

Závěrečná zpráva projektu specifického výzkumu

zakázka č. 2111

Název projektu:

Vývoj metodiky testování hemokompatibility u zdravotnického materiálu se zaměřením na koagulaci krve

Specifikace řešitelského týmu:

Odpovědný řešitel:

Mgr. Martina Nalezinková

Další výzkumní pracovníci:

RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D.

Celková částka přidělené dotace: 117 700 Kč

Datum zahájení řešení projektu: 19. 2. 2019

Datum ukončení řešení projektu: 1. 2. 2020

Stručný popis postupu při řešení projektu:

Na začátku projektu byla zpracována přehledová rešerše ohledně problematiky vzniku trombóz. Následně byly testovány různé možnosti expozice krve zdravotnickému materiálu – statická, semistatická a cirkulační. Semistatická expozice byla provedena ve zkumavkách umístěných v třepačce inkubované na 37 °C, statické vzorky byly umístěny mimo pohyblivý nástavec. Pro cirkulační expozici byla vybrána Chandlerova smyčka, která zajišťuje inkubaci pomocí termostatu s vodou a cirkulace je simulována pomocí rotoru s upevněnými hadičkami. V hadičkách byl umístěn testovaný zdravotnický materiál a krev. Bylo proto nutné vybrat vyhovující hadičky, které jsou zhotoveny z vhodného materiálu neinteragujícím s krví, aby se předešlo falešně pozitivním výsledkům. Proto byly testovány různé typy hadiček od odlišných výrobců o rozličném průměru a délce. Po analýzách hadiček, byla zvolena nejvhodnější varianta a v těchto hadičkách byly následně testovány vybrané zdravotnické prostředky. Krev byla vystavena zdravotnickému prostředku po dobu 30 minut a následně byla z plné krve pomocí centrifugace získána plazma.

Veškeré vzorky plazmy byly zamrazeny a později testovány pomocí ELISA kitů na koagulační aktivační proteiny jako je komplex trombin-antitrombin (TAT), proteinový fragment uvolňovaný z protrombinu při tvorbě trombinu (F1.2) a proteinový fragment uvolňovaný z fibrinogenu při tvorbě fibrinu (FPA). Tyto výsledky slouží k odhadu množství trombinu a fibrinu, které odráží intenzitu

koagulační aktivity způsobené testovaným vzorkem. Bylo vyzkoušeno více typů ELISA kitů od odlišných výrobců.

Nejprve byly testy prováděny na potkaní krvi, později byli sehnáni lidscí dárce, aby měly výsledky co nejvíce vypovídající hodnotu pro humánní aplikaci. Následně byl proveden výzkum z hlediska vhodných antikoagulancií (heparin, citrát sodný, EDTA) pro dané analýzy s ohledem na požadovaný antikoagulant pro testy srážlivosti a zároveň pro stanovení proteinů daný výrobcí ELISA souprav.

Splnění cílů řešení a přínos projektu:

Byla vyvinuta metodika pro testování zdravotnických materiálů z hlediska vlivu na koagulaci krve. Především byla vyřešena zásadní otázka vhodné expozice, tedy styk testovaného zdravotnického prostředku s krví za co nejpřesnější simulace lidské cirkulace krve. Proto byla vybrána Chandlerova smyčka a po dlouhodobé analýze nejvhodnější hadička, ve které je umístěn testovaný prostředek a pomocí rotoru v ní cirkuluje lidská krev při 37 °C zajištěných vodou vyhřátou termostatem. Byly otestovány některé druhy zdravotnických prostředků (stenty, drátky, síťky) pomocí vytvořené metodiky a podle potřeb modifikovány postupy. Následně byly vyhodnoceny prozatímní získané výsledky. Dosavadní výsledky a metodiky byly prezentovány na dvou konferencích, jedné zahraniční a jedné tuzemské ve formě ústní prezentace. Navíc byla prezentována řešerše s problematikou vzniku trombóz formou posteru. Z dosavadních poznatků byl zpracováván článek *In vitro hemocompatibility testing of medical devices*, který vyšel v impaktovaném časopise *Thrombosis Research*.

Splnění kontrolovatelných výsledků řešení:

Prezentace: *Development of hemocompatibility testing methodology for medical material focused on blood coagulation*

- Swiss Proteomics Meeting, Montreux, 22. - 25. 5. 2019
- Zadáno v OBD, RIV

Prezentace: *Development of hemocompatibility testing methodology for medical material focused on blood coagulation*

- Konference Průmyslová toxikologie a ekotoxikologie 28. 5. - 30.5.2019, Kouty
- Zadáno v OBD, RIV

Poster: *Způsoby testování trombózy z hlediska hemokompatibility zdravotnických prostředků*

- Konference Průmyslová toxikologie a ekotoxikologie 28. 5. - 30.5.2019, Kouty
- Zadáno v OBD, RIV

Článek (hlavní autor): *In vitro hemokompatibility testing of medical devices*

- Impaktovaný časopis Thrombosis Research (Vol. 195, November 2020, p. 146-150)
- Kategorie: Hematology; Q2, IF 2.869; Journal ISSN: 0049-3848; Elsevier
- Databáze WoS (Jimp)
- Zadáno v OBD, RIV

Tab. 1 Sumář výstupů řešení projektu

Typ výstupu	Plán 1. rok	Plán 2. rok	Plán 3. rok	Poznámka
Hodnocené výstupy projektu				
Jimp (databáze WoS)		1		
Jsc (databáze Scopus)				
B (recenzovaná odborná kniha)				
C (kapitola v recenzované odborné knize)				
D (článek ve sborníku ve WoS, Scopus)				
P (patent)				
Počet výsledků		1		
Nehodnocené výstupy projektu				
Poster/prezentace na konferenci	3			
Počet obhájených dizertačních prací				
Počet obhájených diplomových prací				
Počet výsledků	3			

Přílohy:

- kopie publikačních výstupů,
- výpis z OBD – výstupy podpořené tímto projektem.

Datum:

Podpis odpovědného řešitele: