

Vysoké učení technické v Brně  
Mendelova univerzita v Brně  
Výzkumný ústav pletářský  
Středoevropský technologický institut v Brně

# VYUŽITÍ CÉVNÍ NÁHRADY JAKO NÁSTROJE PRO POSOUZENÍ ANTIMIKROBIALITY LÁTEK NA POVRCHU CÉVNÍCH NÁHRAD

Dagmar Chudobová, Kristýna Číhalová, Ivo Provazník, Jaromír Hubálek, Soňa Křížková, Iva Blažková, Karel Bastl, Jan Zítka, Michal Žůrek, Vojtěch Adam a René Kizek



Funkční vzorek, Brno 2014

## FUNKČNÍ VZOREK - TYP G PODLE RIV

**Název: Využití cévní náhrady vyrobené z polyesterového hedvábí jako nástroje pro posouzení účinnosti antimikrobiálních látek nebo komplexů uchycených na povrchu cévní náhrady pro eliminaci a likvidaci původců bakteriálních onemocnění**

### Oblast techniky

Předmětem funkčního vzorku je využití tkané cévní náhrady z polyesterového hedvábí pro snadné a rychlé posouzení antimikrobiální účinnosti látek, považovaných za antibakteriální, tudíž vhodných jako prevence bakteriálních onemocnění.

### Autoři:

Mgr. Dagmar Chudobová, Ing. Kristýna Číhalová, Prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D., Doc. Ing. Jaromír Hubálek, Ph.D., Ing. Soňa Křížková, Ph.D., Ing. Iva Blažková, Mgr. Karel Bastl, Jan Zitka, Bc. Michal Žůrek, Doc. RNDr. Vojtěch Adam, Ph.D., Prof. Ing. René Kizek, Ph.D.

### Dosavadní stav techniky

Cévní náhrady jsou nezbytnou součástí současné medicíny. Tyto náhrady musí být upraveny tak, aby došlo jednak ke zlepšení biokompatibility, zachování průchodnosti implantované cévy a měla protisrážlivé vlastnosti. Bakteriální infekce (obzvláště *Staphylococcus aureus*) patří k nejzávažnějším komplikacím operací spojených s použitím cévního implantátu [1-3]. Cévní náhrady mohou být proto upraveny antibiotiky, která jsou navázána prostřednictvím kolagenu nebo želatiny [1, 4]. Úskalím použití antibiotik je rychlý postup resistance bakterií vůči těmto léčivům. Další možností antibakteriální úpravy je použití iontů stříbra a ještě účinnějších nanočástic stříbra [5-8]. Jsou rovněž známy antimikrobiální účinky biopolymerů, jako jsou kyselina hyaluronová a chitosan. Obě látky jsou dobře odbouratelné a biokompatibilní pro lidský organismus [9, 10].

### Literatura

1. Perl, T.M., et al., *Intranasal mupirocin to prevent postoperative staphylococcus aureus infections*. New England Journal of Medicine, 2002. **346**(24): p. 1871-1877.
2. Anderson, D.J., et al., *Severe surgical site infection in community hospitals: Epidemiology, key procedures, and the changing prevalence of methicillin-resistant*

- staphylococcus aureus*. Infection Control and Hospital Epidemiology, 2007. **28**(9): p. 1047-1053.
3. Earnshaw, J.J., *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: Vascular surgeons should fight back*. European Journal of Vascular and Endovascular Surgery, 2002. **24**(4): p. 283-286.
  4. Lew, W. and W. Moore, *Antibiotic-Impregnated Grafts for Aortic Reconstruction*. Seminars in Vascular Surgery, 2011. **24**(4): p. 211-219.
  5. Rai, M.K., et al., *Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria*. Journal of Applied Microbiology, 2012. **112**(5): p. 841-852.
  6. Unger, C. and C. Luck, *Inhibitory effects of silver ions on Legionella pneumophila grown on agar, intracellular in Acanthamoeba castellanii and in artificial biofilms*. Journal of Applied Microbiology, 2012. **112**(6): p. 1212-1219.
  7. Li, W.R., et al., *Antibacterial effect of silver nanoparticles on Staphylococcus aureus*. Biometals, 2011. **24**(1): p. 135-141.
  8. Choi, O., et al., *The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions, and silver chloride colloids on microbial growth*. Water Research, 2008. **42**(12): p. 3066-3074.
  9. Evanko, S.P. and T.N. Wight, *Intracellular localization of hyaluronan in proliferating cells*. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 1999. **47**(10): p. 1331-1341.
  10. Kogan, G., et al., *Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications*. Biotechnology Letters, 2007. **29**(1): p. 17-25.

### Podstata technického řešení

Předmětem funkčního vzorku jsou čtverce textilie z polyesterového hedvábí jako nosiče látek s antibakteriálními vlastnostmi, především různých druhů stříbrných nanočástic a polymerních sloučenin (chitosanu). Touto textilií nasáklou testovanými látkami lze jejich antibakteriální aktivitu, bakteriostatický a baktericidní efekt na bakteriální kmeny, rychle a snadno prokázat. Pro zvýšení rychlosti a efektivity určení míry antibakteriálního efektu byl navržen jednoduchý postup umožňující kontinuální monitorování kultury, včetně vyhodnocení analýzou obrazu. Celý systém je následně připraven k poloprovozním aplikacím s včasným varováním obsluhy na rychlost růstu bakteriální kultury.

## Přehled vyobrazení

Naředěná bakteriální kultura je v celkovém objemu 3,1 ml (3 ml kultivačního Luria Bertani media a 100  $\mu$ l bakteriální kultury) očkovaná na Luria Bertani agar v Petriho misce. Čtverce z tkané polyesterové textilie (1  $\times$  1 cm) jsou umístěny na misku s bakteriální kulturou vždy po dvou čtvercích křížovým způsobem. Takto připravené misky jsou inkubovány po dobu 24 hodin v termostatu při 37  $^{\circ}$ C. V průběhu inkubace lze pomocí zabudovaného kamerového systému situaci v termostatu pozorovat. Po 24 hodinách jsou změřeny vzniklé inhibiční zóny vytvořené kolem čtverců z cévní náhrady, velikost inhibičních zón značí účinnost testované látky na bakteriální kmen.

Očkování bakteriální kultury  
*S. aureus*



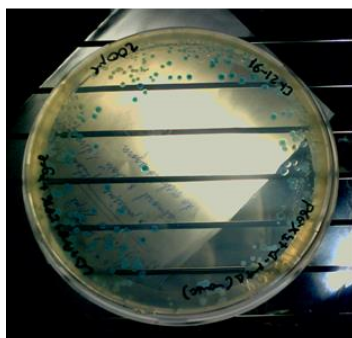
Pokládání čtverců cévní náhrady s  
antibakteriální látkou na povrch misky s  
kulturou *S. aureus*



Kamerové zařízení pro pozorování  
Petriho misek umístěných v  
termostatu v čase



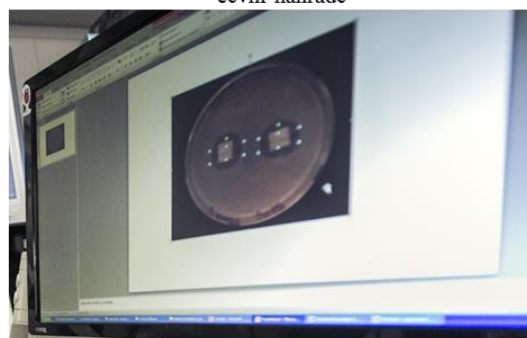
Záznam z kamerového  
zařízení



Výsledek testování po 24 hodinách  
inkubace



Měření velikosti inhibičních zón = posouzení účinku  
a rovnoměrného uchycení antibakteriální látky na  
cévní náhradě



## Příklady uskutečnění technického řešení

### Příklad 1

*Příprava testovaných komponent (např. komplex nanočástic stříbra s chitosanem)*

K 0,1 g chitosanu ( $M_r = 140000 - 220000$ ) rozpuštěného v 9 ml vody s přidavkem 0,1 ml kyseliny octové byl přidán 1 ml roztoku  $AgNO_3$  (0,034 g/10 ml). Roztok byl důkladně promíchán a ponechán k reakci po dobu 1 h. Pak byl přidán pevný  $NaBH_4$  (20 mg). Došlo ihned k tvorbě pěny a změně

zbarvení do hnědé. Směs byla důkladně míchána po dobu 3 h. Takto připravený roztok byl použit pro nanosení na cévní náhradu. Inhibiční efekt  $IC_{50} = 1,0 \mu\text{M}$ .

## Příklad 2

### *Úprava nanocévy pomocí nanočástic stříbra*

Nanokompozitní materiál připravený dle příkladu 1 byl nanosen plošným sprejováním po dobu 60 s v koncentraci  $300 \mu\text{M}$  na cévní náhradu (Ra K Incompressible, Linear vascular prostheses Ra 1v K, Ra ZK - Knitted vascular patch with collagen).

### Průmyslová využitelnost

Využití připravených čtverců textilie z polyesterového hedvábí pokryté látkami předpokládaných antibakteriálních vlastností lze očekávat rychlé a efektivní testování antibakteriální aktivity látek vhodných pro léčbu bakteriálních infekcí, když běžná antibiotická léčiva nezabírají.