

SPRAWOZDANIE

Z BADAŃ ODDZIAŁYWANIA WYBRANYCH MIKROORGANIZMÓW NA KOMPOZYTY ABS Z BIOCYDEM SEANTEX

/zlecenie 514011/

wykonane w WOJSKOWYM INSTYTUCIE CHEMII I RADIOMETRII
w Warszawie

12-11-2016

1. Materiały i metody

1.1. Materiały i metody badania właściwości antybakteryjnych preparatu SEANTEX.

Badania przeprowadzono dwuetapowo. W etapie pierwszym, wstępnym, określano działanie samego preparatu SEANTEX na wybrane mikroorganizmy. Do badań na bakteriach wytypowano następujące szczepy:

- *Escherichia coli* ATCC 10536;
- *Escherichia coli* D.01 (0157:H7);
- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300;
- *Bacillus anthracis* 34F2;

Wszystkie z wymienionych szczepów pochodziły z kolekcji Ośrodka Diagnostyki Zwalczania Zagrożeń Biologicznych Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Puławach. Bakterie hodowane były na podłożu TSI /Tryptose Soy Infusion/ przez 18 godzin, w temperaturze 37 °C a następnie wysiewane murawowo na podłożu TSA /Tryptose Soy Agar/. Po wyschnięciu posiewu badany preparat w formie zawiesiny wodnej o stężeniu od 20- 0,02 g/ml był nakraplany w ilości 10 mikrolitrów bezpośrednio na podłożę, oraz na położony na nim czysty krążek bibuły. Odczytu dokonywano po 24. godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C.

Działanie biobójcze preparatu określano mierząc średnicę strefy zahamowania wzrostu danego szczepu bakterii wokół miejsca naniesienia próbki.

1.2. Materiały i metody badania właściwości antygrzybowych preparatu SEANTEX.

Do badań na grzybach pleśniowych wytypowano następujące szczepy:

- <i>Aspergillus niger</i> ;	- <i>Penicillium ochro-chloron</i> ;
- <i>Aspergillus terreus</i> ;	- <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> ;
- <i>Aureobasidium pullulans</i> ;	- <i>Trichoderma viride</i> ;
- <i>Paecilomyces variotti</i> ;	- <i>Chaetomium globosum</i> .
- <i>Penicillium funiculosum</i> ;	

Szczepy grzybów pochodziły z kolekcji krajowej znajdującej się na Politechnice Łódzkiej. Skażone próbki poddano inkubacji w temperaturze $29\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez okres 28 dni. Wilgotność względna w komorze cieplarki była wyższa niż 90%.

Należy tu dodać, że preparat SEANTEKX rozpuszcza się w wodzie w niewielkim stopniu, więc jego dyfuzja w podłożu agarowym jest niewielka, niezależnie od tego czy wprowadzany jest do niego w formie proszku, czy zawiesiny wodnej.

W etapie drugim badano kompozyty polipropylenowe zawierające różnej wielkości dodatek biocydu SEANTEKX, tylko na wyżej wymienionych szczepach grzybów pleśniowych. Badania wykonano według normy PN-EN ISO 846 metodą A i B.

Próbki badane były na dwóch rodzajach podłoża:

- podłoże niepełne (bez glukozy) – CD(-S) - niepełnowartościowe
- podłoże pełne (z glukozą) – CD(+S)

Podłoże niepełne stosuje się do ustalenia, czy badany materiał jest źródłem pożywienia dla grzybów pleśniowych (metoda A). Podłoże pełne stosuje się w celu ustalenia, czy badany materiał ulega działaniu grzybów pleśniowych w obecności dodatkowego źródła węgla (metoda B). Oceny odporności badanych próbek na działanie wyżej wymienionych grzybów pleśniowych dokonano metodą wizualną przy użyciu pięciostopniowej skali podane w poniższej tabeli:

Tab. 1.

Intensywność wzrostu	Ocena
0	Brak widocznego pod mikroskopem wzrostu grzybów na próbce
1	Wzrost niewidoczny nieuzbrojonym okiem, lecz wyraźnie widoczny pod mikroskopem
2	Wzrost dostrzegalny nieuzbrojonym okiem, ale mniej niż 25% powierzchni pokryte grzybem (słaby wzrost grzybów)
3	Wzrost dostrzegalny nieuzbrojonym okiem, pokrywający do 50% powierzchni badanej
4	Znaczny wzrost grzybów pokrywający więcej niż 50% powierzchni badanej
5	Intensywny wzrost, pokrywający całą badaną powierzchnię

Zasady interpretacji wyników badania odporności materiałów na działanie grzybów pleśniowych według normy PN-EN ISO 846.

Tab.2.

Metoda	Intensywność wzrostu	Ocena badanego materiału
A	0	Materiał nie jest pożywką dla mikroorganizmów
	1	Materiał zawiera substancje stanowiące pożywkę lub jest zanieczyszczony w niewielkim stopniu, umożliwiającym nieznaczny wzrost
	od 2 do 5	Materiał nie jest odporny na działanie grzybów i zawiera substancje stanowiące pożywkę dla rozwoju mikroorganizmów
B	0	Silny efekt grzybostatyczny
	0 + strefa inhibicji dookoła próbki	Silny efekt grzybostatyczny, obejmujący strefę dookoła próbki w skutek dyfuzji
	1	Materiał nie jest całkowicie grzybostatyczny
	od 2 do 5	Całkowity brak efektu grzybostatycznego

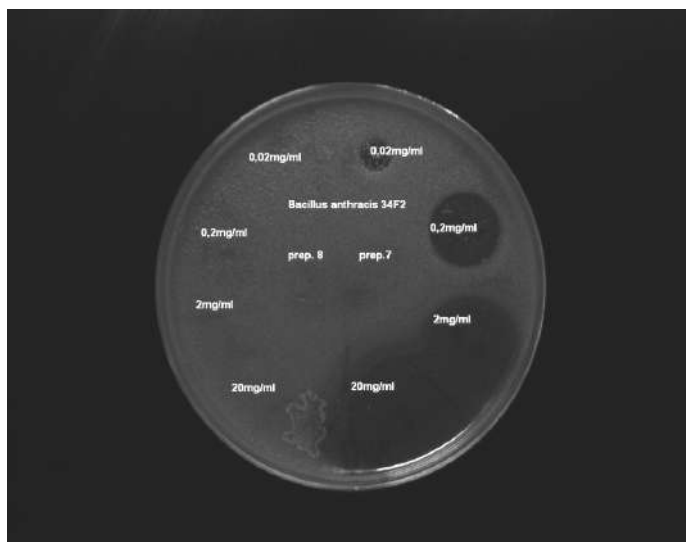
2. Wyniki badań właściwości biobójczych preparatu SEANTEX

2.1. Wyniki badań właściwości antybakteryjnych

Tab.3.

Szczep/preparat	Stężenie	SEANTEX
Szczepy bakteryjne		
Escherichia coli ATCC 10536	20mg/ml	++
	2 mg/ml	++
	0,2 mg/ml	++
	0,02 mg/ml	+
Escherichia coli D.01 (O157:H7)	20mg/ml	++
	2 mg/ml	++
	0,2 mg/ml	++
	0,02 mg/ml	+
Staphylococcus aureus ATCC 43300	20mg/ml	++
	2 mg/ml	++
	0,2 mg/ml	+/-
	0,02 mg/ml	-
Bacillus anthracis 34F2	20mg/ml	++
	2 mg/ml	++
	0,2 mg/ml	++
	0,02 mg/ml	+/-

++ strefa klarownej lizy > 10mm + strefa klarownej lizy < 10mm, +/- strefa mętnej lizy,
- brak strefy lizy



Fot.1. Przykładowe zdjęcie obrazujące bakteriobójcze działanie preparatu SEANTEX (oznaczonego prep.7)

Przebadano bakteriobójcze właściwości preparatu SEANTEX wobec szczepów *Escherichia coli* ATCC 10536, *Escherichia coli* D.01 (O157:H7), *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Bacillus anthracis* 34F2. Wszystkie badane stężenia preparatu wykazały silne działanie bakteriobójcze co obrazuje przykładowe zdjęcie powyżej. Na zdjęciu preparat SEANTEX oznaczony jest jako preparat 7. Ciemne, okrągłe strefy są miejscami nakropienia odpowiednich stężeń i pokazują lizę komórek bakteryjnych w tych miejscach.

2.2. Wyniki badań właściwości antygrzybowych.

Tab.4. Odporność poszczególnych szczepów grzybów pleśniowych na preparat SEANTEX.

Szczep grzybowy	SEANTEX
<i>Aspergillus niger</i>	-
<i>Aspergillus terreus</i>	-
<i>Aureobasidium pullulans</i>	-
<i>Paecilomyces variotti</i>	+
<i>Penicilium funiculosum</i>	+
<i>Penicilium ochro-chloron</i>	+
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	+
<i>Trichoderma viride</i>	+
<i>Chaetomium globosum</i>	+

+ obecna strefa zahamowania wzrostu,
 - brak strefy zahamowania wzrostu.

Szczepy *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Aureobasidium pullulans* są odporne na zastosowane w badaniu stężenie preparatu SEANTEX.

Zdjęcia wykonywano po 28 dniach inkubacji w temp. $29 \pm 1^{\circ}\text{C}$.



Fot.2. Przykładowe zdjęcie obrazujące grzybobójcze działanie preparatu SEANTEX

Badanie właściwości próbek z ABS dodatkiem preparatu SEANTEX

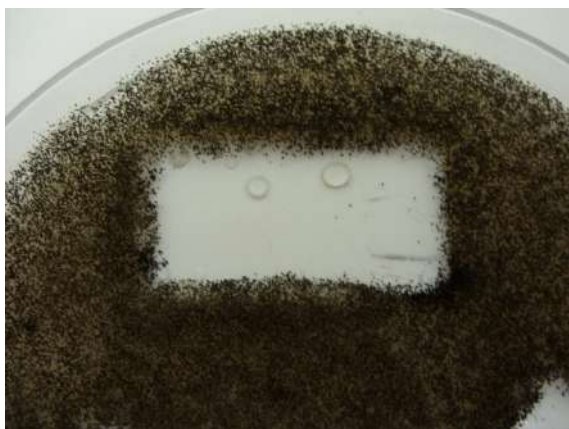
poz. 1 i 3 próbki z wyrobu „wypraski laboratoryjne”

poz. 2 kompozyt

Tab.5. Wyniki badań właściwości antygrzybowych próbek ABS z różną zawartością SEANTEX

	Próbki ABS z różną zawartością SEANTEX	Wyniki odporności na podłożu CD(+S)
1	ABS +SEANTEX 3g/1000g	0
2	ABS +10%SEANTEX	0
3	ABS +SEANTEX 15g/1000g	0

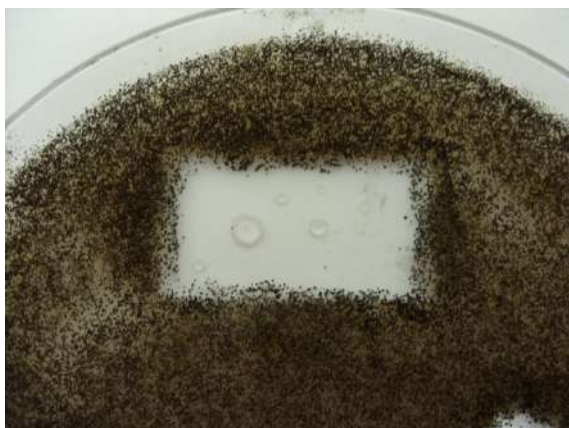
Dokumentacja fotograficzna próbek po zakończeniu badania odporności na grzyby (po 28 inkubacji)



Fot.1. próbka ABS +SEANTEX (3g/1000g) na podłożu CD(+S)



Fot.2. próbka ABS +10% SEANTEX na podłożu CD(+S)



Fot.3. próbka ABS +SEANTEX (15g/1000g) na podłożu CD(+S)

Zdjęcie wykonane kamerą pod mikroskopem stereoskopowym przy powiększeniu ok. 50-krotnym



Na zdjęciu widać, że próbka nie jest atakowana przez grzyby. Strzępki pleśni jedynie przykrywają brzeg próbki ze względu na to, że znajdują się znacznie wyżej od powierzchni próbki.