

WĘGRZYNKIEWICZ Sylwia, HAJDUGA Maciej, SOŁEK Dariusz, JĘDRZEJCZYK Dariusz: Wydział Budowy Maszyn i Informatyki, Akademia Techniczno- Humanistyczna, Bielsko- Biała

WPŁYW TOPOGRAFII POWŁOK CYNKOWYCH NA STOPIEŃ ADHEZJI FLORY BAKTERYJNEJ TYPOWEJ DLA ŚRODOWISKA SZPITALNEGO

Autorzy badali wpływ topografii powłok cynkowych na stopień adhezji flory bakteryjnej. Do testów wytypowano śrubę kółka jezdnego łóżka szpitalnego. Zidentyfikowano florę bakteryjną zasiedlającą skorodowany obiekt. Oceniono adhezję wybranych szczepów bakterii na powierzchniach z powłoką Zn ogniową i galwaniczną oraz sprawdzono właściwości bakteriobójcze. Na skorodowanych elementach konstrukcyjnych zidentyfikowano - *S. aureus*. Oceniono, że na stopień adhezji wpływa skład chemiczny podłoża (obecność tlenku cynku efektywniej hamuje adhezję niż pasywowana jonami Cr³⁺ powłoka Zn galwaniczna).

1. WSTĘP.

W każdym szpitalu obowiązują zasady, których celem jest utrzymanie właściwego stanu sanitarno – epidemiologicznego i sanitarnego. Procedury nakazują usuwanie wszelkich substancji umożliwiających rozwój bakterii (np. ropa, mocz, kał, krew, kurz i inne) ze sprzętu i otoczenia chorego celem wyeliminowania źródeł zakażeń szpitalnych [1-3]. Czynniki takie jak drobnoustroje szpitalne, drogi przenoszenia zakażeń i obniżona odporność immunologiczna chorego odrębnie nie wpływają na wzrost ryzyka zakażenia. Natomiast we wzajemnej korelacji są bardzo niebezpieczne. Groźna dla pacjentów może stać się normalna flora bakteryjna, która u ludzi zdrowych nie wywołuje infekcji [1,4].

Chory jest narażony na niebezpieczeństwo zakażenia tak długo jak długo flora bakteryjna pozostaje na powierzchni sprzętu szpitalnego, diagnostycznego bądź rehabilitacyjnego.

Nie wszystkie placówki posiadają wysoki standard dezynfekcji sprzętu. Ręcznie myte są powierzchnie tylko widoczne. Pozostałe części tj. przeguby, kółka jezdne, sprężyny z uwagi na trudny dostęp są czyszczone sporadycznie lub w ogóle. Części te są nośnikiem i kumulacją wszelkiego rodzaju związków chemicznych i drobnoustrojów. W znacznej mierze przyspieszają korozję [5,6].

Wykorzystywane w warunkach szpitalnych części stalowe chronione są przed korozją powłokami metalicznymi i malarskimi. Wybrane elementy osprzętu szpitalnego zabezpieczone są też powłokami typu Ni, Cr, Cu, a także Zn ogniowo bądź galwanicznie. Cynkowanie ogniowe z uwagi na estetykę powłoki jest stosowane rzadko. W zakresie odporności warstwa zewnętrzna zapewnia niezbędną ochronę, zwłaszcza w początkowym

okresie eksploatacji [7,8]. Działanie środków chemicznych oraz flory bakteryjnej i w znacznym stopniu wpływa na zmniejszenie odporności korozyjnej powłok Zn. Na przykład destrukcja warstwy Zn tytułem pojawienia się korozji miejscowej pociąga za sobą narastanie flory bakteryjnej oraz jej rozprzestrzenianie.[6]

Celem pracy jest identyfikacja bakterii znajdujących się na skorodowanych elementach konstrukcyjnych łóżka szpitalnego. Dalej określenie stopnia adhezji komórek bakteryjnych na powłokach cynkowych o zróżnicowanym przygotowaniu warstwy wierzchniej.

2. METODYKA BADAŃ

2.1. Przygotowanie materiału do badań.

Materiał przeznaczony do badań pobrano z łóżka szpitalnego (rys. 1a). Konstrukcja łóżka była wsparta na elementach jezdnych- 4 kółka, o obręczach stalowych. Wykładzinę stanowiła opaska gumowa (rys. 1b). Kółko jezdne było zamontowane obrotowo na osi z powłoką ocynkowaną galwanicznie. Stanowiła ona główny obiekt badań (rys. 1c).



Rys. 1. Obiekt badań: (a) łóżko szpitalne rehabilitacyjne, (b) kółko jezdne łóżka szpitalnego, (c) śruba kółka jezdnego

Po demontażu osi zaobserwowano, że śruba jest pokryta warstwą tlenków (korozja wżerowa). Pierwszym etapem prac była analiza identyfikacji flory bakteryjnej zasiedlającej skorodowane miejsca obiektu. W drugim natomiast określono stopień adhezji wybranych gatunków bakterii na powłokę Zn - galwaniczną i ogniową oraz sprawdzono właściwości bakteriobójcze.

W celu przeprowadzenia drugiego etapu badań ze śruby wycięto próbki o geometrii walca-średnica 10mm i wysokość 7mm. Zostały one podzielone na trzy grupy, które poddano procesowi cynkowania ogniowego i galwanicznego. Podział materiału do badań adhezyjnych przedstawia tabela 1.

Tabela 1) Materiał przeznaczony do badań adhezyjnych.

Nr próbki	Zabezpieczenie antykorozyjne	Przygotowanie powierzchni	Parametry procesu
1	Cynkowanie ogniowe z temp. otoczenia	<u>Obróbka mechaniczna</u> : szlifowanie; <u>Obróbka chemiczna</u> : trawienie w kwasie solnym, topnikowanie	Kąpiel o składzie: Z1 + stop ZnNiBi Temperatura kąpeli: 460°C
2	Cynkowanie ogniowe z temp. 250°C	<u>Obróbka mechaniczna</u> : szlifowanie; <u>Obróbka chemiczna</u> : trawienie w kwasie solnym, topnikowanie; <u>Dodatkowo</u> : wygrzewanie w piasku kwarcowym w temp. 250°C	
3	Cynkowanie galwaniczne z pasywacją Cr ³⁺	<u>Obróbka mechaniczna</u> : szlifowanie; <u>Obróbka chemiczna</u> : odtłuszczenie chemiczne, trawienie w kwasie siarkowym, trawienie w kwasie solnym, odtłuszczenie elektrochemiczne, aktywacja.	Kąpiel na bazie Cr ³⁺ Temp – 300C pH – 2,1

Na ocynkowanych próbkach zmierzono chropowatość Ra. Badanie przeprowadzono na profilometrze Perthometer Concept (MAHR). Wyniki zamieszczono na rys. 2.

2.2 Metodyka badań identyfikacji bakterii na skorodowanych elementach konstrukcyjnych.

Celem identyfikacji bakterii materiał z korozją inkubowano w temp. 37°C w 50ml BHI. Co godzinę hodowle mieszano przez 5 minut na wytrząsarce, a następnie wykonywano posiew powierzchniowy na BHI agar: po pierwszej godzinie 0,5ml w kolejnych godzinach 0,1ml. Po 24 godzinach inkubacji kolonie identyfikowano i liczone. Następnie na wybrane podłoża diagnostyczne (BHI agar, Mc, Sól, Edwards itp.) wysiewano powierzchniowo 0,1ml każdej hodowli płynnej w rozcieńczeniu 10⁻⁴ i 10⁻⁶, inkubowano w temperaturze 37 °C. Następnie w celu końcowej identyfikacji bakterii przeprowadzone testy biochemiczne API.

2.3 Metodyka badań adhezyjnych na próbkach modelowych.

Na podstawie wyników badań identyfikacyjnych do dalszych analiz wytypowano bakterie charakterystyczne dla środowiska szpitalnego. Są to: *Staphylococcus aureus* (Gronkowiec złocisty), *Streptococcus mutans* (Paciorkowiec z jamy ustnej), *Streptococcus baumani* (Paciorkowiec), *Pseudomonas aeruginosa* (Pałeczka ropy błękitnej), *Escherichia coli* (Pałeczka okrężnicy), *Candida albicans* (Grzyb) [9,10].

W celu wykonania testu zawiesinę wybranych szczepów bakterii w objętości 2 ml (gęstość 2x10⁶ bakterii na 1 ml PBS) inkubowano z próbkami ocynkowymi na mikroplątce przez 1 godzinę w temperaturze 25° C. Inkubacja poprzedzona była 10 minutowym mieszaniem płytki na wytrząsarce w celu równomiernego rozprowadzenia bakterii. Po zakończonej inkubacji próbki

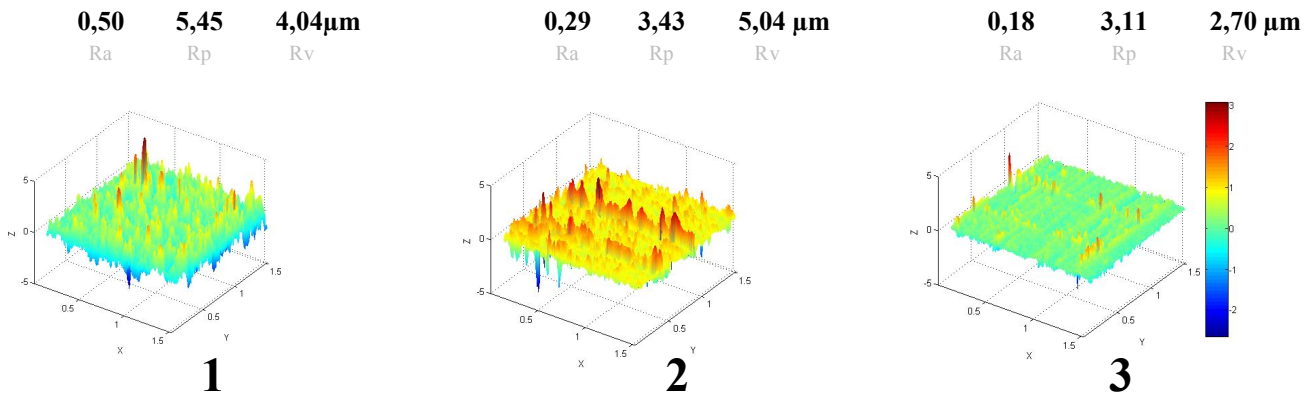
ocynkowane płukano 3 krotnie w PBS. Następnie wykonywano test redukcji MTT i bezpośrednie liczenie bakterii na mikroskopie fluorescencyjnym Zeiss.

Celem obliczenia liczby bakterii ulegających adhezji na polu o średnicy 0,08mm zastosowano oranż akrydyny. Liczenia dokonano przy powiększeniu 100x.

3. WYNIKI BADAŃ

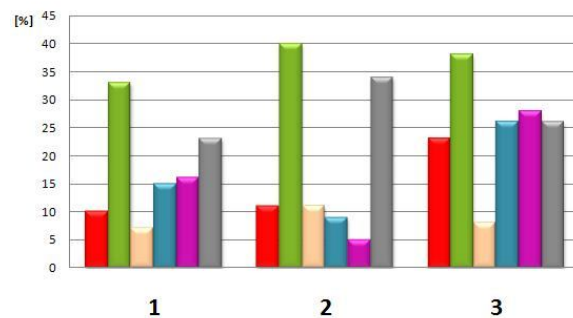
Na skorodowanych elementach konstrukcyjnych zidentyfikowano *Staphylococcus aureus*.

Wyniki badań topografii powierzchni próbek z powłoką Zn galwaniczną i ogniową przedstawia rys. 2. Gdzie **Ra**- to średnia arytmetyczna rzędnych profilu, **Rp**- wysokość najwyższego wzniesienia profilu, **Rv**- głębokość najniższego wgłębienia profilu.

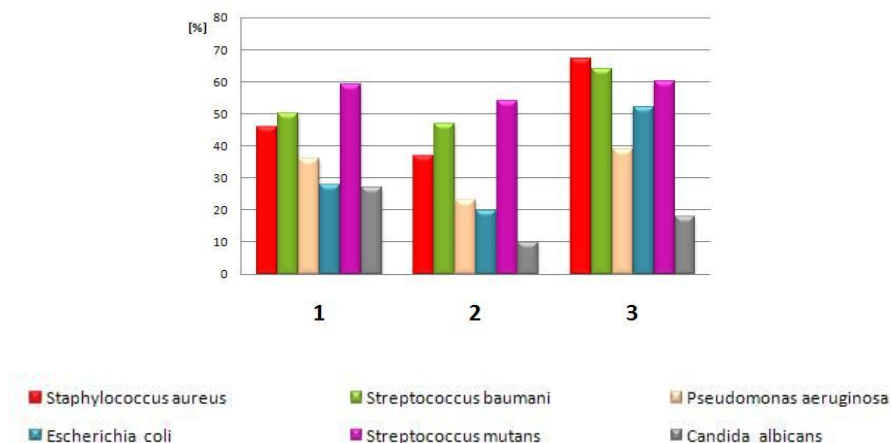


Rys. 2. Topografia powierzchni próbek 1,2- z powłoką Zn ogniową, 3- z powłoką Zn galwaniczną

Na rys. 3 i 4 przedstawiono wyniki badań określające stopień adhezji na wybranych grupach bakterii, typowych dla środowiska szpitalnego.



Rys. 3. Liczba komórek bakterii ulegających adhezji na powierzchniach próbek 1, 2- z powłoką Zn ogniową, 3- z powłoką Zn galwaniczną



Rys. 4. Zagęszczenie komórek bakterii na polu o średnicy 0,08mm na powierzchniach próbek 1, 2- z powłoką Zn ogniową, 3- z powłoką Zn galwaniczną

Dodatkowo sprawdzono właściwości bakteriobójcze powłoki Zn galwanicznej i ogniowej. Wszystkie próbki z powłoką Zn wykazały własności hamujące narastanie bakterii.

3. Dyskusja wyników

W fachowej literaturze w sposób szczegółowy opisane jest zjawisko adhezji bakterii typowych dla środowiska szpitalnego do podłoża biotycznego i abiotycznego [11,12]. W przeglądzie piśmiennictwa nie spotkano publikacji dotyczących wpływu powłok Zn na adhezję bakterii w środowisku szpitalnym.

Na skorodowanych elementach konstrukcyjnych kółka jezdnego łóżka szpitalnego zidentyfikowano- *S. aureus*. Świadczy to o mało skutecznym działaniu środków dezynfekcyjnych i odporności tej bakterii na ich oddziaływanie. *S. aureus* w otoczeniu pacjenta z obniżoną odpornością immunologiczną stanowi źródło infekcji i zakażenia ogólnoustrojowego, które może doprowadzić do śmierci.

Na przyleganie bakterii do podłoża wpływa chropowatość powierzchni [11]. W badanym przypadku powłok Zn nie potwierdzono tego faktu. Najmniejszym parametrem Ra charakteryzuje się próbka z powłoką Zn galwaniczną 0,18 μ m, największym próbka ocynkowana ogniowo (1) 0,50 μ m.

W warunkach laboratoryjnych najwięcej komórek *S. aureus* zaadhedowało na próbkach z powierzchnią Zn galwaniczną (23%). O połowę mniej na powierzchnię Zn ogniową. Wyniki badań adhezyjnych dla pozostałych gatunków wskazują na lepsze przyleganie pozostałych bakterii (*E. Coli*, *S. mutans* i *C. albicans*) do próbki z powłoką Zn galwaniczną. W przypadku materiału z powłokami Zn ogniowymi, zaobserwowano mniejszą adhezję bakterii na próbkach cynkowanych z temp. 250°C. Świadczy to o obecności na powierzchni powłoki Zn tlenku cynku co efektywniej hamuje adhezję bakterii niż pasywowana jonami Cr³⁺ powłoka Zn galwaniczna.

Wszystkie próbki z powłoką Zn wykazały własności hamujące narastanie bakterii. Topografia powierzchni elementów konstrukcyjnych z powłoką Zn ogniową ogranicza ich wykorzystanie w warunkach szpitalnych. Celem zastąpienia powłok Zn galwanicznych na rzecz ogniowych należy rozważyć prowadzenie procesu polerowania powłoki cynku lub dobór odpowiednich dodatków uszlachetniających.

Na podstawie powyższych badań i dyskusji wyników można wnosić co następuje:

- Na skorodowanych elementach konstrukcyjnych łożka szpitalnego zidentyfikowano *S. ureus* co świadczy o znacznej odporności na środki bakteriobójcze oraz niezadowalającą jakością procesów dezynfekcyjnych.
- Ocynkowane ogniwo powierzchni w większym stopniu wpływają na hamowanie adhezji komórek.
- Polerowane powłoki Zn ogniwo lub wzbogacone odpowiednimi dodatkami uszlachetniającymi mogą stać się najlepszym zabezpieczeniem antykorozyjnym w warunkach szpitalnych.

LITERATURA

- [1] Fiedotow M., Denys A. „Wybrane aspekty zakażeń szpitalnych” Pol. Merk. Lek., 2006, XXI, 125, 484
- [2] Wójkowska – Mach J., Gryglewska B., Grodzicki P., Heczko B. „Definicje i kryteria rozpoznawania zakażenia szpitalnego oraz zakażenie w instytucjonalnej opiece długoterminowej”, Gerontologia Polska, tom 18, nr1, 10-15
- [3] Ustawa z dn. 5 grudnia 2008r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi (Dz. U. 2008r., nr234, poz. 1570)
- [4] Kramer A., Schwebke I., Kampf G. „Jak długo patogeny szpitalne mogą przetrwać na powierzchniach nieożywionych? Przegląd systematyczny.” BioMed Central. Choroby zakaźne. 16/08/2006 www.biomedcentral.com
- [5] Staniszevska M., Jakimiak B., Rohm- Rodwald E. „Dezynfekcje w wybranych szpitalach warszawskich- wyniki ankiety” www.zakazenia.com 2005/05
- [6] Wieczorek G. „Czynniki biologiczne jako stymulatory chemicznych reakcji korozyjnych”. Ochrona przed korozją, 2004, 6, 150-151
- [7] Wesołowski J. „Powłoka cynkowa na stali- powstawanie, budowa i właściwości”.
- [8] Liberski P., Kania H., Podolski P., Tatarek A., Mendala J. „Rola warstwy zewnętrznej powłoki cynkowej w ochronie stopów żelaza przed korozją”. Ochrona przed korozją, 2006, 4, 132-135
- [9] Dzierżanowska D., Pawińska A., Kamińska W., Patzer J. „Lekoodporne drobnoustroje w zakażeniach szpitalnych” Post. Mikrobiol. 2004, 43, 1, 81-105
- [10] Przybylski M. „Enterokoki odporne na wankomycynę. I. Chorobotwórczość.” Post. Mikrobiol. 2007, 46, 4, 301-316
- [11] Klimek L., Jakubowski W., Banaszek K. „Adhezja bakterii na modyfikowanych powierzchniach protetycznego stopu Ni-Cr-Mo. Badania wstępne.” Protet. Stomatol. 2007, LVII, 1, 60-64
- [12] Soblewska E., Frączak B., Czernomysy-Furowicz D., Ey-Chmielewska H., Karakulska J. „Adhezja bakterii do powierzchni różnych materiałów protetycznych” Roczniki Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie, 2007, 53, 2, 65-71