

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Ověření antimikrobiální aktivity krycích a obvazových materiálů z oxidované
celulózy

Bc. Markéta Rybičková

Diplomová práce

2018

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Verification of the antimicrobial activity of oxidised cellulose wound dressings

Bc. Markéta Rybičková

Diploma thesis

2018

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

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Markéta Rybičková**
Osobní číslo: **C16458**
Studijní program: **N3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Bioanalytik**
Název tématu: **Ověření antimikrobiální aktivity krycích a obvazových materiálů z oxidované celulózy**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

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 obvazových materiálů. Uveďte, jaké obvazové materiály s antimikrobiálním účinkem se používají, zaměřte se zejména na obvazové materiály na bázi celulózy 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 oxidované celulózy. Hodnocení antimikrobiálního efektu testovaných materiálů proveďte dle platné normy ČSN EN ISO 20743.
3. Výsledky zpracujete, porovnejte s publikovanými údaji a ze získaných výsledků vyvoďte závěry, případně navrhněte vhodné využití krycích a obvazových materiálů v praxi.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího diplomové práce.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Iveta Brožková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Konzultant diplomové práce: **Mgr. Pavla Staňková, Ph.D.**
Ústav fyziologie LF UK v Hradci Králové

Ostatní konzultanti: **Ing. Petra Mořková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání diplomové práce: **18. prosince 2017**

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



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. 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 11.5.2018

Bc. Markéta Rybičková

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí své diplomové práce Ing. Ivetě Brožkové, Ph.D. za její připomínky, ochotu, vstřícnost a čas, který mi věnovala. Dále bych chtěla poděkovat paní laborantce Drahomíře Hofmanové za pomoc při provedení experimentální části práce.

ANOTACE

Tato diplomová práce se zabývá problematikou krycích obvazových materiálů, především se zaměřuje na obvazy vyrobené z oxidované celulózy.

Teoretická část je rozdělena na čtyři kapitoly, přičemž první pojednává o krycích obvazových materiálech obecně, druhá o materiálech s antimikrobiálním účinkem, třetí o celulóзовých materiálech a poslední kapitola se věnuje oxidované celulóze samotné.

Experimentální část je zaměřena na ověření antimikrobiální aktivity krycích a obvazových materiálů z oxidované celulózy, konkrétně na výrobky OKCEL české společnosti Synthesia, a.s. Antimikrobiální účinky byly testovány pomocí absorpční a difúzní metody.

Všechny tři druhy OKCEL (OKCEL H-T, OKCEL F a OKCEL S klasicky i vakuově balený) vykazovaly inhibiční účinky u všech testovaných bakterií (snížení o 5-7 řádů) kromě sporotvorného kmene *Bacillus subtilis* ihned po naočkování.

Po 24 h kultivaci vykazoval OKCEL inhibiční účinky u všech testovaných bakterií včetně kmene *Bacillus subtilis*. Nebyly zaznamenány rozdíly v účinnosti OKCEL H-T, OKCEL F a OKCEL S ani v účinnosti u klasicky baleného a vakuově baleného materiálu OKCEL S.

Při použití difúzní metody došlo k vytvoření inhibiční zóny u bakterií *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* u obou druhů OKCEL (OKCEL F, OKCEL S). U kmene *Candida albicans* k inhibici nedošlo. Principem účinku testovaného materiálu je nízké pH, kvasinky však v kyselém prostředí přežívají.

U žádné z bakterií nebyl zaznamenán viditelný nárůst v oblasti pod vzorkem testovaného materiálu. Po vyočkování stěru z plochy v oblasti pod vzorkem testovaného materiálu došlo k nárůstu kolonií, účinek obou testovaných materiálů byl tedy vyhodnocen jako bakteriostatický.

Výsledky studie ukazují, že materiály na bázi oxidované celulózy mají antimikrobiální účinky na širokou škálu bakterií, méně účinné jsou ale na kvasinky a sporotvorné bakterie.

KLÍČOVÁ SLOVA

rány, obvazové materiály, hojení ran, antimikrobiální obvazy, celulóзовé materiály, oxidovaná celulóza, OKCEL

ANNOTATION

The diploma thesis deals with the issue of cover dressing materials, focusing on the dressings made of oxidised cellulose.

The theoretical part is divided into four chapters, the first part talks about cover dressing materials in general, the second part deals with the materials with antimicrobial effect and the third part focuses on cellulosic materials. The last chapter addresses the oxidised cellulose.

The experimental part examines the verification of the antimicrobial activity of cover and wound dressing materials from oxidised cellulose, specifically OKCEL products of the Czech company Synthesia, a.s. The antimicrobial effects were tested by the absorption and diffusion method.

All the three types of OKCEL (OKCEL H-T, OKCEL F and OKCEL S standard and vacuum-packed) displayed inhibitory effects on all the tested bacteria (5-7 orders reduction) except for spore-forming strain *Bacillus subtilis* immediately after inoculation.

After 24 hours of cultivation, OKCEL showed inhibitory effects on all tested bacteria, including *Bacillus subtilis* strains. There were no differences in the efficacy of OKCEL H-T, OKCEL F and OKCEL S nor in the efficiency of OKCEL S standard packaged and vacuum-packed materials.

Using the diffusion method, an inhibitory zone was created for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* in both types of OKCEL (OKCEL F, OKCEL S). *Candida albicans* had not been inhibited. The principle for the effect of the tested material is low pH, but the yeasts survive in an acidic environment.

None of the bacteria showed a visible growth in the area under the sample of the tested material. After the inoculation of the smear from the surface in the area under the specimen of the tested material, there was a growth of colonies, therefore the effect of both tested materials was evaluated as bacteriostatic.

The results of the study show that oxidised cellulose based materials have antimicrobial effects on a wide range of bacteria, but they are less effective in yeasts and spore-forming bacteria.

KEY WORDS

wounds, dressing materials, wound healing, antimicrobial dressings, cellulose materials, oxidised cellulose, OKCEL

OBSAH

ÚVOD.....	17
1. TEORETICKÁ ČÁST	18
1.1. Krycí obvazové materiály	18
1.1.1. Neadherentní obvazy (nízkoaderentní obvazy)	21
1.1.2. Filmové obvazy.....	21
1.1.3. Hydrokoloidy	22
1.1.4. Hydrogely	23
1.1.5. Hydropolymery	23
1.1.6. Měkké silikony	24
1.2. Obvazy s antimikrobiálním účinkem (antiseptické obvazy).....	24
1.2.1. Antibiotika	26
1.2.2. Antiseptika	26
1.2.3. Stříbro	27
1.2.4. Jod.....	29
1.2.5. Přírodní produkty	29
1.3. Celulózové materiály	34
1.3.1. Karboxymethylovaná celulóza	35
1.3.2. Mikrobiální celulóza	36
1.4. Oxidovaná celulóza.....	37
1.4.1. Hemostatické účinky oxidované celulózy	39
1.4.2. Příprava oxidované celulózy.....	40
1.4.3. OKCEL (Synthesia).....	43
1.4.4. Antimikrobiální efekt materiálu OKCEL	46
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	48
2.1. Přístroje a zařízení.....	48
2.2. Laboratorní sklo a pomůcky.....	48

2.3.	Roztoky a kultivační média.....	49
2.3.1.	Fyziologický roztok	49
2.3.2.	Neutralizační roztok (Eugonic LT 100 Broth Base w/o Tween 80).....	49
2.3.3.	Mozkosrdcový bujón (Brain Heart Infusion Broth)	50
2.3.4.	Todd Hewitt bujón (Todd Hewitt Broth).....	51
2.3.5.	Trypton-sójový agar (Tryptone Soya Agar, Soyabean Caseine Digest Agar)....	51
2.3.6.	Krevní agar (Blood agar base No. 2)	52
2.3.7.	Sladinový agar (MALT agar)	53
2.3.8.	Deoxycholát-citrátový agar (Deoxycholate Citrate Agar).....	53
2.4.	Bakteriální kmeny	55
2.4.1.	Absorpční metoda	55
2.4.2.	Difúzní metoda	56
2.5.	Pracovní postup.....	57
2.5.1.	Pracovní postup absorpční metody	57
2.5.2.	Pracovní postup difúzní metody	59
2.6.	Testovaný materiál	60
2.6.1.	Absorpční metoda	60
2.6.2.	Difúzní metoda	61
3.	VÝSLEDKY A DISKUZE	62
3.1.	Absorpční metoda	62
3.1.1.	OKCEL H-T	63
3.1.2.	OKCEL F.....	65
3.1.3.	OKCEL S	67
3.1.4.	Antimikrobiální aktivita.....	69
3.1.5.	Počet řádů	71
3.2.	Difúzní metoda.....	73
4.	ZÁVĚR.....	75

5. POUŽITÁ LITERATURA	77
6. ZDROJE OBRÁZKŮ.....	83

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Schéma pro volbu vhodného obvazového materiálu	20
Obrázek 2 - Působení antimikrobiálního obvazu na ránu	25
Obrázek 3 - Balmín košťatý (Manuka) – <i>Leptospermum scoparium</i>	31
Obrázek 4 - Chemická struktura chitinu a chitosanu	32
Obrázek 5 - Struktura celulózy s naznačenými vodíkovými vazbami.....	34
Obrázek 6 - Transformace celulózy do různých krystalických forem.....	35
Obrázek 7 - Karboxymethylace celulózy na uhlíku C6	36
Obrázek 8 - Oxidace celulózy na uhlíku C6	40
Obrázek 9 - Chemická struktura 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-N-oxylu (TEMPO)	41
Obrázek 10 - Schéma TEMPO oxidace celulózy	42
Obrázek 11 - OKCEL Ca-L	43
Obrázek 12 - OKCEL H-T	44
Obrázek 13 - OKCEL H-D	44
Obrázek 14 - OKCEL F	45
Obrázek 15 - OKCEL S	45

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - Testované bakteriální kmeny pro absorpční metodu.....	55
Tabulka 2 - Testované bakteriální kmeny pro difúzní metodu.....	56
Tabulka 3 - Testovaný materiál pro absorpční metodu	60
Tabulka 4 - Testovaný materiál pro difúzní metodu.....	61
Tabulka 5 - Výsledky absorpční metody (OKCEL H-T)	63
Tabulka 6 - Výsledky absorpční metody (OKCEL F).....	65
Tabulka 7 - Výsledky absorpční metody (OKCEL S).....	67
Tabulka 8 - Výsledky absorpční metody (antimikrobiální aktivita).....	69
Tabulka 9 - Výsledky absorpční metody (počet řádů).....	71
Tabulka 10 - Výsledky difúzní metody (inhibiční zóna, účinek)	73

SEZNAM ZKRATEK

A	Hodnota antibakteriálního účinku ($A = F - G$)
ATCC	Americká sbírka bakteriálních kultur, Manassas, Virginia, Spojené státy americké (American Type Culture Collection)
C_0	Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u kontrolních zkušebních vzorků ihned po naočkování
C_t	Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u kontrolních zkušebních vzorků po kultivaci 24 h
CCM	Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika (Czech Collection of Microorganisms)
CD	diferenční klastr (cluster of differentiation)
cfu	kolonie tvořící jednotky (colony forming units)
CMC	karboxymethylovaná celulóza (carboxymethylcellulose)
DC	deoxycholát-citrátový agar (deoxycholate-citrate agar)
DNA	deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid)
F	Hodnota růstu u kontrolního zkušebního vzorku ($F = \lg C_t - \lg C_0$)
FNHK	Fakultní nemocnice Hradec Králové, Hradec Králové, Česká republika
G	Hodnota růstu u antibakteriálně upraveného zkušebního vzorku ($G = \lg T_t - \lg T_0$)

INF	interferon (interpheron)
KA	krevní agar (blood agar)
KBBV	Katedra biologických a biochemických věd, Univerzita Pardubice, Pardubice, Česká republika
MALT	sladinový agar
MC	mikrobiální celulóza (microbial cellulose)
MIC	minimální inhibiční koncentrace (minimum inhibitory concentration)
MRSA	methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i> (methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>)
MRSE	methicilin rezistentní <i>Staphylococcus</i> <i>epidermidis</i> (methicillin-resistant <i>Staphylococcus epidermidis</i>)
NRC	Národní rada pro výzkum, Ottawa, Ontario, Kanada (National Research Council)
NRL	Národní referenční laboratoř, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha, Česká republika (National Reference Laboratories)
O F	OKCEL F
O HT	OKCEL H-T
O S	OKCEL S, v klasickém balení
O SV	OKCEL S, ve vakuovém balení
OC	oxidovaná celulóza (oxidised cellulose)
ORC	oxidovaná regenerovatelná celulóza (oxidised regenerated cellulose)

P ₀	Hodnota rozdílu v počtu řádů, o které se snížila koncentrace bakterií (cfu/ml) u antibakteriálně upraveného zkušební vzorku oproti kontrolnímu zkušebnímu vzorku ihned po naočkování
P _t	Hodnota rozdílu v počtu řádů, o které se snížila koncentrace bakterií (cfu/ml) u antibakteriálně upraveného zkušební vzorku oproti kontrolnímu zkušebnímu vzorku po kultivaci 24 h
PHMB	polyhexamethyl biguanid (polyhexamethyl biguanide)
PRSP	penicilin rezistentní <i>Streptococcus pneumoniae</i> (penicillin-resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i>)
sp.	druh (species)
T ₀	Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u antibakteriálně upravených zkušebních vzorků ihned po naočkování
T _t	Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u antibakteriálně upravených zkušebních vzorků po kultivaci 24 h
TEMPO	2,2,6,6,-tetramethylpiperidin-N-oxyl (2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl)
TSA	trypton-sójový agar (tryptone soya agar)
V (VAK)	vakuové balení
VRE	vankomycin rezistentní <i>Enterococcus faecalis</i> (vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecalis</i>)

ÚVOD

Hojení ran je významným problémem současného zdravotnictví. Chronické rány postihují přes 20 milionů lidí a zahrnují cévní rány, diabetické rány a proleženiny. Jejich léčba je náročná a mimo jiné zahrnuje i aplikaci vhodného obvazového krytí.

Proces hojení rány může být mimo jiné narušen přítomností mikroorganismů, především grampozitivních a gramnegativních bakterií. Důležitá je správná a včasná identifikace bakterií a následné použití odpovídajících antimikrobiálních prostředků. Komplikací léčby může být mikrobiální rezistence, kvůli které je nutné vyvíjet nové druhy krycích materiálů.

V současnosti se do popředí zájmu dostávají materiály na bázi oxidované celulózy. Oxidovaná celulóza je biodegradabilní, bioresorbovatelný a biokompatibilní polymer s antimikrobiálním a hemostatickým účinkem, díky čemuž nalézá využití v mnoha lékařských aplikacích.

Působí proti široké škále mikroorganismů, včetně některých bakterií rezistentních na antibiotika. Principem účinku je především nízké pH, které oxidovaná celulóza vytváří přímo v místě poranění.

Cílem diplomové práce bylo ověřit antimikrobiální aktivitu krycích a obvazových materiálů z oxidované celulózy u kmenů vyskytujících se v ranách pomocí absorpční a difúzní metody.

1. TEORETICKÁ ČÁST

1.1. Krycí obvazové materiály

Rány jsou definovány jako defekty kůže způsobené mechanickým, tepelným, elektrickým nebo chemickým zraněním (Qin, 2009). Klasifikují se jako akutní nebo chronické a jsou dále děleny do podkategorií, jako jsou tlakové vředy, bércové vředy, diabetické vředy, traumatické rány a chirurgické rány.

Základní funkce používaných obvazů však zůstávají stejné. Mají poskytovat ochrannou bariéru, zabránit kontaminaci a absorbovat exsudát (Vowden a Vowden, 2014). Zároveň přispívají k regeneraci dermálních a epidermálních tkání (Mogoşanu a Grumezescu, 2014).

Poraněná kůže je obvykle spojena se ztrátou normální funkce, jako je její schopnost sloužit jako překážka proti mikroorganismům (Qin, 2009). Bakteriální zátěž je významný faktor způsobující zpomalené hojení rány, vliv na hojení má také koncentrace bakterií v ráně (Braunwarth a Brill, 2014).

Mnoho druhů ran také produkuje velké množství tekutiny, která společně s tělesnou teplotou a bohatými výživovými složkami tvoří ideální místo pro růst bakterií a pro rozvoj infekce.

Značným problémem současného zdravotnictví jsou nozokomiální infekce, kterými trpí asi 9 % hospitalizovaných pacientů. Nejúčinnější způsob, jakým je možné potlačovat růst a šíření bakterií z místa poranění je zavést antimikrobiální látky do obvazových materiálů (Qin, 2009).

Dříve se na ošetření ran používala suchá gáza, dnes se však dává přednost obvazům, které vytvářejí a udržují vlhké prostředí a tím poskytují optimální podmínky pro hojení ran (Jones et al., 2006). Gáza má dobré absorpční schopnosti, ale také vysušuje lůžko rány, což je pro hojení rány nežádoucí (Fonder et al., 2008).

Vlhkost podporuje rychlost epitelizace a podporuje hojení díky vlhkosti samotné a díky nízké tenzi kyslíku, která podporuje zánětlivou fázi.

Okluzivní obvazy zvyšují proliferaci buněk a udržují optimální úroveň exsudátu rány. Exsudát obsahuje proteiny a cytokiny produkované při reakci na zranění, které usnadňují autolytický debridement a podporují hojení (Jones et al., 2006). Mají také tendenci vytvářet kyselé prostředí, což samo o sobě snižuje nadměrný růst bakterií (Vowden a Vowden, 2014).

Ideální obvaz pro krytí ran by měl mít několik vlastností, jako je schopnost udržovat vysokou vlhkost v ráně, odstraňovat přebytek exsudátu, chránit ránu před dalším poškozením

a snižovat bolest. Důležitá je také bezpečnost pro použití na poškozené kůži, možnost odstranění bez dalšího poranění a schopnost minimalizovat tvorbu jizev.

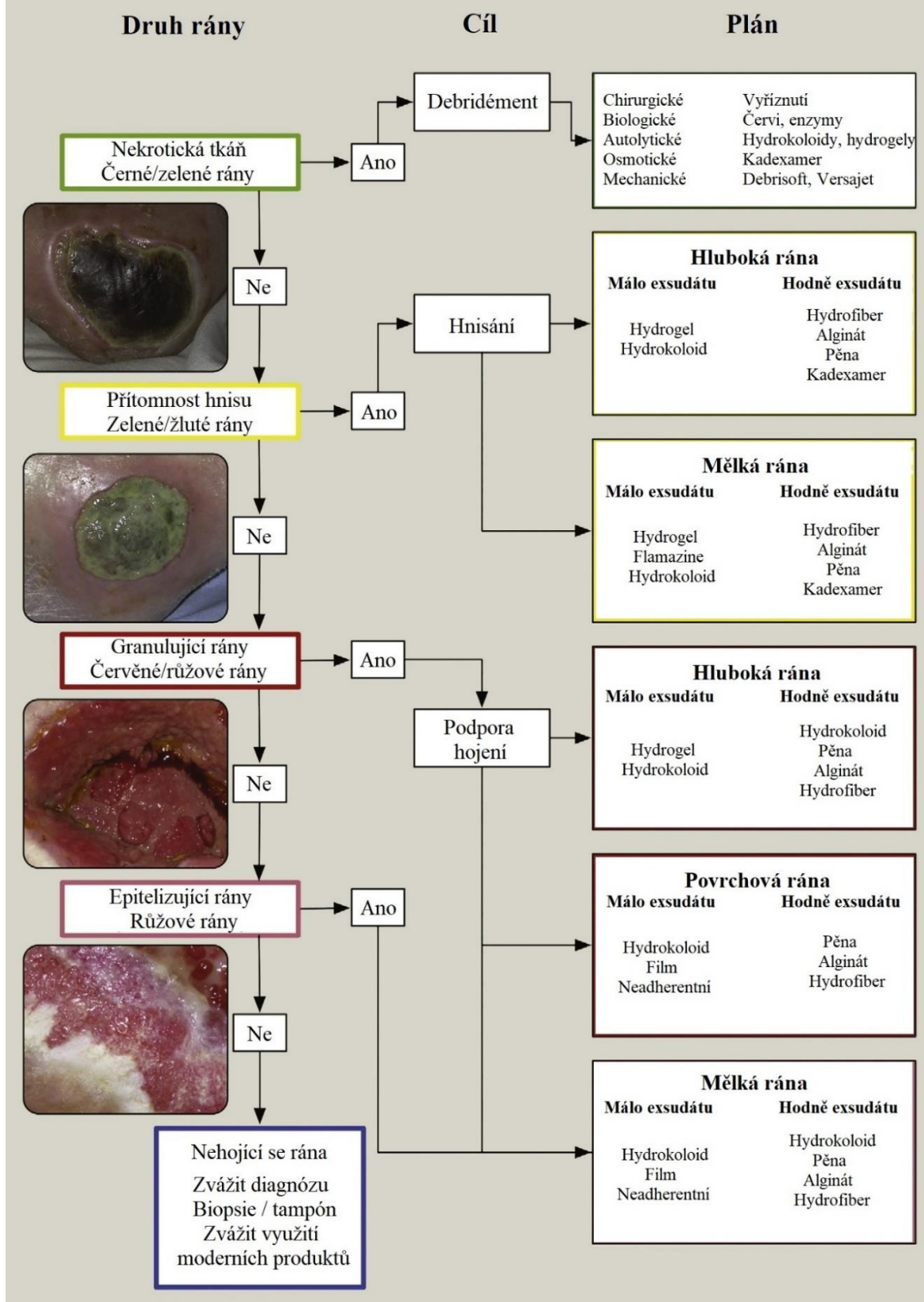
Dalšími významnými vlastnostmi je nepropustnost vůči bakteriím, tepelná izolace, nepřilnavost, pohodlnost, přizpůsobitelnost, cenová přijatelnost a dlouhá životnost. Ideální obvaz by měl být zároveň netoxický, nealergenní a sterilní.

Při používání obvazů je nutné dbát na doporučení výrobce, jelikož jejich nesprávné použití může vést k nežádoucím účinkům jako je macerace, infekce, narušení zdravé tkáně, alergie nebo bolest (Ip, 2011; Jones et al., 2006; Qin, 2009; Vowden a Vowden, 2014).

Existují různé typy materiálů k ošetřování ran, vyráběné z přírodních nebo syntetických polymerů, případně kombinací obou (Dragostin et al., 2016). Výběr obvazu závisí na typu obvazového materiálu, obsaženém antimikrobiálním činidle, způsobu aplikace na ránu a charakteristice rány (množství exsudátu, hloubce rány, bakteriální zátěži nebo infekci) (Ip, 2011; Vowden a Vowden, 2014).

Důležitým hlediskem výběru je také interakce mezi obvazovým materiálem a lůžkem rány. Je možné použít pouze jeden typ obvazu anebo kombinovat více vrstev materiálu, např. primární vrstvu, která je v kontaktu s ránou, se sekundární retenční nebo absorpční vrstvou (Vowden a Vowden, 2014).

Výběr vhodného obvazového materiálu



Obrázek 1 - Schéma pro volbu vhodného obvazového materiálu
 (upraveno dle Vowden a Vowden, 2014, [cit. 2018-03-08])

1.1.1. Neadherentní obvazy (nízkoadherentní obvazy)

Neadherentní obvazy (nízkoadherentní obvazy) jsou pletené nebo tkané mřížky, jsou levné a široce dostupné (Jones et al., 2006; Hojení ran, 2018). Aplikují se přímo do lůžka rány, nepřilnou k jejímu povrchu a nezpůsobují poranění během sundávání. Vyrábějí se převážně ze silikonu (Vowden a Vowden, 2014).

Jejich hlavní funkcí je umožnit exsudátu projít do sekundárního obvazu při zachování vlhkosti v ráně a podporují granulaci. Jsou vyráběny ve formě tylu, tkaniny navlhčené v parafínu nebo chlorhexidinu (např. Bactigras).

Jsou určené ke snížení adheze k lůžku rány a pro pacienty s citlivou nebo křehkou kůží. Jsou vhodné pro použití na plochých a mělkých místech s malým množstvím exsudátu jako jsou řezné rány, popáleniny, dekubity, bércové vředy a maligní rány (Jones et al., 2006; Hojení ran, 2018).

Mezi zástupce na českém trhu patří např. Adaptic, Jelonet, Urgotyl, Release, Tegapore, Atrauman, Comprigel, Lomatuel (Hojení ran, 2018).

1.1.2. Filmové obvazy

Filmové obvazy byly jedním z prvních velkých pokroků v hojení ran. Vyrábí se jako celoplošně adhezivní polopropustné transparentní fólie. Skládají se ze sterilního polyuretanu potaženého hypoalergenní přilnavou vrstvou a používají se hlavně jako průhledná primární krycí vrstva, ale jsou užitečné i jako sekundární krytí. Adherují ke zdravé kůži, ale ne k ráně a umožňují snadné vizuální kontroly ran.

Přestože jsou nepropustné pro tekutiny a bakterie, jsou propustné pro vzduch a vodní páru. Prostřednictvím tohoto mechanismu vytváří obvazy vlhké prostředí v ráně. Jsou velmi flexibilní a vhodné pro ploché a mělké epitelizované rány s malým nebo středním množstvím exsudátu a pro zranění na místech, kde je obtížné ránu překrýt, např. na kloubech. Používají se např. u sutur, krytí kanyl a jako prevence dekubitů.

Nevýhodou polopropustných filmů je neschopnost nasát velké množství exsudátu, a pokud nejsou používány uváženě, mohou způsobit maceraci pokožky okolo rány. Nejsou také vhodné pro infikované rány a nemají ochrannou funkci (Jones et al., 2006, Hojení ran, 2018; Vowden a Vowden, 2014). Filmy vyžadují, aby v okolí rány byla suchá a neporušená kůže, vlhkost se narušuje funkce přilnavé vrstvy (Vowden a Vowden, 2014).

Mezi zástupce na českém trhu patří např. Bioclusive, Hydrofilm, Tegaderm, Askina Derm, Opsite Spray, Mefilm, Cavilon (Hojení ran, 2018).

1.1.3. Hydrokoloidy

Hydrokoloidy jsou obvazy, jejichž hlavní složkou jsou polymery (karboxymethylcelulóza, pektin, želatina, polysacharidy či jiné) tvořící ve vodě koloidní roztoky (Sopuch et al., 2013; Hojení ran, 2018; Vowden a Vowden, 2014). Vytváří plochý, okluzivní, adhezivní obvaz, který vytváří gel na povrchu rány a podporuje vlhkost v ráně (Jones et al., 2006). Zároveň ale poskytují absorpci exsudátu (Fonder et al., 2008).

Hydrokoloidy jsou prakticky nepropustné pro vodní páru a vzduch a mohou být použity k rehydrataci suché nekrotické rány a podpoře autolytického debridementu. Dochází ke snížení bolesti a jejich bariérové vlastnosti umožňují pacientovi se umýt a snižují riziko kontaminace rány. Při jejich použití je nutná opatrnost u ran, které vyžadují častou kontrolu, např. u syndromu diabetické nohy.

Hydrokoloidní vlákna jsou nyní k dispozici ve formě hydrofilních netkaných plochých vrstev. Při styku s exsudátem se vlákna změní ze suchých na měkké přilnavé gelové vrstvy, které jsou vhodné pro rány s velkým množstvím exsudátu (Jones et al., 2006).

Oproti tradičním hydrokoloidům nabízejí hydrokoloidní vlákna výhody jako je vyšší absorpční a retenční schopnost (sací mohutnost až 15–25 g/g), tvorba hebkého hydrofilního gelu, propustnost pro plyny, bariéra vůči bakteriím, pasivní antimikrobiální účinek, zlepšené fyzikální vlastnosti (soudržnost), snadnější odnímání krytí, vertikální nasávání a retence a snížení macerace okolí rány (Sopuch et al., 2013).

Hydrokoloidy způsobují v ráně pokles pH, a tím v ráně zabraňují růst bakteriím (Vowden a Vowden, 2014). Používají se u mírně secernujících ran ve fázi granulace a epitelizace bez příznaků infekce, jako jsou např. povrchové defekty, bércové vředy a sutury (Hojení ran, 2018).

Nedoporučuje se naopak používat u infikovaných ran a u diabetických vředů. V některých případech mohou výrazně zapáchat, což je způsobeno rozkladem výrobku, nikoliv infekcí (Vowden a Vowden, 2014). Jejich výhodou je dlouhá životnost, což snižuje náklady a nepříjemnosti s výměnou (Fonder et al., 2008).

Mezi zástupce na českém trhu patří např. Granuflex, Suprasorb H, Askina Hydro, Tegasorb, Hydrocoll, Replicare Ultra (Hojení ran, 2018).

1.1.4. Hydrogely

Hydrogely jsou obvazy z amorfních kompaktních gelů a skládají se z matrice nerozpustných polymerů obsahujících až 96 % vody, které věnují povrchu rány molekuly vody a udržují vlhké prostředí v ráně. Podporují debridement rány rehydratací neživotaschopné tkáně, což usnadňuje proces přirozené autolýzy (Jones et al., 2006). Vyrábí se na bázi vody nebo glycerinu (Vowden a Vowden, 2014). Mohou být číré nebo s obsahem aktivní látky (Hojení ran, 2018).

Nejčastěji se používají amorfní hydrogely ve formě hustých a viskózních gelů. Považují se za standardní léčbu u suchých, olupujících se nebo nekrotických ran, zlomenin a u granulujících ran s mírnou sekrecí. Používají se např. u evakuovaných abscesů a dekubitů (Jones et al., 2006; Hojení ran, 2018). Velkou výhodou je minimální bolest při jejich aplikaci nebo následném odstraňování, zároveň bolest snižují díky svým chladičným účinkům (Fonder et al., 2008).

Nejsou vhodné pro rány produkující vysoké množství exsudátu nebo u gangrenózních tkání, kdy mohou způsobovat maceraci. Při jejich použití je nutné je zároveň překrýt sekundárním krytím (Jones et al., 2006).

Mezi zástupce na českém trhu patří např. Hemagel, Nu-gel, Normgel, Hypergel, Granugel, Flamigel, Purilon gel, Urgohydrogel, Intrasite gel, Hydrosorb a Askina Gel (Hojení ran, 2018).

1.1.5. Hydropolymery

Hydropolymery (pěnové obvazy) jsou vyráběny buď jako polyuretanová nebo silikonová pěna. Přenášejí vlhkost a kyslík a poskytují tepelnou izolaci v ložisku rány.

Polyuretanové pěny se skládají ze dvou nebo tří vrstev a usnadňují rovnoměrné rozptýlení exsudátu. Silikonové pěny se skládají z polymeru silikonového elastomeru odvozeného od dvou kapalin, které při smíchání tvoří pěnu tak, aby odpovídala tvaru rány.

Hlavní výhodou pěnových obvazů je schopnost pohlcovat exsudát. Navíc silikonové pěnové obvazy chrání oblast kolem rány před dalším poškozením (Jones et al., 2006).

Používají se u povrchových i hlubokých ran bez infekce a u secernujících granulujících nebo epitelizujících ran, např. u dekubitů.

Mezi zástupce na českém trhu patří např. Tielle, Bitataine, Suprasorb P, Askina Touch, Curafoam, Syspurderm, PermaFoam (Hojení ran, 2018).

1.1.6. Měkké silikony

Měkké silikony se vyrábí ve formě samotné silikonové vrstvy nebo s absorpční poduškou. V ráně udržují vlhké prostředí a umožňují výměnu bez bolesti, traumatizace rány nebo jejího okolí. Používají se u nesecernujících až středně secernujících ran jako jsou jizvy, dekubity, popáleniny, maligní rány a bércové vředy.

Mezi zástupce na českém trhu patří např. Mepitel, Mepilex, Mepiform (Hojení ran, 2018).

1.2. Obvazy s antimikrobiálním účinkem (antiseptické obvazy)

U zdravého lidského organismu dochází při napadení patogenními mikroorganismy k aktivaci imunitního systému. Dochází k migraci makrofágů za účelem fagocytózy patogenů, následně se aktivují pomocné T lymfocyty vylučující $\text{INF-}\gamma$ a ligand CD40 pro koordinaci adaptivní a humorální odpovědi.

Pokud však není imunitní systém schopný odstranit patogeny, dochází k infekci a zhoršení průběhu granulace tkáně, tvorby růstových faktorů a extracelulární matrice (kolagen, elastin a fibrin) a narušení procesu hojení rány (Simões et al., 2018). Bakteriální infekce v ráně je významným faktorem ohrožujícím léčbu a může vést až ke smrti pacienta (Asghari, 2016).

Většina infikovaných ran je polymikrobiální a je napadena endogenními mikroorganismy vyskytujícími se v okolí rány. V počáteční fázi vzniku chronické rány převažují grampozitivní mikroorganismy, v pozdějších fázích mikroorganismy gramnegativní. Různé druhy stafylokoků a streptokoků se vyskytují u více než poloviny chronických ran (Simões et al., 2018).

U pacientů s infikovanými ranami jsou k dispozici dva možné léčebné postupy, a to systémové podávání antibiotik nebo lokální aplikace antimikrobiálních látek přímo do místa poranění (Qin, 2009). Systémové podávání antibiotik není zpravidla u lokálních poranění nezbytné a ani užitečné, jelikož nemusí dobře pronikat do rány a zároveň se musí podávat vysoké dávky, které mohou být pro lidský organismus toxické a způsobovat alergické reakce a rezistenci u mikroorganismů (Halstead et al., 2015).

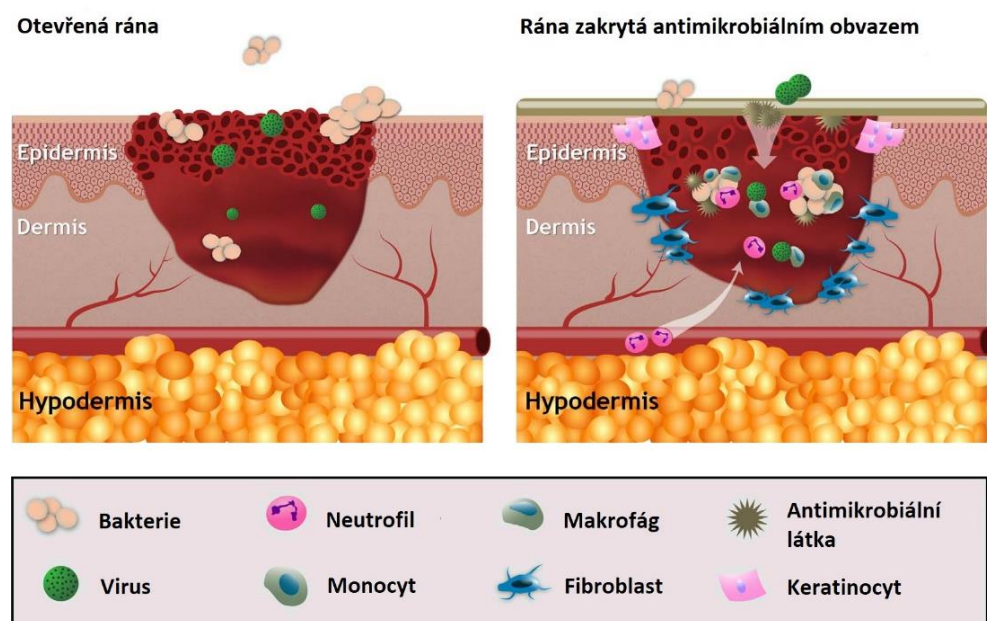
Antimikrobiální obvazy jsou takové, které jsou schopné zabránit proniknutí mikroorganismů do rány či jejich množení (Simões et al., 2018). Obvykle se jedná o pletené mřížky obsahující desinfekční látky, jako jsou antibiotika (tetracyklin, ciprofloxacin, gentamicin či sulfadiazin), antiseptika (chlorhexidin), stříbro, sloučeniny na bázi jodu, triklosan, polyhexamethylenbiguanid (PHMB), methylenová modř, krystalová violet nebo

přírodní produkty (med, éterické oleje, chitosan či alginát) (Simões et al., 2018; Hojení ran, 2018; Ip, 2011; Mogoşanu a Grumezescu, 2014).

Antimikrobiální obvazy je možné použít profylakticky (pro zabránění kolonizace rány) nebo při léčbě již prokázané infekce (Halstead et al., 2015). V současné době je nejpoužívanějším antimikrobiálním prostředkem v léčbě ran stříbro (Asghari et al., 2016).

Vedle obecných požadavků na obvazy používané pro ošetřování ran by měly mít antimikrobiální obvazy širokospektrální antimikrobiální účinek, udržet ho po celou dobu použitelnosti materiálu a nezpůsobovat rezistenci mikroorganismů (Qin, 2009).

Antimikrobiální obvazy se používají k prevenci i léčbě infekce u mírně secernujících ran, jejich výhodou je možnost až několikadenních intervalů převazu, jejich aktivita trvá alespoň 24 hodin. Je možná jejich kombinace s hydrogely. Poskytují fyzikální bariéru a zároveň podporují migraci a diferenciaci fibroblastů (Simões et al., 2018; Hojení ran, 2018).



Obrázek 2 - Působení antimikrobiálního obvazu na ránu
(upraveno dle Simões et al., 2018, [cit. 2018-03-06])

Antimikrobiální látky je možné využít např. ve formě krémů a mastí (jod, stříbro), napuštěných textilií (antibiotika, antiseptika), textilií s antimikrobiálním povrchem (stříbro) či textilií s antimikrobiálním účinkem (stříbro) (Qin, 2009). Antimikrobiální obvazy by však měly být používány pouze po dobu nezbytně nutnou (ne déle jak 2 týdny) a s konkrétním účelem, jelikož mohou negativně ovlivnit buněčnou funkci (Vowden a Vowden, 2014).

1.2.1. Antibiotika

K výrobě antimikrobiálních obvazů se používají především aminoglykosidy, beta laktamy, glykopeptidy, chinolony, sulfonamidy a tetracykliny. Antibiotika mohou působit jedním ze čtyř mechanismů, mezi které patří inhibice syntézy buněčné stěny (beta laktamy, glykopeptidy), blokáce klíčových metabolických cest (sulfonamidy), inhibice syntézy bílkovin (aminoglykosidy, tetracykliny) a inhibice syntézy nukleových kyselin (chinolony) (Simões et al., 2018).

K potlačení zápachu způsobeného anaerobními bakteriemi se používá metronidazolový gel. Může být použit samostatně nebo jako doplněk k jiným obvazům (Jones et al., 2006).

V dnešní době je k dispozici velké množství antibiotik působících na širokou škálu mikroorganismů, avšak nebezpečím jejich používání je vznik rezistence (Simões et al., 2018).

1.2.2. Antiseptika

Antiseptika jsou chemické látky, které jsou proti mikrobům obecně toxické oproti antibiotikům, která mají užší spektrum účinku. Oproti antibiotikům je méně pravděpodobný vznik rezistence, avšak jsou častěji toxická i pro lidskou tkáň (Fonder et al., 2008).

Mezi nejpoužívanější antiseptické látky patří v dnešní době chlorhexidin a peroxid vodíku (Qin, 2009).

1.2.2.1. Chlorhexidin

Chlorhexidin byl objeven v roce 1946 a roku 1954 byl zaveden do klinické praxe. Má rychlou baktericidní aktivitu proti širokému spektru nesporulujících bakterií. Mechanismem účinku je poškození buněčné stěny a cytoplazmatické membrány.

Je dostupný jako diacetát, diglukonát nebo dihydrochlorid, v léčbě ran se nejčastěji využívá diglukonátová forma. Používá se také jako antiseptikum při mytí rukou a při chirurgických zákrocích (Qin, 2009).

1.2.2.2. Peroxid vodíku

Peroxid vodíku se široce používá jako antiseptický a dezinfekční prostředek. K čištění ran se nejčastěji využívá 3% roztok. Je to čirá, bezbarvá kapalina, která se při styku s organickou hmotou rozkládá.

Má široké spektrum mikrobiální aktivity s vyšším účinkem na bakterie grampozitivní než gramnegativní. Peroxid vodíku působí jako oxidační činidlo produkcí volných radikálů, které reagují s lipidy, proteiny a nukleovými kyselinami (Qin, 2009).

1.2.3. Stříbro

Stříbro má široké spektrum antimikrobiálních vlastností a nízkou úroveň toxicity pro lidský organismus. V roztoku vykazuje tři oxidační stavy, a to Ag^+ , Ag^{2+} a Ag^{3+} . Sloučeniny obsahující Ag^{2+} a Ag^{3+} jsou nestabilní a nerozpustné ve vodě (Qin, 2009).

Stříbro používané v obvazech je možné rozdělit na elementární stříbro (nanočástice), anorganické sloučeniny nebo komplexy (dusičnan stříbrný, sulfadiazin stříbrný, oxid stříbrný, fosforečnan stříbrný, chlorid stříbrný) a organické komplexy (koloidní stříbro) (Qin, 2009; Ayello et al. 2012).

Kovové stříbro je poměrně nereaktivní, avšak stříbro v iontové nebo nanokrystalické formě je již mnoho let používáno jako antimikrobiální činidlo, zejména při léčbě popálenin. Roztoky koloidního stříbra jsou vysoce baktericidní, avšak jsou nestabilní na světle, tudíž se nepoužívají (Qin, 2009).

U gramnegativních bakterií má stříbro nižší minimální inhibiční koncentraci (MIC) než u bakterií grampozitivních.

Kromě antimikrobiálních účinků působí stříbro také antisepticky a protizánětlivě. Stříbro je biologicky aktivní v rozpustné formě a jako Ag^+ nebo Ag^0 . Ag^+ je nejvíce biologicky aktivní, Ag^{2+} a Ag^{3+} také vykazují určitou aktivitu, ale častěji tvoří nerozpustné komplexy a rychle se inaktivují vazbou na proteiny, fosforečnany, sírany a chloridy (Ip, 2011).

Stříbrné ionty mohou být do obvazů vpravovány čtyřmi základními metodami, mezi které patří fyzikální metoda (textilie je potažena kovovým stříbrem), chemická metoda (textilie je ošetřena stříbrnými roztoky, přičemž jsou stříbrné ionty navázány pomocí iontové výměny), smísení jemných částic stříbrných sloučenin s textilií a smísení vláken obsahujících stříbro s dalšími vlákny (Qin, 2009).

1.2.3.1. Stříbrné nanočástice

Stříbrné nanočástice jsou slibnou alternativou k používaným antibiotikům. Vykazují baktericidní účinnost proti velkému počtu bakteriálních kmenů. Účinkují přímým kontaktem s bakteriální buněčnou stěnou, uvolněním toxických kovových iontů nebo produkcí reaktivních forem kyslíku.

Při kontaktu nanočástic s buněčnými stěnami bakteriálních buněk jsou kladně nabitě nanočástice přitahovány negativně nabitými skupinami na povrchu bakterií (peptidoglykan či kyselina teichoová u grampozitivních bakterií, lipopolysacharidy u gramnegativních bakterií).

Poté dojde pomocí van der Waalsových sil, interakcí receptorů s ligandy a hydrofóbních interakcí, k narušení bakteriální buněčné stěny a následné ztrátě intracelulárních složek. Mimo jiné mohou nanočástice překonat buněčnou stěnu a ovlivnit metabolickou aktivitu nebo způsobit narušení mitochondrií (Simões et al., 2018).

Nedávný rozvoj těchto obvezů rozšířil jejich použití pro kolonizované či infikované rány a pro rány silně secernující nebo zapáchající. Používají se např. u dekubitů, maligních ran a bércových vředů.

Mají inhibiční účinky proti více než 650 druhům mikrobů včetně bakterií rezistentních proti antibiotikům, prvokům, virům a plísním (Qin, 2009; Jones et al., 2006; Simões et al., 2018, Hojení ran, 2018; Halstead et al., 2015).

Stejně jako u jiných antibakteriálních látek, např. antibiotik, může dojít k rozvoji rezistence i proti stříbrným nanočásticím. Obecně může být rezistence přirozená nebo získaná. Přirozená rezistence může být způsobena např. stavbou buněčné stěny, efluxem nebo tvorbou enzymů. Získaná rezistence může vzniknout mutací nebo přijetím extrachromozomální DNA (Percival et al., 2005).

Bakteriální rezistence vůči stříbru vzniká především u bakterií gramnegativních, nikoliv u grampozitivních (Randall et al., 2015). Bylo izolováno již několik gramnegativních bakterií rezistentních ke stříbru, např. *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Salmonella Typhimurium* a *Pseudomonas stutzeri*. Ke vzniku rezistence může docházet např. v nemocničních zařízeních (Percival et al., 2005).

Vlastnosti, které činí nanočástice unikátními (malá velikost, velký povrch, chemické složení, rozpustnost a geometrie), mohou být zároveň nebezpečné pro lidské zdraví. Vzhledem ke své velikosti vstupují do lidského těla a překračují biologické bariéry, dostávají se do nejcitlivějších orgánů a narušují normální biochemické cesty (Simões et al., 2018).

Obvazy obsahující nanostříbro se hojně využívají při léčbě popálenin, akutních i chronických ran, kde mají své využití i u léčby diabetické nohy (Ip, 2011).

Mezi zástupce na českém trhu patří např. Actisorb, Silvercel Hydroalginate, Aquacel Ag a Askina Calgitrol Ag (Hojení ran, 2018).

1.2.4. Jod

Jod je prvek objevený v roce 1811. Je to tmavě fialová tuhá látka, která se rozpouští v alkoholu a jodidu draselném. Jeho první použití v ošetřování ran je evidováno roku 1839 (Qin, 2009).

Jod má schopnost snižovat mikrobiální zátěž u chronických ran. Má mikrobicidní účinky se širokým antimikrobiálním spektrem i proti patogenům jako jsou MRSA (methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*) nebo *Enterococcus* sp. Kromě bakterií účinkuje také na mykobakterie, plísně, prvoky a viry.

Klinicky se používá především v jedné ze dvou forem, jako jodofory (povidon-jod) nebo jako kadexomerový jod (Jones et al., 2006; Qin, 2009; Ip, 2011). Oba trvale uvolňují nízké koncentrace volného jodu, přesný mechanismus účinku však není znám, ale zahrnuje vazbu na proteiny, nukleotidy a mastné kyseliny (Qin, 2009).

Povidon-jod (polyvinylpyrrolidon jodový komplex) je jodofor (sloučenina jodu spojená s neiontovou povrchově aktivní látkou), který se vyrábí jako impregnovaný tyl (Jones et al., 2006; Ip, 2011).

Kadexomerový jod se používá jako trojrozměrná škrobová mřížka obsahující 0,9 % jodu. Kadexomerový jod má dobré absorpční vlastnosti, 1 g může absorbovat až 7 ml tekutiny. Jak se absorbuje tekutina, jod se pomalu uvolňuje, snižuje se bakteriální zátěž a odstraňují se nečistoty z rány.

U pacientů s onemocněním štítné žlázy je nutná opatrnost a u všech pacientů léčených obvazy s jodem se doporučuje monitorování hladiny hormonů štítné žlázy (Jones et al., 2006).

Mezi zástupce na českém trhu patří např. Inadine a Braunovidon (Hojení ran, 2018).

1.2.5. Přírodní produkty

Mezi přírodní látky používané pro své antimikrobiální účinky patří především med, esenciální oleje, chitosan a alginát.

Antimikrobiální aktivita však byla prokázána i u henny (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*), kurkuminu (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas mendocina*), aloe vera (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*) či thymolu (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) (Simões et al., 2018).

1.2.5.1. Med

Med je využíván v obvazech především díky své antimikrobiální aktivitě, minimalizaci zánětu a stimulaci angiogeneze, granulace a epitelizace. Jeho antimikrobiální účinnost je způsobena kyselostí, nízkým obsahem vody a přítomností antimikrobiálních látek jako je peroxid vodíku, včelí defensin, flavonoidy a fenolová kyselina (Simões et al., 2018). Účinek byl prokázán proti více než 70 mikrobiálních druhů, včetně resistantních kmenů (Qin, 2009).

Med se v ošetřování ran používá již od starověku (1550 let př.n.l.) (Fonder et al., 2008). Zmínky o tzv. apiterapii (léčba včelími produkty) byly nalezeny již na sumerských hlíněných deskách či egyptských papyrech (Bittner et al., 2006).

Kyselá povaha medu je způsobena přítomností kyseliny glukonové a může pomoci makrofágům zabít bakterie a zabránit tvorbě biofilmů. Nízký obsah vody (< 20 %) poskytuje nepříznivé prostředí pro růst a přežití mikroorganismů a vysoká osmolarita inhibuje mikrobiální účinky (Simões et al., 2018).

Hlavním principem antibakteriálního účinku medu je enzymatická produkce peroxidu vodíku. Včely produkují enzym glukózaoxidáza, který oxiduje glukózu za účasti vody a kyslíku za vzniku kyseliny glukuronové a peroxidu vodíku.

Maximální koncentrace peroxidu vodíku je při naředění medu na koncentrace 30–50 %, což odpovídá koncentraci 1–2 mmol/l (asi 1000 x méně než při použití 3% peroxidu vodíku), která postačuje k inhibici růstu bakterií (Bittner et al., 2006).

Produkovaný peroxid vodíku je zodpovědný za inhibici růstu bakterií, je schopen reagovat s buněčnou stěnou, lipidy, proteiny a nukleovými kyselinami bakterií.

Zároveň je ale peroxid vodíku degradován v přítomnosti katalázy a tím se snižuje antimikrobiální aktivita medu. Med získaný ze stále zeleného keře Balmínu košťatého známého jako Manuka (*Leptospermum scoparium*) na rozdíl od jiných druhů medu, obsahuje neperoxidovou složku, jež není katalázou degradována, a je schopen udržet svou antimikrobiální aktivitu i v tělesných tekutinách (Simões et al., 2018; Pantůček, 2009).

Inhibuje růst širokého spektra mikroorganismů jako je např. MRSA (methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*), *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae* či *Pseudomonas aeruginosa* a zabraňuje tvorbě biofilmu na místě poranění (Simões et al., 2018).



Obrázek 3 - Balmín košťatý (Manuka) – *Leptospermum scoparium*

(<https://davesgarden.com>, [cit. 2018-03-06])

Mezi zástupce krytí využívající přírodní složky medu patří na českém trhu MelMax (A care) a Revamil (A care).

MelMax (A care) obsahuje pohankový med a polyhydratované ionogeny. Fenolové složky obsažené v pohankovém medu mají antioxidační účinky a působí preventivně proti infekci.

Revamil (A care) je 100% čistý lékařský med skládající se z cukrů, vody, organických sloučenin a enzymů. Při kontaktu s ránou se aktivuje enzym glukosidáza, který průběžně tvoří malé množství peroxidu vodíku (0,003 %) dostatečné k likvidaci patogenních bakterií. Svoji přítomností v ráně vycytává reaktivní kyslíkové radikály, čímž ránu zklidňuje. Produkci látek aktivujících buňky imunitního systému vede chronickou ránu z nehybné fáze opět do procesu hojení (Hojení ran, 2018).

1.2.5.2. Esenciální oleje

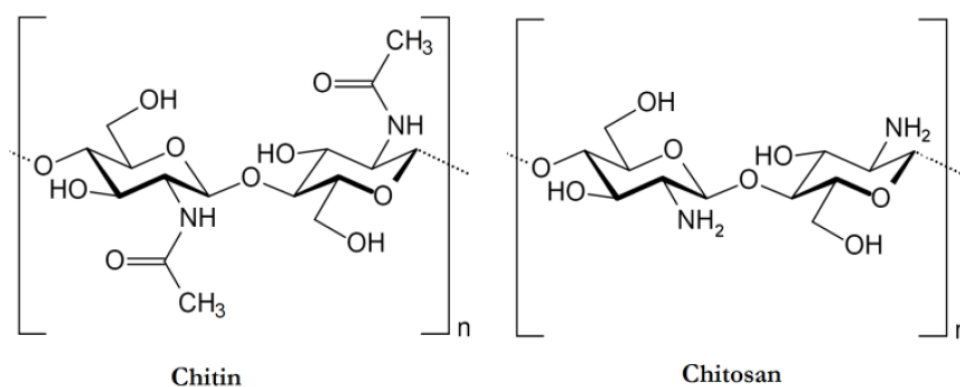
Esenciální oleje jsou sekundární metabolity rostlin, které vykazují mimo jiné i antivirové a antimikrobiální vlastnosti, které jsou přičítány fenolickým sloučeninám jako je thymol a karvakrol. Ty napadají fosfolipidy přítomné v buněčných membránách a lipidy na buněčné stěně bakterií, což vede ke zvýšené permeabilitě a lýze buněk. K antimikrobiálním účelům se

nejčastěji využívají cinnamaldehyd, geraniol, analogy thymolu, mentol a karvakrol (Simões et al., 2018).

Příkladem esenciálního oleje s antimikrobiálními účinky je tea tree oil, olej z čajovníku Kajeputu střídavolistého (*Melaleuca alternifolia*), který se v medicíně používá již po staletí a v posledních desetiletích nachází své uplatnění i v léčbě ran (Qin, 2009). Prokázána byla antimikrobiální účinnost tea tree oleje i proti kmenům MRSA (Bowler et al., 2001).

1.2.5.3. Chitosan

Chitosan je rozpustná forma chitinu vyskytujícího se především v krunýřích krabů, hmyzu a buněčné stěně hub. Chitin je biopolymer tvořený poly-N-acetylglukosaminem. Je využíván pro svou vysokou absorpční schopnost, jelikož je schopen pojmout až 50x více tekutin, než činí jeho váha (Hojení ran, 2018; Ip, 2011).



Obrázek 4 - Chemická struktura chitinu a chitosanu

(Younes a Rinaudo, 2015 [cit. 2018-03-08])

Chitosan je netoxický, biokompatibilní a biologicky odbouratelný přírodní polymer známý svou nízkou imunogenitou a antioxidačními účinky (Dragostin et al., 2016). Využívá se chitosan či jeho deriváty (chitosan acetát, chitosan–sulfonamidové deriváty) pro své příznivé vlastnosti jako je homeostáza, antimikrobiální aktivita či podpora hojení ran. V poslední době se využívá i kombinace chitosanu s nanostříbrem či kovovými ionty zinku a mědi (Ip, 2011; Qin, 2009; Dragostin et al., 2016).

Chitosan a jeho deriváty vykazují vysokou antimikrobiální účinnost proti plísním, bakteriím, řasám a virům. Existují tři možné mechanismy účinku chitosanu. Prvním mechanismem je interakce mezi kladně nabitými skupinami chitosanu (aminoskupiny glukosaminů) a negativně nabitými skupinami na stěně bakterií (peptidoglykany). Druhým

mechanismem je vytvoření polymerního obalu kolem bakterií, což vede k inhibici buněčných výměn a absorpce živin. Třetím mechanismem účinku je chelace stopových prvků, které jsou nezbytné pro růst bakterií, a tím inhibují produkci toxinů a mikrobiální růst (Simões et al., 2018).

Mezi zástupce na českém trhu patří Chitosan (A care) (Hojení ran, 2018).

1.2.5.4. Alginát

Algináty se vyrábějí z přirozeně se vyskytujících vápenatých a sodných solí kyseliny alginové nalezené u hnědé mořské řasy rodu *Phaeophyceae*. Jedná se o polysacharid skládající se z kyseliny D-mannurové a kyseliny L-gulurunové. Obvykle se používá jako 100% vápenatý alginát nebo jako kombinace vápenatého a sodného alginátu (Ip, 2011; Jones et al., 2006).

Alginátové obvazy mají silnou antimikrobiální účinnost proti *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*. Inhibice u *Staphylococcus aureus* je neúplná a jen nepatrná u *Candida albicans* (Ip, 2011).

Algináty se částečně rozpouštějí při styku s tekutinou v ráně za vzniku hydrofilního gelu následkem výměny sodných iontů z tekutiny v ráně s vápenatými ionty z obvazu. Tato vlastnost je činí užitečnými hemostatickými činidly.

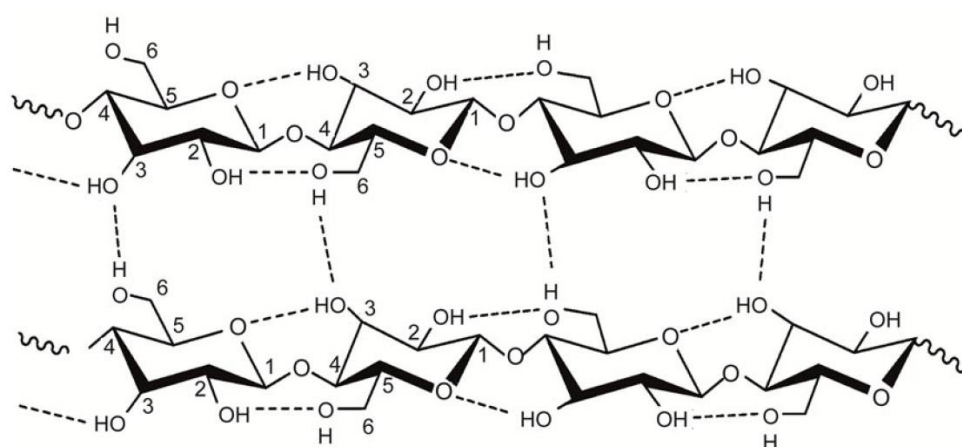
Mohou absorbovat 15ti až 20ti násobek množství tekutiny oproti své hmotnosti, díky čemuž jsou vhodné pro rány s vysokým množstvím exsudátu. Nelze je však použít u ran s malým nebo žádným množstvím exsudátu, jelikož by se držely na povrchu rány, způsobovaly bolest a poškození zdravé tkáně (Jones et al., 2006).

Mezi zástupce na českém trhu patří např. Suprasorb A, Caltostat, Sorbalgon, Tegagen, Urgosorb, Melgisorb, Kalginate, Algisite M, Askina Sorb (Hojení ran, 2018).

1.3. Celulóзовé materiály

Celulóza je nejrozšířenější přírodní bioinertní polysacharid, který se ve zdravotnictví běžně využívá. Jedná se o lineární polymer tvořený D-glukózovými jednotkami vázanými (1→4)-β-glykosidovými vazbami.

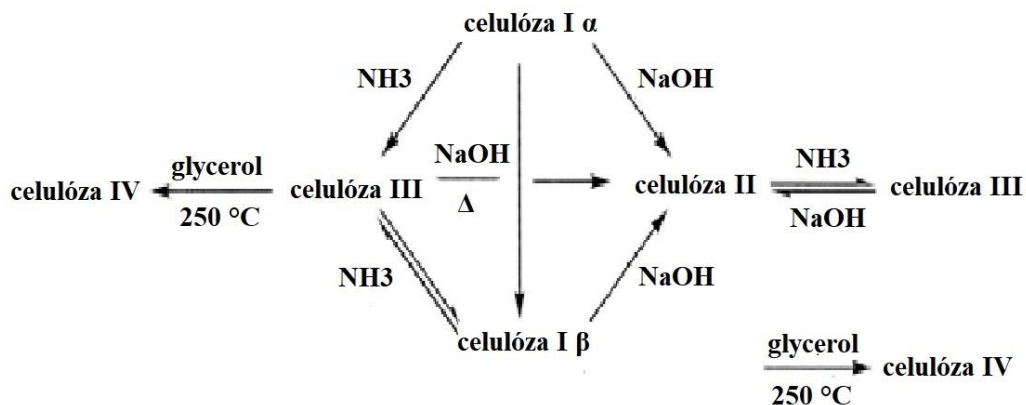
Molekuly celulózy jsou vzájemně propojeny vodíkovými vazbami díky svým hydroxylovým skupinám na uhlících C2, C3 a C6 (Vosmanská et al., 2017; Sopuch et al., 2013). To je příčinou nerozpustnosti celulózy ve vodě a organických rozpouštědlech (Yang a Li, 2018).



Obrázek 5 - Struktura celulózy s naznačenými vodíkovými vazbami
(Vosmanská et al., 2017, [cit. 2018-03-19])

Celulóza byla poprvé objevena a izolována ze zelených rostlin chemikem Anselmem Payenem v roce 1838. Jedná se o nejhojnější biopolymer na Zemi, syntetizovaný travami, dřevinami, řasami, houbami a některými bakteriemi (Novotná et al., 2013). Jedná se o jednu z hlavních složek rostlinné buněčné stěny a zajišťuje její pevnost (Fratzl, 2003).

Existují celkem 4 krystalické formy celulózy. Celulóza produkovaná rostlinami se označuje jako nativní celulóza a vyskytuje se ve dvou krystalických formách (celulóza I a celulóza II). Celulóza II se vyskytuje především u mořských řas a je možné ji vytvořit z celulózy I pomocí hydroxidu sodného. Celulóza I je termodynamicky nejméně stabilní, zatímco celulóza II tvoří nejstabilnější strukturu. Celulózu III je možné získat pomocí tekutého amoniaku a jejím zahřátím vytvořit celulózu IV (Kamel et al., 2008).



Obrázek 6 - Transformace celulózy do různých krystalických forem
(upraveno dle Kamel et al., 2008, [cit. 2018-04-10])

Funkční skupiny obsažené v molekule celulózy poskytují možnost její modifikace (Yang a Li, 2018). Její chemickou a fyzikální modifikací lze upravit její vlastnosti a získat tak výhody v ošetřování a hojení ran.

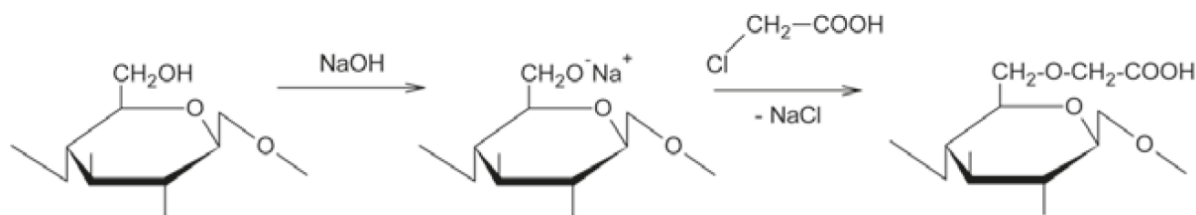
Chemickou modifikací se rozumí příprava derivátů celulózy chemickými reakcemi, především oxidací, esterifikací a etherifikací (nahrazení vodíků hydroxylových skupin na uhlíku C2, C3 nebo C6). Dochází k funkční změně výchozí molekuly, která vede ke změnám jejich vlastností (Vosmanská et al., 2017; Sopuch et al., 2013; Kamel et al., 2008).

Produktem oxidace je oxidovaná celulóza s různým stupněm oxidace, produktem etherifikace může být např. methylcelulóza, ethylcelulóza, hydroxypropylcelulóza či karboxymethylcelulóza. Etherové deriváty jsou na rozdíl od celulózy snadno rozpustné ve vodě a tvoří v ní gely (Vosmanská et al., 2017). Jedná se o anionaktivní deriváty celulózy obsahující funkční karboxylovou skupinu (Sopuch et al., 2013).

Fyzikální modifikace slouží k povrchové modifikaci a sterilizaci materiálů. Využívají se především ionizované plyny (plazma) a záření (gama, daleké ultrafialové záření). U fyzikální modifikace dochází k povrchové úpravě materiálu, zatímco složení v objemu zůstává zachováno (Vosmanská et al., 2017).

1.3.1. Karboxymethylovaná celulóza

Karboxymethylovaná celulóza (CMC) obsahuje karboxymethylovou skupinu (-CH₂COOH) a připravuje se např. karboxymethylací alkalizované celulózy kyselinou chloroctovou. K substituci může docházet na 2., 3. a 6. uhlíku základní jednotky celulózy (Sopuch et al., 2013).



Obrázek 7 - Karboxymethylace celulózy na uhlíku C6
(Sopuch et al., 2013, [cit. 2018-02-14])

Hydrokoloidní krytí obsahující CMC i hydrokoloidní vlákna jsou nevstřebatelná. Vstřebatelné jsou produkty získané vyšším stupněm modifikace. Jedná se o produkty s částečně naoxidovanou CMC, což narušuje stabilitu celulózového řetězce. Tzv. biorozpustná hemostatika lze po aplikaci spláchnout vodou, což lze využít např. u povrchových zranění. Konečným metabolitem CMC v organismu živočichů je glukóza.

Karboxymethylcelulóza našla uplatnění i jako pomocná látka ve farmacii a složka implantabilních materiálů pro chirurgii (Sopuch et al., 2013). Ve farmacii a kosmetickém průmyslu se využívá také její sodná sůl (Kamel et al., 2008)

1.3.2. Mikrobiální celulóza

Mikrobiální celulóza (MC) je polymer syntetizovaný bakterií *Acetobacter xylinum*. Chemicky má stejné složení jako celulóza rostlinná, ale má jiné fyzikální vlastnosti (Czaja et al., 2006). Může být také vyráběná bez kontaminujících látek jako je lignin a hemicelulóza, tudíž nevyžaduje intenzivní čištění (Novotná et al., 2013).

Acetobacter xylinum je gramnegativní bakterie schopná syntetizovat velké množství kvalitní celulózy. Během biosyntézy využívá sloučeniny uhlíku z živného média, ze kterých vytváří lineární β -1,4-glukanové řetězce a vylučuje je mimo buňku prostřednictvím porů na vnější membráně.

Velikost vlákna MC je asi 100krát menší než u celulózy rostlinné. Vykazuje vysokou elasticitu, pevnost za mokra a přizpůsobivost, dokáže pojmout velké množství vody (až 200x větší hmotnost tekutiny, než je suchá hmotnost MC). Je nepyrogní a plně biokompatibilní.

Celulózová membrána je vysoce nanoporézní materiál, který umožňuje přenos antibiotika nebo jiného léku do rány, přestože zároveň slouží jako účinná fyzická bariéra proti jakékoliv vnější infekci (Czaja et al., 2006).

1.4. Oxidovaná celulóza

Oxidovaná celulóza (6-karboxycelulóza, oxycelulóza, OC) obsahuje 3 až 25 % karboxylových skupin (-COOH). Vyrábí se z přírodního materiálu, bavlny. Charakterizuje se jako bioaktivní krytí (Sopuch et al., 2013; Vytřasová et al., 2008). Z bioinertního materiálu se oxidací stane bioaktivní a bioresorbovatelný materiál (Vosmanská et al., 2017).

Celulóza je lidským organismem nedegradovatelná nebo degradovatelná velmi pomalu, což je způsobeno absencí enzymů odbourávajících (1→4)-β-glykosidové vazby. Oxidovaná celulóza je však již v lidském organismu degradovatelná (Novotná et al., 2013).

Má několik užitečných lékařských využití a patří k nejrozšířenějším hemostatikům používaných téměř ve všech typech chirurgie (Zimnitsky et al., 2004).

Základními stavebními jednotkami oxidované celulózy je D-glukóza a D-glukuronová kyselina. Oxidovaná celulóza má na C6 karboxylovou skupinu, která vzniká její oxidací. Praktickým důsledkem oxidace hydroxylové skupiny na C6 je, že se celulóza stává rozpustnou i ve vodě. Vodík z karboxylové skupiny je silně kyselý, oxidovaná celulóza tak vytváří v roztoku kyselé pH a lze ji rozpustit jen při pH vyšším než 7 (Vosmanská et al., 2017).

Selektivní oxidací a degradací vzniká resorbovatelná oxidovaná celulóza. Při implantaci ve tkáních je oxycelulóza vstřebatelná během 1–3 týdnů, při aplikaci jako krytí ran během 1-4 dnů. Z toho důvodu je zapotřebí použít sekundární neadherentní vysoce absorpční krytí (Sopuch et al., 2013).

Oxidovaná celulóza podléhá β-eliminaci glykosidické vazby a zkracování řetězců na oligomery, které jsou dále hydrolyzovány na menší fragmenty. β-eliminaci zajišťují enzymy β-D-glukosidázy a β-D-glukuronidázy, které jsou produkovány makrofágy. Zbylé oligomery jsou jimi fagocytovány a zpracovány (Vosmanská et al., 2017; Hutchinson et al., 2013).

Konečným metabolitem OC v organismu živočichů je glukóza a kyselina glukuronová (Sopuch et al., 2013; Hutchinson et al., 2013). Degradční produkty OC se nehromadí v krvi ani v moči, což je v souladu s buněčnou eliminací (Hutchinson et al., 2013).

In vivo se rozloží 80 % původního materiálu za 14 dní, in vitro 100 % za 21 dní (Vosmanská et al., 2017).

Oxidovaná celulóza (OC) byla poprvé představena v roce 1942, oxidovaná regenerovatelná celulóza (ORC) v roce 1960. ORC je chemicky pozměněná forma celulózy. Celulóza se nejprve rozpustí a poté se vytvoří vlákno (Schonauer et al., 2004). OC se získává z bavlněného vlákna, ORC z dřevní buničiny (Masci et al., 2011).

Oxidovaná celulóza je biodegradabilní, bioresorbovatelný a biokompatibilní polymer bez nežádoucích účinků na organismus (Synthesia, 2015). OC a ORC působí v ráně mechanicky, tvorbou gelu, bobtnáním, interakcí s proteiny a krevními destičkami. Její nízké pH denaturuje globulin a albumin. Vstřebávání závisí na použitém množství, stupni nasycení krví a charakteru lůžka rány (Schonauer et al., 2004).

Bylo prokázáno, že OC působí protinádorově, imunostimulačně, má pozitivní účinky na hojení ran a schopnost vázat farmaceutické či jiné látky (Zimmitsky et al., 2004; Vyřasová et al., 2008). Další lékařskou aplikací je použití oxidované celulózy jako scaffoldů (3D nosiče pro pěstování buněk) (Coseri et al., 2013).

Nativní celulóza není vhodná pro tkáňové inženýrství kvůli své nízké degradační schopnosti, což je způsobeno nepřítomností enzymů, které by byly schopné jejího rozkladu. Oxidovaná celulóza je však již v lidském organismu odbouratelná, tudíž by mohla v této oblasti nalézt uplatnění a nahradit nejpoužívanější materiál, kterým je kolagen (Coseri et al., 2013; Bačáková et al., 2014).

Díky svým účinkům přináší OC značné výhody v mnoha lékařských aplikacích či kosmetickém a potravinářském průmyslu (Synthesia, 2015). Uplatnění ve farmaceutických přípravcích však oproti CMC prozatím prakticky nenašla (Sopuch et al., 2013).

V oblasti separačních technik se oxidovaná celulóza využívá pro schopnost purifikovat a frakcionovat proteiny včetně enzymů, hemoglobinů či hormonů. V chromatografii ji lze také použít pro separaci peptidů, aminokyselin, alkaloidů, nukleových kyselin a kovových iontů (Coseri et al., 2013).

OC má v důsledku nízkého pH (3,5) antimikrobiální účinnost a je částečně cytotoxická (Sopuch et al., 2013; Vosmanská et al., 2017). Antimikrobiální účinek OC závisí na počtu karboxylových skupin, přímo zodpovědné za antimikrobiální účinek jsou ionty H^+ a OH^- (Vyřasová et al., 2008). OC zároveň snižuje vliv proteáz na růstové faktory, což vede k podpoře tvorby nových tkání a léčby rány (Mořková et al., 2018).

Oxidovaná celulóza působí antimikrobiálně proti širokému spektru patogenních mikroorganismů in vitro i in vivo a účinek je okamžitý. Byla prokázána účinnost proti kmenům MRSA (methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*), MRSE (methicilin rezistentní *Staphylococcus epidermidis*), VRE (vankomycin rezistentní *Enterococcus faecalis*), PRSP (penicilin rezistentní *Streptococcus pneumoniae*) a jiným kmenům *Staphylococcus aureus* a dalším koaguláza-pozitivním stafylokokům, *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter calcoaceticus* (Schonauer et al., 2004; Vyřasová et al., 2008; Hutchinson et al., 2013; Mořková et al., 2018).

Vzhledem k tomu, že nízké pH ovlivňuje široké spektrum bakterií a účinek není tak specifický jako u antibiotik, kmeny odolné proti antibiotikům neodolávají účinkům oxidované celulózy (Schonauer et al., 2004).

Adhezi bakteriálních buněk na OC a její antimikrobiální aktivitu lze indukovat začleněním dalších funkčních skupin, které je možné využít i jako vazebné centrum např. pro léky či peptidy. Začlenit lze různé anorganické ionty jako např. ionty stříbra, zinku, či vápníku (Vytřasová et al., 2008).

Mezi zástupce na českém trhu patří např. Promogran (Johnson&Johnson), Traumacel (Bioster), Borimed (Bioster), Spofax (Zentiva), Systogen (Infusia) a OKCEL (Synthesia) (Vytřasová et al., 2008; Sopuch et al., 2013; Hojení ran, 2018).

1.4.1. Hemostatické účinky oxidované celulózy

Oxidovaná celulóza se využívá jako hemostatikum již od 2. světové války, a to ve formě tkané, netkané i práškové. U netkané formy OC je však hemostáza rychlejší než u formy tkané (Vosmanská et al., 2017; Hutchinson et al., 2013).

Lokální hemostatika je možné rozdělit na aktivní a pasivní. Aktivní hemostatika (tzv. biologická lepidla) jsou výrobky obsahující koagulační faktory (např. fibrin a trombin) a účastní se konce koagulační kaskády za vzniku fibrinové sraženiny.

OC patří vedle kolagenu a želatiny mezi hemostatika pasivní (neobsahující koagulační faktory), jejichž mechanismem účinku je aktivace destiček a jejich agregace (Masci et al., 2011; Hutchinson et al., 2013; Gajdziok, 2010).

Zároveň absorbují tělní tekutiny v několikanásobném množství, než je jejich vlastní hmotnost a tvoří matrici pro tvorbu pevných fibrinových sraženin. Mohou se použít samostatně nebo v kombinaci s fibrinogenem (Masci et al., 2011; Hutchinson et al., 2013).

Oxidovaná celulóza se jako hemostatikum využívá u chirurgických nebo povrchových krvácení a ve stomatologii (Gajdziok, 2010). Své uplatnění nachází i v plastické chirurgii, např. při rhytidektomii (lifting obličeje). Díky své morfologii je možné ji využít prakticky všude, jelikož se snadno a rychle přizpůsobuje všem povrchům (Bassetto et al., 2008).

Jejími výhodami je biodegradovatelnost, netoxičnost, bakteriostatický a imunomodulační efekt, zabraňování srůstům tkání, podpora hojení, snižování zánětlivé reakce a cena, naopak nevýhodou je její bobtnání.

OC podporuje krevní srážení v oblasti ran, parenchymatózních orgánů i kostí (Gajdziok, 2010).

1.4.2. Příprava oxidované celulózy

Oxidovaná celulóza se vyrábí oxidací a rozkladem přírodní nebo regenerované celulózy (Mořková et al., 2018).

Celulóza obsahuje více reakčních míst, kde může dojít ke konkrétním chemickým reakcím. Selektivita a výtěžek závisí především na volbě oxidačního činidla, které má vliv na makroskopické a chemické vlastnosti celulózy.

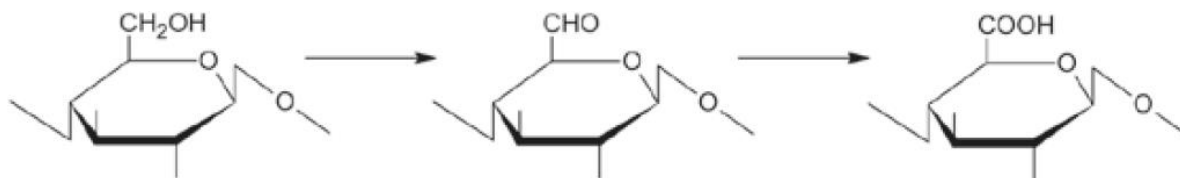
Při oxidaci celulózy dochází k přeměně hydroxylové skupiny na odpovídající karbonylovou skupinu, tedy aldehyd či karboxylovou skupinu na uhlíku C6 a keton na uhlíku C2 a C3.

Činidla pro oxidaci celulózy lze rozdělit na neselektivní (oxidy dusíku, dusitany a dusičnany alkalických kovů, ozon, permanganáty a peroxidy) a selektivní (jodistany a nitroxylové radikály) (Coseri et al., 2013).

Moderní metodou oxidace polysacharidů včetně celulózy je oxidace pomocí radikálu 2,2,6,6,-tetramethylpiperidin-N-oxylu (TEMPO) nebo superkritického CO₂ (Coseri et al., 2013; Vosmanská et al., 2017).

1.4.2.1. Oxidace pomocí oxidů dusíku

Při reakci celulózy s kapalným nebo plynným oxidem dusičitým nebo s různými organickými rozpouštědly dochází k převedení primárních hydroxylů celulózy na karboxyly (Zimnitsky et al., 2004; Hejlová a Milichovský, 2013). Tyto reakce však mohou doprovázet vedlejší procesy (dekrystalizace, nitrace, tvorba karbonylů apod.) Formace vedlejších produktů závisí převážně na oxidačních podmínkách (Zimnitsky et al., 2004).



Obrázek 8- Oxidace celulózy na uhlíku C6 (Sopuch et al., 2013, [cit. 2018-02-14])

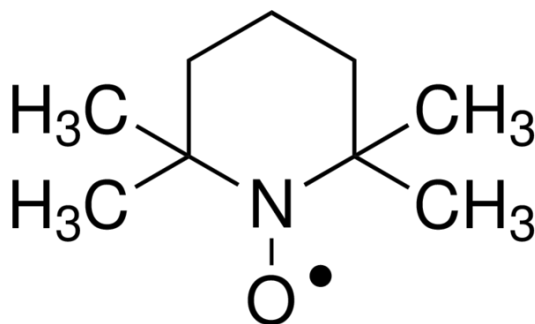
Oxidace celulózy v tekutém oxidu dusičitém je poměrně pomalá a získá se produkt s vysokým obsahem postranních skupin (nitroesterů a karbonylů). Oxidace v plynném stavu při vysoké teplotě (343 K; 69,85 °C) a tlaku (70 atm; 7,09 MPa) probíhá rychleji a umožňuje získat produkt s maximálním možným počtem karboxylů.

Použití roztoků oxidu dusičitého a organických rozpouštědel má několik významných výhod. Vzorčky OC získané touto metodou mají minimální obsah postranních skupin a vysoký obsah karboxylů, s jejich rovnoměrným rozdělením. Nejčastěji se jako rozpouštědla používají halogenované uhlovodíky (Zimnitsky et al., 2004).

1.4.2.2. Oxidace pomocí 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-N-oxylu (TEMPO)

2,2,6,6-tetramethylpiperidin-N-oxyl (2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl, TEMPO) je stabilní a ve vodě rozpustný nitroxylový radikál využívaný ke katalytické a selektivní oxidaci primárních hydroxylových skupin polysacharidů (Saito a Isogai, 2004). Obsahuje jeden nepárový elektron nacházející se na vazbě mezi dusíkem a kyslíkem.

Připravuje se oxidací 2,2,6,6-tetramethylpiperidinu nebo 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-hydroxidu (Barriga, 2001).



Obrázek 9 - Chemická struktura 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-N-oxylu (TEMPO)

(www.mpbio.com, [cit. 2018-03-22])

Oxidace pomocí TEMPO je jednou z nejslibnějších metod pro povrchové modifikace celulózy, kdy mohou být karboxylové a aldehydické skupiny zaváděny ve vodném prostředí a za mírných podmínek (Saito et al., 2006). Jedná se o selektivnější a rychlejší metodu, než je oxidace pomocí oxidů dusíku (Perez et al., 2003).

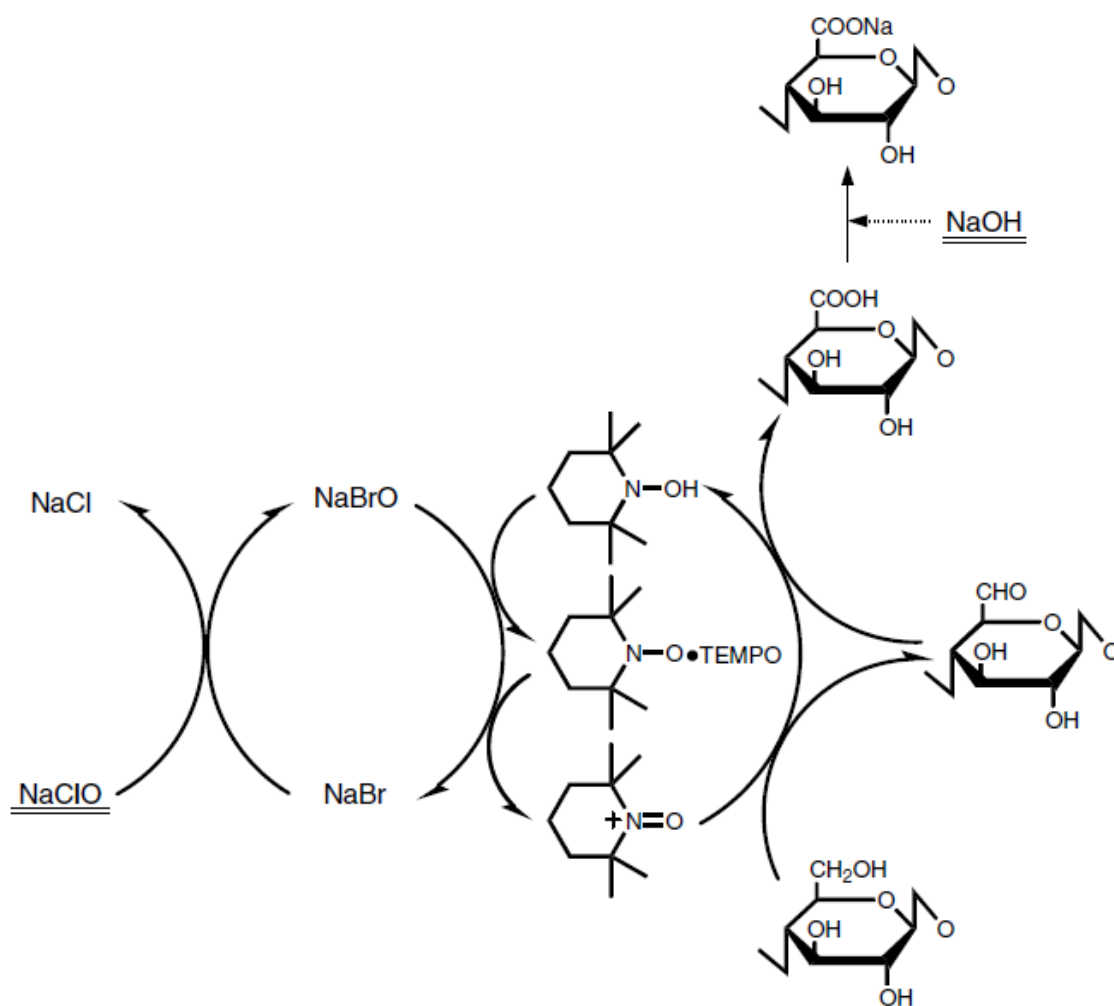
Je možné ji využít i pro jiné ve vodě nerozpustné polysacharidy jako je např. chitin. Při TEMPO oxidaci se využívá systému TEMPO-NaBr-NaClO (Tahiri a Vignon, 2000). NaBrO vytvářený prostřednictvím reakce NaClO a NaBr má funkci regenerace katalyzátoru TEMPO (Perez et al., 2003).

Celulóza se suspenduje ve vodě obsahující TEMPO a NaBr a zahájí se přidáním NaClO. Suspenze se kontinuálně promíchává a pH se udržuje na hodnotě 10 až 10,5 pomocí 0,5 M

NaOH. Reakce probíhá při teplotě 4 °C. Po ukončení reakce methanolem se pH upraví na hodnotu 7 pomocí 0,5 M HCl.

Vzorek se vysráží přebytkem ethanolu a zcentrifuguje. Vlákennitá frakce produktu se promyje vodou a acetonem a uskladní při teplotě 4 °C (Saito et al., 2006; Tahiri a Vignon, 2000).

Jak vyplývá z obrázku č. 11, na vytvoření 1 molu karboxylové skupiny se spotřebují 2 moly NaClO, zatímco na vytvoření 1 molu aldehydické skupiny se spotřebuje 1 mol NaClO (Saito et al., 2006).



Obrázek 10 - Schéma TEMPO oxidace celulózy (Saito et al., 2006, [cit. 2018-03-23])

1.4.3. OKCEL (Synthesia)

OKCEL je hemostatikum na bázi neregenerované oxidované celulózy. Výrobce je česká společnost Synthesia a.s., působící v oblasti speciálních chemikálií.

Je vyráběn v plošné nebo práškové formě, je k dispozici v různých velikostech a tvarech. OKCEL je dokonale akceptován organismem a plně vstřebatelný, pomáhá regenerovat tkáň a zvýšit hojivý účinek.

Vstupní surovinou výrobků OKCEL je celulóza bavlněného původu. Výroba spočívá v oxidaci čisté celulózy ve formě příze nebo tkané gázy. OKCEL se sterilizuje pomocí ozáření a je přizpůsoben pro snadné použití. (Synthesia, 2015; Lovecká, 2018).

Produkty práškových forem jsou využívány jako polotovary pro výrobu finálních zdravotnických prostředků s různými funkcemi. Mezi práškové formy patří OKCEL Ca-L, který se využívá jako prášek či sprej k zastavení krvácení malého rozsahu, např. menší řezných ran, oděrek nebo odřenin. Má bílou až lehce žlutou barvu (Synthesia, 2015).



Obrázek 11 - OKCEL Ca-L (Synthesia, 2015, [cit. 2018-01-31])

Produkty plošných forem mají hemostatickou funkci, hemostáza nastává do 3 minut od aplikace a do 21 dní jsou produkty tělem beze zbytku resorbovány (Synthesia, 2015).

V současné době existují čtyři druhy plošné formy (OKCEL H-T, OKCEL H-D, OKCEL F a OKCEL S). Tři z těchto druhů jsou v současné době k dispozici k zakoupení (OKCEL H-T, OKCEL H-D, OKCEL F), OKCEL S zatím ještě nebyl uveden na trh.

OKCEL H-T a OKCEL H-D mají charakter pleteniny, OKCEL F je měkký vrstvený netkaný materiál a připravovaný OKCEL S je zpevněná forma netkaného materiálu.

Výrobky OKCEL plošných forem jsou prostřednictvím distributorů s celosvětovou působností exportovány na trh Evropy, Jižní Ameriky, Asie a Afriky (Lovecká, 2018).

1.4.3.1. OKCEL H-T

OKCEL H-T je originální textilní forma oxidované celulózy bílé až žlutavé barvy. Jedná se o pletenou verzi s běžnou hustotou, materiál je vstřebatelný a hemostatický. Využívá se k zastavení kapilárního krvácení a krvácení z menších žil a tepének při chirurgických zákrocích. OKCEL H-T lze snadno řezat, šít a rolovat (Synthesia, 2015).



Obrázek 12 - OKCEL H-T (foto autor, 2018)

1.4.3.2. OKCEL H-D

OKCEL H-D je oxidovaná celulóza v textilní formě s vyšší nasákavostí. Jedná se o pletenou verzi s vysokou hustotou, větší tloušťkou a zvýšenou účinností, materiál je vstřebatelný a hemostatický. Využívá se při zastavení a kontrole většího krvácení ze žil nebo tepének při chirurgických zákrocích, kdy není možné provést podvaz cév nebo jiné konvenční metody k zastavení krvácení. OKCEL H-D lze snadno řezat, šít a rolovat (Synthesia, 2015).



Obrázek 13 - OKCEL H-D (Synthesia, 2015 [cit. 2018-01-31])

1.4.3.3. OKCEL F

OKCEL F je oxidovaná celulóza ve formě vaty. Jedná se o netkanou verzi se sníženou hmotností a vysokou flexibilitou, materiál je vstřebatelný a hemostatický. Využívá se pro dosažení hemostázy na povrchu velkých ploch, v povrchových aplikacích nebo v obtížně přístupných místech. OKCEL F lze snadno rolovat a jednotlivé vrstvy je možné lehce oddělit (Synthesia, 2015).



Obrázek 14 - OKCEL F (foto autor, 2018)

1.4.3.4. OKCEL S

OKCEL S je oxidovaná celulóza ve formě vaty, zpevněná verze OKCEL F. Jedná se o netkanou verzi se sníženou hmotností a zvýšenou pevností, materiál je vstřebatelný a hemostatický. Vyrábí se mechanickou úpravou výrobku OKCEL F. Díky nárůstu pevnosti je vhodný mimo jiné i pro endoskopické použití, jeho sací mohutnost je několikanásobně navýšená oproti tkaným formám produktu OKCEL (Lovecká, 2018).



Obrázek 15 - OKCEL S (foto autor, 2018)

1.4.4. Antimikrobiální efekt materiálu OKCEL

Produkty OKCEL mají vedle hemostatických i baktericidní a bakteriostatické vlastnosti. Antimikrobiální účinky jsou vykazovány proti velkému spektru patogenů díky vytvoření prostředí s nízkým pH kolem rány. Nižší úrovně pH inhibují růst a množení grampozitivních i gramnegativních bakterií, zahrnující aerobní i anaerobní kmeny, včetně bakterií rezistentních vůči antibiotikům (methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA), methicilin rezistentní *Staphylococcus epidermidis* (MRSE), penicilin rezistentní *Streptococcus pneumoniae* (PRSP) a vankomycin rezistentní *Enterococcus faecalis* (VRE). (Mořková et al., 2018).

Mořková et al. (2018) provedli studii ověřující antibakteriální účinnost materiálu OKCEL H-D pomocí diluční a difúzní metody. Testováno bylo celkem 27 mikroorganismů.

Při využití diluční metody vykazoval OKCEL H-D inhibiční účinky téměř u všech testovaných bakterií.

Z 27 testovaných bakterií došlo u 15 ke snížení jejich koncentrace o 7 nebo 8 řádů po 6 h (*Arcanobacterium haemolyticum*, *Bacteroides fragilis*, *Moraxella catarrhalis*, *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes* a *Streptococcus salivarius*).

U kmenů *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica* sp. *enterica*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* a *Staphylococcus saprophyticus* došlo po 6 h ke snížení o 5 nebo 6 řádů.

U rezistentních bakterií (MRSA, MRSE, VRE) došlo po 6 h ke snížení pouze o 1 řád, u MRSA a MRSE k úplné inhibici po 24 h, u VRE byla úplná inhibice růstu zaznamenána až po 48 h.

U kmene *Enterococcus faecalis* nedošlo po 6 h k žádné inhibici růstu, u kmene *Mycobacterium smegmatis* došlo ke snížení o 4 řády po 24 h.

Nejmenší účinek byl zaznamenán u sporulujícího kmene *Bacillus subtilis*, u kterého nedošlo ke snížení koncentrace ani po 48 h (Mořková et al., 2018).

Při využití difúzní metody došlo při použití OKCEL H-D k vytvoření inhibiční zóny u všech bakterií kromě *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium smegmatis* a *Listeria monocytogenes*. U rezistentních kmenů MRSA, MRSE a VRE byla zaznamenána relativně významná inhibiční účinnost (inhibiční zóna 4-6 mm).

Při testování difúzní metodou se u 19 z 27 testovaných mikroorganismů (*Arcanobacterium haemolyticum*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides fragilis*, *Moraxella catarrhalis*, *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas stutzeri*, *Salmonella enterica* sp. *enterica*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes* a *Streptococcus salivarius*) inhibiční zóna pohybovala od 2 do 9 mm. U kmene *Pseudomonas aeruginosa* se vytvořila inhibiční zóna o šířce 1 mm.

U žádné z bakterií nebyl zaznamenán nárůst pod testovaným materiálem (Mořková et al., 2018).

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Přístroje a zařízení

Analytické váhy (Boeco, Německo)

Biologický termostat BT 120 MR (EKOM, Česká republika)

Centrifuga Hermle Z 300 K (Hermle Labortechnik GmbH, Německo)

Horkovzdušný sterilizátor Sterimat 5104.2 (BMT Medical Technology, Česká republika)

Chladnička (Electrolux, Švédsko)

Chladnička (Liebherr, Německo)

Inkubátor CO2 SalvisLab Biocenter BC 170 (SalvisLab, Švýcarsko)

McFarlandův denzitometr DEN-1 (BioSan, Litva)

Parní sterilizátor PS 20A (BMT Medical Technology, Česká republika)

Parní sterilizátor Sterimat plus (BMT Medical Technology, Česká republika)

Počítadlo kolonií Star Count STC-1000 (VWR International BVBA, Švýcarsko)

Předvážky Kern 440-43 (Kern, Německo)

Předvážky Kern 444-45 (Kern, Německo)

Vodní lázeň Certomat WR (Braun Biotech International, Německo)

Vodní lázeň NB-304 (N-Biotek, Jižní Korea)

Vortex GENIUS 3 (IKA, Spojené státy americké)

Vortex MS 3 basic (IKA, Spojené státy americké)

2.2. Laboratorní sklo a pomůcky

Bakteriologické zkumavky, plastové zkumavky, kovové zátky, stojany

Erlenmayerovy baňky

Kádinky

Očkovací kličky

Odměrné válce

Pinzeta, nůžky

Pipety, špičky

Plastové Petriho misky

Plynový kahan, zapalovač

Skleněné L-hokejky, plastové L-hokejky

2.3. Roztoky a kultivační média

2.3.1. Fyziologický roztok

Použití:

Ředící roztok (0,85% roztok chloridu sodného) pro přípravu suspenzí testovaných mikroorganismů a pro desítkové ředění.

Příprava:

Bylo naváženo 4,25 g chloridu sodného do 500 ml destilované vody a zahříváno do úplného rozpuštění, následně sterilizováno v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Složení:

Chlorid sodný 8,5 g/l

Konečné pH (při 25 °C): 7,4

Výrobce: Lach-Ner (Česká republika)

Číslo šarže: PP/2013/07206

2.3.2. Neutralizační roztok (Eugonic LT 100 Broth Base w/o Tween 80)

Použití:

Pro kultivaci a uchovávání nutričně náročných mikroorganismů a pro neutralizaci materiálu.

Příprava:

Bylo naváženo 16,2 g přípravku do 500 ml destilované vody obsahující 2,5 g polysorbátu 80 (Tween 80, výrobce HiMedia, číslo šarže 0000260687) a zahříváno do úplného rozpuštění, následně sterilizováno v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Složení:

Enzymatický hydrolyzát kaseinu	15,0 g/l
Sójový pepton	5,0 g/l
Chlorid sodný	4,0 g/l
L-cystin	0,7 g/l
Siřičitan sodný	0,2 g/l
Glukóza	5,5 g/l
Vaječný lecitin	1,0 g/l
Triton X-100	1,0 g/l

Konečné pH (při 25 °C): 7,0 ± 0,2

Výrobce: HiMedia (Indie)

Číslo šarže: 0000309853

2.3.3. Mozkosrdcový bujón (Brain Heart Infusion Broth)

Použití:

Pro pomnožení a kultivaci patogenních koků a ostatních nutričně náročných mikroorganismů z krevních vzorků a klinického materiálu.

Příprava:

Bylo naváženo 18,5 g přípravku do 500 ml destilované vody a zahříváno do úplného rozpuštění, následně sterilizováno v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Složení:

Telecí mozková infuze (extrakt)	200,0 g/l (7,78 g/l)
Hovězí srdcová infuze (extrakt)	250,0 g/l (9,72 g/l)
Proteozový pepton	10,0 g/l
Chlorid sodný	5,0 g/l
Hydrogenfosforečnan (di)sodný	2,5 g/l
Dextróza	2,0 g/l

Konečné pH (při 25 °C): $7,4 \pm 0,2$

Výrobce: HiMedia (Indie)

Číslo šarže: 0000156516

2.3.4. Todd Hewitt bujón (Todd Hewitt Broth)

Použití:

Pro kultivaci druhů rodu *Streptococcus* zejména sérologické skupiny A.

Příprava:

Bylo naváženo 18,5 g přípravku do 500 ml destilované vody a zahříváno do úplného rozpuštění, následně sterilizováno v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Složení:

Hovězí srdcová infuze (extrakt)	500,0 g/l (10,1 g/l)
Masový pepton	20,0 g/l
Dextróza	2,0 g/l
Chlorid sodný	2,0 g/l
Hydrogenfosforečnan (di)sodný	0,4 g/l
Uhlíčan sodný	2,5 g/l

Konečné pH (při 25 °C): $7,8 \pm 0,2$

Výrobce: HiMedia (Indie)

Číslo šarže: WJ165

2.3.5. Trypton-sójový agar (Tryptone Soya Agar, Soyabean Caseine Digest Agar)

Použití:

Obecně použitelné médium pro kultivaci nutričně náročných i nenáročných mikroorganismů a pro kontrolu mikrobiálních limitů u nesterilních materiálů.

Příprava:

Bylo naváženo 20,0 g přípravku do 500 ml destilované vody a zahříváno do úplného rozpuštění, následně sterilizováno v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Složení:

Enzymatický hydrolyzát kaseinu	15,0 g/l
Sójový pepton	5,0 g/l
Chlorid sodný	5,0 g/l
Agar	15,0 g/l

Konečné pH (při 25 °C): 7,3 ± 0,2

Výrobce: HiMedia (Indie)

Číslo šarže: 0000298285

2.3.6. Krevní agar (Blood agar base No. 2)**Použití:**

Základ pro přípravu krevního agaru. Po přidavku krve lze použít pro kultivaci nutričně náročných patogenních mikroorganismů bez ovlivnění jejich hemolytických reakcí.

Příprava:

Bylo naváženo 21,25 g přípravku do 500 ml destilované vody a zahříváno do úplného rozpuštění, následně sterilizováno v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut. Po ochlazení na 40-50 °C bylo přidáno 5 % sterilní defibrinované krve (25 ml).

Složení:

Proteozový pepton	15,0 g/l
Játrový extrakt	2,5 g/l
Kvasničný extrakt	5,0 g/l
Chlorid sodný	5,0 g/l
Agar	15,0 g/l

Konečné pH (při 25 °C): $7,4 \pm 0,2$

Výrobce: HiMedia (Indie)

Číslo šarže: 0000225367

2.3.7. Sladinový agar (MALT agar)

Použití:

Pro kultivaci a izolaci kvasinek a plísní z mléčných výrobků, potravin a dalších materiálů. Lze též použít pro uchovávání kultur kvasinek a plísní.

Příprava:

Bylo naváženo 22,5 g přípravku do 500 ml destilované vody a zahříváno do úplného rozpuštění, následně sterilizováno v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Složení:

Sladový extrakt	30,0 g/l
Agar	15,0 g/l

Konečné pH (při 25 °C): $5,5 \pm 0,2$

Výrobce: HiMedia (Indie)

Číslo šarže: 0000228719

2.3.8. Deoxycholát-citrátový agar (Deoxycholate Citrate Agar)

Použití:

Pro izolaci střevních patogenů. Grampozitivní bakterie, *Proteus* a koliformní bakterie jsou inhibovány prostřednictvím čistých solí deoxycholátu sodného a citrátu sodného.

Příprava:

Bylo naváženo 35 g přípravku do 500 ml destilované vody a zahříváno do úplného rozpuštění ve vodní lázni.

Složení:

Srdcová infuze (extrakt)	330,0 g/l (9,48 g/l)
Proteózový pepton	10,0 g/l
Laktóza	10,0 g/l
Citrát sodný	20,0 g/l
Citrát železito-amonný	2,0 g/l
Deoxycholát sodný	5,0 g/l
Neutrální červeň	0,02 g/l
Agar	13,5 g/l

Konečné pH (při 25 °C): $7,5 \pm 0,2$

Výrobce: HiMedia (Indie)

Číslo šarže: 9188

2.4. Bakteriální kmeny

Bylo testováno celkem 27 bakteriálních kmenů, z toho 27 metodou absorpční a 5 metodou difúzní.

2.4.1. Absorpční metoda

Seznam všech testovaných kmenů pro absorpční metodu včetně jejich označení, použitých kultivačních médií a inkubačních podmínek je uveden v tabulce č. 1.

Tabulka 1 - Testované bakteriální kmeny pro absorpční metodu

Mikroorganismus		Kultivační médium	Podmínky inkubace
ATCC 6051	<i>Bacillus subtilis</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 10231	<i>Candida albicans</i>	MALT	37°C/24 h
ATCC 10699	<i>Enterobacter cloacae</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 8739	<i>Escherichia coli</i>	TSA	37°C/24 h
CCM 1900	<i>Klebsiella oxytoca</i>	TSA	37°C/24 h
Klinický izolat	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 516	<i>Kocuria rosea</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 35152	<i>Listeria monocytogenes</i>	TSA	37°C/24 h
FNHK	Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	TSA	37°C/24 h
NRL16/181	Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE)	TSA	37°C/24 h
CCM 2828	<i>Moraxella catarrhalis</i>	TSA	37°C/24 h
CCM 1944	<i>Proteus mirabilis</i>	DC	37°C/24 h
CCM 1799	<i>Proteus vulgaris</i>	DC	37°C/24 h
ATCC 9027	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 13525	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	TSA	37°C/24 h
KBBV	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	TSA	37°C/24 h
CCM 4420	<i>Salmonella enterica</i> sp. <i>enterica</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 13880	<i>Serratia marcescens</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 6538	<i>Staphylococcus aureus</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 12228	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 15305	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	TSA	37°C/24 h
CCM 6187	<i>Streptococcus agalactiae</i>	KA	37°C/24 h
NRC 189/2016	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	KA	37°C/24 h/5% CO ₂
CCM 4425	<i>Streptococcus pyogenes</i>	KA	37°C/24 h
ATCC 7073	<i>Streptococcus salivarius</i>	KA	37°C/24 h
FNHK	Vankomycin rezistentní <i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	TSA	37°C/24 h

DC	Deoxycholát-citrátový agar
KA	Krevní agar
MALT	Sladinový agar
TSA	Trypton-sójový agar
ATCC	Americká sbírka bakteriálních kultur, Manassas, Virginia, Spojené státy americké (American Type Culture Collection)
CCM	Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Brno, Česká republika (Czech Collection of Microorganisms)
FNHK	Fakultní nemocnice Hradec Králové, Hradec Králové, Česká republika
KBBV	Katedra biologických a biochemických věd, Univerzita Pardubice, Pardubice, Česká republika
NRC	Národní rada pro výzkum, Ottawa, Ontario, Kanada (National Research Council)
NRL	Národní referenční laboratoř, Centrum epidemiologie a mikrobiologie, Státní zdravotní ústav, Praha, Česká republika (National Reference Laboratories)

2.4.2. Difúzní metoda

Seznam všech testovaných kmenů pro difúzní metodu včetně jejich označení, použitých kultivačních médií a inkubačních podmínek je uveden v tabulce č. 2.

Tabulka 2 - Testované bakteriální kmeny pro difúzní metodu

	Mikroorganismus	Kultivační médium	Podmínky inkubace
ATCC 10231	<i>Candida albicans</i>	MALT	37°C/24 h
ATCC 8739	<i>Escherichia coli</i>	TSA	37°C/24 h
Klinický izolát	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 9027	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	TSA	37°C/24 h
ATCC 6538	<i>Staphylococcus aureus</i>	TSA	37°C/24 h

MALT

Sladinový agar

TSA

Trypton-sójový agar

ATCC

Americká sbírka bakteriálních kultur, Manassas, Virginia, Spojené státy americké (American Type Culture Collection)

2.5. Pracovní postup

2.5.1. Pracovní postup absorpční metody

Absorpční metoda byla provedena dle platné normy ČSN EN ISO 20743 (Textilie - zjišťování antibakteriálního účinku textilních výrobků), postup však musel být modifikována dle daného mikroorganismu.

2.5.1.1. Příprava zkušební inokula

Z 24h bakteriální kultury byla připravena suspenze ve fyziologickém roztoku o denzitě 1×10^8 cfu/ml až 3×10^8 cfu/ml. Koncentrace byla změřena pomocí McFarlandova denzitometru. Suspenze byla následně ředěna desítkovou řadou na koncentraci 10^5 cfu/ml a 10^3 cfu/ml.

2.5.1.2. Příprava zkušebních vzorků

Do 50 ml plastových zkumavek bylo sterilně naváženo $0,40 \pm 0,05$ g každé z antibakteriálně upravené nebo kontrolní textilie. Byly připraveny 2 zkušební vzorky z každé antibakteriálně upravené textilie (2x OKCEL S, 2x OKCEL F, 2x OKCEL H-T) a 2 zkušební vzorky kontrolní textilie pro každý testovaný kmen. Pro navažování byly použity analytické váhy.

Do každé ze zkumavek bylo napipetováno 200 μ l bakteriální suspenze o koncentraci 10^5 cfu/ml na několik míst zkušební vzorku tak, aby se žádné inokulum nedostalo do styku s povrchem nebo víčkem zkumavky.

Do jedné ze zkumavek bylo ihned po naočkování napipetováno 20 ml neutralizačního roztoku a vytřepáno pomocí vortexu. Druhá zkumavka se nechala kultivovat při 37 °C po dobu 24 h ve vodní lázni.

2.5.1.3. Zaočkování kultivačního média a kultivace

Na kultivační médium (dle tabulky č. 1) bylo napipetováno 100 μ l z první ze zkumavek (suspenze v neutralizačním roztoku) a zaočkováno pomocí L-hokejky. Očkování bylo prováděno v dubletech, vždy po dvou Petriho miskách na jednu zkumavku.

Do druhé zkumavky s materiálem a mikroorganismem (bez neutralizačního roztoku) bylo po 24 h inkubaci při 37 °C napipetováno 20 ml neutralizačního roztoku a po řádném promíchání na vortexu byla suspenze vyočkována na kultivační médium (dle tabulky č. 1) v Petriho

miskách. Další postup byl shodný se zkumavkami, do kterých byl neutralizační roztok napipetován ihned po zaočkování 200 μ l bakteriální suspenze o koncentraci 10^5 cfu/ml.

Kultivace zaočkovaných médií v Petriho miskách probíhala v termostatu při 37 °C po dobu 24 h aerobně.

2.5.1.4. Hodnocení

Po 24 h kultivaci byly spočítány kolonie na miskách a následně byla vypočtena antibakteriální účinnost dle platné normy ČSN EN ISO 20743 (Textilie - zjišťování antibakteriálního účinku textilních výrobků).

A	Hodnota antibakteriálního účinku $A = F - G$
F	Hodnota růstu u kontrolního zkušební vzorku $F = \lg C_t - \lg C_0$
G	Hodnota růstu u antibakteriálně upraveného zkušební vzorku $G = \lg T_t - \lg T_0$
C_t	Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u kontrolních zkušebních vzorků po kultivaci 24 h
C_0	Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u kontrolních zkušebních vzorků ihned po naočkování
T_t	Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u antibakteriálně upravených zkušebních vzorků po kultivaci 24 h
T_0	Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u antibakteriálně upravených zkušebních vzorků ihned po naočkování

2.5.2. Pracovní postup difúzní metody

Difúzní metoda byla provedena dle modifikované platné normy pro antibiotika dle EUCAST (Vyšetření citlivosti k antibiotikům - EUCAST disková difúzní metoda).

2.5.2.1. Příprava zkušební inokula

Z 24 h bakteriální kultury byla připravena suspenze ve fyziologickém roztoku o denzitě 1×10^8 cfu/ml. Koncentrace byla změřena pomocí McFarlandova denzitometru.

2.5.2.2. Zaočkování kultivačního média, aplikace testovaného materiálu a kultivace

Na kultivační médium (dle tabulky č. 2) byly napipetovány 2 ml suspenze ve fyziologickém roztoku a po 5 minutách suspendování byl zbytek suspenze odpipetován. Očkování bylo prováděno v dubletech. Poté byl aplikován testovaný materiál o rozměrech 2x2 cm. Inkubace probíhala po dobu 24 při 37 °C nebo 48 h při 37 °C pro kvasinku *Candida albicans*.

2.5.2.3. Určení bakteriostatické či baktericidní účinnosti

Po inkubaci byl pomocí očkovací kličky proveden stěr z kultivačního média v oblasti pod testovaným materiálem a přeočkován na nové kultivační médium (dle tabulky č. 2) pro ověření, zda se jedná o bakteriostatický či baktericidní účinek.

Inkubace probíhala po dobu 24 h při 37 °C.

2.6. Testovaný materiál

2.6.1. Absorpční metoda

Absorpční metodou byly testovány 4 různé typy výrobku OKCEL (OKCEL S, OKCEL S vakuově balený, OKCEL F a OKCEL H-T). Použité šarže testovaných materiálů jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Tabulka 3 - Testovaný materiál pro absorpční metodu

Testovaný mikroorganismus	Šarže			
	OKCEL S	OKCEL S (V)	OKCEL F	OKCEL HT
<i>Bacillus subtilis</i>	-	020/15-VAK	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Candida albicans</i>	-	020/15-VAK	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Enterobacter cloacae</i>	510 004/17	-	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Enterococcus faecalis</i>	510 004/17	-	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Escherichia coli</i>	007/17	007/17/V	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Klebsiella oxytoca</i>	510 004/17	-	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	007/17	007/17/V	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Kocuria rosea</i>	510 004/17	-	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Listeria monocytogenes</i>	020/15	-	1010 P1/14	540 P112/14
Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	020/15	-	1010 P1/14	540 P112/14
Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus epidermidis</i> (MRSE)	510 004/17	-	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Moraxella catarrhalis</i>	510 004/17	-	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Proteus mirabilis</i>	-	020/15-VAK	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Proteus vulgaris</i>	-	020/15-VAK	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	007/17	007/17/V	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	510 004/17	-	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	510 004/17	-	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Salmonella enterica</i> sp. <i>enterica</i>	510 004/17	-	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Serratia marcescens</i>	-	020/15-VAK	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Staphylococcus aureus</i>	007/17	007/17/V	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	510 004/17	-	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	020/15	-	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	020/15-VAK	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-	020/15-VAK	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	020/15-VAK	1010 P1/14	540 P112/14
<i>Streptococcus salivarius</i>	-	020/15-VAK	1010 P1/14	540 P112/14
Vankomycin rezistentní <i>Enterococcus faecalis</i> (VRE)	510 004/17	-	1010 P1/14	540 P112/14

-	Testování nebylo provedeno
MRSA	Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSE	Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus epidermidis</i>
VRE	Vankomycin rezistentní <i>Enterococcus faecalis</i>
V (VAK)	vakuové balení

2.6.2. Difúzní metoda

Difúzní metodou byly testovány 2 různé typy výrobku OKCEL (OKCEL S a OKCEL F). Použité šarže testovaných materiálů jsou uvedeny v tabulce č. 4. U kmenů *Candida albicans* a *Staphylococcus aureus* byla použita stejná šarže u obou testovaných materiálů.

Tabulka 4 - Testovaný materiál pro difúzní metodu

Testovaný mikroorganismus	Šarže	
	OKCEL S	OKCEL F
<i>Candida albicans</i>	022/17	022/17
<i>Escherichia coli</i>	020/17	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	020/17	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	020/17	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	022/17	022/17

-
Testování nebylo provedeno

3. VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1. Absorpční metoda

Absorpční metodou bylo testováno celkem 27 kmenů mikroorganismů na účinnost 4 různých druhů OKCEL (OKCEL H-T, OKCEL F, OKCEL S klasicky balený a OKCEL S vakuově balený).

Absorpční metoda byla prováděna dle platné normy ČSN EN ISO 20743 (Textilie - zjišťování antibakteriálního účinku textilních výrobků). Testování však muselo být několikrát opakováno z důvodu nereprodukovatelnosti výsledků dle normy. Norma dle našeho testování není použitelná pro tento druh materiálu.

Norma ČSN EN ISO 20743 byla pro dané testování modifikována. Pro inkubaci mikrobiálních suspenzí na testovaném materiálu musela být použita vodní lázeň, jelikož bakterie na suchém materiálu bez dostatku vlhkosti nepřežily a nedošlo k následnému nárůstu na příslušných kultivačních půdách ani u kontrolních vzorků.

Kromě mikroorganismů uvedených v tabulce č. 1 (strana č. 50) byly testovány také kmeny *Arcanobacterium haemolyticum* a *Corynebacterium xerosis*, které však byly z testování po několika neúspěšných pokusech vyřazeny. Až po dalším testování a provádění různých modifikací platné normy bylo zjištěno, že tyto bakterie nepřežijí inkubaci v neutralizačním roztoku po dobu 5 minut.

Výsledky absorpční metody pro jednotlivé druhy krytí jsou uvedeny v tabulkách č. 5, 6 a 7.

3.1.1. OKCEL H-T

Výsledky absorpční metody pro OKCEL H-T jsou uvedeny v tabulce č. 5.

Tabulka 5 - Výsledky absorpční metody (OKCEL H-T)

Testovaný mikroorganismus	Denzita bakterií (cfu/ml)			
	C _t	C ₀	T _t (O HT)	T ₀ (O HT)
<i>Bacillus subtilis</i>	1,00E+06	3,20E+05	1,00	3,00E+05
<i>Candida albicans</i>	2,50E+06	1,20E+05	1,00	1,00
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,00E+06	1,80E+05	1,00	1,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,90E+07	3,20E+07	1,00	1,00
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06	1,60E+06	1,00	1,00
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,00E+06	3,50E+05	1,00	1,00
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,00E+06	1,00E+06	1,00	1,00
<i>Kocuria rosea</i>	1,50E+06	5,30E+05	1,00	1,00
<i>Listeria monocytogenes</i>	8,10E+05	1,00E+06	1,00	1,00
<i>Moraxella catharralis</i>	1,70E+05	3,90E+05	1,00	1,00
MRSA	1,40E+05	1,30E+06	1,00	1,00
MRSE	1,60E+05	1,50E+06	1,00	1,00
<i>Proteus mirabilis</i>	1,00E+06	8,20E+05	1,00	1,00
<i>Proteus vulgaris</i>	5,40E+05	2,60E+05	1,00	1,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06	1,40E+06	1,00	1,00
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,30E+06	1,60E+07	1,00	1,00
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	7,00E+05	2,00E+06	1,00	1,00
<i>Salmonella enterica sp. enterica</i>	1,00E+06	1,10E+06	1,00	1,00
<i>Serratia marcescens</i>	1,00E+06	1,00E+06	1,00	1,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,20E+05	1,00E+06	1,00	1,00
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06	4,90E+05	1,00	1,00
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2,50E+05	3,20E+05	1,00	1,00
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3,20E+05	6,10E+05	1,00	1,00
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6,00E+04	2,20E+05	1,00	1,00
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+00	1,50E+05	1,00	1,00
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,00E+06	4,80E+05	1,00	1,00
VRE	1,30E+06	1,00E+06	1,00	1,00

MRSA

Methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*

MRSE

Methicilin rezistentní *Staphylococcus epidermidis*

VRE

Vankomycin rezistentní *Enterococcus faecalis*

C_t

Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u kontrolních zkušebních vzorků po kultivaci 24 h

C₀

Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u kontrolních zkušebních vzorků ihned po naočkování

T_t

Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u antibakteriálně upravených zkušebních vzorků po kultivaci 24 h

T₀

Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u antibakteriálně upravených zkušebních vzorků ihned po naočkování

O HT

OKCEL H-T

Z tabulky č. 5 vyplývá, že při použití OKCEL H-T došlo u všech testovaných bakterií kromě sporotvorného kmene *Bacillus subtilis* k potlačení růstu oproti kontrolnímu zkušebnímu vzorku ihned po naočkování.

U kmene *Bacillus subtilis* došlo k potlačení růstu oproti kontrolnímu zkušebnímu vzorku po 24 h kultivaci na antibakteriálně upraveném materiálu.

Podobného výsledku bylo dosaženo ve studii používající diluční metodu u OKCEL H-D (Mořková et al., 2018), kde nedošlo k potlačení růstu kmene *Bacillus subtilis* ani po 48 hodinové kultivaci.

Endospory kmene *Bacillus subtilis* jsou díky své struktuře extrémně odolné vůči ohřevu, radiaci i chemikáliím (kyseliny, zásady, oxidační činidla, alkylační činidla, aldehydy a organická rozpouštědla). Jejich odolnost je způsobena proteiny v plášti spory reagujícími s chemickými látkami, relativní nepropustností vnitřní membrány, proteiny chránícími DNA, schopností opravy DNA a nízkým obsahem vody a vysokým obsahem minerálů v jádře spory (Setlow, 2006).

3.1.2. OKCEL F

Výsledky absorpční metody pro OKCEL F jsou uvedeny v tabulce č. 6.

Tabulka 6 - Výsledky absorpční metody (OKCEL F)

Testovaný mikroorganismus	Denzita bakterií (cfu/ml)			
	C _t	C ₀	T _t (O F)	T ₀ (O F)
<i>Bacillus subtilis</i>	1,00E+06	3,20E+05	1,00	4,20E+05
<i>Candida albicans</i>	2,50E+06	1,20E+05	1,00	1,00
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,00E+06	1,80E+05	1,00	1,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,90E+07	3,20E+07	1,00	1,00
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06	1,60E+06	1,00	1,00
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,00E+06	3,50E+05	1,00	1,00
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,00E+06	1,00E+06	1,00	1,00
<i>Kocuria rosea</i>	1,50E+06	5,30E+05	1,00	1,00
<i>Listeria monocytogenes</i>	8,10E+05	1,00E+06	1,00	1,00
<i>Moraxella catharralis</i>	1,70E+05	3,90E+05	1,00	1,00
MRSA	1,40E+05	1,30E+06	1,00	1,00
MRSE	1,60E+05	1,50E+06	1,00	1,00
<i>Proteus mirabilis</i>	1,00E+06	8,20E+05	1,00	1,00
<i>Proteus vulgaris</i>	5,40E+05	2,60E+05	1,00	1,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06	1,40E+06	1,00	1,00
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,30E+06	1,60E+07	1,00	1,00
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	7,00E+05	2,00E+06	1,00	1,00
<i>Salmonella enterica</i> sp. <i>enterica</i>	1,00E+06	1,10E+06	1,00	1,00
<i>Serratia marcescens</i>	1,00E+06	1,00E+06	1,00	1,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,20E+05	1,00E+06	1,00	1,00
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06	4,90E+05	1,00	1,00
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2,50E+05	3,20E+05	1,00	1,00
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3,20E+05	6,10E+05	1,00	1,00
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6,00E+04	2,20E+05	1,00	1,00
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+00	1,50E+05	1,00	1,00
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,00E+06	4,80E+05	1,00	1,00
VRE	1,30E+06	1,00E+06	1,00	1,00

MRSA

Methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*

MRSE

Methicilin rezistentní *Staphylococcus epidermidis*

VRE

Vankomycin rezistentní *Enterococcus faecalis*

C_t

Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u kontrolních zkušebních vzorků po kultivaci 24 h

C₀

Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u kontrolních zkušebních vzorků ihned po naočkování

T_t

Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u antibakteriálně upravených zkušebních vzorků po kultivaci 24 h

T₀

Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u antibakteriálně upravených zkušebních vzorků ihned po naočkování

O F

OKCEL F

Z tabulky č. 6 vyplývá, že při použití OKCEL F došlo u všech testovaných bakterií kromě sporotvorného kmene *Bacillus subtilis* k potlačení růstu oproti kontrolnímu zkušebnímu vzorku ihned po naočkování.

U kmene *Bacillus subtilis* došlo k potlačení růstu oproti kontrolnímu zkušebnímu vzorku po 24 h kultivaci na antibakteriálně upraveném materiálu.

Podobné výsledky byly publikovány autory Motřková et al. (2018). V této studii byl sledován antimikrobiální účinek materiálu OKCEL H-D pomocí diluční metody u několika druhů bakterií včetně kmene *Bacillus subtilis*, na který však testovaný materiál nepůsobil inhibičně ani po 48 hodinové kultivaci.

Endospory kmene *Bacillus subtilis*, jak již bylo uvedeno v předchozí kapitole, mají díky své stavbě zvýšenou odolnost k chemickým, fyzikálním a mechanickým vlivům (Setlow, 2006).

3.1.3. OKCEL S

Výsledky absorpční metody pro OKCEL S jsou uvedeny v tabulce č. 7.

Tabulka 7 - Výsledky absorpční metody (OKCEL S)

Testovaný mikroorganismus	Denzita bakterií (cfu/ml)					
	C _t	C ₀	T _t (O S)	T ₀ (O S)	T _t (O SV)	T ₀ (O SV)
<i>Bacillus subtilis</i>	1,00E+06	3,20E+05	-	-	1,00	4,00E+05
<i>Candida albicans</i>	2,50E+06	1,20E+05	-	-	1,00	1,00
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,00E+06	1,80E+05	1,00	1,00	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,90E+07	3,20E+07	1,00	1,00	-	-
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06	1,60E+06	1,00	1,00	1,00	1,00
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,00E+06	3,50E+05	1,00	1,00	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,00E+06	1,00E+06	1,00	1,00	1,00	1,00
<i>Kocuria rosea</i>	1,50E+06	5,30E+05	1,00	1,00	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	8,10E+05	1,00E+06	1,00	1,00	-	-
<i>Moraxella catharralis</i>	1,70E+05	3,90E+05	1,00	1,00	-	-
MRSA	1,40E+05	1,30E+06	1,00	1,00	-	-
MRSE	1,60E+05	1,50E+06	1,00	1,00	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	1,00E+06	8,20E+05	-	-	1,00	1,00
<i>Proteus vulgaris</i>	5,40E+05	2,60E+05	-	-	1,00	1,00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06	1,40E+06	1,00	1,00	1,00	1,00
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,30E+06	1,60E+07	1,00	1,00	-	-
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	7,00E+05	2,00E+06	1,00	1,00	-	-
<i>Salmonella enterica sp. enterica</i>	1,00E+06	1,10E+06	1,00	1,00	1,00	1,00
<i>Serratia marcescens</i>	1,00E+06	1,00E+06	-	-	1,00	1,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,20E+05	1,00E+06	1,00	1,00	1,00	1,00
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06	4,90E+05	1,00	1,00	-	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2,50E+05	3,20E+05	1,00	1,00	-	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3,20E+05	6,10E+05	-	-	1,00	1,00
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6,00E+04	2,20E+05	-	-	1,00	1,00
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+00	1,50E+05	-	-	1,00	1,00
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,00E+06	4,80E+05	-	-	1,00	1,00
VRE	1,30E+06	1,00E+06	1,00	1,00	-	-

MRSA Methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*

MRSE Methicilin rezistentní *Staphylococcus epidermidis*

VRE Vankomycin rezistentní *Enterococcus faecalis*

C_t Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u kontrolních zkušebních vzorků po kultivaci 24 h

C₀ Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u kontrolních zkušebních vzorků ihned po naočkování

T_t Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u antibakteriálně upravených zkušebních vzorků po kultivaci 24 h

T₀ Aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u antibakteriálně upravených zkušebních vzorků ihned po naočkování

O S OKCEL S, klasicky balený

O SV OKCEL S, vakuově balený

Z tabulky č. 7 vyplývá, že při použití OKCEL S došlo u všech testovaných bakterií kromě sporotvorného kmene *Bacillus subtilis* k potlačení růstu oproti kontrolnímu zkušebnímu vzorku ihned po naočkování.

U kmene *Bacillus subtilis* došlo k potlačení růstu oproti kontrolnímu zkušebnímu vzorku po 24 h kultivaci na antibakteriálně upraveném materiálu.

Jak uvádí studie Motřková et al. (2018) využívající diluční metodu u OKCEL H-D, k inhibici růstu *Bacillus subtilis* nedošlo ani po 48 hodinové kultivaci. Jak již bylo popsáno výše, kmen *Bacillus subtilis* je sporotvorný, a tudíž vysoce odolný vůči ohřevu, radiaci i chemikáliím (Setlow, 2006).

3.1.4. Antimikrobiální aktivita

Antimikrobiální aktivita byla hodnocena dle platné normy ČSN EN ISO 20743 (Textilie - zjišťování antibakteriálního účinku textilních výrobků). Hodnoty vypočítaných antimikrobiálních aktivit jsou uvedeny v tabulce č. 8.

Tabulka 8 - Výsledky absorpční metody (antimikrobiální aktivita)

Testovaný mikroorganismus	F	G (O HT)	A (O HT)	G (O F)	A (O F)	G (O S)	A (O S)	G (O SV)	A (O SV)
<i>Bacillus subtilis</i>	0,49	-5,48	5,97	-5,62	6,12	-	-	-5,60	6,10
<i>Candida albicans</i>	1,32	0,00	1,32	0,00	1,32	-	-	0,00	1,32
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,74	0,00	0,74	0,00	0,74	0,00	0,74	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-0,23	0,00	-0,23	0,00	-0,23	0,00	-0,23	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-0,20	0,00	-0,20	0,00	-0,20	0,00	-0,20	0,00	-0,20
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,46	0,00	0,46	0,00	0,46	0,00	0,46	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Kocuria rosea</i>	0,45	0,00	0,45	0,00	0,45	0,00	0,45	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	-0,09	0,00	-0,09	0,00	-0,09	0,00	-0,09	-	-
<i>Moraxella catharralis</i>	-0,36	0,00	-0,36	0,00	-0,36	0,00	-0,36	-	-
MRSA	-0,97	0,00	-0,97	0,00	-0,97	0,00	-0,97	-	-
MRSE	-0,97	0,00	-0,97	0,00	-0,97	0,00	-0,97	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	0,09	0,00	0,09	0,00	0,09	-	-	0,00	0,09
<i>Proteus vulgaris</i>	0,32	0,00	0,32	0,00	0,32	-	-	0,00	0,32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-0,15	0,00	-0,15	0,00	-0,15	0,00	-0,15	0,00	-0,15
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-1,09	0,00	-1,09	0,00	-1,09	0,00	-1,09	-	-
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	-0,46	0,00	-0,46	0,00	-0,46	0,00	-0,46	-	-
<i>Salmonella enterica sp. enterica</i>	-0,04	0,00	-0,04	0,00	-0,04	0,00	-0,04	0,00	-0,04
<i>Serratia marcescens</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	-	0,00	0,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	-0,92	0,00	-0,92	0,00	-0,92	0,00	-0,92	0,00	-0,92
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,31	0,00	0,31	0,00	0,31	0,00	0,31	-	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-0,11	0,00	-0,11	0,00	-0,11	0,00	-0,11	-	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-0,28	0,00	-0,28	0,00	-0,28	-	-	0,00	-0,28
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-0,56	0,00	-0,56	0,00	-0,56	-	-	0,00	-0,56
<i>Streptococcus pyogenes</i>	-5,18	0,00	-5,18	0,00	-5,18	-	-	0,00	-5,18
<i>Streptococcus salivarius</i>	0,32	0,00	0,32	0,00	0,32	-	-	0,00	0,32
VRE	0,11	0,00	0,11	0,00	0,11	0,00	0,11	-	-

-	Testování nebylo provedeno
MRSA	Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSE	Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus epidermidis</i>
VRE	Vankomycin rezistentní <i>Enterococcus faecalis</i>
F	Hodnota růstu u kontrolního zkušební vzorku $F = \lg C_t - \lg C_0$
G	Hodnota růstu u antibakteriálně upraveného zkušební vzorku $G = \lg T_t - \lg T_0$
A	Hodnota antibakteriálního účinku $A = F - G$
O HT	OKCEL H-T
O F	OKCEL F
O S	OKCEL S, v klasickém balení
O SV	OKCEL S, ve vakuovém balení

Hodnoty antimikrobiálních aktivit (A) vypočítaných dle normy ČSN EN ISO 20743 mají být v ideálním případě v rozmezí 2 až 3 (významná účinnost) nebo větší než 3 (silná účinnost).

Dle výsledků antimikrobiálních aktivit uvedených v tabulce č. 8 není tato norma vhodná pro všechny mikroorganismy. Při našem testování byl problém při inokulaci bakterií na antibakteriálně upravené zkušební vzorky, jelikož ihned po zaočkování byl mikroorganismus účinkem testovaného materiálu usmrcen.

Tento způsob testování zároveň nenavozuje stejné prostředí, jako se nachází v ranách *in vivo*.

Protože aritmetický průměr koncentrace bakterií (cfu/ml) zjištěný u antibakteriálně upravených zkušebních vzorků ihned po naočkování (T_0) i po kultivaci 24 h (T_t) měl hodnotu 0, považuje se dle normy ČSN EN ISO 20743 za průměr hodnota 1, tj. $\lg 1 = 0$.

Z toho důvodu vyšla hodnota růstu u antibakteriálně upraveného zkušebního vzorku (G) 0 a následně hodnota antibakteriálního účinku (A) menší než 2 či záporná. Příčinou je usmrcení bakterií ihned po naočkování.

Podle normy ČSN EN ISO 20743 byl nejlepší antimikrobiální účinek těchto materiálů sledován u kmene *Bacillus subtilis*, kde však došlo k potlačení růstu, až po inkubaci 24 h. U ostatních mikroorganismů došlo k potlačení růstu ihned po zaočkování, avšak hodnoty antimikrobiální účinnosti vycházejí nižší než u kmene *Bacillus subtilis*.

Vyhodnocení dle normy ČSN EN ISO 20743 není vhodné pro tento typ materiálů, proto jsme raději volili hodnocení dle publikace Mořková et al. (2018), kde byl antimikrobiální účinek hodnocen dle snížení počtu řádů, o které se snížila koncentrace mikroorganismů po inokulaci (viz tabulka č. 9).

3.1.5. Počet řádů

Počty řádů, o které se snížila koncentrace mikroorganismů, jsou uvedeny v tabulce č. 9.

Tabulka 9 - Výsledky absorpční metody (počet řádů)

Testovaný mikroorganismus	P ₀ (O HT)	P ₀ (O F)	P ₀ (O S)	P ₀ (O SV)	P ₁ (O HT)	P ₁ (O F)	P ₁ (O S)	P ₁ (O SV)
<i>Bacillus subtilis</i>	0	0	-	0	6	6	-	6
<i>Candida albicans</i>	5	5	-	5	6	6	-	6
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	5	5	-	6	6	6	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	7	7	7	-	7	7	7	-
<i>Escherichia coli</i>	6	6	6	6	6	6	6	6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5	5	5	-	6	6	6	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6	6	6	6	6	6	6
<i>Kocuria rosea</i>	5	5	5	-	6	6	6	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	6	6	6	-	5	5	5	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	5	5	5	-	5	5	5	-
MRSA	6	6	6	-	5	5	5	-
MRSE	6	6	6	-	5	5	5	-
<i>Proteus mirabilis</i>	5	5	-	5	6	6	-	6
<i>Proteus vulgaris</i>	5	5	-	5	5	5	-	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	6	6	6	6	6	6	6
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	7	7	7	-	6	6	6	-
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	6	6	6	-	5	5	5	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	6	6	6	6	6	6	6	6
<i>Serratia marcescens</i>	6	6	-	6	6	6	-	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	6	6	6	5	5	5	5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	5	5	-	6	6	6	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	5	5	5	-	5	5	5	5
<i>Streptococcus agalactiae</i>	5	5	-	5	5	5	-	5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5	5	-	5	4	4	-	4
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5	5	-	5	0	0	-	0
<i>Streptococcus salivarius</i>	5	5	-	5	6	6	-	6
VRE	6	6	6	-	6	6	6	-

-	Testování nebylo provedeno
MRSA	Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSE	Methicilin rezistentní <i>Staphylococcus epidermidis</i>
VRE	Vankomycin rezistentní <i>Enterococcus faecalis</i>
P ₀	Hodnota rozdílu v počtu řádů, o které se snížila koncentrace bakterií (cfu/ml) u antibakteriálně upraveného zkušební vzorku oproti kontrolnímu zkušebnímu vzorku ihned po naočkování
P ₁	Hodnota rozdílu v počtu řádů, o které se snížila koncentrace bakterií (cfu/ml) u antibakteriálně upraveného zkušební vzorku oproti kontrolnímu zkušebnímu vzorku po kultivaci 24 h
O HT	OKCEL H-T
O F	OKCEL F
O S	OKCEL S, v klasickém balení
O SV	OKCEL S, ve vakuovém balení

Všechny tři druhy OKCEL (OKCEL H-T, OKCEL F a OKCEL S klasicky i vakuově balený) vykazovaly inhibiční účinky u všech testovaných bakterií kromě sporotvorného kmene *Bacillus subtilis* ihned po naočkování stejně jako u studie autorů Mořková et al. (2018).

Nejlepší antimikrobiální účinek byl u kmenů *Enterococcus faecalis* a *Pseudomonas fluorescens*, kde došlo ke snížení o 7 řádů. U kmenů *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, MRSA, MRSE, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Salmonella enterica* sp. *enterica*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* a VRE o 6 řádů. U kmenů *Candida albicans*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Kocuria rosea*, *Moraxella catarrhalis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* a *Streptococcus salivarius* o 5 řádů.

OKCEL vykazoval inhibiční účinky u všech testovaných bakterií včetně kmene *Bacillus subtilis* po kultivaci 24 h.

Oproti výsledkům získaných diluční metodou u OKCEL H-D (Mořková et al., 2018) došlo k inhibici i u kmene *Enterococcus faecalis*, a to o 7 řádů.

Studie se shodují v tom, že u obou druhů krytí nedošlo k okamžité inhibici *Bacillus subtilis*. *Bacillus subtilis* je sporotvorná bakterie, tudíž oproti ostatním bakteriím vysoce odolná k fyzikálním a chemickým vlivům prostředí.

Nebyly zaznamenány rozdíly v účinnosti OKCEL H-T, OKCEL F a OKCEL S. Zároveň nebyly zaznamenány rozdíly v účinnosti u klasicky baleného a vakuově baleného materiálu OKCEL S.

3.2. Difúzní metoda

Difúzní metodou bylo u OKCEL S testováno 5 mikroorganismů (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa*), u OKCEL F byly testovány 2 mikroorganismy (*Staphylococcus aureus* a *Candida albicans*).

Difúzní metoda byla prováděna na žádost výrobce z důvodu rozdílnosti výsledků při předchozím testování. U kmenů *Candida albicans* a *Staphylococcus aureus* byla použita stejná šarže obou výrobků (vzorky OKCEL S byly vyrobeny z dané šarže vzorků OKCEL F jejich mechanickou úpravou).

Šířky inhibičních zón a účinky u jednotlivých mikroorganismů a testovaných materiálů jsou uvedeny v tabulce č. 10.

Tabulka 10 - Výsledky difúzní metody (inhibiční zóna, účinek)

Testovaný mikroorganismus	Inhibiční zóna, účinek	
	OKCEL S	OKCEL F
<i>Candida albicans</i>	0 mm, bakteriostatický	0 mm, bakteriostatický
<i>Escherichia coli</i>	1,5 mm, bakteriostatický	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2 mm, bakteriostatický	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2 mm, bakteriostatický	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 mm, bakteriostatický	1 mm, bakteriostatický

- Testování nebylo provedeno

OKCEL S

K vytvoření inhibiční zóny došlo u všech mikroorganismů kromě kvasinky *Candida albicans*. Principem účinku testovaného materiálu je nízké pH, kvasinky však v kyselém prostředí přežívají.

U kmenů *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa* se inhibiční zóna pohybovala od 1 do 2 mm. U žádné z bakterií nebyl zaznamenán nárůst v oblasti pod vzorkem testovaného materiálu.

Oproti výsledkům získaných difúzní metodou u OKCEL H-D (Mořková et al., 2018) došlo k vytvoření inhibiční zóny i u kmene *Staphylococcus aureus* (1 mm). U kmene *Escherichia coli* byla šířka inhibiční zóny prakticky stejná, u kmene *Klebsiella pneumoniae* o 3 mm menší a u kmene *Pseudomonas aeruginosa* o 1 mm větší.

Studie se shodují v tom, že u obou druhů krytí nedošlo k žádnému viditelnému nárůstu v oblasti pod vzorkem testovaného materiálu, proto byl vždy proveden stěr z plochy po odstranění materiálu pro zjištění baktericidního nebo bakteriostatického účinku materiálu.

U všech testovaných mikroorganismů (*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa*) došlo po vyočkování stěru z oblasti pod vzorkem testovaného materiálu k nárůstu kolonií.

Účinek OKCEL S na tyto mikroorganismy byl tudíž vyhodnocen jako bakteriostatický, nikoliv baktericidní, jako u výsledků získaných difúzní metodou u OKCEL H-D (Mořková et al., 2018), kde k nárůstu nedošlo.

OKCEL F

U bakterie *Staphylococcus aureus* došlo k vytvoření inhibiční zóny o šířce 1 mm, u kvasinky *Candida albicans* se inhibiční zóna nevytvořila. Principem účinku testovaného materiálu je nízké pH, kvasinky však v kyselém prostředí přežívají.

U žádné z bakterií nebyl zaznamenán nárůst v oblasti pod vzorkem testovaného materiálu.

Oproti výsledkům získaných difúzní metodou u OKCEL H-D (Mořková et al., 2018) došlo k vytvoření inhibiční zóny i u kmene *Staphylococcus aureus* (1 mm).

Studie se shodují v tom, že u obou druhů krytí nedošlo k žádnému viditelnému nárůstu v oblasti pod vzorkem testovaného materiálu, proto byl vždy proveden stěr z plochy po odstranění materiálu pro zjištění baktericidního nebo bakteriostatického účinku materiálu.

U obou testovaných mikroorganismů (*Staphylococcus aureus* a *Candida albicans*) došlo po vyočkování stěru z oblasti pod vzorkem testovaného materiálu k nárůstu kolonií.

Účinek OKCEL F na tyto mikroorganismy byl tudíž vyhodnocen jako bakteriostatický, nikoliv baktericidní, jako u výsledků získaných difúzní metodou u OKCEL H-D (Mořková et al., 2018), kde k nárůstu nedošlo.

Odlišnosti v účinnosti jednotlivých materiálů (OKCEL S a OKCEL F oproti OKCEL H-D) mohou spočívat v jejich různé mechanické úpravě. Rozdíly mezi účinky působení budou dále sledovány v dalších studiích.

4. ZÁVĚR

Ověřovali jsme antimikrobiální aktivitu krycích a obvazových materiálů z oxidované celulózy, konkrétně výrobků OKCEL H-T, OKCEL F a OKCEL S (klasičky a vakuově baleného) společnosti Synthesia, a.s. Antimikrobiální účinky těchto materiálů jsme testovali u celkem 27 mikroorganismů.

Testované mikroorganismy zahrnovaly bakterie grampozitivní (*Kocuria rosea*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* a *Streptococcus salivarius*) i gramnegativní (*Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Moraxella catarrhalis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas stutzeri*, *Salmonella enterica* sp. *enterica* a *Serratia marcescens*) včetně kmenů rezistentních na některá antibiotika (methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*, methicilin rezistentní *Staphylococcus epidermidis* a vankomycin rezistentní *Enterococcus faecalis*). Do testování byla zahrnuta taktéž kvasinka *Candida albicans* a sporulující bakterie *Bacillus subtilis*.

Absorpční metoda byla provedena dle platné normy ČSN EN ISO 20743 u všech 27 mikroorganismů. Zároveň byly testovány také kmeny *Arcanobacterium haemolyticum* a *Corynebacterium xerosis*, které však byly z testování po několika neúspěšných pokusech vyřazeny. Až po dalším testování a provádění různých modifikací platné normy ČSN EN ISO 20743 bylo zjištěno, že tyto bakterie nepřežijí inkubaci v neutralizačním roztoku po dobu 5 minut.

Při použití absorpční metody nebylo vyhodnocení antimikrobiálních aktivit podle normy ČSN EN ISO 20743 vhodné, jelikož byla většina testovaných mikroorganismů usmrcena ihned po zaočkování na testovaný materiál.

Podle normy ČSN EN ISO 20743 byl nejlepší antimikrobiální účinek těchto materiálů sledován u kmene *Bacillus subtilis*, kde však došlo k potlačení růstu, až po inkubaci 24 h. U ostatních mikroorganismů došlo k potlačení růstu ihned po zaočkování, avšak hodnoty antimikrobiální účinnosti vycházejí nižší než u kmene *Bacillus subtilis*.

Při použití absorpční metody nebylo vyhodnocení antimikrobiálních aktivit podle normy ČSN EN ISO 20743 pro tento typ materiálů vhodné, jelikož byla většina testovaných mikroorganismů usmrcena ihned po zaočkování na testovaný materiál.

Z toho důvodu bylo zvoleno vyhodnocení dle snížení počtu řádů po inkubaci na antibakteriálně upravených zkušebních vzorcích oproti kontrolním zkušebním vzorkům.

Všechny tři druhy OKCEL (OKCEL H-T, OKCEL F a OKCEL S klasicky i vakuově balený) vykazovaly inhibiční účinky u všech testovaných bakterií kromě sporotvorného kmene *Bacillus subtilis* ihned po naočkování.

Nejlepší antimikrobiální účinek byl u kmenů *Enterococcus faecalis* a *Pseudomonas fluorescens*, kde došlo ke snížení o 7 řádů. U 11 kmenů (včetně rezistentních kmenů MRSA, MRSE a VRE) došlo ke snížení o 6 řádů. U 13 kmenů (včetně kvasinky *Candida albicans*) došlo ke snížení o 5 řádů.

Po 24 h kultivaci vykazoval OKCEL inhibiční účinky u všech testovaných bakterií včetně kmene *Bacillus subtilis*. Nebyly zaznamenány rozdíly v účinnosti OKCEL H-T, OKCEL F a OKCEL S ani v účinnosti u klasicky baleného a vakuově baleného materiálu OKCEL S. Neprokázaly se tedy rozdíly v mechanické úpravě oxidované celulózy. Mechanická úprava tudíž nemá vliv na antimikrobiální účinnost vzorků.

Difúzní metoda byla provedena dle platné normy EUCAST u 5 mikroorganismů zvolených výrobcem. Při použití difúzní metody došlo k vytvoření inhibiční zóny u bakterií *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* u obou druhů OKCEL (OKCEL F, OKCEL S). U kmene *Candida albicans* k inhibici nedošlo. Principem účinku testovaného materiálu je nízké pH, kvasinky však v kyselém prostředí přežívají.

U žádné z bakterií nebyl zaznamenán viditelný nárůst v oblasti pod vzorkem testovaného materiálu. Po vyočkování stěru z plochy v oblasti pod vzorkem testovaného materiálu došlo k nárůstu kolonií, účinek obou testovaných materiálů byl tedy vyhodnocen jako bakteriostatický.

Výsledky studie ukazují, že materiály na bázi oxidované celulózy mají významné antimikrobiální účinky na širokou škálu bakterií, méně účinné jsou na kvasinky a sporotvorné bakterie.

V budoucnu by mohlo být přínosné otestovat účinky těchto materiálů také na bakterie anaerobní. Zajímavá by také mohla být kombinace oxidované celulózy s antiseptiky či jinými látkami zlepšujícími hojení rány (např. kyselinou hyaluronovou), případně využití oxidované celulózy ve tkáňovém inženýrství (náhrady kůže při popáleninách, nosiče kolagenu a fibroblastů nebo opora pro růst kmenových buněk).

5. POUŽITÁ LITERATURA

ASGHARI, S., LOGSETTY, S. a LIU, S. Imparting commercial Antimicrobial dressings with low-adherence to burn wounds. *Burns*. 2016. Vol. 42. Issue 4. Pp 877-883. DOI: 10.1016/j.burns.2016.01.005.

AYELLO, E., CARVILLE, K., FLETCHER, J., KEAST, D., LEAPER, D., LINDHOLM, C., MARTÍNEZ, J.L.L., MAVANINI, S., MCBAIN, A., MOORE, Z. OPASANON, S. a PINA, E. International consensus. *Appropriate use of silver dressings in wounds*. An expert working group consensus. [online] London: Wounds International, 2012. [cit. 2018-04-22] Dostupné z: www.woundinternational.com.

BAČÁKOVÁ, L., NOVOTNÁ K. a PAŘÍZEK, M. Polysaccharides as Cell Carriers for Tissue Engineering: the Use of Cellulose in Vascular Wall Reconstruction. *Physiological Research*. 2014. Vol. 63. Suppl. 1. Pp S29-47. ISSN 1802-9973.

BARRIGA, S. 2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl (TEMPO). *Synlett*. 2001. Vol. 2001. Issue 4. Pp 563. DOI: 10.1055/s-2001-12332.

BASSETTO, F., VINDIGNI, V., SCARPA, C., BOTTI, C. a BOTTI, G. Use of Oxidized Regenerated Cellulose to Stop Bleeding After a Facelift Procedure. *Aesthetic Plastic Surgery*. 2008. Vol. 32. Issue 5. Pp 807-809. DOI: 10.1007/s00266-008-9203-1.

BITTNER, L., TITĚRA, D., URBAN, M., GRILL, R., HERÁČEK, J., NOVOTNÝ, T. a OTAVA, Z. Použití medu při léčbě infikovaných ran. *Urologie pro praxi*. 2006. Vol. 7. Issue 6. Pp 274-275. ISSN 1803-5299.

BOWLER, P.G., DUERDEN, B.I. a ARMSTRONG, D.G. Wound microbiology and Associated approaches to wound management. *Clinical microbiology reviews*. 2001. Vol. 14. Issue 2. Pp 245-265. DOI: 10.1128/CMR.14.2.244-269.2001.

BRAUNWARTH, H. a BRILL, F.H.H. Antimicrobial efficacy of modern wound dressings: Oligodynamic bactericidal versus hydrophobic adsorption effect. *Wound Medicine*. 2014. Vol. 5. Pp 16-20. DOI: 10.1016/j.wndm.2014.04.003.

COSERI, S., BILIUTA, G., SIMIONESCU, B.C., STANA-KLEINSCHKEK, K., RIBITSCH, V. a HARABAGIU, V. Oxidized cellulose – Survey of the most recent achievements. *Carbohydrate polymers*. 2013. Vol. 93. Issue 1. Pp 207-215. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.03.086.

CZAJA, W., KRYSZYNOWICZ, A., BIELECKI, S. a BROWN, M.R. Jr. Microbial cellulose – the natural power to heal wounds. *Biomaterials*. 2006. Vol. 27. Issue 2. Pp 145-151. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.07.035.

ČSN EN ISO 20743, *Textilie – Zjišťování antibakteriálního účinku textilních výrobků*. Červenec 2013. Praha: Český normalizační institut.

DRAGOSTIN, O.M., SAMAL, S.K., DASH, M., LUPASCU, F., PÂNZARIU, A., TUCHILUS, C., GHETU, N., DANCIU, M., DUBRUEL, P., PIEPTU, D., VASILE, C., TATIA, R. a PROFIRE, L. New Antimicrobial Chitosan derivatives for wound dressing applications. *Carbohydrate polymers*. 2016. Vol. 141. Pp 28-40. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.12.078.

EUCAST. *Disková difúzní metoda pro vyšetření citlivosti k antibiotikům*. Verze 6.0. Leden 2017. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/atb/EUCAST/Diskova_metoda/EUCAST_Diskova_difuze_Manual_v_6.0.pdf.

FONDER, M.A., LAZARUS, G.S., COWAN, D.A., ARONSON-COOK B., KOHLI, A.R. a MAMELAK, A.J. Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2008. Vol. 58. Issue 2. Pp 185-206. DOI: 10.1016/j.jaad.2007.08.048.

FRATZL, P. Cellulose nad collagen: from fibres to tissues. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. 2003. Vol. 8. Issue 1. Pp 32-39. DOI: 10.1016/S1359-0294(03)00011-6.

GAJZIOK, J. Lokální hemostatika. *Remedia*. 2010. Vol. 20. Issue 3. Pp 185-190. ISSN 0862-8947.

HALSTEAD, F.D., RAUF, M., BAMFORD, A., WEARN, C.M., BISHOP, J.R.B., BURT, R., FRAISE, A.P., MOIEMEN, N.S., OPPENHEIM, B.A. a WEBBER, M.A. Antimicrobial dressings: Comparison of the ability of a panel of dressings to prevent biofilm formation by key burn wound pathogens. *Burns*. 2015. Vol. 41. Issue 8. Pp 1683-1694. DOI: 10.1016/j.burns.2015.06.005.

HEJLOVÁ, V. a MILICHOVSKÝ, M. Oxidized cellulose with different carboxyl content: Structure and Properties before and after beating. *Physics Procedia*. 2013. Vol. 44. Pp 256-261. DOI: 10.1016/j.phpro.2013.04.031.

Hojení ran: *Hojení-ran.cz: Stránky pro širokou veřejnost* [online]. Praha: Meditorial, 2018 [cit. 2018-01-31]. Dostupné z: <https://www.hojeni-ran.cz/>

HUTCHINSON, R.W., GEORGE, K., JOHNS, D., CRAVEN, L., ZHANG, G. a SHNODA, P. Hemostatic efficacy and tissue reaction of oxidized regenerated cellulose hemostats. *Cellulose*. 2013. Vol. 20. Issue 1. Pp 537-545. DOI: 10.1007/s10570-012-9828-8.

IP, M. *Advanced Wound Repair Therapies: Antimicrobial dressings*. Woodhead Publishing. 2011. Pp 416-449. ISBN: 978-1-84569-700-6.

JONES, V., GREY, J.E. a HARDING, K.G. ABC of wound healing – Wound dressings. *British medical journal*. 2006. Vol. 332. Issue 7544. Pp 777-780. DOI: 10.1136/bmj.332.7544.777.

KAMEL, S., ALI, N., JAHANGIR, K., SHAH, S.M. a EL-GENDY, A.A. Pharmaceutical significance of cellulose: A review. *eXPRESS Polymer Letters*. 2008. Vol. 2. Issue 11. Pp 758-778. DOI: 10.3144/expresspolymlett.2008.90.

LOVECKÁ, Simona (Synthesia, a.s.). *Charakteristika OKCELu*. [online]. 24.4.2018 8:46; [cit. 2018-04-24]. Osobní komunikace.

Manuka - Balmín košťatý (Leptospermum scoparium J.R. Forst & G. Forst) [online]. Pantůček J., 2009 [cit. 2018-04-10]. Dostupné z: <https://www.topvet.cz/herbar/manuka-balbin-kostaty>
MASCI, E., SANTOLERI, L., BELLONI, F., BOTTERO, L., STEFANINI, P., FAILLACE, G., BERTANI, G., MONTINARO, C., MANCINI, L. a LONGONI, M. Topical hemostatic

agents in surgical practice. *Transfusion and Apheresis Science*. 2011. Vol. 45. Issue 3. Pp 305-311. DOI: 10.1016/j.transci.2011.10.013.

MOGOȘANU, G.D. a GRUMEZEȘCU, A.M. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014. Vol. 463. Issue 2. Pp 127-136. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.12.015.

MOŤKOVÁ, P., BROŽKOVÁ, I., VYTRÁSOVÁ, J. a KUKLA, R. Antimicrobial effect of OKCEL® H-D prepared from oxidized cellulose. *Folia Microbiol.* 2018. Vol. 63. Issue 1. Pp 57-62. DOI: 10.1007/s12223-017-0534-7.

NOVOTNÁ, K., HAVELKA, P., SOPUCH, T., KOLÁŘOVÁ, K., VOSMANSKÁ, V., LISÁ, V., SVORČÍK, V. a BAČÁKOVÁ, L. Cellulose-based materials as scaffolds for tissue engineering. *Cellulose*. 2013. Vol. 20. Issue 5. Pp 2263-2278. DOI: 10.1007/s10570-013-0006-4.

OKCEL – oxidovaná vstřebatelná celulóza [online]. Synthesia, 2015 [cit. 2018-01-31]. Dostupné z: <http://www.okcel.eu/cze>

PERCIVAL, S.L., BOWLER, P.G. a RUSSELL, D. Bacterial resistance to silver in wound care. *Journal of Hospital Infection*. 2005. Vol. 60. Issue 1. Pp 1-7. DOI: 10.1016/j.jhin.2004.11.014.

PEREZ, D.S., MONTANARI, S. a VIGNON, M.R. TEMPO-Mediated Oxidation of Cellulose III. *Biomacromolecules*. 2003. Vol. 4. Issue 5. Pp 1417-1425. DOI: 10.1021/bm034144s.

QIN, Y. *Advanced Textiles for Wound Care: Antimicrobial textile dressings in managing wound infection*. Woodhead Publishing. 2009. Pp 179-197. ISBN: 978-1-84569-271-1.

RANDALL, C.P., GUPTA, A., JACKSON, N., BUSSE, D. a O'NEILL, A.J. Silver resistance in Gram-negative bacteria: a dissection of endogenous and exogenous mechanisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2015. Vol. 70. Issue 4. Pp 1037-1046. DOI: 10.1093/jac/dku523.

SAITO, T., OKITA Y., NGE, T.T., SUGIYAMA J. a IGOSAI, A. TEMPO-mediated oxidation of native cellulose: Microscopic analysis of fibrous fractions in the oxidized products.

Carbohydrate Polymers. 2006. Vol. 65. Issue 4. Pp 435-440.
DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.01.034.

SAITO, T. a ISOGAI, A. TEMPO-Mediated Oxidation of Native Cellulose. The Effect of Oxidation Conditions on Chemical and Crystal Structures of the Water-Insoluble Fractions. *Biomacromolecules*. 2004. Vol. 5. Issue 5. Pp 1983-1989. DOI: 10.1021/bm0497769.

SCHONAUER, C., TESSITORE, E., BARBAGALLO, G., ALBANESE, V. a MORACI, A. The use of local agents: bone wax, gelatin, collagen, oxidized cellulose. *European Spine Journal*. 2004. Vol. 13. Pp 89-96. DOI: 10.1007/s00586-004-0727-z.

SETLOW, P. Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *Journal of Applied Microbiology*. 2006. Vol. 101. Issue 3. Pp 514-525. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2005.02736.x.

SIMÕES, D., MIGUEL, S.P., RIBEIRO, M.P., COUTINHO, P., MENDONÇA, A. a CORREIA, I.J. Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2018. Vol. 127. Pp 130-141. DOI: 10.1016/j.ejpb.2018.02.022.

SOPUCH, T., DRAHOVZALOVÁ, D., RÝDL, J., BUREŠ, I., MILICHOVSKÝ, M., VYTRÁSOVÁ, J., MOŤKOVÁ, P., ŠVORČÍK, V., PODLAHA, J., HORÁKOVÁ, M., MASTEIKOVÁ, R., VINKLÁRKOVÁ, L. a SUCHÝ, P. Celulóзовé materiály v ošetřování ran. *Hojení ran*. 2013. Vol. 7. Issue 2. Pp 14-20. ISSN 1802-6400.

TAHIRI, C. a VIGNON, M.R. TEMPO-oxidation of cellulose: Synthesis and Characterization of polyglucuronans. *Cellulose*. 2000. Vol. 7. Issue 2. Pp 177-188. DOI: 10.1023/A:1009276009711.

VOSMANSKÁ, V., KOLÁŘOVÁ, K., PIŠLOVÁ, M. a ŠVORČÍK, V. Chemické a fyzikální modifikace biomateriálů na bázi celulosy. *Chemické listy*. 2017. Vol. 111. Issue 10. ISSN 1213-7103.

VOWDEN, K. a VOWDEN, P. Wound dressings: principles and practice. *Surgery*. 2014. Vol. 32. Issue 9. Pp 462-467. DOI: 10.1016/j.mpsur.2014.07.001.

VYTRÁSOVÁ, J., TYLŠOVÁ, A., BROŽKOVÁ, I., ČERVENKA, L., PEJCHALOVÁ, M. a HAVELKA, P. Antimicrobial effect of oxidized cellulose salts. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*. 2008. Vol. 35. Issue 11. Pp 1247-1252. DOI: 10.1007/s10295-008-0421-y.

YANG, J. a LI, J. Self-assembled cellulose materials for biomedicine: A review. *Carbohydrate Polymers*. 2018. Vol. 181. Pp 264-274. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.10.067.

ZIMNITSKY, D.S., YURKSHTOVICH, T.L. a BYCHKOVSKY, P.M. Synthesis and Characterization of Oxidized Cellulose. *Journal of polymer science part a-polymer chemistry*. 2004. Vol. 42. Issue 19. Pp 4785-4791. DOI: 10.1002/pola.20302.

6. ZDROJE OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Schéma pro volbu vhodného obvazového materiálu - VOWDEN, K. a VOWDEN, P. *Wound dressings: principles and practice*. Surgery. Vol. 32. Issue 9. September 2014. Pp 462-467. DOI: 10.1016/j.mpsur.2014.07.001. [cit. 2018-03-08]

Obrázek 2 - Působení antimikrobiálního obvazu na ránu - SIMÕES D., MIGUEL S. P., RIBEIRO M. P., COUTINHO P., MENDONÇA, A. a CORREIA, I. J. *Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. - European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. Vol. 127. February 2018. Pp 130-141. DOI: 10.1016/j.ejpb.2018.02.022. [cit. 2018-03-06]

Obrázek 3 - Balmín košťatý (Manuka) - *Leptospermum scoparium* - Dostupné z: <https://davesgarden.com/guides/pf/showimage/31124> [cit. 2018-03-06]

Obrázek 4 - Chemická struktura chitinu a chitosanu - YOUNES, I. a RINAUDO, M. *Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications*. Vol. 13. Issue 3. March 2015. Pp 1133-1174. DOI: 10.3390/md13031133. [cit. 2018-03-08]

Obrázek 5 - Struktura celulózy s naznačenými vodíkovými vazbami - VOSMANSKÁ, V., KOLÁŘOVÁ, K., PIŠLOVÁ, M. a ŠVORČÍK, V. *Chemické a fyzikální modifikace biomateriálů na bázi celulózy*. Chemické listy. Vol. 111. Issue 10. August 2017. ISSN 1213-7103. [cit. 2018-03-19]

Obrázek 6 - Transformace celulózy do různých krystalických forem - KAMEL, S., ALI, N., JAHANGIR, K., SHAH, S. M. a EL-GENDY, A. A. *Pharmaceutical significance of cellulose: A review*. eXPRESS Polymer Letters. Vol. 2. Issue 11. 2008. Pp 758-778. DOI: 10.3144/expresspolymlett.2008.90. [cit. 2018-04-10]

Obrázek 7 - Karboxymethylace celulózy na uhlíku C6 - SOPUCH, T., DRAHOVZALOVÁ, D., RÝDL, J., BUREŠ, I., MILICHOVSKÝ, M., VYTRÁSOVÁ, J., MOŤKOVÁ, P., ŠVORČÍK, V., PODLAHA, J., HORÁKOVÁ, M., MASTEIKOVÁ, R., VINKLÁRKOVÁ, L. a SUCHÝ, P. *Celulóзовé materiály v ošetřování ran*. Hojení ran. Vol. 7. Issue 2. 2013. Pp 14-20. ISSN 1802-6400. [cit. 2018-01-31]

Obrázek 8 - Oxidace celulózy na uhlíku C6 - SOPUCH, T., DRAHOVZALOVÁ, D., RÝDL, J., BUREŠ, I., MILICHOVSKÝ, M., VYTRÁSOVÁ, J., MOŤKOVÁ, P., ŠVORČÍK, V., PODLAHA, J., HORÁKOVÁ, M., MASTEIKOVÁ, R., VINKLÁRKOVÁ, L. a SUCHÝ, P. *Celulózové materiály v ošetřování ran*. Hojení ran. Vol. 7. Issue 2. 2013. Pp 14-20. ISSN 1802-6400. [cit. 2018-01-31]

Obrázek 9 - Chemická struktura 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-N-oxylu (TEMPO) - Dostupné z: <https://www.mpbio.com/product.php?pid=02152681&country=56> [cit. 2018-03-22]

Obrázek 10 - Schéma TEMPO oxidace celulózy - SAITO T., OKITA Y., NGE, T. T., SUGIYAMA J. a IGOSAI, A. *TEMPO-mediated oxidation of native cellulose: Microscopic analysis of fibrous fractions in the oxidized products*. Carbohydrate Polymers. Vol. 65. Issue 4. September 2006. Pp 435-440. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.01.034. [cit. 2018-03-23]

Obrázek 11 - OKCEL Ca-L - SYNTHESIA - Dostupné z: <http://www.okcel.eu/cze/nabizene-formy-oxycelulozy/okcel-ca-l> [cit. 2018-01-31]

Obrázek 12 - OKCEL H-T - archiv autora, 2018

Obrázek 13 - OKCEL H-D - SYNTHESIA - Dostupné z: <http://www.okcel.eu/cze/nabizene-formy-oxycelulozy/okcel-h-d> [cit. 2018-01-31]

Obrázek 14 - OKCEL F - archiv autora, 2018

Obrázek 15 - OKCEL S - archiv autora, 2018