

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Antimikrobiální účinky modifikovaných celulóзовých materiálů pro léčbu ran
Bc. Nikola Chvilová

Diplomová práce

2018

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Nikola Chvílová**
Osobní číslo: **C16605**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Název tématu: **Antimikrobiální účinky modifikovaných celulóзовých materiálů pro léčbu ran**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracujte literární rešerši cílenou na problematiku krycích ob vazových materiálů. Uveďte, jaké ob vazové materiály s antimikrobiálním účinkem se používají, zaměřte se zejména na ob vazové materiály na bázi karboxymethylcelulózy a jejích derivátů, vyhledejte údaje o účincích těchto derivátů na mikroorganismy, především na původce nosokomiálních infekcí.
2. Na škále vybraných mikroorganismů ověřte antimikrobiální aktivitu vzorků vybraných textilií. Hodnocení antimikrobiálního efektu testovaných materiálů proveďte difuzním agarovým testem.
3. Zjistěte antimikrobiální účinnost textilních materiálů v kombinaci s kyselinou hyaluronovou a s jodovými preparáty.
4. Výsledky zpracujete, porovnejte s publikovanými údaji a ze získaných výsledků vyvoďte závěry, případně navrhněte jejich vhodné využití krycích a ob vazových materiálů v praxi.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucí práce.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Iveta Brožková, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd

Konzultant diplomové práce:

Ing. Petra Mořková, Ph.D.

Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání diplomové práce: **20. února 2018**

Termín odevzdání diplomové práce: **11. května 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2018

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 23. 4. 2018

Nikola Chvílová

Ráda bych poděkovala vedoucí práce Ing. Ivetě Brožkové, Ph.D. za vstřícný přístup, cenné připomínky, ochotu a hlavně za čas, který mi v průběhu zpracování diplomové práce věnovala. Dále bych také chtěla poděkovat Ing. Petře Mořkové, Ph.D. za pomoc a rady při zpracování této práce.

Závěrem bych chtěla poděkovat všem, kteří mě při psaní této práce jakýmkoli způsobem podpořili a pomohli.

ANOTACE

Diplomová práce se zabývá studiem antimikrobiální aktivity obvazových materiálů na bázi karboxymethylcelulózy a jejích derivátů a také studiem antimikrobiální účinnosti textilních materiálů v kombinaci s kyselinou hyaluronovou a s jodovými preparáty na nejčastěji vyskytující se mikroorganismy v nehojících se ranách. V teoretické části jsou uvedeny různé druhy krytí, které se nejčastěji používají v praxi. Dále jsou uvedeny účinky a vlastnosti karboxymethylcelulózy a jejích forem, kyseliny hyaluronové a antimikrobiálních látek. Praktická část je zaměřena na zjištění antimikrobiálního efektu u testovaných materiálů pomocí difuzní agarové metody. Testované vzorky byly dodány panem Ing. Tomášem Sopuchem z firmy Holzbecher spol. s r. o. barevna a bělidlo Zlích a panem doc. Ing. Ladislavem Burgertem, CSc. z Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice.

KLÍČOVÁ SLOVA

nehojící se rány, krytí na rány, karboxymethylcelulóza, antimikrobiální účinnost, antimikrobiální látky, kyselina hyaluronová

TITLE

Antimicrobial effects of modified cellulose materials for wound dressing

ANNOTATION

This thesis applies with the study of antimicrobial activity of dressings materials based on carboxymethylcellulose and their derivatives, and also by studying the antimicrobial effectivenesses of textile materials in combination with hyaluronic acid and with iodine preparations on the most frequent microorganisms found in chronic wounds. The theoretical part introduces the different types of wound dressing, that are used the most. Furthermore, are described the effects and properties of carboxymethylcellulose and their forms, hyaluronic acid and antimicrobial agents. The practical part is focused on the detection of the antimicrobial effect of the tested materials by the diffusion agar method. The tested samples were delivered by Ing. Tomas Sopuch from Holzbecher spol. s r. barevna a bělidlo Zlích and Mr. doc. Ing. Ladislav Burgert, CSc. from the Faculty of Chemical Technology University of Pardubice.

KEYWORDS

chronic wound, wound dressings, carboxymethylcellulose, antimicrobial effectiveness, antimicrobial agents, hyaluronic acid

OBSAH

ÚVOD.....	15
1 TEORETICKÁ ČÁST	16
1.1 Nehojící se rány.....	16
1.1.1 Vyčištění ran pomocí selektivních a neselektivních metod	16
1.1.2 Fáze hojení ran	17
1.1.3 Faktory přispívající k opožděnému hojení ran	17
1.1.4 Moderní krytí ran.....	18
1.1.5 Vhodný výběr krytí podle typu rány	22
1.2 Celulóza.....	25
1.3 Karboxymethylcelulóza	26
1.4 Produkty Hcel [®]	28
1.5 Technologie netkaných textilií.....	29
1.6 Kyselina hyaluronová.....	30
1.7 Látky s antimikrobiálními účinky	31
1.7.1 Stříbro	32
1.7.2 Jód.....	33
1.7.3 Polyhexamethylen biguanid	34
1.8 Mikroorganismy, které se vyskytují v nehojících se ranách	34
1.8.1 <i>Enterococcus faecalis</i> a VRE	35
1.8.2 <i>Escherichia coli</i>	36
1.8.3 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	37
1.8.4 <i>Morganella morganii</i>	37
1.8.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38
1.8.6 <i>Serratia marcescens</i>	39
1.8.7 <i>Staphylococcus aureus</i> a MRSA	39
1.8.8 <i>Streptococcus agalactiae</i>	40
1.8.9 <i>Candida albicans</i>	41
2 PRAKTICKÁ ČÁST	43
2.1 Přístroje a zařízení.....	43
2.2 Laboratorní pomůcky	43
2.3 Kultivační média	44
2.3.1 Mueller-Hinton agar a Mueller-Hinton agar s krví	44

2.3.2	Brain Heart Infusion Broth (BHI bujón)	44
2.3.3	Malt Extract Broth Base (MALT bujón)	44
2.3.4	Krevní agar (KA)	44
2.3.5	Živný (masopeptonový) agar č. 2 (MPA)	45
2.3.6	MALT agar	45
2.4	Použité mikroorganismy a podmínky inkubace	45
2.5	Metody stanovení	46
2.5.1	Difuzní agarová metoda – zjišťování antimikrobiálního účinku	46
2.6	Vzorky z karboxymethylované celulózy	47
2.6.1	Testované vzorky	47
2.7	Vzorky s různým obsahem jódu	50
2.7.1	Testované vzorky	50
3	VÝSLEKY A DISKUZE	52
3.1	Mikrobiologické hodnocení materiálů	52
3.2	Vzorky z karboxymethylované celulózy	52
3.2.1	Testované produkty Hcel [®] HT, HT soft, NaT a NaT soft	52
3.2.2	Testované produkty Hcel [®] HT, HT soft, NaT a NaT soft s impregnací a bez impregnace Hyiodinem [®]	61
3.2.3	Testované produkty Hcel [®] HT TS 4, VS 4 a VS 3	72
3.2.4	Testovaný produkt Hcel [®] HT HA	76
3.2.5	Testovaný produkt Hcel [®] HT impregnovaný Alaptidem	79
3.3	Vzorky s různým obsahem jódu	82
3.3.1	Testované produkty na bázi kyseliny hyaluronové s různým obsahem jódu	83
3.3.2	Testované vzorky na bázi oxidovaného škrobu s různým obsahem jódu	86
3.3.3	Testované vzorky různého složení	88
	ZÁVĚR	93
	POUŽITÁ LITERATURA	94

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Ukázka exsudující rány	22
Obrázek 2 Ukázka granulující rány	23
Obrázek 3 Ukázka nekrotické rány	23
Obrázek 4 Ukázka infikované rány	24
Obrázek 5 Ukázka epitelizační rány	24
Obrázek 6 Ukázka chirurgicky uzavřené rány	24
Obrázek 7 Možné zdroje celulózy	25
Obrázek 8 Vodíkové vazby spojující celulózové řetězce a glukózové jednotky spojené β -1,4-glykosidovou vazbou	26
Obrázek 9 Struktura 100% karboxymethylcelulózy	27
Obrázek 10 Chemická struktura kyselina hyaluronové	30
Obrázek 11 VRE a <i>Enterococcus faecalis</i> na M-H agaru	35
Obrázek 12 <i>Escherichia coli</i> na M-H agaru	36
Obrázek 13 <i>Klebsiella pneumoniae</i> na M-H agaru	37
Obrázek 14 <i>Morganella morganii</i> na M-H agaru	38
Obrázek 15 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> na M-H agaru	39
Obrázek 16 <i>Serratia marcescens</i> na M-H agaru	39
Obrázek 17 <i>Staphylococcus aureus</i> a MRSA na M-H agaru s krví	40
Obrázek 18 <i>Streptococcus agalactiae</i> na M-H agaru s krví	41
Obrázek 19 <i>Candida albicans</i> na M-H agaru s krví	42
Obrázek 20 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT na bakterii <i>Klebsiella pneumoniae</i> na M-H agaru	54
Obrázek 21 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT na kvasinku <i>Candida albicans</i> na M-H agaru s krví	55
Obrázek 22 Ukázka vzorku Hcel [®] HT a Hcel [®] HT soft	55
Obrázek 23 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT soft na bakterii <i>Serratia marcescens</i> na M-H agaru	57
Obrázek 24 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT soft na kvasinku <i>Candida albicans</i> na M-H agaru s krví	58
Obrázek 25 Ukázka vzorku Hcel [®] HT a Hcel [®] NaT	59
Obrázek 26 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] NaT na bakterii VRE na M-H agaru	60

Obrázek 27 Ukázka vzorku Hcel [®] NaT a NaT soft.....	60
Obrázek 28 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] NaT soft na bakterii <i>Staphylococcus aureus</i> na M-H agaru s krví	61
Obrázek 29 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT bez a s impregnací Hyiodinem [®] na kvasinku <i>Candida albicans</i> na M-H agaru	64
Obrázek 30 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT bez a s impregnací Hyiodinem [®] na bakterii <i>Morganella morganii</i> na M-H agaru	64
Obrázek 31 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT soft bez a s impregnací Hyiodinem [®] na bakterii <i>Pseudomonas aeruginosa</i> na M-H agaru	66
Obrázek 32 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] NaT bez a s impregnací Hyiodinem [®] na bakterii <i>Staphylococcus aureus</i> na M-H agaru.....	68
Obrázek 33 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] NaT soft bez a s impregnací Hyiodinem [®] na kvasinku <i>Candida albicans</i> na M-H agaru.....	70
Obrázek 34 Ukázka působení referenčního vzorku z PurCotton [®] bez a s impregnací Hyiodinem [®] na kvasinku <i>Candida albicans</i> na M-H agaru.....	72
Obrázek 35 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT TS 4 na <i>Klebsiella pneumoniae</i> na M-H agaru.....	75
Obrázek 36 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT VS 4 na <i>Candida albicans</i> na M-H agaru s krví.....	76
Obrázek 37 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT HA na <i>Klebsiella pneumoniae</i> na M-H agaru.....	78
Obrázek 38 Ukázka vzorku Hcel [®] HT Alaptid a referenčního vzorku z materiálu PurCotton [®]	80
Obrázek 39 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT Alaptid a referenčního vzorku z materiálu Purcotton [®] na <i>Escherichia coli</i> na M-H agaru.....	82
Obrázek 40 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel [®] HT Alaptid a referenčního vzorku z materiálu Purcotton [®] na <i>Morganella morganii</i> na M-H agaru	82
Obrázek 41 Ukázka vzorku č. 1, č. 3, č. 5 a č. 8	83
Obrázek 42 Ukázka působení testovaného vzorku č. 7 na <i>Escherichia coli</i> na M-H agaru....	85
Obrázek 43 Ukázka působení testovaného vzorku č. 7 na <i>Staphylococcus aureus</i> na M-H agaru s krví.....	86
Obrázek 44 Ukázka vzorku č. 10, č. 11, č. 12 a č. 13	87
Obrázek 45 Ukázka působení testovaného vzorku č. 12 na <i>Klebsiella pneumoniae</i> na M-H agaru.....	88

Obrázek 46 Ukázka vzorku č. 14, č. 16, č. 18 a č. 19	89
Obrázek 47 Ukázka působení testovaného vzorku č. 15 na <i>Klebsiella pneumoniae</i> na M-H agaru.....	91
Obrázek 48 Ukázka působení testovaného vzorku č. 16 na <i>Klebsiella pneumoniae</i> na M-H agaru.....	92
Obrázek 49 Ukázka působení testovaného vzorku č. 15, vzorku č. 16 a vzorku č. 21 na <i>Candida albicans</i> na M-H agaru s krví.....	92

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Antimikrobiální účinek produktu Hcel [®] HT	53
Tabulka 2 Antimikrobiální účinek produktu Hcel [®] HT soft	56
Tabulka 3 Antimikrobiální účinek produktu Hcel [®] NaT	59
Tabulka 4 Antimikrobiální účinek produktu Hcel [®] HT s impregnací a bez impregnace Hyiodinem [®]	62
Tabulka 5 Antimikrobiální účinek produktu Hcel [®] HT soft s impregnací a bez impregnace Hyiodinem [®]	65
Tabulka 6 Antimikrobiální účinek produktu Hcel [®] NaT s impregnací a bez impregnace Hyiodinem [®]	67
Tabulka 7 Antimikrobiální účinek produktu Hcel [®] NaT soft s impregnací a bez impregnace Hyiodinem [®]	69
Tabulka 8 Antimikrobiální účinek referenčního vzorku s impregnací a bez impregnace Hyiodinem [®]	71
Tabulka 9 Antimikrobiální účinek produktu Hcel [®] HT TS 4.....	73
Tabulka 10 Antimikrobiální účinek referenčního vzorku Tencel [®]	74
Tabulka 11 Antimikrobiální účinek produktu Hcel [®] HT HA	77
Tabulka 12 Antimikrobiální účinek produktu Hcel [®] HT Alaptid a referenčního vzorku	81
Tabulka 13 Antimikrobiální účinek u vzorků č. 1 – 9.....	84
Tabulka 14 Antimikrobiální účinek u vzorků č. 10 – 13.....	87
Tabulka 15 Antimikrobiální účinek u vzorků č. 14 – 20.....	90
Tabulka 16 Antimikrobiální účinek vzorku č. 21.....	90

SEZNAM ZKRATEK

ATP	adenosintrifosfát
BC	baktericidní účinek
BHI bujón	Brain Heart Infusin Broth
BS	bakteriostatický účinek
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CCM	Česká sbírka mikroorganismů
CMC	karboxymethylcelulóza
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DS	stupeň substituce dané formy methylcelulózy – průměrný počet substituovaných hydroxylových skupin
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FNHK	Fakultní nemocnice Hradec Králové
HA	kyselina hyaluronová
KA	krevní agar
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
LN	Litomyšlská nemocnice
<i>M. morganii</i>	<i>Morganella morganii</i>
M-H agar	Mueller-Hinton agar
Moramyl OXP	oxidovaný škrob pšeničný
MPA	masopeptonový agar
MRSA	methicilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>St. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Str. agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
VRE	vankomycin-rezistentní <i>Enterococcus</i>

ÚVOD

Nehojící se rány (dříve chronické) jsou takové rány, které se i přes řádný a včasný postup léčení nedaří zahojit. Proto je léčba těchto ran velmi aktuální záležitostí a stále se testují nová krytí, která by mohla urychlit proces hojení ran a zabránit následné recidivě.

Nehojící se rány jsou stejně jako akutní velmi citlivé na bakteriální infekci, proto se do krytí přidávají různé antimikrobiální látky, jako je stříbro, jód nebo chlorhexidin pro snížení počtu bakterií a infekcí. K léčbě nehojících se ran se využívají různé typy krytí, jejichž hlavním požadavkem je obnovit a udržet vlhké prostředí v ráně, které urychlí proces hojení ran. Vlhké prostředí pro hojení ran má mnoho výhod, například prevence tkáňové dehydratace, zmírnění bolesti, podpora angiogeneze a lepší interakce mezi růstovými faktory a cílovými buňkami. Nicméně, takové prostředí je i ideálním místem pro kolonizaci patogenních bakterií, proto se do krycích materiálů čím dál více přidávají antimikrobiální látky pro zabránění infekce. Avšak čím dál větším problémem je antimikrobiální rezistence některých bakterií vůči antimikrobiálním látkám, z toho důvodu je snaha vyvíjet další nové krycí materiály, které by tyto problémy odstranily.

Existuje řada komerčních krytí, ke kterým patří transparentní, biologická, hydrokoloidní, pěnová, hydrogelová a alginátová krytí. Každé toto krytí má své terapeutické vlastnosti. S vývojem nových biokompatibilních materiálů je snaha vyvíjet nová krytí s lepšími terapeutickými vlastnostmi. Biokompatibilní materiály se vyrábí hlavně na bázi celulózy. Biokompatibilní materiály na bázi celulózy, jako bavlna nebo regenerovaná celulóza (například viskóza), se již běžně využívají jako krycí materiály na různé typy ran. Mezi upravované celulózové materiály, které se nově testují, patří karboxymethylovaná celulóza, sulfáty celulózy, oxidovaná celulóza nebo modifikovaná celulóza v kombinaci s chitosanem. Je tedy možné, že se některý z těchto materiálů bude běžně používat na výrobu krycích materiálů.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Nehojící se rány

Rány mohou být klasifikovány jako nehojící se nebo akutní rány v závislosti na procesu hojení (Pyun a kol., 2015). Akutní a nehojící se rány jsou citlivé na bakteriální infekci. Společnými původci infekce ran jsou nejčastěji bakterie druhů *Staphylococcus* a *Streptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* a druhy *Enterococcus* (Sancineto a kol., 2016). Mezi nehojící se rány jsou řazeny arteriální kožní vředy, dekubity, bércové vředy, popáleniny a neuropatické kožní vředy. Neuropatické kožní vředy, bércové vředy a dekubity představují přibližně 90 % všech nehojících se ran (Roehrs a kol., 2016; Pyun a kol., 2015).

Nehojící se rány jsou takové rány, které se i přes řádný a včasný postup léčení nedaří zahojit (Roehrs a kol., 2016). Hlavním cílem hojení nehojících se ran je dosáhnout rychlého zhojení s dobrými funkčními a estetickými výsledky a zabránit následné recidivě (Januário a kol., 2016; Egozi a kol., 2015). Léčba nehojících se ran zahrnuje různé typy krytí s řadou cílů, včetně udržování vlhkého prostředí pro hojení ran (např. filmy, pěnová krytí, hydrokoloidy, algináty, hydrogely), snížení počtu bakterií a infekcí (např. obvazy obsahující stříbro, jód nebo chlorhexidin) nebo obvazy s cílem podpořit hojení, které obsahují kolagen nebo celulózu (Roehrs a kol., 2016; Egozi a kol., 2015). Vlhké prostředí pro hojení ran má mnoho výhod, například prevence tkáňové dehydratace, zmírnění bolesti, podpora angiogeneze a lepší interakce mezi růstovými faktory a cílovými buňkami (Namazi a kol., 2016). Nicméně, takové prostředí je ideálním místem pro kolonizaci patogenních bakterií. Z tohoto důvodu je výhodné vyvinout takový obvaz, který bude podporovat hojení ran a zároveň bude zabraňovat infekci. Antimikrobiální obvazy jsou navrženy tak, aby zajišťovaly řízené uvolňování účinné látky do rány, ale nebyly zároveň toxické pro jedince (Pei a kol., 2015; Egozi a kol., 2015).

1.1.1 Vyčištění ran pomocí selektivních a neselektivních metod

Debridement je jedním z nejdůležitějších kroků v léčbě ran, neboť nekrotická tkáň je vhodným místem pro kolonizaci bakterií a následné infekce. Debridement je odstranění nekrotických, devitalizovaných a infikovaných tkání a nečistot z rány (Nather a kol., 2016; Brown, 2013).

Debridement se dá rozdělit na selektivní a neselektivní. Selektivní debridement obecně zahrnuje použití endogenních nebo exogenních enzymů, které odstraňují nečistoty a poškozené tkáně, aniž by porušily zdravou tkáň. Enzymatické přípravky se používají

ve formě mastí nebo gelů, které obsahují streptokinázu, trypsin, fibrinolysin, proteázu nebo kolagenázu (Davidson, 2015). Do selektivního debridementu patří také autolytický debridement, který funguje na principu vlhkého hojení ran (využívá hydrofilní obvazy, jako jsou alginátové obvazy, polyuretanové krytí, hydrogelová krytí, hydrokoloidová krytí, krytí z hydrovláken nebo kolagenové krytí) a larvoterapie (Davidson, 2015).

Neselektivní (mechanický) debridement se používá pro čištění ran, přičemž nejčastější metoda využívaná pro odstranění odumřelých tkání je výplach rány. Účelem tohoto kroku je mechanicky spláchnout povrchové bakterie, nečistoty a zbytky nekrotické tkáně. Pokud se zvolí vhodný vyvážený roztok elektrolytů, nemusí dojít ani k porušení zdravých tkání. Mezi vhodné roztoky, které se používají, patří isotonický roztok (Ringerův roztok), hypotonický roztok (destilovaná voda) nebo antiseptický roztok (0,1% jodovaný povidon a 0,05% chlorhexidin diacetát) (Davidson, 2015).

1.1.2 Fáze hojení ran

Hojení ran je přirozený proces, který vede k obnově poškozených tkání a vytvoření nové pojivové tkáně. Tento proces je obvykle rozdělen do tří fází. První fáze se nazývá zánětlivá a probíhá mezi 1. až 5. dnem hojení. Zánětlivé buňky se snaží odstranit nečistoty a neživotaschopné tkáně. Krevní destičky uvolňují růstové faktory, které přitahují fibroblasty a ty produkují fibrin a kolagen. Extravazace může způsobit edém. Druhá fáze je proliferační a probíhá mezi 6. až 21. dnem hojení. V této fázi zánětlivé buňky slábnou a začínají se vytvářet nové cévy tzv. neovaskularizace. Ránu začíná vyplňovat granulační tkáň a rána se pomalu zavírá. Tehdy nastává třetí fáze, která se nazývá epitelizační. Tato fáze probíhá od 21. dne hojení a může trvat týdny až měsíce. Určení fáze hojení ran je důležité pro správný výběr vhodného krytí. Hodnotí se hlavně podle vlhké spodiny rány a množství exsudátu (Davidson, 2015; Díez-Pascual a Díez-Vicente, 2015).

1.1.3 Faktory přispívající k opožděnému hojení ran

Mezi hostitelské faktory patří podvýživa, stáří, jaterní onemocnění, diabetes mellitus, urémie a obezita. K vnitřním faktorům, které mají vliv na opožděné hojení ran, se řadí infekce, nadměrné množství exsudátu, nedostatek tepla, antiseptika, zhoršení prokrvení a nedostatečná vlhkost (vysušování rány). Vnějšími faktory jsou radiační léčba, některé chemoterapie a používání kortikosteroidů (Davidson, 2015)

1.1.4 Moderní krytí ran

Hlavním požadavkem moderního krytí je obnovit a udržet vlhké prostředí, které urychlí proces hojení ran (Oshin a Srinivasan, 2016). Dalšími požadavky moderního krytí jsou nízká přilnavost k povrchu rány, mechanická ochrana, poskytnutí tepelné izolace a ochrana rány před vnějšími kontaminanty. Také sem patří jednoduchá aplikace, snadná výměna, netoxická krytí nedráždicí kůži, adekvátní výměna plynů a přizpůsobení anatomickým obrysům. Další výhodou moderního krytí je absorpce přebytečného exsudátu a krve na povrchu rány, dále použití hypoalergenních materiálů a přiměřené náklady na výrobu a použití. (Davidson, 2015; Dissemond a kol., 2014)

Moderní krytí je rozděleno do mnoha kategorií. Obvykle se vyskytují ve formě tenkých filmů nebo fólií (Oshin a Srinivasan, 2016).

1.1.4.1 Alginátová krytí

Alginátové obvazy jsou vyráběny z hnědých mořských řas (chaluhy), ve kterých se přirozeně vyskytuje vápník a sodná sůl kyseliny alginové. Alginátová krytí jsou dále bohatá na kyselinu guluronovou a mannuronovou, které také ovlivňují vlastnosti daného krytí. Tato krytí se dělí na dva druhy, ty, které obsahují 100% alginát vápníku nebo ta krytí, která obsahují kombinaci vápníku s alginátem sodným, obvykle v poměru 80:20. Vlákná alginátu se částečně rozpouštějí při styku se sekretem z rány a vytváří silnou vrstvu hydrofilního gelu, který vyplní plochu rány. Hydrofilní gel má schopnost na sebe vázat hnis, bakterie i další nečistoty a zároveň udržovat ránu ve vlhkém prostředí (Davidson, 2015; Jones a kol., 2006).

Alginátová krytí jsou vhodná pro všechny typy secernujících ran, mají schopnost udržovat vlhké prostředí v ráně a zabránit bakteriální infekci, dále také mají dobré absorpční schopnosti a hemostatické účinky. Toto krytí je nevhodné pro málo secernující rány, neboť odstranění obvazu by mohlo poškodit zdravé tkáně a způsobit bolest. Do alginátového krytí jsou také často začleňovány antimikrobiální látky s pomalým uvolňováním dané látky do rány, například stříbro (Jones a kol., 2006; Sood a kol., 2014).

Mezi komerční zástupce alginátových obvazů patří Algiderm (Bard), Algisite™ (Smith & Nephew), Algisorb™ (Calgon Vestal), Algosteril® (Johnson & Johnson Medical), Kaltostat® (ConvaTec), Melgisorb® (Mölnlycke Health Care), SeaSorb® (Coloplast), Sorbsan® (Dow B. Hickam), Tegagen™ (3M Health Care) a Urgosorb® (Urgo Medical) (Dabiri a kol., 2016; Jones a kol., 2006).

1.1.4.2 Hydrogelová krytí

Hydrogelová krytí jsou vyrobena pomocí chemického či fyzikálního zesíťování syntetických polymerů, jako jsou polymetakryláty a polyvinylpyrrolidiny s vysokým obsahem vody až 96 %, které vytvářejí hydrofilní makromolekulární sítě (Kamoun a kol., 2017; Oshin a Srinivasan, 2016). Mezi vlastnosti hydrogelů patří flexibilita, schopnost udržovat vlhké prostředí v ráně, které podporuje autolytický debridement, granulační tkáň a epitelizaci. Dále mají hydrogelová krytí schopnost pohlcovat exsudát z rány a jsou biokompatibilní. Vzhledem k vysokému obsahu vody nemají schopnost absorbovat velké množství exsudátu, proto by měly být použity pro méně exsudativní rány. Nevýhodou tohoto krytí je jejich špatná mechanická stabilita, jsou také málo účinné proti mikroorganismům a mohou způsobovat maceraci (Jones a kol., 2006; Kamoun a kol., 2017; Oshin a Srinivasan, 2016).

Hydrogely se používají jako amorfní hydrogely ve formě gelů v tubě nebo ve formě klasických obvazů. Hydrogelová krytí nejsou vhodná pro vysoce secernující rány a rány s infekcemi. Hydrogely se často využívají pro nekrotické rány nebo pro zlomeniny, ale také pro dehydrataci suché tkáň. Mohou mít uplatnění i v léčbě popálenin. Tyto obvazy jsou neadherentní a poskytují určitou úlevu od bolesti (Davidson, 2015; Jones a kol., 2006; Madaghiele a kol., 2014).

Mezi komerční produkty hydrogelového krytí na trhu patří Clearsite[®] (Conmed Corporation), Curafil[™] (The Kendall Corporation), Curasol[®] (The Kendall Corporation), FlexiGel[™] (Smith & Nephew), NormGel[®] (SCA Hygiene Products), Intrasite[®] Gel (Smith & Nephew), Nu-Gel[®] (Johnson & Johnson Medical), Purilon (Coloplast), Transigel[™] (Smith & Nephew), Tegagel[™] (3M Health Care) a Vigilon[®] (CR Bard) (Dabiri a kol., 2016; Jones a kol., 2006).

1.1.4.3 Hydrokoloidní krytí

Hydrokoloidní obvazy jsou okluzivní nebo semiokluzivní obvazy, složené z vnější a vnitřní vrstvy. Vnější polopropustná vrstva je z polyurethanu a vyskytuje se ve formě filmu nebo pěnové fólie. Vnitřní vrstva je složená z hydrofilních koloidních částic, jako jsou sodná sůl karboxymethylcelulózy, pektin, želatina nebo elastomery. Hydrokoloidní obvaz ve styku se sekretem z rány vytváří gelovou vrstvu, která udržuje vlhké prostředí v ráně. Jestliže tyto gely absorbují velké množství exsudátu, polyuretanová vrstva se stane propustná pro vodu a vodní páry (Davidson, 2015; Dissemmond a kol., 2014; Fletcher a kol., 2011; Jones a kol., 2006; Sood a kol., 2014).

Hydrokoloidní krytí má schopnost udržovat vlhké prostředí v ráně a tím podporovat autolytický debridement, angiogenezi, zvyšovat počet dermálních fibroblastů, stimulovat produkci granulační tkáně a zvyšovat počet syntetizovaných kolagenů. Dále má schopnost absorbovat exsudát z rány, je samolepící i ve vlhkých podmínkách, zabraňuje sekundární infekci a tiší bolest. Nevýhodou tohoto krytí je tvořící se zápach z obvazu a riziko vzniku kontaktní dermatitidy (Dabiri a kol., 2016; Sood a kol., 2014).

Tyto obvazy jsou k dispozici v různých tvarech, velikosti a tloušťky pro různé anatomické oblasti těla. Hydrokoloidní krytí je vyráběno ve formě gelu nebo klasického obvazu. Je vhodné pro slabě nebo středně secernující rány, dále také pro nekrotické, granulované a pooperační rány a pro menší popáleniny (Dabiri a kol., 2016; Fletcher a kol., 2011; Sood a kol., 2014)

Krytí z hydrovláken se vyrábí ze sodné soli karboxymethylcelulózy a řadí se do hydrokoloidních obvazů. Výhodou těchto krytí je vysoká absorpční a retenční schopnost. Krytí z hydrovláken se používá pro velmi exsudativní rány. Příkladem tohoto krytí mohou být produkty jako Aquacel[®] nebo Versiva[®] XC[™] (ConvaTec) (Dabiri a kol., 2016; Davidson, 2015).

Mezi komerční produkty hydrokoloidního krytí patří CombiDERM[®] (Kalbe Farma), Comfeel[®] (Coloplast Sween, Inc.), Cutinova[®] (Smith & Nephew), DuoDERM[®] (ConvaTec), Granuflex[®] (ConvaTec), GranuGel[®] (ConvaTec), Hydrocol[®] (Dow Hickman), NuDerm[®] (Johnson & Johnson Medical), Tegaserb[™] (3M Health Care) (Dabiri a kol., 2016; Jones a kol., 2006).

1.1.4.4 Pěnová krytí

Pěnová krytí jsou složena z ochranné polyurethanové fólie, dále přizpůsobivou hydrofilní pěnovou vrstvou a absorpční vrstvou, která je složena z viskózních nebo akrylátových vláken, nebo také z polyakrylátu potaženého silikonem. Pórovitost třetí vrstvy umožňuje průnik exsudátu do absorpční pěny. Pěnové obvazy jsou potaženy silikonem pro bezbolestné odstranění obvazu z rány (Jones a kol., 2006; Walker a kol., 2014).

Pěnová krytí jsou navržena tak, aby absorbovala velké množství exsudátu z rány a udržovala vlhké prostředí k podpoře granulace a epitelizace. Toto krytí je nepřilnavé, umožňuje snadné odstranění z rány a poskytuje tepelnou izolaci (Davidson, 2015; Jones a kol., 2006).

Dané obvazy mohou být použity pro různé druhy ran. Jsou vhodné pro středně až vysoce exsudující rány, rány v granulační fázi a neinfikované rány (Sood a kol., 2014).

Existuje mnoho druhů pěnových obvazů na trhu, jako jsou například Allevyn[®] (Smith & Nephew), Biopatch[®] (Johnson & Johnson Medical), Curafoam[™] (The Kendall Corporation), Hydrasorb[®] (The Kendall Corporation), Lyofam[®] (Mölnlycke Health Care), Mepilex[®] (Mölnlycke Health Care) (Dabiri a kol., 2016; Jones a kol., 2006).

1.1.4.5 Transparentní krytí

Transparentní samolepicí krytí se skládá z polyurethanové fólie, která je potažena hypoalergenním akrylátovým lepidlem. Krytí propouští vzduch i vodní páry, ale zároveň poskytuje ráně spolehlivou ochranu před vodou a nebezpečnými mikroorganismy, proto umožňuje udržovat vlhké prostředí v ráně a tím podporovat autolytický debridement. Výhodou transparentního krytí je jeho pružnost, dobrá přizpůsobivost anatomickým tvarům a vizuální kontrola rány díky průhlednosti daného krytí (Dhivya a kol., 2015; Jones a kol., 2006).

Velké množství exsudátu v ráně u tohoto krytí vedlo k tvorbě otoků, neboť nemá dostatečnou schopnost absorpce. To mělo za následek destrukci kožních buněk, proliferaci bakteriálních buněk a zvýšení rizika infekce. Proto je vhodné toto krytí zejména pro nesecernující rány. Dále se dá využít i jako sekundární krytí k fixaci. Transparentní krytí není určeno pro infikované a silně secernující rány (Jones a kol., 2006; Oshin a Srinivasan, 2016).

Mezi komerčně dostupné produkty transparentního krytí patří Bioclusive[®] (Johnson & Johnson Medical), Blisterfilm[™] (The Kendall Corporation), Mefilm[®] (Mölnlycke Health Care), Omniderm[®] (Omikron Scientific Ltd.), Opsite[™] (Smith & Nephew), Polyskin[™] II (Johnson & Johnson Medical), Proclude[®] (ConvaTec), Tegaderm[™] (3M Health Care) (Dabiri a kol., 2016; Dhivya a kol., 2015).

1.1.4.6 Bioaktivní (biologická) krytí

Tyto obvazy jsou vyrobeny z biologického materiálu (karboxymethylcelulóza, kyselina hyaluronová, chitosan, alginát, kolagen, elastin), který hraje hlavní roli v procesu hojení ran. Výhodou biologických obvazů je to, že jsou biologicky rozložitelné, biokompatibilní, netoxické a podporují tvorbu nových tkání. Obvykle jsou začleňovány do obvazů spolu s antimikrobiálními látkami a růstovými faktory pro lepší terapeutickou aktivitu (Dhivya a kol., 2015; Oshin a Srinivasan, 2016).

Bioaktivní obvazy se obvykle využívají k léčbě akutních popálenin a nehojících se ran. Mezi bioaktivní krytí spadá i krytí, které obsahuje stříbro, jód, zinek, aktivní uhlí, med a také některé druhy koloidních a alginátových obvazů. Mezi komerční

produkty bioaktivního krytí patří Acticoat 7 (Smith & Nephew), Actisorb 220 (Systagenix), Aquacel Ag[®] (ConvaTec), Flexi-DRESS[®] (ConvaTec), Iodosorb (Smith & Nephew), Medihoney[®] (Derma Sciences), Promogran[™] (Systagenix) (Dabiri a kol., 2016; Sharma a kol., 2014; Weller a Sussman, 2006).

1.1.5 Vhodný výběr krytí podle typu rány

1.1.5.1 Exsudující rány

Pro tyto rány je nutné udržovat vlhké prostředí a absorbovat přebytečný exsudát. Pro exsudující rány (viz obrázek 1) se využívají hydrogely spolu s pěnovým krytím jako sekundární krytí na ránu. Příkladem hydrogelového krytí je například Vigilon[®] (CR Bard) nebo Curasol[®] (3M Health Care) a příkladem sekundárního pěnového krytí je Allevyn[®] (Smith & Nephew) a Biopatch[®] (Johnson & Johnson Medical). Využívát se mohou také alginátové obvazy, kde příkladem může být Algiderm (Bard) a Algisite[™] (Smith & Nephew) nebo antimikrobiální obvazy s cadexomerem jódu, kdy příkladem je Iodosorb (Smith & Nephew) (Bell a Hyam, 2007; Dabiri a kol., 2016).



Obrázek 1 Ukázka exsudující rány
(Bell a Hyam, 2007)

1.1.5.2 Granulující rány

U granulujících ran (viz obrázek 2) je nutné udržovat vlhké prostředí a je vhodné použít alginátová krytí nebo krytí z hydrovláken spolu se sekundárním krytím. Příkladem alginátového krytí lze uvést Algiderm (Bard) a Algisite[™] (Smith & Nephew) a příkladem u krytí z hydrovláken mohou být produkty Aquacel[®] nebo Versiva[®] (ConvaTec). Jako sekundární krytí se využívají pěnové obvazy, například produkty Allevyn[®] (Smith & Nephew) a Hydrasorb[®] (The Kendall Corporation) nebo se využívají hydrokoloidní obvazy, kde příkladem může být Hydrocol[®] (Dow Hickman) nebo Tegisorb[™] (3M Health Care) (Bell a Hyam, 2007; Dabiri a kol., 2016).



Obrázek 2 Ukázka granulující rány
(Bell a Hyam, 2007)

1.1.5.3 Nekrotické rány

Pro lepší hojení je nutné udržovat vlhké prostředí v ráně a odstranit suché, černé nekrotické tkáně (viz obrázek 3). Pro tento typ ran se využívají hydrogely, mezi které patří například Nu-Gel[®] (Johnson & Johnson Medical) a Vigilon[®] (CR Bard) a hydrokoloidy, mezi které se řadí Comfeel[®] (Coloplast Sween, Inc.) a DuoDERM[®] (ConvaTec) (Bell a Hyam, 2007; Dabiri a kol., 2016).



Obrázek 3 Ukázka nekrotické rány
(Bell a Hyam, 2007)

1.1.5.4 Infikované rány

Pro infikované rány (viz obrázek 4) se doporučuje využít antimikrobiální obvazy se stříbrem, kde příkladem je produkt Aquacel Ag[®] (ConvaTec) nebo s cadexomerem jódu produkt Iodosorb (Smith & Nephew), s aktivním uhlím produkt Actisorb 220 (Systagenix) nebo s medem produkt Medihoney[®] (Derma Sciences). Volba obvazu je ovlivněna hloubkou rány, množstvím exsudátu, zápachem a bolestí. Také se mohou použít systémová antibiotika (Bell a Hyam, 2007; Dabiri a kol., 2016; Weller a Sussman, 2006).



Obrázek 4 Ukázka infikované rány
(Bell a Hyam, 2007)

1.1.5.5 Epitelizační rány

Pro epitelizační rány (viz obrázek 5) se musí udržovat vlhké prostředí, chránit ránu a zabránit infekci. Využívá se především pěnová krytí, mezi které patří například Allevyn[®] (Smith & Nephew), Curafoam[™] nebo Hydrasorb[®] (The Kendall Corporation) (Bell a Hyam, 2007; Dabiri a kol., 2016).



Obrázek 5 Ukázka epitelizační rány
(Bell a Hyam, 2007)

1.1.5.6 Chirurgicky uzavřené rány

Pro tento typ ran (viz obrázek 6) se využívají hlavně absorpční samolepicí transparentní krytí, mezi které patří produkty Tegaderm[™] (3M Health Care), Polyskin[™] II (Johnson & Johnson Medical) nebo Mefilm[®] (Mölnlycke Health Care) (Bell a Hyam, 2007; Dabiri a kol., 2016).

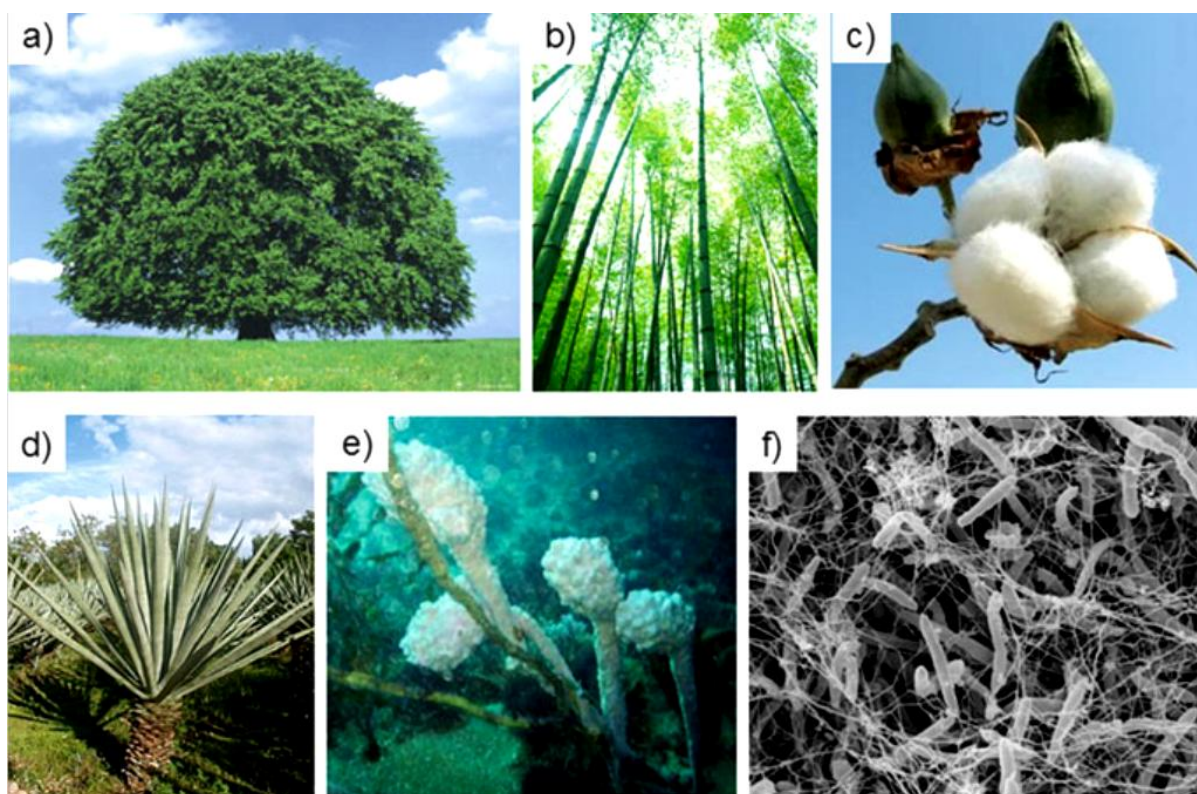


Obrázek 6 Ukázka chirurgicky uzavřené rány
(Bell a Hyam, 2007)

1.2 Celulóza

Celulóza je rozptýlená všude v přírodě, například v rostlinách, zvířatech, řasách, houbách i v minerálech (viz obrázek 7). Nicméně, celulóza se nejčastěji získává extrakcí z rostlin. Čistá celulóza se v přírodě téměř nevyskytuje. Nejčastěji obsahuje hemicelulózu a lignin. Některé houby a zelené řasy produkují celulózu jako například *Valonia ventricosa*, *Chaetomorpha melagonicum*, *Glaucocystis* i některá mořská zvířata jako *Ascidians*, obsahují celulózu. Kromě rodu *Gluconacetobacter*, dále také rody *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* a *Sarcina* mohou syntetizovat bakteriální celulózu z glukózy nebo z různých zdrojů uhlíku. Bakteriální celulóza neobsahuje lignin, pektin, hemicelulózu ani jiné biogenní prvky (Kucińska-Lipka a kol., 2015; Rojas, 2016).

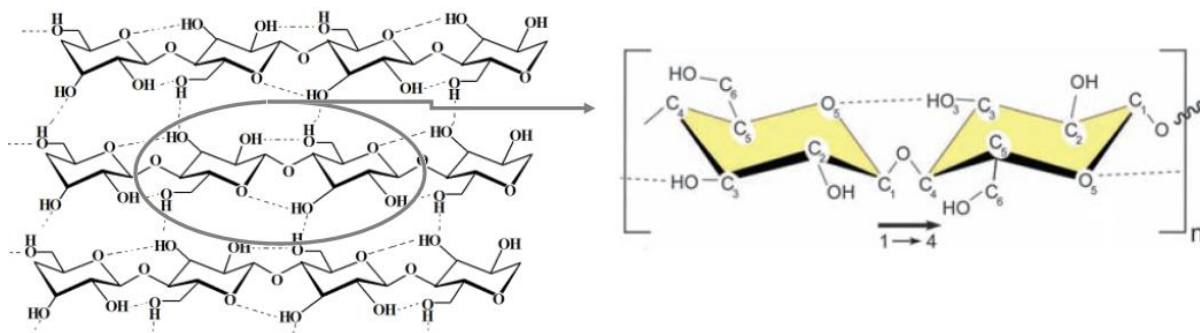
Celulóza má široké zastoupení ve stavebnictví, textilním průmyslu a výrobě papíru a výbušnin. Je také široce používána v oblasti biomedicíny (Kucińska-Lipka a kol., 2015; Singh a Khatri, 2012).



Obrázek 7 Možné zdroje celulózy: a) tvrdé dřevo (buk), b) bambus, c) bavlna, d) Agáve sisalová, e) Sumky a f) *Gluconacetobacter xylinum* (Rojas, 2016)

Polysacharid celulóza je hlavní složkou buněčné stěny a vyskytuje se i v některých živočišných tkáních. Celulóza je polymer s vysokou molekulovou hmotností, skládající

se z glukózových jednotek, spojených β -1,4-glykosidovou vazbou (viz obrázek 8). Vodíkové vazby spojují navzájem molekuly celulózy a díky této vazbě je celulóza snadno rozpustná v běžných rozpouštědlech (Halder a kol., 2005; Poletto a kol., 2013; Singh a Khatri, 2012).



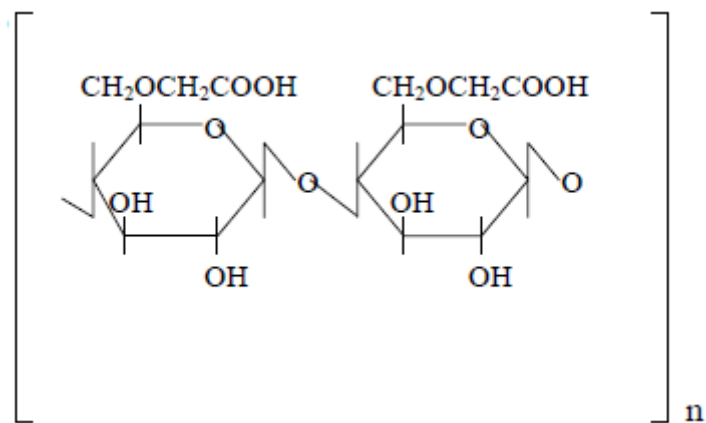
Obrázek 8 Vodíkové vazby spojující celulózové řetězce a glukózné jednotky spojené β -1,4-glykosidovou vazbou (Poletto a kol., 2013)

Celulóza snadno podléhá chemickým reakcím, proto může být snadno převedena na různé deriváty. Jeden z nejdůležitějších derivátů je karboxymethylcelulóza, obsahující karboxymethylovou skupinu ($-\text{CH}_2\text{COOH}$) a oxidovaná celulóza, obsahující karboxylovou skupinu ($-\text{COOH}$) (Singh a Khatri, 2012; Wu a kol., 2012).

Oxidovaná regenerovaná celulóza se vyskytuje v obvazech v kombinaci s různými látkami. Například s kolagenem pro snížení hladiny proteáz v ráně. Tím se obnoví rovnováha mikroprostředí, podpoří tvorba granulační tkáně, zvýší se antimikrobiální účinnost a urychlí se uzavření ran. Také má hemostatické účinky (Grothier, 2015).

1.3 Karboxymethylcelulóza

Karboxymethylcelulóza (CMC) je aniontový polymer, který je odvozen od celulózy (viz obrázek 9). Karboxymethylcelulóza se vyrábí pomocí Williamsonovy reakce, kdy spolu reaguje celulóza a kyselina chloroctová v přítomnosti přebytku hydroxidu sodného. Dále se dá tento polymer získat lisováním cukrové třtiny (Januário a kol., 2016).



Obrázek 9 Struktura 100% karboxymethylcelulózy

(Moseley a kol., 2003)

Karboxymethylcelulóza je dostupná v mnoha formách, které se liší stupněm substituce počtem hydroxylových skupin, viskozitou, velikostí částic, molekulovou hmotností, stupněm polymerace a dalšími parametry. Stupeň substituce ovlivňuje fyzikálně-chemické vlastnosti, včetně viskozity, rozpustnosti, schopnosti absorpce vody a stability. Připravují se dvě základní formy karboxymethylcelulózy a to kyselá forma karboxymethylcelulózy (HCMC) a sodná sůl karboxymethylcelulózy (NaCMC). Krytí připravené z těchto materiálů má schopnost absorbovat velké množství exsudátu a udržovat vlhké prostředí v ráně, dále má dobrou soudržnost materiálu a to umožňuje snadnou manipulaci a odstraňování krytí z rány. Kyselá forma karboxymethylcelulózy se získává vysrážením a okyselením sodné soli karboxymethylcelulózy na pH 2. Okyselení se provádí 5% roztokem kyseliny chlorovodíkové, kdy při této reakci vzniká kyselá forma karboxymethylcelulózy a chlorid sodný. Krytí z kyselé formy karboxymethylcelulózy je nerozpustné ve vodě a má tedy lepší schopnost udržovat vlhké prostředí v ráně, než krytí ze sodné soli karboxymethylcelulózy. Sodná sůl karboxymethylcelulózy je mnohem známější forma karboxymethylcelulózy, která má využití v mnoha oblastech, ve farmaceutickém průmyslu a biomedicínském průmyslu, dále se využívá ke stabilizaci emulzí nebo výrobě gelů. Obvazy na trhu, vyrobené ze sodné soli karboxymethylcelulózy, většinou neobsahují žádné antimikrobiální látky, kromě stříbra (Gajdziok a kol., 2015; Ramírez Rigo a kol., 2009; Vinklárková a kol., 2015; Vinklárková a kol., 2017).

Karboxymethylcelulóza má mnoho vlastností, jako je dobrá rozpustnost, viskozita, nepřilnavost k povrchům, nízká toxicita a imunogenicita, biologická rozložitelnost a schopnost vytvářet vlhké prostředí tím, že je hydrofilní. Také tvoří odolné gely, je fyziologicky inertní a může působit jako zahušťovadlo nebo stabilizátor v potravinách. Karboxymethylcelulóza je jeden z nejvíce univerzálních polymerů, který má zastoupení

v různých průmyslových oblastech jako jsou potravinářský průmysl, kosmetika, farmacie, papírenský, textilní průmysl, tkáňové inženýrství nebo biomedicínský průmysl, včetně krycích materiálů pro péči o rány (Fan a kol., 2014; Januário a kol., 2016; Siritientong a Aramwit, 2015).

Karboxymethylcelulóza se kombinuje s různými látkami pro vylepšení fyzikálních vlastností. Kombinace karboxymethylcelulózy a bílkoviny sericinu se používá pro získání stabilnějších a odolnějších hydrogelů vůči hydrolýze a enzymové degradaci, zatímco porézní struktura hydrogelů je zachována (Siritientong a Aramwit, 2015). Dále se může využít oxidovaná karboxymethylcelulóza v kombinaci s chitosanem pro zlepšení tepelné stability a pružnosti obvazů (Teotia a kol., 2012).

1.4 Produkty Hcel[®]

Firma Holzbecher Medical vyrábí biokompatibilní materiály na bázi celulózy, určené pro hojení ran. Vývoj těchto biokompatibilních materiálů je časově i finančně velmi náročná záležitost. Tyto biokompatibilní materiály na bázi celulózy, ať už bavlna či regenerovaná celulóza (například viskóza nebo acetáty celulózy), se využívají běžně jako krycí materiály na různé typy ran. Mezi upravované celulózové materiály, které tato firma vyrábí, patří karboxymethylovaná celulóza, sulfáty celulózy, oxidovaná celulóza nebo také modifikovaná celulóza spolu v kombinaci s chitosanem. Karboxymethylovaná celulóza se používána hlavně jako vysoce absorbující krytí. Tyto celulózové materiály se dají připravit v různých formách, například v gelovité struktuře, v impregnované a hydratované formě, v houbovité struktuře, v nanostruktuře či v kompozitní struktuře. Tyto materiály jsou vhodné také jako nosiče aktivních látek.

Karboxymethylované celulózové vzorky Hcel[®] jsou vyráběny z různých materiálů netkaných textilií, jako jsou celulóza ve formě PurCotton[®] (100 % přírodní bavlna), ve formě Tencel[®] (druh viskózových vláken z regenerované celulózy) nebo ve formě viskózy. Materiál Tencel[®] je vyroben z regenerované celulózy, která se rozpouští v rozpouštědle N-methylmorpholin-N-oxid. Vlákná z materiálu Tencel[®] mají mnohem větší pevnost v suchém i mokřém stavu oproti viskózovým vláknům a jsou vhodnou alternativou k materiálu PurCotton[®] (Badr a kol., 2016; Edwards a kol., 2001; Sopuch, 2017).

Produkty krytí Hcel[®] jsou univerzální tím, že se mohou použít pro všechny typy ran a také na různé fáze hojení ran. Krytí Hcel[®] HT nebo NaT je vyrobeno pomocí technologie spunlace bavlny (PurCotton[®]), která je poté karboxymethylována. Technologie spunlace

je proces výroby netkaných textilií, který využívá spojování vláken pomocí vysokorychlostních vodních trysek (Holzbecher, 2012; Chellamani a kol., 2013).

Krytí Hcel[®] je dostupné ve dvou základních formách, a to Hcel[®] NaT, které je vyrobeno ze sodné soli karboxymethylované celulózy a Hcel[®] HT, které je vyrobeno z kyselé formy karboxymethylované celulózy. Mezi výhody krytí Hcel[®] patří vysoká absorpční schopnost (hlavně Hcel[®] NaT), schopnost udržet vlhké prostředí v ráně. Krytí je biokompatibilní bez nežádoucích účinků a neobsahuje žádná aditiva. Hcel[®] HT má navíc antimikrobiální účinek na určité typy mikroorganismů (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *St. aureus* a *K. pneumoniae*) oproti Hcel[®] NaT (Holzbecher, 2012; Chellamani a kol., 2013; Sopuch a kol., 2013).

Krytí Hcel[®] HT absorbuje exsudát postupně. Antimikrobiální účinek Hcel[®] HT je založen převážně na bakteriostatickém a sorpčním efektu a dále také krytí Hcel[®] HT udržuje kyselé pH v kontaktu s ránou, což má příznivé účinky pro regulaci proteolytických enzymů. Hcel[®] HT se používá u ran s vyšším rizikem infekce a také jako pH modulující krytí. Výhodou Hcel[®] HT je pozvolné bobtnání materiálu a také vyšší pevnost textilního materiálu. Hcel[®] NaT absorbuje exsudát rychleji a proto se používá hlavně u ran s vyšší sekrecí. Krytí Hcel[®] NaT je doporučeno používat pouze pro rány bez mikrobiální infekce (Holzbecher, 2012).

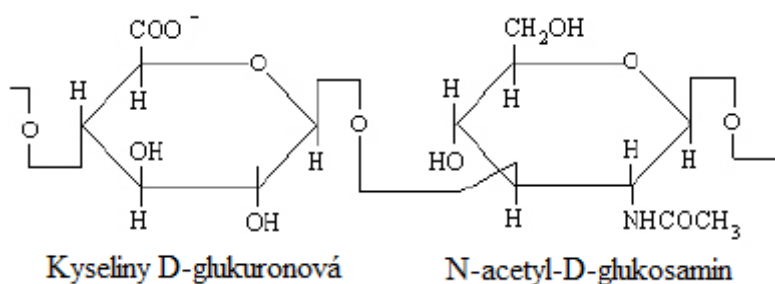
1.5 Technologie netkaných textilií

Všechny typy vláken, ať už přírodní nebo umělá vlákna, se mohou použít pro výrobu netkaných textilií. Volba vláken závisí na požadovaných vlastnostech, kterých chceme dosáhnout. Technologie netkaných textilií se skládá ze dvou fází, přípravy a zpevnění vlákenné vrstvy. Příprava vlákenné vrstvy se nejčastěji provádí pomocí procesu spunbond. Proces spunbond je nejkratší cesta k vytvoření rouna přímo z polymeru k výrobě netkaných textilií. Technologie spunbond se skládá ze zvlákňování polymeru a poté k vytváření a spojování rouna (Ghosh, 2014; Midha a Dakuri, 2017). Dále se výroba liší podle způsobu zpevnování vláken a použití pojiv. Zpevnování vláken se dá provést mechanickým, chemickým nebo termickým způsobem. Chemický způsob zpevnování vláken může probíhat impregnační lepidel, postřikem nebo pomocí použití pěny nebo prášku. Termické zpevnování vláken může být teplovzdušné, ultrazvukové nebo pomocí kalandrování. Mezi mechanické zpevnování vláken patří proplétání, vpichování a technologie spunlace (Ghosh, 2014).

Pro výrobu netkaných textilií pro biomedicíální aplikace se nejčastěji využívá technologie vpichování a spunlace. Technologie vpichování je vzájemné spojování svazků vláken pomocí jehel s ostny, čímž se vlákna navzájem do sebe zamotávají. Spunlace je proces výroby netkaných textilií, který využívá spojování vláken pomocí vysokorychlostních vodních trysek. Tento proces výroby zahrnuje tvorbou vlákenné vrstvy, která se pomocí vodních trysek zaplétá a zpevňuje, poté se odvodní a usuší. Netkané textilie, které jsou vyrobené pomocí technologie spunlace, mají vyšší pevnost a hebkost materiálu a také relativně velké absorpční schopnosti oproti technologii vpichování (Ghosh, 2014; Chellamani a kol., 2013).

1.6 Kyselina hyaluronová

Kyselina hyaluronová (HA) je nesulfátový glykosaminoglykan, který je složen z polymerních, opakujících se disacharidových jednotek kyseliny D-glukuronové a N-acetyl-D-glukosaminu (viz obrázek 10). Kyselina hyaluronová má řadu fyzikálně-chemických vlastností. Má unikátní viskoelastický charakter, je biokompatibilní, vysoce hydrofilní, biologicky rozložitelná, netoxická a neimunogenní. Díky těmto rozmanitým vlastnostem našla kyselina hyaluronová široká uplatnění v biomedicínských aplikacích, včetně osteoartrózy, oční chirurgie, kosmetické aplikace a tkáňového inženýrství. Může být aplikována intradermálně nebo taky lokálně (Nečas a kol., 2008; Neuman a kol., 2015; Papakonstantinou a kol., 2014).



Obrázek 10 Chemická struktura kyselina hyaluronové

(Nečas a kol., 2008)

Kyselina hyaluronová se nachází ve vysokých koncentracích v mnoha měkkých pojivových tkáních, hlavně ve formě solí, včetně kůže, pupečnickové šňůry, synoviální tekutiny a sklivce. Významná množství této kyseliny jsou také v plicích, ledvinách, mozku a svalových tkáních. Kyselina hyaluronová tvoří jednu ze základních složek mezibuněčné hmoty a pericelulárního matrixu. Dále se také vyskytuje intracelulárně. Mezi hlavní funkce

kyseliny hyaluronové patří hydratace tkání, což přispívá k hojení ran, dále obnova buněk pokožky, stimulace růstu nových buněk a mazání kloubů a svalů (Longinotti, 2014; Nečas a kol., 2008)

1.7 Látky s antimikrobiálními účinky

Antimikrobiální obvazy hrají důležitou roli v léčbě ran a infekce. Různé antimikrobiální látky jsou aplikovány lokálně nebo systémově k léčbě infikovaných ran již po tisíciletí. Prakticky všechny otevřené rány jsou kolonizovány mikroorganismy, ale jen některé rány jsou infikované. Infekce je definována jako přítomnost mikroorganismu, který ovlivňuje imunitní systém hostitele. To má za následek uvolňování toxinů, které zpomalují proces hojení ran. Infekce může být způsobena čtyřmi typy mikroorganismů, jako jsou bakterie, houby, viry a prvoci. Pravděpodobnost, že rána bude infikována, záleží na velikosti inokula a jeho virulenci, a nepřímo také souvisí s rezistencí hostitele. Infikované rány obvykle vyžadují antimikrobiální léčbu, zatímco neinfikované rány nikoliv (Gethin, 2009; Lipsky a Hoey, 2009; Vowden a kol., 2011).

Lokální antimikrobiální látky mohou být ve formě mastí, které jsou více okluzivní. Často obsahují vazelínu a používají se hlavně pro suché léze. Antimikrobiální látky se vyskytují také ve formě krémů, které jsou méně okluzivní než masti. Jsou omyvatelné vodou a využívají se hlavně pro vlhké léze. Antimikrobiální látky se také začleňují do obvazů, což umožňuje pomalé uvolňování antimikrobiální látky do rány. Antimikrobiální obvazy nabízejí mnoho výhod, snadno se aplikují na povrch rány, jsou široce dostupné, mají menší riziko vzniku rezistence a jsou k dispozici bez lékařského předpisu (Lipsky a Hoey, 2009; Vowden a kol., 2011).

Antimikrobiální látky dělíme do dvou hlavních skupin, jsou to antiseptika a antibiotika. Antiseptika jsou dezinfekční prostředky, které mohou být použity na neporušenou tkáň nebo na některé typy otevřených ran. Antiseptika se využívají pro usmrcení nebo inhibici mikroorganismů. Mají široká antimikrobiální spektra, protiinfekční aktivitu a mikrobiální rezistence je minimální. Antiseptika jsou ale často toxická pro hostitelské tkáně (například pro fibroblasty, keratinocyty a případně také pro leukocyty). Mezi antiseptika, která se začleňují do obvazů, patří stříbro, jód, peroxid vodíku, chlorhexidin, cetrimid, polyhexamethyl biguanid a med (Lipsky a Hoey, 2009; Vowden a kol., 2011).

Antibiotika jsou přirozeně vyskytující se nebo syntetické chemické látky, které mohou být podávány lokálně nebo systémově. Antibiotika mikroorganismy usmrcují nebo inhibují. Obvykle působí proti jedné konkrétní cílové buňce, mají tedy užší spektrum antimikrobiální účinnosti. Velkým problémem u antibiotik je mikrobiální rezistence vůči některým antibiotikům. Mezi antibiotika, která se využívají pro systémovou antimikrobiální terapii, patří sulfonamid, penicilin, bacitracin, gramicidin, aminoglykosid (včetně neomycinu), polymixin, tetracyklin a chloramphenicol. Mezi antibiotika, která se používají lokálně, patří mupirocin a retapamulin (Lipsky a Hoey, 2009; Vowden a kol., 2011).

1.7.1 Stříbro

Antimikrobiální obvazy obsahující stříbro jsou používány k hojení ran už mnoho let. Tyto obvazy jsou účinné proti širokému spektru bakterií, hub a virů. Jsou účinné i proti rezistentním bakteriím, jako jsou methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) a vankomycin-rezistentní *Enterococcus* (VRE). Mají také mnoho dalších výhod. Jednoduché použití, méně časté výměny obvazů, postupné uvolňování stříbra, absorpce nadměrného exsudátu, udržování vlhkého prostředí v ráně, usnadnění autolytického debridementu a navíc má stříbro nízké riziko bakteriální rezistence. Antimikrobiální účinnost stříbra závisí na tom, kde se stříbro ve struktuře obvazu vyskytuje. Obvazy, které obsahují stříbro na povrchu, ať už na jedné nebo obou stranách obvazu, jsou účinnější než ty, kde se stříbro vyskytuje v rámci struktury obvazu (Cooper, 2004, Leaper, 2012; Templeton, 2005).

Stříbro v obvazech se vyskytuje v pevné elementární formě nebo v podobě nanokrystalického stříbra. Je součástí anorganických sloučenin (oxidu stříbrného, chloridu stříbrného, sulfadiazinu stříbrného) nebo součástí organických komplexů (alginátu se stříbrem nebo karboxymethylcelulózy se stříbrem). Stříbrné soli mohou sloužit k vyčištění ran (například roztok dusičnanu stříbrného) nebo je také stříbro obsaženo v krémech nebo mastích ve formě sulfadiazinu stříbrného, který napomáhá hojení ran (Leaper, 2012; Templeton, 2005).

Kovové stříbro je poměrně nereaktivní, avšak když se vyskytuje ve vodním prostředí, uvolňují se stříbrné ionty. Ionty stříbra jsou vysoce reaktivní a ovlivňují bakteriální buňky, takže nakonec tyto ionty způsobí buněčnou smrt. Ionty stříbra na sebe váží proteiny a nukleové kyseliny a tím ovlivňují strukturální změnu buněčné stěny, membrány a nukleových kyselin bakterií, které mají vliv na jejich životaschopnost. Tyto ionty, které na sebe váží bakteriální DNA, blokují transkripci a ty ionty stříbra, které na sebe váží

povrchové buněčné komponenty, způsobují poruchu bakteriálního dýchání a syntézu ATP (Cooper, 2004, Leaper, 2012).

Obvazy obsahující stříbro se často vyskytují v kombinaci s aktivním uhlím. Aktivní uhlí může absorbovat a neutralizovat bakteriální toxiny a degradační produkty. Dále tyto obvazy mohou snižovat nepřiměřeně vysokou hladinu cytokinů v exsudátu nehojících se ran a antimikrobiálně působit. Tím dochází k lepšímu hojení ran. Stříbro se taky aktivně podílí na snížení bakteriální zátěže. Tyto obvazy jsou vhodné pro silně kolonizované a secernující rány. Používají se hlavně v kombinaci s vysoce absorbujícím sekundárním krytím, jako je například pěnové krytí (Kerihuel, 2009; Kerihuel, 2010).

1.7.2 Jód

Jód je tmavě fialový, nekovový prvek, který hraje klíčovou roli v lidském metabolismu. Je nezbytný pro tvorbu hormonů štítné žlázy a nedostatek jódu může vést k hypotyreóze. Jód je vysoce efektivní lokální antimikrobiální látka, která se používá k léčbě hojení ran už více než 170 let. Má široké spektrum antimikrobiální aktivity. Je tedy účinný proti bakteriím, mykobakteriím, houbám, prvokům a virům. Jód ovlivňuje strukturu a funkci enzymů a buněčných bílkovin, poškozují také funkci bakteriálních buněk tím, že blokuje vodíkové vazby a dokáže narušit strukturu bakteriální membrány. Tyto rozmanité způsoby působení zajišťují rychlou smrt mikroorganismů a pomáhají zabránit rozvoji bakteriální rezistence. Jód se využívá k léčbě akutních i nehojících se ran (Cooper, 2004; Sibbald a kol., 2011).

Jeden z prvních antiseptických jódových přípravků, který byl využit k ošetření ran, byl Lugolův roztok, který obsahuje jód v jodidu draselném. Lugolův roztok má dráždivé a žíravé účinky. Antimikrobiální vlastnost jódu byla poprvé prokázána v roce 1882. Od té doby hrají přípravky na bázi jódu důležitou roli v prevenci infekce rány (Atiyeh a kol., 2009; Sibbald a kol., 2011).

Elementární jód je relativně levný a snadno použitelný, ale kvůli své toxicitě se samotný nevyužívá. Jodofory jsou přípravky, obsahující jód s rozpouštěcím činidlem. Samotný jód je ve vodě špatně rozpustný. Jodofory jsou již dobře rozpustné ve vodě a to umožňuje pomalé uvolňování nízké koncentrace volného jódu do rány. Toto řízené uvolňování nízké koncentrace jódu napomáhá minimalizovat negativní cytotoxické účinky jódu (Sibbald a kol., 2011).

V obvazech se nejčastěji používají dva jodofory a to povidon jód (PVP-I) nebo cadexomer jód. Povidon jód je chemický komplex polyvinylpyrrolidonu

a elementárního jódu. Je nejvíce využíván v klinické praxi a je k dispozici v různých formách (roztok, krém, mast, sprej a obvaz na rány). Povidon jód napomáhá procesu hojení ran tím, že snižuje bakteriální zátěž a snižuje infekci v ráně. Povidon jód má uplatnění nejen při léčbě a prevenci infekcí v ranách, ale má také široké uplatnění i v medicíně jako chirurgické antiseptikum pro předoperační a pooperační čištění kůže a používá se také pro dezinfekci inertních povrchů. Cadexomer jód (Iodoflex) je polysacharidový komplex obsahující jód, který se vyznačuje pomalým uvolňováním velmi nízké koncentrace jódu do rány. Významně snižuje symptomy spojené s infekcí v ráně, jako jsou výpotek, zarudnutí, otok, nebo bolest (Cooper, 2004; Pospíšilová, 2010; Sibbald a kol., 2011).

1.7.3 Polyhexamethylen biguanid

Polyhexanmethylen biguanid (PHMB) je syntetická látka, která má antimikrobiální účinek proti grampozitivním a gramnegativním bakteriím. Polyhexanmethylen biguanid má negativní vliv na fosfolipidy v bakteriální membráně. Výsledkem je uvolňování polysacharidů a draselných iontů z vnější membrány, což vede k lýze buněk a k smrti mikroorganismů. Polyhexanmethylen biguanid je nejúčinnější v rozmezí pH 5 až 6 (Davidson, 2015; Mulder a kol., 2007; Tan a kol., 2016).

Dříve se polyhexanmethylen biguanid využíval v mnoha oblastech, například v obvazech pro akutní i nehojící se rány, v roztocích na čištění kontaktních čoček, v perioperačních čistících prostředcích, v čistících prostředcích na bazény, v kosmetice a v prostředcích pečujících o ústní dutinu. Avšak po zjištění rizik pro lidské zdraví a životní prostředí se již v těchto oblastech stále méně využívá (Mashat, 2016; Mulder a kol., 2007; Tan a kol., 2016).

1.8 Mikroorganismy, které se vyskytují v nehojících se ranách

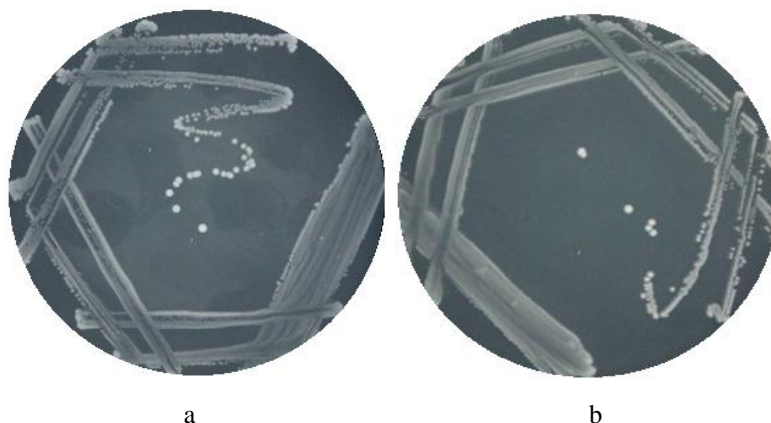
Neporušená kůže je dokonalou ochranou proti mikroorganismům. Porušená kůže umožňuje vniknutí různým druhům mikroorganismů do těla, bakteriím, kvasinkám nebo třeba houbám, což vede ke kolonizaci rány mikroorganismy, která může vést až k infekci rány. Otevřená rána poskytuje vlhké, teplé a výživné prostředí, ideální pro mikrobiální kolonizaci a proliferaci (Young, 2012).

Kontaminace rány pravděpodobně pochází ze tří hlavních zdrojů, a to z životního prostředí (exogenní mikroorganismy žijící ve vzduchu), z okolí kůže (na kůži se vyskytuje více než 200 druhů bakterií jako jsou *Staphylococcus epidermidis*, mikrokoky, *Propionibacterium* a další) a také z endogenního zdroje, který zahrnuje sliznice

(gastrointestinální trakt, orofaryngeální sliznice a genitourinární trakt). Antimikrobiální účinky daného krytí se testovaly na vybrané škále mikroorganismů, a to především na původcích nosokomiálních infekcí. Mezi ně patří MRSA, VRE, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* a další. Z těchto mikroorganismů mají největší vliv u nosokomiálních infekcí bakterie *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa*. *Escherichia coli* obvykle vyvolává infekce v močových cestách. *Staphylococcus aureus* je mnohem častější příčinou infekce na různých částech těla, způsobuje například různé infekce v krvi. A *Pseudomonas aeruginosa* je považována za původce jedné desetiny všech nosokomiálních infekcí. Nadměrné a nevhodné používání širokospektrých antibiotik dále ještě zvyšuje počet nosokomiálních infekcí (Bowler a kol., 2001; Khan a kol., 2015; Young, 2012).

1.8.1 *Enterococcus faecalis* a VRE

Enterokoky jsou grampozitivní, nepohyblivé, nesporulující, fakultativně anaerobní koky, které jsou přirozenou součástí gastrointestinálního traktu člověka i zvířete. Jsou to oportunní patogeny způsobující infekci močových cest, endokarditidu, infekci rány, bakteriémií, divertikulitidu, meningitidu a sepsi. Enterokoky jsou nosokomiální bakterie, které nemají mnoho faktorů virulence na rozdíl od bakterie *Staphylococcus aureus*, a proto obvykle působí potíže pouze u imunokompromitovaných pacientů (Gajan a kol., 2013; Gosbell, 2002; Poulsen a kol., 2012; Van Tyne a kol., 2013).



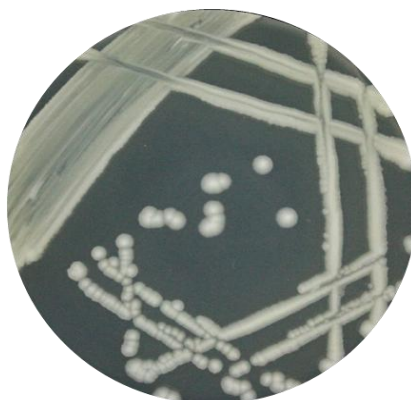
Obrázek 11 VRE (a) a *Enterococcus faecalis* (b) na M-H agaru, kultivace při 37 °C 24 hodin
(foto autor)

Některé kmeny tohoto rodu mají vyvinutou rezistenci vůči některým určitým druhům antibiotik, jako jsou cefalosporiny, fluorochinolony, aztreonam, klindamycin a metronidazol. Většina enterokokových infekcí je způsobena druhem *Enterococcus faecalis* (viz obrázek 11), který má dobrou citlivost k aminopenicilinům, proto jsou používány jako první volba léků v terapii u enterokokových infekcí. Enterokoky mají také získanou rezistenci vůči vankomycinu, z toho vyplývá název vankomycin-rezistentní *Enterococcus* (VRE) (Gajan a kol., 2013; Gosbell, 2002; Vágnerová a Kolář, 2003).

1.8.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) je gramnegativní, fakultativně anaerobní tyčinka, která patří do čeledi *Enterobacteriaceae*. *E. coli* je nově vznikající nosokomiální patogen, který způsobuje velké problémy v zdravotnických zařízeních. Kmeny *E. coli* mohou mít mnoho kombinací somatických (O, H, A) antigenů a flagelárních (H) antigenů. Většina kmenů *E. coli* je přirozenou a neškodnou součástí gastrointestinálního traktu u lidí a zvířat. Nicméně existují i některé kmeny *E. coli*, které jsou patogenní, a které způsobují mnoho onemocnění (Adamu a kol., 2014; Khan a kol., 2015; Lim a kol., 2010; Welch, 2006).

Patogenní kmeny *E. coli* vyvolávají dva typy onemocnění, intestinální onemocnění projevující se průjmy a extraintestinální onemocnění způsobující různé infekce, včetně infekce močových cest, dále meningitidu, septikémii, cystitidu a pyelonefritidu. Patogenita *E. coli* závisí na faktorech virulence, které jsou získávány prostřednictvím plazmidů, transpozonů, bakteriofágů nebo na specifických místech, nazvaných ostrovy patogenity (Jafari a kol., 2012; Lim a kol., 2010). Bakterie *E. coli* na M-H agaru po 24 hodinové kultivaci při 37 °C je ukázána na obrázku 12.



Obrázek 12 *Escherichia coli* na M-H agaru, kultivace při 37 °C 24 hodin
(foto autor)

1.8.3 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae (viz obrázek 13) je gramnegativní bakteriální patogen, patřící do čeledi *Enterobacteriaceae*, který je často příčinou nosokomiálních infekcí. Mezi faktory virulence *Klebsiella pneumoniae* patří kapsulární polysacharid (CPS), siderofory, lipopolysacharid (LPS) a adheziny (Cano a kol., 2009).

Klebsiella pneumoniae je součástí běžné flóry úst, kůže, trávicího traktu a vyskytuje se také volně v životním prostředí. U lidí s imunodeficiencí nebo imunokompromitovaných jedinců je výskyt bakterie *Klebsiella pneumoniae* mnohem vyšší než u zdravých osob. *Klebsiella pneumoniae* se vyskytuje ve větší míře v plicích, močových cestách, krvi, játrech a dalších orgánech. Tato bakterie může způsobovat pneumonii a také infekci močového ústrojí, hlavně u lidí se sníženou imunitou. *Klebsiella pneumoniae* má rezistenci vůči více antibiotikům, včetně širokospektrého antibiotika cefalosporinu a β -laktamu, proto je antibiotická léčba u bakterie *Klebsiella pneumoniae* obtížná (Cano a kol., 2009; Wu a Li, 2015).



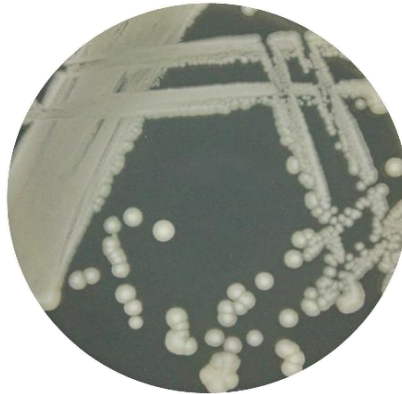
Obrázek 13 *Klebsiella pneumoniae* na M-H agaru, kultivace při 37 °C 24 hodin
(foto autor)

1.8.4 *Morganella morganii*

Morganella morganii (viz obrázek 14) je gramnegativní, fakultativně anaeróní tyčinka, která patří do čeledi *Enterobacteriaceae*. Dříve byla *Morganella morganii* řazena do rodu *Proteus* (známá tedy i jako *Proteus morganii*). Rod *Morganella* se v současné době skládá z jediného druhu a to *Morganella morganii* se dvěma poddruhy, *Morganella morganii* subsp. *morganii* a *Morganella morganii* subsp. *sibonii* (Liu a kol., 2016).

Morganella morganii je široce rozšířena v přírodě a také se vyskytuje běžně jako součást normální flóry v gastrointestinálním traktu u lidí a zvířat. Mezi faktory virulence *Morganella morganii* spadá ureáza, hemolyziny a lipopolysacharid. Patogenita této bakterie

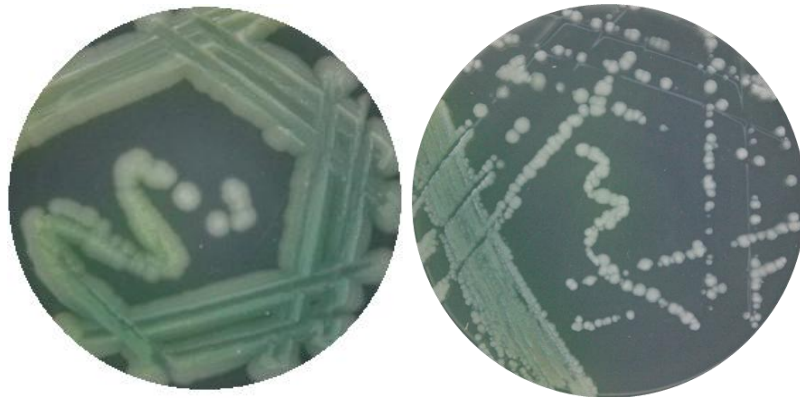
je nízká, ale může způsobovat různé infekce, například infekce poopračních ran, kůže, měkkých tkání a močového traktu. Dále také sepsi, abscesy, meningitidu, endoftalmitidu a chorioamnionitidu, hlavně u jedinců s oslabenou imunitou. *Morganella morganii* může být rezistentní k některým antibiotikům, neboť nese různé geny rezistence (Falagas a kol., 2006; Liu a kol., 2016).



Obrázek 14 *Morganella morganii* na M-H agaru, kultivace při 37 °C 24 hodin
(foto autor)

1.8.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa (viz obrázek 15) je gramnegativní, aerobní, pohyblivá nefermentující tyčinka, patří do čeledi *Pseudomonadaceae*. Kolonie *Pseudomonas aeruginosa* mají typický modrozelený nebo žlutozelený pigment. Mezi faktory virulence *Pseudomonas aeruginosa* patří tvorba biofilmů usnadňující přilnutí k hostitelskému epitelu a uniknutí imunitnímu systému hostitele, produkce extracelulárních proteáz a efektorových proteinů. *Pseudomonas aeruginosa* je jedním z předních nosokomiálních patogenů, který je schopný způsobit infekci v těle. Infekce vyvolané tímto mikroorganismem jsou obtížně léčitelné kvůli rezistenci na některá antibiotika, převážně na β -laktamy nebo aminoglykosidy. U pacientů s cystickou fibrózou způsobuje *Pseudomonas aeruginosa* pneumonii (Alhazmi, 2015; Moore a kol., 2016; Yordanov a Strateva, 2009).

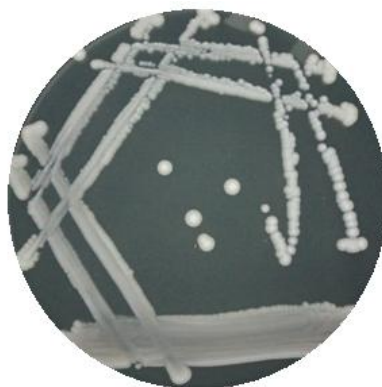


Obrázek 15 *Pseudomonas aeruginosa* na M-H agaru, kultivace při 37 °C 24 hodin
(foto autor)

1.8.6 *Serratia marcescens*

Serratia marcescens (viz obrázek 16) je gramnegativní tyčinka patřící do čeledi *Enterobacteriaceae*. Tato saprofytická bakterie je široce rozšířena ve vodách, půdách, rostlinách, gastrointestinálním traktu lidí a zvířat a také v potravinách, především v potravinách obsahujících škrob, který poskytuje pro bakterii *Serratia marcescens* vhodné prostředí (Rodrigues a kol., 2006; Yang a kol., 2012).

Serratia marcescens způsobuje nosokomiální infekce, zejména u imunosuprimovaných jedinců, které jsou těžko léčitelné kvůli rezistenci k některým antimikrobiálním látkám jako jsou β -laktamy, aminoglykosidy a fluorochinolony. *Serratia marcescens* je spojena s infekcemi dýchacího ústrojí a močových cest, dále s keratitidou, meningitidou, endokarditidou a s infekcemi ran (Yang a kol., 2012).



Obrázek 16 *Serratia marcescens* na M-H agaru, kultivace při 37 °C 24 hodin
(foto autor)

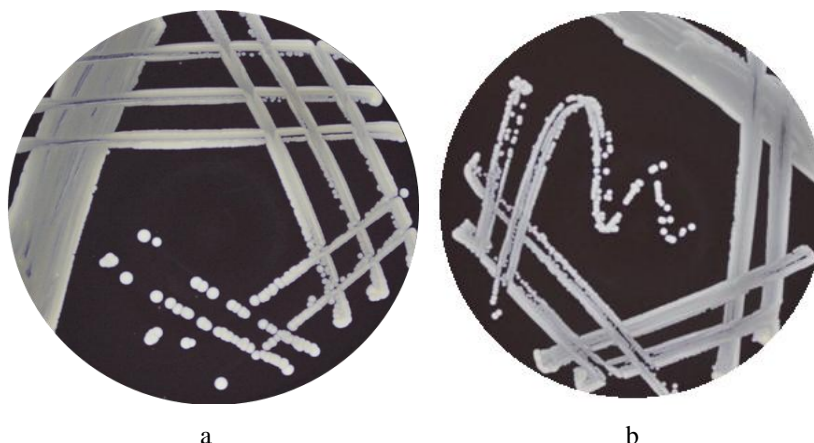
1.8.7 *Staphylococcus aureus* a MRSA

Staphylococcus aureus (viz obrázek 17) jsou grampozitivní, fakultativně anaerobní, nepohyblivé, nesporulující koky o průměru 0,5 až 1,5 μm . Tyto koky jsou uspořádány

jednotlivě, v řetízcích nebo do tvaru hrozu. Rod *Staphylococcus* se dělí podle schopnosti koagulovat plazmu na koaguláza pozitivní a koaguláza negativní stafylokoky. Stafylokoky se běžně vyskytují na kůži a sliznicích jako součást normální mikroflóry (Méndez-Vilas, 2013; Plata a kol., 2009).

Staphylococcus aureus je všestranný patogen, který je schopný vyvolat širokou škálu onemocnění. Může způsobovat hluboké infekce, jako jsou endokarditida a osteomyelitida, dále různé záněty, abscesy, pneumonii, bakteriémii a stafylokokové enterotoxikózy. Další onemocnění, která vyvolávají stafylokoky, způsobují svými toxiny (například syndrom toxického šoku). *Staphylococcus aureus* má schopnost vytvářet biofilmy na hostitelském povrchu, což mu umožňuje vyhýbat se imunitnímu systému hostitele i antimikrobiálním látkám (Gordon a Lowy, 2008; Haddadin a kol., 2002; Plata a kol., 2009).

Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA) je bakterie patřící do druhu *Staphylococcus aureus*, která je přirozeně rezistentní vůči methicilinu. MRSA způsobuje závažné nosokomiální infekce. Při léčbě infekcí MRSA se využívají antibiotika jako glykopeptid a vankomycin (Haddadin a kol., 2002; Méndez-Vilas, 2013).

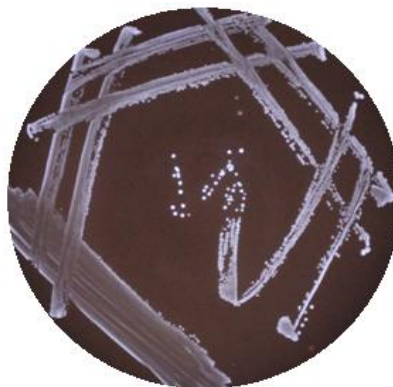


Obrázek 17 *Staphylococcus aureus* (a) a MRSA (b) na M-H agaru s krví, kultivace při 37 °C 24 hodin
(foto autor)

1.8.8 *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae (viz obrázek 18) je grampozitivní, nepohyblivý, nesporulující, fakultativně anaerobní, β -hemolytický kok, který je řazen podle Lancefieldové do skupiny B. *Streptococcus agalactiae* je přirozenou součástí gastrointestinálního traktu, močového ústrojí a genitálního traktu u žen. Tento patogen je častou příčinou neonatální sepsy a meningitidy zejména u novorozenců a těhotných žen. Dále *Streptococcus agalactiae* může způsobovat mastitidu, poporodní infekce, endokarditidu, předčasné prasknutí plodové vody a chorioamnionitidu u těhotných žen. Také může vyvolat různé infekce kůže,

měkkých tkání a močových cest, pneumonii, peritonitidu a bakteriémii, hlavně u imunokompromitovaných jedinců. U infekcí způsobené *Streptococcus agalactiae* je první volbou léků penicilin, dále se také může použít erytromycin a klindamycin (Arif a kol., 2015; El Beitune a kol., 2005; Garland a kol., 2011; Chaiwarith a kol., 2011; Savini a kol., 2013).



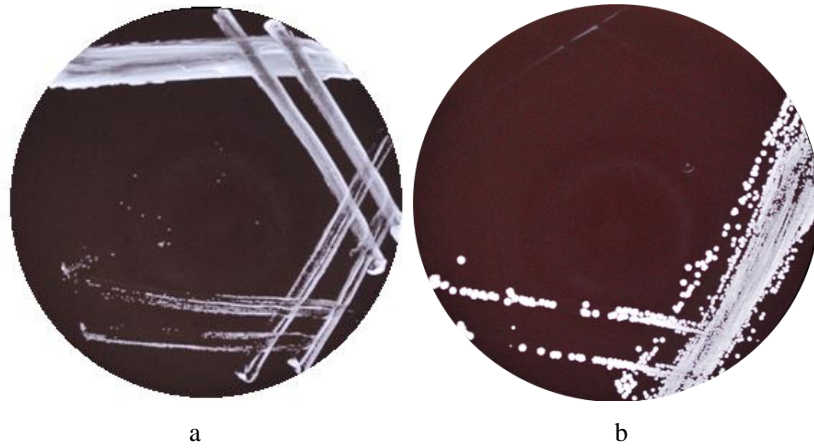
Obrázek 18 *Streptococcus agalactiae* na M-H agaru s krví, kultivace při 37 °C 24 hodin
(foto autor)

1.8.9 *Candida albicans*

Candida albicans (viz obrázek 19) je druh kvasinky, která se běžně vyskytuje v gastrointestinálním traktu, ženském genitálním traktu a je také součástí ústní mikroflóry. *Candida albicans* je polymorfní houba, která má schopnost vytvářet různé struktury buněk, například hyfy, pseudohyfy nebo chlamydospory (Mayer a kol., 2014; Mendes Giannini a kol., 2013).

Candida albicans je převládající druh rodu *Candida*, který způsobuje různé infekce. Patogenita druhu *Candida albicans* je dána schopností mikroorganismu vyhnout se imunitnímu systému hostitele, adhezenci k hostitelským povrchům, tvorbě biofilmu na hostitelských tkáních či na různých zdravotnických prostředcích a produkcí hydrolytických enzymů, které poškozují tkáně, jako jsou protéazy, fosfolipázy a hemolyziny. Infekce způsobené *Candida albicans* se nazývají kandidóza. Tyto infekce nejčastěji postihují osoby se sníženým imunitním systémem vlivem HIV, rakoviny, transplantace orgánů nebo dialýzy. *Candida albicans* může také způsobit kandidurii, peritonitidu, endokarditidu, perikarditidu, endoftalmitidu, meningitidu nebo pneumonii (Mayer a kol., 2014; Mendes Giannini a kol., 2013; Wilson a kol., 2009).

Infekce způsobené *Candida albicans* se léčí antimykotiky. Existuje mnoho typů orálních a lokálních antifugálních léků. Nejvíce se využívá flukonazol, itrakonazol nebo amfotericin B (Behzadi a kol., 2015).



Obrázek 19 *Candida albicans* na M-H agaru s krví, kultivace při 37 °C 24 hodin (a) a při 30 °C 48 hodin (b)
(foto autor)

2 PRAKTICKÁ ČÁST

2.1 Přístroje a zařízení

- Bacmed[®] G2 (Aspiag s.r.o., Česká republika)
- Biologický termostat BT 120M (Laboratorní přístroje Praha, Česká republika)
- Horkovzdušný sterilizátor 202 A (BMT Medical technology s.r.o., Česká republika)
- Horkovzdušný sterilizátor STERIMAT 5104.2 (BMT Medical technology s.r.o., Česká republika)
- Lednice na čisté živné půdy (Liebherr, Německo)
- Lednice na infekční materiál (Gorenje, Slovensko)
- Likvidační autokláv Systec VX-40 (Biotech, Česká republika)
- Parní sterilizátor STERILAB[®] (BMT Medical technology s.r.o., Česká republika)
- Předvážky KERN 440-43 a KERN KB (Kern, Německo)
- Vortex V-1 plus – Biosan (Biotech, Česká republika)

2.2 Laboratorní pomůcky

- Automatické pipety
- Erlenmeyerovy baňky
- Kahan
- Kovová pinzety
- Kovová víčka
- L–hokejky
- Navažovací pomůcky
- Nůžky
- Odměrné válce
- Pinzeta
- Jednorázový plastový materiál (plastové očkovací kličky, plastové Petriho misky, plastové špičky)
- Skleněné zkumavky
- Stojan na zkumavky
- Vatové tyčinky

2.3 Kultivační média

2.3.1 Mueller-Hinton agar (M-H agar) a Mueller-Hinton agar s krví, HiMedia (Indie)

Mueller-Hinton agar s krví nebo bez krve byl využíván k 24 hodinové kultivaci a k uchování bakteriálních kmenů. Dále byl využíván ke zjištění antibakteriálního účinku obvazového krytí difuzní metodou.

M-H agar byl složen z hovězí masové infuse (300,0 g/l), kyselého hydrolyzátu kaseinu (17,5 g/l), škrobu (1,5 g/l), agaru (17,0 g/l) a destilované vody (1000 ml).

Do 1000 ml destilované vody bylo naváženo 38,0 g přípravku Mueller Hinton agar a po úplném rozpuštění byl roztok sterilizován v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Do M-H agaru s krví bylo navíc přidáno po ochlazení na 45 °C 5 ml defibrilované beranní krve na 100 ml agaru. Petriho misky s příslušným nalitým agarem byly skladovány při chladničkové teplotě (2 až 5 °C) maximálně 7 dní.

2.3.2 Brain Heart Infusion Broth (BHI bujón), HiMedia (Indie)

BHI bujón byl využíván k pomnožení bakteriálních buněk. Byl složen z telecí mozkové infuse (200,0 g/l), hovězí srdcové infuse (250,0 g/l), proteosového peptonu (10,0 g/l), chloridu sodného (5,0 g/l), hydrogenfosforečnanu disodného (2,5 g/l) a dextrosy (2,0 g/l).

V 1000 ml destilované vody bylo rozmícháno 37,0 g přípravku Brain Heart Infusion Broth a po úplném rozpuštění byl roztok sterilizován v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Takto připravený zchlazený bujón byl skladován při chladničkové teplotě (2 až 5 °C) maximálně 7 dní.

2.3.3 Malt Extract Broth Base (MALT bujón), HiMedia (Indie)

MALT bujón byl využíván k pomnožení buněk kvasinky *Candida albicans*. MALT bujón byl složen ze sladového extraktu (17,0 g/l) a mykologického peptonu (3,0 g/l).

V 1000 ml destilované vody bylo rozmícháno 20,0 g přípravku Malt Extract Broth Base a poté byla tato směs sterilizována v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Zchladnutý bujón byl skladován při chladničkové teplotě (2 až 5 °C) maximálně 7 dní.

2.3.4 Krevní agar (KA), HiMedia (Indie)

Krevní agar byl používán k ověření denzity buněk mikrobiální suspenze u testovaných bakterií. Byl složen z proteázového peptonu (15,0 g/l), játrového extraktu (2,5 g/l), kvasničného extraktu (5,0 g/l), chloridu sodného (5,0 g/l) a agaru (15,0 g/l).

V 1000 ml destilované vody bylo rozmícháno 42,5 g směsi krevního agarů. Poté byl tento roztok sterilizován v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Po zchladnutí roztoku na teplotu 45 až 50 °C bylo do půdy asepticky přidáváno 5 ml defibrilované beranní krve na 100 ml agarů a ihned byla půda rozlita do plastových Petriho misek. Po zchladnutí agarů byly půdy skladovány při chladničkové teplotě (2 až 5 °C) maximálně 7 dní.

2.3.5 Živný (masopeptonový) agar č. 2 (MPA), HiMedia (Indie)

Masopeptonový agar (MPA) byl využíván k ověření denzity buněk mikrobiální suspenze testovaných bakterií. MPA obsahoval peptonový výtažek ze zvířecích tkání (10 g/l), hovězí extrakt (10 g/l), chlorid sodný (5 g/l) a agar (15 g/l).

V 1000 ml destilované vody bylo rozpuštěno 40 g přípravku MPA a poté byl tento roztok sterilizován v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Po zchladnutí byla půda rozlita do plastových Petriho misek a po ztuhnutí byly tyto misky skladovány při chladničkové teplotě (2 až 5 °C) maximálně 14 dní.

2.3.6 MALT agar, HiMedia (Indie)

MALT agar byl používán k ověření denzity buněk v mikrobiální suspenzi kvasinky *C. albicans*. MALT agar byl složen ze sladového extraktu (30 g/l) a agarů (15 g/l).

V 1000 ml destilované vody bylo rozpustěno 45 g směsi MALT agarů a poté byl tento roztok sterilizován v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Po zchladnutí byla tato půda rozlita do plastových Petriho misek a po utuhnutí skladována při chladničkové teplotě (2 až 5 °C) maximálně 14 dní.

2.4 Použité mikroorganismy a podmínky inkubace

Pro testování antimikrobiální účinnosti daných vzorků byly vybrány mikroorganismy, které se mohou nejčastěji vyskytovat v nehojících se ranách. Bylo použito deset bakterií a jedna kvasinka. U vybraných vzorků byly použity jen některé z těchto mikroorganismů, a to vybraní zástupci grampozitivních bakterií, zástupci gramnegativních bakterií a kvasinka *Candida albicans*.

Všechny tyto mikroorganismy byly kultivovány na M-H agarů s krví nebo bez krve po dobu 24 hodin při 37 °C. Pouze kvasinka *Candida albicans* byla kultivována 48 hodin při 30 °C na M-H agarů s krví. Tyto mikroorganismy byly všechny kultivovány aerobně.

Bakterie

<i>Escherichia coli</i>	CCM 3954
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CCM 3955
<i>Staphylococcus aureus</i>	CCM 4223
<i>Enterococcus faecalis</i>	kmen izolovaný z nehojící se rány pacienta LN
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	kmen izolovaný z nehojící se rány pacienta LN
<i>Morganella morganii</i>	kmen izolovaný z nehojící se rány pacienta LN
MRSA	kmen izolovaný z nehojící se rány pacienta FNHK
<i>Serratia marcescens</i>	kmen izolovaný z nehojící se rány pacienta LN
<i>Streptococcus agalactiae</i>	kmen izolovaný z nehojící se rány pacienta LN
VRE	kmen izolovaný z nehojící se rány pacienta FNHK

Kvasinka

<i>Candida albicans</i>	CCM 8215
-------------------------	----------

2.5 Metody stanovení

U všech vzorků obvazového krytí byla využita difuzní agarová metoda pro zjištění antimikrobiálního účinku daného krytí. Tato kvalitativní metoda slouží ke zjištění baktericidního či bakteriostatického účinku na vybrané mikroorganismy a daný obvazový materiál.

2.5.1 Difuzní agarová metoda – zjišťování antimikrobiálního účinku

Difuzní agarová metoda slouží ke kvalitativnímu posouzení antimikrobiálního účinku u testovaného obvazového materiálu. Zjišťuje průměr inhibičních zón kolem daného vzorku a tím zároveň zjišťuje citlivost určitého mikroorganismu k danému materiálu. Dále se dá touto metodou také určit, zda má určitý mikroorganismus baktericidní či bakteriostatický účinek.

Prvním krokem u této metody bylo pomnožení bakteriálních buněk v BHI bujónu (k pomnožení buněk kvasinky *Candida albicans* se využil MALT bujón). Po 24 hodinové kultivaci se z těchto suspenzí asepticky odpipetovalo 0,1 ml příslušného inokula na utuhlou živnou půdu a suspenze se rozetřela vysterilizovanou L-hokejkou či vatovou tyčinkou. Poté se asepticky pinzetou vložil testovaný krycí materiál rozměru 2x2 cm. U testovaných karboxymethylovaných vzorků s Hyiodinem[®] se navíc na utuhlou živnou půdu s rozetřenou suspenzí daného mikroorganismu přidal asepticky pipetou 0,1 ml Hyiodine[®]. Petriho misky s inokulovanými mikroorganismy byly kultivovány při 37 °C 24, 48, 72 hodin, 6 a 7 dní

(kvasinka při 30 °C). Vše se provádělo vždy v dubletech. Po těchto časových údajích byly vždy odečteny inhibiční zóny kolem daného vzorku. Po odečtení těchto zón se asepticky odebral testovaný krycí materiál a z tohoto místa se provedl stěr na určení bakteriostatického či baktericidního účinku, který byl dále očkovan na stejné čisté agarové médium, a Petriho miska byla inokulována při stejných podmínkách ještě dalších 24 hodin. Po kultivaci, dle růstu, byl hodnocen účinek materiálu (bakteriostatický či baktericidní).

2.6 Vzorky z karboxymethylované celulózy

Vzorky z karboxymethylované celulózy byly dodávány panem Ing. Tomášem Sopuchem z firmy Holzbecher, spol. s. r. o. barevna a bělidlo Zlích. Tyto vzorky se lišily výrobou a také obsahem látek. Některé testované vzorky byly vyrobeny technologií spunlace z PurCotton[®], jiné spunlace z Tencel[®] nebo z viskózy. Jiné obsahovaly navíc kyselinu hyaluronovou nebo Alaptid. Všechny vzorky z karboxymethylované celulózy byly testovány difuzní agarovou metodou pro zjištění antimikrobiálního účinku těchto krycích materiálů (Sopuch, 2017).

2.6.1 Testované vzorky

2.6.1.1 Testované krytí Hcel[®] HT, HT soft, NaT a NaT soft

Tento krycí materiál je připraven z modifikované celulózy (karboxymethylcelulózy). Hlavní rozdíl produktu Hcel[®] HT a NaT je v tom, že krytí Hcel[®] NaT je vyrobeno ze sodné soli karboxymethylované celulózy připravené z nativní celulózy PurCotton[®] technologií spunlace (jak nízkotlakou (soft), tak vysokotlakou technologií, zatímco krytí Hcel[®] HT je vyrobeno z kyselé formy karboxymethylované celulózy. Hcel[®] HT má výhodu v postupné sací schopnosti od 5 do 12 g/g oproti krytí Hcel[®] NaT, kde probíhá rychlá absorpce a absorpční kapacita je do 15 g/g. Vzorky Hcel[®] HT soft a Hcel[®] NaT soft jsou chemicky identická se vzorky Hcel[®] HT a Hcel[®] NaT, ale mají odlišné strukturní vlastnosti. Mají mnohem větší vsákavost až 20 g/g a tím dochází k zmenšení krycího materiálu (Sopuch, 2017).

Testované vzorky:

Hcel[®] HT 04/16-2 a 03/17-2 (z bavlněné netkané textilie PurCotton[®] 60 g/m²)

- pH: 4,35
- DS: 0,368

Hcel[®] NaT D02/2015 (z bavlněné netkané textilie PurCotton[®] 60 g/m²)

- pH: 7,03
- DS: 0,248

Hcel[®] HT soft P07/15HT (z bavlněné netkané textilie PurCotton[®] soft 50 g/m²)

- pH: 4,37
- DS: 0,387

Hcel[®] NaT soft P29/14N (z bavlněné netkané textilie PurCotton[®] soft 50 g/m²)

- pH: 7,03
- DS: 0,251

2.6.1.2 Testované produkty Hcel[®] HT, HT soft, NaT a NaT soft s impregnací a bez impregnace Hyiodinem[®]

Produkty Hcel[®] HT jsou vyrobeny pomocí technologie spunlace materiálu PurCotton[®] z kyselé formy karboxymethylované celulózy, zatímco obvazové krytí Hcel[®] NaT je vyrobeno ze sodné soli karboxymethylované celulózy. Krytí Hcel[®] HT soft a NaT soft jsou vyráběny pomocí technologie spunlace PurCotton[®] soft. Vlastnosti těchto krycích materiálů jsou uvedeny v předešlé kapitole. Některé tyto produkty řady Hcel[®] byly impregnovány Hyiodinem[®] pro zjištění, zda vykazují lepší antimikrobiální účinky než testované vzorky bez impregnace. Přípravek Hyiodine[®] je viskózní gel, který obsahuje 1,5 % sodné soli kyseliny hyaluronové, 0,15 % jodidu draselného a 0,1 % jódu. Kyselina hyaluronová má vynikající regenerační schopnosti a jodový komplex zabraňuje rozkladu této kyseliny působením bakterií (Sopuch, 2017). Avšak v současné době byla pozastavena výroba a distribuce přípravku Hyiodine[®] z důvodu re-kategorizace z rizikové třídy IIb do třídy III (Contipro, 2018).

Testované vzorky:

Hcel[®] HT 5/2015 (z bavlněné netkané textilie PurCotton[®] 60 g/m²)

- pH: 4,01
- DS: 0,375

Hcel[®] NaT D02/2015 (z bavlněné netkané textilie PurCotton[®] 60 g/m²)

- pH: 7,03
- DS: 0,248

Hcel[®] HT soft P07/15HT (z bavlněné netkané textilie PurCotton[®] soft 50 g/m²)

- pH: 4,37
- DS: 0,387

Hcel[®] NaT soft P29/14N (z bavlněné netkané textilie PurCotton[®] soft 50 g/m²)

- pH: 7,03
- DS: 0,251

Referenční vzorek z netkané bavlněné textilie PurCotton[®]

2.6.1.3 Hcel[®] HT TS 4, VS 4 a TS 3

Tyto materiály jsou připravovány z kyselé formy karboxymethylované celulózy ale na rozdíl od Hcel[®] HT nejsou vyrobeny technologií spunlace z PurCotton[®], ale pomocí spunlace z Tencel[®] nebo viskózy. Mají mnohem vyšší aktivitu DS (stupeň substituce hydroxylových skupin) než Hcel[®] HT soft, což by mělo vést k vyšší reaktivitě. Absorpční kapacita u testovaného krytí Hcel[®] HT TS 4 je 5,89 g/g, u Hcel[®] HT VS 4 a VS 3 je absorpční schopnost 6,25 g/g (Sopuch, 2017).

Testované vzorky:

Hcel[®] HT TS 4 (z netkané textilie Tencel[®] (Suominen) 72,62 g/m²)

- pH: 4,75
- DS: 0,462

Hcel[®] HT VS 4 a VS 3 (z netkané textilie viskóza (Suominen) 62,77 g/m²)

- pH: 4,80
- DS: 0,535

Referenční vzorek z Tencel[®] Suominen – surovina pro Hcel[®] HT TS

Referenční vzorek z viskózy Suominen – surovina pro Hcel[®] HT VS

2.6.1.4 Hcel[®] HT HA

Krytí Hcel[®] HT HA je připraveno karboxymethylací bavlny přesněji materiálu PurCotton[®]. Jedná se o kyselou formu karboxymethylované celulózy. Toto obvazové krytí je navíc pokryto vrstvou staplových mikrovláken z kyseliny hyaluronové o molekulární hmotnosti 1,7 MDa. Hmotnost jedné vrstvy kyseliny hyaluronové na vzorku činí 0,2 g (Sopuch, 2017).

Testovaný vzorek:

Hcel[®] HT HA P04/17-2 (z bavlněné netkané textilie PurCotton[®] 60 g/m²)

- pH: 4,2
- DS: 0,374

2.6.1.5 Hcel[®] HT Alaptid

Obvazové krytí Hcel[®] HT Alaptid je vyrobeno z kyselé formy karboxymethylované celulózy pomocí technologie spunlace. Na rozdíl od již dříve zmíněného testovaného krytí Hcel[®] HT je v tomto krytí navíc impregnován Alaptid o koncentraci 1,47 g/g (Sopuch, 2017).

Testované vzorky:

Hcel[®] HT Alaptid H01/16-A (z bavlněné netkané textilie PurCotton[®] 60 g/m²)

- pH: 5,0
- DS: 0,39

Referenční vzorek z netkané bavlněné textilie PurCotton[®]

2.7 Vzorky s různým obsahem jódu

Tyto vzorky byly dodávány panem doc. Ing. Ladislavem Burgertem, CSc. z oddělení syntetických polymerů, vláken a textilní chemie na chemicko-technologické fakultě Univerzity Pardubice.

2.7.1 Testované vzorky

Na základě difuzní agarové metody byly vyhodnoceny inhibiční zóny kolem testovaných vzorků a dále bylo také zjištěno, zda mají dané testované vzorky baktericidní či bakteriostatické účinky. Celkem bylo testováno 21 vzorků.

Testované vzorky s různým obsahem jódu:

Vzorek č. 1 – srovnávací vzorek bez jódu + HA

Vzorek č. 2 – obsah jódu 0,5 % + HA

Vzorek č. 3 – obsah jódu 1,0 % + HA

Vzorek č. 4 – obsah jódu 2,0 % + HA

Vzorek č. 5 – obsah jódu 4,0 % + HA

Vzorek č. 6 – obsah jódu 0,5 % (jako KI₃) + HA

Vzorek č. 7 – obsah jódu 1,0 % (jako KI₃) + HA

Vzorek č. 8 – obsah jódu 2,0 % (jako KI₃) + HA

Vzorek č. 9 – obsah jódu 4,0 % (jako KI₃) + HA

Vzorek č. 10 – oxidovaný škrob + HA + 0,5% I₂ (elementární)

Vzorek č. 11 – oxidovaný škrob + HA + 1,0% I₂ (elementární)

Vzorek č. 12 – oxidovaný škrob + HA + 2,0% I₂ (elementární)

Vzorek č. 13 – oxidovaný škrob + HA + 4,0% I₂ (elementární)

- Vzorek č. 14 – vzorek bez jódu – směs HA + oxidovaný pšeničný škrob (1:1)
na polyamidové pletenině
- Vzorek č. 15 – vzorek bez jódu – směs HA + oxidovaný pšeničný škrob (1:1)
na polyamidové hedvábné pletenině
- Vzorek č. 16 – zrna oxidovaného pšeničného škrobu + HA (1:1) + 4% jódu
na viskóзовé hedvábné tkanině
- Vzorek č. 17 – vzorek bez jódu – směs HA + zmazovatěly bramborový škrob (1:1)
na polyamidové hedvábné pletenině
- Vzorek č. 18 – směs HA + zmazovatěly bramborový škrob (1:1) + 4% jódu
na polyamidové hedvábné pletenině
- Vzorek č. 19 – zrna nativního bramborového škrobu + HA (1:1) + 4% jódu
na viskóзовé hedvábné tkanině
- Vzorek č. 20 – vzorek bez jódu – směs HA + oxidovaný pšeničný škrob (1:2)
na polyamidové hedvábné pletenině
- Vzorek č. 21 – směs HA + oxidovaný škrob (1:1) – Moramyl OXP
na polyamidové pletenině

3 VÝSLEKY A DISKUZE

3.1 Mikrobiologické hodnocení materiálů

Byly studovány antimikrobiální vlastnosti matric a vliv celulózového materiálu, stupně substituce, vliv různých modifikací, textilní struktury a vliv aditiv na celkový inhibiční účinek nově vyvíjených krycích materiálů. Testovacími mikroorganismy byly bakterie *Klebsiella pneumoniae*, methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA), vankomycin-rezistentní *Enterococcus* (VRE), *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa* a kvasinka *Candida albicans*. Mikrobiální suspenze k testování byly připraveny z 24 hodinových kultur (kvasinka ze 48 hodinové kultury) a denzita buněk byla ověřena vyočkováním příslušného ředění na živný agar č. 2 (MPA) nebo na krevní agar (KA) v případě bakterií, v případě kvasinky byla použita půda MALT. Kultivace byla provedena dle růstových požadavků příslušného mikroba.

Cílem tohoto experimentu bylo doplnit dosud získané poznatky z předchozích studií a porovnat účinnost testovaných materiálů (zejména hodnocení Hcel[®] HT z PurCottonu[®] a Hcel[®] HT z Tencelu). Dále byla sledována kinetika antimikrobiální účinnosti (sledování v čase).

3.2 Vzorky z karboxymethylované celulózy

Cílem této práce bylo otestovat všechny zkoumané vzorky pomocí difuzní agarové metody pro zjištění antimikrobiálního účinku daného krytí na vybrané škále mikroorganismů. Díky této metodě byly zjištěny průměry inhibičních zón kolem daného vzorku v čase, a také zda má testovaný vzorek baktericidní či bakteriostatický účinek.

3.2.1 Testované produkty Hcel[®] HT, HT soft, NaT a NaT soft

3.2.1.1 Testovaný vzorek Hcel[®] HT (karboxymethylovaná celulóza – kyselá forma, spunlace struktura, vysokotlaká technologie)

Vzorek Hcel[®] HT 04/16-2 a 03/17-2 měl vysokou absorpční schopnost a jeho struktura byla hrubá, textilně pevná, ale přitom tenká a příjemná na dotek. Pomocí difuzní agarové metody byla otestována u tohoto vzorku jeho antimikrobiální účinnost v čase a to po 24, 48, 72 hodinách, 6 a 7 dnech (viz tabulka 1).

Tabulka 1 Antimikrobiální účinek produktu Hcel® HT

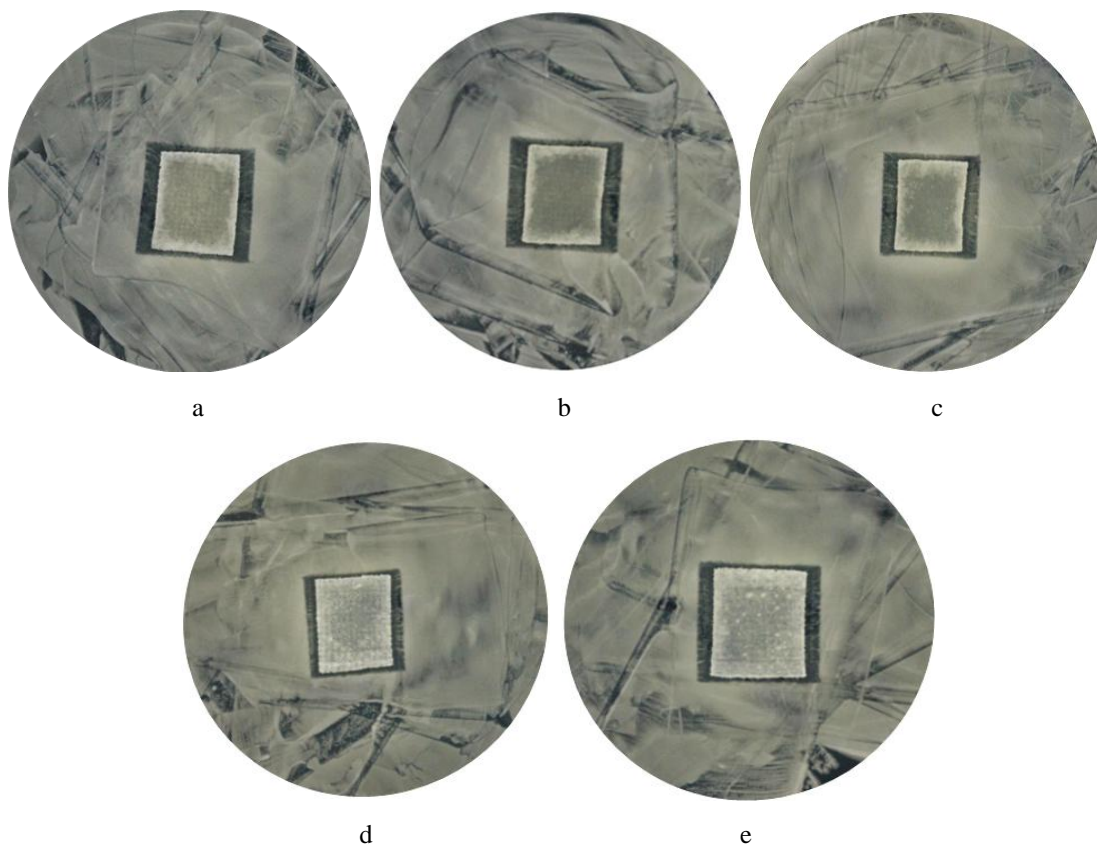
Testované mikroorganismy	Testovaný vzorek Hcel® HT 04/16-2 a 03/17-2				
	Šířka inhibičních zón [mm] a bakteriocidní či bakteriostatický účinek				
	24 hodin	48 hodin	72 hodin	6 dní	7 dní
<i>E. faecalis</i>	1x1,5 (BS)	2x1,5 (BS)	2,5x1,5 (BS)	2,5x1,5 (BS)	2,5x1,5 (BS)
VRE	0x1 (BS)	0x1 (BS)	2,5x1 (BS)	2,5x1 (BS)	2x0,5 (BS)
<i>K. pneumoniae</i>	1x3 (BS)	1x3 (BS)	1x3 (BS)	0,5x2 (BS)	0,5x2 (BS)
<i>M. morgani</i>	1,5x2,5 (BS)	1,5x2,5 (BS)	1x2 K (BS)	1x2 (BS)	1x2 (BS)
<i>P. aeruginosa</i>	1x1,5 (BS)	2x1,5 (BS)	2x2,5 (BS)	2x2,5 (BS)	2x2,5 (BS)
<i>S. marcescens</i>	1,5x2,5 (BS)	1,5x3 (BS)	1x3 (BS)	1,5x3,5 (BS)	1x3,5 K (BS)
<i>St. aureus</i>	1,5x2 (BS)	1,5x2 (BS)	1,5x2 (BS)	1,5x2 (BS)	1,5x2 (BS)
MRSA	0,5x1 (BS)	0,5x2 (BS)	0,5x2 (BS)	0,5x2 (BS)	0,5x2 (BS)
<i>Str. agalactiae</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x1 (BS)	0,5x1 (BS)	0,5x1 (BS)
<i>C. albicans</i>	1,5x2 (BS)	1,5x2 (BC)	1,5x2 (BC)	1,5x2 (BC)	1x2 (BC)

BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

N = neúčinný

K = kontaminace

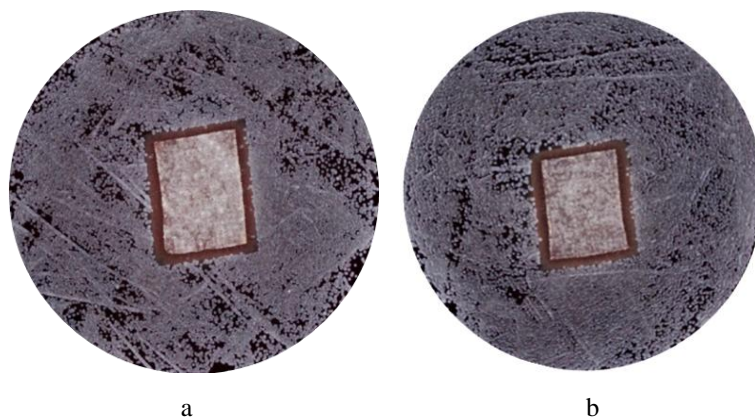
Z výsledků vyplývá, že vzorek Hcel® HT 04/16-2 a 03/17-2 působil antimikrobiálně na všechny testované mikroorganismy. S prodlouženou dobou inkubace se u většiny mikroorganismů inhibiční zóny zvětšovaly. *St. aureus* měl po celou dobu inkubace stejnou šířku inhibičních zón a u mikroorganismů *K. pneumoniae* (viz obrázek 20) a *Morganella morgani* došlo po 72 hodinách ke zmenšení inhibičních zón. Účinek tohoto vzorku byl pro všechny mikroorganismy s výjimkou *C. albicans* bakteriocidní, tedy v místě kontaktu vzorku s mikroorganismem došlo k pozastavení jeho růstu. Po 48 hodinách měla *C. albicans* jako jediná bakteriocidní účinek, což znamená, že v místě kontaktu vzorku s mikroorganismem došlo k uhynutí daného mikroorganismu.



Obrázek 20 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT na bakterii *Klebsiella pneumoniae* po 24 (a), 48 (b), 72 (c) hodinách, 6 (d) a 7 (e) dnech na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)

Testované mikroorganismy jako *K. pneumoniae*, *M. morgani*, *S. marcescens*, *St. aureus* a *C. albicans* patřily mezi nejcitlivější mikroorganismy. Méně citlivé mikroorganismy byly *E. faecalis*, VRE, *P. auruginosa* a MRSA. U *Str. agalactiae* nebyly po 24 hodinové inkubaci vidět žádné inhibiční zóny, ale po delší době inkubace se inhibiční zóny vytvořily. Podle diplomové práce Mgr. Soukupové (2015) a produktových informací k Hcel[®] HT by měly být potvrzeny baktericidní účinky pro mikroorganismy *Str. agalactiae*, MRSA a *P. auruginosa*.

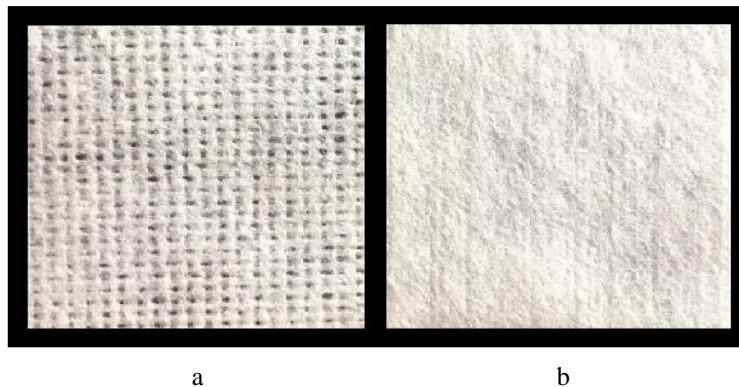
Nečekaný výsledek je u kvasinky *C. albicans* (viz obrázek 21). Podle výsledků z diplomových prací Mgr. Soukupové (2015) a Ing. Kubínové (2016) by *C. albicans* neměla být inhibována tímto vzorkem, jelikož se jedná o kyselou formu karboxymethylcelulózy a *C. albicans* má schopnost odolávat nižšímu pH. Baktericidní účinek tohoto vzorku je velkým překvapením, pro které prozatím nemáme vysvětlení vzhledem k předchozím výsledkům. Je ho možné přisuzovat použití jiného stupně substituce a pH u testovaného vzorku nebo využití jiné technologické výroby u obvazového krytí. Všechny tyto jevy mohou mít vliv na tento nečekaný výsledek.



Obrázek 21 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT na kvasinku *Candida albicans* po 24 (a) a 48 (b) hodinové inkubaci na M-H agaru s krví (kultivace při 30 °C)
(foto autor)

3.2.1.2 Testovaný vzorek Hcel[®] HT soft (karboxymethylovaná celulóza – kyselá forma, spunlace struktura, nízkotlaká technologie, struktura volných vláken)

Produkt Hcel[®] HT soft P07/15HT měl podobné vlastnosti jako vzorek Hcel[®] HT. Největší rozdíl ve struktuře byl v tom, že vzorek Hcel[®] HT soft (viz obrázek 22) měl velmi jemnou, hebkou strukturu s vysokou absorpční schopností s tendencí zmenšování materiálu a toto obvazové krytí nebylo tak tenké jako u vzorků řady Hcel[®] HT.



Obrázek 22 Ukázka vzorku Hcel[®] HT (a) a Hcel[®] HT soft (b) od firmy Holzbecher, spol. s r. o. barevna a bělidlo Zlích
(foto autor)

Tabulka 2 Antimikrobiální účinek produktu Hcel[®] HT soft

Testované mikroorganismy	Testovaný vzorek Hcel [®] HT soft P07/15HT				
	Šířka inhibičních zón [mm] a bakteriocidní či bakteriostatický účinek				
	24 hodin	48 hodin	72 hodin	6 dní	7 dní
<i>E. faecalis</i>	0x0,5 (BS)	0x0,5 (BS)	1x2 (BS)	3x2 (BS)	3x2 (BS)
VRE	0x0 (N)	0,5x1 (BS)	1,5x1 (BS)	3x2 (BS)	3x2 (BS)
<i>K. pneumoniae</i>	1,5x2,5 (BS)	2x3 (BS)	2x3 (BS)	1,5x3 (BS)	1,5x3 (BS)
<i>M. morgani</i>	1x2 (BS)	3x2 (BS)	3x2 (BS)	3x2 (BS)	2,5x1,5 (BS)
<i>P. aeruginosa</i>	0,5x1 (BS)	1,5x2 (BS)	1,5x2 (BS)	3,5x2 (BS)	3x2 K (BS)
<i>S. marcescens</i>	1x2 (BS)	2,5x3,5 (BS)	2x3,5 (BS)	2x4 (BS)	2x3,5 (BS)
<i>St. aureus</i>	0,5x1 (BS)	2x3 (BS)	2x3 (BS)	1,5x2,5 (BS)	1,5x2,5 (BS)
MRSA	1x1,5 (BS)	2x3 (BS)	2x3 (BS)	2x3 (BS)	2x3 (BS)
<i>Str. agalactiae</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0,5x1 (BS)	0,5x1 (BS)
<i>C. albicans</i>	0,5x1 (BS)	1,5x3 (BC)	1,5x3 (BC)	2x3 (BC)	2x3 (BC)

BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

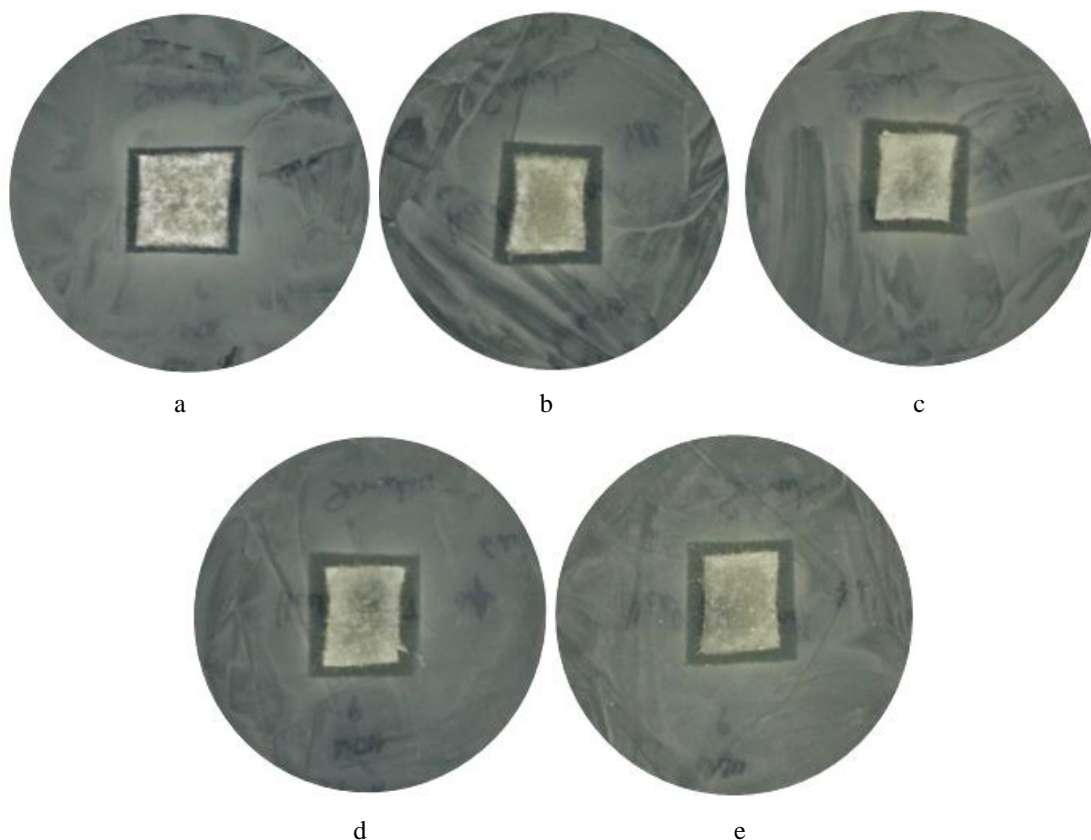
N = neúčinný

K = kontaminace

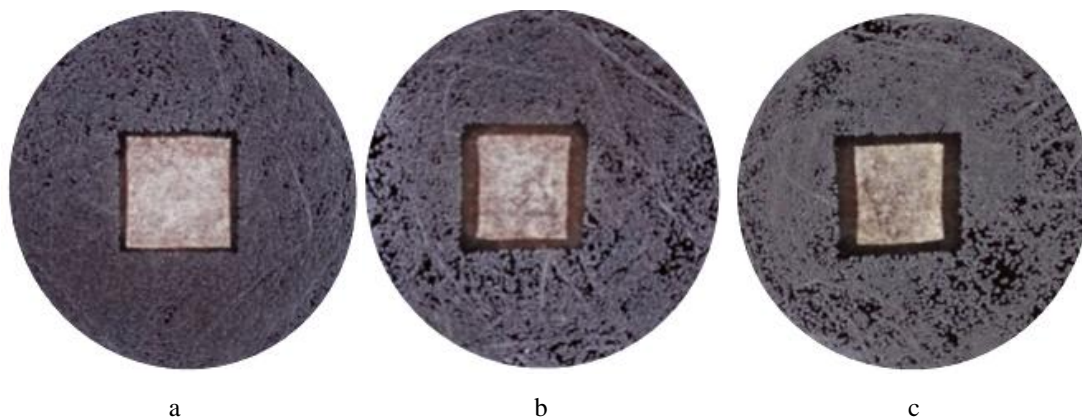
Testovaný vzorek Hcel[®] HT soft P07/15HT působil na všechny vybrané mikroorganismy antimikrobiálně (viz tabulka 2). Inhibiční zóny se s delší dobou inkubací u všech mikroorganismů zvětšovaly. U většiny mikroorganismů se inhibiční zóny vytvořily již po 24 hodinové inkubaci. VRE a *Str. agalactiae* nevykazovaly po 24 hodinové inkubaci žádnou citlivost k testovanému vzorku. Inhibiční zóny o velikosti 0x0,5 mm se u VRE vytvořily po 48 hodinové inkubaci. U bakteriálního druhu *Str. agalactiae* se inhibiční zóny vytvořily až po 6 dnech od začátku inkubace. Tento výsledek naznačuje, že toto testované krytí není moc vhodné, neboť obvazový materiál se převazuje nejlépe každé 2 až 3 dny.

Nejvíce citlivými mikroorganismy byly *K. pneumoniae*, *M. morgani* a *S. marcescens* (viz obrázek 23). Mezi méně citlivé mikroorganismy patří MRSA, *C. albicans*, *St. aureus*

a *P. auruginosa*. Účinek testovaného vzorku byl pro všechny mikroorganismy s výjimkou kvasinky *C. albicans* bakteriostatický. U této kvasinky se po 48 hodinové inkubaci změnil bakteriostatický účinek na baktericidní. Tento výsledek je nečekaný stejně jako u předešlého vzorku Hcel[®] HT, protože kvasinka *C. albicans* odolává nižšímu pH, které vytváří daný testovaný vzorek, neboť je z kyselé formy karboxymethylcelulózy. Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT soft na kvasinku *C. albicans* viz obrázek 24.



Obrázek 23 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT soft na bakterii *Serratia marcescens* po 24 (a), 48 (b), 72 (c) hodinách, 6 (d) a 7 (e) dnech na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)



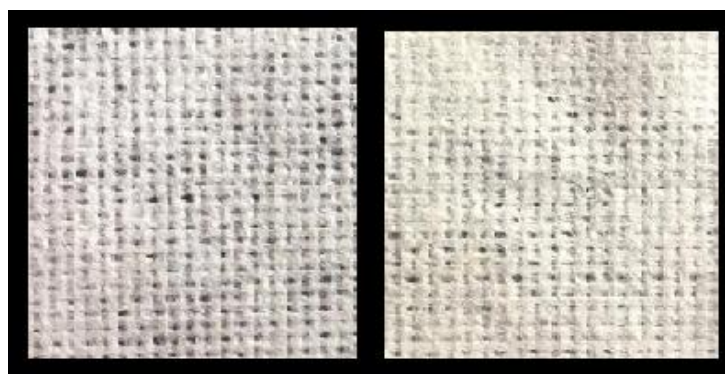
Obrázek 24 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT soft na kvasinku *Candida albicans* po 24 (a), 48 (b) a 72 (c) hodinách na M-H agaru s krví (kultivace při 30 °C)

(foto autor)

V diplomové práci Mgr. Soukupová (2015) také obdobně testovala produkt Hcel[®] HT soft (bavlněná netkaná textilie 50 g/m² PurCotton[®] soft, výrobní šarže P07/15HT), který měl substituční stupeň DS = 0,392 a pH = 4,33. V tabulce 2 byl použit na testování produkt řady Hcel[®] HT soft z bavlněné netkané textilie 50 g/m² PurCotton[®] soft, výrobní šarže P07/15HT se substitučním stupněm DS = 0,387 a pH = 4,37. Rozdíly mezi výsledky v tabulce 2 a Mgr. Soukupové byly dost výrazné. Hlavním rozdílem byl baktericidní účinek již po 24 hodinové inkubaci u bakterie MRSA a *St. aureus* a také neúčinné působení u kvasinky *C. albicans*. Dále větší rozdíly byly v šířce inhibičních zón u bakterií *P. aeruginosa* a VRE. Mgr. Soukupová testovala daný vzorek pouze po 24 hodinové inkubaci, zajímavé by bylo porovnat výsledky testovaného vzorku ještě po 48, 72 hodinách, 6 a 7 dnech. Rozdíl mezi testovanými vzorky v jejich vlastnostech není nijak velký, ale při delším časovém působení materiálu se z testování ukazuje, že materiál Hcel[®] HT soft z bavlněné netkané textilie 50 g/m² PurCotton[®] soft, výrobní šarže P07/15HT se substitučním stupněm DS = 0,387 a pH = 4,37 má lepší antimikrobiální účinnost. Může to být rychlejším gelovatěním materiálu Hcel[®] HT soft materiálu nebo jinou strukturou u obou vzorků.

3.2.1.3 Testovaný vzorek Hcel[®] NaT (sodná sůl karboxymethylované celulózy, spunlace struktura, vysokotlaká technologie, kompaktní struktura)

Testovaný vzorek Hcel[®] NaT je vyroben ze sodné soli karboxymethylované celulózy a mezi jeho vlastnosti patří vysoká absorpční schopnost, dobrá textilní pevnost, hrubost povrchu, tenkost a je oproti vzorku Hcel[®] HT více nažloutlé barvy (viz obrázek 25).



a

b

Obrázek 25 Ukázka vzorku Hcel® HT (a) a Hcel® NaT (b) od firmy Holzbecher, spol. s r. o. barevna a bělidlo
Zlič
(foto autor)

Tabulka 3 Antimikrobiální účinek produktu Hcel® NaT

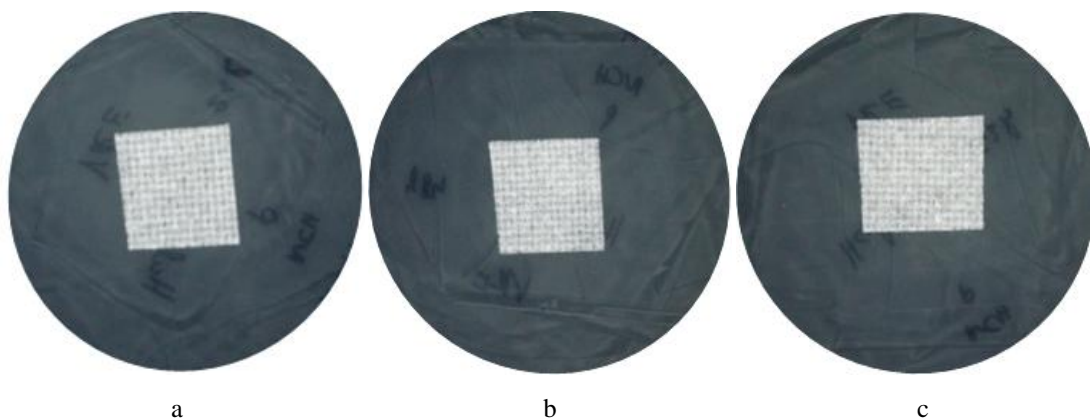
Testované mikroorganismy	Testovaný vzorek Hcel® NaT D02/2015				
	Šířka inhibičních zón [mm] a bakteriocidní či bakteriostatický účinek				
	24 hodin	48 hodin	72 hodin	6 dní	7 dní
<i>E. faecalis</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
VRE	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
<i>K. pneumoniae</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
<i>M. morgani</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 K (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
<i>P. aeruginosa</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 K (N)	0x0 (N)
<i>S. marcescens</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
<i>St. aureus</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
MRSA	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
<i>Str. agalactiae</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
<i>C. albicans</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)

BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

N = neúčinný

K = kontaminace

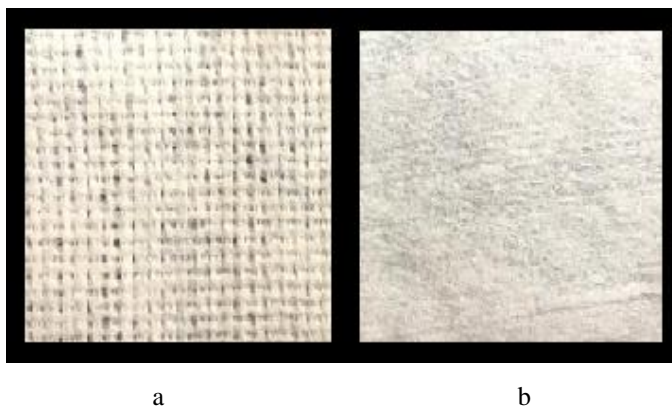
Testované krytí Hcel[®] NaT D02/2015, které má neutrální pH, nepůsobilo na žádný mikroorganismus antimikrobiálně (viz tabulka 3). Všechny mikroorganismy neměly po 24 hodinové ani po delší časové inkubaci žádnou citlivost k testovanému vzorku (viz obrázek 26). Z tohoto důvodu je toto krytí doporučováno používat pouze na čisté rány. Testovaný vzorek byl složený ze sodné soli karboxymethylcelulózy, která nemá schopnost vytvářet kyselé prostředí oproti testovanému vzorku Hcel[®] HT a HT soft, a proto nemá antimikrobiální účinek.



Obrázek 26 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] NaT na bakterii VRE po 24 (a), 48 (b) hodinách a 7 (c) dnech na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)

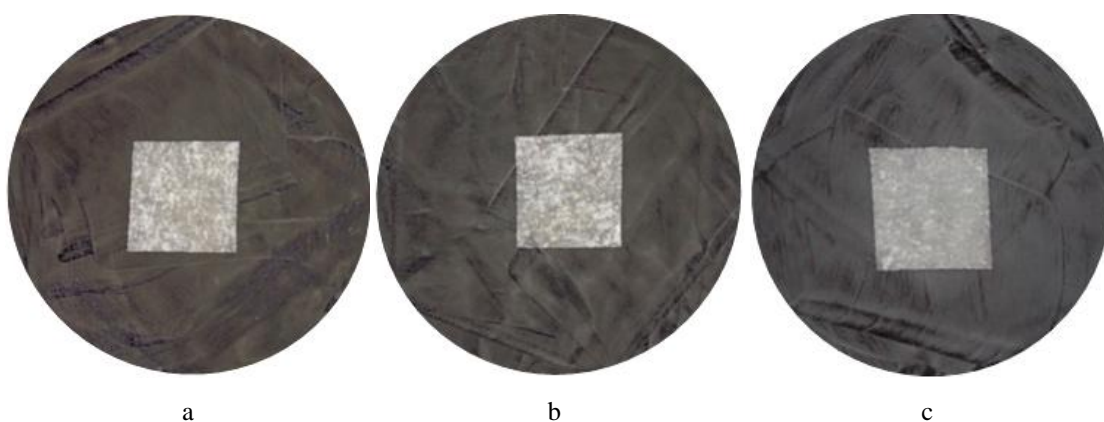
3.2.1.4 Testovaný vzorek Hcel[®] NaT soft

Testovaný produkt Hcel[®] NaT soft (viz obrázek 27) má vysoké absorpční schopnosti, struktura vzorku je textilně pevná, hebká, jemná, příjemná na dotek a nažloutlé barvy stejně jako vzorek Hcel[®] NaT. Díky vysoké absorpční schopnosti však dochází u vzorku ke ztrátě jeho objemu, tedy ke zmenšování.



Obrázek 27 Ukázka vzorku Hcel[®] NaT (a) a NaT soft (b) od firmy Holzbecher, spol. s r. o. barevna a bělidlo Zlích
(foto autor)

Tento vzorek, stejně jako předešlý testovaný vzorek Hcel[®] NaT D02/2015, neměl antimikrobiální působení na žádný z vybraných mikroorganismů, neboť vzorek nevytváří kyselé prostředí, které má schopnost působit antimikrobiálně. K vytvoření zón nedošlo ani po delší časové inkubaci. Tento testovaný vzorek by se měl používat pouze na čisté rány stejně jako předešlý testovaný vzorek Hcel[®] NaT. Také Mgr. Soukupová (2015) a Ing. Kubínová v diplomových pracích obdobně testovaly různé modifikované vzorky ze sodné soli karboxymethylcelulózy. Z těchto výsledků je patrné, že vzorky ze sodné soli karboxymethylcelulózy obecně antimikrobiální účinky nevykazují. Ukázka působení testovaného vzorku na *Staphylococcus aureus* viz obrázek 28.



Obrázek 28 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] NaT soft na bakterii *Staphylococcus aureus* po 24 (a), 48 (b) hodinách a 7 (e) dnech na M-H agaru s krví (kultivace při 37 °C)
(foto autor)

3.2.2 Testované produkty Hcel[®] HT, HT soft, NaT a NaT soft s impregnací a bez impregnace Hyiodinem[®]

Dané vzorky se testovaly difúzní agarovou metodou pro zjištění, zda vykazují vzorky impregnované Hyiodinem[®] lepší antimikrobiální účinky než testované produkty bez impregnace. Antimikrobiální účinnost daného vzorku na širokou škálu mikroorganismů se zjišťovala pouze po 24 hodinové inkubaci, neboť používaný Hyiodine[®] je velmi drahou záležitostí. Po této inkubaci se porovnály výsledky vzorků řady Hcel[®] bez impregnace a s impregnací Hyiodinem[®]. Hyiodine[®] by mohl představovat úplně nový přístup v hojení ran, neboť má vysoký obsah kyseliny hyaluronové, která má vynikající regenerační schopnosti a jodový komplex, který zajišťuje antimikrobiální účinek a současně zabraňuje rozkladu kyseliny hyaluronové působením bakteriálních enzymů (Pospíšilová, 2010). Avšak v současné době byla pozastavena jeho výroba a distribuce z důvodu re-kategorizace z rizikové třídy IIb do třídy III (Contipro, 2018).

3.2.2.1 Testované vzorky Hcel[®] HT s impregnací a bez impregnace Hyiodinem[®]

Testovaný produkt Hcel[®] HT 5/2015 měl stejné vlastnosti jako předešlý testovaný vzorek Hcel[®] HT 04/16-2 a 03/17-2, který vykazoval postupnou absorpční schopnost od 5 do 12 g/g s hrubším povrchem vzorku a strukturní pevností.

Tabulka 4 Antimikrobiální účinek produktu Hcel[®] HT s impregnací a bez impregnace Hyiodinem[®]

Testované mikroorganismy	Testovaný vzorek Hcel [®] HT bez impregnace Hyiodinem [®]		Testovaný vzorek Hcel [®] HT s impregnací Hyiodinem [®]	
	24 hodin			
	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS
<i>E. faecalis</i>	1x1	BS	1x2	BS
VRE	0,5x1	BS	1x2,5	BS
<i>K. pneumoniae</i>	1x2	BS	1,5x3	BS
<i>M. morgani</i>	1x2	BS	1x4	BS
<i>P. aeruginosa</i>	1x2,5	BS	2x3,5	BS
<i>S. marcescens</i>	1x2	BS	1,5x3	BS
<i>St. aureus</i>	1x3	BS	2,5x4,5	BS
MRSA	0x0	N	4x6	BS
<i>Str. agalactiae</i>	0,5x1	BS	2x2,5	BC
<i>C. albicans</i>	0x0	N	6x6	BC

BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

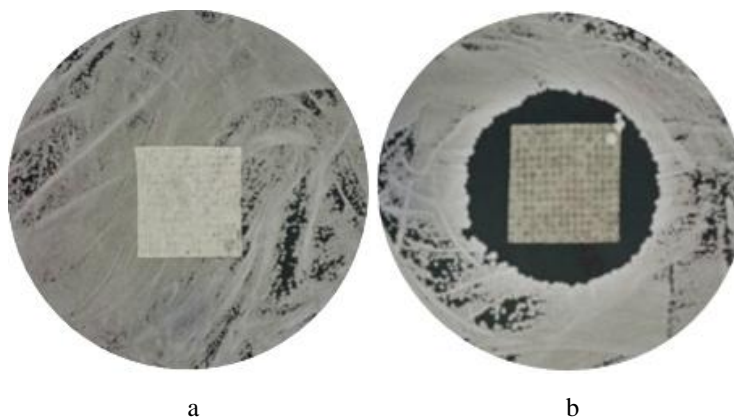
N = neúčinný

K = kontaminace

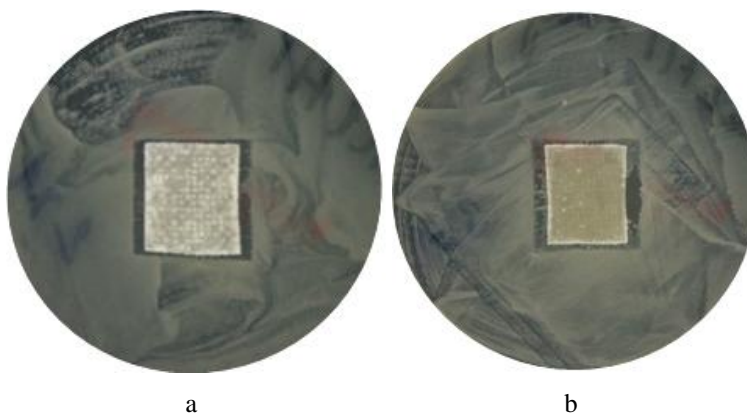
Testovaný produkt Hcel[®] HT 5/2015 bez impregnace Hyiodinem[®] působil na všechny mikroorganismy antimikrobiálně, respektive bakteriostaticky, kromě bakterie MRSA a kvasinky *C. albicans* (viz tabulka 4). U těchto dvou mikroorganismů se nevytvořily po 24 hodinové inkubaci žádné inhibiční zóny a je tedy jejich antimikrobiální působení tohoto vzorku neúčinné. Nejvíce citlivými mikroorganismy byly *P. aeruginosa*

a *St. aureus*. Mezi méně citlivé mikroorganismy pak patřily *K. pneumoniae*, *M. morgani* a *S. marcescens*. V již zmiňované tabulce 1 se testoval stejný produkt Hcel[®] HT, ale jiné výrobní šarže (Hcel[®] HT 04/16-2 a 03/17-2) než je testovaný daný vzorek. Tyto výsledky se téměř shodují s výsledky tabulky 4, kromě výsledku u kvasinky *C. albicans* a také bakterie MRSA a *Str. agalactiae*. *C. albicans* měla u testovaného vzorku Hcel[®] HT 04/16-2 a 03/17-2 po celou dobu inkubace šířku inhibičních zón 1,5x2 mm. Její bakteriostatické působení se po 48 hodinové inkubaci změnilo na baktericidní. Bakterie MRSA vytvářela již po 24 hodinové inkubaci inhibiční zónu o šířce 0,5x1 mm, která se s delší dobou inkubace zvětšila na 0,5x2 mm. U *Str. agalactiae* se inhibiční zóna vytvořila až po 72 hodinové inkubaci a s delší dobou inkubace se již neměnila. Odlišný výsledek v tabulce 1 a v tabulce 4 může být z důvodu jiného pH a stupně substituce u testovaných vzorků nebo jiné technologické výroby daného vzorku (rezidua různých rozpouštědel). Studium těchto rozdílů se bude výzkum zabývat v dalších letech.

Vzorek Hcel[®] HT 5/2015 impregnovaný Hyiodinem[®] má zcela rozdílné výsledky ve srovnání se vzorkem Hcel[®] HT bez impregnace. U všech mikroorganismů došlo u vzorku Hcel[®] HT 5/2015 impregnovaného Hyiodinem[®] ke zvětšení inhibičních zón oproti vzorku bez impregnace. Největší rozdíl v šířce inhibičních zón mezi těmito dvěma testovanými vzorky byl u bakterie MRSA a kvasinky *C. albicans*, kde u kvasinky *C. albicans* se šířka inhibičních zón změnila z 0x0 mm na 6x6 mm a u bakterie MRSA z 0x0 mm na 4x6 mm. Mezi nejcitlivější mikroorganismy u vzorku Hcel[®] HT 5/2015 impregnovaného Hyiodinem[®] patřily kvasinka *C. albicans* a z bakterií *M. morgani*, *P. aeruginosa*, MRSA a *St. aureus*. Účinek tohoto vzorku byl pro všechny mikroorganismy s výjimkou *Str. agalactiae* a *C. albicans* bakteriostatický. Na *C. albicans* a *Str. agalactiae* materiál působil baktericidně. Testovaný vzorek Hcel[®] HT 5/2015 impregnovaný Hyiodinem[®] má velmi dobré antimikrobiální působení na širokou škálu mikroorganismů a proto by byl vhodným obvazovým krytím u mnoha typů infikovaných ran. Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT bez a s impregnací Hyiodinem[®] na kvasinku *C. albicans* a bakterii *M. morgani* je uvedeno na obrázku 29 a 30.



Obrázek 29 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT bez (a) a s impregnací Hyiodinem[®] (b) na kvasinku *Candida albicans* po 24 hodinách na M-H agaru (kultivace při 30 °C)
(foto autor)



Obrázek 30 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT bez (a) a s impregnací Hyiodinem[®] (b) na bakterii *Morganella morganii* po 24 hodinách na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)

3.2.2.2 Testované vzorky Hcel[®] HT soft s impregnací a bez impregnace Hyiodinem[®]

Hcel[®] HT soft P07/15HT má stejné vlastnosti jako předešlý testovaný vzorek Hcel[®] HT soft stejné výrobní šarže P07/15HT. Mezi jeho vlastnosti patří vysoká absorpční schopnost až 20 g/g, pevná textilní struktura, hebký, jemný a nadýchaný povrch. Vzorek Hcel[®] HT soft je připravován z netkaných bavlněných textilií, které jsou karboxymethylovány a převedeny na kyselou formu a vyráběny pomocí technologie spunlace materiálu PurCotton[®] soft.

Tabulka 5 Antimikrobiální účinek produktu Hcel[®] HT soft s impregnací a bez impregnace Hyiodinem[®]

Testované mikroorganismy	Testovaný vzorek Hcel [®] HT soft bez impregnace Hyiodinem [®]		Testovaný vzorek Hcel [®] HT soft s impregnací Hyiodinem [®]	
	24 hodin			
	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS
<i>E. faecalis</i>	0x0	N	1,5x2	BS
VRE	0x0	N	2x2	BC
<i>K. pneumoniae</i>	2x2	BS	2x3,5	BS
<i>M. morgani</i>	2x2	BS	2x3,5	BC
<i>P. aeruginosa</i>	1,5x2	BS	3x3	BS
<i>S. marcescens</i>	2x3	BS	3x3,5	BS
<i>St. aureus</i>	2x2,5	BS	2,5x3,5	BS
MRSA	2x2	BS	1x1	BS
<i>Str. agalactiae</i>	0x0	N	1x2	BC
<i>C. albicans</i>	0x0	N	2,5x2,5	BC

BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

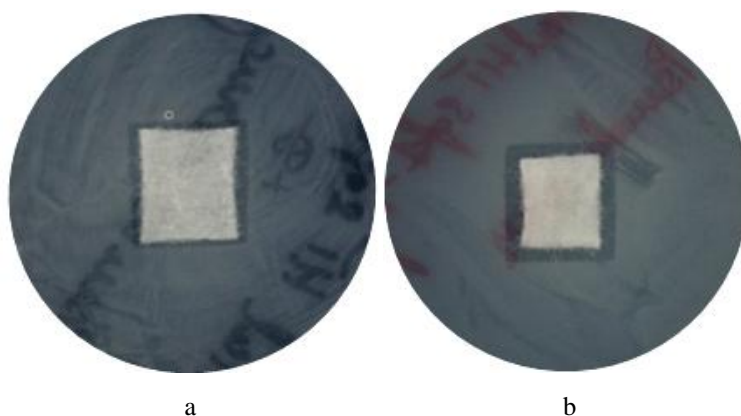
N = neúčinný

K = kontaminace

Testovaný produkt Hcel[®] HT soft bez impregnace Hyiodinem[®] měl bakteriostatické působení u vybraných mikroorganismů, kromě mikroorganismu *E. faecalis*, VRE, *Str. agalactiae* a kvasinky *C. albicans* (viz tabulka 5). U těchto mikroorganismů testovaný vzorek neměl antimikrobiální působení. Mezi nejcitlivější mikroorganismy patřily *S. marcescens* a *St. aureus*. Ve srovnání s výsledky působení vzorku Hcel[®] HT soft v tabulce 2, s výsledky Hcel[®] HT soft bez impregnace Hyiodinem[®] v tabulce 5, se tyto výsledky téměř shodují, kromě výsledku u *St. aureus* a kvasinky *C. albicans*. *St. aureus* v tabulce 2 má po 24 hodinové inkubaci mnohem menší šířku inhibiční zóny (0,5x1 mm) a kvasinka

C. albicans vykazuje bakteriostatické působení po 24 hodinové inkubaci s šířkou inhibiční zóny 0,5x1 mm, která se s delší časovou inkubací zvětšovala.

Vzorek Hcel[®] HT soft impregnovaný Hyiodinem[®] má antimikrobiální působení u všech mikroorganismů. Šířka inhibiční zóny se u nich zvětšila oproti testovanému vzorku Hcel[®] HT soft bez impregnace Hyiodinem[®], kromě bakterie MRSA. U této bakterie došlo ke zmenšení inhibiční zóny oproti vzorku Hcel[®] HT soft bez impregnace Hyiodinem[®]. Účinek tohoto vzorku byl pro VRE, *M. morgani*, *Str. agalactiae* a *C. albicans* baktericidní. U všech ostatních mikroorganismů byl účinek testovaného vzorku bakteriostatický. Tento testovaný vzorek Hcel[®] HT soft impregnovaný Hyiodinem[®] má velmi dobré antimikrobiální účinky, lepší než vzorek Hcel[®] HT impregnovaný Hyiodinem[®], neboť má baktericidní působení u více mikroorganismů, a proto by byl vhodným obvazovým krytím u mnoha infikovaných typů ran stejně jako Hcel[®] HT impregnovaný Hyiodinem[®]. Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT soft bez a s impregnací Hyiodinem[®] na vybraný mikroorganismus viz obrázek 31.



Obrázek 31 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT soft bez (a) a s impregnací Hyiodinem[®] (b) na bakterii *Pseudomonas aeruginosa* po 24 hodinách na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)

3.2.2.3 Testované vzorky Hcel[®] NaT s impregnací a bez impregnace Hyiodinem[®]

Testovaný vzorek Hcel[®] NaT D02/2015 vykazuje vysoké absorpční schopnosti s absorpční kapacitou až do 15 g/g. Struktura vzorku je textilně pevná a hrubší oproti vzorku Hcel[®] NaT soft, který má naopak hebký a jemný povrch.

Tabulka 6 Antimikrobiální účinek produktu Hcel[®] NaT s impregnací a bez impregnace Hyiodinem[®]

Testované mikroorganismy	Testovaný vzorek Hcel [®] NaT bez impregnace Hyiodinem [®]		Testovaný vzorek Hcel [®] NaT s impregnací Hyiodinem [®]	
	24 hodin			
	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS
<i>E. faecalis</i>	0x0	N	0x0	N
VRE	0x0	N	0x0	N
<i>K. pneumoniae</i>	0x0	N	0x0	N
<i>M. morgani</i>	0x0	N	2x2	BS
<i>P. aeruginosa</i>	0x0	N	0x0	N
<i>S. marcescens</i>	0x0	N	0x0	N
<i>St. aureus</i>	0x0	N	3x4	BS
MRSA	0x0	N	0x0	N
<i>Str. agalactiae</i>	0x0	N	0x0	N
<i>C. albicans</i>	0x0	N	4x5	BC

BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

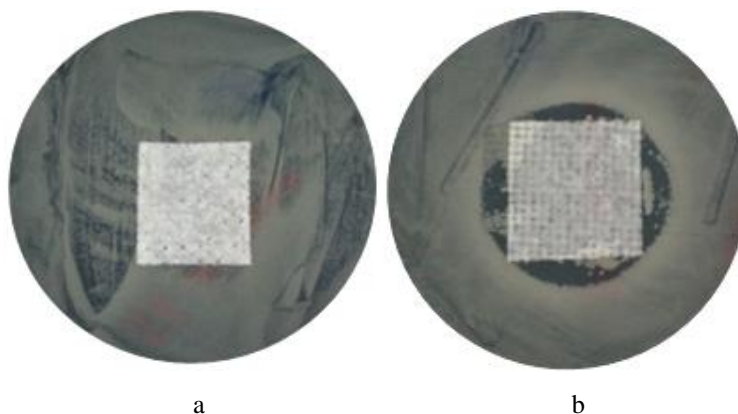
N = neúčinný

K = kontaminace

Testovaný vzorek Hcel[®] NaT bez impregnace Hyiodinem[®] nevykazuje žádné antimikrobiální působení ani u jednoho z testovaných mikroorganismů (viz tabulka 6). Tento výsledek se očekával, neboť sodná sůl karboxymethylované celulózy, z které je vyrobený tento testovaný vzorek, nevytváří kyselé prostředí, a proto nepůsobí antimikrobiálně. Produkt Hcel[®] NaT impregnovaný Hyiodinem[®] měl antimikrobiální působení na některé vybrané mikroorganismy. U tří mikroorganismů se vytvořily po 24 hodinové inkubaci inhibiční zóny, které u *St. aureus* (viz obrázek 32) a *C. albicans* byly velmi výrazné. Účinek testovaného vzorku Hcel[®] NaT impregnovaný Hyiodinem[®] byl

u bakterie *M. morgani* a *St. aureus* bakteriostatický. U kvasinky *C. albicans* byl tento účinek baktericidní.

Testované krytí Hcel[®] NaT impregnované Hyiodinem[®] vykazovalo u některých mikroorganismů antimikrobiální působení oproti vzorku Hcel[®] NaT bez impregnace Hyiodinem[®], ale pro použití na širokou škálu mikroorganismů je stále toto obvazové krytí nevhodné. Testované krytí je vhodné pouze pro čisté rány.



Obrázek 32 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] NaT bez (a) a s impregnací Hyiodinem[®] (b) na bakterii *Staphylococcus aureus* po 24 hodinách na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)

3.2.2.4 Testované produkty Hcel[®] NaT soft s impregnací a bez impregnace Hyiodinem[®]

Zkoumaný vzorek Hcel[®] NaT soft P29/14N má dobré absorpční schopnosti s absorpční kapacitou do 20 g/g. Díky vysoké absorpční schopnosti však dochází u vzorku ke ztrátě jeho objemu, tedy ke zmenšování. Je textilně pevný a má hebkou, jemnou povrchovou strukturu.

Tabulka 7 Antimikrobiální účinek produktu Hcel[®] NaT soft s impregnací a bez impregnace Hyiodinem[®]

Testované mikroorganismy	Testovaný vzorek Hcel [®] NaT soft bez impregnace Hyiodinem [®]		Testovaný vzorek Hcel [®] NaT soft s impregnací Hyiodinem [®]	
	24 hodin			
	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS
<i>E. faecalis</i>	0x0	N	0x0	N
VRE	0x0	N	0x0	N
<i>K. pneumoniae</i>	0x0	N	0x0	N
<i>M. morgani</i>	0x0	N	1x1,5	BS
<i>P. aeruginosa</i>	0x0	N	0x0	N
<i>S. marcescens</i>	0x0	N	0x0	N
<i>St. aureus</i>	0x0	N	2x2	BS
MRSA	0x0	N	2x2,5	BS
<i>Str. agalactiae</i>	0x0	N	0x0	N
<i>C. albicans</i>	0x0	N	8x8	BC

BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

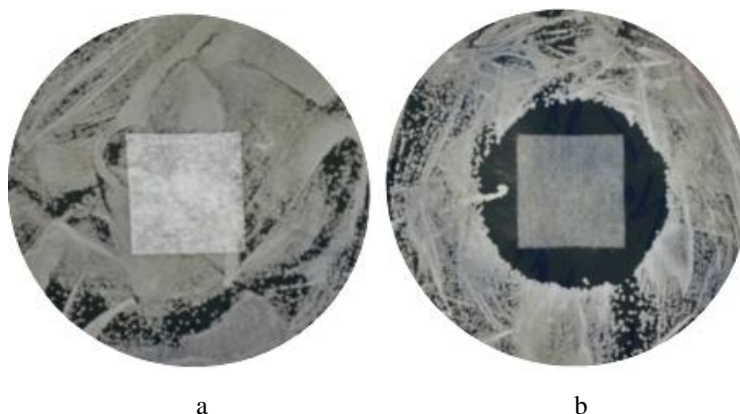
N = neúčinný

K = kontaminace

Testovaný vzorek Hcel[®] NaT soft bez impregnace Hyiodinem[®] nevykazoval antimikrobiální působení u žádného testovaného mikroorganismu, neboť vzorek Hcel[®] NaT soft je složen ze sodné soli karboxymethylované celulózy, která nevytváří kyselé prostředí v okolí vzorku a proto nemá schopnost působit antimikrobiálně.

Zkoumaný produkt Hcel[®] NaT soft impregnovaný Hyiodinem[®] působil antimikrobiálně na čtyři vybrané mikroorganismy a to *M. morgani*, *St. aureus*, MRSA a *C. albicans* (viz tabulka 7). *M. morgani*, *St. aureus* a MRSA měly šířku inhibiční zóny okolo 2x2 mm, a účinek testovaného vzorku u těchto bakterií byl bakteriostatický. Kvasinka

C. albicans měla baktericidní účinek a šířka inhibiční zóny dosahovala až 8x8 mm (viz obrázek 33).



Obrázek 33 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] NaT soft bez (a) a s impregnací Hyiodinem[®] (b) na kvasinku *Candida albicans* po 24 hodinách na M-H agaru (kultivace při 30 °C)
(foto autor)

Z výsledků vyplývá, že na některé mikroorganismy působí testovaný produkt Hcel[®] NaT soft impregnovaný Hyiodinem[®] antimikrobiálně, má dokonce i lepší antimikrobiální účinky než Hcel[®] NaT impregnovaný Hyiodinem[®], ale působí antimikrobiálně pouze na některé vybrané mikroorganismy z široké škály mikroorganismů, které se v ranách nacházejí. Testovaný produkt by se mohl používat pouze na rány, které neobsahují velké množství mikroorganismů stejně jako vzorky Hcel[®] NaT a Hcel[®] NaT soft bez impregnace Hyiodinem[®].

3.2.2.5 Referenční vzorek z PurCotton® (základní bavlněná netkaná textilie (spunlace, vysokotlaká technologie) a bavlněná gázovina)

Tabulka 8 Antimikrobiální účinek referenčního vzorku s impregnací a bez impregnace Hyiodinem®

Testované mikroorganismy	Referenční vzorek z PurCotton® bez impregnace Hyiodinem®		Referenční vzorek z PurCotton® s impregnací Hyiodinem®	
	24 hodin			
	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS
<i>E. faecalis</i>	0x0	N	+	BS
VRE	0x0	N	+	BS
<i>K. pneumoniae</i>	0x0	N	+	BS
<i>M. morgani</i>	0x0	N	+	BS
<i>P. aeruginosa</i>	0x0	N	+	BS
<i>S. marcescens</i>	0x0	N	+	BS
<i>St. aureus</i>	0x0	N	+	BS
MRSA	0x0	N	+	BS
<i>Str. agalactiae</i>	0x0	N	+	BS
<i>C. albicans</i>	0x0	N	2,5x2,5	BC

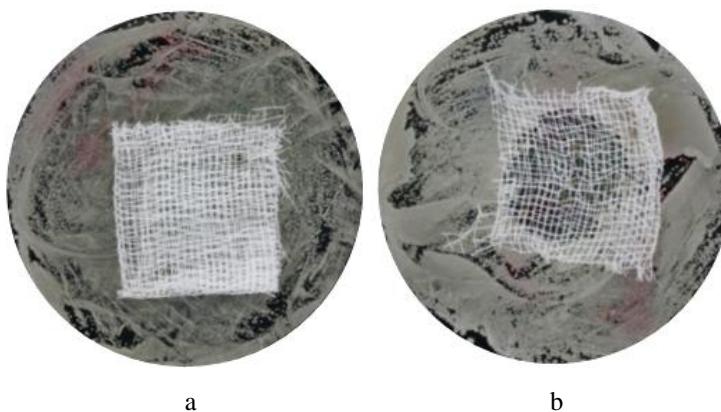
BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

N = neúčinný

+ inhibiční zóna

Referenční vzorek z netkané bavlněné textilie PurCotton® byl otestován pomocí difuzní agarové metody pro zjištění antimikrobiálního účinku na vybranou škálu mikroorganismů. Referenční vzorek se testoval bez impregnace Hyiodinem® i s impregnací Hyiodinem® pro srovnání, který vzorek vykazuje lepší antimikrobiální účinky. Bavlněná sterilní gáza bez impregnace Hyiodinem® neměla žádné antimikrobiální působení, žádný mikroorganismus nebyl na tento materiál citlivý. V diplomové práci Mgr. Soukupová (2015)

se také testoval referenční materiál z netkané textilie PurCotton® a její výsledky se plně shodují. Bavlněná netkaná textilie impregnovaná Hyiodinem® vykazovala u všech testovaných mikroorganismů antimikrobiální působení. U jediné kvasinky *C. albicans* se podařilo změřit její inhibiční zónu, která činila 2,5x2,5 mm. U všech ostatních mikroorganismů se podařilo pouze odečíst, zda daný mikroorganismus vytváří inhibiční zónu či nikoliv. Účinek testovaného vzorku u všech mikroorganismů byl bakteriostatický, kromě kvasinky. Účinek u kvasinky byl baktericidní (viz obrázek 34).



Obrázek 34 Ukázka působení referenčního vzorku z PurCotton® bez (a) a s impregnací Hyiodinem® (b) na kvasinku *Candida albicans* po 24 hodinách na M-H agaru (kultivace při 30 °C)
(foto autor)

3.2.3 Testované produkty Hcel® HT TS 4, VS 4 a VS 3

Dalším úkolem bylo porovnat pomocí difuzní agarové metody testované vzorky, vyrobené karmoxymethylací materiálu Tencel® nebo viskózy se vzorky, které jsou připravené karmoxymethylací bavlněné netkané textilie PurCotton®. Všechny tyto jmenované vzorky jsou z kyselé formy karboxymethylcelulózy. Všeobecně se o materiálech Tencel® a viskóze dá říci, že mají vyšší reaktivitu a absorpční schopnost než bavlněná celulóza. Základní materiály (netkané spunlace textilie) z Tencelu (T) nebo viskózy byly poskytnuty firmou Suominen (Finsko).

3.2.3.1 Testovaný vzorek Hcel® HT TS 4

Zkoumaný vzorek Hcel® HT TS 4 byl vyroben technikou spunlace materiálu Tencel®, který byl karboxymethylován a poté převeden na kyselou formu karboxymethylcelulózy. Tento materiál je vyroben z regenerované celulózy, která se připravuje rozpuštěním v organickém rozpouštědle N-methylmorpholin-N-oxid (NMNO). Celulózová vlákna Tencel® (výrobce Lenzing, Rakousko) se řadí mezi druh regenerovaných celulózových vláken

poskytující homogenní produkt se zlepšenými vlastnostmi jak vůči bavlně tak viskóze (Badr a kol., 2016).

Hcel[®] HT TS 4 má hebkou, jemnou a pevnou strukturu vzorku. Difuzní agarovou metodou se u vzorku Hcel[®] HT TS 4 a referenčního vzorku testoval antimikrobiální účinek v čase na vybranou škálu mikroorganismů (viz tabulka 9 a 10).

Tabulka 9 Antimikrobiální účinek produktu Hcel[®] HT TS 4

Testované mikroorganismy	Testovaný vzorek Hcel [®] HT TS 4				
	Šířka inhibičních zón [mm] a bakteriocidní či bakteriostatický účinek				
	24 hodin	48 hodin	72 hodin	6 dní	7 dní
VRE	0x1 (BS)	0x1 (BS)	0x1 (BS)	0x1 (BS)	0x1 (BS)
<i>K. pneumoniae</i>	0x1 (BS)	0x1 (BS)	0x1 (BS)	0x1 (BS)	0x1 (BS)
<i>P. aeruginosa</i>	0x1 (BS)	0x1 (BS)	0x1,5 (BS)	0x2 (BS)	0x2 (BS)
MRSA	0x1 (BS)	0x1 (BS)	0x0,5 (BS)	0x0,5 (BS)	0x0,5 (BS)
<i>C. albicans</i>	0x1 (BS)	0x1 (BS)	0x1 (BC)	0x1 (BC)	0x1 (BC)

BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

N = neúčinný

K = kontaminace

Testovaný produkt Hcel[®] HT TS 4 působil antimikrobiálně na všechny zkoumané mikroorganismy (viz tabulka 9). U většiny mikroorganismů se inhibiční zóna s časem neměnila, změna nastala pouze u bakterií *P. aeruginosa* a MRSA. Šířka inhibiční zóny u *P. aeruginosa* se s delší časovou inkubací zvětšovala, u bakterie MRSA se inhibiční zóna po 72 hodinové inkubaci zmenšila o 0,5 mm a poté se už dále s časem neměnila. Účinek testovaného vzorku v čase byl u všech mikroorganismů bakteriostatický, pouze u kvasinky *C. albicans* se po 72 hodinové inkubaci změnil bakteriostatický účinek na bakteriocidní. V diplomové práci Mgr. Soukupová (2015) testovala difuzní agarovou metodou vzorek ze 100 % materiálu Tencel[®] HT se substitučním stupněm DS = 0,388 a pH = 3,87. Výsledky z této diplomové práce jsou téměř totožné s výsledky, které jsou uvedeny v tabulce 9. Mimo výsledku u kvasinky *C. albicans*, u níž testovaný produkt Hcel[®] HT TS 4 opět vykazoval antimikrobiální působení. U testovaného produktu Hcel[®] HT TS 4 byl použit jiný stupeň substituce a pH (DS = 0,462 a pH = 4,75).

Tabulka 10 Antimikrobiální účinek referenčního vzorku Tencel® (Suominen)

Testované mikroorganismy	Referenční vzorek Tencel® – surovina pro Hcel® HT TS				
	Šířka inhibičních zón [mm] a bakteriocidní či bakteriostatický účinek				
	24 hodin	48 hodin	72 hodin	6 dní	7 dní
VRE	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
<i>K. pneumoniae</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
<i>P. aeruginosa</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
MRSA	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)
<i>C. albicans</i>	0x1 (BS)	0x1 (BS)	0x1 (BC)	0x1 (BC)	0x1K (BC)

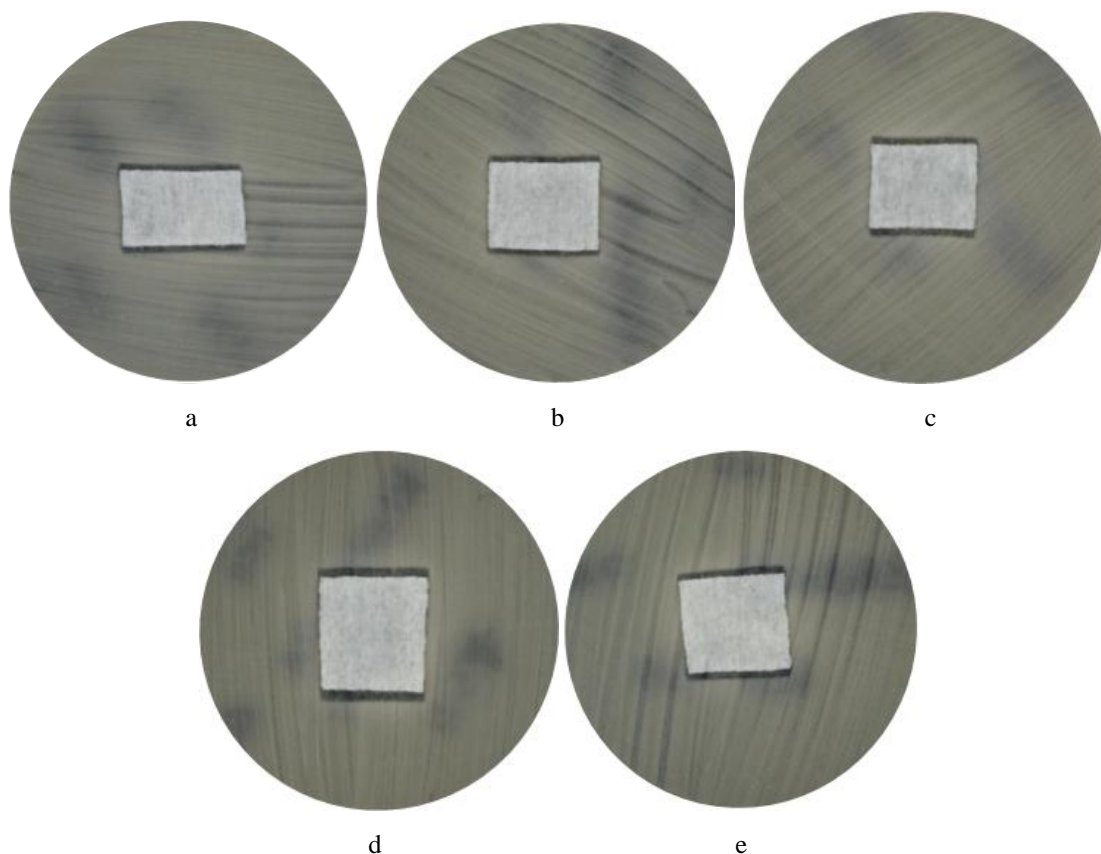
BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

N = neúčinný

K = kontaminace

Referenční vzorek z materiálu Tencel® sloužil k porovnání s testovaným vzorkem Hcel® HT TS 4. Z tabulky 10 vyplývá, že referenční vzorek nevykazoval žádné antimikrobiální působení. Je tedy jasné, že vzorky z chemicky modifikovaného materiálu Tencel® mají lepší antimikrobiální účinky než vzorky ze samotného materiálu Tencel®, neboť ty nevykazují žádné antimikrobiální působení. Ukázka působení testovaného vzorku Hcel® HT TS 4 na vybraný mikroorganismus je zobrazena na obrázku 35.

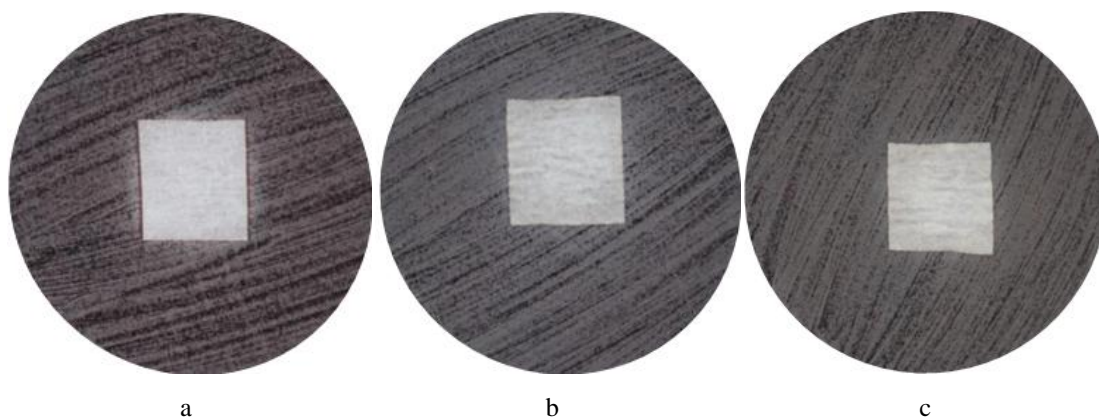
Z výsledků testovaných vzorků vyplývá, že u vzorků z kyselé formy karboxymethylcelulózy vyrobené z materiálu Purcotton® (Hcel® HT) je mnohem vyšší antimikrobiální účinek než u vzorků z kyselé formy karboxymethylcelulózy připravené z materiálu Tencel® (Hcel® HT TS 4). Tento výsledek potvrzuje poznatky o lepším antimikrobiálním působení vzorků z kyselé formy karboxymethylcelulózy připravené karboxymethylací bavlněného materiálu Purcotton® (Hcel® HT), než vzorky z kyselé formy karboxymethylcelulózy vyrobené z regenerované celulózy Tencel® (Hcel® HT TS 4), které již byly uvedeny v diplomové práci Mgr. Soukupové (2015) a Ing. Kubínové (2016). Důvodem lepšího antimikrobiálního působení Hcel® HT je pravděpodobně rozdíl ve složité struktuře nativní celulózy (bavlna) a struktuře regenerované celulózy (Tencel®), která po karboxymethylaci rychleji geluje a tím ztrácí antimikrobiální vlastnosti.



Obrázek 35 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT TS 4 na *Klebsiella pneumoniae* po 24 (a), 48 (b), 72 (c) hodinách, 6 (d) a 7 (e) dnech na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)

3.2.3.2 Testovaný vzorek Hcel[®] HT VS 4

Vzorek Hcel[®] HT VS 4 je z kyselé formy karboxymethylcelulózy vyrobený z spunlace materiálu, který je vyroben z regenerované celulózy (viskózy). Tento produkt má podobné vlastnosti jako vzorek Hcel[®] HT TS 4 připravený z Tencelu[®]. Má větší savost a ta způsobovala, že testovaný vzorek nešel snadno odstranit z Petriho misek. Tento testovaný vzorek vykazoval velmi malý antimikrobiální účinek vůči vybraným mikroorganismům. U bakterie VRE vytvářel vzorek Hcel[®] HT VS 4 malé inhibiční zóny o šířce 0x0,5 mm a účinek testovaného vzorku byl vyhodnocen jako bakteriostatický. Šestý den inkubace inhibiční zóna u této bakterie zcela zmizela. U kvasinky *C. albicans* se vytvořila inhibiční zóna pouze po 24 hodinové inkubaci, která po delší časové inkubaci rovněž zmizela (viz obrázek 36). Účinek testovaného vzorku byl po 24 hodinové inkubaci u kvasinky *C. albicans* zaznamenán jako bakteriostatický. U ostatních testovaných mikroorganismů neměl tento testovaný vzorek žádný antimikrobiální účinek.



Obrázek 36 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT VS 4 na *Candida albicans* po 24 (a), 48 (b), 72 (c) hodinách na M-H agaru s krví (kultivace při 30 °C)
(foto autor)

Referenční vzorek z viskózy (Suominen) sloužil k porovnání vzorku Hcel[®] HT VS 4. Referenční vzorek nepůsobil na žádné mikroorganismy antimikrobiálně. Vzorek Hcel[®] HT VS 4 ve srovnání s referenčním vzorkem nevykazuje žádné větší antimikrobiální účinky. Vzorky z kyselé formy karboxymethylcelulózy vyrobené z materiálu PurCotton[®] mají lepší antimikrobiální účinky než vzorky kyselé formy karboxymethylované viskózy. Tyto výsledky nejsou nijak neočekávané, pouze se potvrdily poznatky z dřívějších diplomových prací Mgr. Soukupové (2015) a Ing. Kubínové (2016).

3.2.3.3 Testovaný vzorek Hcel[®] HT VS 3

Zkoumaný vzorek Hcel[®] HT VS 3 má stejné vlastnosti jako vzorek Hcel[®] HT VS 4 z předešlé kapitoly. Testovaný vzorek Hcel[®] HT VS 3 vykazoval úplně stejné antimikrobiální účinky jako předešlý testovaný vzorek Hcel[®] HT VS 4. Antimikrobiální účinky byly zaznamenány pouze u bakterie VRE, kde inhibiční zóna měřila 0x0,5 mm, a u kvasinky *C. albicans*, kde inhibiční zóna byla měřitelná pouze po 24 hodinové inkubaci a dosahovala také šířky 0x0,5 mm. U těchto dvou mikroorganismů byl účinek testovaného vzorku vyhodnocen jako bakteriostatický.

Referenční vzorek viskózy ke vzorku Hcel[®] HT VS 3 nemá žádné antimikrobiální účinky k vybraným mikroorganismům a je stejně jako vzorek Hcel[®] HT VS 3 málo antimikrobiálně účinný vůči široké škále mikroorganismů.

3.2.4 Testovaný produkt Hcel[®] HT HA

Testovaný produkt Hcel[®] HT HA je z kyselé formy karboxymethylcelulózy vyrobený z netkané bavlněné textilie PurCotton[®]. Tento vzorek byl navíc pokryt vrstvou staplových mikrovláken z kyseliny hyaluronové o molekulární hmotnosti 1,7 MDa. Hmotnost jedné

vrstvy kyseliny hyaluronové na vzorku činí 0,2 g. Struktura testovaného vzorku byla pevná, nadýchaná s dobrou absorpční schopností. Nanesení vrstvy staplových mikrovláken bylo provedeno na Univerzitě Pardubice (doc. Ing. Ladislav Burgert, CSc., Fakulta chemicko-technologická, Oddělení syntetických polymerů, vláken a textilní chemie). Difuzní agarovou metodou byla otestována antimikrobiální účinnost vzorku Hcel[®] HT HA v čase (viz tabulka 11).

Tabulka 11 Antimikrobiální účinek produktu Hcel[®] HT HA

Testované mikroorganismy	Testovaný vzorek Hcel [®] HT HA P04/17-2				
	Šířka inhibičních zón [mm] a bakteriocidní či bakteriostatický účinek				
	24 hodin	48 hodin	72 hodin	6 dní	7 dní
<i>E. faecalis</i>	1x1,5 (BS)	1x2 (BS)	1x2,5 (BS)	1x2,5 (BS)	1x2,5 (BS)
VRE	1x2 (BS)	1,5x2,5 (BS)	1,5x2,5 (BS)	1,5x2,5 (BS)	1,5x3 (BS)
<i>K. pneumoniae</i>	1x2,5 (BS)	1x2,5 (BS)	1x2,5 (BS)	1x2,5 (BS)	1x2,5 (BS)
<i>M. morgani</i>	1,5x2,5 (BS)	1x2,5 (BS)	1x2,5 (BS)	0,5x2,5 (BS)	0,5x2,5 (BS)
<i>P. aeruginosa</i>	1,5x2,5 (BS)	1,5x3 (BS)	1,5x3 (BS)	1,5x3 (BS)	1,5x3 (BS)
<i>S. marcescens</i>	1,5x3 (BS)	1,5x3 (BS)	1,5x3 (BS)	1,5x3 (BS)	1,5x2,5 K (BS)
<i>St. aureus</i>	1x2 (BS)	1x2 (BS)	1x2 (BS)	1x2 (BS)	1x2 (BS)
MRSA	0,5x1,5 (BS)	0,5x1,5 (BS)	0,5x1,5 (BS)	0,5x1,5 (BS)	0,5x1,5 (BS)
<i>Str. agalactiae</i>	1x1,5 (BS)	1x1,5 (BS)	1x2 (BS)	1x2 (BS)	1x2 (BS)
<i>C. albicans</i>	0,5x1 (BS)	1x1,5 (BC)	1x2 (BC)	1x2 (BC)	1x2 (BC)

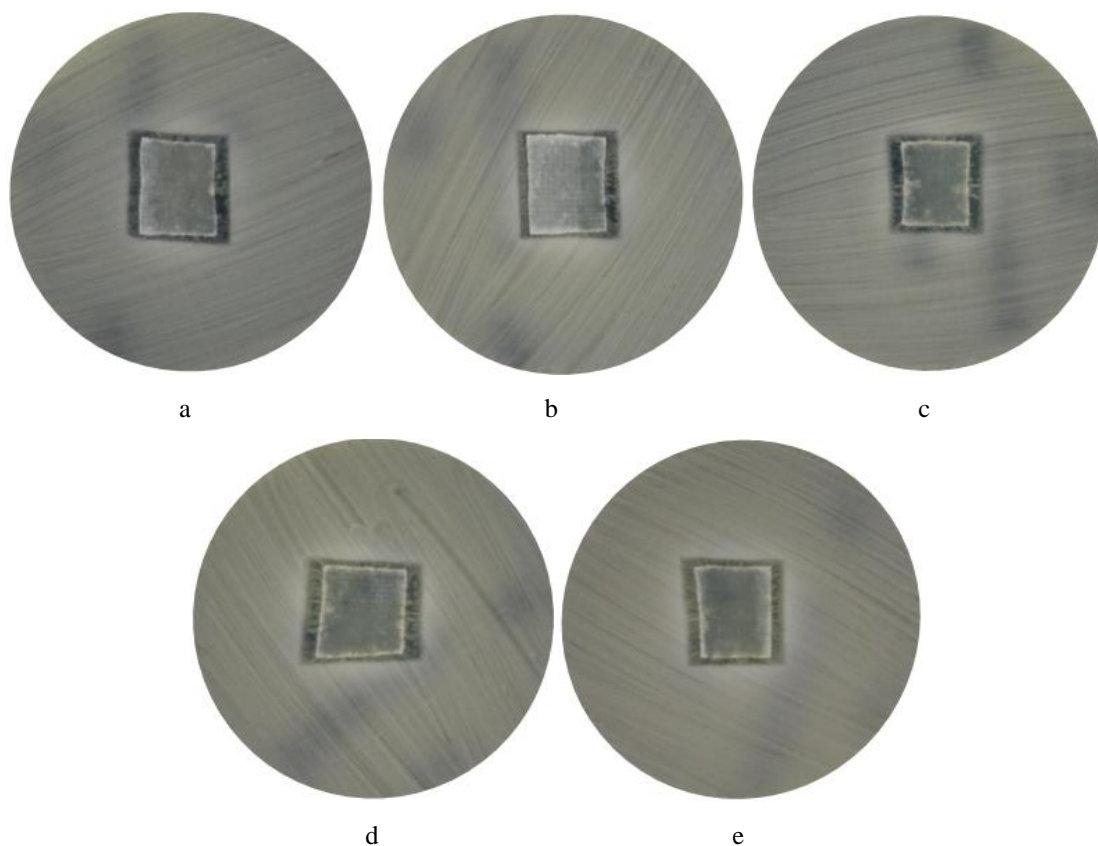
BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

N = neúčinný

K = kontaminace

Testovaný vzorek Hcel[®] HT HA působil na všechny mikroorganismy antimikrobiálně. Účinek testovaného vzorku byl pro všechny mikroorganismy bakteriostatický, pouze u kvasinky *C. albicans* se bakteriostatický účinek po 48 hodinové inkubaci změnil na bakteriocidní (viz tabulka 11). Šířka inhibičních zón se s časem nijak výrazně neměnila

u žádného mikroorganismu. Mezi nejcitlivější mikroorganismy patřily *K. pneumoniae*, *M. morgani*, *P. aeruginosa* a *S. marcescens* (viz obrázek 37).



Obrázek 37 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT HA na *Klebsiella pneumonia* po 24 (a), 48 (b), 72 (c) hodinách, 6 (d) a 7 (e) dnech na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)

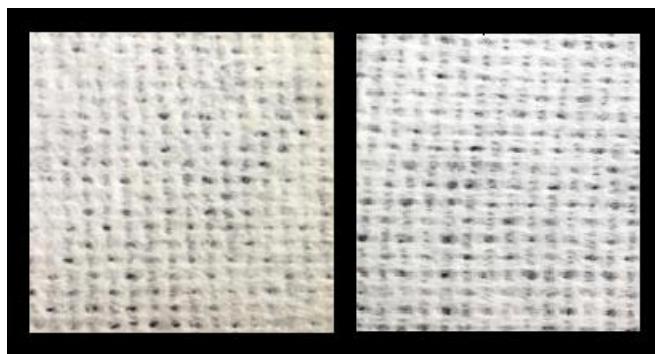
Vzorek Hcel[®] HT HA by se dal v antimikrobiální účinnosti porovnat se vzorkem Hcel[®] HT. Produkt Hcel[®] HT má srovnatelné antimikrobiální účinky s testovaným vzorkem Hcel[®] HT HA, kde je navíc obsažena kyselina hyaluronová. U testovaného vzorku má pravděpodobně antimikrobiální efekt hlavně kyselá forma karboxymethylcelulózy, která vytváří kyselé prostředí, které mikroorganismy většinou nesnášejí a tím dochází k zastavení jejich rozmnožování a růstu. Kyselina hyaluronová především podporuje proces hojení ran tím, že udržuje přirozeně vlhké prostředí rány, které napomáhá buněčné migraci (například migraci fibroblastů a endotelových buněk), zlepšuje angiogenezi a má protizánětlivé účinky (Roehrs a kol., 2016). V literatuře také uvádějí, že kyselina hyaluronová má antimikrobiální účinky, ale její antimikrobiální působení je omezené a liší se podle typu mikroorganismu, bakteriální zátěže a typu prostředí (Romanò a kol., 2017). Produkt Hcel[®] HT HA díky svému dobrému antimikrobiálnímu působení by se mohl stát běžným

obvazovým materiálem pro různé typy nehojících se a stagnujících ran. Na základě našeho testování vznikl nový funkční vzorek (Sopuch a kol., 2017).

Ing. Kubínová (2016) v diplomové práci testovala difuzní agarovou metodou vzorky z kyselé formy kyseliny hyaluronové. Tyto vzorky byly z polyamidové pleteniny, na kterou byla nanášena staplová vlákna kyselé formy kyseliny hyaluronové o plošné hmotnosti 15 g/m² a 22 g/m². Výsledkem bylo, že kyselá forma kyseliny hyaluronové má velmi malé antimikrobiální účinky. Tyto vzorky inhibičně působily pouze u bakterie *S. marcescens*, u které vytvořily šířku inhibiční zóny do 1,5 mm. Toto působení bylo vyhodnoceno jako bakteriostatické. Z výsledků diplomové práce Ing. Kubínové (2016) vyplývá, že kyselá forma kyseliny hyaluronové nemá antimikrobiální efekt. Oproti tomu testovaný vzorek Hcel[®] HT HA z kyselé formy karboxymethylcelulózy vyrobený metodou spunlace materiálu PurCotton[®], který je pokryt vrstvou staplových mikrovláken z kyseliny hyaluronové o plošné hmotnosti 20 g/m², prokazuje velmi dobré antimikrobiální účinky.

3.2.5 Testovaný produkt Hcel[®] HT impregnovaný Alaptidem

Testovaný vzorek Hcel[®] HT impregnovaný Alaptidem má pevnou textilní strukturu s hrubším povrchem (viz obrázek 38). Tento produkt měl dobré absorpční schopnosti. Cílem tohoto úkolu je otestovat antimikrobiální účinek testovaného krytí, který je připraven technologií spunlace PurCotton[®] a následně je poté karboxymethylován a převeden na kyselou formu karboxymethylcelulózy (Hcel[®] HT) a následně impregnován Alaptidem technologií klocování. Testované krytí Hcel[®] HT Alaptid se liší od vzorku Hcel[®] HT tím, že na obvazový materiál je navíc naimpregnován Alaptid. Alaptid by měl napomáhat růstu granulační tkáně a urychlovat průběh hojení ran. Vzorek Hcel[®] HT Alaptid a referenční vzorek z materiálu PurCotton[®] byly testovány difuzní agarovou metodou pro zjištění antimikrobiálního účinku po 24 hodinové inkubaci (viz tabulka 12).



a

b

Obrázek 38 Ukázka vzorku Hcel[®] HT Alaptid (a) a referenčního vzorku z materiálu PurCotton[®] (b) od firmy Holzbecher, spol. s r. o. barevna a bělidlo Zlích
(foto autor)

Testovaný vzorek Hcel[®] HT Alaptid antimikrobiálně působení u všech mikroorganismů kromě bakterie *Str. agalactiae*. U této bakterie se po 24 hodinové inkubaci nevytvořila žádná inhibiční zóna. Šířka inhibiční zóny u ostatních mikroorganismů nepřesáhla 1x1,5 mm a účinek testovaného vzorku byl vyhodnocen u všech mikroorganismů, kromě bakterie *Str. agalactiae*, jako bakteriostatický. Nejcitlivějším mikroorganismem byla *E. coli* (viz obrázek 39), poté následovaly mikroorganismy jako *K. pneumoniae*, *M. morgani* (viz obrázek 40), *P. aeruginosa* a *S. marcescens*. Mezi méně citlivější mikroorganismy patřily VRE, *St. aureus* a MRSA. Šířku inhibiční zóny 0x0,5 mm po 24 hodinové inkubaci vykazovaly mikroorganismy *E. faecalis* a *C. albicans*.

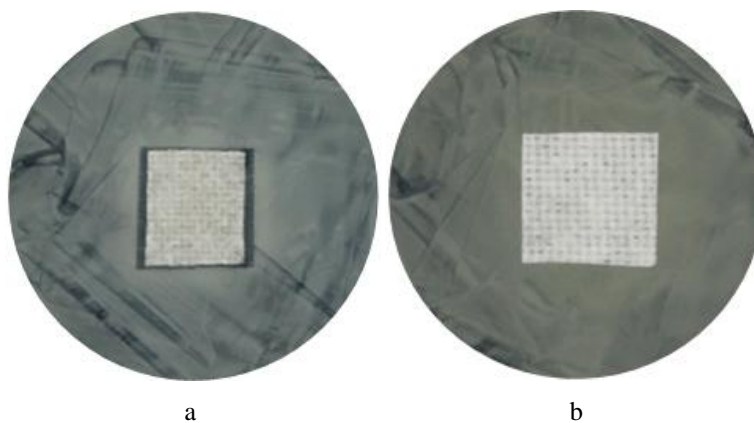
Tabulka 12 Antimikrobiální účinek produktu Hcel[®] HT Alaptid a referenčního vzorku

Testované mikroorganismy	Testovaný vzorek Hcel [®] HT Alaptid H01/16-A		Referenční vzorek PurCotton [®]	
	24 hodin			
	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS
<i>E. faecalis</i>	0x0,5	BS	0x0	N
VRE	0x1	BS	0x0	N
<i>E. coli</i>	1x1,5	BS	0x0	N
<i>K. pneumoniae</i>	0,5x1,5	BS	0x0	N
<i>M. morgani</i>	0,5x1,5	BS	0x0	N
<i>P. aeruginosa</i>	0,5x1,5	BS	0x0	N
<i>S. marcescens</i>	0,5x1,5	BS	0x0	N
<i>St. aureus</i>	0,5x1	BS	0x0	N
MRSA	0,5x1	BS	0x0	N
<i>Str. agalactiae</i>	0x0	N	0x0	N
<i>C. albicans</i>	0x0,5	BS	0x0	N

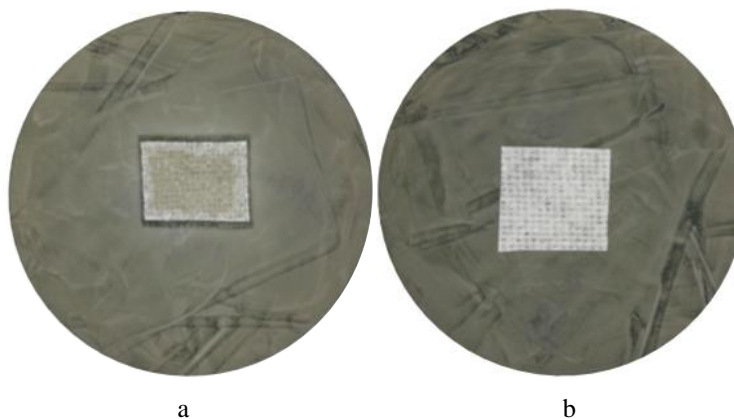
BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

N = neúčinný

K = kontaminace



Obrázek 39 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT Alaptid (a) a referenčního vzorku z materiálu Purcotton[®] (b) na *Escherichia coli* po 24 hodinách na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)



Obrázek 40 Ukázka působení testovaného vzorku Hcel[®] HT Alaptid (a) a referenčního vzorku z materiálu Purcotton[®] (b) na *Morganella morganii* po 24 hodinách na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)

Vzorek Hcel[®] HT Alaptid má oproti referenčnímu vzorku z materiálu PurCotton[®] antimikrobiální efekt u všech mikroorganismů, kromě *Str. agalactiae*. Vzorek Hcel[®] HT Alaptid je složen ze dvou částí a to Hcel[®] HT a alaptid. Alaptid nemá žádné antimikrobiální účinky, ale dobře hojí rány. U tohoto vzorku byl sledován stejně jako u vzorku Hcel[®] HT HA antimikrobiální účinek karboxymethylcelulózy, která byla pokrytá látkou, jež má také dobré hojící účinky.

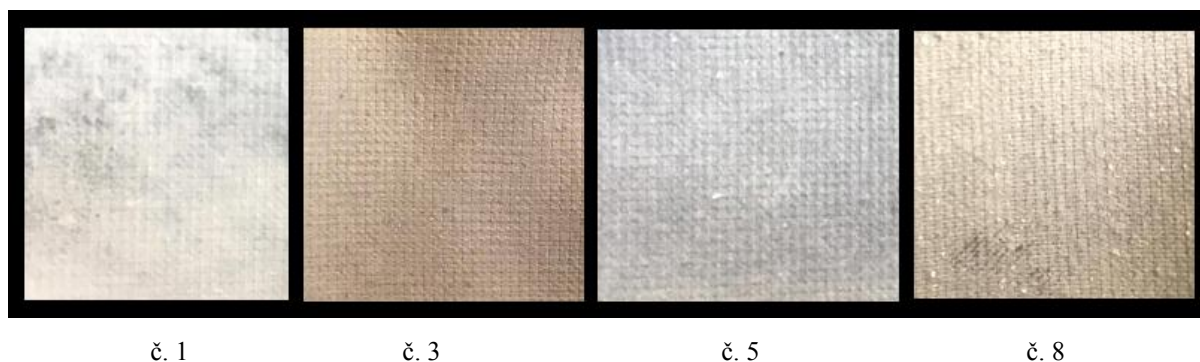
3.3 Vzorky s různým obsahem jódu

Dalším úkolem bylo zjistit antimikrobiální účinky u vzorků s různým obsahem jódu. Všechny testované vzorky (21) měly různé složení, obsahovaly různou koncentraci jódu a některé vzorky navíc obsahovaly oxidovaný pšeničný škrob, zmazovatělý bramborový

škrob, zrna oxidovaného pšeničného škrobu nebo zrna nativního bramborového škrobu, jak je uvedeno v kapitole 2.7. Testované vzorky byly připravovány na oddělení syntetických polymerů, vláken a textilní chemie na chemicko-technologické fakultě Univerzity Pardubice. Vzorky nebyly před otestováním na antimikrobiální účinek sterilizovány, proto je u těchto vzorků vidět častá kontaminace.

3.3.1 Testované produkty na bázi kyseliny hyaluronové s různým obsahem jódu

Difuzní agarovou metodou byl zjištěn antimikrobiální účinek u těchto vzorků na bázi kyseliny hyaluronové s různým obsahem jódu (viz tabulka 13). Jód byl ve vzorcích v různé koncentraci ve formě elementárního jódu I_2 (vzorek č. 1 bez jódu, vzorek č. 2 s 0,5 % I_2 , vzorek č. 3 s 1,0 % I_2 , vzorek č. 4 s 2,0 % I_2 a vzorek č. 5 s 4,0 % I_2) a ve formě KI_3 (vzorek č. 6 s 0,5 % KI_3 , vzorek č. 7 s 1,0 % KI_3 , vzorek č. 8 s 2,0 % KI_3 a vzorek č. 9 s 4,0 % KI_3). Směs kyseliny hyaluronové a jódu (či jodidu draselného) u všech testovaných vzorků byla nanášena na polyamidové pletenině. Vzorky měly pevnou textilní strukturu s dobrou absorpční schopností. Povrch byl hrubší a barva vzorku byla se zvyšující se koncentrací jódu tmavší (viz obrázek 41).



Obrázek 41 Ukázka vzorku č. 1 (vzorku bez jódu), č. 3 (vzorek se 1,0 % I_2), č. 5 (vzorek s 4,0 % I_2) a č. 8 (vzorek s 2,0 % KI_3) od pana doc. Ing. Ladislava Burgerta, CSc.

(foto autor)

Tabulka 13 Antimikrobiální účinek u vzorků č. 1 – 9

Testované mikroorganismy	Vzorky č. 1 – 9			
	24 hodin		48 hodin	
	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS
<i>E. coli</i>	0x0	N	0x0	N
<i>K. pneumoniae</i>	0x0	N	0x0	N
<i>P. aeruginosa</i>	0x0	N	0x0	N
<i>St. aureus</i>	0x0	N	0x0	N
MRSA	0x0	N	0x0	N
VRE	0x0	N	0x0	N
<i>C. albicans</i>	0x0	N	0x0	N

BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

N = neúčinný

K = kontaminace

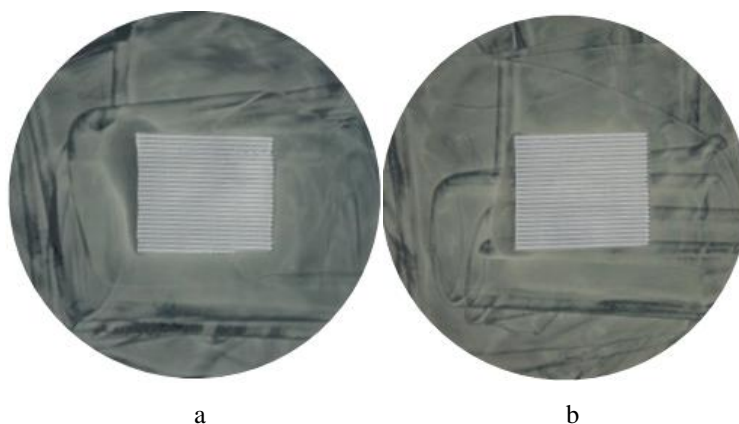
Legenda: Vzorek č. 1 – srovnávací vzorek bez jódu + HA, vzorek č. 2 – obsah jódu 0,5 % + HA, vzorek č. 3 – obsah jódu 1,0 % + HA, vzorek č. 4 – obsah jódu 2,0 % + HA, vzorek č. 5 – obsah jódu 4,0 % + HA, vzorek č. 6 – obsah jódu 0,5 % (jako KI₃) + HA, vzorek č. 7 – obsah jódu 1,0 % (jako KI₃) + HA, vzorek č. 8 – obsah jódu 2,0 % (jako KI₃) + HA, vzorek č. 9 – obsah jódu 4,0 % (jako KI₃) + HA

Testované vzorky na bázi kyseliny hyaluronové s různým obsahem jódu nevykazovaly u žádného mikroorganismu antimikrobiální účinek (viz tabulka 13). U všech vzorků nebyla naměřena žádná inhibiční zóna. S rostoucí koncentrací jódu (ve formě I₂ a KI₃) se u testovaných vzorků nezměnilo antimikrobiální působení, zřejmě to bylo způsobeno nestálostí I₂ ve vzorku.

Přípravek Hyiodine[®], který má velmi nízkou koncentraci jodového komplexu 0,25 % (0,1 % elementárního jódu a 0,15 % jodidu draselného), se testoval v kapitole 3.2.2 a měl velmi dobré antimikrobiální účinky oproti těmto testovaným vzorkům, kde je obsažena také kyselina hyaluronová a jód ve formě elementárního jódu nebo ve formě jodidu draselného s koncentrací od 0,5 až 4 %. Z výsledků vyplývá, že s rostoucí koncentrací jódu ať už ve formě I₂ nebo KI₃, nedocházelo k vyššímu antimikrobiálnímu efektu u obvazových

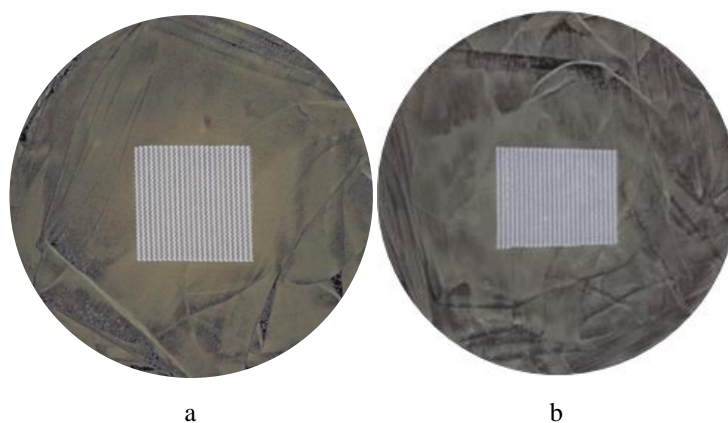
materiálů. Docházelo však k vyplavování látek z obvazového krytí, proto by bylo nutné zjistit skutečnou koncentraci jódu v obvazovém krytí, která se tam vyskytovala.

Jód působí proti širokému spektru mikroorganismů, včetně *E. coli*, rodu *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Salmonella*, *Candida*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Clostridium*, *Corynebacterium* a *Mycobacterium* (Sarheed a kol., 2016). Antimikrobiální účinnost závisí na používané koncentraci jódu a v komerčních produktech obsahujících samotný elementární jód nebo jodid draselný se využívá menší koncentrace než je 0,5 %, neboť vyšší koncentrace jódu je pro tělo cytotoxická. V komerčních produktech se často nevyskytuje samotný elementární jód nebo jodid draselný. Obvazové materiály bývají nejčastěji napuštěny kombinací elementárního jódu a jodidu draselného o nízké koncentraci (produkt Hyiodine®) nebo cadexomerem jódu a povidon-jódem, které pomalu rovnoměrně napomáhají uvolňování volného jódu do rány (Sarheed a kol., 2016). Hlavní důvod, proč testované krytí nemá antimikrobiální účinek na žádný z vybraných mikroorganismů je ten, že skutečná koncentrace samotného jódu a jodidu draselného v obvazovém krytí byla jiná, než kterou uvedl pan doc. Ing. Burgert, Csc. Dalším důvodem by mohl být také materiál, na který byla nanášena směs kyseliny hyaluronové a jódu, neboť docházelo k propouštění kyseliny hyaluronové (popřípadě i jódu) z polyamidové pleteniny a docházelo k vytváření různých tvarů okolo testovaného materiálu (viz obrázek 42 a 43), které ale nebyly inhibičními zónami. Díky tomu nemuselo docházet k dokonalému kontaktu vzorku s mikroorganismem, neboť účinná látka (jód) v krycím materiálu nebyla zadržena. U mikroorganismů *St. aureus* a MRSA nedocházelo k vytváření různých tvarů (zón) okolo testovaného vzorku, neboť tyto bakterie produkují enzym hyaluronidázu, který katalyzuje degradaci kyseliny hyaluronové (Romanò a kol., 2017).



Obrázek 42 Ukázka působení testovaného vzorku č. 7 (obsah jódu 1,0 % jako KI_3 + kyselina hyaluronová) na *Escherichia coli* po 24 (a) a 48 (b) hodinách na M-H agaru (kultivace při 37 °C)

(foto autor)



Obrázek 43 Ukázka působení testovaného vzorku č. 7 (obsah jódu 1,0 % jako KI₃ + kyselina hyaluronová) na *Staphylococcus aureus* po 24 (a) a 48 (b) hodinách na M-H agaru s krví (kultivace při 37 °C)
(foto autor)

V klinické studii testovali krycí materiál na bázi kyseliny hyaluronové. Ta hraje důležitou roli v procesu hojení ran hlavně tím, že udržuje vlhké prostředí v ráně. Je zapojena do mnoha kroků procesu hojení ran, jako jsou inflamace, granulace, revitalizace a angiogeneze (Longinotti, 2014). Velmi často se do obvazů přidává jód, který má antimikrobiální účinky (Roehrs a kol., 2016). Testované vzorky č. 1 – 9 obsahovaly kyselinu hyaluronovou a různý obsah jódu nebo jodidu draselného od 0,5 % až do 4 %. U testovaných vzorků docházelo k vyplavování jódu (jodidu draselného) a také kyseliny hyaluronové z krycího materiálu, proto jód (jodid draselný) neměl pravděpodobně možnost působit antimikrobiálně a proto všechny testované vzorky byly antimikrobiálně neúčinné. Bylo by potřebné stanovit skutečnou koncentraci jódu v testovaném krytí.

3.3.2 Testované vzorky na bázi oxidovaného škrobu s různým obsahem jódu

Ke vzorkům na bázi kyseliny hyaluronové s různým obsahem jódu byl navíc přidán oxidovaný škrob. Úkolem bylo zjistit, zda tyto vzorky (vzorek č. 10 s 0,5 % I₂, vzorek č. 11 s 1,0 % I₂, vzorek č. 12 s 2,0 % I₂ a vzorek č. 13 s 4,0 % I₂), které obsahují navíc oxidovaný škrob a kyselinu hyaluronovou, mají lepší antimikrobiální působení oproti vzorkům, kde byla obsažena pouze kyselina hyaluronová s různým obsahem jódu, které nevykazovaly žádné antimikrobiální působení. Vzorky byly textilně pevné s hrubým povrchem a barva se zvyšující koncentrací jódu měnila (viz obrázek 44). Směs kyseliny hyaluronové, jódu a oxidovaného škrobu byla nanášena na polyamidové pletenině.



č. 10

č. 11

č. 12

č. 13

Obrázek 44 Ukázka vzorku č. 10 (vzorek s 0,5% I₂), č. 11 (vzorek s 1,0% I₂), č. 12 (vzorek s 2,0% I₂) a č. 13 (vzorek s 4,0% I₂) od pana doc. Ing. Ladislava Burgerta, CSc.

(foto autor)

Tabulka 14 Antimikrobiální účinek u vzorků č. 10 – 13

Testované mikroorganismy	Vzorky č. 10 – 13			
	24 hodin		48 hodin	
	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS
<i>K. pneumoniae</i>	0x0	N	0x0	N
<i>St. aureus</i>	0x0	N	0x0	N
<i>C. albicans</i>	0x0	N	0x0	N

BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek

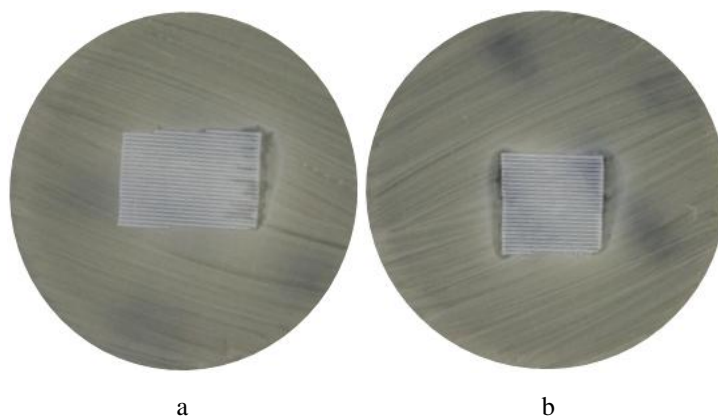
N = neúčinný

K = kontaminace

Legenda: Vzorek č. 10 – oxidovaný škrob + HA + 0,5% I₂, vzorek č. 11 – oxidovaný škrob + HA + 1,0% I₂, vzorek č. 12 – oxidovaný škrob + HA + 2,0% I₂, vzorek č. 13 – oxidovaný škrob + HA + 4,0% I₂

Testované vzorky, které obsahovaly kyselinu hyaluronovou, oxidovaný škrob a různý obsah jódu, nevykazovaly žádné antimikrobiální účinky k vybraným mikroorganismům (viz tabulka 14) stejně jako vzorky bez oxidovaného škrobu. Oxidovaný škrob nezměnil antimikrobiální efekt u daných testovaných materiálů. Stejně jako u předešlých vzorků docházelo k vytváření různých tvarů okolo testovaného vzorku (viz obrázek 45), neboť směs oxidovaného škrobu a kyseliny hyaluronové unikala z materiálu, na kterém byla nanášena. Látky difundující z materiálu pak vytvářely různé pásy okolo vzorku. Bakterie *St. aureus* tyto pásy okolo vzorku nevytvářela, neboť obsahuje enzym hyaluronidázu, která kyselinu hyaluronovou degraduje a enzym amylázu, která štěpí škrob na jednodušší monosacharidy (Lakshmi a kol., 2013; Romanò a kol., 2017). Důvodem negativních výsledků u testovaných

vzorků může být špatný kontakt účinných látek ve vzorku s mikroorganismem z důvodu vyplavování látek, které vytvářely okolo vzorků různé zóny a také nestálost jódu v testovaném krytí.



Obrázek 45 Ukázka působení testovaného vzorku č. 12 (oxidovaný škrob + kyselina hyaluronová + 2,0% I₂) na *Klebsiella pneumoniae* po 24 (a) a 48 (b) hodinách na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)

V odborné publikaci Xua a kol. (2007) testovali obvazové krytí z kyseliny hyaluronové a chitosanu. Chitosan má schopnost urychlit hemostázu v ráně spojením erytrocytů, které vytváří krevní sraženinu. Může také stimulovat migraci polymorfonukleárních a mononukleárních buněk, má schopnost urychlit reepitelizaci a má antimikrobiální účinek proti širokému spektru bakterií. Kyselina hyaluronová má vysokou absorpční schopnost vázat na sebe vodu a udržovat vlhké prostředí v ráně a díky tomu hraje klíčovou roli v procesu hojení ran. Kyselina hyaluronová tedy především hojí rány tím, že podporuje migraci zánětlivých buněk a fibroblastů, podporuje angiogenezi a reepitelizaci. Jód se často impregnuje do krycího materiálu, aby působil jako antiseptikum proti širokému spektru bakterií (Slavkovský a kol., 2010). U testovaných vzorků č. 10 – 13 docházelo k vyplavování látek z krycího materiálu (hlavně jódu, dále ale i oxidovaného škrobu a kyseliny hyaluronové) a to pravděpodobně je důvodem, proč jód nemohl působit antimikrobiálně a proč jsou všechny testované vzorky antimikrobiálně neúčinné.

3.3.3 Testované vzorky různého složení

Zkoumané vzorky byly různého složení. Všechny vzorky obsahovaly kyselinu hyaluronovou a poté se ve složení lišily. Některé obsahovaly jód, oxidovaný pšeničný škrob nebo zmazovatělý pšeničný škrob, jiné zas zrna oxidovaného pšeničného škrobu nebo zrna nativního bramborového škrobu. Vzorek č. 14 byla směs kyseliny hyaluronové a oxidovaného škrobu (1:1) na polyamidové pletenině, vzorek č. 15 byla směs kyseliny

hyaluronové a oxidovaného pšeničného škrobu (1:1) na polyamidové hedvábné pletenině, vzorek č. 16 byla směs zrn oxidovaného pšeničného škrobu a kyseliny hyaluronové (1:1) a 4% jódu na viskóзовé hedvábné tkanině, vzorek č. 17 byla směs kyseliny hyaluronové a zmazovatělého škrobu (1:1) na polyamidové hedvábné tkanině, vzorek č. 18 byla směs kyseliny hyaluronové, zmazovatělého bramborového škrobu (1:1) a 4% jódu na polyamidové hedvábné tkanině, vzorek č. 19 byla směs zrn nativního bramborového škrobu a kyseliny hyaluronové (1:1) a 4% jódu na viskóзовé hedvábné tkanině, vzorek č. 20 byla směs kyseliny hyaluronové a oxidovaného pšeničného škrobu (1:2) na polyamidové hedvábné tkanině a vzorek č. 21 byla směs kyseliny hyaluronové, oxidovaného škrobu (1:1) a moramylu OXP (oxidovaný škrob pšeničný) na polyamidové pletenině. Tyto různé směsi byly nanášeny na různé materiály. Na polyamidovou pleteninu, polyamidovou hedvábnou tkaninu nebo viskóзовou hedvábnou tkaninu. Všechny tyto vzorky byly otestovány na antimikrobiální působení u vybrané škály mikroorganismů (viz tabulka 15 – 16). Testované vzorky byly textilně pevné s hladkým povrchem (viz obrázek 46).



č. 14

č. 16

č. 18

č. 19

Obrázek 46 Ukázka vzorku č. 14 (vzorek bez jódu a oxidovaným pšeničným škrobem), č. 16 (vzorek s 4,0 % I₂ a zrnem oxidovaného pšeničného škrobu), č. 18 (vzorek s 4,0 % I₂ a zmazovatělejším bramborovým škrobem) a č. 19 (vzorek s 4,0 % I₂ a zrnem nativního bramborového škrobu) od pana doc. Ing. Ladislava Burgerta, CSc.

(foto autor)

Tabulka 15 Antimikrobiální účinek u vzorků č. 14 – 20

Testované mikroorganismy	Vzorky č. 14 – 20			
	24 hodin		48 hodin	
	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS	Šířka inhibičních zón [mm]	BC/BS
<i>K. pneumoniae</i>	0x0	N	0x0	N
<i>St. aureus</i>	0x0	N	0x0	N
<i>C. albicans</i>	0x0	N	0x0	N

BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek N = neúčinný K = kontaminace

Legenda: Vzorek č. 14 – vzorek bez jódu – směs HA + oxidovaný pšeničný škrob (1:1) na polyamidové pletenině, vzorek č. 15 – vzorek bez jódu – směs HA + oxidovaný pšeničný škrob (1:1) na polyamidové hedvábné pletenině, vzorek č. 16 – zrna oxidovaného pšeničného škrobu + HA (1:1) + 4% jódu na viskóзовé hedvábné tkanině, vzorek č. 17 – vzorek bez jódu – směs HA + zmazovatěly bramborový škrob (1:1) na polyamidové hedvábné pletenině, vzorek č. 18 – směs HA + zmazovatěly bramborový škrob (1:1) + 4% jódu na polyamidové hedvábné pletenině, vzorek č. 19 – zrna nativního bramborového škrobu + HA (1:1) + 4% jódu na viskóзовé hedvábné tkanině, vzorek č. 20 – vzorek bez jódu – směs HA + oxidovaný pšeničný škrob (1:2) na polyamidové hedvábné pletenině

Tabulka 16 Antimikrobiální účinek vzorku č. 21

Testované mikroorganismy	Vzorek č. 21 – směs HA + oxidovaný škrob (1:1) – Moramyl OXP na polyamidové pletenině				
	Šířka inhibičních zón [mm] a bakteriocidní či bakteriostatický účinek				
	24 hodin	48 hodin	72 hodin	6 dní	7 dní
<i>K. pneumoniae</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 K (N)	0x0 K (N)
<i>St. aureus</i>	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 (N)	0x0 K (N)	0x0 K (N)
<i>C. albicans</i>	0x0 (N)	0x0 K (N)	0x0 K (N)	0x0 K (N)	0x0 K (N)

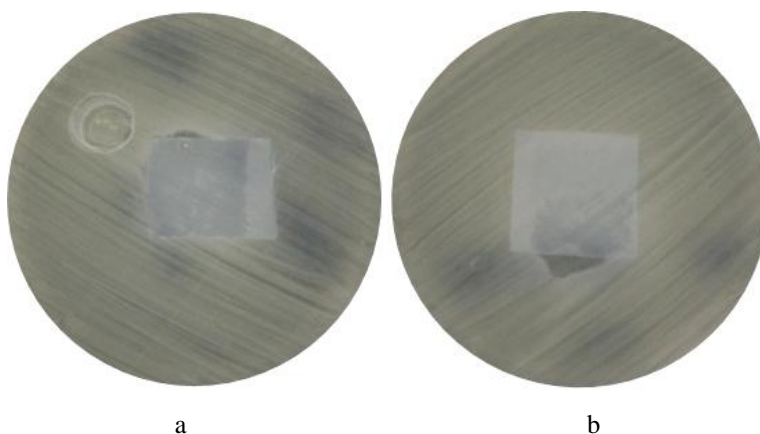
BC/ BS = bakteriocidní či bakteriostatický účinek N = neúčinný K = kontaminace

Legenda: Vzorek č. 21 – směs HA + oxidovaný škrob (1:1) – Moramyl OXP na polyamidové pletenině

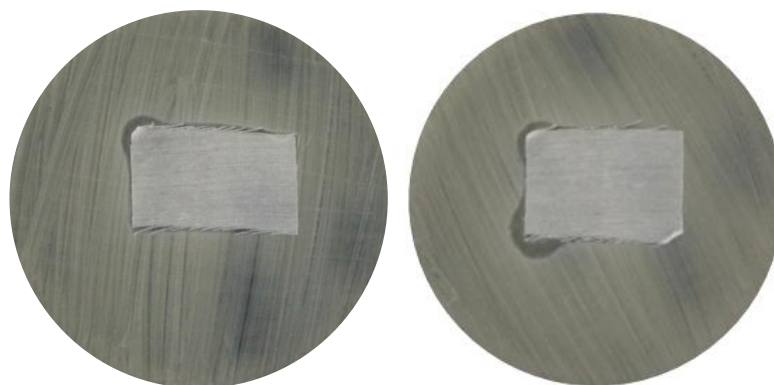
Testované vzorky nevykazovaly žádné antimikrobiální působení a šířka inhibičních zón byla u všech mikroorganismů 0x0 mm (viz tabulka 15 a 16). U některých vzorků byla

často vidět kontaminace, neboť tyto testované vzorky nebyly sterilizovány. Testovaný materiál u vzorku č. 21 se nechal působit po delší dobu inkubace než ostatní vzorky pro zjištění, zda se po delší době antimikrobiální účinek nezmění (viz tabulka 16). Ale ani po delší časové inkubaci se u vzorku č. 21 neobjevil antimikrobiální efekt. Negativní antimikrobiální účinky u těchto vzorků mohou být výsledkem špatného kontaktu vzorku s mikroorganismem, neboť docházelo k vyplavování látek obsažených v testovaném materiálu. Jód nebyl dostatečně zachycen v škrobu a nemohl tedy působit antimikrobiálně. Vyplavování látek z krycího materiálu (hlavně škrobu) způsobovalo různé tvary okolo testovaného vzorku, které ale nebyly identifikovány jako inhibiční zóny (viz obrázek 47 – 49). U bakterie *St. aureus* se domníváme, že nedocházelo k migraci účinných látek z testovaného vzorku, neboť tato bakterie štěpí škrob na jednodušší sacharidy pomocí enzymu amyláza a kyselinu hyaluronovou rozkládá díky enzymu hyaluronidáza (Lakshmi a kol., 2013; Romanò a kol., 2017).

V odborné studii Boatenga a Catanzana (2015) zkoumali krycí materiál složený z kyseliny hyaluronové. Kyselina hyaluronová se začleňuje běžně do gáz, pěnových obvazů i krémů. Má vysokou absorpční schopnost vázat na sebe vodu a poskytuje ráně přirozeně vlhké prostředí, které chrání před vysušováním rány a podporuje hojení ran. Do krycích obvazů společně s kyselinou hyaluronovou se často začleňují i antimikrobiální látky, jako je chitosan nebo jód (Roehrs a kol., 2016). Pravděpodobnou příčinou antimikrobiální neúčinnosti u testovaných vzorků č. 14 – 21 bylo vyplavování látek (hlavně jódu, ale i kyseliny hyaluronové a dalších látek) z krycího materiálu.



Obrázek 47 Ukázka působení testovaného vzorku č. 15 (směs oxidovaného pšeničného škrobu + kyseliny hyaluronové) na *Klebsiella pneumoniae* po 24 (a) a 48 (b) hodinách na M-H agaru (kultivace při 37 °C) (foto autor)



a

b

Obrázek 48 Ukázka působení testovaného vzorku č. 16 (směs zrn oxidovaného pšeničného škrobu + kyseliny hyaluronové + 4% jódu) na *Klebsiella pneumoniae* po 24 (a) a 48 (b) hodinách na M-H agaru (kultivace při 37 °C)
(foto autor)



č. 15

č. 16

č. 21

Obrázek 49 Ukázka působení testovaného vzorku č. 15 (směs oxidovaného pšeničného škrobu + kyseliny hyaluronové), vzorku č. 16 (směs zrn oxidovaného pšeničného škrobu + kyseliny hyaluronové + 4% jódu) a vzorku č. 21 (směs kyseliny hyaluronové + oxidovaného škrobu – Moramyl OXP) na *Candida albicans* po 24 hodinách na M-H agaru s krví (kultivace při 30 °C)
(foto autor)

ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývá studiem antimikrobiálního účinku u testovaných vzorků na bázi karboxymethylcelulózy, kyseliny hyaluronové a kyseliny hyaluronové v kombinaci s jodovými preparáty. Již několik let se katedra biologie a biochemických věd na Fakultě chemicko-technologické Univerzity Pardubice, dříve pod vedením paní doc. Ing. Jarmily Vyřasové, Csc. a nyní Ing. Ivety Brožkové, Ph.D., zabývá vývojem nových krycích a obvazových materiálů pro léčbu ran. Proto tato diplomová práce dále navazuje, doplňuje a potvrzuje další informace k této problematice.

Z výsledků zkoumaných vzorků vyplývá, že největší antimikrobiální působení mají vzorky z kyselé formy karboxymethylcelulózy připravené z nativní celulózy PurCotton[®] technologií spunlace (jak nízkotlakou (soft), tak vysokotlakou technologií). Zásadní roli v antibakteriálním působení nehraje překvapivě textilní struktura, ale vlastnosti základního materiálu (polymerní a nadmolekulární struktura, jinými slovy, zda se jedná o produkt s vysokou krystalinitou (nativní bavlněná celulóza) nebo o regenerovanou celulózu, která rychleji geluje a ztrácí antimikrobiální účinnost). Horší výsledky již poskytuje karboxymethylovaná celulóza z regenerované celulózy Tencel[®] a nejhorší antimikrobiální účinky vykazují vzorky připravené vpichováním regenerované celulózy viskózy, která již ztratila původní krystalinickou strukturu původní celulózy.

Z pohledu mikrobiologického hodnocení lze doporučit pro ošetřování ran produkty připravené z kyselé formy netkané karboxymethylované celulózy (Hcel[®] HT, Hcel[®] HT soft) a částečně i materiály z Tencelu (Hcel[®] HT T). Jako perspektivní se jeví i kombinace s kyselinou hyaluronovou, a to jak ve formě komerčního přípravku Hyiodine[®], tak ve formě kompozitního produktu s vrstvou nanovláken (Hcel[®] HT HA). Co se týče sodné soli karboxymethylované celulózy, ať už ve formě spunlace textilie (Hcel[®] NaT, Hcel[®] NaT soft) nebo ve formě vpichované textilie (Hcel[®] NaT T), toto krytí zůstává využitelné pouze pro čisté rány a jediné řešení pro infikované rány je kombinace se stříbrem.

U testovaných vzorků s jodovými preparáty nebyl bohužel zjištěn žádný antimikrobiální účinek na vybrané škále mikroorganismů. Negativní antimikrobiální účinky u těchto vzorků jsou pravděpodobně výsledkem špatného kontaktu vzorku s mikroorganismem, neboť docházelo k vyplavování látek hlavně jódu, ale i kyseliny hyaluronové a dalších látek obsažených v testovaném materiálu. Jód nebyl dostatečně zachycen v testovaném krytí a nemohl tedy působit antimikrobiálně. Bylo by zapotřebí zjistit skutečnou koncentraci jódu v testovaném materiálu.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] ADAMU, M. T., B. M. T. SHAMSUL, M. N. DESA a S. KHAIRANI-BEJO. A review on *Escherichia coli* O157:H7 – the super pathogen. *Health and the Environment Journal*. 2014, 5(2), s. 118–134.
- [2] ALHAZMI, A. *Pseudomonas aeruginosa* – Pathogenesis and Pathogenic Mechanisms. *International Journal of Biology*. 2015, 7(2), s. 44–67.
- [3] ARIF, D., A. D. UREHKAR, A. KORE, B. L. CHAUDHARY, J. NISSAR a S. SINGH. Prevalence of *Streptococcus agalactiae* in Pregnant Women and its Antibiotic Sensitivity Pattern. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2015, 4(7), s. 315–320.
- [4] ATIYEH, B. S., S. A. DIBO a S. N. HAYEK. Wound cleansing, topical antiseptics and wound healing. *International Wound Journal*. 2009, 6(6), s. 420–430.
- [5] BADR, A. A., A. HASSANIN a M. MOURSEY. Influence of Tencel/cotton blends on knitted fabric performance. *Alexandria Engineering Journal*. 2016, 55(3), s. 2439–2447.
- [6] BEHZADI, P., E. BEHZADI a R. RANJBAR. Urinary tract infections and *Candida albicans*. *Central European Journal of Urology*. 2015, 68(1), s. 96–101.
- [7] BELL, D. a D. HYAM. Choosing an appropriate dressing for chronic wounds. *Prescriber*. 2007, 18(11), s. 65–70.
- [8] BOATENG, J. a O. CATANZANO. Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing – A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015, 104(11), s. 3653–3680.
- [9] BOWLER, P. G., B. I. DUERDEN a D. G. ARMSTRONG. Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management. *Clinical Microbiology Reviews*. 2001, 14(2), s. 244–269.
- [10] BROWN, A. The role of debridement in the healing process. *Nursing Times*. 2013, 109(40), s. 16–19.
- [11] CANO, V., D. MORANTA, E. LLOBET-BROSSA, J. BENGOCHEA a J. GARMENDIA. *Klebsiella pneumoniae* triggers a cytotoxic effect on airway epithelial cells. *BMC Microbiology*. 2009, 9(1), s. 156–164.
- [12] CONTIPRO. *Contipro a.s.* [online]. Česká republika: Contipro a.s., 2018 [cit. 2018-04-05]. Dostupné z: www.hyiodine.cz

- [13] COOPER, R. A. A review of the evidence for the use of topical antimicrobial agents in wound care. *World Wide Wounds*. 2004, 1(1), s. 1–15.
- [14] DABIRI, G., E. DAMSTETTER a T. PHILLIPS. Choosing a Wound Dressing Based on Common Wound Characteristics. *Advances in Wound Care*. 2016, 5(1), s. 32–41.
- [15] DAVIDSON, J. R. Current Concepts in Wound Management and Wound Healing Products. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2015, 45(3), s. 537–564.
- [16] DHIVYA, S., V. V. PADMA a E. SANTHINI. Wound dressings – a review. *BioMedicine*. 2015, 5(4), s. 24–28.
- [17] DÍEZ-PASCUAL, A. M. a A. L. DÍEZ-VICENTE. Wound Healing Bionanocomposites Based on Castor Oil Polymeric Films Reinforced with Chitosan-Modified ZnO Nanoparticles. *Biomacromolecules*. 2015, 16(9), s. 2631–2644.
- [18] DISSEMOND, J., M. AUGUSTIN, S. A. EMING, T. GOERGE, T. HORN, S. KARRER, H. SCHUMANN a M. STÜCKER. Modern wound care - practical aspects of non-interventional topical treatment of patients with chronic wounds. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2014, 12(7), s. 541–554.
- [19] EDWARDS, V., D. YAGER, A. BOPP, R. F. DIEGELMANN, S. GOHEEN a I. K. COHEN. Design, Preparation, and Activity of Cotton Gauze for Use in Chronic Wound Research. *Oxford University Press*. 2001, 792(6), s. 89–76.
- [20] EGOZI, D., M. BARANES-ZEEVI, Y. ULLMANN, A. GILHAR, A. KEREN, E. MATANES, I. BERDICEVSKY, N. KRIVOY a M. ZILBERMAN. Biodegradable soy wound dressings with controlled release of antibiotics: Results from a guinea pig burn model. *Burns*. 2015, 41(7), s. 1459–1467.
- [21] EL BEITUNE, P., G. DUARTE a C. M. L. MAFFEI. Colonization by *Streptococcus agalactiae* during pregnancy: maternal and perinatal prognosis. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2005, 9(4), s. 276–282.
- [22] FALAGAS, M. E., P. K. KAVVADIA, E. MANTADAKIS, D. P. KOFTERIDIS, I. A. BLIZIOTIS, E. SALOUSTROS, S. MARAKI a G. SAMONIS. *Morganella morganii* Infections in a General Tertiary Hospital. *Infection*. 2006, 34(6), s. 315–321.
- [23] FAN, L., X. ZHOU, P. WU, W. XIE, H. ZHENG, W. TAN, S. LIU a Q. LI. Preparation of carboxymethyl cellulose sulfates and its application as anticoagulant and wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014, 66(1), s. 245–253.

- [24] FLETCHER, J., Z. MOORE, I. ANDERSON, K. MATSUZAKI. Hydrocolloids and pressure ulcers. *Wounds International*. 2011, 2(4), s. 1–6.
- [25] GAJAN, B. E., A. SHIRMOHAMMADI, M. AGHAZADEH, M. ALIZADEH, S. A. DELJAVAN a F. AHMADPOUR. Antibiotic Resistance in *Enterococcus faecalis* Isolated from Hospitalized Patients. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*. 2013, 7(2), s. 102–104.
- [26] GAJDZIOK, J., S. HOLEŠOVÁ, J. ŠTEMBÍREK, E. PAZDZIORA, H. LANDOVÁ, P. DOLEŽEL a D. VETCHÝ. Carmellose Mucoadhesive Oral Films Containing Vermiculite/Chlorhexidine Nanocomposites as Innovative Biomaterials for Treatment of Oral Infections. *BioMed Research International*. 2015, 1(1), s. 1–15.
- [27] GARLAND, S. M., A. J. DALEY, C. PEARCE, E. COTTRILL, N. KELLY, L. MARKOWSKI, D. NDISANG a V. CLIFFORD. Antimicrobial resistance in group B *Streptococcus*: the Australian experience. *Journal of Medical Microbiology*. 2011, 60(2), s. 230–235.
- [28] GETHIN, G. Role of topical antimicrobials in wound management. *Journal of Wound Care*. 2009, 5(1), s. 4–8.
- [29] GHOSH, R. Non woven fabric and the difference between Bonded and Needle punched non woven fabrics. *IOSR Journal of Polymer and Textile Engineering*. 2014, 1(2), s. 31–33.
- [30] GORDON, R. J. a F. D. LOWY. Pathogenesis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2008, 46(5), s. 350–359.
- [31] GOSBELL, I. B. The significance of MRSA and VRE in chronic wounds. *Primary Intention: The Australian Journal of Wound Management*. 2002, 10(1), s. 15–19.
- [32] GROTHIER, L. Understanding the use of collagen/oxidised regenerated cellulose dressings. *Wounds International*. 2015, 6(2), s. 34–40.
- [33] HADDADIN, A. S, S. A. FAPPIANO a P. A. LIPSETT. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the intensive care unit. *Postgraduate Medical Journal*. 2002, 78(921), s. 385–392.
- [34] HALDER, E., D. K. CHATTORAJ a K. P. DAS. Adsorption of biopolymers at hydrophilic cellulose-water interface. *Biopolymers*. 2005, 77(5), s. 286–295.
- [35] HOLZBECHER. *Holzbecher, spol. s r. o. barevna a bělidlo Zlích* [online]. Česká republika: Holzbecher s.r.o., 2012 [cit. 25. 10. 2017]. Dostupné z: <http://www.holzbecher.net/hcel-reg/o-znacce-hcel/>

- [36] CHAIWARITH, R., W. JULLAKET, M. BUNCHOO, N. NUNTACHIT, T. SIRISANTHANA a K. SUPPARATPINYO. *Streptococcus agalactiae* in adults at Chiang Mai University Hospital: a retrospective study. *BMC Infectious Diseases*. 2011, 11(1), s. 1–7.
- [37] CHELLAMANI, K. P., R. S. V. BALAJI a D. VEERASUBRAMANIAN. Medical Textiles: The Spunlace process and its application possibilities for hygiene textiles. *Journal of Academia and Industrial Research*. 2013, 1(12), s. 735–739.
- [38] JAFARI, A., M. M. ASLANI a S. BOUZARI. *Escherichia coli*: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. *Iranian Journal of Microbiology*. 2012, 4(3), s. 102–117.
- [39] JANUÁRIO, V., D. A. DE ÁVILA, M. A. PENETRA, A. L. B. SAMPAIO, M. I. NORONHA NETA, F. F. CASSIA a S. CARNEIRO. Evaluation of treatment with carboxymethylcellulose on chronic venous ulcers. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2016, 91(1), s. 17–22.
- [40] JONES, V., J. E. GREY a K. G. HARDING. Wound dressings. *BMJ*. 2006, 332(7544), s. 777–780.
- [41] KAMOUN, E. A., E. S. KENAWY a X. CHEN. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. *Journal of Advanced Research*. 2017, 8(3), s. 217–233.
- [42] KERIHUEL, J. Ch. Effect of activated charcoal dressings on healing outcomes of chronic wounds. *Journal of Wound Care*. 2010, 19(5), s. 208–214.
- [43] KERIHUEL, J. Ch. Charcoal combined with silver for the treatment of chronic wounds. *Wounds UK*. 2009, 5(3), s. 87–93.
- [44] KHAN, H. A., A. AHMAD a R. MEHBOOB. Nosocomial infections and their control strategies. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015, 5(7), s. 509–514
- [45] KUBÍNOVÁ, B. *Ověření antimikrobiální aktivity krycích a obvazových materiálů pro léčbu chronických ran*. Pardubice, 2016. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická. Vedoucí diplomové práce Ing. Iveta Brožková, Ph. D.
- [46] KUCIŇSKA-LIPKA, J., I. GUBANSKA a H. JANIK. Bacterial cellulose in the field of wound healing and regenerative medicine of skin: recent trends and future perspectives. *Polymer Bulletin*. 2015, 72(9), s. 2399–2419.

- [47] LAKSHMI, H. P., U. V. PRASAD, S. YESWANTH, V. SWARUPA, O. H. PRASAD, M. L. NARASU a P. SARMA. Molecular characterization of α -amylase from *Staphylococcus aureus*. *Bioinformation*. 2013, 9(6), s. 281–285.
- [48] LEAPER, D. Appropriate use of silver dressings in wounds: International consensus document. *International Wound Journal*. 2012, 9(5), s. 461–464.
- [49] LIM, J. Y., J. W. YOON a C. J. HOVDE. A Brief Overview of *Escherichia coli* O157:H7 and Its Plasmid O157. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2010, 20(1), s. 5–14.
- [50] LIPSKY, B. A. a C. HOEY. Topical Antimicrobial Therapy for Treating Chronic Wounds. *Clinical Infectious Diseases*. 2009, 49(10), s. 1541–1549.
- [51] LIU, H., J. ZHU, Q. HU a X. RAO. *Morganella morganii*, a non-negligent opportunistic pathogen. *International Journal of Infectious Diseases*. 2016, 50(1), s. 10–17.
- [52] LONGINOTTI, C.. The use of hyaluronic acid based dressings to treat burns: A review. *Burns & Trauma*. 2014, 2(4), s. 162–168.
- [53] MADAGHIELE, M., A. SANNINO, L. AMBROSIO a C. DEMITRI. Polymeric hydrogels for burn wound care: Advanced skin wound dressings and regenerative templates. *Burns & Trauma*. 2014, 2(4), s. 153–161.
- [54] MASHAT, B. H. Polyhexamethylene biguanide hydrochloride: features and applications. *British Journal of Environmental Sciences*. 2016, 4(1), s. 49-55.
- [55] MAYER, F. L., D. WILSON a B. HUBE. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2014, 4(2), s. 119–128.
- [56] MENDES GIANNINI, M. J. S., T. BERNARDI, L. SCORZONI, A. M. FUSCO-ALMEIDA a J. C. O. SARDI. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*. 2013, 62(1), s. 10–24.
- [57] MÉNDEZ-VILAS, A. *Microbial pathogens and strategies for combating them science, technology and education*. Badajoz: Formatex Research Center, 2013, 1, s. 702–710. ISBN 9788493984397.
- [58] MIDHA, V. K. a A. DAKURI. Spun bonding Technology and Fabric Properties: a Review. *Journal of Textile Engineering & Fashion Technology*. 2017, 1(4), s. 1–9.
- [59] MOORE, L. S. P., J. CUNNINGHAM a H. DONALDSON. A clinical approach to managing *Pseudomonas aeruginosa* infections. *British Journal of Hospital Medicine*. 2016, 77(4), s. 50–54.

- [60] MOSELEY, R., M. WALKER, R. J. WADDINGTON a W. Y. J. CHEN. Comparison of the antioxidant properties of wound dressing materials – carboxymethylcellulose, hyaluronan benzyl ester and hyaluronan, towards polymorphonuclear leukocyte-derived reactive oxygen species. *Biomaterials*. 2003, 24(9), s. 1549–1557.
- [61] MULDER, G. D., J. P. CAVORSI a D. K. LEE. Polyhexamethylene Biguanide (PHMB): An Addendum to Current Topical Antimicrobials. *Wounds*. 2007, 19(7), s. 173–182.
- [62] NAMAZI, H., R. RAKHSHAEI, H. HAMISHEHKAR a H. S. KAFIL. Antibiotic loaded carboxymethylcellulose/MCM-41 nanocomposite hydrogel films as potential wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016, 85(1), s. 327–334.
- [63] NATHER, A., C. C. WEI MAE, A. ANWAR a S. MASTURAH. Surgical Debridement for Diabetic Foot Wounds. *Clinics in Surgery*. 2016, 1(1040), s. 1–4.
- [64] NEČAS, J., L. BARTOŠÍKOVÁ, P. BRAUNER a J. KOLÁŘ. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Veterinarni Medicina*. 2008, 53(8), s. 397–411.
- [65] NEUMAN, M. G., R. M. NANAU, L. ORUÑA-SANCHEZ a G. COTO. Hyaluronic Acid and Wound Healing. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2015, 18(1), s. 53–60.
- [66] OSHIN, M. J. a G. SRINIVASAN. Advanced trends in treatment of wounds. *Current Science*. 2016, 111(4), s. 641–647.
- [67] PAPAKONSTANTINOOU, E., M. ROTH a G. KARAKIULAKIS. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermato-Endocrinology*. 2014, 4(3), s. 253–258.
- [68] PEI, Z., Q. SUN, X. SUN, P. ZHAO a Y. WANG. Preparation and characterization of silver nanoparticles on silk fibroin/carboxymethylchitosan composite sponge as anti-bacterial wound dressing. *Bio-Medical Materials and Engineering*. 2015, 26(1), s. 111–118.
- [69] PLATA, K., A. E. ROSATO a G. WĘGRZYN. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta biochimica Polonica*. 2009, 56(4), s. 597–612.
- [70] POLETTO, M., V. PISTOR a A. J. ZATTERA. Structural Characteristics and Thermal Properties of Native Cellulose. VAN DE VEN, T. a L. GODBOUT. *Cellulose - Fundamental Aspects*. InTech. 2013, s. 45–65. ISBN 978-953-51-1183-2.
- [71] POSPÍŠILOVÁ, A. Léčba chronických ran moderními krycími prostředky. *Praktické lékařství*. 2010, 6(6), s. 276–281.

- [72] POULSEN, L. L., M. BISGAARD, N. T. SON, N. V. TRUNG, H. M. AN a A. DALSGAARD. *Enterococcus faecalis* Clones in Poultry and in Humans with Urinary Tract Infections, Vietnam. *Emerging Infectious Diseases*. 2012, 18(7), s. 1096–1100.
- [73] PYUN, D. G., H. J. CHOI, H. S. YOON, T. THAMBI a D. S. LEE. Polyurethane foam containing rhEGF as a dressing material for healing diabetic wounds: Synthesis, characterization, in vitro and in vivo studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2015, 135 (1), s. 699–706.
- [74] RAMÍREZ RIGO, M. V., D. A. ALLEMANDI a R. H. MANZO. Swellable drug-polyelectrolyte matrices of drug-carboxymethylcellulose complexes. Characterization and delivery properties. *Drug Delivery*. 2009, 16(2), s. 108–115.
- [75] RODRIGUES, A. P., A. R. M. HOLANDA, G. P. LUSTOSA, S. M. B. NÓBREGA, W. J. SANTANA, L. B. S. SOUZA a H. D. M. COUTINHO. Virulence Factors and Resistance Mechanisms of *Serratia marcescens*. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. 2006, 53(1), s. 89–93.
- [76] ROEHRS, H., J. G. D. STOCCO, F. POTT, G. BLANC, K. CROZETA, M. J. MEIER a F. AL DIAS. Dressings and topical agents containing hyaluronic acid for chronic wound healing. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2016, 5(1), s. 1–15.
- [77] ROJAS, O. J. *Cellulose chemistry and properties: fibers, nanocelluloses and advanced materials*. 1. New York, NY: Springer Berlin Heidelberg, 2016, s. 1 – 52. ISBN 978-3-319-26013-6.
- [78] ROMANÒ, C. L., E. DE VECCHI, M. BORTOLIN, I. MORELLI a L. DRAGO. Hyaluronic Acid and Its Composites as a Local Antimicrobial/Anti-adhesive Barrier. *Journal of Bone and Joint Infection*. 2017, 2(1), s. 63–72.
- [79] SANCINETO, L., M. PICCIONI, S. DE MARCO, R. PAGIOTTI, V. NASCIMENTO, A. L. BRAGA, C. SANTI a D. PIETRELLA. Diphenyl diselenide derivatives inhibit microbial biofilm formation involved in wound infection. *BMC Microbiology*. 2016, 16(1), s. 220–230.
- [80] SARHEED, O., A. AHMED, D. SHOUQAIR a J. BOATENG. Antimicrobial Dressings for Improving Wound Healing. ALEXANDRESCU, V. A. *Wound Healing - New insights into Ancient Challenges*. InTech, 2016, s. 373–398. ISBN 978-953-51-2678-2.

- [81] SAVINI, V., R. MAROLLO, M. D'ANTONIO, C. D'AMARIO, P. FAZII a D. D'ANTONIO. *Streptococcus agalactiae* vaginitis: nonhemolytic variant on the Liofilchem[®] Chromatic StreptoB. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2013, 6(8), s. 1693–1695.
- [82] SHARMA, S., A. DUA a A. MALIK. Third generation materials for wound dressings. *International journal of pharmaceutical sciences and research*. 2014, 5(6), s. 2113–2124.
- [83] SIBBALD, R. G., D. J. LEAPER a D. QUEEN. Iodine. *Wounds International*. 2011, 2(2), s. 1–6.
- [84] SINGH, R. K. a O. P. KHATRI. A scanning electron microscope based new method for determining degree of substitution of sodium carboxymethyl cellulose. *Journal of Microscopy*. 2012, 246(1), s. 43–5.
- [85] SIRITIENTONG, T. a P. ARAMWIT. Characteristics of carboxymethyl cellulose/sericin hydrogels and the influence of molecular weight of carboxymethyl cellulose. *Macromolecular Research*. 2015, 23(9), s. 861–866.
- [86] SLAVKOVSKÝ, R., R. KOHLEROVÁ, A. JIROUTOVÁ, M. HAJZLEROVÁ, L. SOBOTKA, E. ČERMÁKOVÁ a J. KANTA. Effects of hyaluronan and iodine on wound contraction and granulation tissue formation in rat skin wounds. *Clinical and Experimental Dermatology*. 2010, 35(4), s. 373–379.
- [87] SOOD, A., M. S. GRANICK a N. L. TOMASELLI. Wound Dressings and Comparative Effectiveness Data. *Advances in Wound Care*. 2014, 3(8), s. 511–529.
- [88] SOPUCH, T. Firemní informace k produktům řady Hcel[®], 2017.
- [89] SOPUCH, T., R. DRAHOVZALOVÁ, J. RÝDL, I. BUREŠ, M. MILICHOVSKÝ, J. VYTRÁSOVÁ, P. MOŤKOVÁ, V. ŠVORČÍK, J. PODLAHA, M. HORÁKOVÁ, R. MASTEIKOVÁ, L. VINKLÁRKOVÁ a P. SUCHÝ. Celulózové materiály v ošetření ran. *Hojení ran*. 2013, 2(7), s. 14–20.
- [90] SOPUCH, T., J. WIENER, R. DRAHOVZALOVÁ, J. RÝDL, P. SUCHÝ, J. JAMPÍLEK, I. BROŽKOVÁ, A. KRUŽICOVÁ, B. REICHERT a P. MOŤKOVÁ. Impegnované celulózové krytí s aktivní látkou. Funkční vzorek: Česká republika: Holzbecher, spol. s. r. o, barevna a bělidlo Zlích, 2017.
- [91] SOUKUPOVÁ, T. *Studium antimikrobiální účinnosti materiálů pro hojení kožních defektů*. Pardubice, 2015. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická. Vedoucí diplomové práce Ing. Iveta Brožková, Ph. D.

- [92] TAN, M., S. Z. MORDIFFI a D. LANG. Effectiveness of polyhexamethylene biguanide impregnated dressing in wound healing. *JBI Database of Systematic Reviews and Implementation Reports*. 2016, 14(7), s. 76–83.
- [93] TEMPLETON, S. Management of chronic wounds: the role of silver-containing dressings. *Primary Intention: The Australian Journal of Wound Management*. 2005, 13(4), s. 170–179.
- [94] TEOTIA, A., S. IKRAM a B. GUPTA. Structural characterization of chitosan and oxidized carboxymethyl cellulose based freeze-dried films. *Polymer Bulletin*. 2012, 69(2), s. 175–188.
- [95] VOWDEN, P., K. VOWDEN a K. CARVILLE. Antimicrobial dressings. *Wounds International*. 2011, 2(1), s. 1–6.
- [96] VÁGNEROVÁ, I. a M. KOLÁŘ. Možnosti terapie infekcí způsobených vankomycin-rezistentními enterokoky. *Klin Farmakol Farm*. 2003, 17(1), s. 170–173.
- [97] VAN TYNE, D., M. MARTIN a M. GILMORE. Structure, function, and biology of the *Enterococcus faecalis* cytolysin. *Toxins*. 2013, 5(5), s. 895–911.
- [98] VINKLÁRKOVÁ, L., R. MASTEIKOVÁ, D. VETCHÝ, P. DOLEŽEL a J. BERNATONIENĚ. Formulation of Novel Layered Sodium Carboxymethylcellulose Film Wound Dressings with Ibuprofen for Alleviating Wound Pain. *BioMed Research International*. 2015, 1(1), s1–11.
- [99] VINKLÁRKOVÁ, L., R. MASTEIKOVÁ, G. FOLTÝNOVÁ, J. MUSELÍK, S. PAVLOKOVÁ, J. BERNATONIENĚ a D. VETCHÝ. Film wound dressing with local anesthetic based on insoluble carboxymethylcellulose matrix. *Journal of Applied Biomedicine*. 2017, 15(4), s. 313–320.
- [100] WALKER, R. M., S. J. KEOGH, N. S. HIGGINS, J. A. WHITTY, L. THALIB, B. M. GILLESPIE a J. C. DUMVILLE. Foam dressings for treating pressure ulcers. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK: John Wiley, 2014. 10(1), s. 1–16.
- [101] WELLER, C. a G. SUSSMAN. Wound Dressings Update. *Journal of Pharmacy Practice and Research*. 2006, 36(4), s. 318–324.

- [102] WILSON, D., S. THEWES, K. ZAKIKHANY, Ch. FRADIN, A. ALBRECHT, R. ALMEIDA, S. BRUNKE, K. GROSSE, R. MARTIN, F. MAYER, I. LEONHARDT, L. SCHILD, K. SEIDER, M. SKIBBE, S. SLESIONA, B. WAECHTLER, I. JACOBSEN a B. HUBE. Identifying infection-associated genes of *Candida albicans* in the postgenomic era. *FEMS Yeast Research*. 2009, 9(5), s. 688–700.
- [103] WELCH, R. A. The Genus *Escherichia*. DWORKIN, M., S. FALKOW, E. ROSENBERG, K. H. SCHLEIFER a E. STACKEBRANDT. *The Prokaryotes*. Springer New York, 2006, 6(3), s. 60–71. ISBN 978-0-387-25496-8.
- [104] WU, Y., J. HE, W. CHENG, H. GU, Z. GUO, S. GAO a Y. HUANG. Oxidized regenerated cellulose-based hemostat with microscopically gradient structure. *Carbohydrate Polymers*. 2012, 88(3), s. 1023–1032.
- [105] WU, M. a X. LI. *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Medical Microbiology*. 2015, 87(14), s. 1547–1564.
- [106] XU, H., L. MA, H. SHI, Ch. GAO a Ch. HAN. Chitosan – hyaluronic acid hybrid film as a novel wound dressing: in vitro and in vivo studies. *Polymers for Advanced Technologies*. 2007, 18(11), s. 869–875.
- [107] YANG, H., J. CHENG, L. HU, Y. ZHU a J. LI. Mechanisms of antimicrobial resistance in *Serratia marcescens*. *African Journal of Microbiology Research*. 2012, 6(21), s. 4427–4437.
- [108] YORDANOV, D. a T. STRATEVA. *Pseudomonas aeruginosa* – a phenomenon of bacterial resistance. *Journal of Medical Microbiology*. 2009, 58(9), s. 1133–1148.
- [109] YOUNG, L. Identifying infection in chronic wounds. *Wound Practice and Research*. 2012, 20(1), s. 38–44.