

Posouzení biokompatibility tenkých vrstev nanesených metodou PVD napařování elektrickým obloukem a jejich funkcionalizace

Bc. Adéla Coufalová <adela.coufalova@tul.cz>, Ing. Lucie Svobodová, Ph.D.

Tato práce se zabývá vhodností tenkých vrstev karbonitridu titanu (TiCN) a karbonitridu chromu (CrCN) nanesených na nerezovou ocel ČSN 10088-1 1.4404 pro biologické aplikace a funkcionalizaci těchto tenkých vrstev. Byla zvolena fotolitografická modifikace, potažení vzorků sol-gelem a úprava povrchu dvěma druhy plazmatu (argonovým a kyslíkovým). U vzorků byly porovnávány fyzikálně-chemické vlastnosti před a po modifikaci povrchů. Byly sledovány především vlastnosti, které mají vliv na adhezi bakterií, tedy povrchová energie, drsnost a chemické složení povrchu. Dále byla měřena interakce mezi povrchem a bakteriálními kmeny *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Vzhledem k potenciálnímu využití tenkých vrstev TiCN a CrCN pro biomedicínské aplikace byly vzorky podrobeny testům cytotoxicity pomocí myších fibroblastů 3T3.

Klíčová slova: tenké vrstvy, implantáty, biokompatibilita, modifikace, plazma

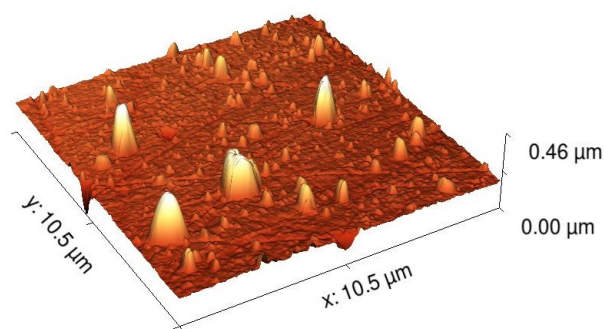
Úvod

Často využívaným materiálem pro biomedicínské aplikace, například k výrobě tělních implantátů, je nerezová ocel ČSN 10088-1 1.4404, která vyniká svými mechanickými vlastnostmi. Po implantaci do těla může ocel vykazovat cytotoxické účinky z důvodu uvolňování iontů železa, chromu a niklu. Nánosem biokompatibilní tenké vrstvy je docíleno zachování potřebných mechanických vlastností komponentu a zároveň je dosaženo potřebných biologických vlastností povrchu [1]. Přetrvávajícím problémem i po nánosu tenké vrstvy je uchycení bakteriálních buněk na povrch implantátu v průběhu operace [2].

Metodika

Vzorky byly modifikovány pomocí sol-gelu, kyslíkového a argonového plazmatu a metodou fotolitografie. Před každou z modifikací byly vzorky očištěny acetonem a vystaveny teplotě 120 °C za účelem zbavení vzorků nečistot.

Po modifikaci byly u vzorků měřeny fyzikálně-chemické vlastnosti. Povrchová energie byla stanovena pomocí testu smáčivosti přístrojem Surface Energy Evaluation System. Průměrná drsnost povrchu byla vyhodnocena pomocí mikroskopie atomárních sil, při které byl využit přístroj JPK Nanowizard 3. Byly vytvořeny 3D profily povrchu (obrázek 1). Chemického složení povrchu bylo stanoveno pomocí Energiové Disperzní Spektroskopie.



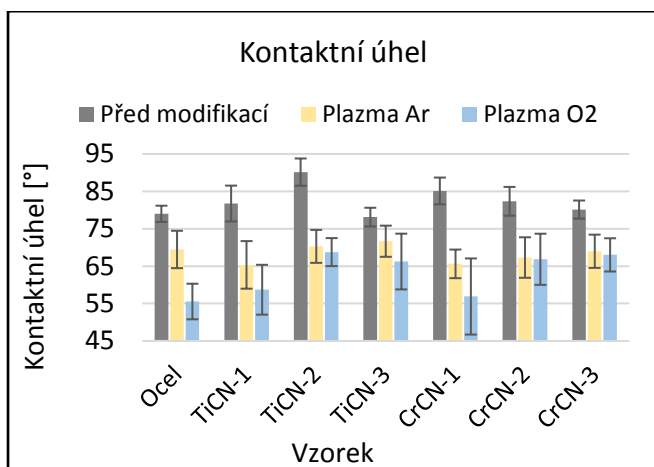
Obrázek 1: 3D profil vzorku CrCN-1.

Dále byly zvoleny dva rozdílné bakteriální kmeny – gramnegativní tyčinkovitá bakterie *Escherichia coli* a grampozitivní kokovitá bakterie *Staphylococcus aureus*. Pro určení množství bakteriálních buněk, které se za jednu hodinu kontaktu vzorku s bakteriální suspenzí přichytí na povrch daného vzorku, byla zvolena metoda kultivace mikroorganismů a následného počítání kolonií vyrostlých na agarových plátnách. Cytotoxicita studovaných vzorků byla měřena pomocí testu MTT. Testy probíhaly in vitro na modelové buněčné linii myších fibroblastů 3T3.

Výsledky a diskuze

Fotolitografická úprava i metoda sol-gel byly nedostatečně odolné a proto byly zkoumány především modifikace argonovým a kyslíkovým plazmatem.

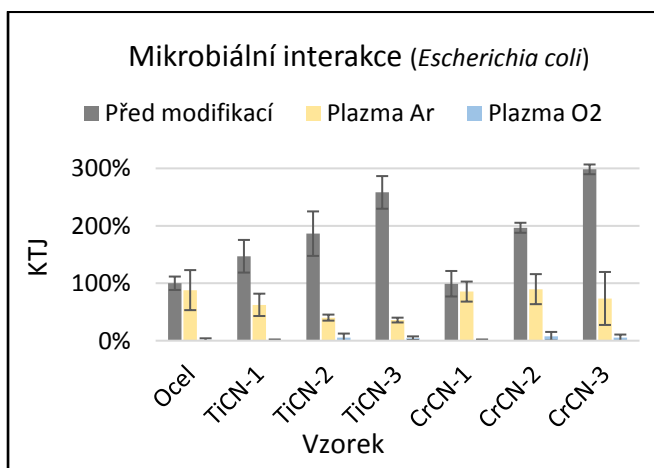
Po modifikaci argonovým plazmatem se kontaktní úhel vody u všech vzorků snížil. Kyslíkové plazma modifikovalo vzorky na ještě více hydrofilní a kontaktní úhel vody se pohyboval od 56° do 69° (graf 1).



Graf 1: Kontaktní úhel naměřený před a po modifikaci vzorků.

U námi studovaných vzorků se po působení plazmatu zvýšila povrchová drsnost. Po modifikaci argonovým plazmatem byl procentuální nárůst drsnosti v průměru o 53 % a u kyslíkového plazmatu v průměru o 163 %. Plazma neměla dle očekávání významný vliv na koncentraci prvků na povrchu vzorků.

Po modifikaci argonovým plazmatem klesl počet přichycených bakterií u všech testovaných vzorků (graf 2). U vzorku TiCN-3 byl naměřen pokles až o 86 %. Po modifikaci kyslíkovým plazmatem nastal u pěti vzorků pokles o více jak 98 %. Počty bakterií uchycených na povrchu vzorku velmi úzce souvisely s hydrofilitou daného povrchu. Čím hydrofilnější byla daná modifikace, tím méně bakterií se na takto modifikovaný vzorek uchytilo, protože povrch bakterie *Escherichia coli* je hydrofobní [3].



Graf 2: Počty kolonie tvořících jednotek uchycených na 1 cm² vzorku.

Povrch bakterie *Staphylococcus aureus* je hydrofilní a proto zde nelze hovořit o hydrofobní interakci. Bylo však možné pozorovat souvislost mezi plošnou drsností a počtem uchycených bakterií na povrch vzorku. Čím větší hodnota plošné drsnosti byla u vzorku naměřena, tím méně bakterií na daný povrch adherovalo.

Závěr

Dle provedených testů se plazmatická modifikace jevila účinnější pro kmen *E. coli* a na základě literární rešerše lze tento jev zobecnit i pro další gramnegativní kmeny. Pro zabránění adheze *S. aureus* (a jemu podobných bakteriálních kmenů) by bylo vhodnější volit jiné metody modifikace, které způsobí výraznější nárůst plošné drsnosti. Všechny vzorky byly i po modifikaci vyhodnoceny jako biokompatibilní. Práce naplnila cíle, které byly stanoveny jako vhodné pokračování v závěru předcházející práce bakalářské. Dalším vhodným pokračováním této práce by bylo provedení testů adheze tkáňových buněk v dlouhodobějším časovém horizontu, což je důležitým parametrem tělních implantátů. Testována by měla být také trvanlivost plazmatických modifikací a jejich vliv na další typy bakteriálních kmenů.

Poděkování

Děkuji Ing. Lucii Svobodové Ph.D. a Ing. Totce Bakalové Ph.D. za odborné rady a vstřícnost po celou dobu zpracovávání mé práce.

Tato práce byla podpořena z projektu Studentské grantové soutěže (SGS) na Technické univerzitě v Liberci v roce 2018.

Reference

- [1] NAZARPOUR, Soroush, ed., 2014. *Thin Films and Coatings in Biology*. Springer Netherlands. Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering ISBN 978-94-007-2591-1.
- [2] CRISTINA, M. SARTINY a E. SHINCA, 2016. *Operating room environment and surgical site infections in arthroplasty procedures*. Journal of Preventive Medicine and Hygiene. ISSN 1121-2233.
- [3] KRASOWSKA, Anna a Karel SIGLER, 2014. *How microorganisms use hydrophobicity and what does this mean for human needs?* *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. ISSN 2235-2988.