

Streszczenie

Technologia transdermalnego dostarczania leku za pomocą plastra mikroigłowego połączona z diagnostyką do zastosowania w medycynie weterynaryjnej.

Mgr inż. Justyna Kornicka

Rozprawa doktorska zatytułowana „Technologia transdermalnego dostarczania leku za pomocą plastra mikroigłowego połączona z diagnostyką do zastosowania w medycynie weterynaryjnej” dotyczy opracowania, wytworzenia oraz eksperymentalnej weryfikacji dwóch nowoczesnych, komplementarnych rozwiązań technologicznych o potencjale wdrożeniowym w medycynie weterynaryjnej:

- (1) rozpuszczalnych plastrów mikroigłowych do transdermalnego dostarczania substancji aktywnych, wytworzonych z wykorzystaniem druku 3D oraz mikroformowania,
- (2) przenośnego systemu diagnostycznego typu „point-of-care” (POC), opartego na izotermicznej amplifikacji kwasów nukleinowych metodą RT-LAMP prowadzonej w chipach również wytworzonych z wykorzystaniem druku 3D.

Praca ma charakter interdyscyplinarny i łączy zagadnienia z zakresu inżynierii mikrosystemów (MEMS), technologii druku 3D, optoelektroniki oraz diagnostyki molekularnej. Główną motywacją do podjęcia badań była potrzeba opracowania tanich, mobilnych, prostych w obsłudze i możliwych do personalizacji narzędzi diagnostyczno-terapeutycznych, które mogłyby być stosowane bezpośrednio w miejscu opieki nad zwierzęciem, bez konieczności dostępu do wyspecjalizowanych laboratoriów.

W części pracy dotyczącej plastrów mikroigłowych zaprojektowano różne geometrie mikroigieł (m.in. stożkowe i piramidalne), które następnie wydrukowano jako struktury matrycowe wykorzystując druk 3D w wariancie DLP (ang. digital light processing). Na ich podstawie opracowano proces technologiczny rozpuszczalnych mikroigieł metodą mikroformowania z wykorzystaniem silikonowych form PDMS. Jako materiał nośny zastosowano mieszaniny biodegradowalnych i biokompatybilnych polimerów poliwinylpirolidonu (PVP) oraz poliwinylowego alkoholu (PVA).

Przeprowadzono szczegółową analizę zgodności wymiarowej mikroigieł rozpuszczalnych względem struktur wzorcowych, wykazując niewielkie, geometrycznie zależne odchylenia, mieszczące się w granicach kilku procent. Następnie wykonano badania funkcjonalne obejmujące testy rozpuszczalności mikroigieł, ocenę ich stabilności mechanicznej oraz analizę kinetyki uwalniania substancji modelowej (rodaminy B) w warunkach symulujących kontakt ze skórą. Wykazano, że kompozycja PVP 10% / PVA 5% zapewnia korzystny kompromis pomiędzy wytrzymałością mechaniczną a szybkością i powtarzalnością uwalniania substancji czynnej. Pełne uwolnienie związku modelowego następowało w czasie od około 120 do 150 sekund, w zależności od geometrii mikroigieł.

Uzupełnieniem badań były testy *in vitro* obejmujące ocenę biokompatybilności i cytotoksyczności, które potwierdziły bezpieczeństwo biologiczne opracowanych struktur. Uzyskane wyniki wskazują, że rozpuszczalne plastry mikroigłowe mogą stanowić realną alternatywę dla klasycznych iniekcji w weterynarii, umożliwiając bezpieczne, mało inwazyjne i kontrolowane podawanie leków lub szczepionek.

W części diagnostycznej rozprawy opracowano warunki reakcji RT-LAMP, dedykowane do wykrywania wirusów zwierzęcych. Zaprojektowano i zestawiono stanowisko optoelektroniczne

umożliwiający fluorescencyjny odczyt przebiegu reakcji (detekcja „end point”) oraz docelowo w czasie rzeczywistym, co pozwoliło na obiektywną ocenę amplifikacji oraz zwiększyło potencjał automatyzacji systemu w porównaniu do metod kolorymetrycznych. Następnie zaprojektowano i wykonano w technologii DLP chip mikrofluidyczny, umożliwiający prowadzenie reakcji RT-LAMP w formacie „on-chip”.

System zweryfikowano eksperymentalnie na przykładzie detekcji genomowego RNA kociego kaliciwirusa (ang. feline calicivirus, FCV) - wysoce zaraźliwego i szeroko rozpowszechnionego wśród populacji kotów. Uzyskano wysoką swoistość reakcji, bez amplifikacji w próbach kontrolnych, oraz granicę wykrywalności (LOD) na poziomie $2,3 \times 10^3$ kopii RNA na reakcję. Choć czułość układu „on-chip” była niższa niż w klasycznych reakcjach prowadzonych w probówkach w warunkach laboratoryjnych, wyniki te uznano za wystarczające dla zastosowań weterynaryjnych i typowe dla prototypowych systemów mikrofluidycznych wytwarzanych technologią addytywną.

W pracy potwierdzono, że druk 3D stanowi efektywne narzędzie do szybkiego prototypowania i personalizacji systemów diagnostyczno-terapeutycznych. Opracowane rozwiązania tworzą spójną platformę o wysokim potencjale wdrożeniowym, możliwą do dalszego rozwoju w kierunku zintegrowanych urządzeń diagnostyczno-leczniczych nowej generacji dla medycyny weterynaryjnej.

