

Nouveaux polymères, traitements de surface, matériaux bioactifs: intérêts pour les dispositifs d'accès vasculaire

C. Baquey

Unité de recherche « Biomatériaux et réparation tissulaire », INSERM U443, Université Victor Segalen, Bordeaux

Résumé • Summary

Les complications induites par les sites d'accès vasculaires chez les patients dialysés sont dues pour une large part au déficit relatif de biocompatibilité et d'hémocompatibilité des matériaux utilisés, et aux phénomènes infectieux susceptibles d'être induits par ces dispositifs. De nouvelles formulations des polymères mis en œuvre, leur fonctionnalisation en vue de leur conférer une spécificité d'interaction avec les acteurs moléculaires et cellulaires responsables des insuffisances relevées plus haut, ou avec les germes infectieux, laissent cependant espérer une amélioration de la situation sous réserve que les efforts industriels indispensables pour que s'opèrent les transferts de technologie nécessaires soient produits.

Mots clés: Accès vasculaire – Hémocompatibilité – Adhésion bactérienne – Matériaux bioactifs.

Complications associated with hemodialysis vascular access are mainly due to a relative lack of biocompatibility and hemocompatibility of the materials used for the making of these devices, and to infection phenomena which may be induced by these devices. New compositions which can be processed into polymers, and a functionalisation of the latter aimed at endowing them with a specific ability to interact with molecular and cellular actors involved in the already mentioned lack of biocompatibility on the one hand, and with infectious pathogens on the other, open the way to some improvement of the situation. Let us hope that device manufacturers will make sufficient efforts in order to see the technology transfers undertaken and completed.

Key words: Vascular access – Hemocompatibility – bacterial adhesion – bioactive materials.

■ Introduction

Les complications induites par les sites d'accès vasculaires représentent l'une des causes les plus importantes de morbidité chez les patients dialysés dont l'incidence financière annuelle excède le milliard de dollars aux Etats-Unis. Feldman et coll.,¹ évoquent la forte prévalence des complications associées à l'usage des cathéters veineux centraux. Polaschegg et coll.² relèvent leur propension à la thrombose et à l'infection, et le risque d'embolie gazeuse auquel ils exposent le patient. Les chambres d'infusion (ou de prélèvement) implantables sont également susceptibles d'induire une thrombose ou le développement de phénomène infectieux. Comme tout dispositif médical implanté au sein de tissus vivants, les matériels utilisés se doivent d'être biocompatibles. Appelés à travailler au contact du sang ils doivent en outre être hémocompatibles, cette qualité étant essentielle dans le cas qui nous intéresse ici puisqu'elle permet de réduire le risque de thrombose. Enfin, ces systèmes qui sont susceptibles d'établir de manière transitoire ou permanente, une communication entre un espace septique et un espace normalement aseptique, doivent manifester une résistance particulièrement forte vis-à-vis des phénomènes infectieux. Le cahier des charges n'est à l'évidence pas parfaitement satisfait par les dispositifs actuellement utilisés, mais l'amélioration de la formulation des matériaux utilisés en vue d'éviter qu'ils ne libèrent in vivo des composés toxiques, et une fonctionnalisation judicieuse

conçue de leur surface, constituent déjà des possibilités ouvertes aux fabricants pour produire des dispositifs plus proches de l'idéal visé.

Après un bref rappel de la définition et de quelques déterminants de la biocompatibilité, cette note présentera quelques-unes des stratégies envisageables pour la mise au point de matériaux hémocompatibles et/ou dotés de propriétés prophylactiques vis-à-vis de l'infection.

■ La biocompatibilité: définition, déterminants

De manière générale la biocompatibilité d'un matériau est définie comme sa capacité à induire une réponse appropriée de l'hôte dans une application spécifique.³ Cette définition souligne le caractère qualitatif et relatif de cette caractéristique des biomatériaux, dépendante d'une multiplicité de paramètres objectifs (nature, structure chimique, morphologie superficielle, énergie libre de surface, etc.) et de paramètres plus subjectifs (site d'implantation, durée d'implantation ou de confrontation, pathologie du receveur, art chirurgical, etc.).

Il est habituel de distinguer au sein des critères de biocompatibilité ceux qui relèvent de la biocompatibilité générale, tels que l'absence de toxicité directe ou indirecte, de ceux qui relèvent de

la biocompatibilité spécifique et fonctionnelle dont la nature et l'importance dépendent du site et de la durée d'implantation du dispositif médical à la constitution duquel le ou les matériaux considérés participent, et de la fonction attendue de ce dispositif. S'agissant d'accès veineux centraux pour l'hémodialyse, les critères majeurs à prendre en compte à cet égard sont l'hémocompatibilité des matériaux utilisés et leur capacité à s'opposer à l'infection. C'est donc du premier de ces critères et dans une moindre mesure du second dont il sera question ici en rappelant dans un premier temps ce que recouvre le concept d'hémocompatibilité, et en présentant quelques stratégies proposées pour améliorer l'hémocompatibilité des matériaux, puis en rapportant quelques données moléculaires de l'adhésion bactérienne sur lesquelles se fonde la conception de traitements des surfaces propres à leur conférer des capacités prophylactiques anti-infectieuses.

■ L'hémocompatibilité des matériaux polymères

Les biomatériaux destinés à être confrontés au sang doivent satisfaire trois exigences :

- ne pas être à l'origine de la génération de thrombine ;
- ne pas avoir de propriétés adhésives vis-à-vis des plaquettes ni induire leur agrégation ;
- ne pas être activateur du système du complément ;
- sachant qu'il existe plusieurs liens synergiques entre ces trois processus.

La génération de thrombine qui résulte du déclenchement de la cascade de la coagulation via l'activation des protéines de la phase contact à la suite de leur adsorption sur la surface des biomatériaux est pratiquement inévitable. Mais le facteur tissulaire généré par les monocytes ou les cellules endothéliales dans certaines conditions évoquées plus loin peut aussi participer, via son interaction avec le facteur VII, à la thrombinogénèse.

Considérant les protéines majeures du plasma, elles s'adsorbent naturellement à la surface des biomatériaux, et selon les caractéristiques énergétiques de celle-ci, le fibrinogène pourra s'adsorber de manière prépondérante et rendre la surface sous-jacente pro-adhésive vis-à-vis des plaquettes. En outre, et sous l'effet de la thrombine éventuellement générée de manière contemporaine, les plaquettes sont activées et ont tendance à s'agréger, leur activation étant à l'origine de leur dégranulation et de la libération de facteurs pro-agrégants et de facteurs inflammatoires.

La surface des biomatériaux peut également s'avérer activateur du complément. Cette activation peut se produire par la voie classique à partir d'immunoglobulines (IgG) adsorbées et ayant subi quelques altérations conformationnelles, ou plus volontiers par la voie alterne. Dans ce cas l'activation est enclenchée par la liaison à la surface considérée, du fragment C3b ; celui-ci est alors en mesure (dans le cas de surfaces dites activateurs) de fixer la protéine B et d'amorcer ainsi le processus de formation de C3 convertase alterne et de génération subséquente des anaphylatoxines C3a et C5a.

Les synergies évoquées plus haut s'expriment à plusieurs niveaux. Le complexe protéique C5-C9, auquel aboutit l'activa-

tion du système du complément, peut se lier aux plaquettes et amplifier les processus de « release » et d'agrégation induits par la thrombine. Les anaphylatoxines C3a et C5a sont chimiotactiques vis-à-vis des polynucléaires neutrophiles et des monocytes, et sous l'effet du C5a, ces cellules expriment à leur membrane une adhésine (l'antigène Mo1 porté par l'une des deux sous-unités constitutives du récepteur CR3) qui favorise leur agrégation et leur adhérence aux cellules endothéliales. Les leucocytes peuvent exprimer également des récepteurs CR1 affins du fragment C3b, même lorsque celui-ci est lié à une surface, l'association CR1-C3b ayant pour conséquence d'induire la dégranulation des leucocytes et la libération de substances très actives (collagénase, élastase, glycosidases, etc.) vis-à-vis de la paroi vasculaire en particulier. Les monocytes adhérents sont stimulés et synthétisent et sécrètent le facteur tissulaire procoagulant ; ils sécrètent également de l'interleukine 1 (IL-1) qui peut induire à son tour la sécrétion d'un facteur tissulaire pro-coagulant par les cellules endothéliales, celles-ci étant elles-mêmes capables de sécréter de l'IL-1 lorsqu'elles sont stimulées par la thrombine. Les monocytes activés sécrètent également un activateur de plasminogène et contribuent donc à la fibrinolyse. Les produits de dégradation de la fibrine (PDF) et les fibrinopeptides (issus de l'action de la thrombine sur le fibrinogène) sont également chimiotactiques pour les polynucléaires neutrophiles. Outre la fibrine, la plasmine formée est capable de cliver aussi le fragment C3 du complément. Notons enfin que stimulés par divers activateurs (ADP, histamine bradykinine, etc.) cellules endothéliales et monocytes sécrètent du PAF (platelet activating factor) qui est inducteur et promoteur de la réaction inflammatoire.

■ Stratégies d'obtention de matériaux hémocompatibles

● Principes généraux

Seul son recouvrement par un endothélium fonctionnel peut rendre une surface réellement hémocompatible. Compte tenu de la technicité requise, la logistique opérationnelle à mettre en œuvre, ce type de traitement n'est envisageable que pour des substituts vasculaires.^{4,5} Pour les autres types de dispositif médical destinés à travailler au contact du sang, et considérant les échecs des tentatives de préparation de matériaux inaptes à provoquer la génération de thrombine en présence de sang, les chercheurs ont proposé d'élaborer des matériaux dotés de propriétés pro-inhibitrices de la thrombine, ou antiplaquettaires ou pro-fibrinolytiques, ou combinant ces divers types de vertus. Ces matériaux qui sont qualifiés de bioactifs sont brièvement présentés dans les paragraphes suivants.

● Matériaux à propriétés pro-inhibitrices de la thrombine

La plupart de ces matériaux partagent la capacité de catalyser la réaction d'inhibition de la thrombine (T) par l'antithrombine (AT) naturellement présente dans le sang circulant. L'effet catalytique est apporté par de l'héparine libérable à partir du matériau auquel elle est ioniquement liée⁶ ou sur lequel elle est adsorbée⁸ ou au sein duquel elle est mécaniquement incorporée,⁷ ou par de

l'héparine liée de manière covalente.⁹⁻¹⁶ Dans ce dernier cas, l'effet catalytique se produit (avec un rendement plus ou moins intéressant selon les procédés employés) en phase hétérogène à l'interface entre le matériau et le milieu ou la thrombine est générée en favorisant la formation de complexes (T-AT) inactifs. C'est ainsi que des prothèses vasculaires en polytétréphthalate d'éthylène héparinées selon un procédé radiochimique original dans notre laboratoire, exprimaient une activité héparinique, mesurée par l'activité anti-IIa et par l'activité anti-Xa, égale ou supérieure 0,5 UI-cm².¹⁷ D'autres auteurs ont proposé de remplacer l'héparine standard par des fragments hépariniques ou par des héparinoïdes de synthèse. Enfin, Fougnot et coll.¹⁸ ont proposé de doter des polymères de fonctions chimiques analogues à celles portées spécifiquement par l'héparine (-NH-SO₃-) ou par les glycoaminoglycanes en général (-COO-) et leurs travaux ainsi que ceux effectués par la suite dans le même laboratoire,¹⁹ ont montré que cette fonctionnalisation conférait aux surfaces traitées une activité catalytique de l'inhibition de la thrombine par l'antithrombine.

D'autres approches exploitent la capacité de l'hirudine, anticoagulant peptidique naturellement produit par la sangsue (*Hirudo medicinalis*) de se lier directement à la thrombine et ainsi de l'inhiber.²⁰ Certains auteurs proposent donc de lier de l'hirudine aux biomatériaux pour empêcher le sang de coaguler à leur contact, et la disponibilité d'hirudine recombinante^{21,22} a renouvelé l'intérêt de telles approches, sachant que le potentiel immunogène de ce peptide doit être évalué dans ce type d'utilisation.

● Matériaux non pro-adhésifs vis-à-vis des plaquettes

L'activité anti-agrégante de la prostacycline (PGI₂) ou d'autres dérivés de la famille des prostaglandines a conduit à proposer l'association de ces composés aux matériaux destinés à être confrontés au sang. Selon les modalités d'association proposées par Mc Rea et coll.²³ et Lin et coll.,²⁴ les composés anti-agrégants sont progressivement libérés dans leur environnement immédiat. Par contre Ebert et coll.²⁵ ont montré qu'un lien permanent entre le matériau et la molécule anti-agrégante, mais suffisamment lâche pour que celle-ci garde une mobilité proche de celle qu'elle aurait en solution, pouvait être établi sans préjudice pour l'activité recherchée. Notons toutefois qu'à notre connaissance ces procédés n'ont pas connu de développements commerciaux.

Plus récemment d'autres auteurs ont proposé de lier aux matériaux des prodrogues polymères susceptibles de libérer en présence d'eau²⁶ de l'oxyde nitrique (NO), dont on connaît l'effet anti-agrégant vis-à-vis des plaquettes et l'effet relaxant vis-à-vis des cellules musculaires lisses.

● Matériaux à propriétés pro-fibrinolytiques

Connaissant les propriétés des activateurs du plasminogène comme le tPA (sécrété en particulier par les cellules endothéliales), ou l'urokinase, qui transforme le plasminogène circulant inactif en plasmine susceptible de lyser les caillots de fibrine, l'association de tels activateurs aux biomatériaux inducteurs potentiels de la formation de tels caillots, a été envisagée.²⁷ Cependant le mécanisme d'action de ces activateurs peut requérir leur adhésion (cas du tPA) au réseau de fibrine pour que la lyse de ce dernier puisse s'opérer, ce qui limite l'intérêt de leur immobilisation à la surface des matériaux.

■ Perspectives d'obtention de matériaux dotés de propriétés prophylactiques vis-à-vis de l'infection

L'adhésion des germes à la surface des implants constitue la première étape de la colonisation bactérienne, conduisant rapidement à la formation d'un biofilm qui réduit considérablement la vulnérabilité des bactéries. Il est donc primordial d'empêcher l'adhésion initiale; il est maintenant établi que celle-ci recourt à la médiation de protéines adsorbées à la surface du matériau, que celles-ci soient plasmatiques (fibrinogène, fibronectine) ou appartiennent aux matrices extracellulaires (collagène, vitronectine, laminine, thrombospondine), protéines qui exposent des motifs (ligands) spécifiquement reconnus par les adhésines bactériennes. *S. Aureus* par exemple, possède des gènes codant pour des protéines adhésives respectivement affinées du fibrinogène (Fbg-binding-protein) du collagène (collagen adhesin) et de la fibronectine (2 Fnc-binding-proteins distinctes).²⁸ Ces mêmes études et d'autres effectuées depuis²⁹ ont montré que c'était le fibrinogène adsorbé sur les matériaux qui était la protéine la plus impliquée dans ces processus d'adhésion. Des mutants de *S. Aureus* dépourvus du gène codant pour la Fbg-binding-protein adhèrent en effet beaucoup moins (- 80%) sur des surfaces de PVC ou de polyéthylène exposées à du sang circulant, alors que d'autres mutants dépourvus du gène codant pour l'une des Fnc-binding-protein ne voient pas dans les mêmes conditions expérimentales leur capacité d'adhésion diminuer.

Une des stratégies envisagées pour empêcher l'adhésion vise donc à orienter, par la présence de fonctions appropriées à la surface des matériaux, l'adsorption des molécules de protéines de façon à ce que les ligands d'intérêt pour l'adhésion soient absents ou inopérants.

Les résultats de travaux antérieurs³⁰ à ceux déjà cités permettaient d'ailleurs de conforter cette approche, puisqu'ils montrent que des dextrans substitués par des groupes porteurs de fonction carboxylique, benzylamine (CMBDS), benzamide sulfonate (CMBDS), étaient capables d'inhiber in vitro l'adhésion de *S. Aureus* sur du polyméthacrylate de méthyl (PMMA) revêtu d'une monocouche de fibronectine, certains de ces polymères étant par ailleurs connus pour leurs propriétés heparin-like et/ou leurs propriétés anti-complémentaires. De fait, l'héparine mise en œuvre dans le même modèle expérimental révélait une capacité d'inhibition de l'adhésion de *S. Aureus*, intermédiaire entre celle des CMBD et celle des CMBDS. Ceci semblait d'ailleurs indiquer l'implication de la fibronectine dans le processus d'adhésion, cette protéine possédant plusieurs domaines de fixation de l'héparine.³¹ Certains des polymères heparin-like dont il a été question plus haut à propos de matériaux hémocompatibles ou élaborés selon les mêmes principes ont révélé une capacité de modulation de l'adhérence et de la prolifération des bactéries, capacité fonction de leur composition chimique. La confection de dispositifs implantables dans le système cardiovasculaire à partir de tels polymères, ou l'utilisation de ces polymères pour le traitement superficiel de ces dispositifs, permet d'envisager la disponibilité de matériels plus résistants vis-à-vis de la colonisation bactérienne.

Conclusion

Vouloir limiter les risques encourus par le patient dont la prise en charge thérapeutique nécessite l'utilisation de dispositifs médicaux implantables, implique d'utiliser des matériaux offrant les meilleures garanties de biocompatibilité générale et fonctionnelle, et des matériels conçus pour exploiter au mieux les qualités de ces matériaux. Si l'on considère plus spécifiquement les accès vasculaires exploités en hémodialyse, la satisfaction des exigences rappelées ci-dessus nécessite de faire appel pour la confection des dispositifs utilisés à des matériaux polymères exempts de plastifiants dont la toxicité est connue, et de traiter la surface de ces matériaux de manière à ce qu'ils soient les moins thrombogènes possible, et ne favorisent pas l'adhésion bactérienne. L'inventaire non exhaustif des possibilités ouvertes par les résultats de la recherche, qui est présentée dans cette note, montre que les fabricants ne devraient pas se trouver démunis pour améliorer la qualité de leurs produits.

Adresse de correspondance:

Pr Charles Baquey
Unité de recherche « Biomateriaux et réparation tissulaire »
U443, Université Victor Segalen Bordeaux 2
146, rue Léo Saignat
F-33076 Bordeaux Cedex
E-mail: charles.baquey@bordeaux.inserm.fr



Références

1. Feldman HI, Robrin J, Wasserstrin A. Hemodialysis vascular access morbidity. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 523-35.
2. Polaschegg HD, Prosl F, Lewin NW. A novel subcutaneous blood access device. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 1417 (AO 852).
3. Définitions in Biomaterials. Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials. DF Williams Ed. Elsevier, 1987.
4. Van Aken WG. The role of cell adhesion in the biocompatibility of vascular graft materials. Vth International Conference Polymer in Medicine and Surgery, Leeuwenhorst Congress Center, Holland, 10-12 Septembre 1986.
5. Wildevuur ChRH, Van der Lei B, Schakenraad JM. Basic aspects of the regeneration of small calibre neoarteries in biodegradable vascular grafts in rats. *Biomaterials* 1987; 8: 418-22.
6. Gott V, Whiffen J, Koepke D, Daggett R, Boake W, Young W. Techniques of applying a graphite benzalkonium-heparin coating to various plastic surfaces. *Trans Amer Soc Artif Int Organ* 1964; 10: 213-7.
7. Rollason G, Sefton MC. Inactivation of thrombin in heparin-PVA coated tubes. *J Biomater Sci Polym Edn* 1989; 1: 31-41.
8. Albanese A, Barbucci R, Beleville J, Bowri S, Eloy R, Lemke HD, Sabatini L. In vitro biocompatibility evaluation of a heparinizable material (PUPA), based on polyurethane and poly(amino-amine) components. *Biomaterials* 1994; 15: 129-36.
9. Merrill EW, Wong PSL. Matière polymère non thrombogénique, son procédé de préparation et ses applications médicales. Demande de Brevet du MIT du 17 Juillet 1969, Published Later in: *J Appl Physiol* 1970; 29: 723-30.
10. Hoffman AS, Schmer G, Harris C, Kraft WG. Covalent binding of biomolecules to radiation grafted hydrogels on inert surfaces. *Trans Amer Soc Artif Int Organs* 1972; 18: 10-8.
11. Labarre D, Jozefowicz M. Properties of heparin-poly(methylmethacrylate) copolymers. II. *J Biomed Mater Res* 1977; 11: 283-95.
12. Miura Y, Ayogi S, Kasuda Y, Miyamoto K. The characteristic of anticoagulant by covalently immobilized heparin. *J Biomed Mater Res* 1980; 14: 619-30.
13. Baumann H, Keller R. Which glucosaminoglycans are suitable for anti-thrombogenic or athrombogenic coatings of biomaterials? Part II: Covalently immobilized endothelial cell surface heparan sulfate (ESHS) and heparin (HE) on synthetic polymers and results of animal experiments. *Semi Thromb Hemost* 1997; 23: 215-23.
14. Park KD, Okano T, Nojiri C, Kim SW. Heparin immobilization into segmented polyurethane surfaces-effect of the hydrophilic spacers. *J Biomed Mater Res* 1988; 22: 977-92.
15. Larsson R, Larm O, Olsson P. The search for thromboresistance using immobilized heparin. *Ann NY Acad Sci* 1987; 516: 102-15.
16. Baquey C, Beziade A, Ducassou D, Blanquet P. Intérêt du greffage radiochimique de monomères vinyliques pour améliorer l'hémocompatibilité des matériaux artificiels. I. Tentative d'association covalente d'héparine au Dacron. *ITBM* 1981; 2: 378-89.
17. Baquey C, Jablonski-Bernasconi MY, Bordenave L, Darnis T, Rabaud M. New approaches to enhance vascular prostheses performances. In *Biomaterials-Tissue Interfaces*. Doherty PJ et al (Eds). Advances in Biomaterials Elsevier Science Publishers 1992; 10: 207-15.
18. Fougnot C, Jozefowicz M, Samama M, Bara L. New heparin like insoluble materials. Part II. *Ann Biomed Eng* 1979; 7: 441-50.
19. Migonney V, Fougnot C, Jozefowicz M. Heparin like tubings. III. Kinetics and mechanism of thrombin, antithrombin III, thrombin-antithrombin III complex adsorption under controlled-flow conditions. *Biomaterials* 1988; 9: 413-8.
20. Phaneuf MD, Berceci SA, Blide MJ, Quist WC, LoGerfo FW. Covalent linkage of recombinant hirudin to poly(ethylene terephthalate) (Dacron): Creation of a novel antithrombin surface. *Biomaterials* 1997; 18: 755-65.
21. Phaneuf MD, Szycher M, Berceci SA, Dempsey DJ, Quist WC, LoGerfo FW. Covalent linkage of recombinant hirudin to a novel ionic poly(carbonte)urethane polymer with protein binding sites: Determination of surface antithrombin activity. *Artif Organs* 1997; 22: 657-65.
22. Seifert B, Romaniuk P, Groth T. Covalent immobilization of hirudin improves the haemocompatibility of polylactide-polyglycolide in vitro. *Biomaterials* 1997; 18: 1495-502.
23. McRea JC, Ebert CD, Kim SW. Prostaglandin releasing polymers. Stability and efficacy. *Trans Amer Soc Artif Int Organs* 1981; 27: 511-6.
24. Lin JY, Okano T, Dost L, Feijen J, Kim SW. Prevention of platelet contact activation by prostaglandin E1 released from polyurethane surfaces. *Trans Amer Soc Artif Int Organs* 1985; 31: 468-473.
25. Ebert CD, Lee ES, Kim SW. The antiplatelet activity of immobilized prostacyclin. *J Biomed Mater Res* 1982; 16: 629-38.
26. Mowery KA, Schoenfish MH, Saavedra JE, Keefer LK, Meyerhoff ME. Preparation and characterization of hydrophobic polymeric films that are thromboresistant via nitric oxide release. *Biomaterials* 2000; 21: 9-21.
27. Kitamoto Y, Kiuama S, Inoue T, Yabushita Y, Sato T, Ryoda H. Antithrombotic mechanisms of urokinase immobilized polyurethane. *Thromb Haemost* 1991; 65: 73-6.
28. Vaudaux PE, François P, Proctor RA, McDevitt D, Foster TJ, Albrecht RM, Lew DP, Wabers H, Cooper SL. Use of adhesion-defective mutant of *Staphylococcus aureus* to define the role of specific plasma proteins in promoting bacterial adhesion to canine arteriovenous shunts. *Infection and Immunity* 1995; 63: 585-92.
29. François P, Schrenzel J, Stoerman-Chopard C, Fabre H, Herrmann M, Foster TJ, Lew DP, Vaudaux P. Identification of plasma proteins adsorbed on hemodialysis tubing that promote *Staphylococcus aureus* adhesion. *J Lab Clin Med* 2000; 135: 32-42.
30. Vaudaux P, Avramaglou T, Letourneur D, Lew, Jozefowicz J. Inhibition by heparin and derivatized dextrans of *staphylococcus aureus* adhesion to fibronectin-coated biomaterials. *J Biomater Sci Polymer Edn* 1992; 4: 89-97.
31. Mosher DF. (Ed) *Biology of Extracellular Matrix: A series Fibronectin Academic Press, San Diego, 1989.*