

**Ústav chemického inženýrství
Laboratoř biomimetického inženýrství**

Funkční vzorek

Replika prstu pro studium adheze antibakteriálních mikro částic na povrchu kůže

Autoři:

Bc. Lucie Večerková

Bc. Jan Halberštát

Ing. Klára Lukášová

Ing. Lucie Mašková

Ing. Ondřej Kašpar, Ph.D.

Ing. Viola Tokárová, Ph.D.

Číslo projektu: MPO 731745/2020

Číslo výsledku: FV-2022-06

Odpovědný pracovník: Ing. Ondřej Kašpar, Ph.D.

Vedoucí laboratoře: Ing. Viola Tokárová, Ph.D.

Vedoucí ústavu: prof. František Štěpánek, Ph.D.

Poděkování: „Tento funkční vzorek byl vytvořen se státní podporou Ministerstva průmyslu a obchodu České republiky v rámci Programu Czech Rise Up 2.0, projekt MPO 731745/2020.“

Popis a využití funkčního vzorku

Důraz na osobní hygienu a ochranu proti patogenům zapříčinil, že biocidní přípravky určené k dezinfekci rukou se staly neodmyslitelnou součástí každodenního života. Dezinfekční účinek takových přípravků je sice ihned po aplikaci dostatečný, ale doba trvání je značně omezená. To je zapříčiněno především opakovaným kontaktem s kontaminovanými povrchy, pocením a otěrem. Pro zajištění dlouhodobější ochrany musí být prostředek opakovaně aplikován. Za účelem zvýšení uživatelského komfortu a celkové spolehlivosti dezinfekce je žádoucí účinek biocidních přípravků na rukou prodloužit. Zapouzdření aktivní biocidní látky do mikročástic (např. ve formě pudru či suspenze) ulpívajících v papilárních liniích prstů má díky postupnému uvolňování aktivní látky zajistit prodloužený ochranný účinek vůči bakteriální a virové kontaminaci. Velikost takových částic musí dovolovat depozici částic na povrchu dlaní a prstů bez nepříjemných senzorických vjemů.

Během vývoje nosičů s prodlouženým účinkem je třeba chování připravených částic na rukou studovat za podmínek, které napodobují běžné denní činnosti. Avšak přímá aplikace částic na prsty významně znesnadňuje či přímo vylučuje použití analytických nástrojů jako je elektronová mikroskopie či optická profilometrie. Předložený funkční vzorek je navlékací silikonový odlitek jednoho prstu, který zachycuje topologii papilárních linií a zároveň umožňuje věrnou manipulaci s předměty denní potřeby a následnou pokročilou analýzu (např. zjištění množství deponovaných částic, vývoj množství částic v čase po interakci s povrchem, odolnost vůči otěru). Povrch umělého prstu je též vhodný při studiu baktericidních vlastností nosičů aktivních látek za definovaných podmínek řízené kontaminace.

Technické řešení – forma pro přípravu repliky

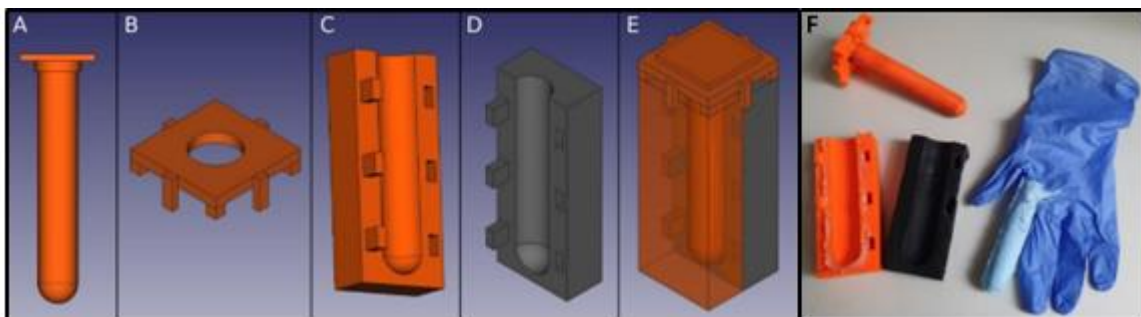
Finální replika musí vykazovat podobné vlastnosti jako lidská kůže a umožňovat napodobování pohybů prstů (deformace při ohybu, směr a tlaková síla při interakci s předmětem). Replika musí být vyrobena z dostatečně elastického materiálu, který by sám neměl vykazovat baktericidní vlastnosti. Dále je nutné, aby byl materiál repliky dostatečně stálý a dovoloval snadnou sterilizaci pro potřeby antibakteriálních testů. V případě požadavku na odlišné materiálové vlastnosti (např. elasticita, mechanická odolnost) lze repliku modifikovat použitím práškových či tekutých aditiv.

Pro přípravu navlékacího modelu prstu byla připravena 4dílná forma, jejíž prvky jsou následující:

- První část je válec (výška 98,5 mm, průměr 9,5 mm) na jedné straně zakončen polokoulí o průměru 9,5 mm a na straně druhé připojen prostřednictvím dalšího válce o výšce 5 mm a průměru 11 mm k čtvercové desce o výšce 3 mm a délce hrany 100 mm (*Obrázek 1A*). Tento díl tvoří část formy zajišťující dutinu rozměrově i tvarem přibližně odpovídající lidskému prstu umožňující navlečení na skutečný prst.
- Druhou část formy tvoří čtvercová deska o výšce 5 mm a délce hrany 50 mm opatřená v rozích krychlovými výběžky o hraně 5 mm a v prostředku stran výstupky tvaru kvádrů o rozměrech 5 mm x 3 mm x 15 mm (*Obrázek 1B*). Destička slouží k osovému zarovnání dílu v rámci formy tak, aby byla zajištěna stejnoměrná tloušťka materiálu podél celého odlitku.

- Třetí a čtvrtou část tvoří dva rozměrově stejné kvádry s výdutí, přičemž jeden je vyroben pomocí 3D tisku a druhý z vytvrzené modelovací hmoty s otiskem celé spodní strany prstu s negativní replikou papilárních linií. Podstavy mají rozměry 23 mm x 46 mm a výška kvádrů je 110 mm. Propojení obou dílů zajišťuje trojice zubů o rozměrech 5 mm x 10 mm x 10 mm. Výduť kvádrů z 3D tiskárny je tvořena válcem o průměru 11 mm a výšce 95 mm zakončeném polokoulí o průměru 11 mm (*Obrázek 1C*), zatímco výduť kvádrů z modelovací hmoty byla vytvořena otiskem prstu tak, aby měla stejné rozměry jako výduť v 3D tištěné části (*Obrázek 1D*).

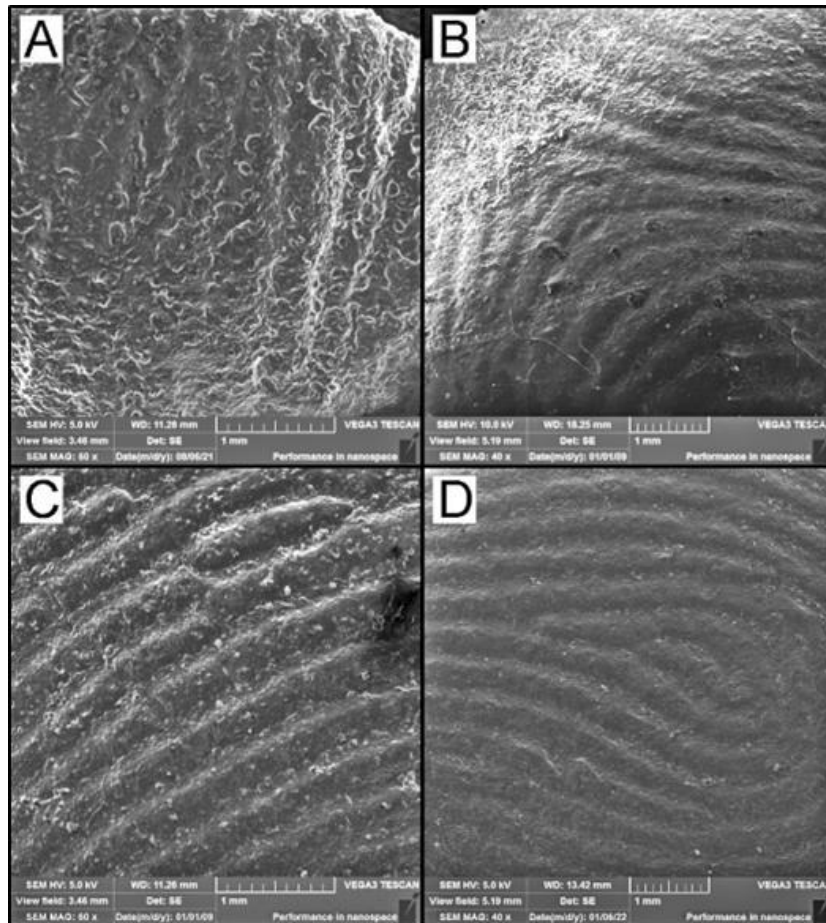
Při přípravě navlékacího umělého prstu je mezi boční díly vložena tenká vrstva silikonového těsnění zabráňující vytékání plnicí hmoty a následně jsou všechny části k sobě pevně přitlačeny. Po zalití tekutým odlévacím materiálem je mezi boční díly vsunut válcový díl, který je v ose složené formy (*Obrázek 1E*), s nataženou nitrilovou rukavicí pro usnadnění manipulace s odlitkem. Během tohoto procesu je na povrch rukavice přenesena detailní struktura prstu. Po vytvrzení materiálu (24 h při pokojové teplotě) je forma rozebrána a odlitek přichycený k rukavici vyňat (*Obrázek 1F*). Takto připravený model lze následně očistit, vydezinfikovat a použít pro účely testování.



Obrázek 1. Forma pro tvorbu modelu prstu. A) válcová část, B) část k zarovnání válcové části, C) boční část, D) boční část s negativní replikou papilárních linií, E) sestavená forma při odlévání, F) Silikonový navlékací prst (ukazováček) na nitrilové rukavici a rozložená forma použitá pro jeho přípravu. Pozn.: Oranžové díly jsou vytištěné na 3D tiskárně a černý díl je připravený z modelovací hmoty.

Volba materiálu pozitivní repliky

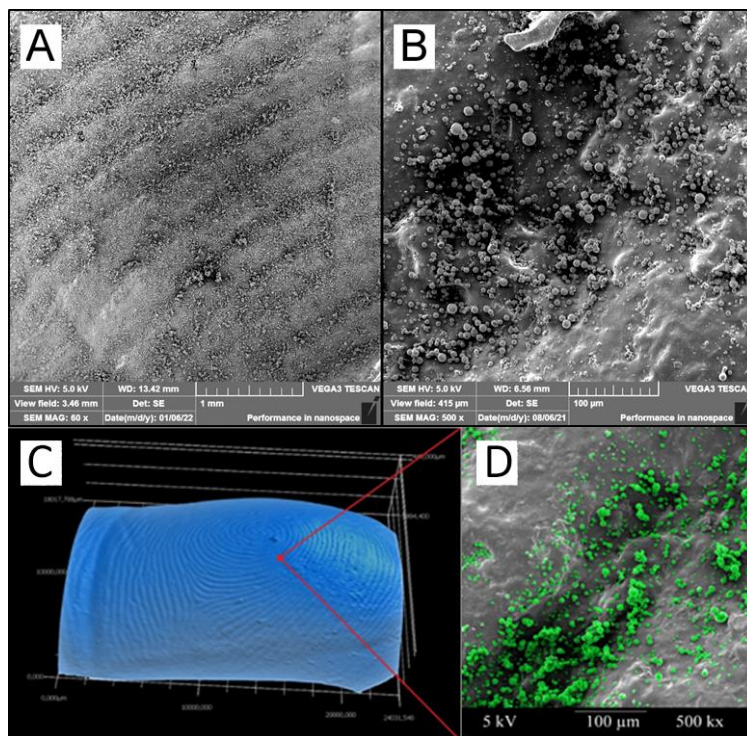
Prototyp byl navržen tak, aby umožňoval snadnou manipulaci a svými vlastnostmi se podobal skutečnému prstu a věrně zachycoval papilární linie a záhyby kůže, které jsou místem, kde dochází přednostně k depozici částic. Prostřednictvím elektronového skenovacího mikroskopu byly pozorovány **pozitivní repliky** prstu vyrobené z několika různých hmot, které svou elasticitou byly blízké kůži či se běžně používají při litografických technikách. V případě replik ze silikonové hmoty Cléopâtre Pata'Mould (*Obrázek 2A*) či fotorezistu NOA 81 (*Obrázek 2B*) nedošlo k úspěšnému obtisknutí požadované struktury **negativní repliky** (*Obrázek 2D*), zatímco replika z lepidla Herkules na polyvinylacetátové bázi (*Obrázek 2C*) vykazovala na snímcích ze skenovacího elektronového mikroskopu vhodnou strukturu, avšak její nízká elasticita, křehkost (povrch znečištěný fragmenty materiálu) a rozpustnost ve vodě limitovaly další použití. S replikami z materiálů, které věrně zachycovaly mikrostrukturu a různě hluboké papilární linie, bylo pracováno dále a byly podrobeny antibakteriálním testům. Materiály, které dobře replikovaly povrch předlohy, ale vykazovaly antibakteriální efekt, byly vyřazeny. Nejlepších výsledků jsme docílili použitím dvousložkové silikonové pasty (Koralky.cz) tvrdnoucí při pokojové teplotě určené pro přípravu odlitkových forem (*Obrázek 2D*).



Obrázek 2. Snímky replik z elektronového skenovacího mikroskopu. A) silikonová hmota Cléopâtre Pata'Mould, B) polymer NOA 81, C) polyvinylacetátové lepidlo Herkules D) silikonová pasta na výrobu forem od dodavatele Koralky.cz.

Vliv materiálu repliky na depozici částic

Distribuce mikro částic nanesených na repliku prstu pomocí štětečku byla pozorována prostřednictvím optické a skenovací elektronové mikroskopie. Pozorování zachytu částic v prostoru mezi vyvýšenými reliéfy papilárních linií replik z různých materiálů potvrdilo, že dochází k akumulaci částic na základě topologie a volba materiálu není rozhodující (*Obrázek 3A, B*). Reliéf umělého prstu je zobrazen na *Obrázku 3C* a detail částic (obarvené) na povrchu repliky na *Obrázku 3D*.

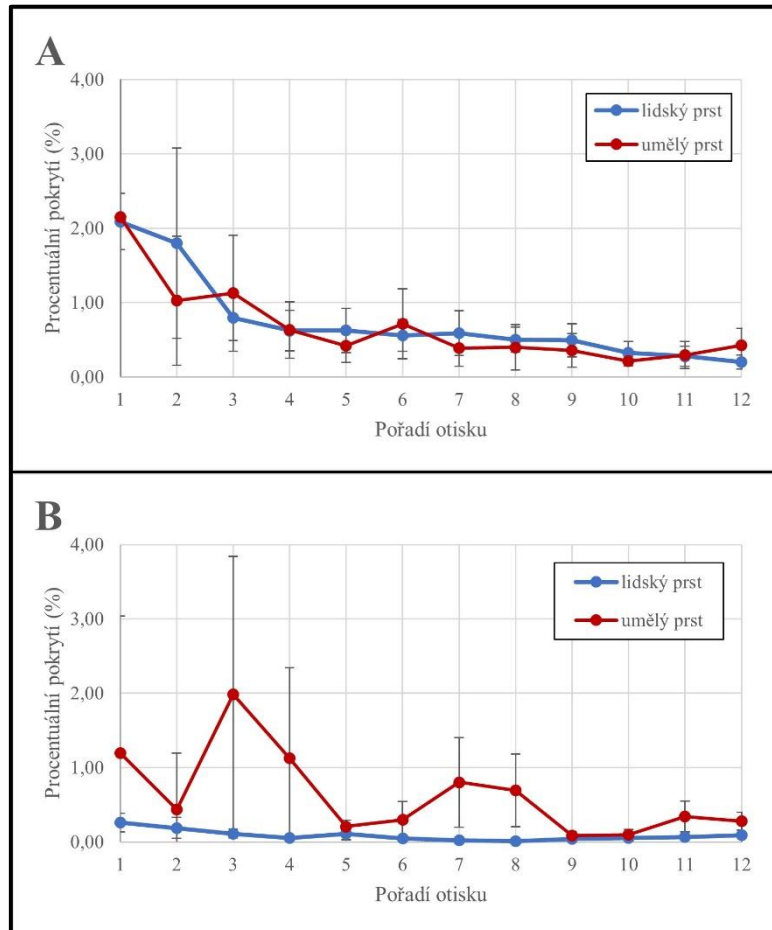


Obrázek 3. Ulpívání částic v papilárních liniích replik. A) distribuce částic na replice ze silikonové hmoty pro výrobu forem, B) detailní pohled na částice zachycené na replice z polyvinylacetátového lepidla Herkules, C) reliéf finální silikonové repliky pořízený optickou profilometrií, D) kolorovaný SEM snímek částic na replice.

Porovnání repliky a předlohy

Otěr a ulpívání částic bylo porovnáno pro umělý model prstu a skutečný prst, který sloužil jako předloha. V definovaném množství byly částice nejprve nanášeny na prst. Prst byl následně obtisknut na destičku ze skla/plastu, čímž došlo k otěru částic, které byly v kontaktu s podložkou. Vzápětí (tj. bez dalšího nanášení částic) byl prst postupně přiložen na další destičky ze stejného materiálu. Tyto destičky byly následně pozorovány pod optickým mikroskopem. Pomocí obrazové analýzy byla vyhodnocena míra pokrytí pro různé materiály dovolující porovnání repliky a předlohy. Měření prokázalo, že nejprve dochází k výraznějšímu otěru z vystouplých částí papilárních linií a postupně se množství přenášených částic ustálilo na konstantní hodnotě. Z porovnání trendů je patrné, že se částice na replice a skutečném prstu chovají velmi podobně, pokud má docházet k jejich otěru otiskem o sklo. Při kontaktu

s umělohmotným povrchem (polystyren) byla u repliky pozorována mírně zvýšená míra otěru (*Obrázek 4*). Získaná data prokázala, že funkční vzorek velice věrně zachycuje ulpívání částic v papilárních liniích prstů a lze s jeho pomocí studovat depozici částic a otěr při kontaktu s definovanými materiály a předměty. Funkční vzorek lze dále využít k antibakteriálním testům s řízenou kontaminací a sledování prodlouženého účinku aktivní látky zapouzdřené v mikročásticích, jelikož sám nevykazuje antibakteriální účinek.



Obrázek 4. Plošné pokrytí destičky částicemi v závislosti na pořadí otisku. Otiskování částic na A) skleněnou destičku a B) na plastovou destičku.