ETH zürich

ETH Library

Engineering Advanced in Vitro Infection Models via Microfluidics and Transwell-Based Organoid Systems

Doctoral Thesis

Author(s):
Kurmashev, Amanzhol

Publication date:
2025

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-c-000788730

This page was generated automatically upon download from the ETH Zurich Research Collection.
For more information, please consult the Terms of use.

DISS. ETH NO. 31279

ENGINEERING ADVANCED IN VITRO INFECTION MODELS VIA MICROFLUIDICS AND TRANSWELL-BASED ORGANOID SYSTEMS

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES

(Dr. sc. ETH Zürich)

presented by

AMANZHOL KURMASHEV

born on 19.08.1996

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Andreas Hierlemann

Prof. Dr. Urs Jenal

Prof. Dr. Christoph Dehio

Dr. Julia A. Boos

2025

Abstract

Antimicrobial resistance (AMR) is one of the most urgent global health challenges, expected to cause a significant rise in infection-related morbidity and mortality over the coming decades. Although the prevalence of multi-drug-resistant pathogens continues to increase, the development of new antibiotics has stagnated, which is largely due to their high attrition rates during the drug screening process and limitations of current drug screening assays. These challenges call for innovative approaches to both deepen our understanding of resistance mechanisms and to establish more efficient methods for evaluating potential antimicrobial candidates. Conducted within the framework of the NCCR AntiResist, this thesis contributes to such efforts as it includes developing physiologically relevant in vitro infection models and establishing associated experimental systems.

In this thesis, I present the design and fabrication of poly(methylmethacrylate) (PMMA)-based microfluidic platforms for infection studies using transwells with human organoid models. The system overcomes key limitations of conventional static transwell cultures by introducing physiologically relevant fluid perfusion, while ensuring system compatibility with high-resolution, real-time imaging. These features enable direct real-time visualization of host-pathogen interactions and support mechanistic studies of infection onset under physiologically relevant conditions. By bridging the gap between traditional in vitro models and complex in vivo systems, the platform provides a versatile tool for organ-specific infection research and predictive antimicrobial assessment.

The methodology compiled in this thesis details the process of growing the organoids, their integration into the microfluidic platform, and the establishment of infection assays under physiologically relevant conditions. Furthermore, the models were successfully applied to drug testing, encompassing both traditional and non-traditional antimicrobial therapies.

The thesis work focused on two organ-specific infection models:

1. **Human airway epithelium model**:
   A system for *Pseudomonas aeruginosa* infection of the airway epithelium that supports dynamic transitions between air-liquid and liquid-liquid interfaces. This system enabled detailed monitoring of lung tissue infection and its gradual destruction over time at high spatial and temporal resolution.

2. **Human bladder epithelium model**:
   A system for culturing stratified bladder epithelium under urine perfusion, which simultaneously enabled continuous monitoring of Uropathogenic *Eschericia coli* (UPEC) infections and colonization. This system was also employed to evaluate antimicrobial interventions, including D-mannose and bacteriophage therapies in a physiologically relevant context.

In addition, the microfluidic platform developed in this study was augmented with two additional key features:

1. **Real-time impedance profiling of the tissue barrier function:**
   The integration of a custom-designed four-electrode sensor into the microfluidic platform enabled non-invasive, real-time assessment of transepithelial electrical resistance (TEER), performed simultaneously with high-resolution live imaging.

2. **Higher-throughput pharmacokinetic analysis of antimicrobial compounds:**
   To increase the assay throughput from 4 to 24 transwell inserts per experimental run under varying antimicrobial concentrations, the microfluidic platform and associated fluidic circuits were re-designed and characterized. Initial tests for antimicrobial compound permeability were conducted.

Overall, this work demonstrates how the combination of microfluidics with transwell-based organoid cultures can significantly advance our ability to study bacterial infections and evaluate therapeutic strategies under representative physiological conditions.

Zusammenfassung

Antimikrobielle Resistenzen (AMR) gehören zu den grössten globalen Gesundheitsherausforderungen und werden voraussichtlich in den kommenden Jahrzehnten zu einem erheblichen Anstieg infektionsbedingter Morbidität und Mortalität führen. Während die Prävalenz multiresistenter Krankheitserreger weiterhin zunimmt, stagniert die Entwicklung neuer Antibiotika – hauptsächlich aufgrund hoher Ausfallraten im Verlauf der Medikamentenentwicklung sowie begrenzter Aussagekraft bestehender Testsysteme. Diese Herausforderungen erfordern innovative Ansätze, um sowohl das Verständnis von Resistenzmechanismen zu vertiefen als auch effizientere Methoden zur Bewertung potenzieller antimikrobieller Wirkstoffe zu etablieren. Im Rahmen des NCCR AntiResist leistet diese Dissertation einen Beitrag zu diesen Bemühungen, indem physiologisch relevante in-vitro-Infektionsmodelle entwickelt und die zugehörigen experimentellen Systeme etabliert wurden.

In der vorliegenden Arbeit beschreibe ich die Entwicklung und Herstellung von mikrofluidischen Plattformen auf Basis von Poly(methylmethacrylat) (PMMA) zur Durchführung von Infektionsstudien mit Transwell-basierten humanen Organoidmodellen. Das System bietet eine Lösung für zentrale Limitationen konventioneller statischer Transwell-Kulturen durch die Einführung einer physiologisch relevanten Flüssigkeitsperfusion und gewährleistet gleichzeitig die Kompatibilität mit hochauflösender Echtzeit-Bildgebung. Diese Eigenschaften ermöglichen die direkte Visualisierung von Wirt-Pathogen-Interaktionen und unterstützen mechanistische Studien zum Infektionsverlauf unter physiologisch relevanten Bedingungen. Die Platform schliesst die Lücke zwischen traditionellen in-vitro-Modellen und komplexen in-vivo-Systemen und bietet ein vielseitiges Werkzeug für organspezifische Infektionsforschung und die frühzeitige Bewertung antimikrobieller Substanzen.

Die in dieser Arbeit zusammengestellte Methodik umfasst die Kultivierung der Organoide, deren Integration in die mikrofluidische Plattform sowie die Etablierung von Infektionstests unter physiologisch relevanten Bedingungen. Darüber hinaus wurden die Modelle erfolgreich zur Arzneimittelprüfung eingesetzt, einschließlich klassischer und nicht-traditioneller antimikrobieller Therapien.

Die Arbeit konzentrierte sich auf zwei organspezifische Infektionsmodelle:

1. **Modell des menschlichen Atemwegsepithels:**
   Ein System zur Infektion des Atemwegsepithels mit *Pseudomonas aeruginosa*, das dynamische Übergänge zwischen Luft-Flüssigkeits- und Flüssigkeit-Flüssigkeits-Grenzflächen ermöglicht. Dieses System erlaubte eine detaillierte Überwachung der Lungeninfektion und deren schrittweise Zerstörung mit hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung.
2. **Modell des menschlichen Blasenepithels:**
   Ein System zur Kultivierung von mehrschichtigem Blasenepithel unter Urinperfusion, das die

kontinuierliche Beobachtung von Infektionen und Kolonisation durch uropathogene *Escherichia coli* (UPEC) ermöglichte. Dieses System wurde ebenfalls zur Bewertung antimikrobieller Interventionen wie D-Mannose und Bakteriophagen-Therapien unter physiologisch relevanten Bedingungen eingesetzt.

Darüber hinaus wurde die entwickelte mikrofluidische Plattform um zwei wesentliche Funktionen erweitert:

1. **Echtzeit-Impedanzprofilierung der Gewebebarrierefunktion:**
   Die Integration eines eigens entwickelten Vier-Elektroden-Sensors in die mikrofluidische Plattform ermöglichte eine nicht-invasive, kontinuierliche Messung des transepithelialen elektrischen Widerstands (TEER) in Echtzeit bei laufender hochauflösender Echtzeit-Bildgebung.
2. **Pharmakokinetische Analyse antimikrobieller Substanzen mit höherem Durchsatz:**
   Zur Erhöhung des Durchsatzes von 4 auf 24 Transwell-Einsätze pro Versuchslauf bei variierenden Wirkstoffkonzentrationen wurden die Plattform und die zugehörigen Fluidiksysteme neu konzipiert und charakterisiert. Erste Tests zur Permeabilität antimikrobieller Substanzen wurden durchgeführt.

Insgesamt zeigt diese Arbeit, wie die Kombination mikrofluidischer Systeme mit transwell-basierten Organoidkulturen die Möglichkeiten zur Untersuchung bakterieller Infektionen und zur Bewertung therapeutischer Strategien unter realitätsnahen physiologischen Bedingungen entscheidend verbessern kann.