

Posouzení biokompatibility tenkých vrstev nanosených metodou PVD a jejich funkcionalizace

Autor: Bc. Adéla COUFALOVÁ
Vedoucí práce: Ing. Lucie SVOBODOVÁ, Ph.D.

Abstrakt

Tato práce se zabývá vhodností tenkých vrstev karbonitridu titanu (TiCN) a karbonitridu chromu (CrCN) nanosených na nerezové oceli 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*.

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].

Cíle

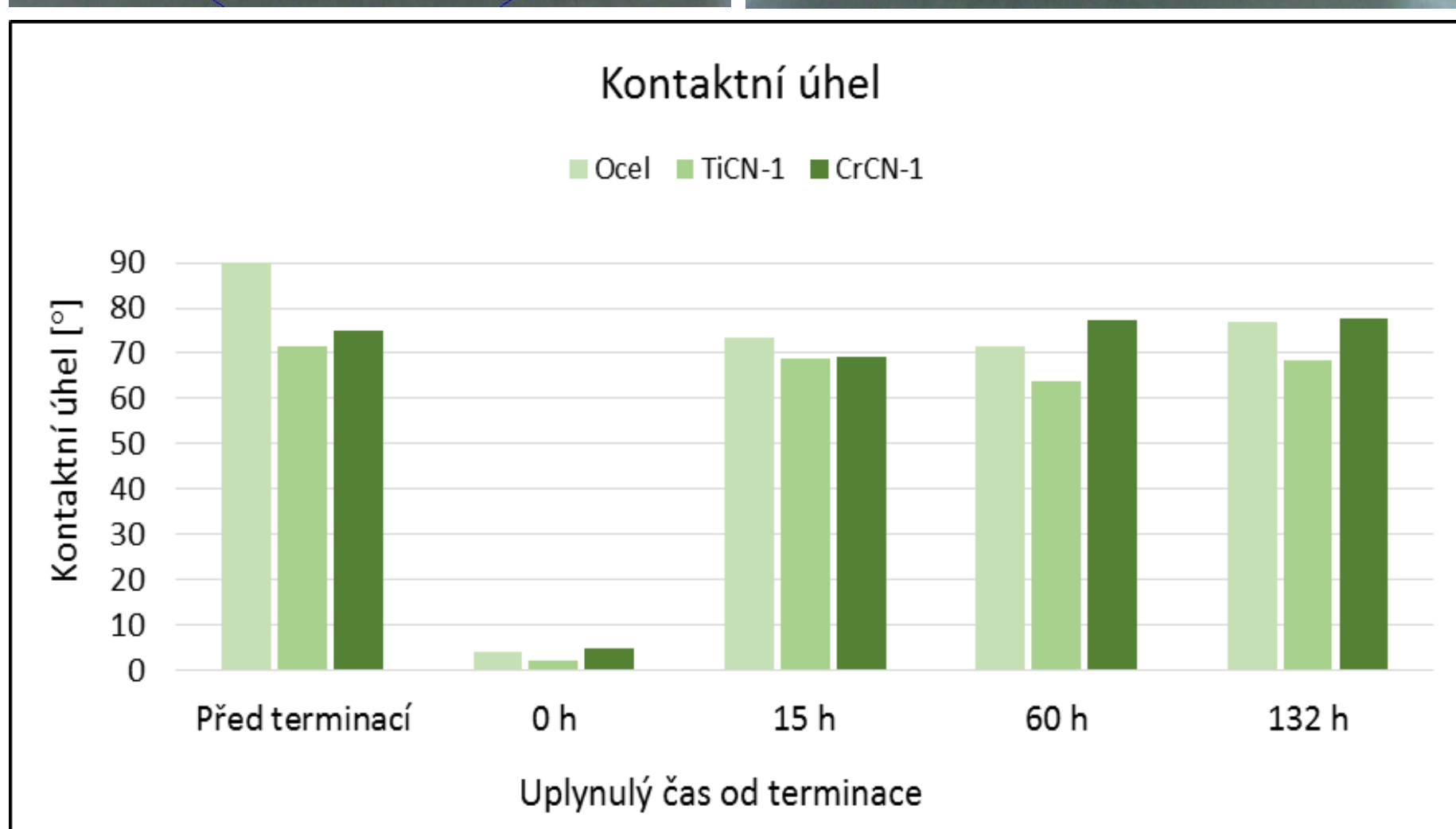
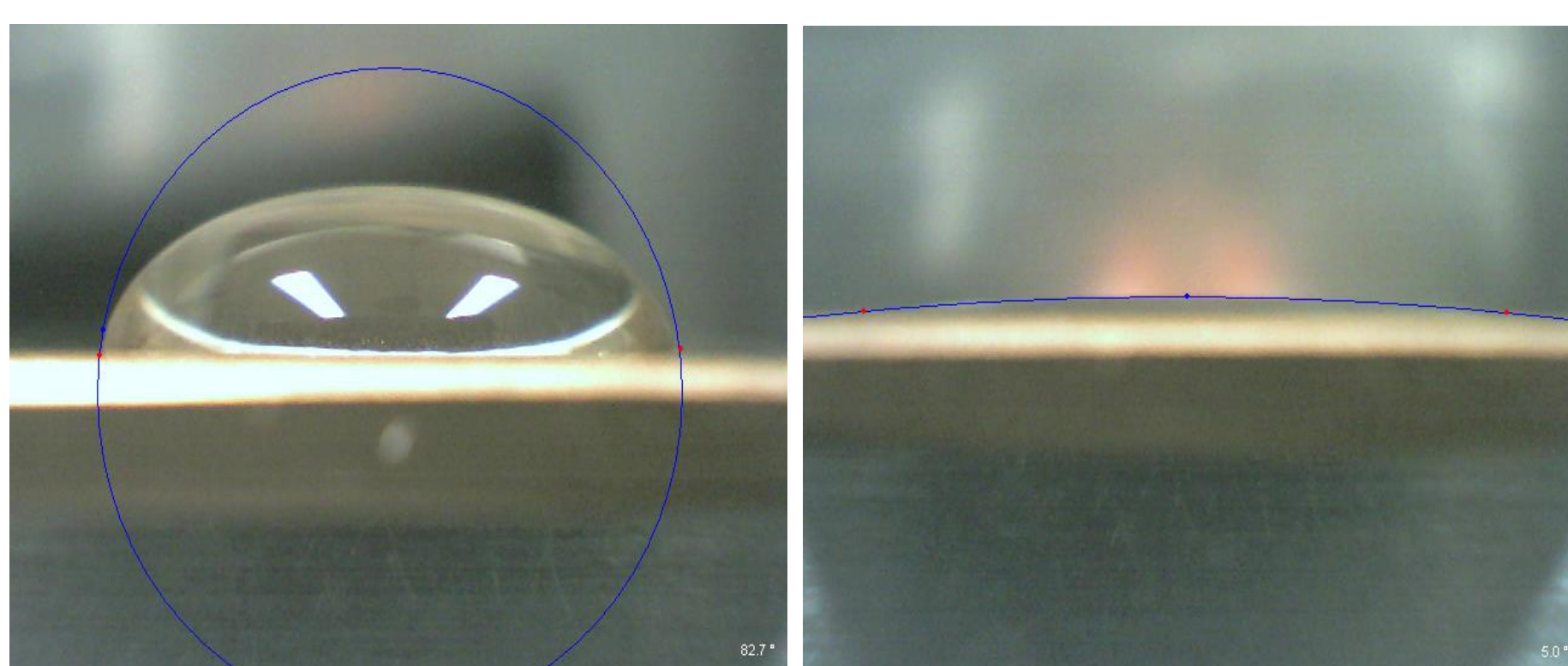
- antibakteriální (antiadhezivní) modifikace tenkých vrstev TiCN a CrCN
- vyhodnocení smáčivosti, drsnosti a chemického složení vrstev před a po modifikaci
- vyhodnocení vlivu modifikací na adhezi různých bakteriálních kmenů
- vyhodnocení cytotoxicity

Metodika a výsledky

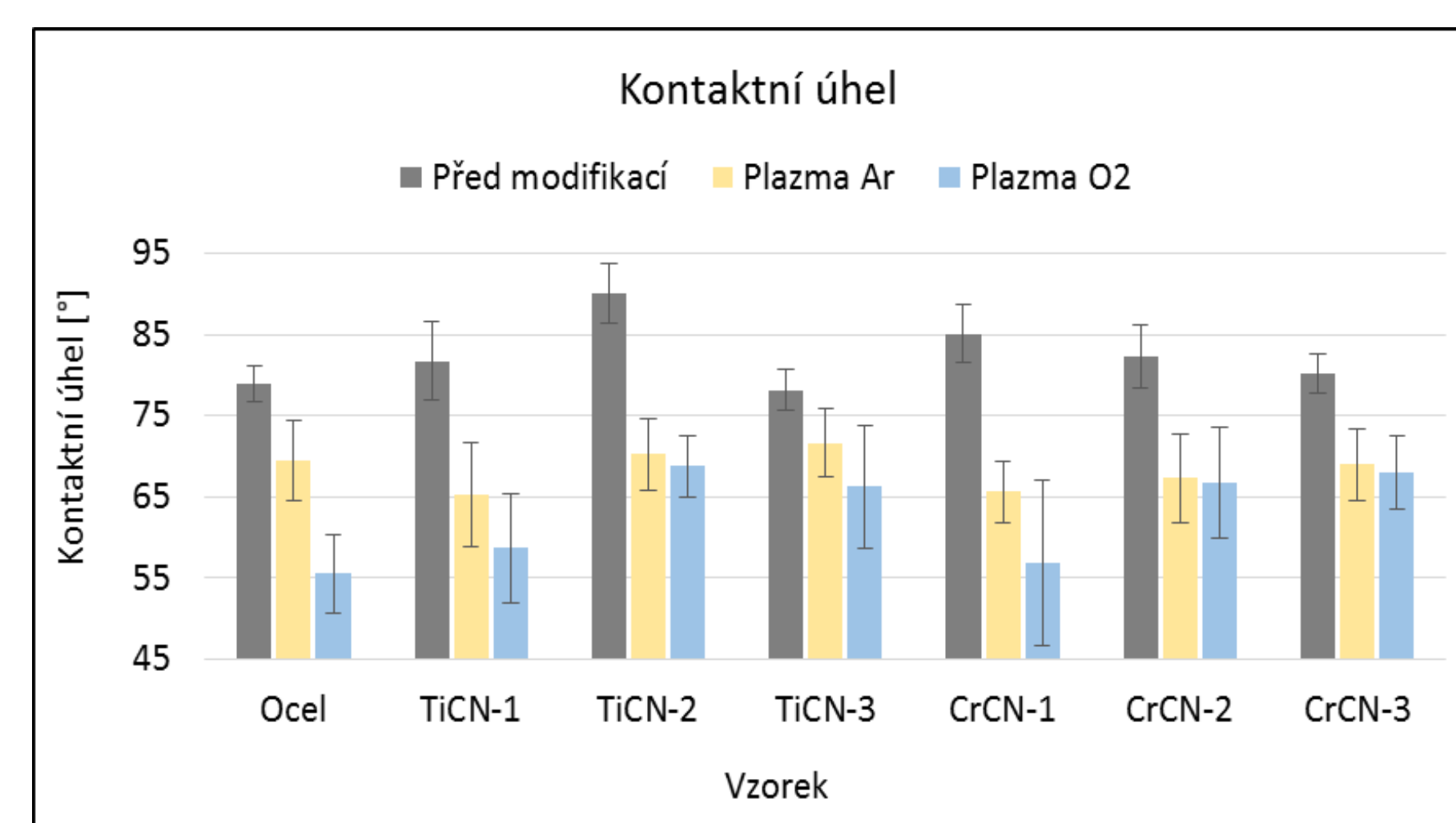
Vyhodnocení povrchové energie, drsnosti a chemického složení vrstev před a po modifikaci.

Vzorky byly modifikovány pomocí sol-gelu, kyslíkového a argonového plazmatu a metodou fotolitografie. 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. Chemického složení povrchu bylo stanoveno pomocí Energově Disperzní Spektroskopie.

Fotolitografická modifikace (kontaktní úhel před a po modifikaci)

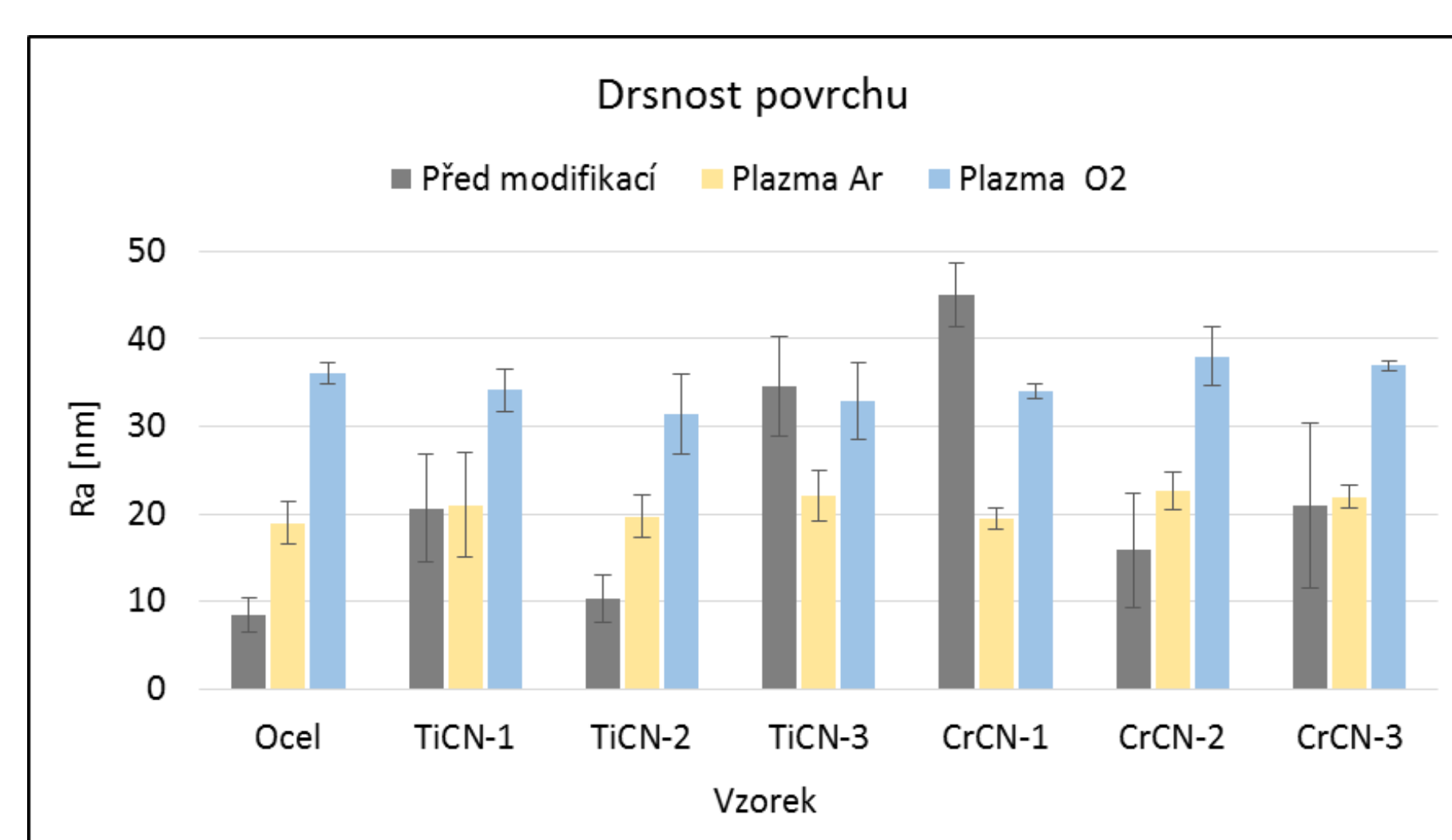


Modifikace plazmatem (kontaktní úhel před a po modifikaci)

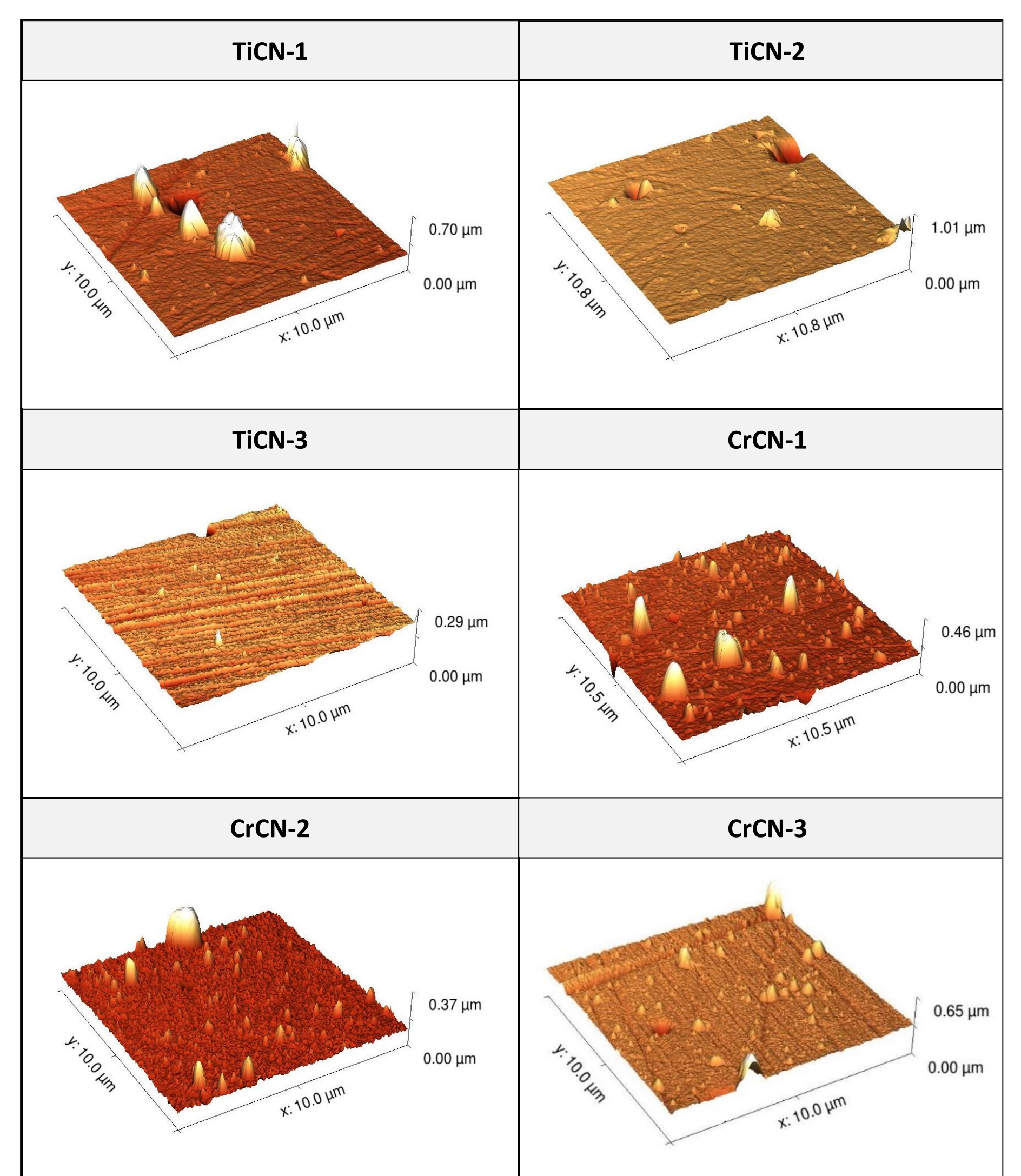


Po modifikaci argonovým plazmatem se kontaktní úhel vody u všech vzorků snížil. Kyslíkové plazma modifikovalo vzorky na ještě více hydrofilní a kontaktní úhel vody se pohyboval od 56° do 69°.

Modifikace plazmatem (drsnost povrchu před a po modifikaci)



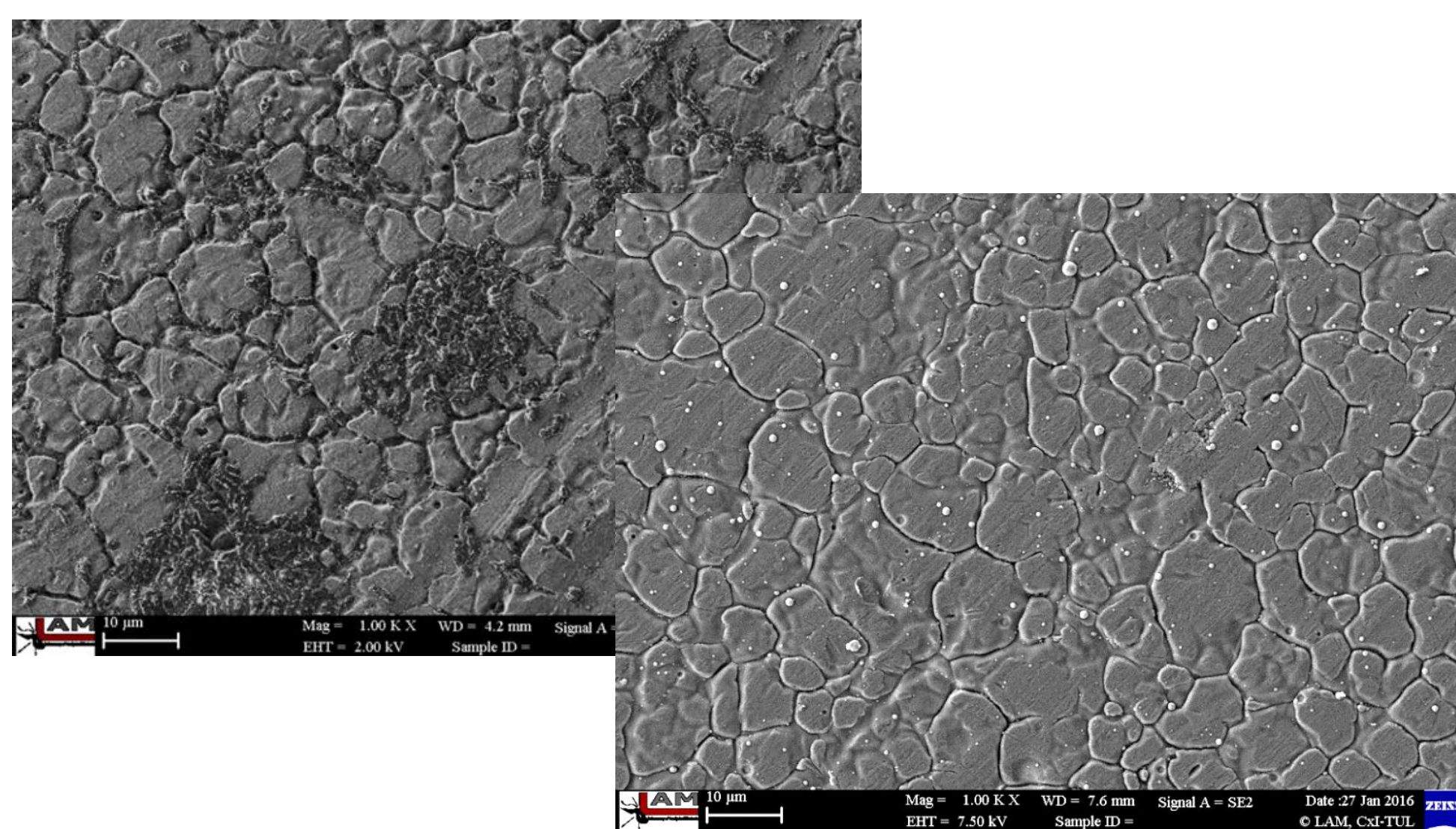
Modifikace plazmatem (3D profily povrchů)



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 %.

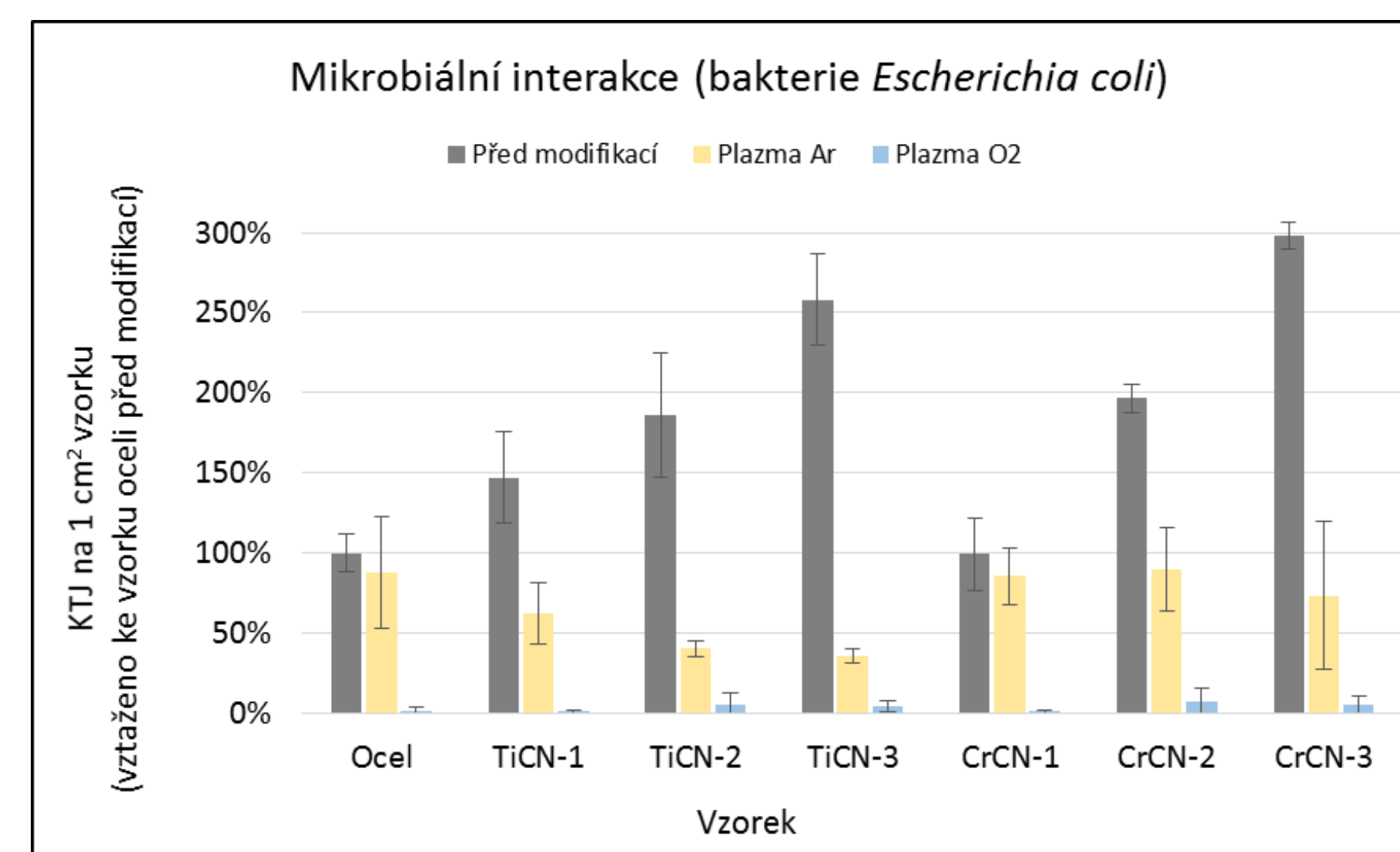
Vyhodnocení vlivu modifikací na adhezi různých bakteriálních kmenů.

Ověření metody vytřepání bakterií z povrchu.

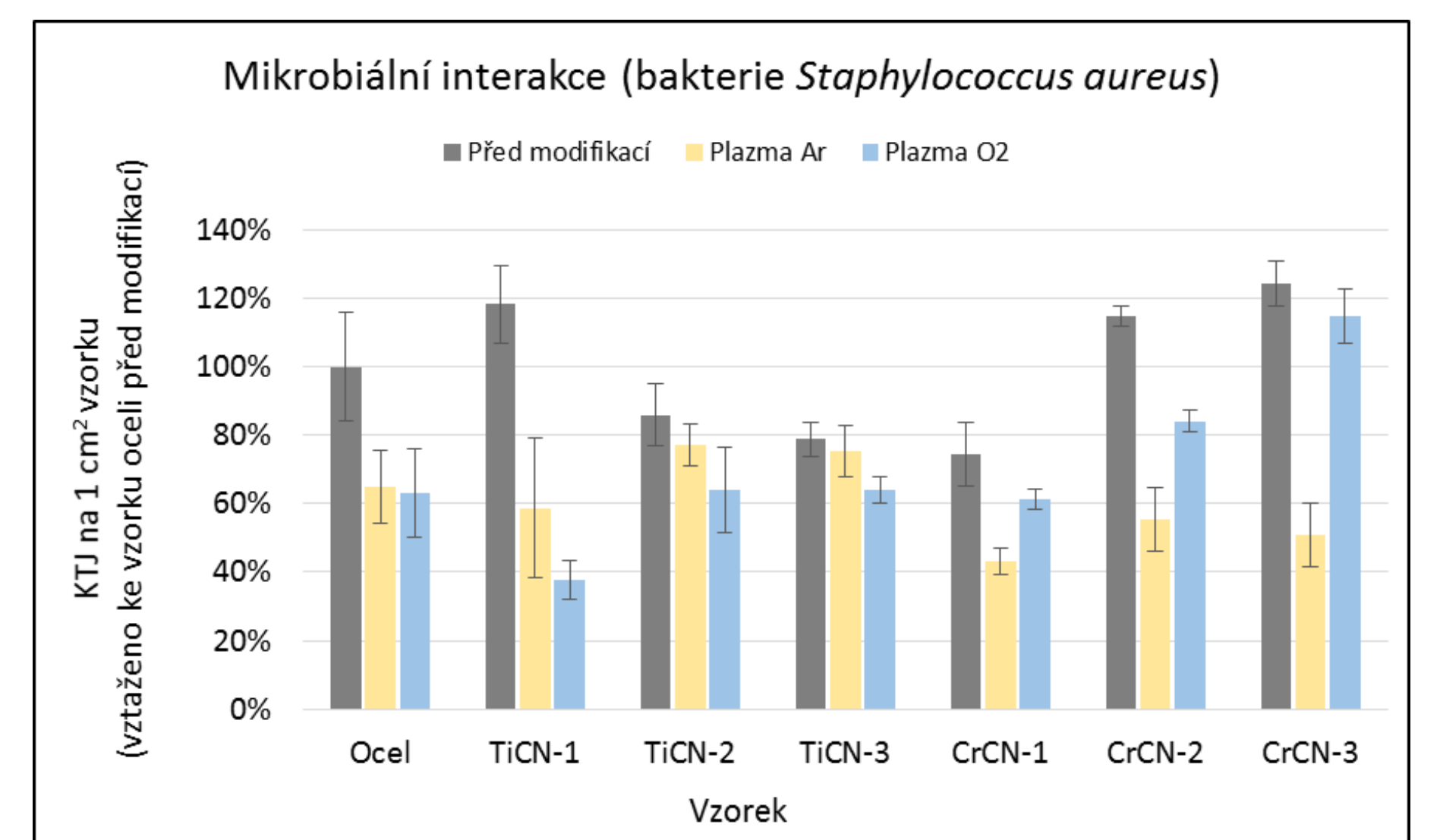


Po modifikaci plazmatem klesl počet přichycených bakterií u všech testovaných vzorků. Po modifikaci kyslíkovým plazmatem nastal u pěti vzorků pokles o více jak 98 %. Počty bakterií uchycených na povrchu vzorku velmi úzce souvisely s hydrofilní daného povrchu. Čím hydrofilnější byla daná modifikace, tím méně bakterií se na takto modifikovaný vzorek uchytily, protože povrch bakterie *Escherichia coli* je hydrofobní [3]. 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.

Modifikace plazmatem (adheze bakterií *Escherichia coli*)



Modifikace plazmatem ((adheze bakterií *Staphylococcus aureus*)



Diskuze a závěr

Dle provedených testů se plazmatická modifikace jevíla 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 měl být také trvanlivost plazmatických modifikací a jejich vliv na další typy bakteriálních kmenů.

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.