

BOŻENNA JAKIMIĄK¹, EWA RÖHM-RODOWALD¹, MONIKA STANISZEWSKA¹,
MALGORZATA CIEŚLAK², GRAŻYNA MALINOWSKA², AGNIESZKA KALETA²

OCENA MIKROBIOLOGICZNA WŁAŚCIWOŚCI MATERIAŁÓW WŁÓKIENNICZYCH Z WYKOŃCZENIEM ANTYBAKTERYJNYM

MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT OF EFFICIENCY OF ANTIBACTERIAL MODIFIED TEXTILES

¹ Zakład Zwalczania Skażeń Biologicznych
Państwowy Zakład Higieny
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24
Kierownik: dr A. Gliniewicz
e-mail: bjakimiak@pzh.gov.pl

² Instytut Inżynierii Materiałów Włókienniczych
90-520 Łódź, ul. Gdańska 118
Dyrektor: mgr inż. M. Ornat
e-mail: cieslakm@iimw.lodz.pl

*Przeprowadzono badania właściwości bakteriostatycznych i bakteriobójczych modyfikowanych włókien poliestrowych i tkaniny z wykończeniem antybakteryjnym wobec wytypowanych szczepów bakterii. W metodach jakościowych stwierdzono działanie przeciwbakteryjne tkaniny wobec *Klebsiella pneumoniae* i *Staphylococcus aureus*, natomiast wykazano brak efektu antybakteryjnego wobec *Escherichia coli* oraz *Pseudomonas aeruginosa*. W badaniach ilościowych uzyskano ponad 90% redukcję bakterii.*

Słowa kluczowe: włókna antybakteryjne, tkaniny z wykończeniem antybakteryjnym, działanie bakteriostatyczne, działanie bakteriobójcze, trwałość efektu antybakteryjnego
Keys words: antimicrobial fibres and textiles, bacteriostatic activity, bactericidal activity, stability of antimicrobial activity

WSTĘP

Bielizna i powierzchnie w zakładach opieki zdrowotnej ulegają znacznemu zanieczyszczeniu drobnoustrojami, liczba drobnoustrojów może osiągać nawet poziom 10^8 jtk/100cm². Stosowane w placówkach służby zdrowia procedury biobójcze (dezynfekcji termicznej, chemicznej lub chemiczno-termicznej) zmierzają do ograniczenia zanieczyszczenia środowiska drobnoustrojami poprzez ich redukcję do bezpiecznego poziomu. Jedną z metod ograniczania zanieczyszczenia drobnoustrojami jest stosowanie wyrobów włókienniczych modyfikowanych środkami chemicznymi, działającymi bakteriostatycznie lub bakteriobójczo.

Zastosowanie tekstyliów o takich właściwościach może mieć znaczenie w przecięciu dróg transmisji zakażeń szpitalnych i poza szpitalnych.

Działanie materiałów włókienniczych przeciw drobnoustrojom jest oceniane na podstawie laboratoryjnych badań mikrobiologicznych, które są dziedziną stosunkowo nową. Potrzeba takiej oceny pojawiła się wraz dynamicznym rozwojem badań nad surowcami i wyrobami włókienniczymi zawierających biocydy nadające właściwości antybakteryjne i antygrzybicze. Badania mikrobiologiczne materiałów włókienniczych można podzielić na dwie zasadnicze grupy: metody jakościowe i ilościowe. Metody jakościowe służą do oceny aktywności bakteriostatycznych, polegają na umieszczeniu badanej próbki na podłożu agarowym zaszczerpionym standardową zawiesiną bakterii o określonej gęstości i obserwacji strefy zahamowania wzrostu bakterii, zwanej efektem „halo”. Metody ilościowe polegają na określaniu działania bakteriobójczego tekstyliów poprzez obliczanie wskaźnika redukcji bakterii (w %). Opracowane i stosowane w wielu krajach metody różnią się warunkami badań, sposobem oceny, rodzajem używanych szczepów bakteryjnych.

Celem wykonanych badań było zweryfikowanie metod pozwalających na ocenę działania bakteriostatycznego i bakteriobójczego włókien oraz gotowych wyrobów z modyfikacją antybakteryjną. Bardzo ważnym aspektem jest ocena skuteczności działania włókien przed ich zastosowaniem w wyrobie.

Dla wyrobów wielokrotnego użytku np. tkanin na pościel, odzież dla szpitali istotna jest również trwałość efektu antybakteryjnego w zależności od liczby prań. Dlatego też w celu pełnej oceny właściwości antybakteryjnych tkaniny przeprowadzono badania mikrobiologiczne po wielokrotnych praniach.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem do badań były modyfikowane antybakteryjnie (wg informacji ich producenta) włókna poliestrowe oraz tkanina bawełniana (100% bawełny) o masie powierzchniowej 120g/m² modyfikowana środkiem z grupy czwartorzędowych zasad amoniowych, w ilości 0,5% w stosunku do suchej masy tkaniny. Kontrolę stanowiły odpowiednio nie modyfikowane włókna i tkanina.

W I etapie oceniano działanie bakteriostatyczne dwiema metodami jakościowymi: ISO/DIS 20645/2002 oraz AATCC 147/1998 z zastosowaniem szczepów ważnych z punktu widzenia zakażeń szpitalnych: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 11229) uwzględnionych w obu metodach oraz dodatkowo zastosowano *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027). Gęstość zawiesiny bakteryjnej, przygotowanej do badań zgodnie z warunkami podanymi w metodzie, wynosiła 1-2,9 x 10⁸ jkt/ml. Próbki testowe włókien i tkaniny nakładano na powierzchnię agaru w miejscu inokulacji szczepu bakterii. Działanie antybakteryjne oceniano po okresie inkubacji na podstawie obserwowanej strefy inhibicji – braku wzrostu mikroorganizmów na powierzchni agaru bezpośrednio pod próbką testową oraz wokół brzegu próbki testowej.

W II etapie podjęto badania działania bakteriobójczego z wytypowanymi w etapie I szczepami bakterii *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352) i *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), wobec których stwierdzono działanie przeciwbakteryjne (bakteriostatyczne) tkaniny.

Działanie bakteriobójcze tkaniny oceniano metodą ilościową ATCC Test Method 100-1998 w czasach kontaktu 0, 6 i 24 godz., a następnie obliczano współczynnik redukcji R.

W etapie III oceniano trwałość efektu bakteriostatycznego i bakteriobójczego tkaniny z wykończeniem antybakteryjnym. Próbki tkaniny poddawano w warunkach laboratoryjnych kolejnym procesom prania w następujących parametrach:

- temperatura prania 60°C,

- czas prania 20 min,
- z użyciem środka piorąco-dezynfekcyjnego przeznaczonego do jedno kąpielowego procesu prania w module 1:5 (stosunek tkaniny do kąpieli piorącej), o zakresie działania bakterio-, prątko-, grzybo- i wirusobójczym, zawierającego substancje aktywne: nadboran sodu i tetraacetyloetylenodiaminę
- płukanie 3 razy po 5 min,
- suszenie w 70°C przez 1 godzinę.

Przeprowadzono 25 cykli prania. Następnie sprawdzano efekt antybakteryjny metodą jakościową ISO/DIS 20645/2002 (działanie bakteriostatyczne) oraz metodą ilościową ATCC Test Method 100-1998 (działanie bakteriobójcze).

WYNIKI

Etap I:

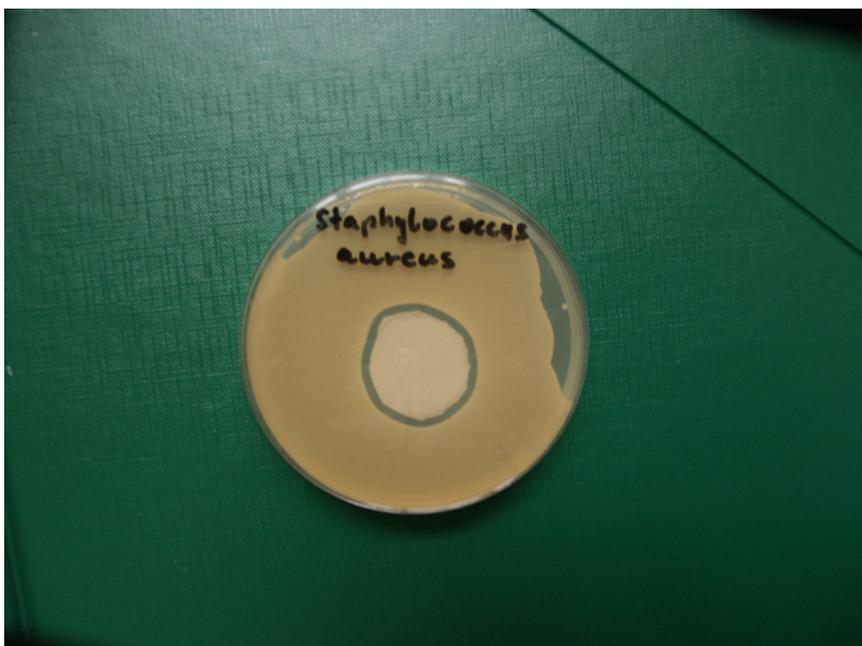
W badaniach jakościowych w obu metodach z zastosowaniem włókien nie wykazano ich działania przeciwbakteryjnego.

W obu metodach jakościowych stwierdzono działanie przeciwbakteryjne tkaniny wobec *Klebsiella pneumoniae* (Ryc. 1) i *Staphylococcus aureus* (Ryc. 2). Wykazano brak efektu antybakteryjnego wobec *Escherichia coli* (Ryc. 3) oraz *Pseudomonas aeruginosa*.

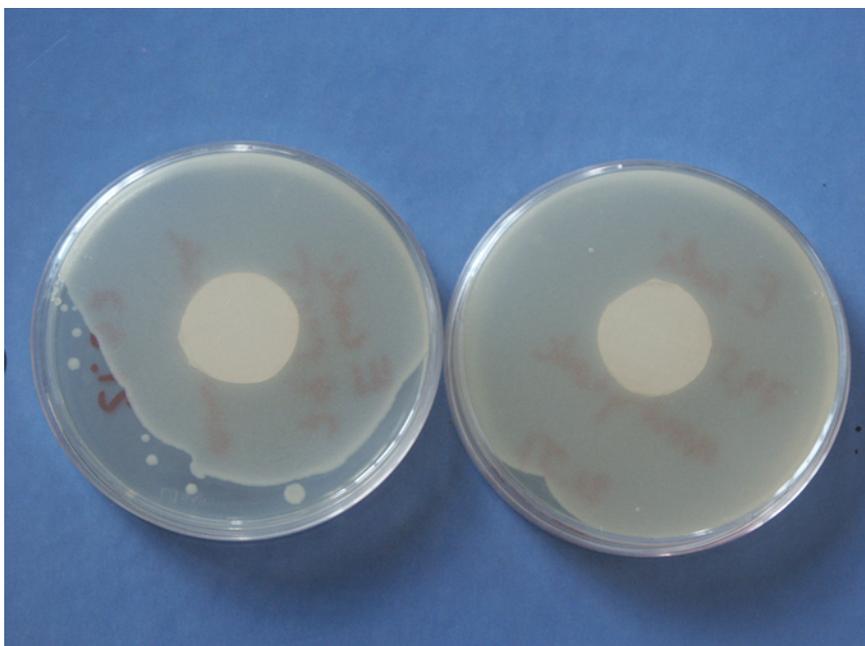
W metodzie AATCC 147/1998 uzyskano strefę ihibicji 4 mm (minimalna strefa świadcząca o działaniu antybakteryjnym – 1 mm) zarówno wobec *Klebsiella pneumoniae* i *Staphylococcus aureus*.



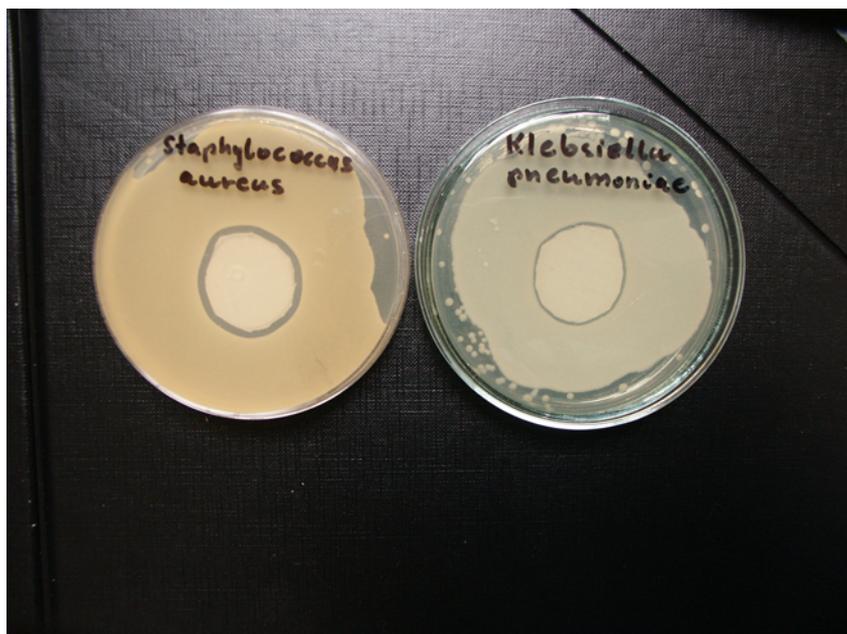
Ryc. 1. Strefa inhibicji – *Klebsiella pneumoniae* w porównaniu do kontroli
Inhibition zone – *Klebsiella pneumoniae* and control



Ryc. 2. Strefa inhibicji – *Staphylococcus aureus*
Inhibition zone – *Staphylococcus aureus*



Ryc. 3. Brak strefy inhibicji – *Escherichia coli*
No inhibition zone – *Escherichia coli*



Ryc. 4. Metoda ISO /DIS 20645/2002 – strefa inhibicji
Method ISO /DIS 20645/2002– inhibition zone

W metodzie ISO /DIS 20645/2002 przypadku *Staphylococcus aureus* uzyskano strefę inhibicji 8 mm, a w przypadku *Klebsiella pneumoniae* strefa inhibicji wynosiła 3 mm (Ryc. 4).

Etap II:

Metoda ilościowa

W próbkach zarówno z *Klebsiella pneumoniae* jak i ze *Staphylococcus aureus*, po czasach kontaktu 6 i 24 godz, uzyskano współczynnik redukcji ponad 90% (Tabela I).

Etap III:

Metoda jakościowa

Działanie bakteriostatyczne tkaniny wobec *Staphylococcus aureus* utrzymywało się po 5 praniach – strefa inhibicji 4 mm, po 10 praniach – strefa inhibicji 2 mm, po 20 praniach – strefa inhibicji 1 mm. Po 25 procesach prania strefa inhibicji była poniżej minimalnej strefy 1 mm świadczącej o efekcie antybakteryjnym.

Działanie bakteriostatyczne tkaniny wobec *Klebsiella pneumoniae* utrzymywało się znacznie krócej: po 5 praniach – strefa inhibicji 1 mm. Już po 10 praniach strefa inhibicji była poniżej strefy 1 mm.

Metoda ilościowa

Po kolejnych procesach prania współczynnik redukcji zarówno w przypadku *Klebsiella pneumoniae* jak i *Staphylococcus aureus* zmniejszał się (Tabela I).

Tabela I. Redukcja bakterii po cyklach prania laboratoryjnego uzyskana w metodzie ilościowej AATCC 100
Reduction of bacteria after laboratory laundering cycles in quantitative method AATCC 100

<i>Klebsiella pneumoniae</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
Liczba cykli prania	Redukcja bakterii (w%) po czasie kontaktu		Liczba cykli prania	Redukcja bakterii (w%) po czasie kontaktu	
	6 h	24 h		6 h	24 h
0	96	96	0	90	90
5	97	66	5	89	52
10	95	42	10	76	31

DYSKUSJA

Wyniki powyżej przedstawionych badań wskazują, że obie zastosowane metody jakościowe ISO /DIS 20645/2002 oraz AATCC 147/1998 są porównywalne przy ocenie bakteriostatycznego działania tkaniny z wykończeniem antybakteryjnym. Inni autorzy podają, że metody jakościowe oparte na zasadzie dyfuzji na pytkach agarowych nie są odpowiednie do badania materiałów z wykończeniem, które nie dyfunduje [5].

Ze względu na istniejące powinowactwo *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli* do tego samego rodzaju biocydów w projekcie normy europejskiej dopuszcza się stosowanie w testach na płytkach agarowych tych dwóch gram (-) bakterii zakładając, że aktywność antybakteryjna badanego wyrobu będzie na tym samym poziomie [1]. W naszych badaniach ta teoria nie potwierdziła się. Badana tkanina wykazywała aktywność antybakteryjną wobec *Klebsiella pneumoniae*, ale nie wobec *Escherichia coli*.

W wykonanych badaniach dodatkowo zastosowano *Pseudomonas aeruginosa*, ze względu na jego małą wrażliwość na środki dezynfekcyjne oraz zdolność nabywania oporności. Wykonane przez Krzywicką i wsp. badania wykazały mniejszą wrażliwość szczepów szpitalnych *Pseudomonas aeruginosa* na działanie czwartorzędowych soli amoniowych [3]. Również inni badacze stosowali *Pseudomonas aeruginosa* w badaniach oceny działania bakteriobójczego tkanin uzyskując podobne wyniki – ograniczone działanie wobec tego drobnoustroju [2, 7]. Uzyskane wyniki mogą stanowić podstawę do obawy, że stosowane do wykończenia tkanin środki chemiczne w stężeniach bakteriostatycznych będą mniej skuteczne w stosunku do szczepów szpitalnych o różnej oporności na leki i środki dezynfekcyjne.

Niektóre doniesienia podają, że działanie antybakteryjne tkaniny utrzymuje się po 50 [4], a nawet 100 praniach [6]. Rezultaty badań zdają się wskazywać na ograniczoną efektywność bakteriobójczą w stosunku do bakterii gram (-), takich jak *Klebsiella pneumoniae*. Efektywność w stosunku do bakterii gram (+) np. *Staphylococcus aureus* utrzymuje się po wielokrotnych (około 20) praniach w cyklu laboratoryjnym. Podobne wyniki uzyskali w swoich badaniach Wallace i Rearick [8]. W materiałach firm produkujących antybakteryjne materiały włókiennicze, podawana jest ocena trwałości efektu w funkcji liczby prań wykonanych w warunkach laboratoryjnych, jednak bez podania parametrów procesu pra-

nia, co ma istotny wpływ na zachowanie trwałości efektu bakteryjnego. W przeprowadzonych badaniach w warunkach laboratoryjnych, odbiegających znacznie od warunków prania w warunkach użytkowych, z zastosowaniem preparatów przeznaczonych do bielizny szpitalnej oraz zachowaniem przewidzianego modułu prania (stosunku bielizny do kąpieli piorącej) stwierdzona trwałość efektu antybakteryjnego w metodzie jakościowej nie była adekwatna do wyników uzyskanych w metodzie ilościowej. Problemy z jednoznacznością i interpretacją wyników uzyskiwanych w metodach ilościowych sygnalizowali również inni badacze [8]. Zastosowanie tych metod w ocenie efektu bakteriobójczego tkanin wymaga jeszcze dopracowania.

WNIOSKI

1. Metody jakościowe ISO /DIS 20645/2002 oraz AATCC 147/1998 są przydatne do oceny bakteriostatycznego działania materiałów włókienniczych z wykończeniem antybakteryjnym.

2. Zastosowanie metod ilościowych do oceny efektu bakteriobójczego tych materiałów wymaga dalszych badań.

3. Bakterie *Klebsiella pneumoniae* i *Staphylococcus aureus* wykazują większą wrażliwość niż *Escherichia coli* oraz *Pseudomonas aeruginosa* na zawarty w modyfikowanych wyrobach włókienniczych środek z grupy czwartorzędowych zasad amoniowych.

4. Trwałość efektu antybakteryjnego (po kolejnych praniach tkaniny z wykończeniem antybakteryjnym) utrzymuje się dłużej wobec do bakterii gram (+) niż w stosunku do bakterii gram (-).

B. Jakimiak, E. Röhm-Rodowald, M. Staniszevska, M. Cieślak,
G. Malinowska, A. Kaleta

MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT OF EFFICIENCY OF ANTIBACTERIAL MODIFIED TEXTILES

Summary

The application of antimicrobial finishes to textiles can prevent bacterial growth and might reduce the risk of infection resulting from textiles that are contaminated with pathogenic microorganisms in hospitals. The main aim of this study was the determination of the antibacterial activities of chemical treatments applied to textiles. Comparison of testing methods assessing antibacterial efficiency was conducted. These studies were performed in order to select the right methods of evaluating the bactericidal and bacteriostatic activity of antibacterial modified textiles.

Antibacterial modified polyester fibres and fabrics made from cotton (100%) applied with quaternary ammonium salts were tested. Textiles treated with bacterial agent were compared with reference samples (not treatment with the disinfectant). The Standards ISO/DIS 20645/2002 and AATCC 147/1998 suitable for assessment of bacteriostatic activity were applied. For assessment of bactericidal activity ATCC Test Method 100-1998 were applied. The bacterial strains recommended by the above standards such as: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 11229) was tested. Additionally *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) was examined. Tested fibres did not show antibacterial activity. Samples of antibacterial textiles were

washed through laboratory laundering cycles. Residual antimicrobial activity was measured after washes.

The fabric showed antibacterial activity against *K. pneumonia* and *S. aureus*. The examined specimens showed no bacteriostatic activity against *E. coli* and *P. aeruginosa*. The results obtained in two applied quality methods were comparable in assessing antibacterial activity of finishes. Reduction of bacteria in quantitative method was 90%. In quality method ISO/DIS 20645/2002 effectiveness of the treatment against *K. pneumonia* was retained up to five laundering cycles and against *S. aureus* – twenty laundering cycles.

PÍSMIENICTWO

1. CEN/TC 248/WG13 Resistance of Textiles to Microbiological Attack. Textiles – Determination of the antibacterial activity – Agar diffusion plate test.
2. *Hu S.-G, Jou C.-H, Yang M.-C.*: Surface grafting of polyester fiber with chitosan and antibacterial activity of pathogenic bacteria, *Journal of Applied Polymer Science* 2002, 86 (12), 2977-2983.
3. *Krzywicka H., Janowska J., Tadeusiak B.*: Zwalczenie *Pseudomonas aeruginosa* roztworami chemicznych środków dezynfekcyjnych. *Roczn. PZH* 1980, 30, 288-292.
4. *Mao J., Murphy L.*: Durable Freshness for Textiles-Antimicrobial Treatment. 39th International Man Made Fibres Congress 13-15.09.2000 Dornbirn/Austria.
5. *Ramachandran T., Rajendrakumar K., Rajendran R.*: Antimicrobial Textiles – an Overview, *IE (I) Journal –TX* 2004, 84, 42-47.
6. *Rahbaran S.*: Modal Fresh-Modal Fibres with Antibacterial Properties. 38th International Man-Made Fibres Congress 15-17.09.1999 Dornbirn /Austria.
7. *Takai K., Ohtsuka T., Senda Y., Nakao M., Yamamoto K.*: Antibacterial Properties of Antimicrobial-Finished Textile Products., *Microbiol. Immunol.* 2002, 46 (2), 75- 81.
8. *Wallace M.L., Rearick W.A.*: Improved Performance through Funcional Finishes, *Journal of Textile and Apparel. Technology and Management*, 2002, 2,1-8.

Otrzymano: 2005.01.10