

Průběžná výroční zpráva projektu specifického výzkumu zakázka č. 2108

Název projektu:

Hodnocení interakce krevních elementů s povrchy zdravotnických materiálů pomocí
skenovací elektronové mikroskopie

Specifikace řešitelského týmu:

Odpovědný řešitel:

Mgr. Martina Nalezinková

Další výzkumní pracovníci:

RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D.

Celková částka přidělené dotace: 117 500 Kč

Stručný popis postupu při řešení projektu:

Projekt začal studiem používaných postupů zpracování a fixace krevních vzorků, které se využívají pro skenovací elektronovou mikroskopii (SEM). Vybrané vhodné postupy a jejich modifikace byly aplikovány na několika různých vzorcích zdravotnického materiálu vystaveného cirkulační expozici krve. Takto připravené vzorky byly analyzovány pomocí SEM. Po vyhodnocení výsledného stavu vzorku a stability krevních buněk byl vybrán vhodný postup a následně modifikován podle potřeb metody se zaměřením na možné zkrácení časů jednotlivých kroků fixace, sušení a případně pokovování.

V této fázi projektu aktuálně probíhá testování posledních typů fixace a opakování některých experimentů pro ověření dosažených pozorování. Výsledky budou následně porovnány a pro finální metodiku bude vybrán postup splňující zadané požadavky časové náročnosti, ale zároveň s dostatečně kvalitními parametry pozorování se zajištěním stability krevních buněk.

Testování probíhalo za využití krve lidských dárců, kteří byli před odběrem seznámeni s účelem využití krve a podepsali informovaný souhlas. Postup byl také schválen Etickou komisí UHK (stanovisko č. 9/2021). Odběry probíhaly vždy ráno na lačno do zkumavek s antikoagulanty. Neprodleně po odběru byla krev exponována testovanému prostředku za stanovených stálých podmínek. Zásadní bylo především dodržení teploty 37 ± 1 °C a délka expozice 30 – 60 minut. Po interakci testovaného materiálu s krví byla provedena fixace vzorku spolu s adherovanými krevními buňkami.

K fixaci biologického materiálu, potažmo krevních buněk, byl použit například formaldehyd, glutaraldehyd, různé druhy pufrů (PBS, kakodylát sodný apod.), vodný roztok oxidu osmičelého, odstupňovaná etanolová odvodňovací řada a aceton. Byly testovány různé modifikace a varianty ohledně využitých chemikálií, koncentrací i časů. K následnému vysoušení vzorku bylo v tomto

výzkumu vždy využito vysoušecího přístroje LEICA EM CPD 300, který zajišťuje pomalé a šetrné vysoušení vzorku pomocí kritického bodu CO₂.

Takto vysušené vzorky byly pokovovány v přístroji LEICA EM ACE 200. Tloušťka nanesené vrstvy byla během výzkumu testována tak, aby byla zvolena co nejvhodnější varianta s ohledem na kvalitu finálního pozorování v SEM. Další modifikací byl typ použitého kovu, který byl nanášen na vzorky. Byla použita platina, zlato a paladium. Výslednou nejvhodnější variantou bylo zvoleno difúzní pokovení platinou o tloušťce 6 nm.

Splnění cílů řešení a přínos projektu:

Cílem tohoto projektu bylo vytvoření vhodné metodiky zpracování a fixace vzorků zdravotnických materiálů s adherovanými krevními buňkami a jejich následné hodnocení pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Pomocí SEM byla analyzována aktivace trombocytů a leukocytů a tvorba fibrinových vláken. Díky těmto údajům jsme získali informace o trombogenicitě testovaných zdravotnických prostředků, což je podstatné pro jejich bezpečné vyžívání v lékařské praxi. Dalším cílem projektu bylo vytvoření co nejjednodušších postupů s využitím snadno dostupných a co nejméně toxických chemikálií. Proto byly testovány různé délky jednotlivých kroků fixace se snahou tyto kroky zkrátit, ale s ohledem na maximální citlivost této metodiky, jelikož jsou krevní buňky velmi náchylné na výkyvy podmínek prostředí a pro správné hodnocení je nutné zachovat jejich stav co nejlépe fyziologickému.

Aktuálně probíhá testování posledních typů fixace a opakování některých experimentů pro ověření dosažených pozorování. Výsledky budou následně porovnány a pro finální metodiku bude vybrán postup splňující zadané požadavky. Tyto výsledky budou spolu s vytvořenou metodikou publikovány v impaktovaném časopise.

Splnění kontrolovatelných výsledky řešení:

Publikace v databázi WoS nebo Scopus je plánována do druhého roku řešení projektu (tedy 2022). Plánovaný časopis je v Q1-Q2, po schválení bude zadán do OBD s vazbou na RIV.

Tab. 1 Sumář výstupů řešení projektu

Typ výstupu	Plán	Skutečnost	Poznámka
Jimp (databáze WoS)	1 (2. rok)	0 (1. rok)	Probíhá zpracování vzorků a výsledků
Jsc (databáze Scopus)			
B (recenzovaná odborná kniha)			
C (kapitola v recenzované odborné knize)			
D (článek ve sborníku ve WoS, Scopus)			
P (patent)			
Počet obhájených dizertačních prací			
Počet obhájených diplomových prací			
Počet výsledků	1	0	

Výsledek čerpání rozpočtu:

- a) **Spotřeba materiálu** (položka dle IS Magion č. 501):
materiálové náklady (výdaje na pořízení drobného dlouhodobého hmotného majetku – pořizovací cena do 40 tis. Kč vč. DPH, nehmotného majetku – software – pořizovací cena do 60 tis. Kč, kancelářských potřeb, ostatního materiálu) a jejich stručné zdůvodnění;

Materiálové náklady (nutno soutěžit v rámci DNS)	Stručné zdůvodnění nákupu	Přesná specifikace	Cena včetně DPH (Kč)
-	-	-	-

Spotřební náklady (spotřební a kancelářské potřeby)	Stručné zdůvodnění nákupu	Cena včetně DPH (Kč)
Chemikálie (glutaraldehydy, paraformaldehyd, oxid osmičelý atd.)	Zpracování a fixace vzorků pro SEM	18 656
Materiál pro odběry krve (vakuové zkumavky, náplasti, jehly atd.)	Sterilní odběry krve dárců	7 892
Spotřební plast (zkumavky, špičky atd.)	Zpracování a uchování vzorků	37 305
Speciální reagentie pro měření koncentrace	Měření D-dimeru v plazmě	14 956
Laboratorní ochranné pomůcky	Bezpečnost práce v laboratoři	1 849
Kancelářské potřeby	Kancelářské potřeby pro zápis výsledků	1 479

- b) **Cestovné** (položka dle IS Magion č. 512):
cestovné zaměstnanců a jeho stručné zdůvodnění;

Titul, jméno a příjmení zaměstnanec	Ubytování (cca Kč)	Cestovné (cca Kč)	Stravné (cca Kč)	Celkem (Kč)	(Název, místo a datum konání)
-	-	-	-	-	-

- c) **Ostatní služby** (položka dle IS Magion č. 518):
náklady nebo výdaje na služby a jejich stručné zdůvodnění (do služeb nemohou být zařazeny DPP, DPČ), konferenční poplatky;

Typ služby	Stručné zdůvodnění služby	Cena včetně DPH (Kč)
Korektura odborného textu a tisk posteru	Publikační výstupy	3 297

- d) **Mzdové náklady** (položka dle IS Magion č. 521):
osobní náklady a jejich stručné zdůvodnění;

Titul, jméno a příjmení	Odměna (Kč)	Zdůvodnění	Celkem (Kč)
-	-	-	-

- e) **Zákonné pojištění** (položka dle IS Magion č. 524):
odvody na zdravotní, sociální a úrazové pojištění = 34,42 % z mezd a odměn; tvorba sociálního fondu = 0,1 % mezd a odměn, dohody o provedení práce a dohody o pracovní činnosti;

Titul, jméno a příjmení	Odvody z odměn 34,52 % (Kč)	Celkem (Kč)
-	-	-

- f) **Jiné ostatní náklady** (položka dle IS Magion č. 549):
zejména **stipendia** a jejich stručné zdůvodnění (seznam studentů s uvedenými údaji – IČ studenta, obor, ročník a bankovní spojení). Výše stipendia by měla odrážet náročnost práce studenta (po odborné stránce i časovou náročnost), případně hradit část nezbytných cestovních nákladů. Dále pojištění apod.

Stipendium studentů za práci na řešení projektu

Stipendium za práci na projektu lze přiznat pouze studentům v prezenční formě studia. Pro doktorandy v max. výši 8 tis. Kč a pro studenty Mgr. studia max. 2 tis. Kč.

Titul, jméno a příjmení studenta/ky	Číslo studenta/ky	Typ studia (Mgr./PhD.) / ročník studia	Obor studia	Bankovní spojení	Stipendium (Kč)
Mgr. Martina Nalezinková	S18BI003DP	PhD./3.ročník	Aplikovaná biologie a ekologie	2529925053/0800	8 000

Cestovní stipendia studentů

Titul, jméno a příjmení studenta/ky	Konferenční poplatek (cca Kč)	Ubytování (cca Kč)	Cestovné (cca Kč)	Stravné (cca Kč)	Celkem (Kč)	Plánovaná konference (název, místo a datum konání)
Mgr. Martina Nalezinková	1 977	2 400	518	651	5 546	23. konference SVLZ (29. 9. – 1. 10. 2021, Olomouc)
Mgr. Martina Nalezinková	3 908	6 870	4 312	3 570	18 660	26th Interdisciplinary Toxicology Conference TOXCON (14. 9. – 17. 9. 2021, Srní; Slovensko)

Vysvětlivka k bodům d) a f):

Mzdy zaměstnanců (včetně povinných odvodů) na projektu musí být z celkových osobních nákladů projektu menší než 25 % a stipendia musí v osobních nákladech tvořit více než 75 %.

Tab. 2 Plán čerpání finančních prostředků v Kč

Položka magionu	Položka	Plán Kč	Žádost o změnu	Skutečnost	Poznámka
	Počet členů řešitelského týmu čerpajících mzdové prostředky	0			
	Počet studentů čerpajících mzdové prostředky	0			
501	Spotřeba materiálu DHIM	72 000	81 597	82 137	
512	Cestovné	-	-	-	
518	Ostatní služby	3 000	3 697	3 297	
521	Mzdové náklady	-	-	-	
524	Zákonné pojištění	-	-	-	
549	Jiné ostatní náklady (stipendia)	42 500	32 206	32 206	Změna konference(covid)
	Celkové náklady		117 640		

Přílohy:

a) výsledovka z ekonomického informačního systému Magion – vyúčtování dotace

Datum: 5.1.2022

Podpis odpovědného řešitele:

Výsledovka s očekávanými náklady
Pohyby za období 01 - 12 / 2021

Pracoviště: ***** Všechny vybrané analytiky
Činnost: **** Všechny vybrané analytiky
Fullcost: ***** Všechny vybrané analytiky
Zakázka: 2108 SV Interakce krevních elementů
Podzakázka: *** Všechny podzakázky

Účet	Název účtu	Má dáti	Dal	Zůstatek
501 003	Spotřeba materiálu kancelářské DU			
	Počáteční stav	0,00		
ZAV/0411/00430/21	28.07.2021	1 478,64	0,00 kancelářské potřeby	
501 003	Spotřeba materiálu kancelářské D	1 478,64	0,00	1 478,64
501 005	Spotřeba materiálu pracovní OP DU			
	Počáteční stav	0,00		
POK/0492/00071/21	25.11.2021	1 849,00	0,00 pracovní oděvy-Nalezinková Martina	
501 005	Spotřeba materiálu pracovní OP C	1 849,00	0,00	1 849,00
501 099	Spotřeba materiálu ostatní DU			
	Počáteční stav	0,00		
ZAV/0411/00207/21	19.04.2021	14 955,60	0,00 reagentie - chemikálie	
ZAV/0411/00265/21	14.05.2021	7 140,00	0,00 odběrové zkumavky- Nalezinková - sp.v. 2108	
ZAV/0411/00585/21	04.10.2021	26 078,40	0,00 materiál - stojánky, zkumavky, štítky, ...	
ZAV/0411/00642/21	22.10.2021	4 086,17	0,00 materiál - štítky, stojánky	
ZAV/0411/00664/21	02.11.2021	5 889,00	0,00 materiál pro odběr krve	
ZAV/0411/00665/21	02.11.2021	2 003,00	0,00 materiál pro odběr krve	
ZAV/0411/00677/21	02.11.2021	7 322,92	0,00 glutaraldehyd	
ZAV/0411/00691/21	05.11.2021	5 259,14	0,00 materiál + chemikálie	
ZAV/0411/00791/21	30.11.2021	6 074,20	0,00 chemikálie + lab. sklo - Nalezinková sp. v. 2108	
501 099	Spotřeba materiálu ostatní DU	78 808,43	0,00	78 808,43
501	Spotřeba materiálu	82 136,07	0,00	82 136,07
518 009	Služby - tisk, graf.práce DU			
	Počáteční stav	0,00		
ZAV/0411/00678/21	02.11.2021	296,45	0,00 tisk plakátů	
518 009	Služby - tisk, graf.práce DU	296,45	0,00	296,45
518 099	Ostatní služby			
	Počáteční stav	0,00		
ZAV/0411/00648/21	25.10.2021	3 000,00	0,00 korektura textu	
518 099	Ostatní služby	3 000,00	0,00	3 000,00
518	Ostatní služby	3 296,45	0,00	3 296,45
549 006	Jiné ostatní náklady mimoř.stip. DU			
	Počáteční stav	0,00		
BAN/0802/22862/21	09.09.2021	15 900,00	0,00 2 mimořádné stipendium	
BAN/0802/24858/21	05.10.2021	7 460,00	0,00 1 mimořádné stipendium	
BAN/0802/26805/21	19.10.2021	846,00	0,00 1 mimořádné stipendium	

Výsledovka s očekávanými náklady
Pohyby za období 01 - 12 / 2021

Pracoviště:	*****	Všechny vybrané analytiky
Činnost:	****	Všechny vybrané analytiky
Fullcost:	*****	Všechny vybrané analytiky
Zakázka:	2108	SV Interakce krevních elementů
Podzakázka:	***	Všechny podzakázky

Účet	Název účtu	Má dáti	Dal	Zůstatek
549 006	Jiné ostatní náklady mimoř.stip. DU			
	Počáteční stav	0,00		
	BAN/0802/27038/21 26.10.2021	8 000,00	0,00	3 mimořádné stipendium
549 006	Jiné ostatní náklady mimoř.stip. D	32 206,00	0,00	32 206,00
549	Jiné ostatní náklady	32 206,00	0,00	32 206,00
	Náklady celkem	117 638,52	0,00	117 638,52
691 006	Provoz.dotace věda MŠMTspecifický výzkum			
	Počáteční stav		0,00	
	MAN/0910/00007/21 15.02.2021	0,00	117 500,00	dotace MŠMT SVV
691 006	Provoz.dotace věda MŠMTspecif	0,00	117 500,00	117 500,00
691	Přijaté příis. mezi zúčt.mezi org.sl	0,00	117 500,00	117 500,00
	Výnosy celkem	0,00	117 500,00	117 500,00
	Účetní hospodářský výsledek:			-138,52
	Hospodářský výsledek včetně očekávaných nákladů:			-138,52

Účetní hospodářský výsledek za vybrané:	-138,52
Hospodářský výsledek včetně očekávaných nákladů za vybrané:	-138,52

Výběrová kritéria (omezení sestavy se řídí právy uživatele pkoutnik (uvedena v závorce))

Pracoviště: (04[47|90]*|0448*)

Činnost: (***|***)

Fullcost:

Zakázka: 2108 (*|1000)

Podzakázka:

Zahrnutý všechny předpokládané náklady