VP mostró un incremento en la adsorción del 1%. Por otra parte, los materiales modificados con 4VP y SBMA muestran una disminución significativa en la cantidad de proteína adsorbida, 83,

62, 75 y 81 % para las muestras [PVC-*g*-4VP(4%)]-*g*-SBMA(13%), [PVC-*g*-4VP(4%)]-*g*-SBMA(23%), [PVC-*g*-4VP(12%)]-*g*-SBMA(12%) y [PVC-*g*-4VP(12%)]-*g*-SBMA(25%) respectivamente. Estos resultados corroboran que el polímero zwitterionico injertado por este método mantiene su carácter antiincrustante, y dota a la superficie con una capacidad antiadherente para este tipo de proteínas, lo cual es un resultado prometedor en el desarrollo de superficies antimicrobianas y hemocompatibles.

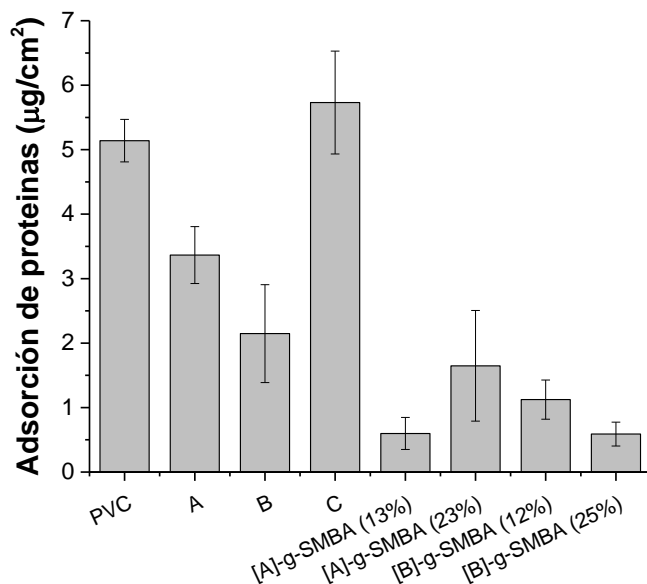


Figura 35. Adsorción de BSA en catéteres de PVC modificados con 4VP y SBMA; [A]: PVC-*g*-4VP(4%), [B]: PVC-*g*-4VP(12%) y [C]: PVC-*g*-4VP(21%). Se reporta: media \pm error estándar de la media, n=3

9.8. Carga de ciprofloxacino

Las muestras de [PVC-*g*-4VP(4%)]-*g*-SBMA(13%) y [PVC-*g*-4VP(12%)]-*g*-SBMA(12%), no mostraron perfil de carga en las condiciones empleadas. La Figura 36 muestra el perfil de carga para la muestra de [PVC-*g*-4VP(4%)]-*g*-SBMA(23%). Se observa que la carga se mantiene constante entre las 24 y las 30 h. La carga final del material después de 30 h fue de 34.5 ± 3.6 µg/g, con una concentración de carga inicial de 12 µg/mL.

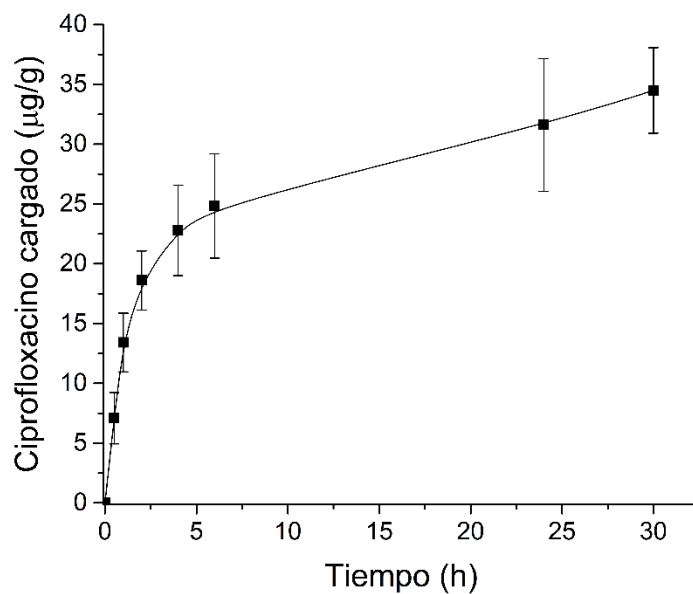


Figura 36. Perfil de carga de ciprofloxacino en catéteres de [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%).

Una vez obtenido el tiempo de carga se probó variar la concentración de la solución de carga y cargar durante 30 h, la Tabla 4 presenta las cantidades cargadas para dos diferentes concentraciones.

Tabla 4. Carga de ciprofloxacino en [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%)

Concentración de la solución de carga (µg/mL)	Cantidad cargada (µg/g)
12	34.5 ± 3.6
25	217 ± 68

9.9. Liberación de ciprofloxacino

La Figura 37 muestra los perfiles de liberación de ciprofloxacino para los catéter [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%) con diferente carga. Para este sistema la liberación máxima se alcanzó a las 24 h de interacción con la solución buffer. El perfil de liberación para la muestra cargada con 34.5 µg/g se ajustó al modelo de *Peppas-Sahlin with T_{lag}*, mientras que la muestra cargada con 217 µg/g se ajustó al modelo de *Peppas-Sahlin*, teniendo en cuenta el índice de correlación (r^2), criterio de información de Akaike (AIC) y el criterio de selección de modelo (MSC), en la Tabla 5 se muestran los valores de los diferentes criterios y se comparan con los obtenidos para otros modelos [79]. Los ajustes fueron realizados con el software DDSolver. El

tiempo de retraso en la muestra cargada con 34.5 µg/mL puede asociarse a una menor disponibilidad o saturación del material con el fármaco.

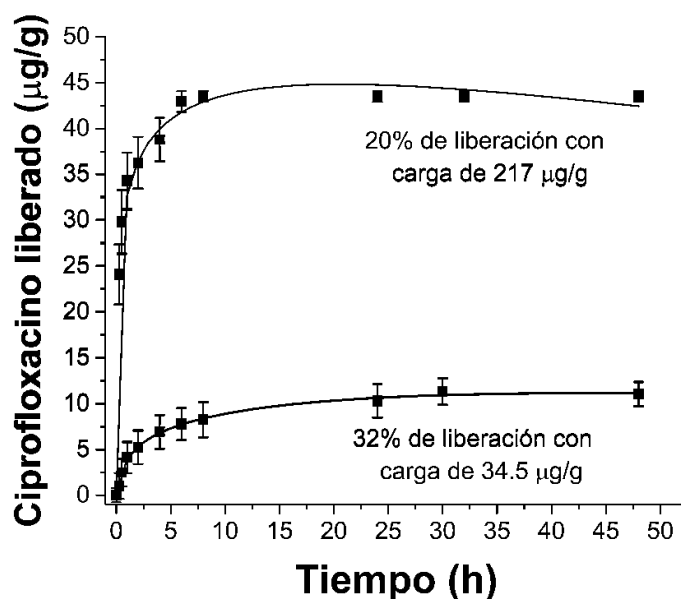


Figura 37. Perfil de liberación de ciprofloxacino en catéteres de [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%).

Tabla 5. Criterios de selección de modelos para [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%).

[PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%) cargada con 34.5 µg/g de ciprofloxacino			
Modelo de liberación	r ²	AIC	MSC
Peppas – Sahlin with T _{lag} *	0.994	26.17	4.39
Peppas – Sahlin	0.986	37.16	3.39
Korsmeyer – Peppas	0.973	51.06	2.13
[PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%) cargada con 217 µg/g de ciprofloxacino			
Peppas – Sahlin	0.992	17.94	2.66
Korsmeyer – Peppas	0.886	32.79	1.18
Peppas – Sahlin with T _{lag} *	0.993	18.47	2.61

*T_{lag} se refiere a un modelo que considera el tiempo de retraso.

El modelo de Peppas-Sahlin esta descrito por la siguiente ecuación, en el modelo con T_{lag} hay que reemplazar t por (t-T_{lag}):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1 t^m + k_2 t^{2m} \quad Ec. (4)$$

En la Tabla 6 se muestran los valores encontrados para cada constante, en las muestras analizadas el exponente de difusión de Fick (m) es menor a 0.5 indicando que la liberación esta

mediada principalmente por procesos de difusión [80]. Además, la muestra presenta parámetros similares en los perfiles de liberación pese a tener diferente carga.

Table 6. Parámetros del modelo de Peppas-Sahlin para muestras de [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%).

Carga de ciprofloxacino ($\mu\text{g/g}$)	k_1	k_2	m	T_{lag}
34.5	15.22	-2.045	0.424	0.399 ± 0.307
217	17.36	-2.188	0.431	-----

En la Tabla 7 se muestran los materiales (PVC-g-4VP)-g-SBMA obtenidos y se comparan sus propiedades con el PVC testigo y el PVC-g-4VP (4%).

Tabla 7. Comparación de las propiedades de los materiales de (PVC-g-4VP)-g-SBMA sintetizados

Propiedades	PVC	A(4%)	[A(4%)]-g-B (13%)	[A(4%)]-g-B(23%)	[A(12%)]-g-B(12%)	[A(12%)]-g-B(25%)
Condiciones de síntesis	x	x	0.15 M 60 °C 1 kGy 12 h 75 % MeOH	0.25 M 60 °C 1 kGy 8 o 12 h 75 % MeOH	0.10 M 60 °C 1 kGy 12 h 75 % MeOH	0.25 M 60 °C 1 kGy 12 h 75 % MeOH
Tiempo de hinchamiento límite	x	2 h	2 h	2 h	2 h	2 h
Máximo hinchamiento (%)	x	5.5 ± 0.8	14.4 ± 1.3	19.6 ± 1.0	14.7 ± 1.4	18.2 ± 1.5
Ángulo de contacto (°)	94.6 ± 1.0	64 ± 1.4	28.3 ± 2.4	20.7 ± 1.5	30.5 ± 2.1	23.7 ± 0.5
pH crítico	x	7	6.8	6.8	6.6	6.6
pH sensibilidad	x	1.42	1.44	1.41	1.42	1.33
Adsorción de BSA ($\mu\text{g/cm}^2$)	5.1 ± 0.3	3.4 ± 0.4	0.6 ± 0.3	1.7 ± 0.9	1.1 ± 0.3	0.6 ± 0.2
Carga de ciprofloxacino ($\mu\text{g/g}$)	x	x	x	217 ± 68	xx	xx
Liberación de ciprofloxacino ($\mu\text{g/g}$)	x	x	x	43.4 ± 5.27	xx	xx

A: PVC-g-4VP; B: SBMA; x el ensayo no dio resultados para este material porque no tiene la propiedad. xx el ensayo no se realizó al material.

Se observó que las propiedades como el máximo hinchamiento, ángulo de contacto y adsorción de proteínas están determinadas por el contenido de SBMA y no de 4VP, además la pH sensibilidad y el pH crítico fueron similares para muestras con 4 y 12 % de 4VP, por lo que se escogieron las muestras de [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(13%) y [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%), para realizar las pruebas de carga y liberación de ciprofloxacino. Los resultados mostraron que las muestras de [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%) tienen esta capacidad, por lo que fueron las escogidas para realizar pruebas de viabilidad celular, actividad antimicrobiana y capacidad antiincrustante.

9.10. Viabilidad celular

La Figura 38 muestra los resultados de viabilidad celular, en donde se observó el crecimiento de fibroblastos del tipo BALB/3T3 (ratón) en presencia de los materiales modificados; se observó que el PVC testigo aumenta el crecimiento celular al igual que el material modificado con 4% de 4VP, sin embargo, el material con 4% de 4VP y 23% de SBMA cargado con ciprofloxacino mostró una disminución en el crecimiento celular de aproximadamente un 30%, dejando al material en el valor límite para ser catalogado con potencial efecto citotóxico según la norma ISO-10993-5-2009 [81].

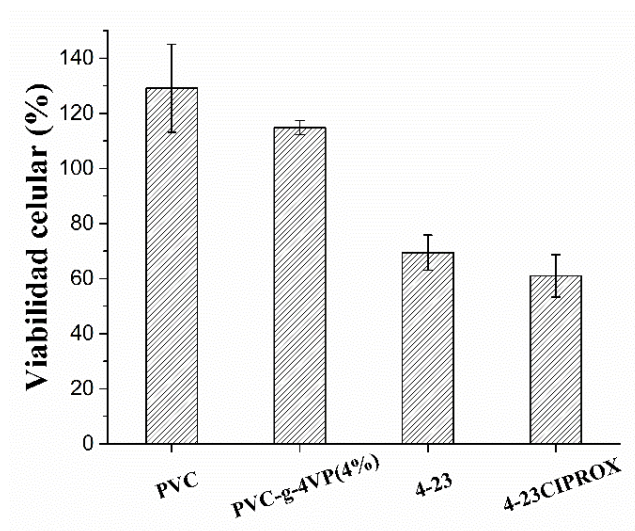


Figura 38. Viabilidad celular para muestras de [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%). Reporta: media \pm error estándar de la media, n=3

9.11. Actividad antimicrobiana

Ensayo de Kirby-Bauer: Después de las 24 h se midieron los halos de inhibición usando un calibrador. Los datos se muestran en la Tabla 8. Al comparar estos resultados con las zonas de inhibición de antibiogramas de ciprofloxacino cargados con una cantidad similar de fármaco (aproximadamente 5 µg) se observa que las zonas de inhibición coinciden para bacterias no resistentes a este fármaco que presentan zonas de inhibición >21 mm para *E. coli* y para resistentes en el caso de la *S. aureus* con zona de inhibición < 16 mm [82]. Con base en estos resultados las pruebas antimicrobianas de dilución en caldo se hicieron solo para *E. coli*.

Tabla 8. Halos de inhibición del ensayo de Kirby-Bauer

Muestra	Carga de ciprox (µg/g)	<i>E. coli</i> 24h Halo (mm)	<i>S. aureus</i> 24 h Halo (mm)
PVC	0	x	x
PVC-g-4VP(4%)	0	x	x
[PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%)	0	x	x
[PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%) Ciprox	217 ± 68	24.5	14

La Figura 39 muestra las fotografías de los halos de inhibición las muestras de [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%) cargadas con ciprofloxacino y las no cargadas. Se observa el efecto antimicrobiano por la liberación del agente activo.

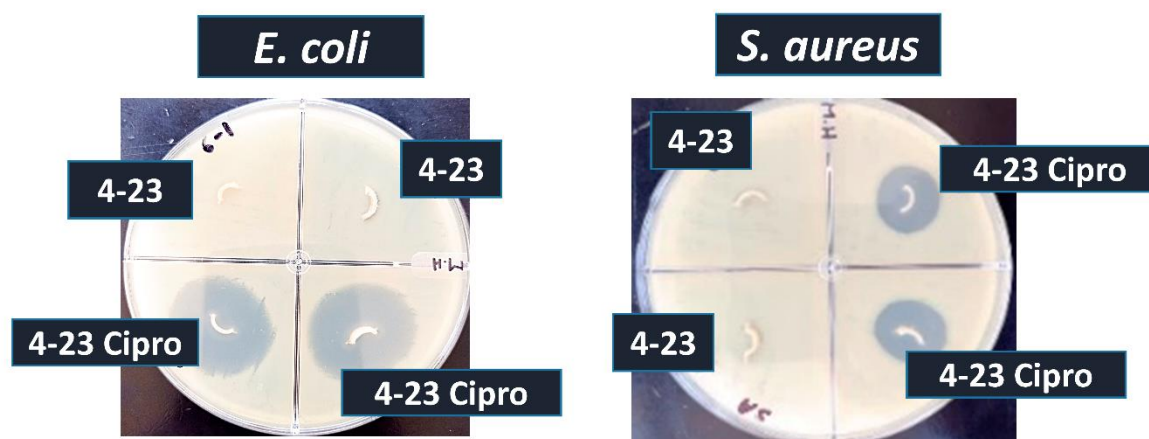


Figura 39. Fotografías del ensayo de Kirby-Bauer o difusión en placa

Ensayo de dilución en caldo: La Figura 40 muestra la capacidad antibacteriana del material a partir de su capacidad para inhibir el crecimiento de *E. coli*, se observa que el PVC y el PVC-g-4VP(4%) no tienen actividad antimicrobiana, por el contrario el [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%) disminuyó aproximadamente un 28% el crecimiento bacteriano y al cargarse con ciprofloxacino logró una inhibición del 76% a las 24 h y del 112% a las 48 h; porcentajes de inhibición mayores al 100% indican que no solo evitó el crecimiento sino que eliminó parte de las bacterias inicialmente sembradas.

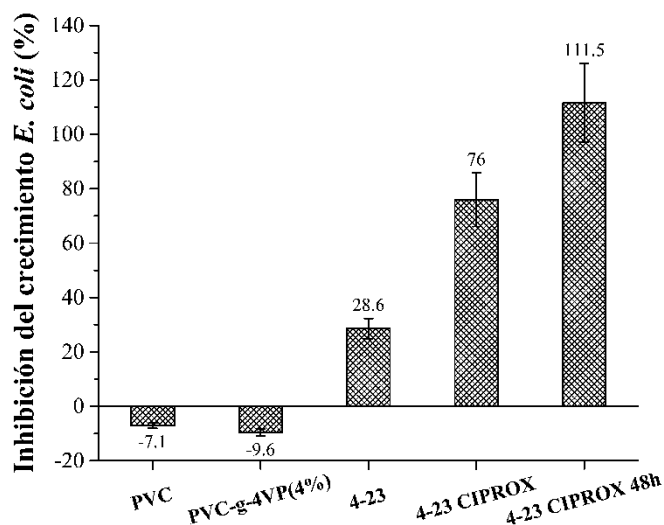


Figura 40. Inhibición del crecimiento *E. coli*. (4-23: [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%)). Reporta: media \pm error estándar de la media, n=3

9.12. Adhesión bacteriana

Por otra parte, la Figura 41 presenta la capacidad antiincrustante del material determinada por la cantidad de unidades formadoras de colonias de bacterias *E. coli*, que se adhieren al material al estar en contacto directo con una solución de 1×10^8 ufc durante 24 h, se observa que el material con injerto binario presenta una disminución del 89% en la adhesión en relación al PVC testigo y este efecto se ve potenciado al cargar ciprofloxacino llegando a una disminución del 92%.

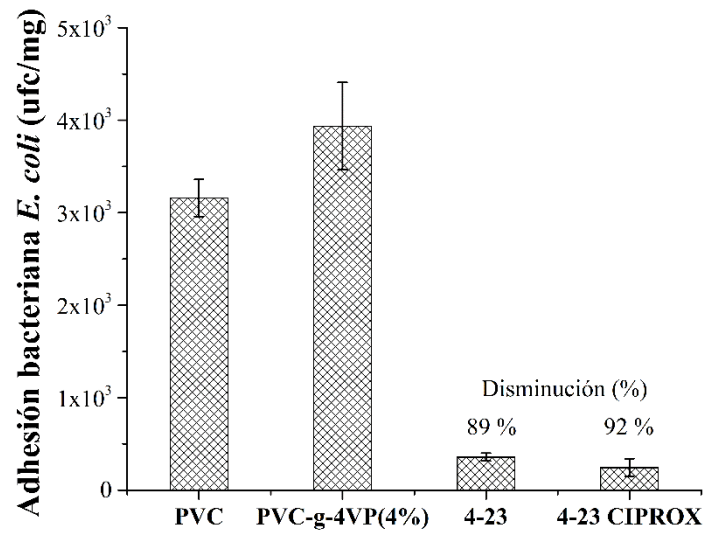


Figura 41. Adhesión bacteriana de *E. coli* a los materiales modificados. (4-23: [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%)). Reporta: media \pm error estándar de la media, n=3

10. RESULTADOS: FUNCIONALIZACIÓN DE CATÉTERES PVC-g-4VP CON PS [(PVC-g-4VP)F(4VPPS)]

Otra forma de obtener polímeros zwitteriónicos consiste en la formación del zwitterion después de la polimerización, es decir, se forman polímeros catiónicos o aniónicos que finalmente son funcionalizados con grupos de carga opuesta [43]. Este es el caso de los materiales (PVC-g-4VP)F(4VPPS), donde inicialmente se realizó el injerto de 4VP sobre la matriz de PVC y posteriormente se funcionalizó con 1,3-propano sulfona (PS) para formar el polímero zwitteriónico 4-vinilpiridina propilsulfobetaina (4VPPS), dando como resultado un injerto compuesto por 4VP y 4VPPS. El proceso para la funcionalización en este caso consiste en una reacción de alquilación con apertura de anillo (Figura 42),

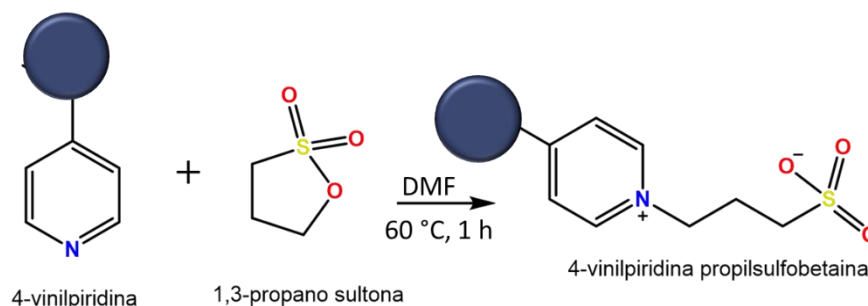


Figura 42. Reacción para la formación de 4VPPS

Para obtener las mejores condiciones de reacción, es decir, el mayor rendimiento, se deben analizar tres factores: el tiempo de reacción, la concentración de PS y la temperatura. Para

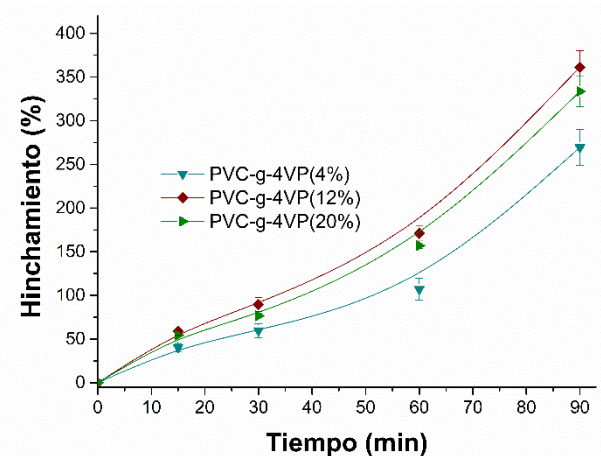


Figura 43. Hinchamiento en DMF. Se reporta media \pm error estándar de la media, n=3

determinar el tiempo de reacción primero se realizó una prueba de hinchamiento límite en DMF para muestras de PVC-g-4VP con porcentajes de injerto de 4, 12 y 21%, en la Figura 43 se muestran los resultados. Los tres materiales mostraron alta afinidad con el DMF presentando hinchamientos mayores al 100% después de una hora, el máximo hinchamiento alcanzado fue a

los 90 minutos, después de lo cual el material perdió su estructura, se disolvió.

Teniendo en cuenta los resultados del hinchamiento límite DMF y la información en referencias [66], se estipularon las siguientes condiciones de reacción para las pruebas preliminares sobre PVC-g-4VP al 4, 12 y 21% de modificación, tiempo 1h, concentración PS 0.5 M y temperatura 60 °C. La muestra con 4% de injerto de 4VP perdió masa durante la reacción posiblemente por disolución del material, mientras que las muestras PVC-g-4VP(12%) y PVC-g-4VP(21%) mostraron rendimientos de reacción del 57 y el 79% respectivamente, con porcentajes de modificación total del 20 y el 40%. Por lo que se decidió realizar la optimización de las condiciones de síntesis sobre las muestras con 12 y 21% de injerto de 4VP.

10.1. Efecto de la concentración de PS

La reacción de funcionalización es una reacción de adición nucleofílica con apertura de anillo, que se lleva a cabo en relación molar 4VP:PS (1:1), para obtener el mayor rendimiento el reactivo de PS siempre debe estar en exceso por lo que se trabajaron concentraciones desde 0.35 M. En las Figuras 44A y 44B se muestra el comportamiento del rendimiento de reacción al aumentar la concentración de PS, para muestras con 21 y 12% de 4VP respectivamente. En ambos casos se observó un incremento del rendimiento de reacción al aumentar la concentración, las muestras con 21% de 4VP llegaron a rendimientos del 80% con concentración de 0.8 y 1 M bajo las condiciones empleadas, para los siguientes ensayos se empleó una concentración de 0.8 M; mientras que las muestras de 12% requirieron 0.35 M de PS para llegar a estos rendimientos.

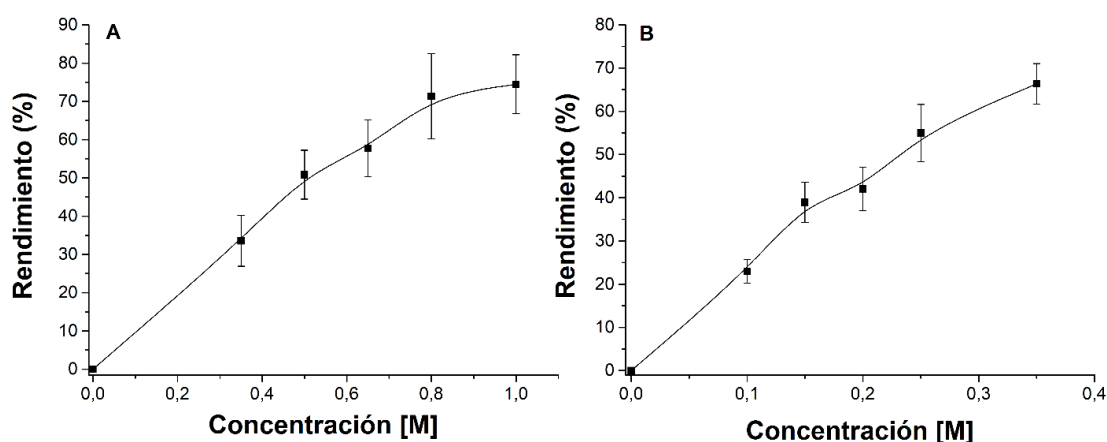


Figura 44. Efecto de la concentración de PS sobre el rendimiento de la reacción de funcionalización de PVC-g-4VP A: PVC-g-4VP(21%) condiciones: 70 °C y 75 min; y B: PVC-g-4VP(12%) condiciones: 70 °C y 10 min. Se reporta: media \pm error estándar de la media, n=3.

10.2. Efecto de la temperatura

La temperatura tiene un papel importante durante la reacción puesto que este es un proceso endotérmico que requiere de energía para superar la barrera de activación y desplazar el equilibrio hacia la formación del producto. Se probaron tres temperaturas 50, 60 y 70 °C, a 80 °C la matriz se disuelve rápidamente en DMF. La Figura 45 muestra los rendimientos en función de la temperatura para las muestras con 12 y 21% de 4VP, en ambos casos a 70 °C se encontraron los mejores rendimientos por lo que utilizó esta temperatura en los siguientes experimentos.

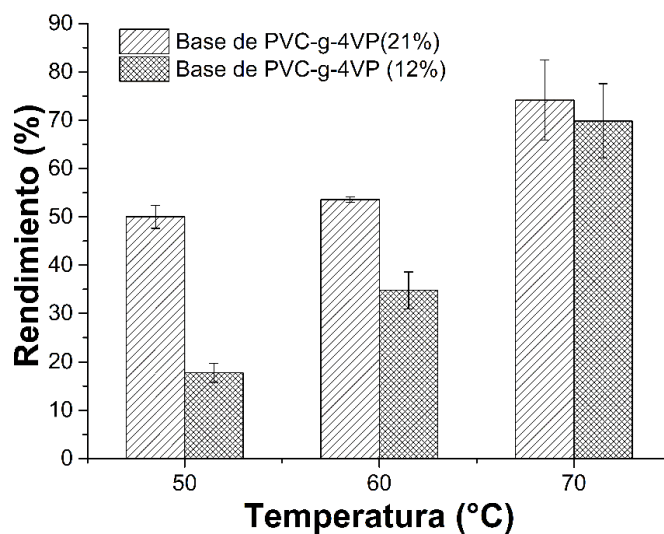


Figura 45. Efecto de la temperatura sobre el rendimiento de la reacción de funcionalización de PVC-g-4VP. Condiciones: 0.8 M PS, 75 min, 20 % injerto de 4VP. Se reporta: media \pm error estándar de la media, n=3

10.3. Efecto del tiempo de reacción

En este caso el tiempo de reacción está limitado por la estabilidad de la matriz en el DMF, por lo que el tiempo máximo de reacción que se empleó fue de 75 min. La Figuras 46A y 46B, muestran que el rendimiento incrementa al aumentar el tiempo, llegando a valores de 80 a 95 % entre 60 y 75 minutos de reacción para muestras con 21% de 4VP y a rendimientos cercanos al 100% a los 20 minutos para muestras con 12% de 4VP.

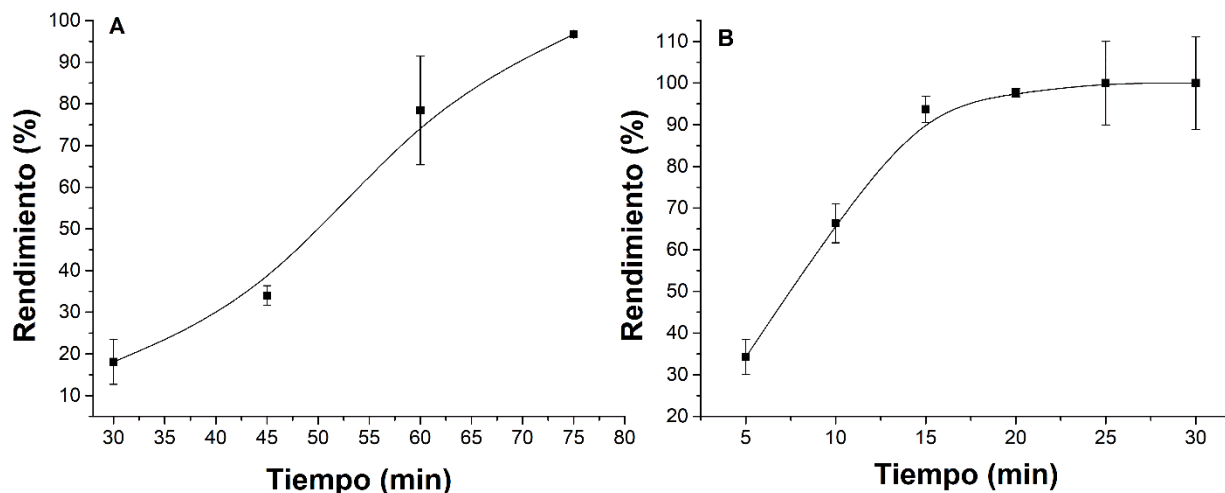


Figura 46. Efecto del tiempo de reacción sobre el rendimiento de la reacción de funcionalización de PVC-g-4VP. Condiciones: 0.8 M PS, 70 °C, 20 % injerto de 4VP. Se reporta: media \pm error estándar de la media, n=3

De esta síntesis se obtuvieron materiales en cuatro rangos de injerto, como se muestran en la Tabla 9. El material con injertos del 13% de 4VP y 32% de 4VPPS se descartó para la caracterización, puesto que había una deformación significativa del catéter.

Tabla 9. Catéteres modificados con injerto de (4VP)F(4VPPS)

Material	Injerto 4VP (%)	Injerto 4VPPS (%)
(PVC-g-4VP _{4%})F(4VPPS _{32%})	4 \pm 3	32 \pm 5
(PVC-g-4VP _{10%})F(4VPPS _{13%})	10 \pm 1	13 \pm 2
(PVC-g-4VP _{16%})F(4VPPS _{22%})	16 \pm 4	22 \pm 3
(PVC-g-4VP _{13%})F(4VPPS _{32%})	13 \pm 3	32 \pm 6

11. RESULTADOS: CARACTERIZACIÓN DE (PVC-g-4VP)F(4VPPS)

11.1. Espectroscopia infrarroja

Los materiales de (PVC-g-4VP)F(4VPPS) se caracterizaron por espectroscopia infrarroja (ATR-FTIR) para determinar la presencia de los distintos grupos funcionales, Figura 47. El espectro FTIR del catéter de PVC testigo presentó bandas a 2992 cm^{-1} de los estiramientos C-H de grupos $-\text{CH}_2-$, 1267 cm^{-1} de las flexiones C-H; adicionalmente, bandas a 1745 y 1459 cm^{-1} características del plastificante. El espectro de PVC-g-4VP, a parte de las bandas anteriores presentó señales de estiramiento C=C a 1597 y 1557 cm^{-1} y a 830 cm^{-1} de las flexiones C-H fuera del plano de la amina aromática [73]. Finalmente, los espectros de (PVC-g-4VP)F(4VPPS), junto con las bandas características de la amina aromática, muestran bandas a 1039 y 1265 cm^{-1} correspondiente a los estiramientos simétricos y asimétricos del grupo sulfonato (SO_3^-), y se acentúa la banda 1680 cm^{-1} de los estiramientos C=N de la piridina, corroborando la formación del zwitterion 4VPPS [83].

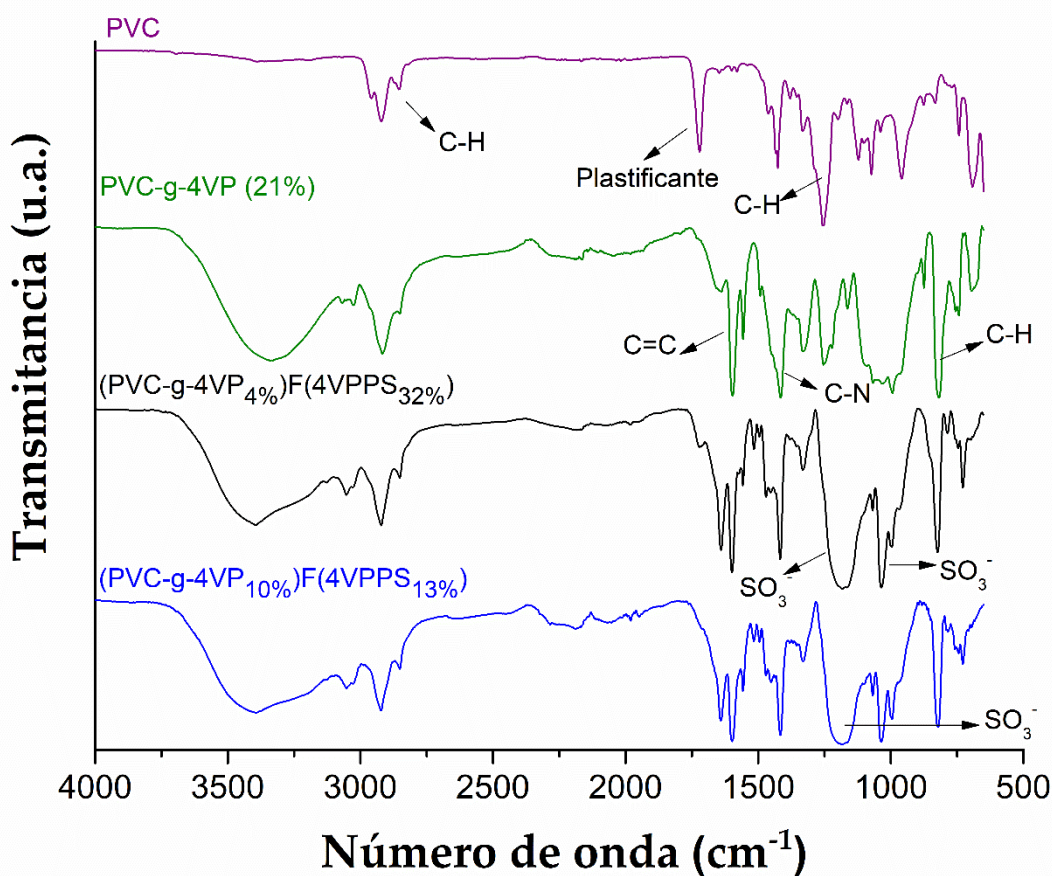


Figura 47. Espectros FTIR de muestras (PVC-g-4VP)F(4VPPS)

11.2. Análisis térmico por TGA

El análisis térmico TGA mostró que el catéter modificado con (PVC-g-4VP)F(4VPPS) presenta una mayor estabilidad térmica que la matriz de PVC y PVC-g-4VP, ya que perdió 10% de peso a una temperatura 18 °C mayor (Tabla 10). El PVC y el PVC-g-4VP presentaron tres temperaturas de descomposición, la primera se atribuye a la descomposición del plastificante, la segunda y más intensa producida por la deshidrocloración del PVC y la última atribuida a la descomposición total de las cadenas, los materiales modificados con 4VP presentaron un incremento de alrededor de 20 grados en todas las temperaturas de descomposición. Finalmente, los catéteres (PVC-g-4VP)F(4VPPS) presentaron cuatro temperaturas de descomposición. La primera fue a 272 °C debido a la pérdida del plastificante, la segunda a 333 °C por la deshidrocloración del PVC [76], la tercera fue a 364 °C, concuerda con la primera descomposición de la amina cuaternaria [77], y la última a 453 °C, que corresponde a la descomposición de la cadena de carbono. La Figura 48 muestra los termogramas de cada muestra.

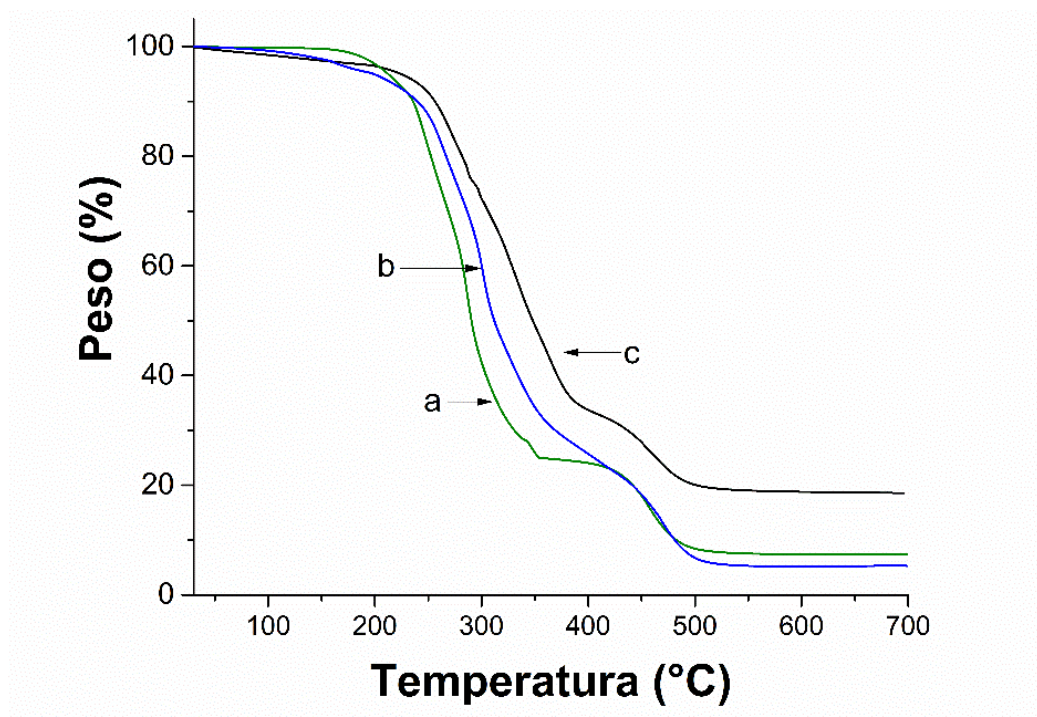


Figura 48. Termogramas: a) PVC, b) PVC-g-4VP(12%), y c) (PVC-g-4VP_{10%})F(4VPPS_{13%})

Tabla 10. Datos del análisis termogravimétrico

Muestra	PVC	PVC-g-4VP(12%)	(PVC-g-4VP _{10%})F(4VPPS _{13%})
10% pérdida en peso (°C)	236	240	256
Temperaturas de descomposición (°C)	243	261	272
	287	301	333
	457	470	453

11.3. Hinchamientos en agua y PBS

Se realizaron pruebas de hinchamiento límite tanto en agua como en PBS a los materiales modificados, para observar su afinidad con los diferentes medios. En la Figura 49 se muestran las curvas de hinchamiento, las muestras modificadas sólo con 4VP mostraron su máximo hinchamiento a las 2 horas. Por otro lado, los catéteres modificados con 4VP y 4VPPS alcanzaron su hinchamiento máximo a los 30 minutos y presentaron porcentajes máximos a 3 tres veces los alcanzados por las muestras sin funcionalizar. En la Tabla 11 se muestran los valores de hinchamiento a las 2 horas tanto en agua como en PBS, se observa que no hay una variación aparente al cambiar el medio.

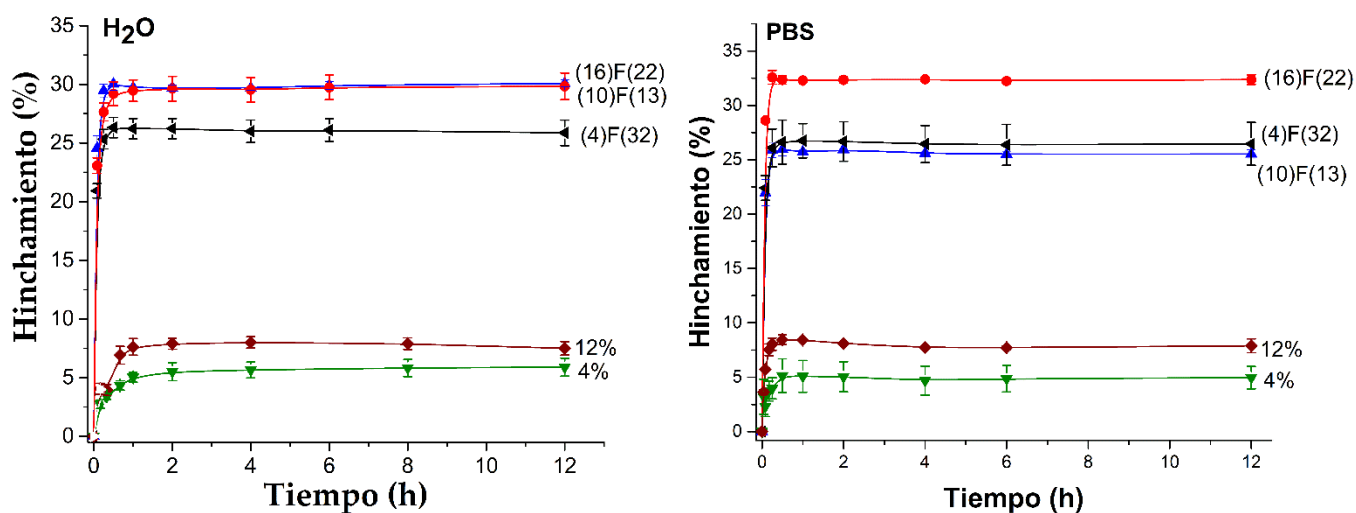


Figura 49. A la izquierda curvas de hinchamiento límite en agua y a la derecha curvas de hinchamiento límite en PBS para catéteres de PVC modificados con 4VP y (4VP)F(4VPPS). Se presenta: media \pm error estándar de la media, n=3

Tabla 11. Valores de hinchamiento a 2 horas de interacción

Muestra	Hinchamiento limite en agua (%)	Hinchamiento limite en PBS (%)
PVC-g-4VP (4%)	5.5 ± 1.87	5.6 ± 2.41
PVC-g-4VP (12%)	7.9 ± 1.13	8.1 ± 0.60
PVC-g-4VP (21%)	8.1 ± 1.91	8.0 ± 1.20
(PVC-g-4VP _{4%})F(4VPPS _{32%})	26.2 ± 1.72	26.7 ± 3.13
(PVC-g-4VP _{10%})F(4VPPS _{13%})	29.7 ± 0.50	25.9 ± 0.51
(PVC-g-4VP _{16%})F(4VPPS _{22%})	29.6 ± 1.83	32.3 ± 1.10

11.4. Ángulo de contacto

En la Figura 50 se muestran los ángulos de contacto para los diferentes materiales modificados y se comparan con el obtenido para el catéter de PVC original. La superficie del PVC mostró ángulo de aproximadamente 100° lo cual corresponde a su carácter hidrofóbico, los materiales modificados en cambio presentaron ángulos menores a 90° indicando que la superficie adquirió hidrofiliidad. Las superficies modificadas con 4VP y 4VPPS inicialmente tienen ángulos superiores a las modificadas sólo con 4VP, sin embargo, transcurridos 10 minutos de contacto los ángulos disminuyen a valores similares.

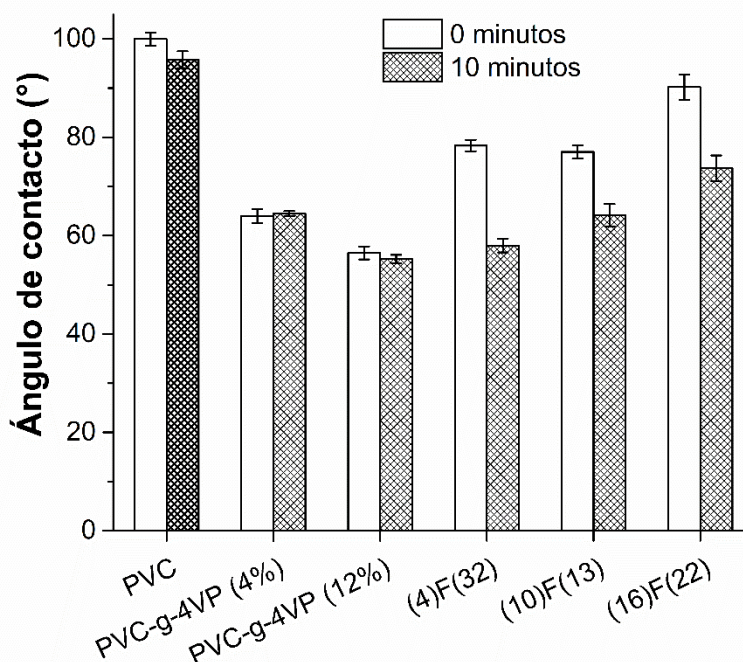


Figura 50. Ángulos de contacto con agua. Se reporta: media ± error estándar de la media, n=6

11.5. pH sensibilidad

La 4VP es un polímero pH sensible ya que tiene en su estructura un amino que presenta un equilibrio ácido-base (Figura 51), con un pKa alrededor de 5.4. A pH inferiores a su pKa el polímero se encuentra en su forma iónica, por lo que las cadenas sufren repulsión entre ellas y el hinchamiento es mayor.

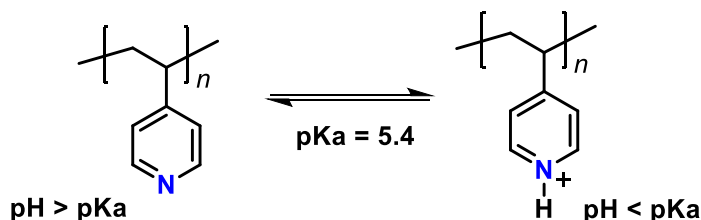


Figura 51. Equilibrio protonación-deprotonación para la 4VP

La Figura 52 muestra las curvas de hinchamiento respecto al pH de la solución para los catéteres modificados, dependiendo de la modificación el pH crítico vario de 6.3 a 7.

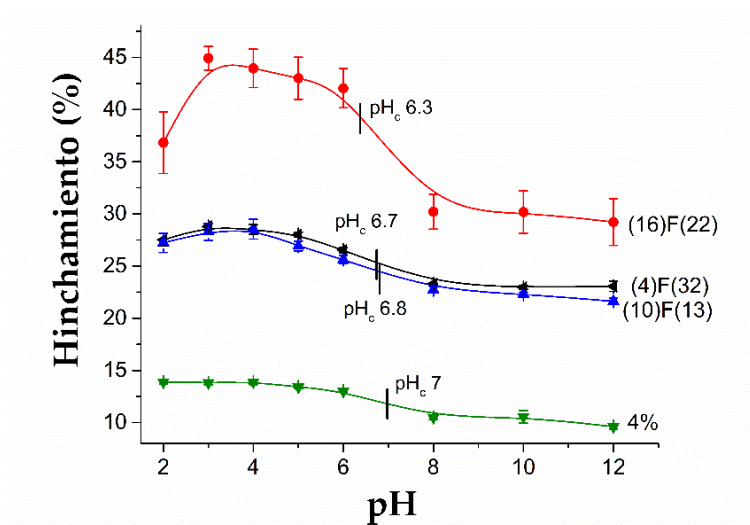


Figura 52. Curvas de pH sensibilidad. Se reporta: media \pm error estándar de la media, n=3

Se observó que la funcionalización disminuyó la pH sensibilidad los materiales al compáralo con el material modificado solo con 4VP, esto se debe a la menor cantidad de 4VP presente en el material; los valores de pH sensibilidad para los diferentes materiales se muestran en la Tabla 16.

11.6. Adsorción de proteínas en muestras de (PVC-g-4VP)F(4VPPS)

En este caso al igual que para los materiales modificados con SBMA, la presencia del polímero zwitteriónicos 4VPPS disminuyó el porcentaje de proteína adsorbida sobre la superficie. En la Figura 53 se muestran los resultados, el material modificado con 10 % de 4VP y 13% de 4VPPS fue el que mostró mayor capacidad para evitar la contaminación de la superficie, reduciendo la adsorción de BSA en un 74 % con respecto a la superficie de PVC sin modificar.

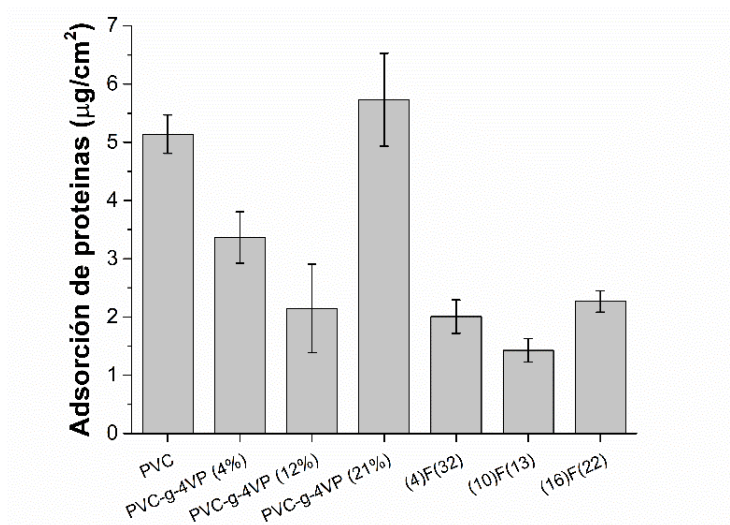


Figura 53. Adsorción de BSA en catéteres de PVC modificados con 4VP y (4VP)F(4VPPS). Se reporta: media \pm error estándar de la media, n=3

11.7. Carga y liberación de ciprofloxacino

Los ensayos de carga y liberación de ciprofloxacino se realizaron sobre muestras de PVC, PVC-g-4VP(4%), (PVC-g-4VP_{4%})F(4VPPS_{32%}), (PVC-g-4VP_{16%})F(4VPPS_{22%}) y (PVC-g-4VP_{10%})F(4VPPS_{13%}). Las muestras de PVC y PVC-g-4VP(4%) no mostraron capacidad de carga de ciprofloxacino, al contrario de las muestras modificadas con el polímero zwitteriónicos. La Figura 54 muestra el perfil de carga para las tres muestras, se observa que en todos los casos la carga llega a niveles máximos a las 30 h de interacción, sin embargo, la muestra (PVC-g-4VP_{10%})F(4VPPS_{13%}) cargó la mayor cantidad de fármaco.

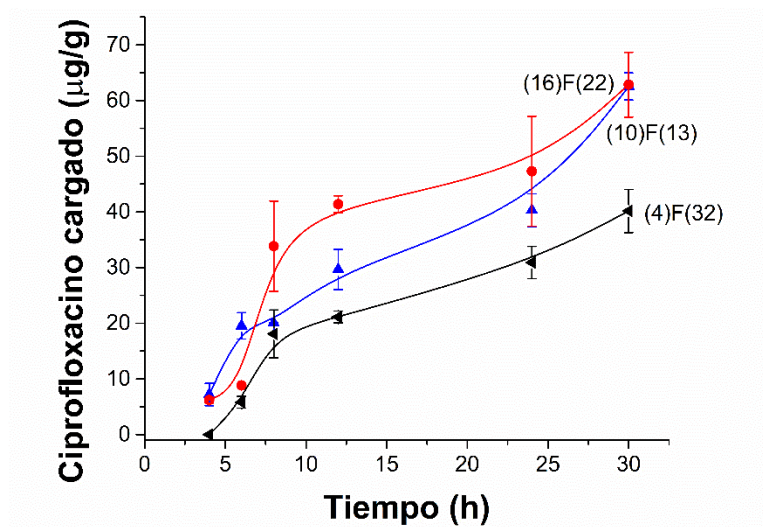


Figura 54. Perfiles de carga de ciprofloxacino. Se reporta: media \pm error estándar de la media, $n=3$

Este comportamiento concuerda con lo observado en los perfiles de liberación (Figura 55) donde las muestras (PVC-g-4VP_{4%})F(4VPSS_{32%}) y (PVC-g-4VP_{16%})F(4VPSS_{22%}) tuvieron una liberación final de aproximadamente 25 $\mu\text{g/mL}$, mientras que la muestra (PVC-g-4VP_{10%})F(4VPSS_{13%}) liberó alrededor de 40 $\mu\text{g/mL}$, en todos los casos la liberación fue paulatina hasta las 30 h. Los perfiles de liberación fueron tratados con el software DDSolver de Excel para determinar el modelo al que mejor se ajustan, en el material suplementario se especifican detalles del ajuste. Siguiendo los valores de Criterio de Información de Akaike (AIC), Criterio de Selección de Modelo (MSC) y el ajuste de cuadrados (r^2), el modelo que presentó mayor afinidad con el comportamiento de los materiales es el modelo de *Peppas-Sahlin* (Ecuación 4), en la Tabla 12 se muestran los valores para ajustes a diferentes modelos.

Los parámetros indican que para todos los materiales la k_1 predomina sobre la k_2 , indicando el mecanismo de difusión del fármaco en las películas es la principal forma de liberación. La Tabla 13 muestra los valores.

Tabla 12. Parámetros para selección de modelo de liberación

Parámetro	(PVC-g-4VP _{4%})F(4VPPS _{32%})	(PVC-g-4VP _{10%})F(4VPPS _{13%})	(PVC-g-4VP _{16%})F(4VPPS _{22%})
<i>Modelo Higuchi</i>			
R ²	0.982	0.980	0.963
AIC	57.96	80.47	71.98
MSC	3.003	0.779	2.156
<i>Modelo Korsmeyer-Peppas</i>			
R ²	0.986	0.994	0.975
AIC	56.68	56.79	70.34
MSC	3.121	2.380	2.304
<i>Modelo Peppas-Sahlin</i>			
R ²	0.994	0.996	0.992
AIC	52.59	56.72	64.04
MSC	3.493	2.937	2.877

Tabla 13. Parámetros del modelo de Peppas-Sahlin

Parámetros	(PVC-g-4VP _{4%})F(4VPPS _{32%})	(PVC-g-4VP _{10%})F(4VPPS _{13%})	(PVC-g-4VP _{16%})F(4VPPS _{22%})
k ₁	15.01	14.48	13.63
k ₂	1.609	-0.678	-0.657
m	0.379	0.377	0.601

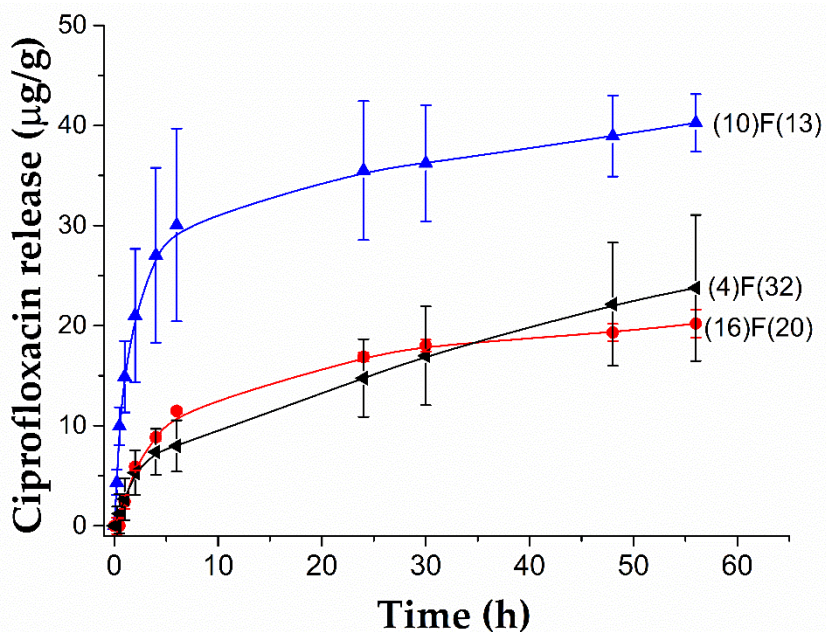


Figura 55. Perfiles de liberación del ciprofloxacino. Se reporta: media ± error estándar de la media, n=3

Con este resultado se varió la concentración de la solución de carga para la muestra de (PVC-g-4VP_{10%})F(4VPPS_{13%}) que presentó los mejores resultados. La Tabla 14 presenta las cantidades

cargadas para dos diferentes concentraciones.

Tabla 14. Carga de ciprofloxacino en PVC-g-4VP_{10%}/4VPPS_{13%}

Concentración de la solución de carga ($\mu\text{g/mL}$)	Cantidad cargada ($\mu\text{g/g}$)
12	62.5 ± 2.4
25	148.8 ± 22.5

La Figura 56 compara los perfiles de liberación de estas muestras, se observa que ambas muestras tienen una liberación total de aproximadamente el 66% del fármaco cargado. El perfil de liberación de muestra con una carga aproximadamente 149 $\mu\text{g/g}$ de ciprofloxacino, también se ajustó al modelo de *Peppas-Sahlin* (Ecuación 4). La Tabla 15 muestra los parámetros de ajuste al modelo, así como los parámetros de éste; se observa que, aunque el valor de k_1 aumenta y el valor k_2 disminuye en comparación al mismo material cargado con 63 $\mu\text{g/g}$ de ciprofloxacino, el valor de m permanece constante, indicando que en ambos casos la liberación está guiada por procesos de difusión.

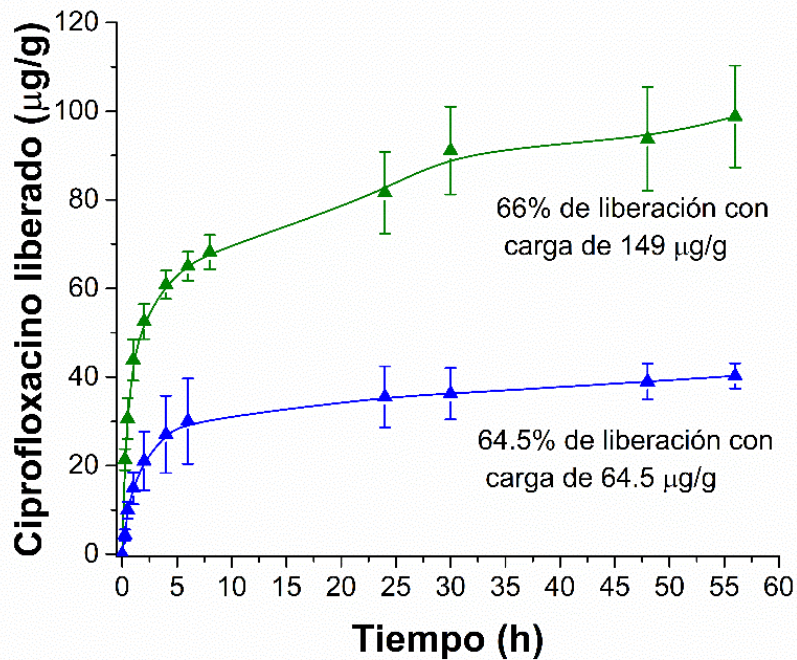


Figura 56. Perfiles de liberación del ciprofloxacino para muestras de (PVC-g-4VP_{10%})F(4VPPS_{13%}) con diferente cantidad de carga. Se reporta: media \pm error estándar de la media, $n=3$

Tabla 15. Parámetros del modelo y parámetros del modelo de Peppas-Sahlin para muestras de (PVC-g-4VP_{10%})F(4VP_{13%}) cargadas con 149 µg/g de ciprofloxacino.

Modelo	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Peppas-Sahlin
R ²	0.950	0.985	0.994
AIC	84.20	55.77	48.81
MSC	0.356	2.940	3.473
Parámetro	k ₁	k ₂	m
Carga de 149 µg/g	28.5	-3.49	0.361

La Tabla 16 muestra los materiales obtenidos y se comparan sus propiedades con el PVC testigo y el PVC-g-4VP (4%).

Tabla 16. Comparación de las propiedades de los materiales de (PVC-g-4VP)F(4VP_{13%}) sintetizados

Propiedades	PVC	PVC-g-4VP(4%)	(PVC-g-4VP _{4%})F(4VP _{13%})	(PVC-g-4VP _{10%})F(4VP _{13%})	(PVC-g-4VP _{16%})F(4VP _{22%})
Condiciones de síntesis	x	x	0.65 M 70 °C y 75 min 21% 4VP	0.35 M 70 °C y 5 min 12 % 4VP	0.8 M 50 °C y 75 min 21% 4VP
Tiempo de hinchamiento límite	x	2 h	2 h	2 h	2 h
Máximo hinchamiento (%)	x	5.5 ± 0.8	26.2 ± 1.7	29.7 ± 0.5	29.6 ± 1.8
Ángulo de contacto (°)	94.6 ± 1.0	64 ± 1.4	58 ± 1.4	64 ± 2.3	74 ± 2.6
pH crítico	x	7	6.3	6.8	6.7
pH sensibilidad	x	1.42	1.19	1.15	1.23
Adsorción de BSA (µg/cm ²)	5.1 ± 0.3	3.4 ± 0.4	2.0 ± 0.3	1.4 ± 0.2	2.3 ± 0.2
Carga de ciprofloxacino(µg/g)	x	x	40.1 ± 3.86	62.5 ± 2.43	62.9 ± 5.82
Liberación de ciprofloxacino(µg/g)	x	x	23.8 ± 7.30	40.3 ± 2.86	20.2 ± 1.40

De los materiales estudiados el (PVC-g-4VP_{10%})F(4VP_{13%}) presentó las mejores propiedades, por lo que fue escogida para realizar pruebas de viabilidad celular, actividad antimicrobiana y capacidad evitar la adhesión bacteriana.

11.8. Viabilidad celular

La Figura 57 muestra los resultados de viabilidad celular, en donde se observó el crecimiento de fibroblastos del tipo BALB/3T3 (ratón) en presencia de los materiales modificados; se observó que el PVC testigo aumenta el crecimiento celular al igual que el material modificado con 4% de 4VP. El material modificado con 4VP y 4VPPS mostró una disminución en el crecimiento celular de aproximadamente un 5% y esta disminución aumentó al 18% al cargarlo con ciprofloxacino, sin embargo, esta disminución es baja y el material puede clasificarse como no citotóxico según la norma ISO-10993-5-2009 [81].

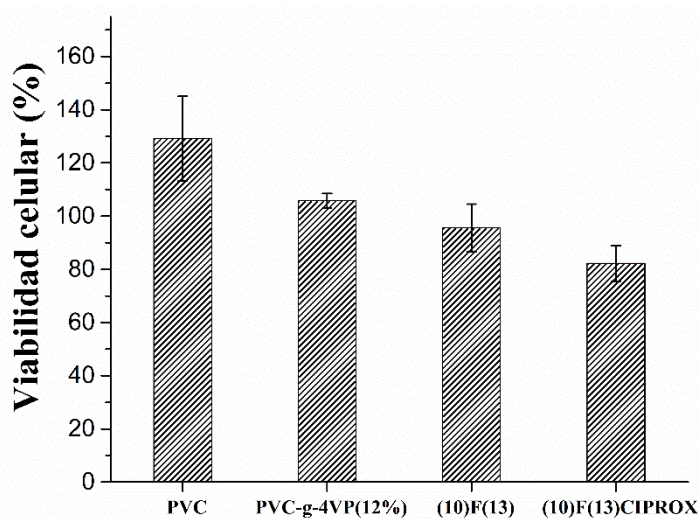


Figura 57. Viabilidad celular para muestras de (PVC-g-4VP_{10%})F(4VPPS_{13%})

11.9. Actividad antimicrobiana

Ensayo de Kirby-Bauer: Los datos de los halos de inhibición medidos se muestran en la Tabla 17. Al comparar estos resultados con las zonas de inhibición de antibiogramas de ciprofloxacino cargados con una cantidad similar de fármaco (aproximadamente 5 µg) se observa que las zonas de inhibición coinciden para bacterias no resistentes a este fármaco que presentan zonas de inhibición >21 mm para *E. coli* y para resistentes en el caso de la *S. aureus* con zona de inhibición entre < 16 mm [82]. Con base en estos resultados las pruebas antimicrobianas de dilución en caldo se hicieron solo para *E. coli*. Las muestras que no estaban cargadas con ciprofloxacino no presentaron zona de inhibición.

Tabla 17. Halos de inhibición del ensayo de Kirby-Bauer

Muestra	Carga de ciprox ($\mu\text{g/g}$)	<i>E. coli</i> 24h Halo (mm)	<i>S. aureus</i> 24 h Halo (mm)
PVC	0	x	x
PVC-g-4VP(4%)	0	x	x
(PVC-g-4VP _{10%})F(4VPPS _{13%})	0	x	x
(PVC-g-4VP _{10%})F(4VPPS _{13%}) Ciprox	149 \pm 23	22.5	10

La Figura 58 muestra las fotografías de los halos de inhibición las muestras de (PVC-g-4VP_{10%})F(4VPPS_{13%}) cargadas con ciprofloxacino y las no cargadas. Se observa el efecto antimicrobiano por la liberación del agente activo.

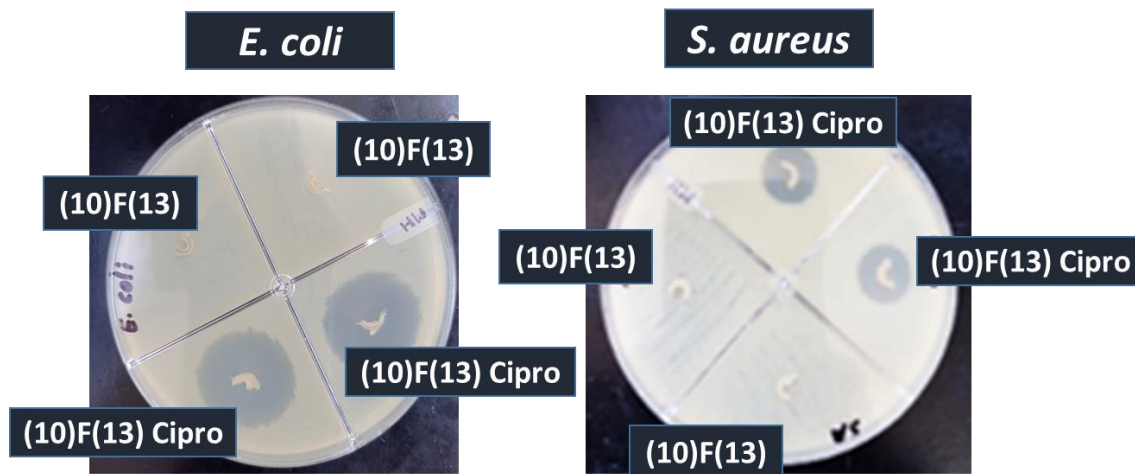


Figura 58. Fotografías del ensayo de Kirby-Bauer o difusión en placa

Ensayo de dilución en caldo: La Figura 59 muestra la capacidad antibacteriana del material a partir de su capacidad para inhibir el crecimiento de *E. coli*, se observa que el PVC, el PVC-g-4VP(4%) y el (PVC-g-4VP_{10%})F(4VPPS_{13%}) no tienen actividad antimicrobiana, por el contrario, el (PVC-g-4VP_{10%})F(4VPPS_{13%}) cargado con ciprofloxacino logró una inhibición del 82% a las 24 h.

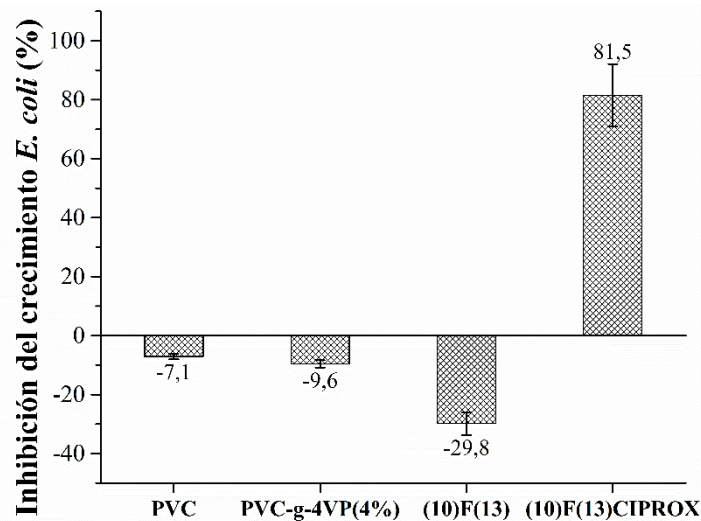


Figura 59. Inhibición del crecimiento *E. coli*. (10/13: (PVC-g-4VP_{10%})F(4VP_{13%})). Reporta: media ± error estándar de la media, n=3

11.10. Adhesión bacteriana

Por otra parte, la Figura 60 presenta la capacidad antiincrustante del material determinada por la cantidad de unidades formadoras de colonias de bacterias *E. coli*, que se adhieren al material al estar en contacto directo con una solución de 1×10^8 ufc durante 24 h, se observa que el material con injerto binario presenta una disminución el 42% en la adhesión en relación al PVC testigo y este efecto se ve potenciado al cargar ciprofloxacino llegando a una disminución del 55%.

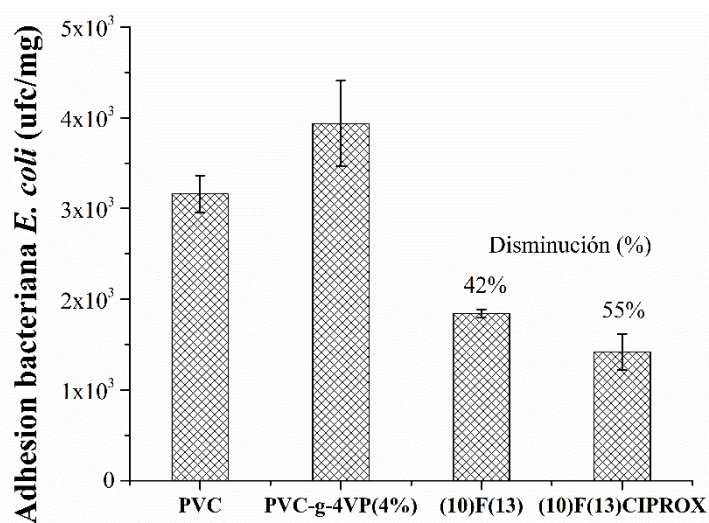


Figura 60. A: Inhibición del crecimiento *E. coli*. B: Adhesión bacteriana *E. coli*. (10/13: (PVC-g-4VP_{10%})F(4VP_{13%}))

12. RESULTADOS: SINTESIS DIRECTA DE (PVC-g-4VP)-g-4VPPS

El monómero 4VPPS se caracterizó por espectroscopia infrarroja, en la Figura 61 se muestra el espectro. Las bandas a 1518 y 1473 cm^{-1} corresponden al estiramiento C=C de la amina aromática, la banda a 1640 cm^{-1} a los estiramientos C=C del vinil y el estiramiento C=N, y la banda a 830 cm^{-1} a las flexiones C-H fuera del plano de la amina aromática. Además, muestra bandas a 1034 y 1160 cm^{-1} correspondiente a los estiramientos simétricos y asimétricos del grupo sulfonato (SO_3^-) [75]; la banda a 3400 cm^{-1} muestra un ensanchamiento por la amina cuaternaria, estas señales corroboran la formación del zwitteriónico.

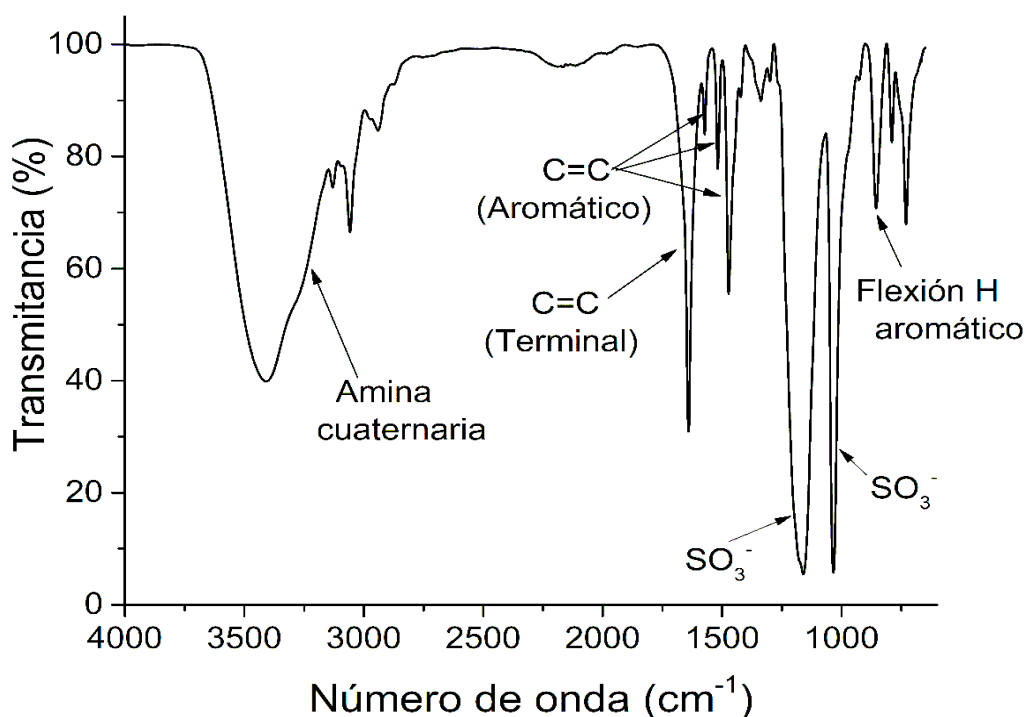


Figura 61. Espectro FTIR-ATR de monómero 4VPPS

La Figura 62 muestra los resultados obtenidos al variar la concentración de monómero, la concentración de la solución de NaCl y la dosis, para muestras de PVC-g-4VP(4%). De todas las condiciones estudiadas, el máximo de injerto que se pudo obtener fue del 5%, sin embargo, al realizar la caracterización de las muestras por hinchamiento y carga y liberación de fármaco se observó un comportamiento inconsistente. El cual se debe a la lixiviación del monómero, ya que bajo las condiciones empleadas no se logra un injerto químico del polímero sino una interacción física entre el PVC-g-4VP y el monómero, que disminuye al cambiar el pH del

medio y da paso a la liberación del monómero. Por lo que la formación de injertos de 4VPPS no ha sido efectiva utilizando esta metodología.

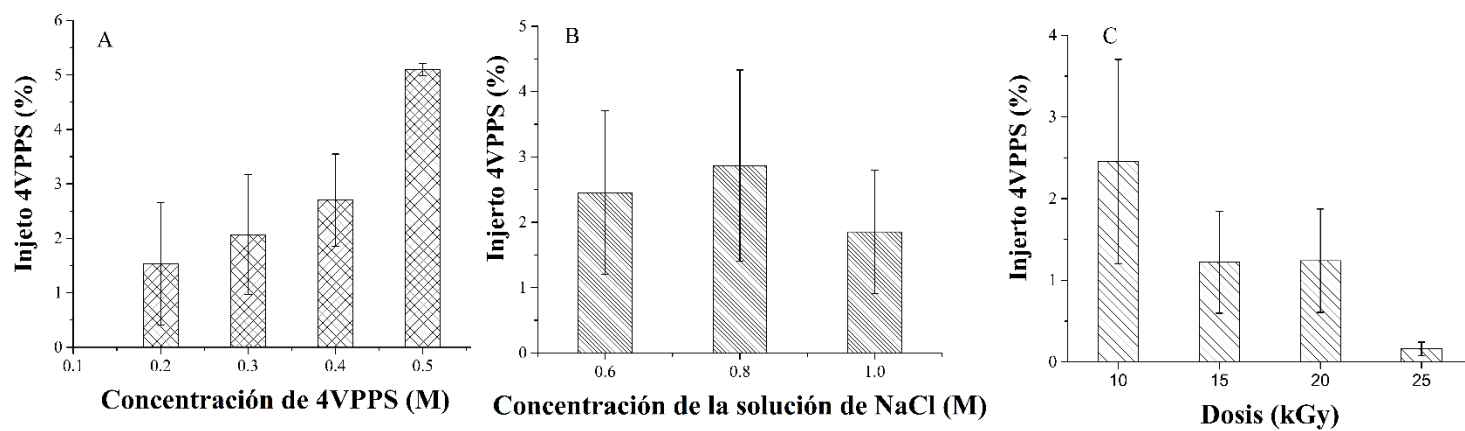


Figura 62. A: Efecto de la concentración de monómero de 4VPPS; B: Efecto de la concentración de NaCl en el solvente; y C: Efecto de la dosis

13. CONCLUSIONES

Se modificaron exitosamente catéteres de PVC utilizando radiación gamma para formar injertos de 4VP en tres diferentes porcentajes 4, 12 y 21 %. Esta modificación dotó a los catéteres de un carácter hidrofílico y pH-sensibilidad.

Se logró el injerto del polímero zwitteriónico SBMA sobre los catéteres de PVC-g-4VP utilizando el método de preirradiación oxidativa, observándose que la dosis, tasa de dosis, porcentaje de 4VP, pese a ser necesarias para que se produzca el injerto no influyen significativamente en el porcentaje de injerto en las condiciones utilizadas. Este se ve altamente afectado por la concentración de SBMA en la solución, el solvente, la temperatura y el tiempo de reacción. El injerto de SBMA aumentó significativamente la hidrofiliidad del material logrando ángulos de contacto cercanos al 20 °, además de conservar la pH sensibilidad del sistema.

La funcionalización de la 4VP injertada sobre los catéteres de PVC con PS, permitió la formación de injertos combinados de 4VP y 4VPPS, un polímero zwitteriónico aromático; que disminuyó la adhesión de proteínas a la superficie.

El injerto de 4VPPS sobre superficies de PVC-g-4VP no fue posible utilizando radiación gamma en las condiciones empleadas, debido a la fuerte interacción intermolecular del monómero, que favorece la homopolimerización evitando el injerto. Se sugiere para futuros estudios probar otro tiempo de primer injerto que sea más afín al monómero.

Los materiales [PVC-g-4VP(4%)]-g-SBMA(23%) y (PVC-g-4VP_{10%})F(4VPPS_{13%}) fueron los que presentaron el mejor conjunto de propiedades, mejorando las características del material original. Estos materiales mostraron alta hidrofiliidad y pH sensibilidad, además de la mayor capacidad para la carga y liberación de ciprofloxacino. Finalmente, presentaron propiedades antimicrobianas duales al ser cargados con ciprofloxacino, mostrando inhibición del crecimiento bacteriano mayor al 80% y una disminución en la adhesión bacteriana de 92 y 55% respectivamente en comparación con el PVC sin modificar. Estos materiales tienen potencial aplicación para la fabricación de dispositivos médicos con propiedades antimicrobianas.

REFERENCIAS

1. Saleh, T.A.; Gupta, V.K. Chapter 2 - Membrane Fouling and Strategies for Cleaning and Fouling Control. In; Saleh, T.A., Gupta, V.K.B.T.-N. and P.M., Eds.; Elsevier, 2016; pp. 25–53 ISBN 978-0-12-804703-3.
2. Choudhury, R.R.; Gohil, J.M.; Mohanty, S.; Nayak, S.K. Antifouling, fouling release and antimicrobial materials for surface modification of reverse osmosis and nanofiltration membranes. *J. Mater. Chem. A* **2018**, *6*, 313–333, doi:10.1039/C7TA08627J.
3. Floyd, K.A.; Eberly, A.R.; Hadjifrangiskou, M. 3 - Adhesion of bacteria to surfaces and biofilm formation on medical devices. In *Biofilms and Implantable Medical Devices*; Deng, Y., Lv, W., Eds.; Woodhead Publishing, 2017; pp. 47–95 ISBN 978-0-08-100382-4.
4. Lovetri, K.; Gawande, P.; Yakandawala, N.; Madhyastha, S. Biofouling and anti-fouling of medical devices. In *Biofouling Types, Impact and Anti-fouling*; Chan, J., Wong, S., Eds.; Nova Science Publishers, Inc., 2010; pp. 105–128 ISBN 978-1-60876-501-0.
5. He, W.; Benson, R. Polymeric Biomaterials. In *Applied Plastics Engineering Handbook: Processing, Materials, and Applications: Second Edition*; Elsevier Inc., 2017; pp. 145–164 ISBN 9780323390408.
6. Kathju, S.; Nistico, L.; Hall-Stoodley, L.; Post, J.C.; Ehrlich, G.D.; Stoodley, P. Chronic surgical site infection due to suture-associated polymicrobial biofilm. *Surg. Infect. (Larchmt)*. **2009**, *10*, 457–461, doi:10.1089/sur.2008.062.
7. Brooks, B.D.; Brooks, A.E.; Grainger, D.W. *Antimicrobial medical devices in preclinical development and clinical use*; Springer New York, 2013; Vol. 9781461410; ISBN 9781461410317; 1461410304; 9781461410300.
8. Pujol, M.; Limón, E. [General epidemiology of nosocomial infections. Surveillance systems and programs]. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **2013**, *31*, 108–113, doi:10.1016/j.eimc.2013.01.001.
9. Owens, C.D.; Stoessel, K. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. *J. Hosp. Infect.* **2008**, *70*, 3–10, doi:10.1016/S0195-6701(08)60017-1.
10. Rosenthal, V.D.; Maki, D.G.; Graves, N. The International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC): goals and objectives, description of surveillance methods, and operational activities. *Am. J. Infect. Control* **2008**, *36*, e1-12, doi:10.1016/j.ajic.2008.06.003.
11. Khan, H.A.; Baig, F.K.; Mehboob, R. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2017**, *7*, 478–482, doi:10.1016/j.apjtb.2017.01.019.
12. Magill, S.S.; Edwards, J.R.; Bamberg, W.; Beldavs, Z.G.; Dumyati, G.; Kainer, M.A.; Lynfield, R.; Maloney, M.; McAllister-Hollod, L.; Nadle, J.; et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *370*, 1198–1208, doi:10.1056/NEJMoa1306801.

13. Vincent, J.; Marshall, J.; Anzueto, A.; Martin, C.D.; Gomersall, C. International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. **2009**, *302*, 2323–2329.
14. Aitken, C.; Jeffries, D.J. Nosocomial spread of viral disease. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, *14*, 528–546, doi:10.1128/CMR.14.3.528-546.2001.
15. Joshi, S.; Litake, G. Acinetobacter: An emerging pathogenic threat to public health. *World J. Clin. Infect. Dis.* **2013**, *3*, 25–36, doi:10.5495/wjcid.v3.i3.25.
16. Jenkins, D.R. Nosocomial infections and infection control. *Medicine (Baltimore)*. **2017**, *45*, 629–633, doi:https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2017.07.005.
17. Donlan, R.M. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg. Infect. Dis.* **2002**, *8*, 881–890, doi:10.3201/eid0809.020063.
18. Percival, S.L.; Suleman, L.; Vuotto, C.; Donelli, G. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. *J. Med. Microbiol.* **2015**, *64*, 323–334, doi:10.1099/jmm.0.000032.
19. Palmer, J.; Flint, S.; Brooks, J. Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *34*, 577–588, doi:10.1007/s10295-007-0234-4.
20. Francolini, I.; Donelli, G. Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **2010**, *59*, 227–238, doi:10.1111/j.1574-695X.2010.00665.x.
21. Amoako, K.; Gbyli, R. 9 - Improving the hemocompatibility of biomedical polymers. In *Hemocompatibility of Biomaterials for Clinical Applications*; Siedlecki, C.A., Ed.; Woodhead Publishing, 2018; pp. 223–252 ISBN 978-0-08-100497-5.
22. Fischer, M.; Maitz, M.F.; Werner, C. 7 - Coatings for biomaterials to improve hemocompatibility. In *Hemocompatibility of Biomaterials for Clinical Applications*; Siedlecki, C.A., Ed.; Woodhead Publishing, 2018; pp. 163–190 ISBN 978-0-08-100497-5.
23. Periyah, M.; Halim, A.; Mat Saad, A. Mechanism Action of Platelets and Crucial Blood Coagulation Pathways in Hemostasis. *Int. J. Hematol. Stem Cell Res.* **2017**, *11*, 319–327.
24. Biran, R.; Pond, D. Heparin coatings for improving blood compatibility of medical devices. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2017**, *112*, 12–23, doi:10.1016/j.addr.2016.12.002.
25. Sambhy, V.; Peterson, B.R.; Sen, A. Antibacterial and hemolytic activities of pyridinium polymers as a function of the spatial relationship between the positive charge and the pendant alkyl tail. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2008**, *47*, 1250–1254, doi:10.1002/anie.200702287.
26. Rao, S.B.; Sharma, C.P. Use of chitosan as a biomaterial: Studies on its safety and hemostatic potential. *J. Biomed. Mater. Res.* **1997**, *34*, 21–28, doi:10.1002/(SICI)1097-4636(199701)34:1<21::AID-JBM4>3.0.CO;2-P.
27. Zha, Z.; Ma, Y.; Yue, X.; Liu, M.; Dai, Z. Self-assembled hemocompatible coating on poly (vinyl chloride) surface. *Appl. Surf. Sci.* **2009**, *256*, 805–814, doi:10.1016/j.apsusc.2009.08.065.

28. Sin, M.C.; Chen, S.H.; Chang, Y. Hemocompatibility of zwitterionic interfaces and membranes. *Polym. J.* **2014**, *46*, 436–443, doi:10.1038/pj.2014.46.
29. Roach, P.; Farrar, D.; Perry, C.C. Interpretation of Protein Adsorption: Surface-Induced Conformational Changes. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8168–8173, doi:10.1021/ja042898o.
30. Song, W.; Mano, J.F. Interactions between cells or proteins and surfaces exhibiting extreme wettabilities. *Soft Matter* **2013**, *9*, 2985–2999, doi:10.1039/c3sm27739a.
31. Lubarsky, G. V.; Browne, M.M.; Mitchell, S.A.; Davidson, M.R.; Bradley, R.H. The influence of electrostatic forces on protein adsorption. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2005**, *44*, 56–63, doi:10.1016/j.colsurfb.2005.05.010.
32. Rabe, M.; Verdes, D.; Seeger, S. Understanding protein adsorption phenomena at solid surfaces. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2011**, *162*, 87–106, doi:10.1016/j.cis.2010.12.007.
33. Nakanishi, K.; Sakiyama, T.; Imamura, K. On the adsorption of proteins on solid surfaces, a common but very complicated phenomenon. *J. Biosci. Bioeng.* **2001**, *91*, 233–244, doi:10.1016/S1389-1723(01)80127-4.
34. Littlechild, J.A. Chapter 2 - Protein structure and function. In *Introduction to Biological and Small Molecule Drug Research and Development*; Ganellin, R., Roberts, S., Jefferis, R., Eds.; Elsevier: Oxford, 2013; pp. 57–79 ISBN 978-0-12-397176-0.
35. Takai, M.; NAGASAWA, D.; Azuma, T.; Noguchi, H.; Uosaki, K. Water molecule structure on material interface related to protein adsorption. *Hyomen Kagaku* **2014**, *35*, 492–497, doi:10.1380/jsssj.35.492.
36. Andrade, J.; Hlady, V. Protein adsorption and materials biocompatibility: A tutorial review and suggested hypotheses. In *Adv. Polym. Sci.*; 1986; Vol. 79, pp. 1–63.
37. Zeng, Q.; Zhu, Y.; Yu, B.; Sun, Y.; Ding, X.; Xu, C.; Wu, Y.-W.; Tang, Z.; Xu, F.-J. Antimicrobial and Antifouling Polymeric Agents for Surface Functionalization of Medical Implants. *Biomacromolecules* **2018**, *19*, 2805–2811, doi:10.1021/acs.biomac.8b00399.
38. Kostina, N.; Sharifi, S.; de los Santos Pereira, A.; Michalek, J.; Grijpma, D.; Rodriguez-Emmenegger, C. Novel antifouling self-healing poly(carboxybetaine methacrylamide-co-HEMA) nanocomposite hydrogels with superior mechanical properties. *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 5644–5650, doi:10.1039/c3tb20704h.
39. Leckband, D.; Sheth, S.; Halperin, A. Grafted poly(ethylene oxide) brushes as nonfouling surface coatings. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **1999**, *10*, 1125–1147, doi:10.1163/156856299x00720.
40. Zhang, Y.; Liu, Y.; Ren, B.; Zhang, D.; Xie, S.; Chang, Y.; Yang, J.; Wu, J.; Xu, L.; Zheng, J. Fundamentals and applications of zwitterionic antifouling polymers. *J. Phys. D. Appl. Phys.* **2019**, *52*, 403001, doi:10.1088/1361-6463/ab2cbc.
41. He, M.; Gao, K.; Zhou, L.; Jiao, Z.; Wu, M.; Cao, J.; You, X.; Cai, Z.; Su, Y.; Jiang, Z. Zwitterionic materials for antifouling membrane surface construction. *Acta Biomater.*

- 2016**, *40*, 142–152, doi:10.1016/j.actbio.2016.03.038.
42. Harijan, M.; Singh, M. Zwitterionic polymers in drug delivery: A review. *J. Mol. Recognit.* **2022**, *35*, e2944, doi:10.1002/jmr.2944.
 43. Laschewsky, A. Structures and synthesis of zwitterionic polymers. *Polymers (Basel)*. **2014**, *6*, 1544–1601, doi:10.3390/polym6051544.
 44. Blackman, L.D.; Gunatillake, P.A.; Cass, P.; Locock, K.E.S. An introduction to zwitterionic polymer behavior and applications in solution and at surfaces. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48*, 757–770, doi:10.1039/c8cs00508g.
 45. Israelachvili, J.N. 2 - Thermodynamic and statistical aspects of intermolecular forces. In *Intermolecular and Surface Forces (Third Edition)*; Israelachvili, J.N., Ed.; Academic Press: San Diego, 2011; pp. 23–51 ISBN 978-0-12-375182-9.
 46. Welker, R.W. Chapter 4 - Size Analysis and Identification of Particles. In *Developments in Surface Contamination and Cleaning*; Kohli, R., Mittal, K.L., Eds.; William Andrew Publishing: Oxford, 2012; pp. 179–213 ISBN 978-1-4377-7883-0.
 47. Fler, G.; Stuart, M.C.; Leermakers, F. Chapter 1 - Effect of Polymers on the Interaction between Colloidal Particles. In *Soft Colloids*; Lyklema, J., Ed.; Fundamentals of Interface and Colloid Science; Academic Press, 2005; Vol. 5, pp. 1.1-1.94.
 48. Israelachvili, J.N. Chapter 14 - Electrostatic forces between surfaces in liquids. In *Intermolecular and Surface Forces (Third Edition)*; Israelachvili, J.N., Ed.; Academic Press: San Diego, 2011; pp. 291–340 ISBN 978-0-12-375182-9.
 49. Stuart, M.C.; de Vries, R.; Lyklema, H. Chapter 2 - Polyelectrolytes. In *Soft Colloids*; Lyklema, J., Ed.; Fundamentals of Interface and Colloid Science; Academic Press, 2005; Vol. 5, pp. 2.1-2.84.
 50. Maleki Dizaj, S.; Lotfipour, F.; Barzegar-Jalali, M.; Hossein Zarrintan, M.; Adibkia, K. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Mater. Sci. Eng. C* **2014**, *44*, 278–284, doi:10.1016/j.msec.2014.08.031.
 51. Affes, S.; Maalej, H.; Aranaz, I.; Kchaou, H.; Acosta, N.; Heras, Á.; Nasri, M. Controlled size green synthesis of bioactive silver nanoparticles assisted by chitosan and its derivatives and their application in biofilm preparation. *Carbohydr. Polym.* **2020**, *236*, doi:10.1016/j.carbpol.2020.116063.
 52. Rajivgandhi, G.; Maruthupandy, M.; Muneeswaran, T.; Anand, M.; Quero, F.; Manoharan, N.; Li, W.J. Biosynthesized silver nanoparticles for inhibition of antibacterial resistance and biofilm formation of methicillin-resistant coagulase negative Staphylococci. *Bioorg. Chem.* **2019**, *89*, 103008, doi:10.1016/j.bioorg.2019.103008.
 53. Liu, Y.; Ren, X.; Huang, T.S. Antimicrobial cotton containing N-halamine and quaternary ammonium groups by grafting copolymerization. *Appl. Surf. Sci.* **2014**, *296*, 231–236, doi:10.1016/j.apsusc.2014.01.106.
 54. Massi, L.; Guittard, F.; Levy, R.; Géribaldi, S. Enhanced activity of fluorinated quaternary ammonium surfactants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur. J. Med. Chem.*

2009, 44, 1615–1622, doi:10.1016/j.ejmech.2008.07.032.

55. Polívková, M.; Hubáček, T.; Staszek, M.; Švorčík, V.; Siegel, J. Antimicrobial Treatment of Polymeric Medical Devices by Silver Nanomaterials and Related Technology. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, doi:10.3390/ijms18020419.
56. Riool, M.; de Breij, A.; Drijfhout, J.W.; Nibbering, P.H.; Zaat, S.A.J. Antimicrobial Peptides in Biomedical Device Manufacturing. *Front. Chem.* **2017**, *5*, doi:10.3389/fchem.2017.00063.
57. Duarte, L.; López-Saucedo, J.; Vázquez, E.; Flores-Rojas, G.G.; López-Saucedo, F.; Bucio, E. Antimicrobial Materials for Local Drug Delivery. In; Springer Singapore, 2020; pp. 285–319.
58. Gupta, R.; Debnath, N.; Rawat, P.; Hota, S.; Das, A.C.; Kumar, A. Local drug delivery - A new concept in dentistry. *J. Clin. Dent. Res.* **2014**, *3*, 67–72.
59. Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A. Smart drug release from medical devices. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2019**, *370*, 544–554, doi:10.1124/jpet.119.257220.
60. Gupta, N.P.; Damodharan, N. pH - responsive polymers and its application in drug delivery system and pharmaceutical field. *Res. J. Pharm. Technol.* **2019**, *12*, 944–958, doi:10.5958/0974-360X.2019.00159.8.
61. Zander, Z.K.; Becker, M.L. Antimicrobial and antifouling strategies for polymeric medical devices. *ACS Macro Lett.* **2018**, *7*, 16–25, doi:10.1021/acsmacrolett.7b00879.
62. Navarrete, M.; Cabrera, L. *Introducción al Estudio de los radioisótopos*; Porcia Edi.; México, 1993;
63. Spinks, J.; Woods, R. *An introduction to radiation chemistry*; Third edit.; John Wiley & Sons, Inc.: Canada, 1990;
64. Meléndez-Ortiz, H.I.; Varca, G.H.C.; Lugão, A.B.; Bucio, E. Smart Polymers and Coatings Obtained by Ionizing Radiation: Synthesis and Biomedical Applications. *Open J. Polym. Chem.* **2015**, *05*, 17–33, doi:10.4236/ojchem.2015.53003.
65. Muñoz-Muñoz, F.; Contreras-García, A.; Burillo, G.; Bucio, E. Gamma Ray radiation in the design of smart systems for controlled drug release and tissue engineering. In *In Biomateriais aplicados ao desenvolvimento de sistemas terapêuticos avançados*; DeSousa, HC and Braga, MEM and Sosnik, A., Ed.; Univ Coimbra: CoimbraL, 2015; pp. 485–519 ISBN 978-989-26-0881-5; 978-989-26-0880-8.
66. Venault, A.; Lai, M.W.; Jhong, J.F.; Yeh, C.C.; Yeh, L.C.; Chang, Y. Superior Bioinert Capability of Zwitterionic Poly(4-vinylpyridine propylsulfobetaine) Withstanding Clinical Sterilization for Extended Medical Applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2018**, *10*, 17771–17783, doi:10.1021/acsami.8b05466.
67. Shen, C.-H. Quantification and analysis of proteins. In *Diagnostic Molecular Biology*; Shen, C.-H., Ed.; Academic Press, 2019; pp. 187–214 ISBN 978-0-12-802823-0.
68. He, F. BCA (Bicinchoninic Acid) protein assay. *Bio-protocol* **2011**, *1*, e44, doi:10.21769/BioProtoc.44.

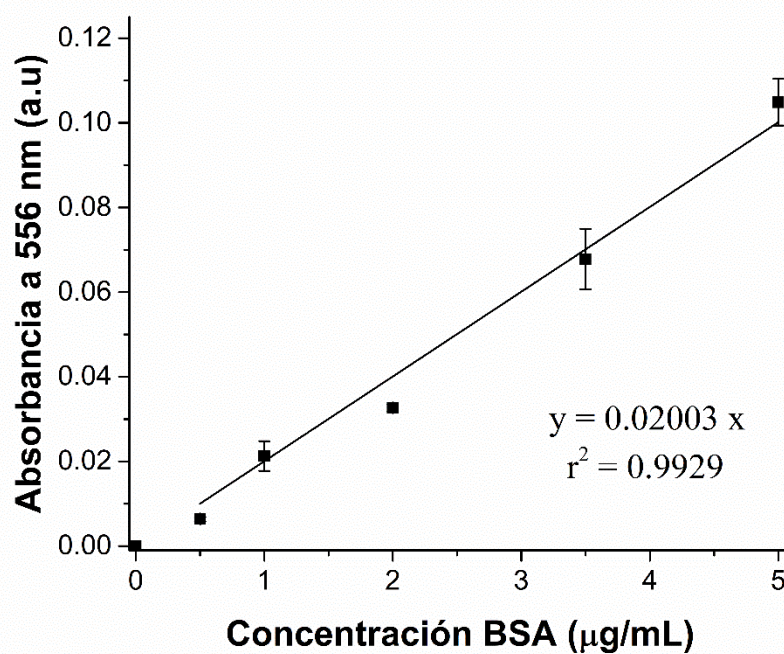
69. Arenas, E.; Bucio, E.; Burillo, G.; Lopez, G.P. Radiation grafting of N-isopropylacrylamide onto poly(vinyl chloride) tubes by gamma irradiation. *Polym. Bull.* **2007**, *58*, 401–409, doi:10.1007/s00289-006-0672-6.
70. Duarte-Peña, L.; López-Saucedo, F.; Concheiro, A.; Alvarez-Lorenzo, C.; Bucio, E. Modification of indwelling PVC catheters by ionizing radiation with temperature- and pH-responsive polymers for antibiotic delivery. *Radiat. Phys. Chem.* **2022**, *193*, doi:10.1016/j.radphyschem.2022.110005.
71. Dispenza, C., Alessi, S., & Spadaro, J. Radiation processing of polymers in aqueous media. In *Applications of Ionizing Radiation in Materials Processing.*; 2017; pp. 291–326.
72. Meléndez-Ortiz, H.I.; Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A.; Jiménez-Páez, V.M.; Bucio, E. Modification of medical grade PVC with N-vinylimidazole to obtain bactericidal surface. *Radiat. Phys. Chem.* **2016**, *119*, 37–43, doi:10.1016/j.radphyschem.2015.09.014.
73. Xue, Y.; Xiao, H. Antibacterial/antiviral property and mechanism of dual-functional quaternized pyridinium-type copolymer. *Polymers (Basel)*. **2015**, *7*, 2290–2303, doi:10.3390/polym7111514.
74. Wu, C.; Zheng, J.; Hu, J. Novel antifouling polysulfone matrix membrane modified with zwitterionic polymer. *J. Saudi Chem. Soc.* **2021**, *25*, 101281, doi:https://doi.org/10.1016/j.jscs.2021.101281.
75. Shafi, H.Z.; Wang, M.; Gleason, K.K.; Khan, Z. Synthesis of surface-anchored stable zwitterionic films for inhibition of biofouling. *Mater. Chem. Phys.* **2020**, *239*, 121971, doi:10.1016/j.matchemphys.2019.121971.
76. Lucio, D.S.V.; Rivera-Armenta, J.L.; Rivas-Orta, V.; Díaz-Zavala, N.P.; Páramo-García, U.; Rivas, N.V.G.; Cinco, M.Y.C. Manufacturing of composites from chicken feathers and polyvinyl chloride (PVC). *Handb. Compos. from Renew. Mater.* **2017**, *1–8*, 159–174, doi:10.1002/9781119441632.ch25.
77. Ibrahim, G.P.S.; Isloor, A.M.; Inamuddin; Asiri, A.M.; Ismail, N.; Ismail, A.F.; Ashraf, G.M. Novel, one-step synthesis of zwitterionic polymer nanoparticles via distillation-precipitation polymerization and its application for dye removal membrane. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–17, doi:10.1038/s41598-017-16131-9.
78. Israelachvili, J.N. 10 - Unifying concepts in intermolecular and interparticle forces. In *Intermolecular and Surface Forces (Third Edition)*; Israelachvili, J.N., Ed.; Academic Press: San Diego, 2011; pp. 191–204 ISBN 978-0-12-375182-9.
79. Zhang, Y.; Huo, M.; Zhou, J.; Zou, A.; Li, W.; Yao, C.; Xie, S. DDSolver: An add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles. *AAPS J.* **2010**, *12*, 263–271, doi:10.1208/s12248-010-9185-1.
80. Siepmann, J.; Siepmann, F. Mathematical modeling of drug delivery. *Int. J. Pharm.* **2008**, *364*, 328–343, doi:10.1016/j.ijpharm.2008.09.004.
81. International organization for standardization (ISO) *ISO 10993-5:2009 Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity*; 3rd ed.; 2009;

82. Tascini, C.; Sozio, E.; Viaggi, B.; Meini, S. Reading and understanding an antibiogram. *Ital. J. Med.* **2016**, *10*, 289–300, doi:10.4081/itjm.2016.794.
83. Shafi, H.Z.; Wang, M.; Gleason, K.K.; Khan, Z. Synthesis of surface-anchored stable zwitterionic films for inhibition of biofouling. *Mater. Chem. Phys.* **2020**, *239*, 121971, doi:10.1016/J.MATCHEMPHYS.2019.121971.

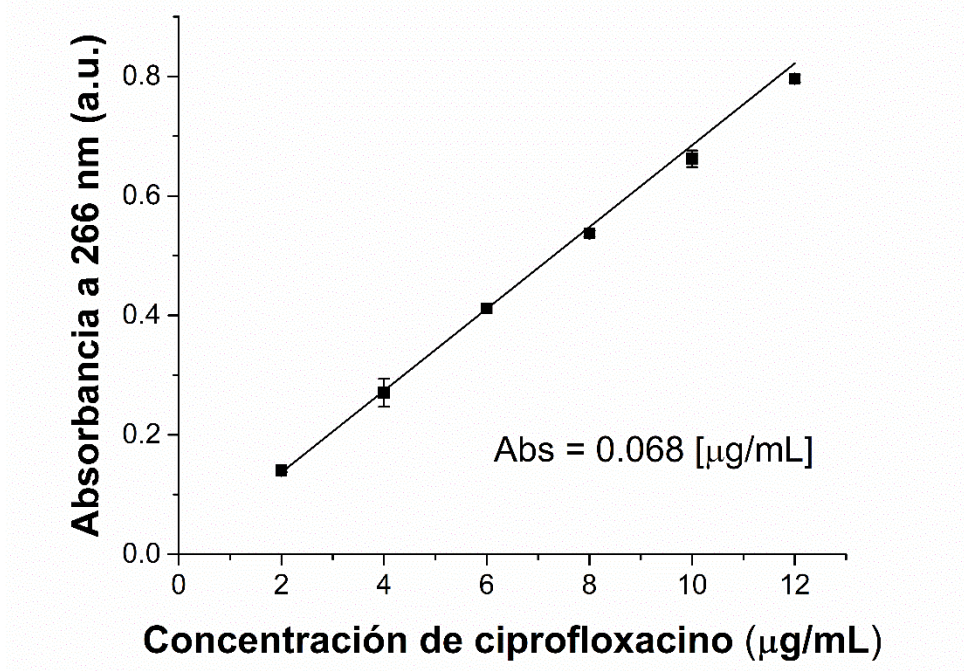
ANEXO 1. Preparación de soluciones amortiguadoras

pH	Solución I (mL)	Solución II (mL)
2.0	195	5
2.5	184	16
3.0	176	24
3.5	166	34
4.0	155	45
4.5	144	56
5.0	134	66
5.5	126	74
6.0	118	82
6.5	109	91
7.0	99	101
7.5	92	108
8.0	85	115
8.5	78	122
9.0	69	131
9.5	60	140
10.0	54	146
10.5	49	151
11.0	44	156
11.5	33	167
12.0	17	183

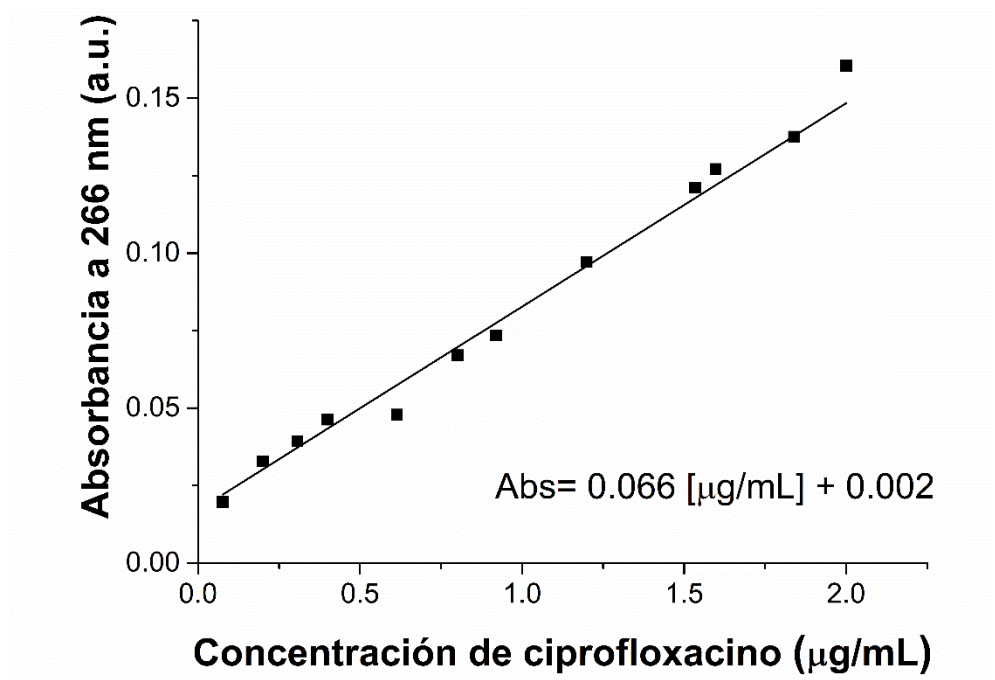
ANEXO 2. Curva de calibración para cuantificar adsorción de BSA



ANEXO 3. Curva de calibración para la carga de ciprofloxacino



ANEXO 4. Curva de calibración para la liberación de ciprofloxacino



Article

Catheters with Dual-Antimicrobial Properties by Gamma Radiation-Induced Grafting

Lorena Duarte-Peña ^{1,*} , Héctor Magaña ² and Emilio Bucio ^{1,*} 

¹ Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica, Instituto de Ciencias Nucleares, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Ciudad de México 04510, Mexico

² Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California, Calzada Universidad 14418, Parque Industrial Internacional Tijuana, Tijuana 22390, Mexico

* Correspondence: lorena.duarte@correo.nucleares.unam.mx (L.D.-P.); ebucio@nucleares.unam.mx (E.B.)

Abstract: Dual antimicrobial materials that have a combination of antimicrobial and antifouling properties were developed. They were developed through modification using gamma radiation of poly (vinyl chloride) (PVC) catheters with 4-vinyl pyridine (4VP) and subsequent functionalization with 1,3-propane sultone (PS). These materials were characterized by infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis, swelling tests, and contact angle to determine their surface characteristics. In addition, the capacity of the materials to deliver ciprofloxacin, inhibit bacterial growth, decrease bacterial and protein adhesion, and stimulate cell growth were evaluated. These materials have potential applications in the manufacturing of medical devices with antimicrobial properties, which can reinforce prophylactic potential or even help treat infections, through localized delivery systems for antibiotics.

Keywords: antimicrobial; antifouling; drug delivery; pH sensitivity; zwitterionic polymers; gamma radiation



Citation: Duarte-Peña, L.; Magaña, H.; Bucio, E. Catheters with Dual-Antimicrobial Properties by Gamma Radiation-Induced Grafting. *Pharmaceutics* **2023**, *15*, 960. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15030960>

Academic Editor: Ana Isabel Fernandes

Received: 14 February 2023

Revised: 10 March 2023

Accepted: 14 March 2023

Published: 16 March 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The biocontamination of both urinary and central line catheters is one of the principal causes of nosocomial infections, mainly in patients who are in intensive care units [1,2]. One of the reasons for this is that these devices are made of polymeric materials that have a tendency towards microorganism contamination in biological environments. According to surveys carried out in different countries, it is estimated that one in seven hospitalizations presents an incidence of nosocomial infection, of which approximately 25% are associated with the use of medical devices [3–5]. The National Healthcare Safety Network (NHSN) reports eight types of microorganisms that cause the most nosocomial infections, among which, the following are prominent: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and coagulase-negative *staphylococci* [6].

Therefore, searching for materials that are resistant to bacterial contamination is relevant to the medical field [7–9]. A material can present resistance to contamination by microorganisms through two mechanisms [10]. The first mechanism consists of the incorporation of active agents into the material; it can be in its internal structure as groups of quaternary amines [11,12] or stored to be released at a site of interest. Among the most widely used active agents for release are antibiotics and silver or zinc metallic nanoparticles with antibacterial properties [13–15]. The second mechanism is based on the generation of materials whose surface prevents the adhesion of the microorganism and its proliferation. These materials generally owe their antifouling capacity to the formation of superficial hydration layers stabilized by van der Waals interactions or electrostatic interactions, as in the case of zwitterionic polymers. The development of materials with dual antimicrobial capacity, that is, materials capable of both preventing adhesion and releasing an active agent, is a challenge for materials science [16,17].

Modified systems for the release of active agents are a point of interest in biomedicine because they can provide the optimal amount of drug at the right time and place, giving rise to a continuous release of therapeutic dose without reaching maximum levels, thus avoiding side effects caused by large drug discharges and concentrating the drug in the affected area [18,19]. Within these systems are smart polymers, that is, polymers that respond to external stimuli, such as temperature, pH, ionic strength, or light, by changing their structure, which allows more control over the load and release of active agents depending on the environmental conditions [20]. The poly 4-vinylpyridine (P4VP) is pH-sensitive polymer that undergoes protonation at a pH below its pK_a . This leads to the formation of cations that repel each other thus increasing the distance between the chains of the material and changing its structure.

Zwitterionic polymers have a high antifouling capacity because their ion distribution allows them to create an electrostatically stabilized surface hydration layer, which significantly reduces bacterial adhesion to these surfaces, in addition to being highly hydrophilic systems [21–23]. However, the synthesis of these materials is limited by the low solubility of the polymer in the solvents commonly used for polymerization. Due to this, alternative techniques are used to obtain these materials, such as the functionalization of ionic polymers with an ion of opposite charge, to form the zwitterion in situ [24]. Hydrogels developed with this type of polymer have shown relevant antifouling properties and good biocompatibility [25–28].

This work presents the development of PVC catheters modified with a 4-vinylpyridine and zwitterionic polymer to provide their surface with antifouling capacity and pH sensitivity. This material constitutes a dual antimicrobial system that has the ability to load and release ciprofloxacin. This system allows the localized release of the antibiotic because the drug is stored in the device, which can help improve drug efficiency. The modification was carried out by graft polymerization of 4VP using gamma radiation as the initiator and subsequently a zwitterion was formed by the functionalizing of the grafted 4VP with 1,3-propane sultone (PS). The synthesized materials were characterized to determine their antimicrobial capacity. Materials with dual antimicrobial capacity have potential applications in the manufacturing of medical devices that can reinforce their prophylactic potential or even help treat infections. In this case, modified catheters represent an alternative device which can reduce the nosocomial infections associated with traditional catheter use.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

PVC catheters (outer diameter 3 mm and thickness 0.5 mm) were from Biçakcilar (Istanbul, Turkey). 4VP (95%), 1,3-propane sultone (PS), and dimethylformamide anhydrous were purchased from Aldrich Chemical, Saint Louis, MO, USA. 4VP was purified by vacuum distillation to remove the inhibitor. Chloride (NaCl), potassium chloride (KCl), sodium phosphate dibasic (NaH_2PO_4), and potassium phosphate monobasic (KH_2PO_4) were also purchased from Aldrich Chemical, Saint Louis, MO, USA; these materials were used as received. Ciprofloxacin was from Sigma Aldrich. Distillate water was used for all the assays. Software DDSolver from Excel was used for modeling drug delivery. The gamma-ray source was a ^{60}Co Gammabeam 651-PT of Nordion International Inc from Ottawa, ON, Canada proportioned by the Nuclear Science Institute at Universidad Nacional Autónoma de México (ICN-UNAM).

2.2. Synthesis of PVC-g-4VP

The 4VP graft on PVC was performed using the direct irradiation method, following the parameters used in previous studies to obtain graft percentages of 12 and 23%. A sample of PVC approximately 6 cm in length was placed in a glass ampoule, a solution of 4VP in $H_2O/MeOH$ was added, and oxygen was removed by air displacement with argon bubbling for 15 min. The sealed ampoule was kept at 5 °C for 4 h and irradiated using

gamma radiation. The grafted catheters were removed and cleaned with methanol. Finally, the samples were dried for 12 h at 30 °C in a vacuum oven, and the percentage of grafting was calculated by the difference in weight using Equation (1), where W_f is the weight of the grafted sample (g) and W_i is the weight of the sample without modification (g).

$$\text{Grafting (\%)} = (W_f - W_i) \times 100/W_i \quad (1)$$

2.3. Formation of PVC-g-4VP/4VPPS Graft by Functionalization

A dry and weighed sample of PVC-g-4VP was placed in a glass ampoule and left under vacuum for 20 min. Then, a solution of PS in dimethylformamide anhydrous was added, the ampoule was sealed, and the solution was heated for a certain period of time. Finally, the modified material was removed, washed with methanol and water for 12 h, and dried at 30 °C under a vacuum for 12 h. PS reacts quickly with water, hydrolyzing to hydroxysulfonic acid, so the reaction must be carried out under anhydrous conditions. The reaction yield was calculated using Equation (2), where M_f is the final weight of the material, M_i is the initial weight of the material, and 4VP (%) is the percentage of 4VP grafting in the initial material.

$$\text{Reaction yield (\%)} = (M_f - M_i) \times 8607.7 / (M_i \times 4VP(\%)) \quad (2)$$

The effect of the different reaction conditions was studied, varying the temperature (50, 60, and 70 °C), the reaction time (30, 45, 60, and 75 min), and the concentration of PS (0.35, 0.5, 0.65, 0.8, 0.8, and 1 M).

2.4. Infrared Spectroscopy and Thermal Analysis

Infrared spectroscopy was performed on a Perkin Elmer Spectrum 100 spectrophotometer (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT, USA) with 16 scans, in the ATR module, in the range of 4000 to 650 cm^{-1} . On the other hand, the thermal behavior was monitored by TGA under a nitrogen atmosphere from 30 to 700 °C at a heating rate of 10 °C/min using a TGA Q50 (TA Instruments, New Castle, DE, USA).

2.5. Swelling and Contact Angle

For the swelling tests, a dry sample was weighed and placed in a glass with distilled water at 25 °C. Once removed from the beaker, excess solvent was removed from the sample and it was weighed every 5 min for the first 15 min and then at 0.5, 1, 2, 4, 6, and 12 h. The swelling percentage was determined using Equation (3), where W_2 is the weight of the swollen sample and W_1 is the dry sample weight.

$$\text{Swelling (\%)} = (W_2 - W_1) \times 100/W_1 \quad (3)$$

The contact angle provided information on the degree of wettability; this determination was measured using a DSA 100 Krüss GmbH, German goniometer from Hamburg, using the sessile drop method with water. The samples were split, flattened, using glass plates, and dried at 40 °C in a vacuum oven for 4 h. For the determination, a drop of distilled water was deposited on the flat surface, and the angle formed between the surface and the liquid was measured. All of the measurements were carried out six times.

2.6. pH-Responsiveness

To determine the pH response of the samples, phosphate buffer solutions of pH 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, and 12 were prepared. A dry sample was weighed, and the solution with pH 2 was added, maintaining a controlled temperature at 25 °C for 2 h. Later the sample was removed, and the swelling percentage was calculated. The same procedure was used with the other solutions.

2.7. Load and Release of Ciprofloxacin

2.7.1. Ciprofloxacin Load

Samples around 100 mg were placed in vials with 3 mL of 0.012 µg/mL ciprofloxacin aqueous solution, at 25 °C, for 30 h. The loading time was determined by measuring the absorbance at different time intervals to assess the loading progress (4, 6, 8, 24, and 30 h). The amount of drug loaded was determined by measuring the difference in absorbance between a 0.012 µg/g ciprofloxacin solution without material and the solution with the material at each time interval at a wavelength of 266 nm, using a calibration curve. A SPECORD 200 PLUS brand spectrophotometer from Analytikjena (Germany) was used for the test. After that time, the samples were extracted and gently washed with distilled water. The calibration curve is shown in Supplementary Materials, in Figure S1.

2.7.2. Ciprofloxacin Release

The samples loaded with ciprofloxacin were deposited in vials containing 3 mL of phosphate buffer solution at pH 7.4 and 37 °C with constant stirring (130 rpm). The cumulative release was monitored by taking measurements at 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 24, 30, and 48 h at 266 nm using a UV-Vis spectrophotometer. The calibration curve is shown in Supplementary Materials, Figure S2. The release profiles were analyzed by the software DDSolver, and the detailed results are presented in Supplementary Materials.

2.8. Protein Adsorption Test

Approximately 80 mg of a sample were placed in PBS buffer solution at 37 °C for 2 h, then the sample was extracted and incubated in bovine serum albumin (BSA) protein solution at a 30 mg/mL concentration in PBS at 37 °C for 2 h. After this time, the materials were washed three times with PBS, and the adhered protein was extracted for later quantification.

For the extraction, 600 µL of 1% wt. SDS solution were added to the sample, previously incubated in BSA, and proceeded to be shaken at 130 rpm for 20 min and sonicated for 10 min, and finally vortexed for 30 s; this process was repeated 3 times. Finally, the protein concentration was quantified using the bicinchoninic acid method: 1 mL of the extraction solution was placed in a glass vial, 2 mL of the working solution (Table S1) was added, the mixture was gently shaken and heated at 60 °C for 30 min. After this time, the sample was cooled to room temperature, and the absorbance was measured using UV-Vis spectroscopy at 556 nm. Quantification was performed using a calibration curve (Supplementary Materials, Figure S3).

2.9. Cell Viability Assay

Cell viability was studied by observing the growth of BALB/3T3 murine embryonic fibroblasts (ATCC CCL-163, Manassas, VA, USA) in the presence of the modified materials. The assays were performed in 96-well plates seeded with 4×10^4 cells/mL, using Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) with FBS (fetal bovine serum, 10% *v/v*), penicillin-streptomycin (1% *w/v*) and gentamicin (10 µg/mL), for 24 h, under standard culture conditions (a humidified atmosphere of 5% CO₂, at 37 °C). Samples of approximately six µg were added to the cell culture and incubated for 24 h. After this, the samples and the medium were removed, and the MIT kit was used to quantify them, measuring the absorbance at 620 nm (Multiskan FC, Thermo Scientific). Cell viability was obtained by comparing cell growth in the presence of samples with that obtained by cultures without them. The assay was performed in triplicate.

2.10. Bacterial Inhibition Test

A solution of *Escherichia coli* (ATCC25922) of 0.5 MF (1.5×10^8 cfu/mL) was prepared in peptone water (pH: 7.2) and 2 mL of the solution was placed in a test tube, which had been previously sterilized (121 °C, 15 min and pressure of 1.6 kg/cm²). The material to be analyzed was placed in the medium and incubated at 37 °C for 24 h. The material was

removed from the culture medium, and the optical density was measured at 600 nm by spectroscopy to quantify the inhibition of growth by comparing the difference between it and a solution whose bacterial growth was not affected by any external material [29]; the experiments were carried out in triplicate.

2.11. Bacterial Adhesion Test

Samples of approximately 30 mg were incubated in 0.5 MF *E. coli* solution for 24 h. Once removed and gently washed with sterile water to remove non-adhering bacteria, the samples were placed in a glass tube with 1 mL of sterile water and taken to the vortex for 3 min [30,31]. After vortexing, a 0.1 mL aliquot was taken and diluted to 1 mL. An amount of 0.1 mL of this solution was removed and seeded using the inverted plate technique. The solution was left to incubate for 24 h, and the former colonies were counted [32].

3. Results

3.1. Synthesis of PVC-g-4VP/4VPPS

Once the 12 and 23% 4VP grafts were obtained using the conditions reported in Duarte-Peña [33], we proceeded to functionalize them to form the PVC-g-4VP/4VPPS. One of the ways to obtain zwitterionic polymers is via the formation of the zwitterion after polymerization, that is, cationic or anionic polymers are functionalized with oppositely charged groups. This was the method used in the case of PVC-g-4VP/4VPPS materials, where 4VP was initially grafted onto the PVC matrix and later functionalized with PS to form the zwitterionic polymer 4-vinylpyridine propylsulfobetaine (4VPPS), resulting in a graft composed of 4VP/4VPPS. The process for functionalization consisted of a ring-opening alkylation reaction (Figure 1) [25].

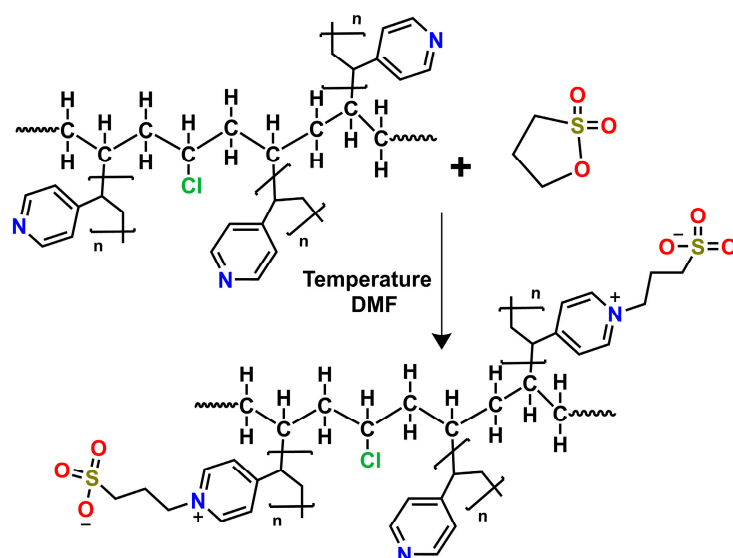


Figure 1. Reaction scheme for PVC-g-4VP/4VPPS.

Three factors were analyzed on the samples with 12 and 23% of 4VP to obtain the best reaction conditions: PS concentration, reaction time, and temperature. For this process, the reaction time was limited by the stability of the polymeric matrix in DMF, so the maximum reaction time used was 75 min. Figure 2A,B shows the behavior of the reaction yield when increasing the concentration of PS for samples with 12 and 23% of 4VP, respectively. In both cases, the reaction yield increased with a higher concentration; samples with 12% of 4VP required 0.35 M PS to reach 80 % of reaction yield, whereas the samples with 23% of 4VP reached these yields at a concentration of 0.8 and 1 M under the conditions used. Figure 2C,D show that the reaction yield increases with increasing reaction time, reaching

yield values of 80 to 95% between 60 and 75 min for samples with 23% of 4VP and close to 100% at 20 min for 12% of 4VP.

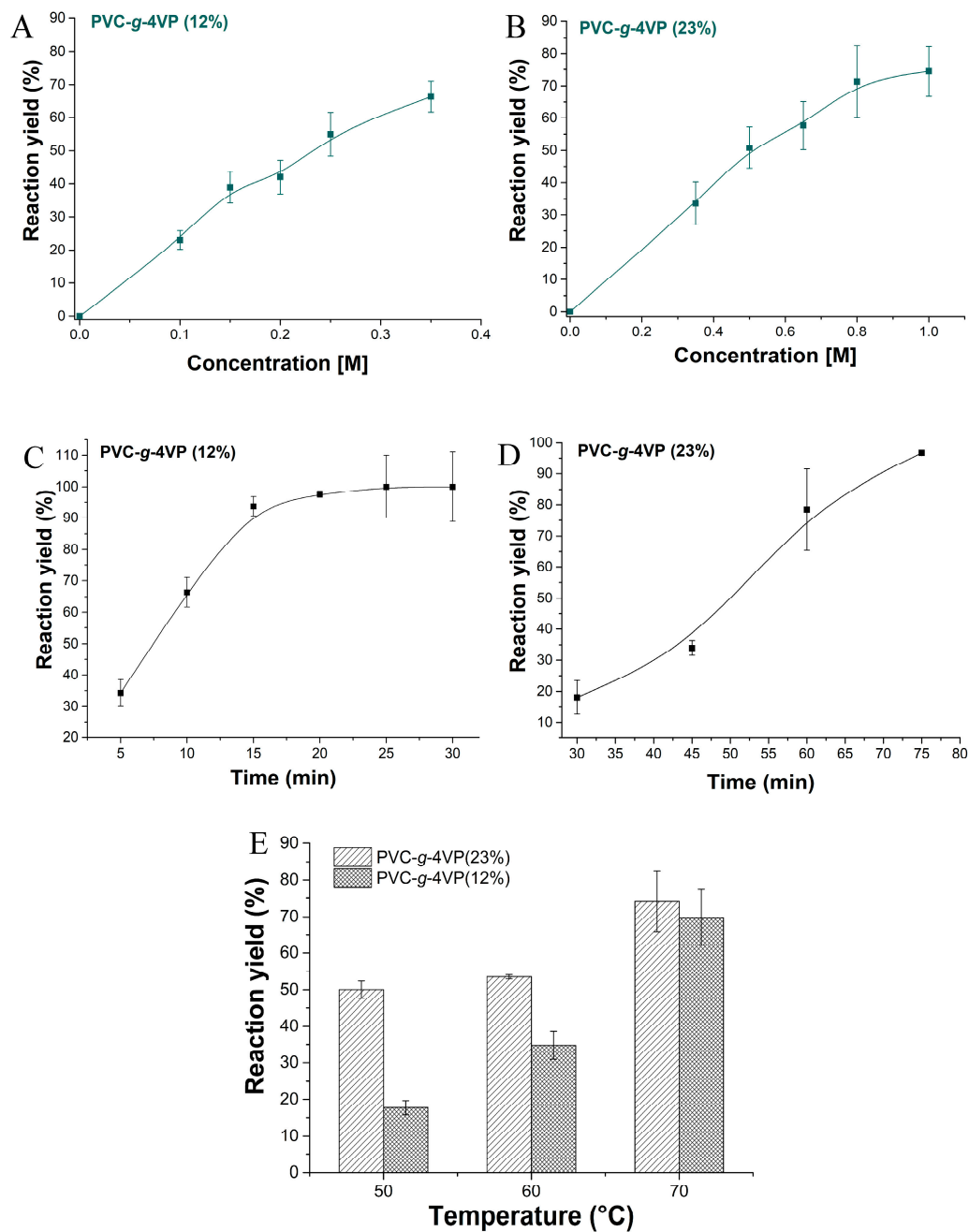


Figure 2. Effect of the reaction conditions in the yield percentage. (A) PS concentration effect for PVC-g-4VP(12%), conditions: 70 °C and 10 min, (B) PS concentration effect for PVC-g-4VP(23%), conditions: 70 °C and 75 min; (C) Time reaction effect for PVC-g-4VP(12%), conditions: 70 °C and 0.35 M PS; (D) Time reaction effect for PVC-g-4VP(23%), conditions: 70 °C and 0.8 M PS; and (E) Temperature effect, conditions for PVC-g-4VP(12%): 0.35 M PS and 10 min, and conditions for PVC-g-4VP(23%): 0.8 M PS and 75 min. Reported: mean \pm standard error of the mean, $n = 3$.

On the other hand, the temperature played an important role during the reaction because this is an endothermic process that requires energy to overcome the activation barrier and shift the equilibrium towards the formation of the product. Three temperatures were tested: 50, 60, and 70 °C. Figure 2E shows the yields as a function of temperature for the two samples, the best yield for both was found at 70 °C.

Table 1 shows four graft ranges that were obtained from this synthesis. The material with grafts of 13% 4VP and 32% 4VPPS was discarded for characterization because there was a significant deformation of the catheter.

Table 1. Materials synthesized.

Samples
-◀- PVC-g-4VP _{4%} /4VPPS _{32%}
-▲- PVC-g-4VP _{10%} /4VPPS _{13%}
-●- PVC-g-4VP _{16%} /4VPPS _{22%}
PVC-g-4VP _{13%} /4VPPS _{32%}

3.2. Infrared Spectroscopy and Thermal Analysis

The PVC-g-4VP/4VPPS materials were characterized by infrared spectroscopy to determine the presence of the different functional groups, as shown in Figure 3. The control PVC catheter spectrum presented bands at 2992 cm^{-1} of C-H stretching of $-\text{CH}_2-$ groups, 1267 cm^{-1} of C-H flexions; additionally, bands at 1745 and 1459 cm^{-1} were presented, which are characteristics of the plasticizer. The PVC-g-4VP spectrum, apart from the previous bands, presented C=C stretching signals at 1597 and 1557 cm^{-1} , and at 830 cm^{-1} of the C-H bends outside the plane of the aromatic amine [34,35]. Finally, the PVC-g-4VP/4VPPS spectra, together with the characteristic bands of the aromatic amine, show bands at 1039 and 1265 cm^{-1} corresponding to the symmetric and asymmetric stretching of the sulfonate group (SO_3^-), and the band 1680 cm^{-1} of the C=N stretches of the pyridine, corroborating the formation of the zwitterion 4VPPS [36].

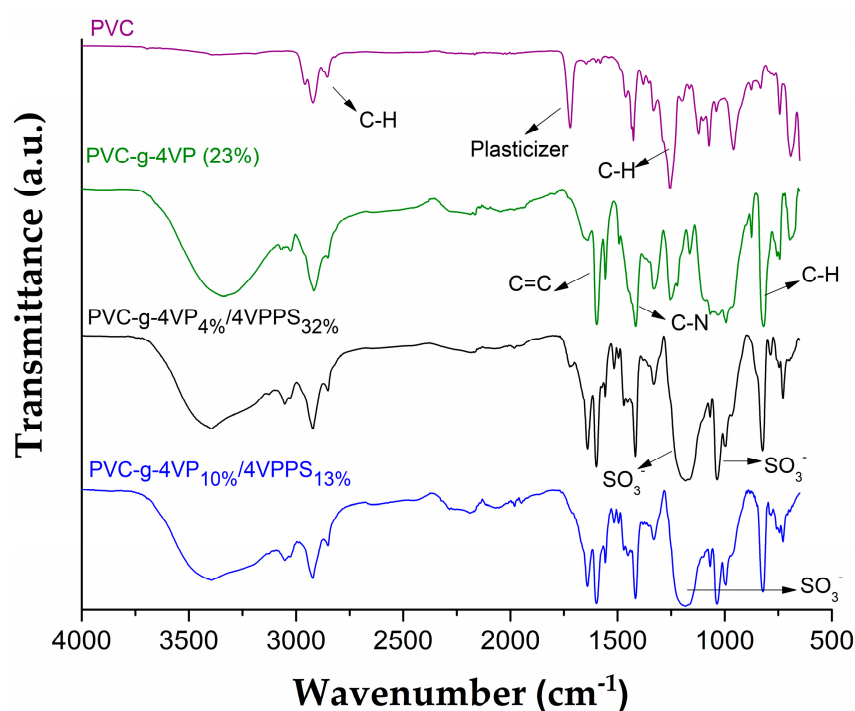


Figure 3. Infrared spectra of the neat and grafted PVC catheters using ATR module.

TGA thermal analysis showed that the catheter PVC-g-4VP/4VPPS has greater thermal stability than PVC and PVC-g-4VP because it lost 10% weight at a temperature 18 °C higher (Table 2). PVC and PVC-g-4VP presented three decomposition temperatures: the first was attributed to the decomposition of the plasticizer, the second and more intense was produced by the dehydrochlorination of PVC, and the last was attributed to the total chain decomposition; the materials modified with 4VP presented an increase of around

20 degrees at all decomposition temperatures. Finally, the PVC-g-4VP/4VPPS catheters showed four decomposition temperatures: the first was at 272 °C due to the loss of the plasticizer, the second was at 333 °C due to the dehydrochlorination of PVC [37], the third was at 364 °C, which is consistent with the decomposition of the quaternary amine [38], and the last was at 453 °C, which corresponds to the carbon chain decomposition. Figure 4 shows the thermograms of each sample.

Table 2. Thermogravimetric analysis.

Sample	10% Weight Loss (°C)	Decomposition Temperatures (°C)
PVC	236	243
		287
		457
		261
PVC-g-4VP	240	301
		470
		272
		333
PVC-g-4VP/4VPPS	256	364
		453

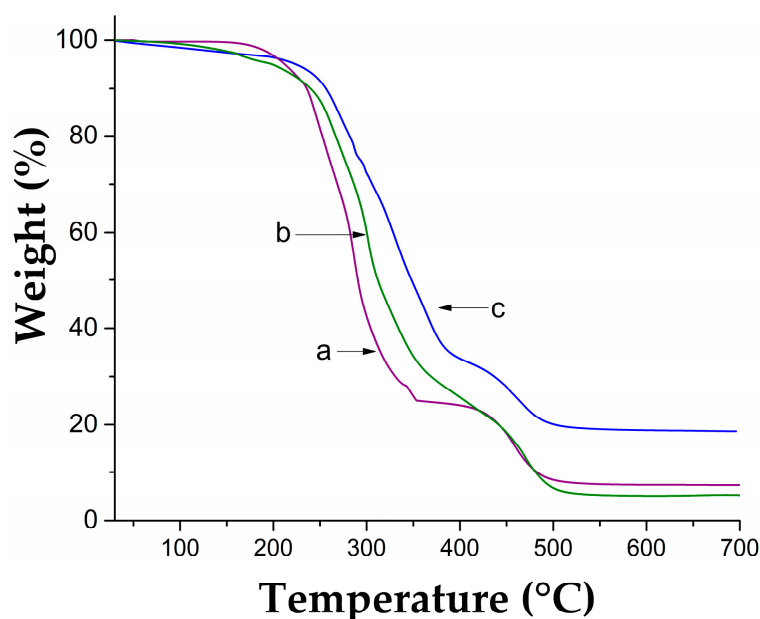


Figure 4. Thermograms: (a) PVC, (b) PVC-g-4VP, and (c) PVC-g-4VP/4VPPS.

3.3. Swelling and Contact Angle

Figure 5A shows the swelling curves in water at 25 °C; PVC has a hydrophobic character for what it did not swell. Samples modified only with 4VP showed their maximum swell at 2 h. On the other hand, the catheters with 4VP/4VPPS reached their maximum swelling at 30 min and presented maximum percentages three times those reached by the samples without functionalization. Figure 5B shows the contact angles for the different materials; the PVC surface showed a contact angle of approximately 100°, which corresponds to its hydrophobic character; the modified materials, on the other hand, presented contact angles of less than 90°, indicating that the surface acquired hydrophilicity. The surfaces modified with 4VP/4VPPS initially had higher contact angles than those modified only with 4VP; however, after 10 min of water-surface interaction, the contact angles decreased to similar values.

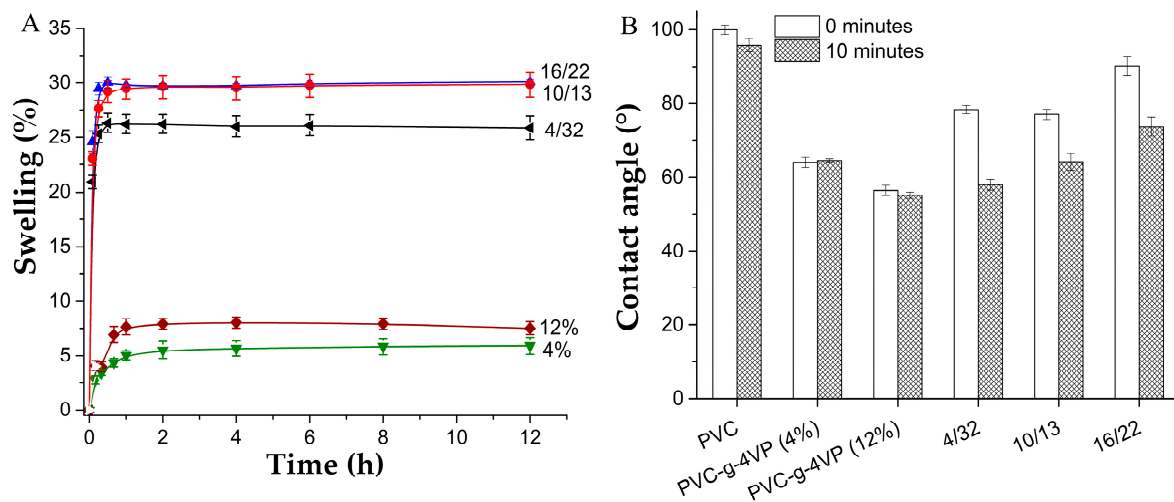


Figure 5. (A) Swelling curves in water at 25 °C, reported: mean \pm standard error of the mean, $n = 3$. and (B) Water contact angle, reported: mean \pm standard error of the mean, $n = 6$. PVC-g-4VP_{4%}/4VPSS_{32%} (4/32), PVC-g-4VP_{10%}/4VPSS_{13%} (10/13), and PVC-g-4VP_{16%}/4VPSS_{22%} (16/22).

3.4. pH-Sensitivity

4VP is a pH-sensitive polymer because it has an amino group in its structure that presents an acid-base balance (Figure 6A), with a pK_a around 5.4. At pHs below its pK_a , the polymer is in its ionic form, so the chains suffer repulsion between them and swelling is greater. Figure 6B shows the behavior of the swelling as a function of the pH for the pristine PVC, PVC-g-4VP, and PVC-g-4VP/4VPSS. PVC did not present a pH response, whereas all the materials modified with 4VP showed this capability, with a critical pH in the range of 6.3 to 7.

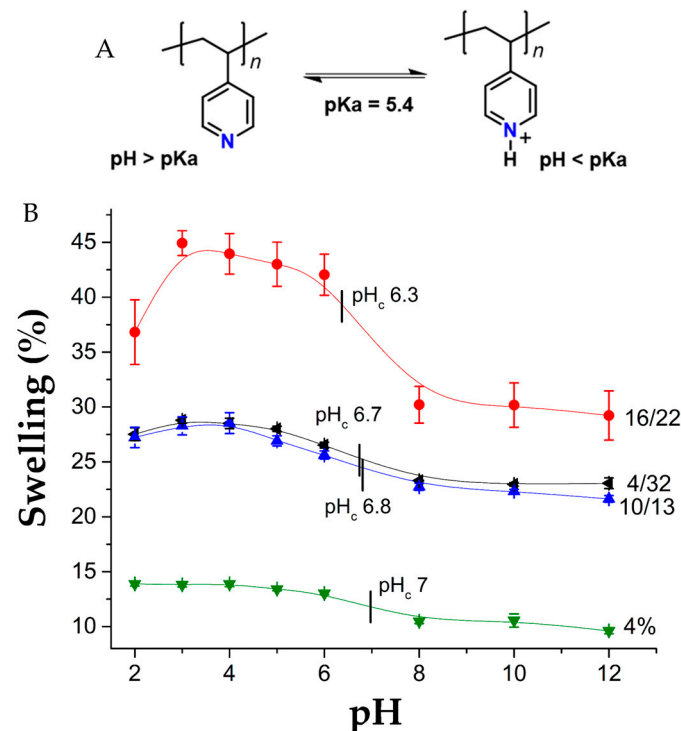


Figure 6. (A) Acid-base balance of 4VP and (B) pH-sensitivity, reported: mean \pm standard error of the mean, $n = 3$.

3.5. Protein Adsorption Test

The presence of the 4VPPS zwitterionic polymer decreased the percentage of protein adsorbed on the surface. Figure 7 shows the results; the material modified with 10% 4VP and 13% 4VPPS was the one that showed the highest antifouling capacity, reducing BSA adsorption by 74% compared to the unmodified PVC surface. This shows that the functionalization of the grafted 4VP was successful and the 4VPPS formed expresses its antifouling characteristics.

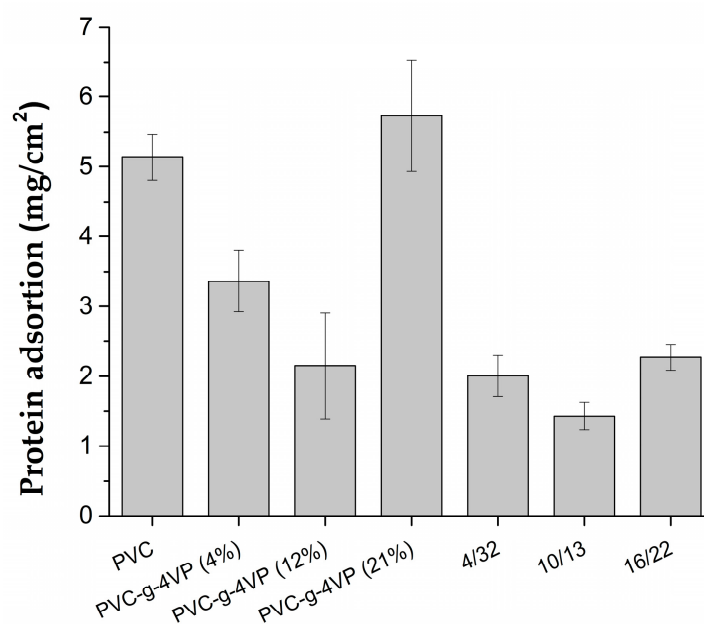


Figure 7. Protein adsorption on the polymer surface of different composition (incubation: 30% BSA solution in PBS, 37 °C, 2 h). Reported: mean \pm standard error of the mean, $n = 3$.

3.6. Load and Release of Ciprofloxacin

Ciprofloxacin loading and release assays were performed on PVC, PVC-g-4VP(4%), PVC-g-4VP_{4%}/4VPPS_{32%}, PVC-g-4VP_{10%}/4VPPS_{13%}, and PVC-g-4VP_{16%}/4VPPS_{22%} samples. PVC and PVC-g-4VP(4%) samples did not show ciprofloxacin loading capacity, contrary to the samples modified with the zwitterionic polymer. Figure 8A shows the ciprofloxacin load for the three zwitterionic graft samples; in all the cases, the load reaches maximum levels after 30 h of interaction, but the amount of ciprofloxacin loaded by the PVC-g-4VP_{10%}/4VPPS_{13%} and PVC-g-4VP_{16%}/4VPPS_{22%} catheters was higher. Figure S4 shows the load profiles. However, release profiles (Figure 8B), showed that the sample PVC-g-4VP_{10%}/4VPPS_{13%} had a final release of approximately 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the samples PVC-g-4VP_{4%}/4VPPS_{32%} and PVC-g-4VP_{16%}/4VPPS_{22%} released around 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$; in all cases, the release was gradual until 30 h.

The release profiles were processed using DDSolver Excel software to determine the fitting model (details of the fit are specified in Supplementary Materials, Table S2). In all cases, following the values of the Akaike Information Criterion (AIC), the Model Selection Criterion (MSC), and the adjustment of squares (r^2), the model that presented the highest affinity with the behavior of the materials was the Peppas–Sahlin model [39].

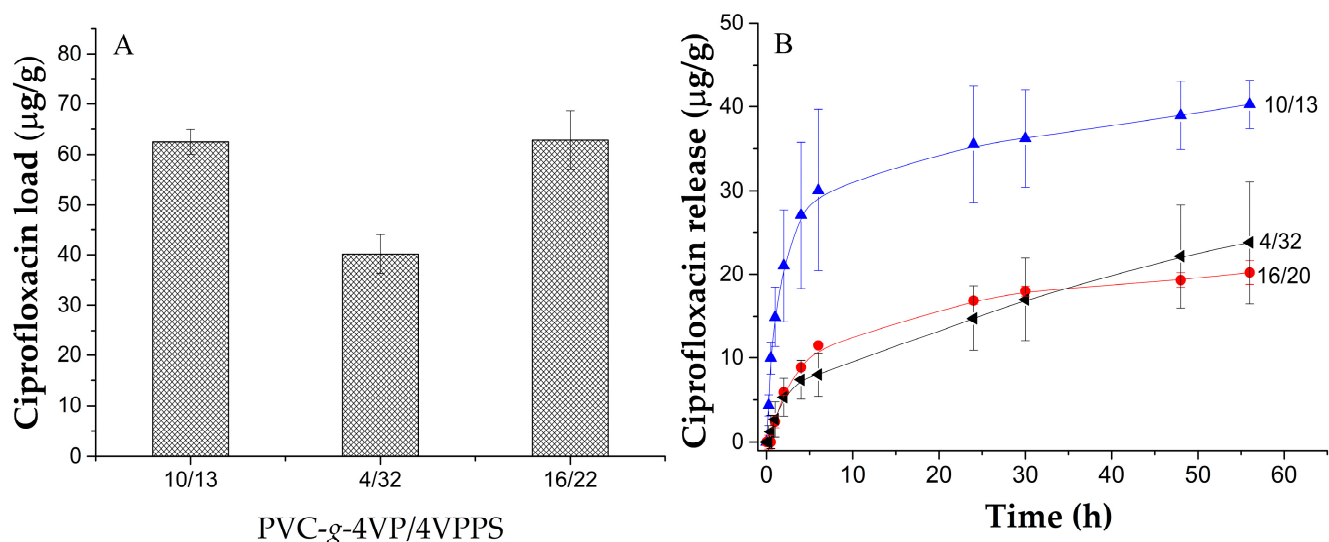


Figure 8. (A) Ciprofloxacin load (condition: 0.012 µg/mL, 25 °C por 30 h) and (B) Ciprofloxacin release profiles (condition: PBS a 37 °C). Reported: mean ± standard error of the mean, $n = 3$.

The Peppas–Sahlin model describes systems that present the contribution of two mechanisms (diffusional and relaxational) in the release process. This model is described by Equation (4), where M_{∞} is the amount of drug in an equilibrium state, M_t is the amount of drug released in the determined time, k_1 represents the Fickian diffusion contribution, k_2 the polymer chains relaxation contribution, and m is the Fickian diffusion exponent [40].

$$M_t/M_{\infty} = k_1 t^m + k_2 t^{2m} \quad (4)$$

Table 3 shows the values of the Peppas–Sahlin model parameters for the different materials; all materials presented values of k_1 that predominate over k_2 , indicating that the principal release mechanism is diffusion. However, for the material, the contribution of the chain relaxation mechanism is higher, possibly due to the greater amount of the zwitterionic polymer. The PVC-g-4VP_{10%}/4VPPS_{13%} catheter released the highest amount of ciprofloxacin, with a release rate of approximately 60%.

Table 3. Peppas–Sahlin model parameters.

Parameter	PVC-g-4VP _{4%} /4VPPS _{32%}	PVC-g-4VP _{10%} /4VPPS _{13%}	PVC-g-4VP _{16%} /4VPPS _{22%}
k_1	13.22	14.48	13.63
k_2	0.523	−0.678	−0.657
m	0.573	0.377	0.601

The PVC-g-4VP_{10%}/4VPPS_{13%} materials presented the best properties and fast synthesis conditions (0.35 M, 70 °C, 5 min, and 12% 4VP), which is why they were chosen to carry out cell viability, antimicrobial activity, and antifouling capacity tests.

3.7. Cell Viability

Figure 9 shows the results of cell viability using BALB/3T3 murine embryonic fibroblasts; it was observed that the control PVC increased cell growth, in the same way as the material modified with 4% 4VP. The material grafted with 4VP/4VPPS showed a decrease in cell growth of approximately 5%; when the material was loaded with ciprofloxacin, the cell growth decreased by 18%; however, the material can be considered non-cytotoxic according to ISO-10993-5-2009 [41].

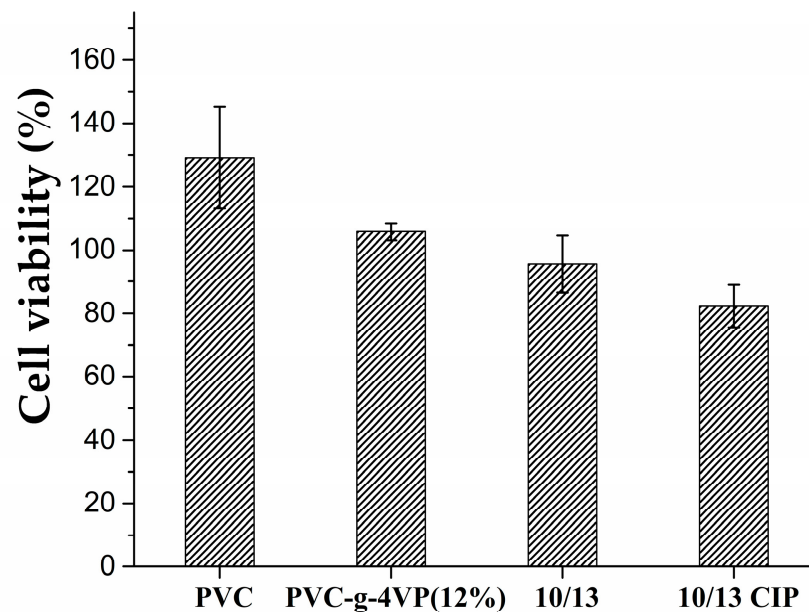


Figure 9. Cell viability result using BALB/3T3 murine embryonic fibroblasts and MIT assay. Reported: mean \pm standard error of the mean, $n = 3$.

3.8. Antimicrobial Activity and Antifouling Capability

Figure 10A presents the antibacterial capacity of the material based on its ability to inhibit the growth of *E. coli*. It was observed that PVC, PVC-g-4VP(4%), and PVC-g-4VP_{10%}/4VPPS_{13%} do not have antimicrobial activity, on the contrary, PVC-g-4VP_{10%}/4VPPS_{13%} loaded with ciprofloxacin achieved 82% inhibition at 24 h. On the other hand, Figure 10B presents the antifouling capacity of the material determined by the number of colony-forming units of *E. coli* bacteria, which adhered to the material when it was in direct contact with the *E. coli* solution of 1×10^8 cfu for 24 h. It is observed that the material with binary graft presents a 42% decrease in bacterial adhesion in the control PVC and this effect is enhanced when loading ciprofloxacin, reaching a 55% decrease.

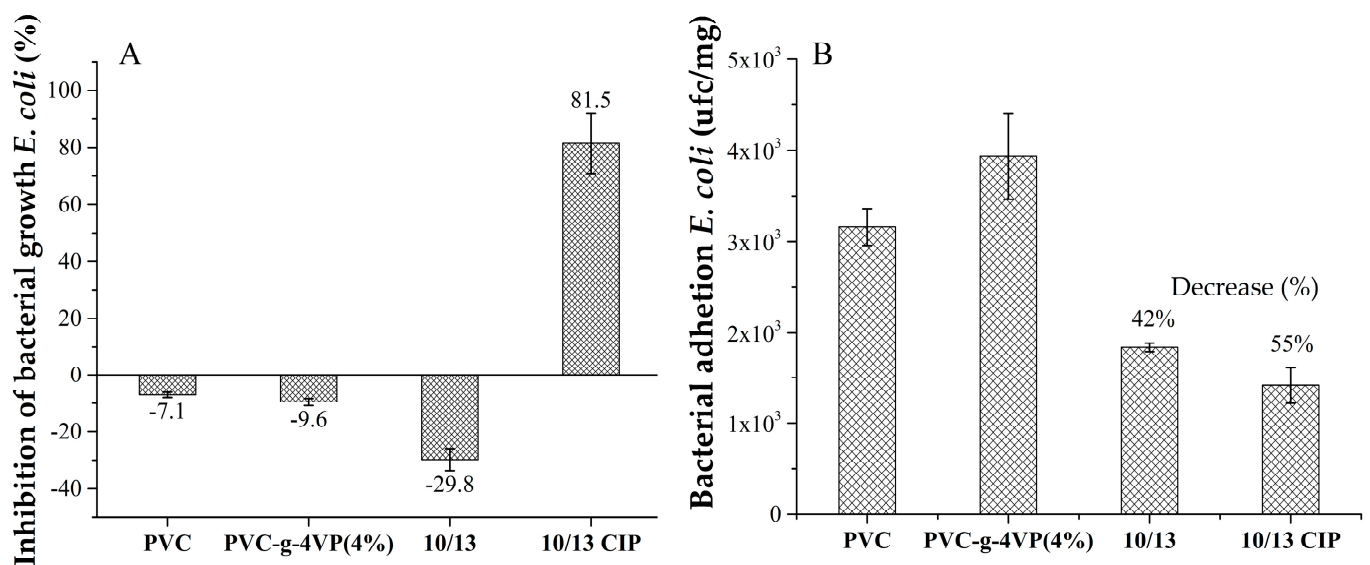


Figure 10. (A) Inhibition of bacterial growth for *E. coli* and (B) Bacterial adhesion of *E. coli*. Reported: mean \pm standard error of the mean, $n = 3$.

4. Discussion

Ionic polymer functionalization using oppositely charged ions is one of the ways to synthesize zwitterionic polymers. In this case, the functionalization of 4VP grafted onto PVC catheters made it possible to obtain the characteristics of the 4VPPS zwitterion while maintaining the pH-sensitivity of the 4VP system. The 4VP is a cationic polymer that reacts with PS to produce 4VPPS, by a ring-opening alkylation reaction (Figure 1). This form of zwitterion synthesis resulted in different percentages of grafting, which was impossible with a direct grafting method, that is, directly grafting the 4VPPS monomer. The difficulty of working with the 4VPPS monomer was due to its insolubility in most solvents; a 1 M saline solution is required to solubilize it [42,43]. The formation of grafts using ionizing radiation represents an advantageous method for medical device modification because the obtained materials do not present contamination by agents used for the polymerization [44,45].

The poly (4VPPS) is an aromatic zwitterionic polymer that has demonstrated antifouling capabilities in biomedicine, electronics [46], and water treatment. Venault, et. al. synthesized 4VPPS hydrogels to be used as medical device coatings. They demonstrated that 4VPPS coatings present a bio-antifouling capability similar to that of sulfobetaine methacrylate (SBMA), one of the most common zwitterionic polymers, employed to produce antifouling surfaces by coating, grafting, or copolymerization [47–50]. Additionally, 4VPPS coatings were more resistant to temperature than SBMA coatings because they retained their bio-antifouling properties after being heated at 121 °C for 1 h (sterilization conditions), representing an advantage in the biomedical field, where most of the devices require sterilization [25]. On the other hand, Gui, et. al. copolymerized acrylamide with 4VPPS to produce a zwitterionic poly-acrylamide that showed thermic stability and good properties as a flocculant of cationic and anionic inorganic contaminants due to its electrostatic characteristics [51].

Materials grafting with 4VPPS showed the ability to load and release ciprofloxacin due to the hydrophilicity and pH-sensitivity of the system. In addition, the modification provided the material with the antifouling property of zwitterionic polymers, allowing a significant decrease in both the adhesion of the BSA protein and *E. coli*. A synergistic effect was observed when loading the material with ciprofloxacin, increasing its capacity to prevent the adhesion of *E. coli* by 13%, for the PVC-g-4VP_{10%}/4VPPS_{13%} catheter. The materials were also shown to be non-toxic since they did not significantly affect cell viability. The modification of the catheters allows the creation of antimicrobial systems with the capacity to release an antibiotic at the site of interest, making it a localized drug delivery system, increasing its effectiveness and decreasing the side effects.

5. Conclusions

The functionalization of the 4VP grafted onto PVC catheters was successful and obtained materials with different percentages of 4VP and 4VPPS in their composition. Although all the modified catheters showed hydrophilicity and pH sensitivity, the PVC-g-4VP_{10%}/4VPPS_{13%} catheter was the one that showed the best capacities for loading and releasing ciprofloxacin, achieving an inhibition of *E. coli* growth of approximately 82% in 24 h. In addition, due to the presence of zwitterion, this material showed antifouling characteristics, which decreased the adhesion of BSA by 74% and the adhesion of *E. coli* by 55%. This material is a pH-sensitive system with dual antimicrobial capacity and is therefore a promising alternative for developing devices with less tendency towards biocontamination.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/pharmaceutics15030960/s1>, Figure S1: Calibration curves to quantify load of ciprofloxacin; Figure S2. Calibration curves to quantify release of ciprofloxacin; Figure S3. Calibration curve to BSA quantification (Abs 556 nm); Figure S4. Profiles of ciprofloxacin load; Table S1: Working solution preparation; Table S2. Parameters to select the drug release model.

Author Contributions: Conceptualization, L.D.-P. and E.B.; methodology, L.D.-P. and H.M.; formal analysis, L.D.-P.; investigation, L.D.-P.; resources, E.B. and H.M.; writing—original draft preparation, L.D.-P.; writing—review and editing, E.B. and H.M.; visualization, L.D.-P.; supervision, E.B.; project administration, E.B.; and funding acquisition, E.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by the Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGA-PA), Universidad Nacional Autónoma de México under Grant IN204223.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: L. Duarte Peña (887494) acknowledges CONACyT for the doctoral scholarship. This work was supported by DGAPA-UNAM [Grant IN202320] (Mexico). Benjamin Leal and Martín Cruz from ICN-UNAM are acknowledged for their technical assistance.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Khan, H.A.; Baig, F.K.; Mehboob, R. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2017**, *7*, 478–482. [[CrossRef](#)]
2. Jenkins, D.R. Nosocomial infections and infection control. *Medicine* **2017**, *45*, 629–633. [[CrossRef](#)]
3. Rosenthal, V.D.; Maki, D.G.; Graves, N. The International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC): Goals and objectives, description of surveillance methods, and operational activities. *Am. J. Infect. Control* **2008**, *36*, e1–e12. [[CrossRef](#)]
4. Aitken, C.; Jeffries, D.J. Nosocomial spread of viral disease. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, *14*, 528–546. [[CrossRef](#)]
5. Fätkenheuer, G.; Cornely, O.; Seifert, H. Clinical management of catheter-related infections. *Clin. Microbiol. Infect.* **2002**, *8*, 545–550. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Pujol, M.; Limón, E. General epidemiology of nosocomial infections. Surveillance systems and programs. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **2013**, *31*, 108–113. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. D'Agata, R.; Bellassai, N.; Jungbluth, V.; Spoto, G. Recent Advances in Antifouling Materials for Surface Plasmon Resonance Biosensing in Clinical Diagnostics and Food Safety. *Polymers* **2021**, *13*, 1929. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Wang, Z.; Scheres, L.; Xia, H.; Zuillhof, H. Developments and Challenges in Self-Healing Antifouling Materials. *Adv. Funct. Mater.* **2020**, *30*, 1908098. [[CrossRef](#)]
9. Choudhury, R.R.; Gohil, J.M.; Mohanty, S.; Nayak, S.K. Antifouling, fouling release and antimicrobial materials for surface modification of reverse osmosis and nanofiltration membranes. *J. Mater. Chem. A* **2018**, *6*, 313–333. [[CrossRef](#)]
10. Zander, Z.K.; Becker, M.L. Antimicrobial and antifouling strategies for polymeric medical devices. *ACS Macro Lett.* **2018**, *7*, 16–25. [[CrossRef](#)]
11. Liu, Y.; Ren, X.; Huang, T.S. Antimicrobial cotton containing N-halamine and quaternary ammonium groups by grafting copolymerization. *Appl. Surf. Sci.* **2014**, *296*, 231–236. [[CrossRef](#)]
12. Massi, L.; Guittard, F.; Levy, R.; Gérialdi, S. Enhanced activity of fluorinated quaternary ammonium surfactants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1615–1622. [[CrossRef](#)]
13. Maleki Dizaj, S.; Lotfipour, F.; Barzegar-Jalali, M.; Hossein Zarrintan, M.; Adibkia, K. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Mater. Sci. Eng. C* **2014**, *44*, 278–284. [[CrossRef](#)]
14. Affes, S.; Maalej, H.; Aranaz, I.; Kchaou, H.; Acosta, N.; Heras, Á.; Nasri, M. Controlled size green synthesis of bioactive silver nanoparticles assisted by chitosan and its derivatives and their application in biofilm preparation. *Carbohydr. Polym.* **2020**, *236*, 116063. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Rajivgandhi, G.; Maruthupandy, M.; Muneeswaran, T.; Anand, M.; Quero, F.; Manoharan, N.; Li, W.J. Biosynthesized silver nanoparticles for inhibition of antibacterial resistance and biofilm formation of methicillin-resistant coagulase negative Staphylococci. *Bioorg. Chem.* **2019**, *89*, 103008. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Zhao, J.; Ma, L.; Millians, W.; Wu, T.; Ming, W. Dual-Functional Antifogging/Antimicrobial Polymer Coating. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2016**, *8*, 8737–8742. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Qiu, H.; Si, Z.; Luo, Y.; Feng, P.; Wu, X.; Hou, W.; Zhu, Y.; Chan-Park, M.B.; Xu, L.; Huang, D. The Mechanisms and the Applications of Antibacterial Polymers in Surface Modification on Medical Devices. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2020**, *8*, 910. [[CrossRef](#)]
18. Do Nascimento Marques, N.; Da Silva Maia, A.M.; De Carvalho Balaban, R. Development of dual-sensitive smart polymers by grafting chitosan with poly (N-isopropylacrylamide): An overview. *Polimeros* **2015**, *25*, 237–246. [[CrossRef](#)]
19. Edis, Z.; Bloukh, S.H.; Ibrahim, M.R.; Sara, H.A. “Smart” Antimicrobial Nanocomplexes with Potential to Decrease Surgical Site Infections (SSI). *Pharmaceutics* **2020**, *12*, 361. [[CrossRef](#)]

20. Rizwan, M.; Yahya, R.; Hassan, A.; Yar, M.; Azzahari, A.D.; Selvanathan, V.; Sonsudin, F.; Abouloula, C.N. pH sensitive hydrogels in drug delivery: Brief history, properties, swelling, and release mechanism, material selection and applications. *Polymers* **2017**, *9*, 137. [[CrossRef](#)]
21. Blackman, L.D.; Gunatillake, P.A.; Cass, P.; Locock, K.E.S. An introduction to zwitterionic polymer behavior and applications in solution and at surfaces. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48*, 757–770. [[CrossRef](#)]
22. Sin, M.C.; Chen, S.H.; Chang, Y. Hemocompatibility of zwitterionic interfaces and membranes. *Polym. J.* **2014**, *46*, 436–443. [[CrossRef](#)]
23. Ladd, J.; Zhang, Z.; Chen, S.; Hower, J.C.; Jiang, S. Zwitterionic Polymers Exhibiting High Resistance to Nonspecific Protein Adsorption from Human Serum and Plasma. *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 1357–1361. [[CrossRef](#)]
24. Laschewsky, A. Structures and synthesis of zwitterionic polymers. *Polymers* **2014**, *6*, 1544–1601. [[CrossRef](#)]
25. Venault, A.; Lai, M.-W.; Jhong, J.-F.; Yeh, C.-C.; Yeh, L.-C.; Chang, Y. Superior Bioinert Capability of Zwitterionic Poly(4-vinylpyridine propylsulfobetaine) Withstanding Clinical Sterilization for Extended Medical Applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2018**, *10*, 17771–17783. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Yang, W.; Sundaram, H.S.; Ella, J.-R.; He, N.; Jiang, S. Low-fouling electrospun PLLA films modified with zwitterionic poly(sulfobetaine methacrylate)-catechol conjugates. *Acta Biomater.* **2016**, *40*, 92–99. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Kao, C.W.; Cheng, P.H.; Wu, P.T.; Wang, S.W.; Chen, I.C.; Cheng, N.C.; Yang, K.C.; Yu, J. Zwitterionic poly(sulfobetaine methacrylate) hydrogels incorporated with angiogenic peptides promote differentiation of human adipose-derived stem cells. *RSC Adv.* **2017**, *7*, 51343–51351. [[CrossRef](#)]
28. Harijan, M.; Singh, M. Zwitterionic polymers in drug delivery: A review. *J. Mol. Recognit.* **2022**, *35*, e2944. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Stevenson, K.; McVey, A.F.; Clark, I.B.N.; Swain, P.S.; Pilizota, T. General calibration of microbial growth in microplate readers. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 38828. [[CrossRef](#)]
30. Raad, I.I.; Sabbagh, M.F.; Rand, K.H.; Sherertz, R.J. Quantitative tip culture methods and the diagnosis of central venous catheter-related infections. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **1992**, *15*, 13–20. [[CrossRef](#)]
31. Aldea Mansilla, C.; Martínez-Alarcón, J.; Gracia Ahufinger, I.; Guembe Ramírez, M. Microbiological diagnosis of catheter-related infections. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **2019**, *37*, 668–672. [[CrossRef](#)]
32. Brugger, S.D.; Baumberger, C.; Jost, M.; Jenni, W.; Brugger, U.; Mühlemann, K. Automated counting of bacterial colony forming units on agar plates. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e33695. [[CrossRef](#)]
33. Duarte-Peña, L.; López-Saucedo, F.; Concheiro, A.; Alvarez-Lorenzo, C.; Bucio, E. Modification of indwelling PVC catheters by ionizing radiation with temperature- and pH-responsive polymers for antibiotic delivery. *Radiat. Phys. Chem.* **2022**, *193*, 110005. [[CrossRef](#)]
34. Xue, Y.; Xiao, H. Antibacterial/Antiviral Property and Mechanism of Dual-Functional Quaternized Pyridinium-type Copolymer. *Polymers* **2015**, *7*, 2290–2303. [[CrossRef](#)]
35. Wu, C.; Zheng, J.; Hu, J. Novel antifouling polysulfone matrix membrane modified with zwitterionic polymer. *J. Saudi Chem. Soc.* **2021**, *25*, 101281. [[CrossRef](#)]
36. Shafi, H.Z.; Wang, M.; Gleason, K.K.; Khan, Z. Synthesis of surface-anchored stable zwitterionic films for inhibition of biofouling. *Mater. Chem. Phys.* **2020**, *239*, 121971. [[CrossRef](#)]
37. Lucio, D.S.V.; Rivera-Armenta, J.L.; Rivas-Orta, V.; Díaz-Zavala, N.P.; Páramo-García, U.; Rivas, N.V.G.; Cinco, M.Y.C. Manufacturing of composites from chicken feathers and polyvinyl chloride (PVC). In *Handbook of Composites from Renewable Materials*; John Wiley & Sons: New York, NY, USA, 2017; pp. 159–174. [[CrossRef](#)]
38. Ibrahim, G.P.S.; Isloor, A.M.; Inamuddin; Asiri, A.M.; Ismail, N.; Ismail, A.F.; Ashraf, G.M. Novel, one-step synthesis of zwitterionic polymer nanoparticles via distillation-precipitation polymerization and its application for dye removal membrane. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 15889. [[CrossRef](#)]
39. Zhang, Y.; Huo, M.; Zhou, J.; Zou, A.; Li, W.; Yao, C.; Xie, S. DDSolver: An Add-In Program for Modeling and Comparison of Drug Dissolution Profiles. *AAPS J.* **2010**, *12*, 263–271. [[CrossRef](#)]
40. Bruschi, M.L. (Ed.) 5—Mathematical models of drug release. In *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*; Woodhead Publishing: Cambridge, UK, 2015; pp. 63–86. ISBN 978-0-08-100092-2.
41. International Organization for Standardization (ISO). *ISO 10993-5:2009 Biological Evaluation of Medical Devices—Part 5: Tests for In Vitro Cytotoxicity*, 3rd ed.; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2009.
42. Lowe, A.B.; McCormick, C.L. Synthesis and Solution Properties of Zwitterionic Polymers. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 4177–4190. [[CrossRef](#)]
43. Brown, M.U.; Seong, H.-G.; Margossian, K.O.; Bishop, L.; Russell, T.P.; Muthukumar, M.; Emrick, T. Zwitterionic Ammonium Sulfonate Polymers: Synthesis and Properties in Fluids. *Macromol. Rapid Commun.* **2022**, *43*, 2100678. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Meléndez-Ortiz, H.I.; Varca, G.H.C.; Lugão, A.B.; Bucio, E. Smart polymers and coatings obtained by ionizing radiation: Synthesis and biomedical applications. *Open J. Polym. Chem.* **2015**, *5*, 17–33. [[CrossRef](#)]
45. Ashfaq, A.; Clochard, M.-C.; Coqueret, X.; Dispenza, C.; Driscoll, M.S.; Ulański, P.; Al-Sheikhly, M. Polymerization reactions and modifications of polymers by ionizing radiation. *Polymers* **2020**, *12*, 2877. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Jin, S.; Chen, P.-Y.; Qiu, Y.; Zhang, Z.; Hong, S.; Joo, Y.L.; Yang, R.; Archer, L.A. Zwitterionic Polymer Gradient Interphases for Reversible Zinc Electrochemistry in Aqueous Alkaline Electrolytes. *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 19344–19352. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

47. Pimenta, A.F.R.; Vieira, A.P.; Colaço, R.; Saramago, B.; Gil, M.H.; Coimbra, P.; Alves, P.; Bozukova, D.; Correia, T.R.; Correia, I.J.; et al. Controlled release of moxifloxacin from intraocular lenses modified by Ar plasma-assisted grafting with AMPS or SBMA: An in vitro study. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2017**, *156*, 95–103. [[CrossRef](#)]
48. Han, L.; Tan, Y.Z.; Xu, C.; Xiao, T.; Trinh, T.A.; Chew, J.W. Zwitterionic grafting of sulfobetaine methacrylate (SBMA) on hydrophobic PVDF membranes for enhanced anti-fouling and anti-wetting in the membrane distillation of oil emulsions. *J. Memb. Sci.* **2019**, *588*, 117196. [[CrossRef](#)]
49. Yang, Y.F.; Li, Y.; Li, Q.L.; Wan, L.S.; Xu, Z.K. Surface hydrophilization of microporous polypropylene membrane by grafting zwitterionic polymer for anti-biofouling. *J. Memb. Sci.* **2010**, *362*, 255–264. [[CrossRef](#)]
50. Yang, B.; Wang, C.; Zhang, Y.; Ye, L.; Qian, Y.; Shu, Y.; Wang, J.; Li, J.; Yao, F. A thermoresponsive poly(N-vinylcaprolactam-co-sulfobetaine methacrylate) zwitterionic hydrogel exhibiting switchable anti-biofouling and cytocompatibility. *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 3431–3442. [[CrossRef](#)]
51. Gui, Z.; Qian, J.; An, Q.; Xu, H.; Zhao, Q. Synthesis, characterization and flocculation performance of zwitterionic copolymer of acrylamide and 4-vinylpyridine propylsulfobetaine. *Eur. Polym. J.* **2009**, *45*, 1403–1411. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Article

Antifouling PVC Catheters by Gamma Radiation-Induced Zwitterionic Polymer Grafting

Lorena Duarte-Peña *  and Emilio Bucio * 

Departamento de Química de Radiaciones y Radioquímica, Instituto de Ciencias Nucleares, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Ciudad de México 04510, Mexico

* Correspondence: lorena.duarte@correo.nucleares.unam.mx (L.D.-P.); ebucio@nucleares.unam.mx (E.B.)

Abstract: In medical environments, polymeric surfaces tend to become contaminated, hindering the treatment and recovery from diseases. Biofouling-resistant materials, such as zwitterionic polymers, may mitigate this problem. In this work, the modification of PVC catheters with a binary graft of 4-vinylpyridine (4VP) and sulfobetaine methacrylate (SBMA) by the oxidative pre-irradiation method is proposed to develop pH-responsive catheters with an antifouling capacity. The ionizing radiation allowed us to overcome limitations in the synthesis associated with the monomer characteristics. In addition, the grafted materials showed a considerable increase in their hydrophilic character and antifouling capacity, significantly decreasing the protein adsorption compared to the unmodified catheters. These materials have potential for the development of a combined antimicrobial and antifouling capabilities system to enhance prophylactic activity or even to help treat infections.

Keywords: antifouling; gamma radiation; grafting polymerization; pH-responsive; protein adsorption; zwitterionic materials



Citation: Duarte-Peña, L.; Bucio, E. Antifouling PVC Catheters by Gamma Radiation-Induced Zwitterionic Polymer Grafting. *Polymers* **2022**, *14*, 1185. <https://doi.org/10.3390/polym14061185>

Academic Editor: Béla Iván

Received: 18 February 2022

Accepted: 12 March 2022

Published: 16 March 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Advancement in medicine promotes technological and scientific development since it always seeks to improve the conditions to maintaining physical well-being. In the biomedical field, the use of polymeric materials has boomed in recent decades in the manufacture of tools that are commonly employed in medical treatments (for instance, orthopedic implants, catheters, infusion and dialysis lines, vascular stents, and sutures) due to the versatility of their physical and chemical properties, such as resistance to chemical attack, biocompatibility, low weight, availability, and ease of manufacturing, which allow for adaptability and compatibility with living tissues.

However, polymeric materials used in medical environments tend to suffer biological contamination with the proliferation of microorganisms as biofilms, leading to infections resistant to conventional antibiotics [1,2] and colloidal contamination that can cause thrombi by blood coagulation onto implanted surfaces [3]. Both contaminations represent a danger for medical procedures, and their presence increases mortality and morbidity rates and decreases the useful life of the devices [4,5].

Research regarding biomedical polymeric materials has focused on biofouling-resistant surfaces development through active coatings or by the surface modification of conventional polymers. There are two categories of materials that prevent microbial infection in medical tools, antimicrobial and antifouling materials [6]. The former inhibit or kill microorganisms because they have antimicrobial activity, which is achieved by some active agent release or by the presence of one on the surface, for example, the covalent bond of quaternary ammonium salts or biocide molecules; and the second prevents microorganism adhesion through hydration layers or lowering the surface energy since a low surface energy leads to high interfacial tension between the liquid and the substrate, which minimizes adhesion [7].

Over the years, the development of antifouling polymers has gone through several basic models. Three generations of antifouling polymers are generally recognized: polymers based on 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) [8,9], polymers based on polyethylene glycol (PEG) [10,11], and zwitterionic polymers [12]. Zwitterionic polymers are neutral macromolecules formed by monomers with an ionic pair (cation–anion) in their structure, and thus these polymers have a large number of ions along their chain, which allows them easily interact with water as they are very hydrophilic [13,14].

Their fouling resistance occurs due to the formation of an electrostatically stabilized hydration layer. In this case, hydration occurs through ion–dipole interactions (stronger than van der Waals interactions): the ions over the surface generate repulsive electrical double layer (EDL) forces, which produce a high-energy barrier that prevents surface contamination [15,16]. The poly (sulfobetaine methacrylate) (polySBMA) is a zwitterionic polymer that has demonstrated its antifouling capacity in hydrogel and coating production but presents difficulties for covalently bonding to surfaces [17–21].

On the other hand, stimuli-responsive polymers are often used for antimicrobial system manufacture. These polymers suffer structural changes depending on the medium conditions, such as temperature, pH, ionic strength, and light, which allows them to act as active agent delivery systems [22,23]. Poly (4-vinylpyridine) is known for its pH-responsive properties due to the protonation of the aromatic amine, and thus it has been applied in drug-carrying research. In addition, this polymer demonstrated thermo-responsiveness under certain conditions [24].

The first step in colloidal and biological contamination is protein adsorption on the surface. When a biological fluid comes into contact with a solid interface, proteins are the first to adhere, forming a conditioning film over the surface [25,26]. Therefore, surfaces that avoid protein adsorption may be an effective antifouling method. Protein adsorption on the material is a phenomenon influenced by the external parameters, the kind of protein, and the surface characteristics, which may be affected by several processes, such as structural rearrangements, changes in the surface affinity, size exclusion effects, and protein surface aggregation [27].

This work proposes the modification of PVC catheters with a two-step binary graft of 4-vinylpyridine (4VP) and SBMA ([PVC-*g*-4VP]-*g*-SBMA), using gamma radiation to obtain a pH-responsive material with antifouling characteristics that were tested by measuring the adsorption of bovine serum albumin (BSA) at physiological-like conditions. The main aim was the synthesis of SBMA grafting by gamma radiation in order to study the effects of the different reaction factors over the grafting percentage. [PVC-*g*-4VP]-*g*-SBMA systems have the potential to be a combined antimicrobial system since they could act as an active agent release system in addition to having antifouling properties.

2. Materials and Methods

2.1. Materials

PVC catheters (diameter 3 mm and thickness 0.5 mm) were from Biçakcilar (Istanbul, Turkey). 4VP (95%), and SBMA monomers were purchased from Aldrich Chemical, Saint Louis, MO, USA. Methanol was purchased from J. T. Baker (Puebla, Mexico); 4VP was purified by vacuum distillation, and SBMA was used as received. Sodium chloride (NaCl), potassium chloride (KCl), sodium phosphate dibasic (NaH₂PO₄), and potassium phosphate monobasic (KHPO₄) were also from Aldrich Chemical, Saint Louis, MO, USA. Distillate water was used in all the assays. The gamma-ray source was a ⁶⁰Co Gammabeam 651-PT proportioned by the Nuclear Science Institute at National University of México (ICN-UNAM).

2.2. VP Graft on PVC Catheters (PVC-*g*-4VP)

4VP was grafted onto PVC following the process reported in a previous study [28]. The modification was performed using the direct irradiation method, varying the applied doses (10, 15, and 20 kGy) in order to standardize the graft percentages obtained, and the used conditions were a concentration of 40% (*v/v*) 4VP in methanol: water mixture with

30% MeOH, vol.%. The graft percentage was calculated with Equation (1), where W_f is the grafted sample weight (g) and W_i is the initial weight of the sample (g).

$$\text{Graft (\%)} = \frac{(W_f - W_i) \times 100}{W_i} \quad (1)$$

2.3. SBMA Graft on PVC-g-4VP Catheters [(PVC-g-4VP)-g-SBMA]

SBMA grafting was performed on PVC-g-4VP catheters using the oxidative pre-irradiation method. For the synthesis, dry PVC-g-4VP catheters were weighed and placed in glass ampoules, which were then irradiated in the presence of air. A SBMA solution in MeOH:H₂O was added to the irradiated samples, the oxygen in the solution was removed by air displacement with argon bubbling for 10 min, and then the ampoules were sealed and kept at 5 °C for 4 h to then heat in a water bath. Finally, the samples were removed from the ampoules and washed, once with a saturated NaCl solution for 2 h, twice with distilled water for 3 h, and once with ethanol; after which they dried under vacuum oven for 12 h at 30 °C, and the percentage of grafting was calculated following Equation (1). Figure 1 shows the procedure.

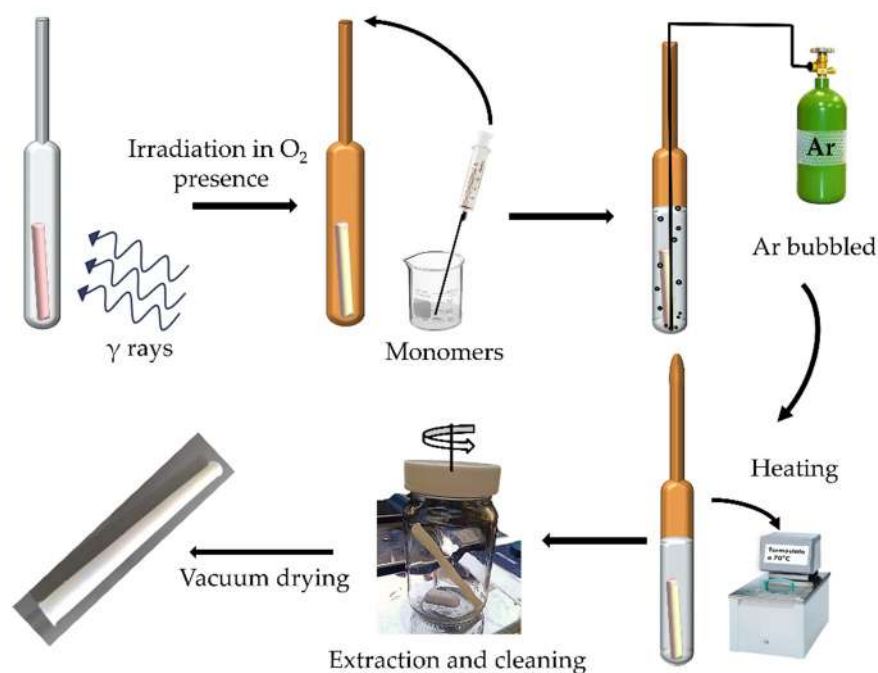


Figure 1. Experimental schematization of oxidative pre-irradiation method.

The effect of the different reaction conditions on the SBMA graft percentage was studied, for which the conditions were varied: the 4VP percentage grafted (4, 12, and 21%), doses (1, 2, 5, 10, 15, and 20 kGy), dose rate (5.4 and 13 kGy/h), SBMA concentration (0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.5, 0.75, and 1 M), MeOH percentage in the MeOH:H₂O mix used as dissolvent (0, 25, 50, 75, and 90%), reaction temperature (40, 50, 60, and 70 °C), and reaction time (6, 8, 12, 18, and 24 h).

2.4. FT-IR and Thermal Characterization

FT-IR spectroscopy analyses for grafting identification were performed on a Perkin-Elmer Spectrum 100 spectrophotometer (Perkin Elmer Cetus Instruments, Norwalk, CT, USA) with 16 scans, in the ATR module, in the range of 4000 to 650 cm⁻¹. In addition, the thermal behavior of the materials was monitored using thermogravimetric analysis (TGA) under a nitrogen atmosphere from 30 to 700 °C at a heating rate of 10 °C/min in a TGA Q50 (TA Instruments, New Castle, DE, USA).

2.5. Wettability

2.5.1. Dynamic Contact Angle

The wettability degree was analyzed by the sessile drop method, using a goniometer DSA 100 Krüss GmbH, Hamburg, Germany. The dynamic contact angle was measured at 0, 2, and 5 min of interaction; all measurements were performed four times.

2.5.2. Swelling

The dry sample was weighed and placed in a glass with the solvent at a controlled temperature; distilled water at 25 °C and phosphate buffer (PBS) at 37 °C. The sample was removed from the beaker and weighed after removing excess solvent; this process was performed every 5 min for the first fifteen minutes and then at 0.5, 1, 2, 4, 6, and 12 h. The swelling percentage was determined using Equation (2), where W_1 is the dry sample weight (g) and W_2 is the swollen sample weight (g); each measurement was made in triplicate.

$$\text{Swelling (\%)} = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{W_1} \quad (2)$$

2.6. pH and Thermo Responsiveness

For the pH responsiveness test, buffer solutions of different pH (2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, and 12) were prepared. The dry sample was weighed and swelled at 25 °C for 2 h in each pH solution. The swelling percentage was calculated with Equation (2). The critical pH and the pH-sensitivity determined the pH responsiveness; the former was estimated as the inflection point in the swelling (%) vs. pH curve; and the latter was calculated with the swelling ratios below and above the critical pH.

On the other hand, for thermo-responsiveness, dry samples were weighed and swelled for 2 h at different temperatures (5, 25, 37, and 50 °C) in water and buffer solutions with pH 4 and 10. The swelling percentage was calculated with Equation (2).

2.7. Protein Adsorption

Around 80 mg of sample were placed in a PBS buffer solution at 37 °C for 2 h, and then the sample was incubated for 2 h in bovine serum albumin (BSA) protein solution in PBS with a concentration of 30 mg/mL, at 37 °C. At the end of this time, the material was washed three times with PBS, and the adsorbed protein was extracted and later quantified using a spectroscopic method.

2.7.1. Protein Extraction

To a sample that was previously incubated in BSA, we added 600 µL of 1% wt. sodium dodecyl sulfate (SDS) solution, then stirred at 130 rpm for 20 min and sonicated for 10 min, and finally vortexed for 30 s; this process was performed three times.

2.7.2. Protein Quantification

The bicinchoninic acid (BCA) method was used for quantification [29,30]. We added 1 mL of the extracted protein sample and 2 mL of working solution in a glass vial; the mixture was gently shaken and allowed to react at 60 °C for 30 min. After this time, the sample was cooled to room temperature and measured by UV-Vis spectroscopy at 556 nm. The quantification was performed using a calibration curve. In all cases, the reference was a 1% wt. SDS solution, to which the process described in Section 2.7.1 was applied. The calibration curve and the preparation of the working solution are in the attached material.

3. Results

3.1. PVC-g-4VP Synthesis

The 4VP grafting was obtained using the direct irradiation method; a study of the reaction conditions on the grafting percentage was reported in previous research [28]. The interaction between PVC and gamma radiation has been widely studied with the conclusion

that two primary reactions are produced: ionization and excitation, which trigger many secondary reactions. The main reactions that occur with PVC radiation exposure are shown in Figure 2; radical (I) is the main product due to the system stability [31]. In the direct irradiation method, the monomer interacts directly with the radicals on the surface and produces grafting.

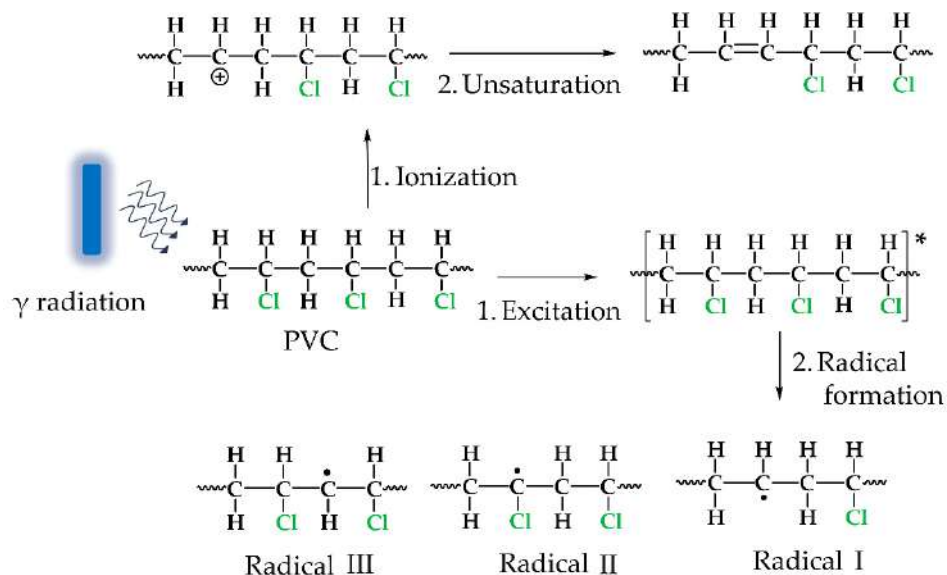


Figure 2. Gamma radiation interaction with PVC, * Excited molecule.

In this work, we investigated the standardization of reaction conditions to obtain 4VP grafting percentages between 2 and 20%, which allowed studying the effect of this grafting percentage on the modification with SBMA and the properties of the material. Figure 3 shows the results obtained, with relative standard deviations of approximately 15%, which are acceptable due to the complexity of the methodology.

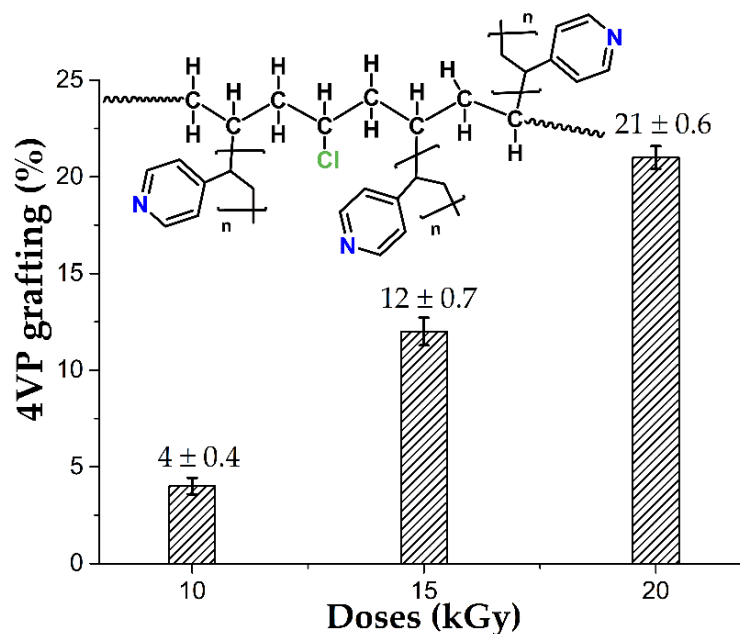


Figure 3. 4VP grafting on PVC catheters to change the irradiation doses. Reported: the mean ± standard error of the mean, *n* = 14.

3.2. SBMA Graft on PVC-g-4VP Catheters [(PVC-g-4VP)-g-SBMA]

Figure 4 shows a schema of the SBMA grafting onto PVC-g-4VP catheters; this synthesis was performed using the oxidative pre-irradiation method, where the dose, dose rate, monomer concentration, solvent, temperature, and reaction time may significantly affect the graft percentage. The 4VP grafting was used to endow the PVC surface with a hydrophilic character, which allowed its interaction with monomeric SBMA.

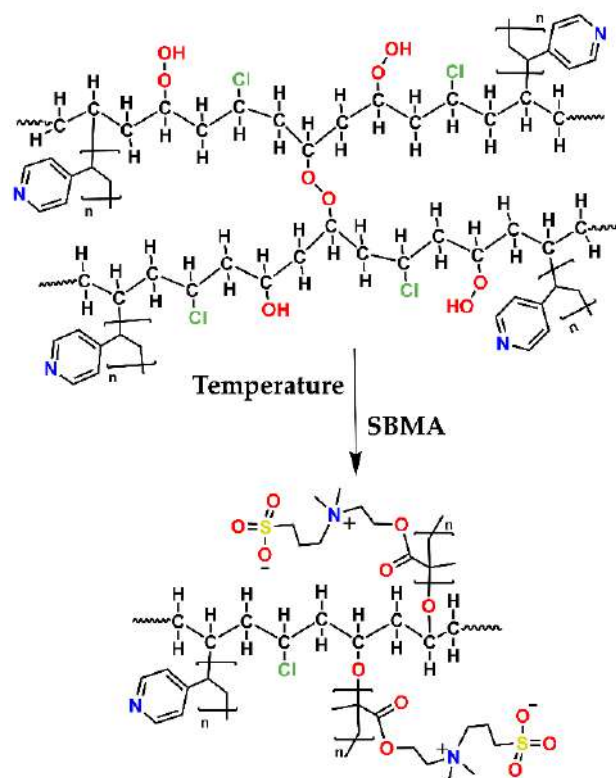


Figure 4. Schematization of the (PVC-g-4VP)-g-SBMA by the oxidative pre-irradiation method.

The SBMA could not graft directly onto the PVC because the PVC hydrophobic nature avoided interaction with the SBMA, which is stabilized by internal electrostatic forces, which favors homopolymer formation. Figure 5a shows the SBMA grafting percentages obtained for PVC catheter grafted with different 4VP amounts (4, 12, and 21%), where we did not observe a relevant change, and thus we decided to work with PVC-g-4VP (4%) catheters in the subsequent analyses.

The absorbed dose is an average of the ionizing radiation energy that the material receives. This parameter determines the number of radicals formed, directly influencing the grafting percentage [32]. In the oxidative pre-irradiation method, oxygen interacts with the radicals produced by gamma radiation (Figure 2), forming peroxide and hydroperoxide bonds that later break with temperature and give rise to a chain reaction to form the graft. The 4VP has a higher radiation resistance than PVC owing to its aromaticity, which suggests that, even in the modified PVC-g-4VP catheter, mainly radical (I) will be formed. The small influence of the 4VP grafting percentage in the SBMA grafting is another indication that radicals were mainly formed on the PVC (Figure 4).

Figure 5b shows the SBMA grafting behavior on a sample of PVC-g-4VP (4%) when irradiated with different doses—0.5, 1, 2, 5, 10, 15, and 20 kGy. A constant behavior was observed, which indicated that, in this dose range, the dose did not have a significant effect on the SBMA graft percentage.

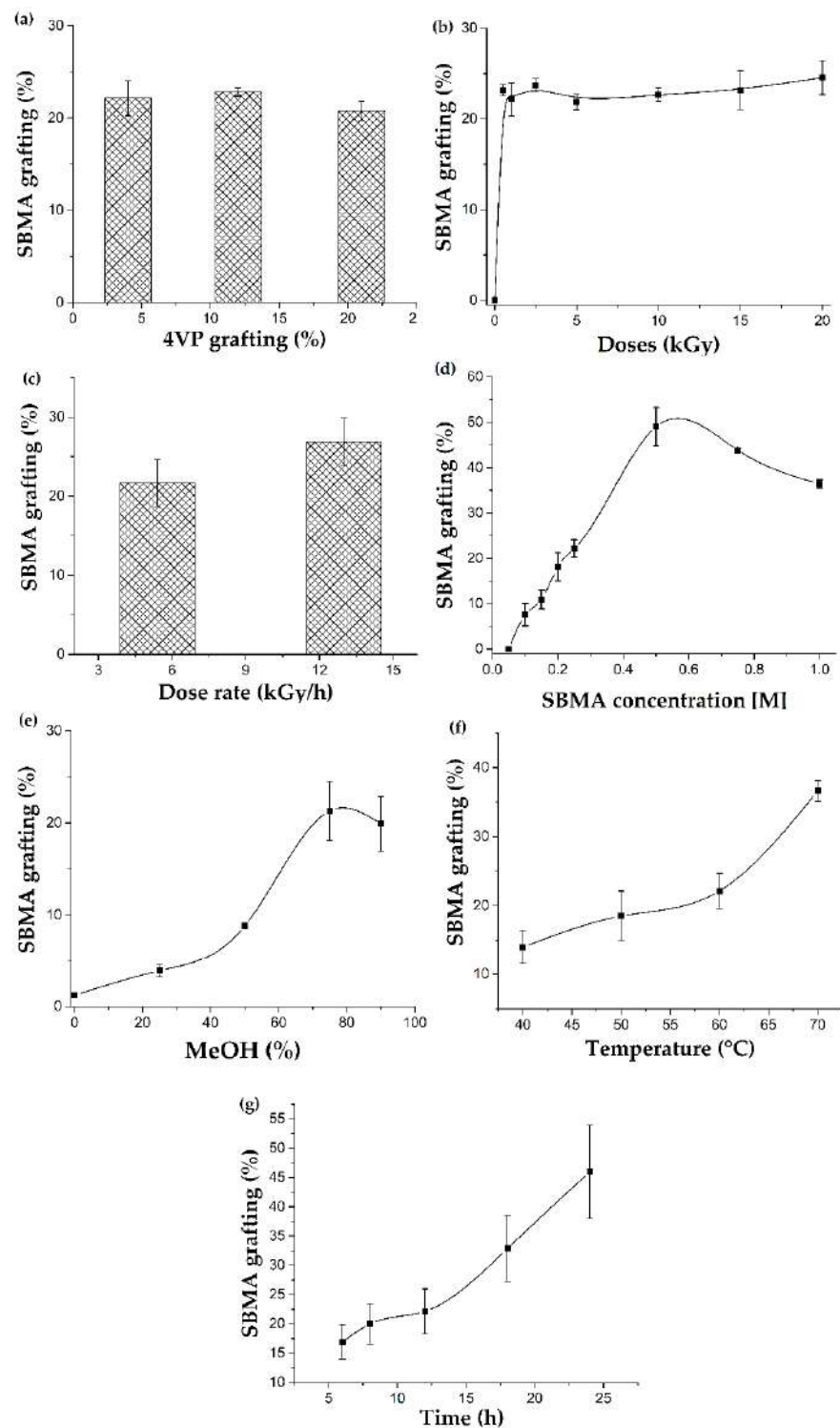


Figure 5. The reaction parameter effects on the SBMA grafting percentage on PVC-g-4VP catheters: (a) 4VP grafting percentage (Conditions: 1 kGy, 0.25 M, 75% MeOH, 60 °C, and 12 h); (b) Doses (Conditions: PVC-g-4VP (4%), 0.25 M, 75% MeOH, 60 °C, and 12 h); (c) Dose rate (Conditions: PVC-g-4VP (4%), 1 kGy, 0.25 M, 75% MeOH, 60 °C, and 12 h); (d) SBMA concentration (Conditions: PVC-g-4VP (4%), 1 kGy, 75% MeOH, 60 °C, and 12 h); (e) MeOH percentage in the solvent mixture (Conditions: PVC-g-4VP (4%), 1 kGy, 0.25 M, 60 °C, and 12 h); (f) Temperature (Conditions: PVC-g-4VP (4%), 1 kGy, 0.25 M, 75% MeOH, and 12 h); and (g) Reaction time (Conditions: PVC-g-4VP (4%), 1 kGy, 0.25 M, 75% MeOH, and 60 °C). Reported: the mean \pm standard error of the mean, $n = 3$.

The dose rate is the dose absorbed by a sample per unit of time. This parameter affects the radical formation rate at the beginning of the reaction, which is very relevant in the direct irradiation method, in which simultaneous formation of the homopolymer and the graft takes place [33]. To determine the effect associated with the dose rate, SBMA was grafted onto PVC-g-4VP (4%), varying only the dose rate at 5.4 and 13 kGy/h. Figure 5c compares the SBMA grafting percentages for these dose rates; the results did not show a significant difference between them, which was confirmed by the t-significance contrast test [34]; see the Supplementary Materials. The results indicated that the dose rate is not a relevant parameter in the SBMA grafting; thus, the grafting will not be affected by the change in the dose rate due to ^{60}Co source attrition.

The monomer concentration influences the diffusion of the monomer on the surface to be grafted and the homopolymer formation since, at high concentrations, the Trommsdorff effect occurs, which favors gel formation instead of grafting. In the case of zwitterionic monomers, their agglomeration occurs even at relatively low concentrations. The SBMA concentration effect on the synthesis of (PVC-g-4VP)-g-SBMA was studied by grafting SBMA onto PVC-g-4VP (4%), Figure 5d shows the results, which presented a bell behavior with the maximum grafting at a concentration of 0.5 M. The 0.25 M SBMA concentration was chosen for analysis since it allows a wide range of grafting.

The solvent was essential to achieve the grafting of SBMA on the PVC-g-4VP (4%) catheters since it must allow for the dissolution of the monomer and for the monomer-surface interaction. Figure 5e shows a graph of the SBMA grafting percentage as a function of the methanol percentage in the solvent that consisted of a mixture of methanol and water. When pure water or low percentages of MeOH were used as the solvent, SBMA grafting did not occur, which was attributed to the monomer stabilization by solvation, which prevents interaction with the surface. The highest MeOH content mixtures (75 and 90%) showed the highest percentage of grafting; however, with 90% MeOH, a complete dissolution of the SBMA was not achieved.

The temperature triggers the homolytic cleavage of the peroxides and hydroperoxides on the surface, leading to grafting formation. Figure 5f shows the SBMA grafting percentages obtained at different temperatures; temperatures below 60 °C showed few differences in the modification degree, while at 70 °C, the grafting percentage significantly increased. Finally, the effect of the reaction time on the SBMA graft percentage is shown in Figure 5g with a proportional increase between the two parameters.

3.3. FT-IR and Thermal Characterization

The grafted catheters were analyzed by infrared spectroscopy (ATR-FTIR) for each grafted polymer characteristic functional group identification, Figure 6. The FT-IR spectrum of the pristine PVC catheter showed bands at 2992 cm^{-1} that correspond to C-H stretching of $-\text{CH}_2$ groups and at 1267 cm^{-1} of the C-H bending, and bands at 1745 and 1459 cm^{-1} characteristic of the plasticizer.

The PVC-g-4VP spectrum, apart from the previous bands, showed C=C stretching signals at 1597 and 1557 cm^{-1} and a band at 830 cm^{-1} from C-H bending out of the plane of the aromatic amine. Finally, the (PVC-g-4VP)-g-SBMA spectrum showed, in addition to all the above bands, bands at 1039 and 1265 cm^{-1} corresponding to the symmetric and asymmetric stretching of the sulfonate group ($-\text{SO}_3^-$), a band from the stretching of the carboxylic group at 1736 cm^{-1} , and at 1440 cm^{-1} from the quaternary amine [35]. Higher SBMA grafted percentages presented the same bands but were more pronounced.

TGA thermic analysis showed that the PVC matrix determines the thermal stability of PVC-g-4VP and (PVC-g-4VP)-g-SBMA catheters since they lost 10% of weight at approximately the same temperature ($238 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$). The 4VP and SBMA homopolymers showed higher stability with losses of 10% in weight at 362 and $310\text{ }^\circ\text{C}$, respectively. (PVC-g-4VP)-g-SBMA catheters presented three decomposition temperatures. The first was at $266\text{ }^\circ\text{C}$ due to PVC dehydrochlorination [36], which occurred at temperatures that were close in both PVC and PVC-g-4VP; the second was at $328\text{ }^\circ\text{C}$, which agrees with the first decomposition

of polySBMA at 341 °C (due to the degradation of the quaternary anima [37]) and the second decomposition of PVC at 288 °C; and the third was at 451 °C, which corresponds to the carbon chain decomposition. Figure 7 shows the thermograms of each sample.

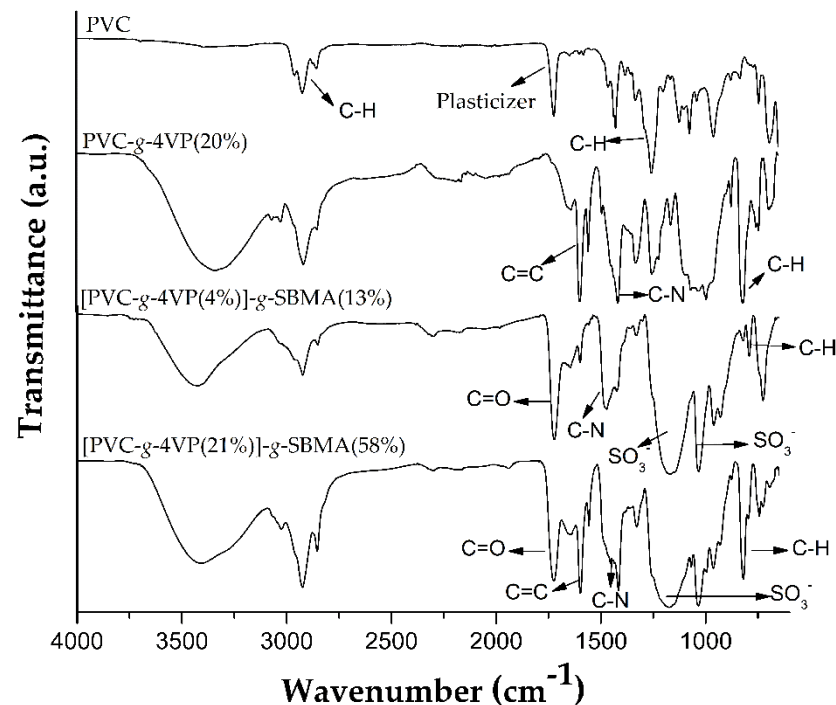


Figure 6. FT-IR spectrums.

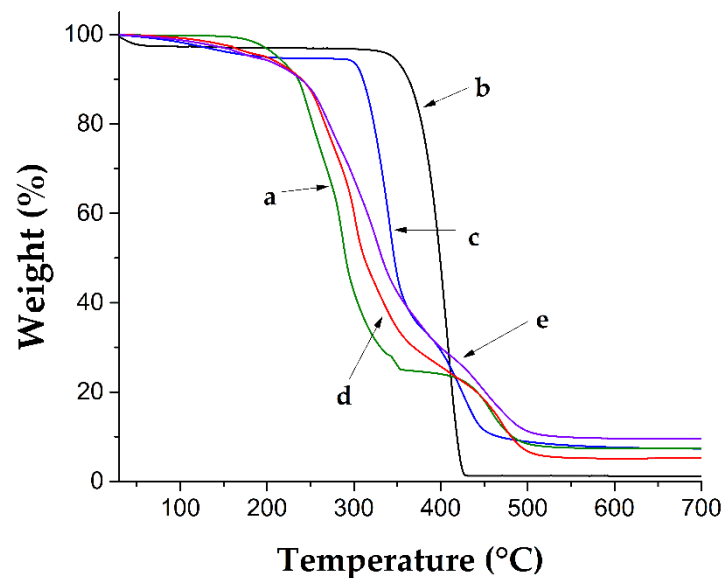


Figure 7. Thermograms (a) PVC, (b) 4VP homopolymer, (c) SBMA homopolymer, (d) PVC-g-4VP (12%), and (e) [PVC-g-4VP (12%)]-g-SBMA (25%).

3.4. Wettability

3.4.1. Dynamic Contact Angle

The contact angle allows measuring the interaction between a liquid and a solid in a three-phase system (solid, liquid, and gas), depending on the angle formed by the liquid into contact with the solid surface. When a surface strongly attracts liquid molecules, the liquid drop spreads over it, leading to contact angles of less than 90°; on the contrary, if the cohesive forces are higher, the angle will have a value greater than 90° [38]. Figure 8 shows

the contact angles with water for the samples of (PVC-*g*-4VP)-*g*-SBMA and compared with PVC-*g*-4VP and PVC.

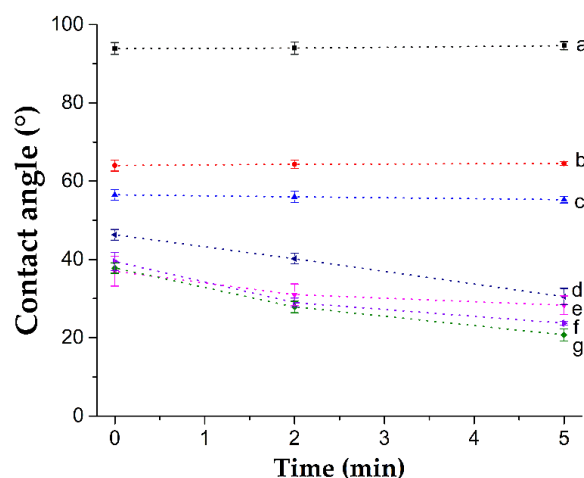


Figure 8. Dynamic contact angles for catheters (a) PVC, (b) PVC-*g*-4VP (4%), (c) PVC-*g*-4VP (12%), (d) [PVC-*g*-4VP (12%)]-*g*-SBMA (12%), (e) [PVC-*g*-4VP (4%)]-*g*-SBMA (13%), (f) [PVC-*g*-4VP (12%)]-*g*-SBMA (25%), and (g) [PVC-*g*-4VP (4%)]-*g*-SBMA (23%). Reported: the mean \pm standard error of the mean, $n = 4$.

The pristine PVC is a hydrophobic material with a contact angle greater than 90° , around 100° ; 4VP modified PVC angles decrease proportionally to the modification to 55° for 12 and 65° for 4%; finally, the second graft with SBMA showed the angles close to 30° for 10% graft and 20° for 23% graft at 5 min of interaction. The PVC and PVC-*g*-4VP contact angles remained constant, while the SBMA grafted catheters showed contact angles that decreased with time until the water drop adsorbed at 10 min.

3.4.2. Swelling

Swelling in water is an indication of the hydrophilicity of the material. Figure 9a,b shows the swelling profiles for the (PVC-*g*-4VP)-*g*-SBMA samples based on PVC-*g*-4VP (4%) and PVC-*g*-4VP (12%), respectively, and different contents of SBMA and their comparison with the pristine PVC swelling profile. In both cases, unlike pristine PVC, the modified materials had a greater water affinity and, therefore, presented a higher swelling percentage. The hydrophilicity was significantly higher for the SBMA grafted samples, where the swelling was twice that shown by 4VP-only grafted catheters. Comparing the catheters with the same SBMA content but different 4VP contents (4 and 12%), there were no relevant differences among the swellings, which indicates that the SBMA percentage dominated the interaction water/material. For all samples, the limit of the swelling time was 2 h.

On the other hand, Figure 9c,d shows the swelling profiles in PBS buffer solution for [PVC-*g*-4VP (4%)]-*g*-SBMA and [(PVC-*g*-4VP (12%)]-*g*-SBMA catheters. PBS is a solution based on phosphate salts, which allows a constant pH at 7.4 and ionic strength of 0.14 M, which are conditions similar to human blood. PBS solution is widely used to evaluate materials with biomedical applications. The assays were performed at 37°C to analyze the material behavior in conditions that are similar to physiological. As in the case of water, a significant increase in the swelling percentage for SBMA grafted materials was observed, and the SBMA percentage determined the material behavior.

Figure 9c shows that the [PVC-*g*-4VP (4%)]-*g*-SBMA samples with 13 and 23% of SBMA grafting presented a singular behavior, with a maximum swelling at 30 min that later stabilized at 2 h, which was due to an ionic effect; in the case of samples with 12% 4VP, this percentage allowed higher stabilization. Finally, no significant difference was observed when comparing the swelling in water and PBS.

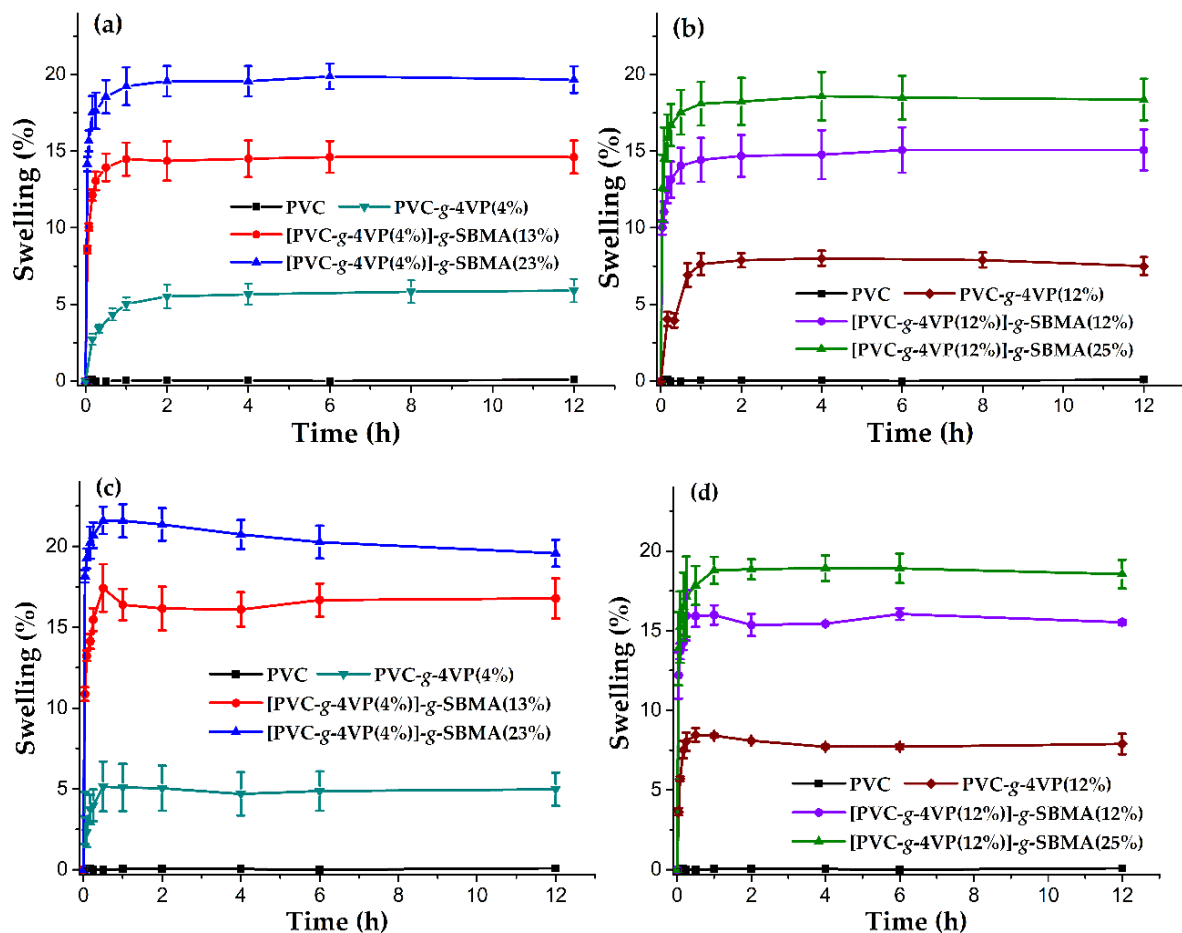


Figure 9. Swelling profiles: (a,b) in water and (c,d) in PBS solution. Reported: mean \pm standard error of the mean, $n = 3$.

3.5. pH Responsiveness

The pH responsiveness is a characteristic of polymers whose structure contains ionizable groups, which present charges depending on the pH of the medium; when these groups ionize, a repulsion force is generated, and the materials attract more water to stabilize, thus, increasing the swelling. In this case, poly(4VP) is a pH-responsive polymer whose critical pH is around 5.4 [39,40]; 4VP protonates at a pH less than the critical pH, and the swelling increases. Figure 10a,b shows the swelling curves as a function of pH for the PVC, PVC-g-4VP, and PVC-g-4VP-g-SBMA catheters with different graft percentages.

All 4VP grafting materials showed pH-responsive behavior with a critical pH of around 7. The test showed that SBMA grafting did not significantly alter the critical pH of the materials, and the 4VP that was covalently bound to PVC displaced its critical pH, varying from 6.6 to 7 in the different samples. In addition, the pH sensitivity remained constant for all the materials, in the range of 1.43 ± 0.08 . However, SBMA grafting considerably increased the swelling concerning the base PVC-g-4VP.

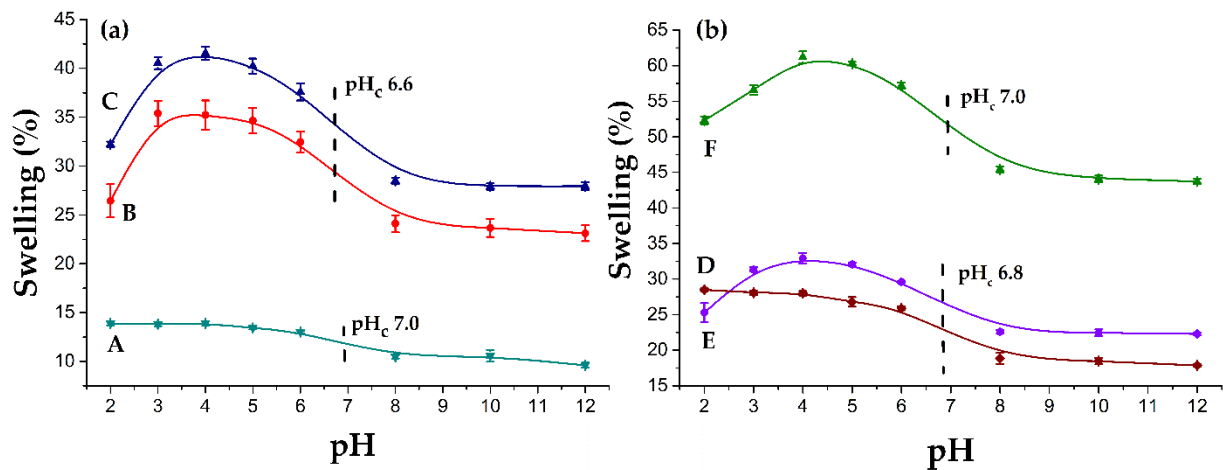


Figure 10. pH responsiveness profiles: (a) A: PVC-g-4VP (4%), B: [PVC-g-4VP (4%)]-g-SBMA (13%), and C: [PVC-g-4VP (4%)]-g-SBMA (23%) and (b) D: PVC-g-4VP (12%), E: [PVC-g-4VP (12%)]-g-SBMA (12%), and F: [PVC-g-4VP (12%)]-g-SBMA (25%). Reported: the mean \pm standard error of the mean, $n = 3$.

The temperature responsiveness test showed that none of the materials had sensitivity to the temperature in water or buffer solution at pH 4. On the other hand, the PVC grafted with 4 and 12% of 4VP showed a decrease in swelling when the temperature changed from 5 to 37 °C at pH 10; this behavior corresponds to materials with a low critical solution temperature (LCST) [24]; Figure 11 shows the results. However, grafted catheters (PVC-g-4VP)-g-SBMA did not present this property due to the SBMA influence.

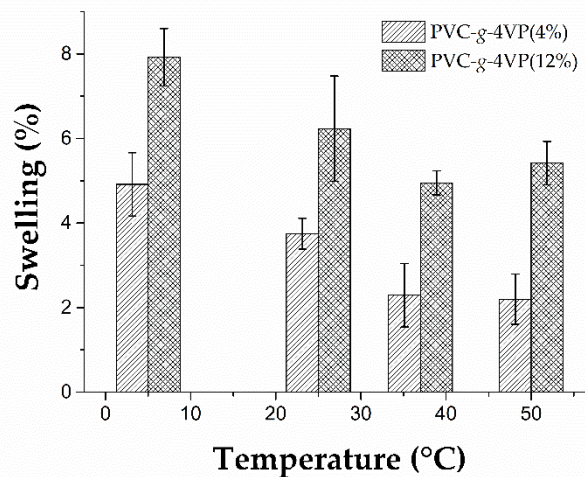


Figure 11. The thermo-responsiveness test. Reported: the mean \pm standard error of the mean, $n = 3$.

3.6. Protein Adsorption

Figure 12 shows the amount of BSA protein adsorbed on the surface when interacting with a solution that contains the BSA plasma concentration (30 mg/mL). The pristine PVC adsorbed around 5.14 $\mu\text{g BSA}/\text{cm}^2$; this protein adsorption decreased 35 and 58% for the samples modified with 4VP grafting at 4 and 12%; however, the sample with 21% grafting of 4VP showed an increase of 12% in the protein adsorption.

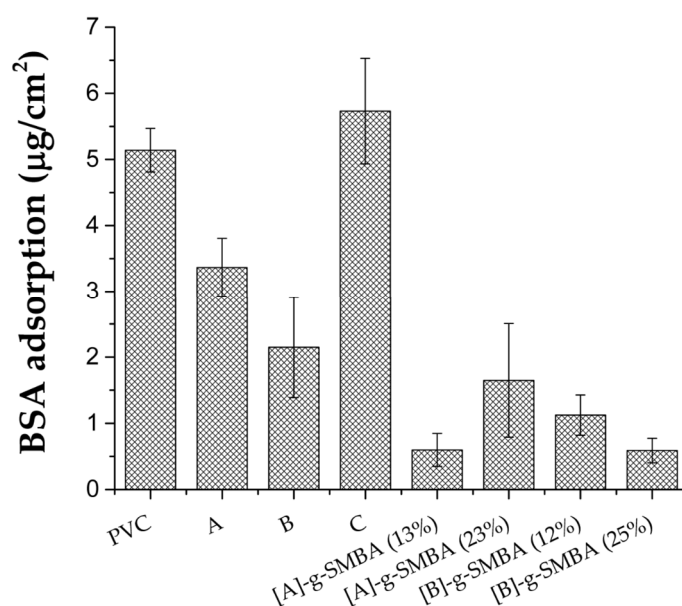


Figure 12. BSA adsorption on PVC catheters grafted with 4VP and SBMA; [A]: PVC-*g*-4VP (4%), [B]: PVC-*g*-4VP (12%), and [C]: PVC-*g*-4VP (21%). Reported: the mean \pm standard error of the mean, $n = 3$.

On the other hand, the materials modified with 4VP and SBMA showed a significant decrease in the amount of protein adsorbed at 88, 68, 78, and 89% for [PVC-*g*-4VP (4%)]-*g*-SBMA (13%), [PVC-*g*-4VP (4%)]-*g*-SBMA (23%), [PVC-*g*-4VP (12%)]-*g*-SBMA (12%), and [PVC-*g*-4VP (12%)]-*g*-SBMA (25%) catheters, respectively. The results showed that the zwitterionic polymer grafted by this method maintained its antifouling character and provided the modified surfaces with an antifouling capacity for BSA protein, which is a promising result in the development of antimicrobial and hemocompatible surfaces.

4. Discussion

PolySBMA has been shown to have high functionality as an antifouling coating. Nevertheless, polySBMA covalent grafting on surfaces is limited since polySBMA is insoluble in virtually all solvents, except for aqueous electrolyte solutions and polar protic solvents, such as trifluoroethanol and hexafluoroisopropanol, which are typically not compatible with the conventional polymerization methods. Gamma radiation is a type of high-energy ionizing radiation, which excites the matter and gives rise to the formation of free radicals. In the oxidative pre-irradiation method, radicals are generated on the surface, which favors grafting.

This method allowed SBMA grafting onto PVC surfaces in the range of 10 to 50% using methanol:water as the dissolvent. This grafting degree was higher than those obtained by other methods, such as plasma modification [41] or electrochemical surface-initiated atomic transfer radical polymerization [42,43]. In addition, the grafting was conducted at low temperatures and without external agents, such as catalysts or initiators. The grafted materials acquired the antifouling activity of the zwitterionic polymer, reducing protein adsorption on the surface by up to 89%. These materials are promising for the manufacture of catheters with longer useful life and less prone to bacterial adhesion than the currently available.

Figure 13 shows the main characteristics of the synthesized grafted materials: swelling in body conditions (pH 7.4 and T 37 °C), contact angle, pH sensitivity, and protein adhesion. The SBMA grafted materials presented similar characteristics depending on the percentage of grafting, with the materials with approximately 23% SBMA being the ones that showed less protein absorption and higher hydrophilicity. The [PVC-*g*-4VP (4%)]-*g*-SBMA (13%)

catheters represent the best option as antifouling materials since they demonstrated less protein adsorption and a lower grafted percentage.

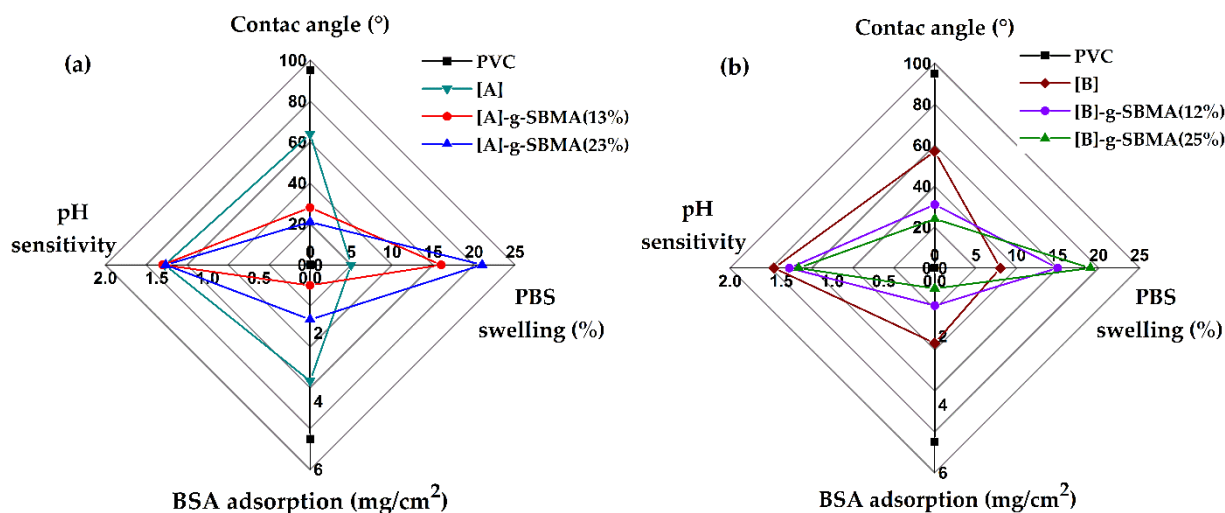


Figure 13. The main properties of SBMA-grafted PVC catheters: (a) comparison of the 4% 4VP grafted catheters, [A]: PVC-*g*-4VP (4%) and (b) comparison of the 12% 4VP grafted catheters, [B]: PVC-*g*-4VP (12%).

Furthermore, they have the potential to form an antifouling system with an antimicrobial effect due to the release of active agents, such as antibiotics or antiseptics, since they showed a high pH sensitivity, which could favor the release of an active agent in response to changes in the external pH. Currently, most preventing microbial infection products are based on the release of active agents, such as silver and antibiotics, adsorbed or impregnated in the materials [44,45]. Therefore, materials that can achieve a combination of antimicrobial and antifouling properties to reinforce their prophylactic potential or even help in infection treatments are of great interest.

5. Conclusions

SBMA was successfully grafted onto PVC-*g*-4VP catheters using the oxidative pre-irradiation method with a grafting range of 10% to 50%. The results showed that the SBMA concentration, MeOH percentage in the solvent, temperature, and reaction time had the most significant influences on the grafting percentage. In addition, the 4VP modification was essential to obtain zwitterionic grafts. Of the synthesized materials, the [PVC-*g*-4VP (4%)]-*g*-SBMA (13%) catheters presented the highest antifouling effects, decreasing the BSA adsorption on the surface by 88% regarding pristine PVC. Additionally, they showed high hydrophilicity, with a contact angle of 28° and PBS swelling of 16% as well as pH-responsive behavior. These materials have the potential for use in systems that are resistant to biofouling and could also act as carriers of antimicrobial agents for biomedical applications.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/polym14061185/s1>, Figure S1. Calibration curve to BSA quantification (Abs 556 nm); Table S1. T-significance contrast test.

Author Contributions: Conceptualization, L.D.-P. and E.B.; methodology, L.D.-P.; formal analysis, L.D.-P.; investigation, L.D.-P.; resources, E.B.; writing—original draft preparation, L.D.-P.; writing—review and editing, E.B.; visualization, L.D.-P.; supervision, E.B.; project administration, E.B.; funding acquisition, E.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by the Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA), Universidad Nacional Autónoma de México under Grant IN202320.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: L. Duarte Peña (887494) acknowledges CONACyT for the doctoral scholarship. This work was supported by DGAPA-UNAM [Grant IN202320] (Mexico). B. Leal from ICN-UNAM is acknowledged for his technical assistance.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Floyd, K.A.; Eberly, A.R.; Hadjifrangiskou, M. 3-Adhesion of bacteria to surfaces and biofilm formation on medical devices. In *Biofilms and Implantable Medical Devices*; Deng, Y., Lv, W., Eds.; Woodhead Publishing: Amsterdam, The Netherlands, 2017; pp. 47–95, ISBN 978-0-08-100382-4.
2. Lovetri, K.; Gawande, P.; Yakandawala, N.; Madhyastha, S. Biofouling and anti-fouling of medical devices. In *Biofouling Types, Impact and Anti-Fouling*; Chan, J., Wong, S., Eds.; Nova Science Publishers, Inc.: Hauppauge, NY, USA, 2010; pp. 105–128, ISBN 978-1-60876-501-0.
3. Zhang, Y.; Liu, Y.; Ren, B.; Zhang, D.; Xie, S.; Chang, Y.; Yang, J.; Wu, J.; Xu, L.; Zheng, J. Fundamentals and Applications of Zwitterionic Antifouling Polymers. *J. Phys. D. Appl. Phys.* **2019**, *52*, 403001. [[CrossRef](#)]
4. Khan, H.A.; Baig, F.K.; Mehboob, R. Nosocomial Infections: Epidemiology, Prevention, Control and Surveillance. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2017**, *7*, 478–482. [[CrossRef](#)]
5. Percival, S.L.; Suleman, L.; Vuotto, C.; Donelli, G. Healthcare-Associated Infections, Medical Devices and Biofilms: Risk, Tolerance and Control. *J. Med. Microbiol.* **2015**, *64*, 323–334. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Zander, Z.K.; Becker, M.L. Antimicrobial and Antifouling Strategies for Polymeric Medical Devices. *ACS Macro Lett.* **2018**, *7*, 16–25. [[CrossRef](#)]
7. Sahin, F.; Celik, N.; Ceylan, A.; Pekdemir, S.; Ruzi, M.; Onses, M.S. Antifouling superhydrophobic surfaces with bactericidal and SERS activity. *Chem. Eng. J.* **2022**, *431*, 133445. [[CrossRef](#)]
8. Peng, J.; Su, Y.; Chen, W.; Zhao, X.; Jiang, Z.; Dong, Y.; Zhang, Y.; Liu, J.; Fan, X. Antifouling Membranes Prepared by a Solvent-Free Approach via Bulk Polymerization of 2-Hydroxyethyl Methacrylate. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2013**, *52*, 13137–13145. [[CrossRef](#)]
9. Mrabet, B.; Nguyen, M.N.; Majbri, A.; Chergui, S.; Turmine, M.; Bakhrouf, A.; Chehimi, M. Anti-fouling poly(2-hydroxyethyl methacrylate) surface coatings with specific bacteria recognition capabilities. *Surf. Sci.-Surf. SCI* **2009**, *603*, 2422–2429. [[CrossRef](#)]
10. Chen, Q.; Yu, S.; Zhang, D.; Zhang, W.; Zhang, H.; Zou, J.; Mao, Z.; Yuan, Y.; Gao, C.; Liu, R. Impact of Antifouling PEG Layer on the Performance of Functional Peptides in Regulating Cell Behaviors. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 16772–16780. [[CrossRef](#)]
11. Chen, S.; Li, L.; Zhao, C.; Zheng, J. Surface Hydration: Principles and Applications Toward Low-Fouling/Nonfouling Biomaterials. *Polymer* **2010**, *51*, 5283–5293. [[CrossRef](#)]
12. Blackman, L.D.; Gunatillake, P.A.; Cass, P.; Locock, K.E.S. An Introduction To Zwitterionic Polymer Behavior and Applications in Solution and at Surfaces. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48*, 757–770. [[CrossRef](#)]
13. Laschewsky, A. Structures and Synthesis of Zwitterionic Polymers. *Polymers* **2014**, *6*, 1544–1601. [[CrossRef](#)]
14. Jiang, S.; Cao, Z. Ultralow-Fouling, Functionalizable, and Hydrolyzable Zwitterionic Materials and Their Derivatives for Biological Applications. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 920–932. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Lin, W.; Klein, J. Control of Surface Forces through Hydrated Boundary Layers. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2019**, *44*, 94–106. [[CrossRef](#)]
16. Israelachvili, J.N. Chapter 14-Electrostatic forces between surfaces in liquids. In *Intermolecular and Surface Forces*, 3rd ed.; Israelachvili, J.N., Ed.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 2011; pp. 291–340, ISBN 978-0-12-375182-9.
17. Chang, Y.; Chang, W.-J.; Shih, Y.-J.; Wei, T.-C.; Hsiue, G.-H. Zwitterionic Sulfobetaine-Grafted Poly(Vinylidene Fluoride) Membrane with Highly Effective Blood Compatibility via Atmospheric Plasma-Induced Surface Copolymerization. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3*, 1228–1237. [[CrossRef](#)]
18. Chiao, Y.-H.; Chen, S.-T.; Sivakumar, M.; Ang, M.B.M.Y.; Patra, T.; Almodovar, J.; Wickramasinghe, S.R.; Hung, W.-S.; Lai, J.-Y. Zwitterionic Polymer Brush Grafted on Polyvinylidene Difluoride Membrane Promoting Enhanced Ultrafiltration Performance with Augmented Antifouling Property. *Polymer* **2020**, *12*, 1303. [[CrossRef](#)]
19. Fan, Y.-J.; Pham, M.T.; Huang, C.-J. Development of Antimicrobial and Antifouling Universal Coating via Rapid Deposition of Polydopamine and Zwitterionization. *Langmuir* **2019**, *35*, 1642–1651. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Yang, W.; Sundaram, H.S.; Ella, J.-R.; He, N.; Jiang, S. Low-Fouling Electrospun PLLA Films Modified with Zwitterionic Poly(Sulfobetaine Methacrylate)-Catechol Conjugates. *Acta Biomater.* **2016**, *40*, 92–99. [[CrossRef](#)]
21. Wang, P.; Meng, J.; Xu, M.; Yuan, T.; Yang, N.; Sun, T.; Zhang, Y.; Feng, X.; Cheng, B. A Simple but Efficient Zwitterionization Method towards Cellulose Membrane with Superior Antifouling Property and Biocompatibility. *J. Memb. Sci.* **2015**, *492*, 547–558. [[CrossRef](#)]
22. Wei, M.; Gao, Y.; Li, X.; Serpe, M.J. Stimuli-Responsive Polymers and Their Applications. *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 127–143. [[CrossRef](#)]

23. Ortega, A.; Bucio, E.; Burillo, G. New Interpenetrating Polymer Networks of N-Isopropylacrylamide/N-Acryloxysuccinimide: Synthesis and characterization. *Polym. Bull.* **2008**, *60*, 515–524. [[CrossRef](#)]
24. Raczowska, J.; Stetsyshyn, Y.; Awsiuk, K.; Zemła, J.; Kostruba, A.; Harhay, K.; Marzec, M.; Bernasik, A.; Lishchynskiy, O.; Ohar, H.; et al. Temperature-Responsive Properties of Poly(4-Vinylpyridine) Coatings: Influence of Temperature on the Wettability, Morphology, and Protein Adsorption. *RSC Adv.* **2016**, *6*, 87469–87477. [[CrossRef](#)]
25. Rabe, M.; Verdes, D.; Seeger, S. Understanding Protein Adsorption Phenomena at Solid Surfaces. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2011**, *162*, 87–106. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Sin, M.C.; Chen, S.H.; Chang, Y. Hemocompatibility of Zwitterionic Interfaces and Membranes. *Polym. J.* **2014**, *46*, 436–443. [[CrossRef](#)]
27. Roach, P.; Farrar, D.; Perry, C.C. Interpretation of Protein Adsorption: Surface-Induced Conformational Changes. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8168–8173. [[CrossRef](#)]
28. Duarte-Peña, L.; López-Saucedo, F.; Concheiro, A.; Alvarez-Lorenzo, C.; Bucio, E. Modification of Indwelling PVC Catheters by Ionizing Radiation with Temperature- and pH-Responsive Polymers for Antibiotic Delivery. *Radiat. Phys. Chem.* **2022**, *193*, 110005. [[CrossRef](#)]
29. Shen, C.-H. Quantification and Analysis of Proteins. In *Diagnostic Molecular Biology*; Shen, C.-H., Ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2019; pp. 187–214, ISBN 978-0-12-802823-0.
30. He, F. BCA (Bicinchoninic Acid) Protein Assay. *Bio-Protocol* **2011**, *1*, e44. [[CrossRef](#)]
31. Miller, A.A. Radiation Chemistry of Polyvinyl Chloride. *J. Phys. Chem.* **1959**, *63*, 1755–1759. [[CrossRef](#)]
32. Pino-Ramos, V.H.; Ramos-Ballesteros, A.; López-Saucedo, F.; López-Barriguete, J.E.; Varca, G.H.C.; Bucio, E. Radiation Grafting for the Functionalization and Development of Smart Polymeric Materials. *Top. Curr. Chem.* **2016**, *374*, 1–28. [[CrossRef](#)]
33. Dispenza, C.; Alessi, S.; Spadaro, J. Radiation processing of polymers in aqueous media. In *Applications of Ionizing Radiation in Materials Processing*; Institute of Nuclear Chemistry and Technology: Warszawa, Poland, 2017; pp. 291–326.
34. Miller, J.N.; Miller, J.C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*; Pearson/Prentice Hall: London, UK, 2005; ISBN 9780131291928.
35. Shafi, H.Z.; Wang, M.; Gleason, K.K.; Khan, Z. Synthesis of Surface-Anchored Stable Zwitterionic Films for Inhibition of Biofouling. *Mater. Chem. Phys.* **2020**, *239*, 121971. [[CrossRef](#)]
36. Lucio, D.S.V.; Rivera-Armenta, J.L.; Rivas-Orta, V.; Díaz-Zavala, N.P.; Páramo-García, U.; Rivas, N.V.G.; Cinco, M.Y.C. Manufacturing of Composites from Chicken Feathers and Polyvinyl Chloride (PVC). *Handb. Compos. Renew. Mater.* **2017**, *1–8*, 159–174. [[CrossRef](#)]
37. Ibrahim, G.P.S.; Isloor, A.M.; Inamuddin, Asiri, A.M.; Ismail, N.; Ismail, A.F.; Ashraf, G.M. Novel, One-Step Synthesis of Zwitterionic Polymer Nanoparticles via Distillation-Precipitation Polymerization and Its Application for Dye Removal Membrane. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 15889. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Israelachvili, J.N. 10-Unifying concepts in intermolecular and interparticle forces. In *Intermolecular and Surface Forces*, 3rd ed.; Israelachvili, J.N., Ed.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 2011; pp. 191–204, ISBN 978-0-12-375182-9.
39. Kan, K.H.M.; Li, J.; Wijesekera, K.; Cranston, E.D. Polymer-Grafted Cellulose Nanocrystals as pH-Responsive Reversible Flocculants. *Biomacromolecules* **2013**, *14*, 3130–3139. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Rizwan, M.; Yahya, R.; Hassan, A.; Yar, M.; Azzahari, A.D.; Selvanathan, V.; Sonsudin, F.; Abouloula, C.N. pH Sensitive Hydrogels in Drug Delivery: Brief History, Properties, Swelling, and Release Mechanism, Material Selection and Applications. *Polymer* **2017**, *9*, 137. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Han, L.; Tan, Y.Z.; Xu, C.; Xiao, T.; Trinh, T.A.; Chew, J.W. Zwitterionic Grafting of Sulfobetaine Methacrylate (SBMA) on Hydrophobic PVDF Membranes for Enhanced Anti-Fouling and Anti-Wetting in the Membrane Distillation of Oil Emulsions. *J. Memb. Sci.* **2019**, *588*, 117196. [[CrossRef](#)]
42. Zhao, W.; Ye, Q.; Hu, H.; Wang, X.; Zhou, F. Grafting Zwitterionic Polymer Brushes via Electrochemical Surface-Initiated Atomic-Transfer Radical Polymerization for Anti-Fouling Applications. *J. Mater. Chem. B* **2014**, *2*, 5352–5357. [[CrossRef](#)]
43. Guo, Y.-S.; Mi, Y.-F.; Ji, Y.-L.; An, Q.-F.; Gao, C.-J. One-Step Surface Grafting Method for Preparing Zwitterionic Nanofiltration Membrane via in Situ Introduction of Initiator in Interfacial Polymerization. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2019**, *1*, 1022–1033. [[CrossRef](#)]
44. Harijan, M.; Singh, M. Zwitterionic Polymers in Drug Delivery: A Review. *J. Mol. Recognit.* **2022**, *35*, e2944. [[CrossRef](#)]
45. Liu, P.; Xu, G.; Pranantyo, D.; Xu, L.Q.; Neoh, K.-G.; Kang, E.-T. pH-Sensitive Zwitterionic Polymer as an Antimicrobial Agent with Effective Bacterial Targeting. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **2018**, *4*, 40–46. [[CrossRef](#)]