

**ANGELIKA KARPIŃSKA**

**Wydział Technologii Materiałowych  
i Wzornictwa Tekstyliów  
Politechnika Łódzka**

## **ANTYBAKTERYJNE I ANTYGRZYBICZE WŁÓKNA POLIAMIDOWE**

Promotor: **dr hab. inż. Jadwiga Bucheńska**

Recenzenci: **prof. dr hab. inż. Barbara Lipp-Symonowicz**  
**prof. dr hab. Adam Jaworski**

*Przedmiotem badań było otrzymanie antybakteryjnych i antygrzybiczych włókien i wyrobów poliamidowych (PA). Cel ten osiągnięto poprzez dwustopniową modyfikację wyrobów poliamidowych polegających na wprowadzeniu do makrocząsteczki PA grup karboksylowych metodą szczepienia monomerów winylowych, a następnie przyłączenie do tak modyfikowanych włókien odpowiedniego leku. Badania obejmowały: dobór parametrów reakcji szczepienia (I etap) oraz dobór stopnia szczepienia poli(kwasu akrylowego) lub poli(kwasu metakrylowego) na włóknach poliamidowych i stopnia napawania odpowiednim biocydem do wstępnie szczepionych wyrobów (II etap modyfikacji).*

*Przeprowadzono badania in vivo działania drażniącego oraz ocenę mikrobiologiczną in vitro antybakteryjnych i antygrzybiczych właściwości modyfikowanych włókien i wyrobów poliamidowych do zastosowań medycznych.*

### **1. WPROWADZENIE**

Włókna poliamidowe ze względu na szczególne właściwości mechaniczne zwłaszcza wytrzymałość tych włókien oraz sprężystość czy wyższą w stosunku do innych włókien syntetycznych higroskopijność znalazły zastosowanie w medycynie np. jako nici chirurgiczne czy elementy opatrunków (materiał nośny opatrunku) [1-3]. Szerokie zastosowanie włókien poliamidowych powstrzymuje jednak niewystarczająca biogodność, często są one ogniskiem powstawania infekcji.

Zatem bardzo ważnym zadaniem jest modyfikowanie powierzchni takich włókien w celu nadania im antybakteryjnych i antygrzybiczych właściwości.

Zakażenia szpitalne ran występują na trzecim miejscu pod względem częstości powikłań na jakie narażeni są pacjenci podczas hospitalizacji [4, 5]. Ze względu na trudność w leczeniu zakażonych ran, przewlekłość choroby oraz niebezpieczeństwo powikłań septycznych i zakażeń innych narządów – stanowią ważny problem zdrowotny i ekonomiczny. Uciążliwe objawy towarzyszące i ewentualne powikłania występujące podczas hospitalizacji bywają także przyczyną pogorszenia stanu psychicznego chorego i osłabienia motywacji powrotu do zdrowia.

Częste występowanie zakażeń bakteryjnych jako powikłań zabiegów operacyjnych jest jednym z najpoważniejszych powodów wprowadzenia profilaktyki antybiotykowej w okresie okołoperacyjnym. Profilaktyka ta pozwala bowiem w znacznym stopniu skrócić czas i koszty leczenia, przynieść ulgę i polepszyć ogólną kondycję chorego.

Antybiotyk należy stosować w odpowiednio wysokich dawkach, a czas jego stosowania powinien być odpowiednio długi. Bardzo istotne jest także aby lek był podawany odpowiednią drogą w zależności od umiejscowienia ogniska zakażenia. Wskazane jest zatem, aby leczenie zakażenia rany polegało głównie na leczeniu miejscowym [6, 7]. Celem terapii miejscowej, polegającej na oczyszczaniu rany, kontroli i leczeniu zakażenia, jest jej przygotowanie do procesów proliferacyjnych, a następnie stymulacji tych procesów i utrzymanie optymalnych warunków sprzyjających gojeniu.

Sytuacja ta narzuca zatem konieczność stosowania materiałów szwennych i opatrunkowych o właściwościach antybakteryjnych, często antygrzybiczych oraz enzymatycznych. Nowoczesne opatrunki dzięki swej strukturze i nasączeniu odpowiednimi preparatami umożliwiają oczyszczenie rany. Pomagają usunąć tkankę martwiczą, która opóźnia tworzenie się ziarniny, chronią ranę przed zanieczyszczeniem oraz zakażeniem. Opatrunki o właściwościach biocydowych ułatwią skuteczną ochronę skóry oraz stworzą optymalne warunki leczenia ostrych lub przewlekłych ran i gojenia ran chirurgicznych. Umożliwi to zmniejszenie dyskomfortu pacjentów oraz redukcję towarzyszących kosztów opieki medycznej.

Z drugiej strony ogólne stosowanie antybiotyków o szerokim spektrum działania oraz obniżona odporność chorego stają się jednymi z przyczyn wzrostu zachorowalności na choroby o etymologii grzybiczej [8,9]. Rozwojowi grzybicy powierzchniowych, zwłaszcza grzybicy stóp, sprzyja noszenie nieprzewiewnego obuwia z tworzyw syntetycznych oraz pończoch, rajstop i skarpet z włókien syntetycznych. Wyroby te powodują powstanie mikroklimatu o podwyższonej wilgotności – tzw. efektu parnikowego, który stwarza korzystne warunki bytowania grzybów.

Podjęto wiele prób sanityzacji różnych materiałów stosowanych do produkcji obuwia. Stosowane w praktyce wykończenia przeciwmikrobowe materiałów przeznaczonych na wewnętrzne elementy obuwia, np. AgIon [10] czy Sanitized AG, wpływają na rozwój saprofitycznych i chorobotwórczych drobnoustrojów podczas użytkowania obuwia, nie wspomagają natomiast leczenia istniejących już stanów chorobowych.

Podobnie podane w literaturze sposoby sanityzacji roztworem formaliny, chlorkiem etylenu, związkami miedzi, chinoksyzolem czy preparatami zawierającymi nanosrebro [11] mają liczne wady, są praktycznie uciążliwe do wykonania i nie wpływają na wynik leczenia zakażenia grzybiczego [12,13].

Wzrost liczby rozpoznawanych schorzeń grzybiczych wymaga poszukiwania skutecznych i mniej uciążliwych dla chorego metod ich miejscowego leczenia.

Stąd wynika potrzeba, aby wyroby (zarówno wyroby pończosznicze, jak i stosowane do produkcji obuwia, a w szczególności do wewnętrznych jego elementów) przydatne w leczeniu grzybic zawierały związki skuteczne w zwalczaniu grzybów chorobotwórczych.

Z powyższych rozważań wynika, że otrzymanie tekstyliów o właściwościach antybakteryjnych i antygrzybiczych w znacznym stopniu może przyczynić się do rozwiązania przytoczonych wyżej problemów.

## **2. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA**

### **2.1. Cel badań**

Przedmiotem rozprawy doktorskiej było opracowanie metody otrzymania:

- 1) włókien i dzianin poliamidowych o właściwościach antybakteryjnych i enzymatycznych z przeznaczeniem na opatrunki do trudno gojących się ran,
- 2) włókien i wyrobów poliamidowych o właściwościach antygrzybiczych.

Antybakteryjne oraz wspomagające proces leczenia ran właściwości włókien PA mogą być wykorzystane przy projektowaniu opatrunków, antygrzybiczne natomiast przy otrzymywaniu antygrzybiczych wyrobów pończoszniczych.

Cel ten wymagał rozwiązania szeregu zagadnień. Zasadniczym było opracowanie optymalnych warunków modyfikacji włókien i wyrobów poliamidowych.

### **2.2. Materiały stosowane w pracy**

Przedmiotem badania były:

- przędza poliamidowa 12-włóknowa nieskręcona o masie liniowej 0,675 tex i wytrzymałości 42,05 cN/tex produkcji, Zakładów Włókien Chemicznych Stilon S.A. – Gorzów Wielkopolski,

- dwa rodzaje dzianin poliamidowych (Dz1) o masie powierzchniowej 13,5 g/m<sup>2</sup> oraz (Dz2) o masie powierzchniowej 50,2 g/m<sup>2</sup> produkcji firmy Gedeon sp. jawna – Parzęczew. Przed przystąpieniem do badań z włókien i dzianin usunięto preparację.

### 2.3. Metodyka badań

Odpreparowane próbki poliamidowych włókien lub dzianin napawano 5% toluenowym roztworem nadtlenku benzoilu w temperaturze 323 K w czasie 30 min.

Zainicjowane w ten sposób próbki wkładano do kąpeli zawierającej monomer (kwas akrylowy lub metakrylowy) oraz dyspergator NNO. Ilość dyspergatora NNO była stała i wynosiła 0,5% wag w stosunku do masy kąpeli szczepiącej. Stosunek masy próbek do kąpeli szczepiącej we wszystkich doświadczeniach wynosił 1:30 dla włókien, natomiast dla dzianin 1:50.

Aby nadać antybakteryjne właściwości szczepione, wyroby poliamidowe napawano roztworem antybiotyku Wankomycyną, Teikoplaniną lub azotanem srebra, każdy lek osobno. W celu uzyskania właściwości ułatwiających rozpuszczanie skrzepów krwi w ranie, a tym samym wspomaganie procesu jej leczenia próbki dzianiny poliamidowej napawano lekiem enzymatycznym Distreptazą. Antygrzybicze właściwości szczepionych wyrobów poliamidowych (włókien, dzianin) otrzymano poprzez napawanie wyżej wymienione wyroby włókiennicze roztworem zawierającym Ketokonazol.

Badanie kinetyki uwalniania leków z modyfikowanych włókien i dzianin poliamidowych przeprowadzono metodą spektrofotometryczną przy użyciu aparatu UV/VIS/NIR Spectrofotometer V-570 JASCO produkcji japońskiej o zakresie  $\lambda = 190\text{--}2500$  nm.

Uwalnianie Wankomycyny i Teikoplaniny przeprowadzono do wody destylowanej, roztworu soli fizjologicznej i buforu cytrynianowo-fosforanowego. W przypadku wyrobów zawierających lek enzymatyczny lub lek antygrzybiczy uwalnianie realizowano do wody destylowanej, natomiast dla wyrobów zawierających jony srebra do roztworu kwasu azotowego o stężeniu 0,02%. Maksimum absorpcji dla Wankomycyny leżało w zakresie  $\lambda = 280$  nm, dla Teikoplaniny  $\lambda = 278$  nm, dla azotanu srebra  $\lambda = 206$  nm, dla Distreptazy  $\lambda = 258$  nm, natomiast dla Ketokonazolu  $\lambda = 276$  nm.

Oceny działania antybakteryjnego próbek dokonano metodą bezpośrednią w oparciu o kryteria zawarte w opisie normy SN 195920, natomiast ocenę działania antygrzybiczego wykonano w oparciu o normę SN 195921. W badaniach stosowano grzyby drożdżopodobne *Candida albicans* ATCC 10231 oraz bakterie *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 i *Escherichia coli* ATCC 10536, które są reprezentatywne dla środowiska szpital

nego. Grzyby hodowano na pożywce Sabouraud, natomiast bakterie na pożywce TSA w czasie 24 godzin, w temperaturze 310 K. Na powierzchni pożywki zaszczerpiętej organizmami testowymi umieszczono próbki włókien lub dzianin i inkubowano w temperaturze 310 K w czasie 48 h. Po inkubacji oceniono strefę zahamowania wzrostu testowanych drobnoustrojów wokół badanej próbki. Właściwości grzybo- i bakteriobójcze oceniono na podstawie obecności i rozmiaru strefy hamującej wzrost testowanych mikroorganizmów. Badania przeprowadzono w 2 powtórzeniach dla każdej badanej próbki i każdego testowego drobnoustroju.

Badania działania drażniącego – badania reaktywności śródskórnej wyrobów poliamidowych wykonano w Pracowni Hodowli Komórkowych, Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii Akademii Medycznej we Wrocławiu na podstawie zezwolenia Lokalnej Komisji Etycznej we Wrocławiu. Przeprowadzono je zgodnie z normą PN-EN ISO 10993-10 „Biologiczna ocena wyrobów medycznych. Badania działania drażniącego i uczulającego”.

Badania przeprowadzono na 6 królikach albinosach (po 3 zwierzęta dla każdej próbki dzianin) rasy białej nowozelandzkiej, obojga płci, o masie ciała ok. 3,0 kg.

Ocenę zmian skórnych po iniekcji badanych wyciągów i roztworów kontrolnych przeprowadzano po 24, 48 i 72 h. Klasyfikację odczynów śródskórnych przeprowadzono zgodnie z kryteriami zawartymi w tabeli 1.

Tabela 1. Klasyfikacja odczynów śródskórnych

| Rumień i wytworzenie strupa                       |         | Powstanie obrzęku        |         |
|---------------------------------------------------|---------|--------------------------|---------|
| Odczyn                                            | Stopień | Odczyn                   | Stopień |
| Brak rumienia                                     | 0       | Brak obrzęku             | 0       |
| Rumień ledwie widoczny                            | 1       | Obrzęk ledwo widoczny    | 1       |
| Rumień wyraźny                                    | 2       | Obrzęk wyraźny           | 2       |
| Rumień średni                                     | 3       | Obrzęk średni            | 3       |
| Rumień ciężkiego stopnia aż do wytworzenia strupa | 4       | Obrzęk ciężkiego stopnia | 4       |

Dla każdego zwierzęcia zsumowano Punktację Pierwotnego Podrażnienia oddzielnie dla rumienia i obrzęku, uzyskiwane dla każdego wyciągu i każdego czasu badania, po czym podzielono przez całkowitą liczbę obserwacji. Podobnej oceny dokonano w odniesieniu do miejsc kontrolnych. Na podstawie uzyskanej Punktacji Pierwotnego Podrażnienia dla każdego badanego wyciągu obliczono Wskaźnik Pierwotnego Podrażnienia:  $WPP = \frac{\text{suma Punktacji Pierwotnego Podrażnienia wyciągów} - \text{suma Punktacji Pierwotnego Podrażnienia roztworów kontrolnych}}{\text{liczba zwierząt}}$ .

Wskaźnik Pierwotnego Podrażnienia obejmuje następujące kategorie:

|               |            |
|---------------|------------|
| Bez znaczenia | 0,0 do 0,4 |
| Lekkie        | 0,5 do 1,9 |
| Średnie       | 2,0 do 4,9 |
| Ciężkie       | 5,0 do 8,0 |

### 3. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Pierwszy etap chemicznej modyfikacji wyrobów poliamidowych polegał na wprowadzeniu grup karboksylowych do tworzywa włókien poliamidowych. W tym celu wykonano szczepienie włókien i dzianin PA poli(kwasem akrylowym), PKA lub poli(kwasem metakrylowym), PKMA. W reakcji szczepienia wyrobów poliamidowych wykorzystano inicjowanie chemiczne za pomocą nadtlenu benzoilu. Obecność dyspergatora NNO w kąpeli szczepiącej ułatwiała spęcnienie włókien i szybkie wnikanie kwasu akrylowego lub metakrylowego do ich wnętrza. Sprzyja to wzrostowi stopnia szczepienia przy jednoczesnym ograniczeniu tworzenia się homopolimeru w toku reakcji.

Wykonano trzy serie badań:

- w pierwszej zmieniano stężenie kwasu akrylowego lub metakrylowego (każdy kwas osobno) w kąpeli reakcyjnej przy stałej temperaturze i czasie:  $T = 353\text{ K}$ ,  $t = 30\text{ min}$ ,
- w drugiej zmieniano czas reakcji przy stałym stężeniu CKA lub CKMA i temperaturze: CKA = 7,5% wag, CKMA = 2,5% wag,  $T = 353\text{ K}$ ,
- w trzeciej zmieniano temperaturę reakcji szczepienia przy stałym stężeniu monomeru i czasie reakcji: CKA = 7,5% wag, CKMA = 2,5% wag,  $t = 30\text{ min}$ .

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że zarówno stężenia kwasu akrylowego, temperatura, jak i czas prowadzenia reakcji mają istotny wpływ na stopień szczepienia. Ze wzrostem tych parametrów reakcji rośnie stopień szczepienia włókien i dzianin poliamidowych. Jedynie prowadzenie reakcji szczepienia w temperaturze powyżej 368 K skutkuje obniżeniem stopnia szczepienia oraz powstaniem dużych ilości produktu ubocznego, który może utrudniać przenikanie KA do włókna PA.

Z przeprowadzonych serii doświadczeń można wnioskować, że przekroczenie parametrów reakcji szczepienia: temperatury 353 K, czasu szczepienia 30 min oraz stężenia kwasu akrylowego powyżej 7,5% wag i stężenia kwasu metakrylowego powyżej 3,0% wag nie sprzyja reakcji szczepienia ze względu na powstanie w toku reakcji znacznych ilości produktu ubocznego (homopolimeru).

Szczepione włókna i dzianiny poliamidowe zawierające w swej budowie grupy karboksylowe są zdolne do przyłączania leków z odpowiednimi grupami funkcyjnymi. Stwarza to zatem możliwość otrzymania wyrobów poliamidowych,

które dzięki obecności w swej budowie odpowiednich leków mogą posiadać właściwości antybakteryjne lub antygrzybicze. Aby nadać te właściwości, szczepione włókna i dzianiny PA zawierające grupy karboksylowe, w drugim etapie modyfikacji napawano roztworami antybiotyków glikopeptydowych (Wankomycyny lub Teikoplaniny) oraz leku antygrzybiczego z grupy pochodnych imidazolu (Ketokonazolu). Oprócz wymienionych wyżej leków do modyfikacji wyrobów poliamidowych szczepionych poli(kwasem akrylowym) zastosowano azotan srebra oraz preparat enzymatyczny – Distreptazę. Wybór zastosowanych leków został poprzedzony analizą literaturową wrażliwości mikroorganizmów zagrażających ranom zarówno chirurgicznym, jak i powstałym w wyniku urazów mechanicznych.

Wykonano serię badań mającą na celu zbadanie wpływu parametrów modyfikacji oraz stopnia szczepienia wyrobów PA na stopień napawania Wankomycyną lub Teikoplaniną.

Analizując wyniki zamieszczone w tabeli 2 można stwierdzić, że stopień szczepienia poli(kwasem akrylowym) włókien i dzianin ma duży wpływ na ilość przyłączonej Wankomycyny lub Teikoplaniny do wymienionych wyrobów PA. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem stopnia szczepienia poli(kwasem akrylowym) zarówno dzianin, jak i włókien rośnie stopień napawania powyższymi lekami. Jest to związane z ilością grup karboksylowych wprowadzonych wcześniej do wyrobów PA na drodze szczepienia PKA. Wynika to z faktu, że wyroby poliamidowe wejściowe zawierają niewielką ilość grup funkcyjnych – COOH pochodzących od końcowych grup w łańcuchu PA zdolnych do przyłączania leków. W przypadku wyrobów szczepionych PKA ilość tych grup jest znacznie większa, dlatego też napawanie odpowiednim lekiem zachodzi bardziej efektywnie.

Tabela 2. Stopień napawania Wankomycyną  $Z_{\text{Wan}}$  lub Teikoplaniną  $Z_{\text{T}}$  włókien PA przy zmiennym stopniu szczepienia poli(kwasem akrylowym)  $X_{\text{PKA}}$ .

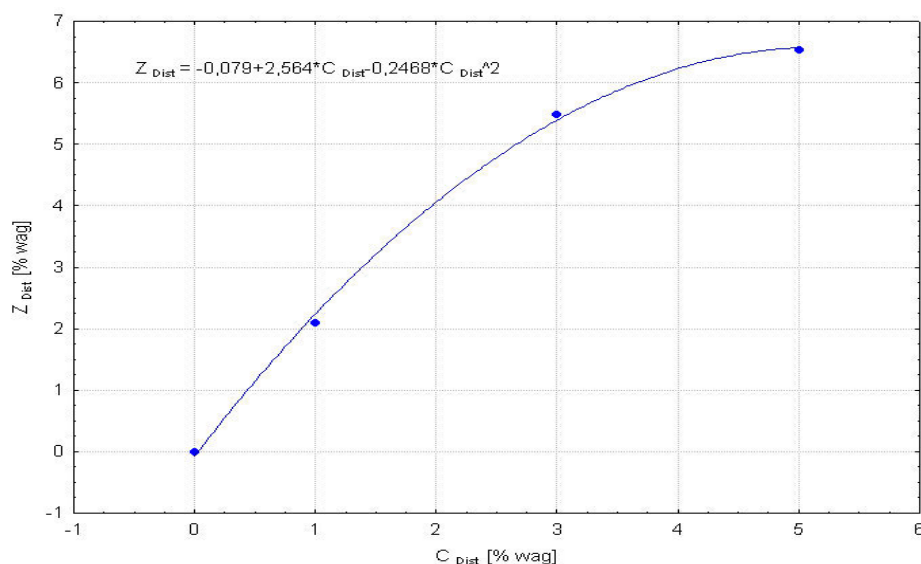
Warunki napawania antybiotykiem:

( $T = 313 \text{ K}$ ,  $t = 60 \text{ min}$ ,  $C_{\text{T}} = 10\% \text{ wag}$ ,  $C_{\text{Wan}} = 10\% \text{ wag}$ )

| Lp. | $X_{\text{PKA}}$<br>[% wag] | $Z_{\text{Wan}}$<br>[% wag] | $Z_{\text{T}}$<br>[% wag] |
|-----|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| 1   | 0,00                        | 1,00                        | 1,09                      |
| 2   | 14,75                       | 2,04                        | 4,70                      |
| 3   | 21,61                       | 4,11                        | 6,85                      |
| 4   | 32,36                       | 6,19                        | 10,29                     |

W tym celu szczepioną poli(kwasem akrylowym) dzianinę poliamidową ( $X = 19,27\%$ , otrzymaną w warunkach szczepienia:  $CKA = 7.5\%$ ,  $T = 353K$ ,  $t = 20$  min) napawano wodnymi roztworami Distreptazy o stężeniu 1,0; 3,0 i 5,0% wag. Uzyskano następujące stopnie napawania dzianiny Distreptazą, odpowiednio: 2,09%, 5,49% i 6,54% wag.

Wyniki tych badań, tj.  $Z_{Dist} = f(C_{Dist})$  są przedstawione na rys. 1.



Rys. 1. Zależność stopnia napawania distreptazą  $Z_{Dist}$  dzianiny poliamidowej szczepionej poli(kwasem akrylowym) od stężenia Distreptazy w kąpeli napawającej:  $Z_{Dist} = f(C_{Dist})$ .

Warunki napawania: stopień szczep.:  $X_{PKA} = 19,27\%$  wag,  $T = 313$  K,  $t = 90$  min

Aby uzyskać wyroby poliamidowe wspomagające leczenie grzybic, do włókien i dzianin PA szczepionych poli(kwasem akrylowym) zawierających w swej budowie grupy karboksylowe przyłączono lek przeciwgrzybiczy Ketokonazol. Wyniki przeprowadzonych badań umieszczono w tabeli 3. Analizując dane zamieszczone w tabeli 3 zauważa się, że stężenie leku, czas, temperatura napawania oraz stopień szczepienia włókien poliamidowych mają istotny wpływ na ilość przyłączonego Ketokonazolu do włókien. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem tych parametrów rośnie stopień napawania włókien lekiem przeciwgrzybiczym.

Tabela 3. Wyniki stopnia napawania Ketokonazolem  $Z_{Ket}$  w różnych warunkach włókien PA szczepionych poli(kwasem akrylowym)

| Lp. | Parametry stałe podczas napawania                                                           | Parametry zmienne podczas napawania |       | Stopień napawania Ketokonazolem włókien PA $Z_{Ket}$ [% wag] |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------|--------------------------------------------------------------|
| 1   | $T = 333\text{ K}$ ,<br>$t = 60\text{ min}$ ,<br>$X_{PKA} = 21,61\% \text{ wag}$            | $C_{Ket}$ [%wag]                    | 0,25  | 1,27                                                         |
| 2   |                                                                                             |                                     | 0,50  | 2,38                                                         |
| 3   |                                                                                             |                                     | 0,75  | 4,26                                                         |
| 4   |                                                                                             |                                     | 1,00  | 6,48                                                         |
| 5   |                                                                                             |                                     | 1,50  | 10,24                                                        |
| 6   | $T = 333\text{ K}$ ,<br>$C_{Ket} = 1,0\% \text{ wag}$ ,<br>$X_{PKA} = 21,61\% \text{ wag}$  | $t$ [min]                           | 30    | 3,45                                                         |
| 7   |                                                                                             |                                     | 45    | 4,46                                                         |
| 8   |                                                                                             |                                     | 60    | 6,48                                                         |
| 9   |                                                                                             |                                     | 120   | 7,25                                                         |
| 10  | $C_{Ket} = 1,0\% \text{ wag}$ ,<br>$t = 60\text{ min}$ ,<br>$X_{PKA} = 21,61\% \text{ wag}$ | $T$ [K]                             | 313   | 3,46                                                         |
| 11  |                                                                                             |                                     | 323   | 5,93                                                         |
| 12  |                                                                                             |                                     | 333   | 6,48                                                         |
| 13  |                                                                                             |                                     | 343   | 5,66                                                         |
| 13  | $t = 60\text{ min}$ ,<br>$C_{Ket} = 1,0\% \text{ wag}$ ,<br>$T = 333\text{ K}$              | $X_{PKA}$ [% wag]                   | 0,00  | 0,77                                                         |
| 14  |                                                                                             |                                     | 15,13 | 4,99                                                         |
| 15  |                                                                                             |                                     | 21,61 | 6,48                                                         |
| 16  |                                                                                             |                                     | 30,91 | 8,90                                                         |
| 17  |                                                                                             |                                     | 34,44 | 10,58                                                        |

Aby przyłączony do wyrobów poliamidowych lek spełniał swą pozytywną rolę, powinien uwalniać się do otaczającego środowiska tkankowego w określonym czasie, zachowując swoje właściwości antybakteryjne bądź antygrzybicze. Mając to na uwadze, przeprowadzono symulacyjne kontrolne uwalnianie leków do wody, soli fizjologicznej i buforu.

Uwalnianie biocydów prowadzono do możliwie całkowitego uwolnienia leku z włókien, zmieniając medium po ustaleniu się równowagi pomiędzy kationami w ośrodku, do którego uwalniano lek a kationami na wyrobach PA. Uwalnianie prowadzono przez ok. 500 h w przypadku Wankomycyny lub Teikoplaniny, ok. 650 h dla azotanu srebra oraz ok. 750 h dla Ketokonazolu. Po wielogodzinnym uwalnianiu na włóknach pozostaje jeszcze pewna ilość leku. Ilość uwolnionego biocydu jest uzależniona od stopnia napawania włókien PA, a zatem jego początkowej ilości.

Zależność pomiędzy stężeniem biocydu uwolnionego z włókien od czasu uwalniania można przedstawić za pomocą równań matematycznych. W przypadku uwalniania z włókien PA równania te mają charakter logarytmiczny:

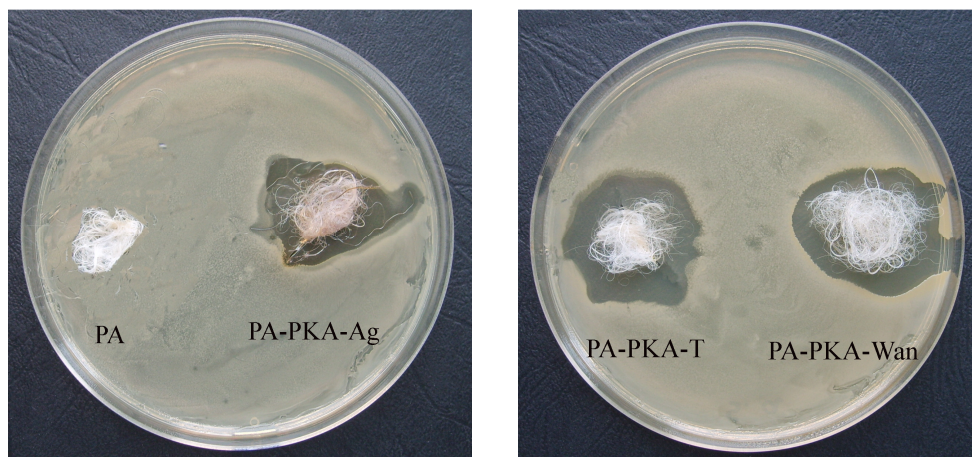
$$C_t = C_{\infty} \cdot k \cdot \log(t) + b$$

gdzie:  $C_t$  – stężenie jonów srebra po czasie  $t$  uwalniania,  
 $C_{\infty}$  – stężenie jonów srebra w stanie równowagi,  
 $k, b$  – stałe charakterystyczne dla układu.

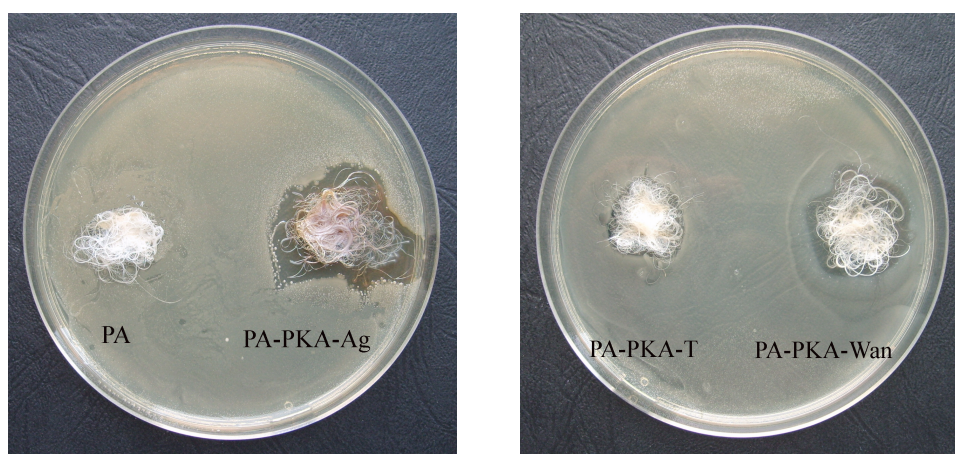
Z przeprowadzonej analizy statystycznej wynika, że stopień dopasowania krzywych uwalniania do wyników doświadczalnych jest wysoki, na co wskazują współczynniki korelacji  $r$  zbliżone do jedności przy prawdopodobieństwie popełnienia błędu  $p = 0,0000$ .

Tabela 4. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa włókien wejściowych i modyfikowanych oznaczona metodą bezpośrednią

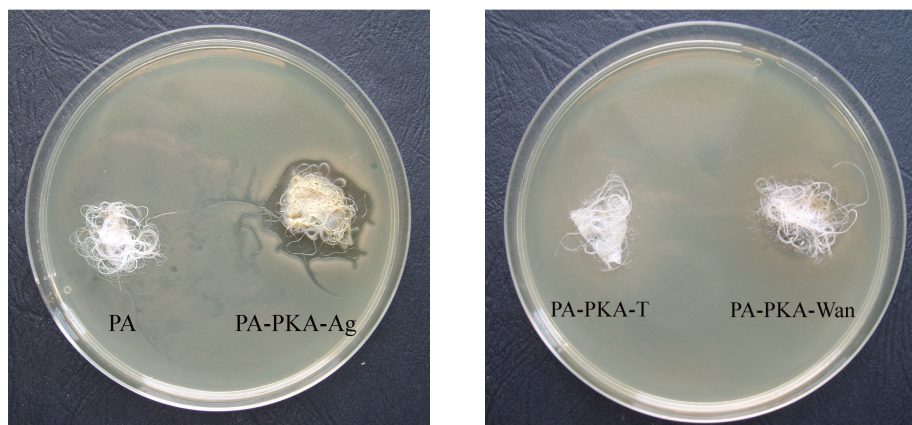
| Badany organizm                 | Rodzaj próbki  | Strefa hamowania wzrostu [mm] | Rodzaj wzrostu pod włóknem | Ocena bakteriobójczego działania |
|---------------------------------|----------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------------|
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923     | PA - kontrolne | 0                             | pełny                      | niewystarczające                 |
| <i>E. coli</i> ATCC 10536       |                | 0                             | pełny                      | niewystarczające                 |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 |                | 0                             | pełny                      | niewystarczające                 |
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923.    | PA-PKA-Wan     | 5-7                           | brak                       | dobrze                           |
| <i>E. coli</i> ATCC 10536       |                | 2-3                           | brak                       | dobrze                           |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 |                | 1                             | brak                       | dobrze                           |
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923     | PA-PKA-T       | 6-8                           | brak                       | dobrze                           |
| <i>E. coli</i> ATCC 10536       |                | 1                             | brak                       | dobrze                           |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 |                | brak                          | pełny                      | niewystarczające                 |
| <i>S. aureus</i> ATCC 25923     | PA-PKA-Ag      | 5                             | brak                       | dobrze                           |
| <i>E. coli</i> ATCC 10536       |                | 3-5                           | brak                       | dobrze                           |
| <i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 |                | 3-4                           | brak                       | dobrze                           |



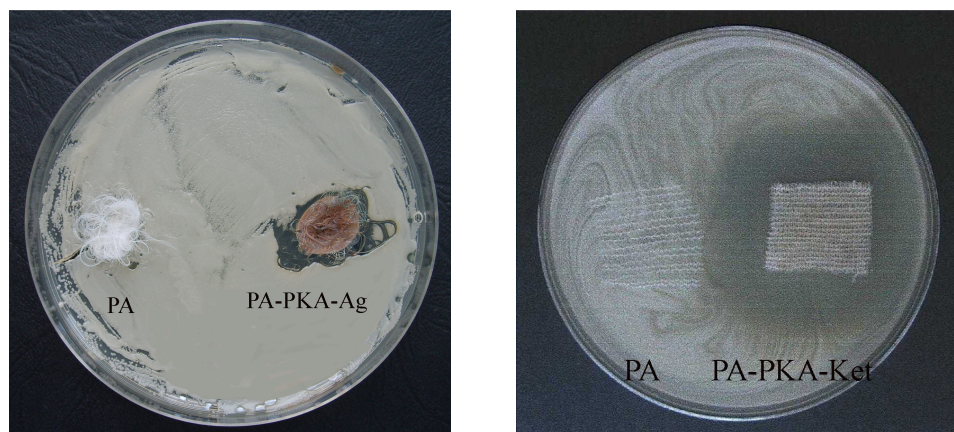
Rys. 2. Aktywność antybakteryjna włókien wejściowych i modyfikowanych w stosunku do *Staphylococcus aureus* ATCC 25923: 1 – próbka PA (kontrola), 2 – próbka PA-PKA-Ag, 3 – próbka PA-PKA-T, 4 – próbka PA-PKA-Wan



Rys. 3. Aktywność antybakteryjna włókien wejściowych i modyfikowanych w stosunku do *E. coli* ATCC 10536: 1 – próbka PA (kontrola), 2 – próbka PA-PKA-Ag, 3 – próbka PA-PKA-T, 4 – próbka PA-PKA-Wan



Rys. 4. Aktywność antybakteryjna włókien wejściowych i modyfikowanych w stosunku do *P. aeruginosa* ATCC 15442: 1 – próbka PA (kontrola), 2 – próbka PA-PKA-Ag, 3 – próbka PA-PKA-T, 4 – próbka PA-PKA-Wan



Rys. 5. Aktywność przeciwgrzybicza włókien wejściowych i modyfikowanych w stosunku do *Candida albicans* ATCC 10231: 1 – próbka PA (kontrola), 2 – próbka PA-PKA-Ag

Rys. 6. Aktywność przeciwgrzybicza dzianin wejściowych i modyfikowanych w stosunku do *Candida albicans* ATCC 10231: 1 – próbka PA (kontrola), 2 – próbka PA-PKA-Ket

Na podstawie wyników zamieszczonych w tabeli 4, rys. 2-4 można stwierdzić, że włókna wejściowe PA odznaczały się brakiem właściwości hamujących rozwój bakterii *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*

oraz grzybów drożdżopodobnych *Candida albicans*. Modyfikowane włókna poliamidowe zawierające Wankomycynę PA-PKA-Wan wykazywały działanie przeciwbakteryjne w stosunku do badanych szczepów bakterii. Największą strefę zahamowania wzrostu wynoszącą 5-7 mm zaobserwowano w przypadku bakterii Gram – dodatnich *Staphylococcus aureus*. W przypadku bakterii Gram – ujemnych *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa* zaobserwowano słabsze działanie bakteriobójcze.

W przypadku włókien PA zawierających Teikoplaninę obserwuje się brak aktywności modyfikowanych włókien w stosunku do *P. aeruginosa*, ponieważ szczepy tych bakterii są odporne na testowany antybiotyk. Dla pozostałych bakterii włókna zawierające Teikoplaninę są aktywne.

Tabela 5. Oznaczanie aktywności przeciugrzybiczej włókien wejściowych i modyfikowanych

| Badany organizm                          | Rodzaj próbki  | Strefa hamowania wzrostu [mm] | Rodzaj wzrostu pod włóknem | Ocena bakteriobójczego działania |
|------------------------------------------|----------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------------|
| <i>Candida albicans</i><br>ATCC<br>10231 | PA – kontrolne | 0                             | pełny                      | niewystarczające                 |
|                                          | PA+PKA+Ag      | 3-4                           | brak wzrostu               | dobrze                           |
|                                          | PA+PKA+Ket     | 11                            | brak wzrostu               | b. dobrze                        |

Włókna poliamidowe zawierające jony srebra oznaczone symbolem PA-PKA-Ag wykazywały właściwości bakteriobójcze i grzybobójcze (rys. 5) w stosunku do ww. drobnoustrojów. Napawane próbki hamowały wzrost bakterii zarówno w strefie kontaktu z pożywką, jak i wokół badanych próbek.

Dzianina PA napawana lekiem przeciugrzybiczym Ketokonazolem PA-PKA-Ket wykazała bardzo dobre właściwości grzybobójcze (tabela 5, rys. 6). Próbki wyraźnie hamowały wzrost grzybów drożdżopodobnych zarówno w strefie kontaktu włókien z pożywką, jak i wokół badanych próbek.

Badanie działania drażniącego przeprowadzono metodą reaktywności śródskórnej z zastosowaniem wyciągów polarnych i niepolarnych na próbkach dzianiny wejściowej oraz dzianiny modyfikowanej szczepionej poli(kwasem akrylowym) XPKA = 30,91% wag i napawanej Ketokonazolem ZKet = 8,90% wag.

Na podstawie przeprowadzonych badań działania drażniącego stwierdzono, że zarówno dzianina PA wejściowa, jak i dzianina modyfikowana szczepiona poli(kwasem akrylowym) i napawana Ketokonazolem nie wywołują reaktywności śródskórnej u królików. Punktację Pierwotnego Podrażnienia skóry podano w tabeli 6.

W miejscach wstrzyknięć wyciągów polarnych przygotowanych z próbek dzianin PA wejściowych i modyfikowanych PA-PKA-Ket oraz polarnych roz-

tworów kontrolnych, bezpośrednio po wykonaniu iniekcji oraz po 24, 48 i 72 h, nie stwierdzono zmian skórnych w postaci rumienia lub obrzęku skóry.

Wskaźnik pierwotnego podrażnienia dla wyciągów polarnych i niepolarnych z dzianin PA wejściowych i poddanych modyfikacji PA-PKA-Ket wyniósł 0.

Tabela 6. Punktacja Pierwotnego Podrażnienia dla wyciągów polarnych i niepolarnych z modyfikowanych dzianin poliamidowych

| Królik | Pierwotna Punktacja Podrażnienia            |                                       |                                                |                          |
|--------|---------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------------|
|        | Wyciąg polarny z dzianiny PA wejściowego    | Fizjologiczny roztwór soli – kontrola | Wyciąg niepolarny z dzianiny PA wejściowej     | Olej sezamowy – kontrola |
|        | Rumień                                      |                                       |                                                |                          |
| 1      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| 2      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| 3      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| Razem  | 0                                           | 0                                     | 0,99                                           | 0,99                     |
| Królik | Obrzęk                                      |                                       |                                                |                          |
|        | Wyciąg polarny z modyfikowanego PA-PKA -Ket | Fizjologiczny roztwór soli – kontrola | Wyciąg niepolarny z modyfikowanego PA-PKA -Ket | Olej sezamowy – kontrola |
|        | Rumień                                      |                                       |                                                |                          |
| 1      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| 2      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| 3      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| Razem  | 0                                           | 0                                     | 0,99                                           | 0,99                     |
| Królik | Obrzęk                                      |                                       |                                                |                          |
|        | Wyciąg polarny z modyfikowanego PA-PKA -Ket | Fizjologiczny roztwór soli – kontrola | Wyciąg niepolarny z modyfikowanego PA-PKA -Ket | Olej sezamowy – kontrola |
|        | Rumień                                      |                                       |                                                |                          |
| 1      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| 2      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| 3      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| Razem  | 0                                           | 0                                     | 0,99                                           | 0,99                     |
| Królik | Obrzęk                                      |                                       |                                                |                          |
|        | Wyciąg polarny z modyfikowanego PA-PKA -Ket | Fizjologiczny roztwór soli – kontrola | Wyciąg niepolarny z modyfikowanego PA-PKA -Ket | Olej sezamowy – kontrola |
|        | Rumień                                      |                                       |                                                |                          |
| 1      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| 2      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| 3      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| Razem  | 0                                           | 0                                     | 0,99                                           | 0,99                     |
| Królik | Obrzęk                                      |                                       |                                                |                          |
|        | Wyciąg polarny z modyfikowanego PA-PKA -Ket | Fizjologiczny roztwór soli – kontrola | Wyciąg niepolarny z modyfikowanego PA-PKA -Ket | Olej sezamowy – kontrola |
|        | Rumień                                      |                                       |                                                |                          |
| 1      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| 2      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| 3      | 0                                           | 0                                     | 0,33                                           | 0,33                     |
| Razem  | 0                                           | 0                                     | 0,99                                           | 0,99                     |

#### 4. WNIOSKI

- Otrzymano antybakteryjne i antygrzybicze włókna i dzianiny poliamidowe. Cel ten osiągnięto poprzez: dwustopniową modyfikację wyrobów poliamidowych polegającą na wprowadzeniu do makrocząsteczki PA grup karboksylowych, a następnie przyłączenie do tak modyfikowanych wyrobów odpowiedniego, stosownego do założeń środka leczniczego. W przypadku wyro-

- bów antybakteryjnych wspomagających gojenie ran zastosowano antybiotyki glikopeptydowe Wankomycynę lub Teikoplaninę, sól nieorganiczną – azotan srebra oraz lek enzymatyczny Distreptazę. Natomiast w przypadku wyrobów antygrzybiczych zastosowano lek antygrzybiczy pochodną imidiazolu Ketokonazol oraz sól nieorganiczną – azotan srebra.
2. Szczepienie monomerów winylowych (kwasu akrylowego i kwasu metakrylowego) na włóknach i dzianinach poliamidowych polegało na wytworzeniu na nich grup wodoronadtlenkowych i nadtlenkowych przed procesem szczepienia metodą chemiczną.
  3. Na podstawie wskaźników: stopnia szczepienia X, ilości tworzącego się reakcji szczepienia homopolimeru, efektywności reakcji (E), stopnia przereagowania (K) oraz stosunku szczepienia (R) określono najkorzystniejsze parametry reakcji szczepienia, które przedstawiają się następująco:
    - dla włókien i dzianin szczepionych poli(kwasem akrylowym):  
 $C_{KA} = 7,5\%$  wag,  $T = 353\text{ K}$ ,  $t = 30\text{ min}$ ;
    - dla włókien i dzianin szczepionych poli(kwasem metakrylowym):  
 $C_{KMA} = 2,5\%$  wag,  $T = 353\text{ K}$ ,  $t = 30\text{ min}$ .
  4. Wyroby poliamidowe zawierające w swej budowie grupy karboksylowe można w drugim etapie modyfikować odpowiednim lekiem antybakteryjnym lub antygrzybiczym posiadającymi odpowiednie grupy funkcyjne.
  5. Dołączone do wyrobów włókienniczych leki uwalniają się od wyrobów do środowiska w określonym czasie, zachowując swoją aktywność wobec drobnoustrojów chorobotwórczych.
  6. Na podstawie badań *in vitro* stwierdzono, że modyfikowane wyroby poliamidowe zawierające Wankomycynę, Teikoplaninę lub jony srebra (każdy lek osobno) są aktywne w stosunku bakterii chorobotwórczych, co ujawnia się poprzez strefy zahamowania ich wzrostu. Wyroby poliamidowe zawierające w swej budowie Ketokonazol lub jony srebra (każdy lek osobno) są aktywne w stosunku do grzybów drożdżopodobnych *Candida albicans*.
  7. Działiny poliamidowe wejściowe, jak i modyfikowane zawierające w swej budowie Ketokonazol nie wykazują działania drażniącego, co potwierdza wskaźnik pierwotnego podrażnienia dla wyciągów polarnych i niepolarnych, który wyniósł 0.

## Literatura

- [1] Materiały informacyjne firmy PAUL HARTMANN Polska,  
<http://pl.hartmann.info>.
- [2] Materiały informacyjne firmy Johnson & Johnson Polska,  
<http://www.jnjgateway.com>.
- [3] Katalog syntetycznych nici chirurgicznych Poznańskich Zakładów Farmaceutycznych Polfa, Poznań, 1996.

- [4] **Laskowska A., Krajewska-Kułak E., Łukaszuk C., Rolka H., Jakoniuk P., Leszczyńska K.**, Mikologia Lekarska, 11 (4), 277-281, 2004.
- [5] **Michalska A., Ulatowska B., Szociński J.**, Polska Opieka paliatywna, 2, (4), 2003.
- [6] **Grzybowski J., Trafny E.A.**, Magazyn Medyczny, 15,s. 4-12, 2001.
- [7] **Górkiewicz-Petkow A.**, Dermatologia, 5, (1), s. 17-22, 2000.
- [8] **Olewiński R.**, <http://www.emedica.pl>.
- [9] **Zaremba M.L., Borowski J.**, Mikrobiologia lekarska, Warszawa, Wydawnictwo lekarskie PZWL, 2004.
- [10] Źródło internetowe: [www.agion-tech.com](http://www.agion-tech.com).
- [11] **Falkiewicz-Dulik M., Macura A.B.**, Mikologa Lekarska, 15, 145-150, 2008.
- [12] **Zyski B., Żakowska Z.**, Mikrobiologia materiałów, Łódź, Wydawnictwo PŁ, 2005.
- [13] **Falkiewicz-Dulik M., Pawlik B. Macura A.B.**, Mikologia Lekarska, 11, 291-296, 2004.

## ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL POLYAMIDE FIBRES

### Summary

The subject of the research was to obtain antibacterial and antifungal fibres and polyamide products (PA). This aim was realized through a two-stage modification of polyamide products that was based on implementing into a macroparticle into PA carboxylic groups using the method of grafting vinyl monomers, which was followed by joining an appropriate drug to fibres modified in this way.

The research included the following: selection of grafting reaction parametres (stage 1) and selecting the degree of grafting of poly(acrylic acid) or poly(methacrylic acid) on polyamide fibres and the degree of imbuing appropriate biocide into preliminarily grafted products (stage 2 of modification). There were also in vivo studies carried through together with microbiological in vitro evaluation of antibacterial and antifungal properties of the modified fibres and polyamide products to be used in medicine.