

Marta Anna HAJDUGA, Katedra i Zakład Fizjologii, Śląski Uniwersytet Medyczny, Zabrze,

Maciej HAJDUGA, Katedra Podstaw Budowy Maszyn, Akademia Techniczno-Humanistyczna, Bielsko-Biała

Dariusz SOŁEK, Concept Sp. z o.o., Bielsko-Biała

Dariusz JĘDRZEJCZYK, Katedra Podstaw Budowy Maszyn, Akademia Techniczno-Humanistyczna, Bielsko-Biała

TOKSYCZNOŚĆ I BOKOMPATYBILNOŚĆ WYBRANYCH POWŁOK LAKIERNICZYCH

Streszczenie: Karetka pogotowia transportująca pacjentów z chorobami zakaźnymi często może być źródłem kolejnych infekcji. Powodem może być m.in jej specjalna konstrukcja - wąska przestrzeń wewnątrz pojazdu, zbyt słaby system wentylacji oraz specyfika znajdujących się tam urządzeń. Problem ten jest dosyć dobrze znany, ale niewiele danych dotyczy wpływu stanu powierzchni wewnętrznych karetki. Badania były zogniskowane na toksyczności i biogodności stalowych powierzchni pokrytych różnymi powłokami, które mogą być wykorzystane jako materiał wewnętrznego poszycia pojazdu medycznego.

Słowa kluczowe: fibroblasty, toksyczność, powłoka lakiernicza, cynk, ambulans

1. WSTĘP

Ochrona pacjentów przed kolejnymi infekcjami jest istotnym tematem w poprawie opieki zdrowotnej. Powierzchnie wewnętrzne karetek pogotowia, transportujących chorych, są oczywiście dezynfekowane. Jednak nie zawsze stosowane procedury są w 100% skuteczne. Stąd też wynika dodatkowe zagrożenie dla pacjentów generowane przez środki transportu, które mogą być źródłem infekcji [1]. Sprzyjają temu m.in. ograniczenia konstrukcyjne, wąska przestrzeń ambulansu oraz zastosowane tam urządzenia. Skomplikowany kształt używanego sprzętu sprawia, że utrzymanie go w czystości oraz dezynfekcja są w znacznym stopniu utrudnione [2,3]. Z tego względu prowadzone są badania dotyczące materiałów, które mają być jak najbardziej aseptyczne, ale jednocześnie nietoksyczne w stosunku do żywych komórek.

Do badań toksyczności zalecanych jest kilka metod. Wybrany test bezpośredniego kontaktu, a także test ekstraktu wykonane zostały zgodnie z normą ISO 10993-5 - wytyczne dla "Biologicznej oceny wyrobów medycznych" [4]. Dzięki inkubacji komórek w bezpośrednim kontakcie z próbkami można oszacować cytotoksyczność nowych materiałów. Natomiast badanie ekstraktu ocenia potencjalnie niekorzystny wpływ materiałów lub uwalnianych z nich substancji na komórki. Linie komórkowe również zostały wybrane według odpowiednich kryteriów [5].

Celem naszych badań było określenie i porównanie cytotoksyczności i biogodności różnych powłok na powierzchniach stalowych.

2. METODYKA BADAŃ

2.1. Przygotowanie materiału badawczego

Do badań wytypowano siedem różnych próbek stalowych, o wymiarach 100x100x1.5mm, z różnymi powłokami: antybakteryjną, cynkową – galwaniczną i lamelową, poliestrowo-epoksydową – białą, brązową, zieloną i niebiesko-zieloną (tabela 1). Przed hodowlą komórek i ekstrakcją próbki dezynfekowano w 96% etanolu i sterylizowano przez 15 minut za pomocą promieniowania UV.

Tabela 1. Charakterystyka próbek

Próbki	Typ powłoki	Kolor	Ra [μm]
1	Antybakteryjna	Jasnożółty	0,15
2	Cynk galwaniczny	Złoty	0,42
3	Cynk lamelowy	Srebrny	0,56
4	Poliestrowo-epoksydowa	Biały (RAL 9002)	0,16
5	Poliestrowo-epoksydowa	Brązowy (RAL 8028)	0,16
6	Poliestrowo-epoksydowa	Zielony (RAL 6024)	0,16
7	Poliestrowo-epoksydowa	Niebiesko-zielony (RAL 5018)	0,16

2.2. Hodowla komórkowa

Wytypowane linie komórkowe, fibroblasty mysie (NIH/3T3), hodowano w Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM) zawierającym 10% płodowej surowicy cielęcej (FCS), penicylinę i 100μg/ml streptomycyny, w standardowych warunkach do hodowli (37 °C i 5% CO₂).

2.3. Badania toksyczności próbek: test bezpośredniego kontaktu i test ekstraktu

W celu oceny cytotoksyczności wykonano test bezpośredniego kontaktu. Do hodowli komórkowych na próbkach wprowadzano fioletowy barwnik i badano mikroskopowo zmiany morfologiczne. W celu porównania wyników, przygotowano również próbki wykonane z miedzi (kontrola pozytywna) i tytanu (kontrola negatywna), na których hodowano komórki.

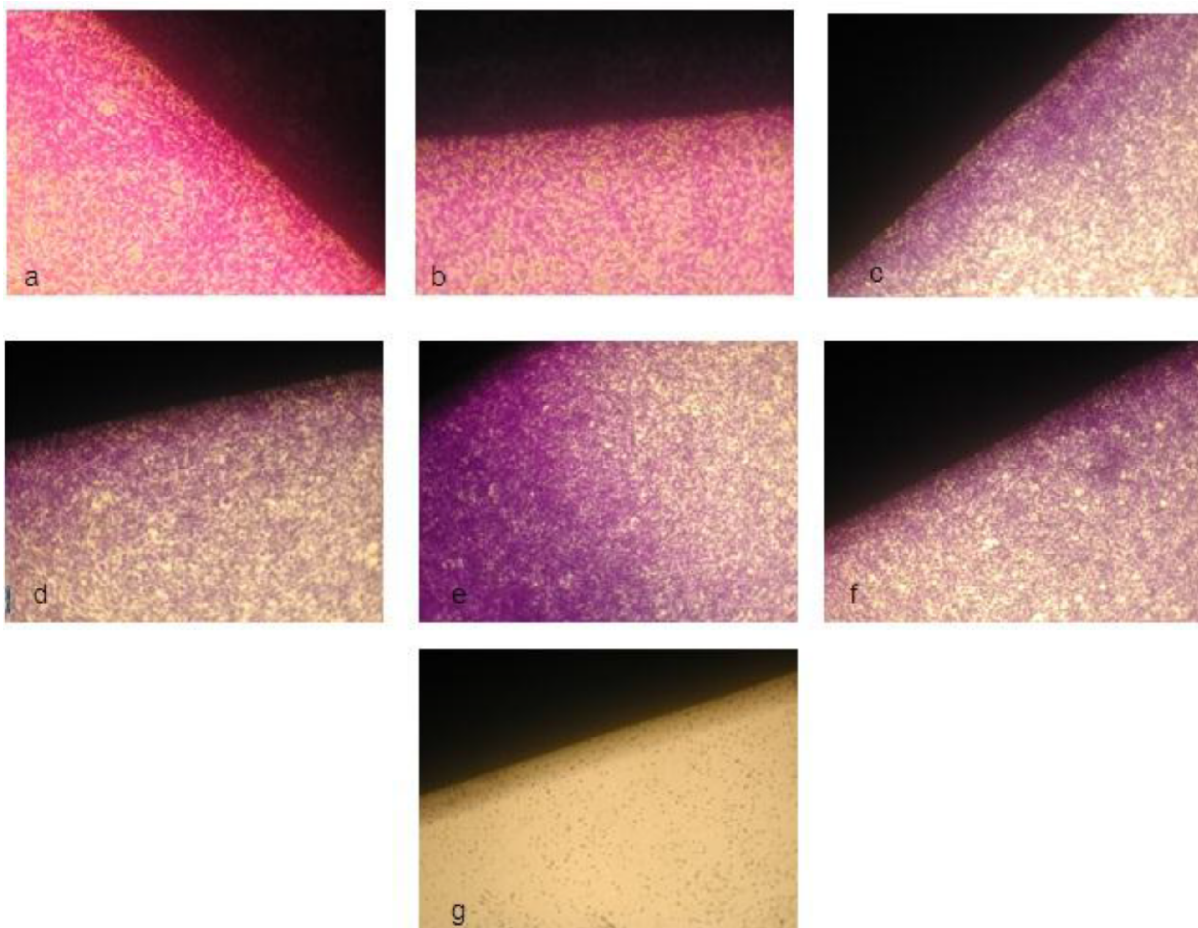
Następnie zastosowano test ekstraktu. Do analizy żywotności i proliferacji komórek wykorzystano MTT (sól 3 (4,5-dimetylotiazol-2-ilo) -2,5-difenyloctetrazolowa). Otrzymany barwny produkt przeprowadzonej reakcji wykrywano przy zastosowaniu fotometru przy długości fali 540 nm. Ekstrakt został rozcieńczony w stosunku 1:1 (50%), 1:3 (25%), 1:9 (5%) i 1:99 (1%). Dla porównania wyników, przy końcowym stężeniu 1% w pożywce bez surowicy zastosowano Triton X-100, jako kontrolę pozytywną, oraz polistyren, jako kontrolę negatywną.

3. WYNIKI BADAŃ I PODSUMOWANIE

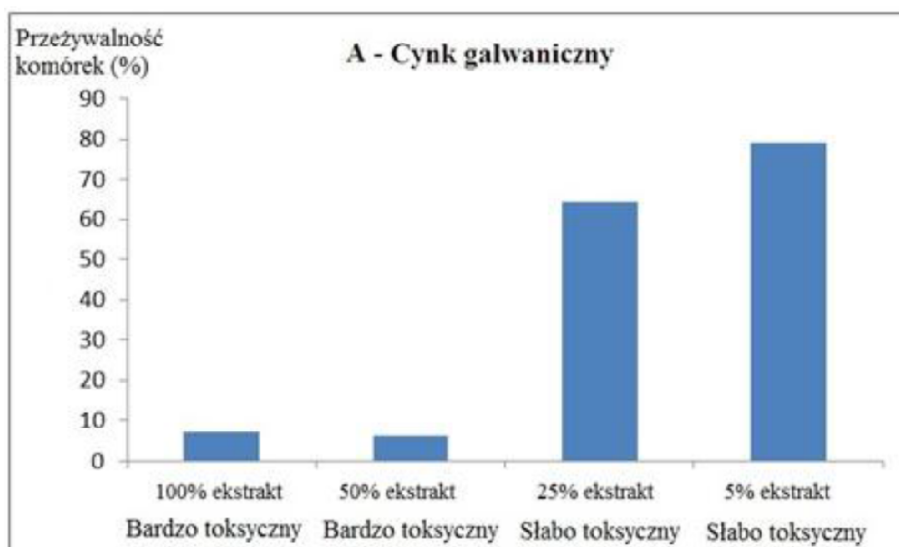
Siedem stalowych (DC01) próbek z różnymi powłokami lakierniczymi i powłokami cynkowymi było ocenianych w celu ustalenia poziomu toksyczności. Chropowatość powierzchni Ra i topografia 3D zostały określone przy zastosowaniu przyrządu pomiarowego - Profilometru Concept (MAHR).

Po wykonaniu testu bezpośredniego kontaktu, stwierdzono brak toksyczności względem komórek żywych w przypadku pięciu badanych próbek z następującymi powłokami: antybakteryjną, poliestrowo-epoksydową białą - RAL 9002, poliestrowo-epoksydową brązową - RAL 8028, poliestrowo-epoksydową zieloną - RAL 6024 oraz poliestrowo-epoksydową niebiesko-zieloną - RAL 5018 (rys. 1).

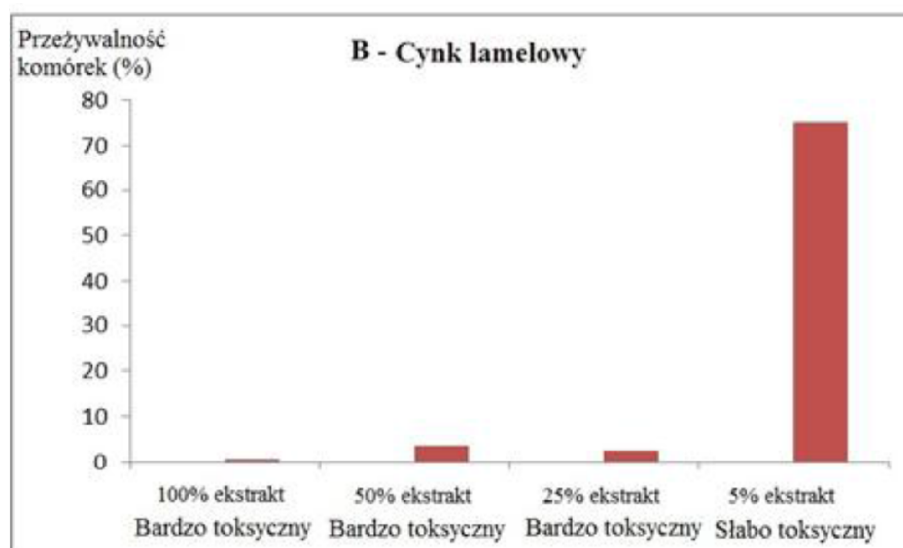
Toksyczność stwierdzono dla powłoki cynkowej – galwanicznej i płatkowej. Ze względu na wysoką niestabilność próbek na płytkach Petriego, do ich dalszej oceny zastosowano test ekstraktu. Przygotowany ekstrakt inkubowano z komórkami przez 24 godziny, dodano mieszaninę MTT i po okresie inkubacji mierzono absorbancję barwnego produktu przy długości fali 540 nm. Poziom toksyczności obliczono na podstawie absorbancji. Przeżywalność komórek na próbkach cynkowanych przedstawiono na rysunkach 2 i 3.



Rys. 1. Test bezpośredniego kontaktu – hodowle komórkowe z fioletowym barwnikiem na próbkach z następującymi powłokami: (a) - antybakteryjną, (b) – poliestrowo-epoksydową białą - RAL 9002, (c) - poliestrowo-epoksydową brązową - RAL 8028, (d) - poliestrowo-epoksydową zieloną - RAL 6024, (e) - poliestrowo-epoksydową niebiesko-zieloną - RAL 5018, (f) - kontrola negatywna – próbki z tytanu, (g) - kontrola pozytywna – próbki z miedzi



Rys. 2. Przeżywalność komórek w teście ekstraktu: A – dla próbki z powłoką galwaniczną cynkową



Rys. 3. Przeżywalność komórek w teście ekstraktu: B – dla próbki z powłoką cynkową lamelową (płatkową)

4. WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań można sformułować wnioski odnośnie toksyczności badanych powierzchni:

- Badane próbki z powłokami: antybakteryjną (jedna próbka) oraz poliestrowo-epoksydową (cztery próbki o zróżnicowanym zabarwieniu) okazały się nietoksyczne.
- Próbki cynkowane galwanicznie, jak i z warstwą cynku lamelowego wykazały znaczną toksyczność, przy czym przeżywalność komórek na powierzchni cynku galwanicznego była znacznie większa niż dla powłoki cynku lamelowego.

Wyniki pracy posłużą w kolejnych, długoterminowych badaniach biokompatybilności wybranych powierzchni. Będą w nich testowane głównie próbki, które nie wykazywały toksyczności względem komórek żywych.

LITERATURA

- [1] Andersen B.M., Rasch M., Hochlin K., Jensen F.H., Wismar P., Fredriksen J.E.: Decontamination of rooms, medical equipment and ambulances using an aerosol of hydrogen peroxide disinfectant. *Journal of Hospital Infection*. 62, 2006, s.149-155
- [2] Galtelli M., Deschamp C., Rogers J. An Assessment of the Prevalence of Pathogenic Microorganism in the Rotor Wing Air Ambulance: One Program's Findings. *Air Medical Journal*, 25 (2), 2006, s.81-84
- [3] Eibicht S.J., Vogel U.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) contamination of ambulance cars after short term transport of MRSA-colonised patients is restricted to the stretcher. *Journal of Hospital Infection*, 78, 2011, s.221-225
- [4] Sun, L., Huang X.B., Suo J.P., Fan B.L., Chen Z.L., Yang W.X., Li J.: Biological evaluation of a novel copper-containing composite for contraception. *Fertility and Sterility*. 95 (4), 2011, 1416-1420
- [5] Saw T.Y., Cao T., Yap A.U., Lee Ng M.M.: Tooth slice organ culture and established cell line culture models for cytotoxicity assessment of dental materials. *Toxicology in vitro*. 19, 2005, 145-154

TOXICITY AND BIOCOMPATIBILITY OF SELECTED VARNISH COATINGS

Abstract: Ambulance transporting patients with infectious diseases can be also the source of the next infections. Special construction - the narrow space inside, pure quality ventilation system and specific of devices applied inside can be a reason of mentioned problems. This situation is well known, but there is practically no data regarding the influence of internal ambulance surface on observed problem. In our study we focused on toxicity and biocompatibility of steel surface coated with different layers, that can be used as internal material of ambulance.