

Ocena aktywności mikrobiologicznej skóry naturalnej, zawierającej substancje czynne

Assessment of natural leather microbiological activity
containing active substances

Michalina Falkiewicz - Dulik^{1*}, Joanna Alvarez¹

^{1*}Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Przemysłu Skórzanego

Streszczenie

W pracy przedstawiono ocenę aktywności mikrobiologicznej skór wyprawy chromowej, które zostały zabezpieczone substancjami czynnymi tj. 0,5% roztworem poliheksametylen-obiguanidyny (PHMB) oraz pirytionianem cynku w postaci 1,5% roztworu Sanitized TH 22-27. W celu określenia trwałości obróbki mikrobiologicznej testowano użytkowane wyroby (obuwie, torby, dywan), wykonane z zabezpieczonych skór. Próby skór zabezpieczone pirytionianem cynku, charakteryzowały się dobrą odpornością mikrobiologiczną, potwierdzoną obserwowanym efektem antymikrobiotycznym. Stwierdzono znaczną poprawę odporności skór zabezpieczonych wobec drobnoustrojów w odniesieniu do prób skóry bez obróbki. Spośród prób zabezpieczonych substancją PHMB, tylko dwoina bydłęca welurowa wykazała poprawę odporności wobec grzybów strzępkowych. Preparat PHMB, który został zastosowany w połączeniu z lakierem, jako wykończenie lica lakierem poprzez natrysk, nie dał wystarczającego efektu obróbki mikrobiologicznej podszewki z kozo-barana oraz skóry bydłowej licowej, wykończonych lakierem.

Abstract

The paper presents an assessment of the microbiological activity of chrome tanned leathers, which have been protected with active substances, i.e. a 0.5% solution of polyhexamethylene biguanidine (PHMB) and zinc pyrithione in the amount of 1.5% Sanitized TH 22-27. The products used (footwear, bags, carpet), made of protected leather, were tested to determine the durability of microbiological treatment. Leather samples protected with zinc pyrithione were characterized by good microbiological resistance confirmed by the observed antimicrobial effect. A significant improvement in the resistance of microbial protected leathers compared to untreated skin samples has been found. Of the samples protected with PHMB, only bovine velour split showed improved resistance to filamentous fungi compared to untreated leathers. The PHMB preparation, which was used in connection with the varnish, as a finish for the grain with varnish by spraying, did not give a sufficient microbiological effect of goat-sheep lining and grain cow leather, finished with varnish. In microbiological tests of products (footwear, bags, carpet), no potentially pathogenic species of fungi have been found. Found molds and yeasts can be a natural microbiota that resides on the skin or in the environment.

Słowa kluczowe: skóra naturalna, biostabilizacja, skóra aktywna mikrobiologicznie.

Keywords: natural leather, biostabilization, microbiologically active leather.

* autor korespondencyjny: mgr inż. Michalina Falkiewicz – Dulik – m.falkiewicz@ips.krakow.pl

1. Wstęp

Skóra naturalna podczas procesów garbarskich wymaga kontroli stanu mikrobiologicznego surowca. Dotyczy to zarówno skór surowych, jak również skór wet-blue. Garbowanie skóry surowej przemienia ją w produkt, który jest odporny na drobnoustroje, lecz nie całkowicie. Przyczyną obniżonej odporności skór może być źle dobrany biocyd, lub użyty w niewystarczającej ilości. Do wtórnego zanieczyszczenia skór drobnoustrojami może dochodzić, zarówno podczas kolejnych procesów wykańczania, jak i podczas transportu. Potwierdzają to badania przeprowadzone przez Skórę i współautorki [1], które wykazały zróżnicowanie zanieczyszczenia przez drobnoustroje powietrza i skóry garbowanej, w zależności od specyfiki zakładu i wykorzystywanego surowca. Stopień zanieczyszczenia mikrobiologicznego autorki zbadały w czterech garbarniach na terenie Polski o różnej specyfice produkcyjnej (dwie garbarnie prowadziły procesy wykańczania skóry wet-blue, a dwie pozostałe produkowały skóry gotowe i dwoiny bydlęce ze skóry surowej, świeżej i solonej). Liczebność mikroorganizmów w powietrzu na stanowiskach pracy w garbarniach kształtowała się w granicach 1200 do 3700 jtk/m³. Z powierzchni skór wet-blue najczęściej izolowano bakterie takie, jak: *Kocuria rosea* (50-67%), *Micrococcus lylae* (67-100%), *Staphylococcus sciuri* (60-100%), *S. lentus* (79-86%), *Bacillus pumilus* (60-67%). Wymienione gatunki były izolowane z dwóch spośród czterech badanych garbarni. Analiza częstości izolacji rodzajów i gatunków grzybów strzępkowych w ocenianych garbarniach wykazała obecność w powietrzu i na powierzchni skór łącznie 52 szczepy grzybów, w tym 45 szczepów grzybów strzępkowych i 7 rodzajów drożdży. Gatunki pleśni to m.in.: *Botrytis cinerea* (częstość izolacji: 14-24%), *Cladosporium cladosporioides* (32-79%), *Cladosporium herbarum* (2-38%) wykryto w powietrzu pobranym z trzech garbarni. Wśród najczęściej bytujących w powietrzu grzybów strzępkowych wymienić należy: *Aspergillus flavus* (4-7%), *Cladosporium macrocarpum*

(ok. 78%), *C. sphaerospermum* (15-43%), *Penicillium atramentosum* (20-92%), *P. ferii* (19-86%), *Paecilomyces variotii* (10-35%), *Rhizopus nigricans* (5-19%). Gatunki te występowały w dwóch spośród czterech badanych obiektów. Podobnie w dwóch zakładach, stwierdzono w powietrzu występowanie drożdży *Cryptococcus neoformans* (19-72%) i *Kloeckera spp.* (14-30%). Powierzchnie badanych skór wet-blue najczęściej zasiedlane były przez grzyby z rodzaju *Penicillium verrucosum* (40-100%); rodzaj ten zdiagnozowano na skórkach wet-blue pochodzących z obu typów garbarni (przetwarzających skóry surowe i skóry wet-blue) [1].

Inne badania [2] wykazały, że nieprawidłowa dawka biocydu zastosowana w procesie garbowania nie zabezpiecza skóry wet-blue przed pleśnieniem, gdyż w krótkim czasie w sprzyjających warunkach (podwyższonej wilgotności i temperatury) na skórkach mogą wzrastać bakterie oraz grzyby strzępkowe, które są przyczyną biodeterioracji surowca skórzanego.

Analiza stopnia czystości skór bydlęcych po garbowaniu, w stanie wet-blue, przeznaczonych do wykończenia na skóry meblowe oraz tapicerkę samochodową wykazała, że uległy one zakażeniu mikrobiologicznemu podczas transportu [2]. Badane skóry, na czas przewozu, zostały zabezpieczone mikrobiologicznie przez zastosowanie środka biobójczego Preventol®WB w ostatnim etapie garbowania skór wet-blue, a następnie opakowane folią w celu zachowania odpowiedniej wilgotności. Po dwóch i pół miesiącach transportowania i magazynowania, odbiorca skór zaobserwował pleśnienie niektórych skór w partii dostarczonego surowca do wykończenia. Zmiany na powierzchni skór w postaci okrągłych plam brązowych z charakterystycznymi czerwonymi plamkami, widocznymi po obu stronach skóry i miejscowe czerwone plamki w postaci kropek, świadczyły o obecności drobnoustrojów. Wzrost mikroorganizmów był prawdopodobnie spowodowany znaczną zawartością wody w skórze (w obrocie wet-blue skóra zawiera ok. 66% wody w stosunku wagowym), oraz zbyt małą dawką (0,35%) zastosowanego preparatu

przeciwgrzybowego (Preventolu®WB) do ochrony skóry przed pleśnieniem. Badania cech morfologicznych i ocena mikroskopowa pozwoliły na wyizolowanie dwóch odrębnych gatunków grzybów z rodzaju *Penicillium* (charakteryzujących się bordowym i brązowym rewersem). Ich cechą wspólną była grzybnia o jasnozielonej barwie. Obserwacje mikroskopowe wykazały obecność bakterii gram-ujemnych o charakterystycznym różowo-czerwonym zabarwieniu i kulistym kształcie (*cocci*) [2].

Procesy wykańczania skór wygarbowanych prowadzone są w celu nadania półfabrykatom odpowiednich cech towaru gotowego. Właściwie przeprowadzone procesy wykańczania skór decydują o ostatecznym wyglądzie skóry i nadają jej właściwości wymagane dla poszczególnych asortymentów. Półfabrykat skór wierzchnich obuwia, nawet najlepiej wygarbowanych, a nieodpowiednio wybarwiony, natłuszczony, zmiękczonej itp., ma niższą wartość. Każdy proces wykańczania skór jest nie tylko odrębnym zagadnieniem produkcyjnym, lecz wiąże się ściśle z całością procesu wyprawy. W procesach wykańczania poprzez dodanie substancji aktywnych mikrobiologicznie można poprawić odporność skóry gotowej wobec drobnoustrojów, a tym samym uzyskać zwiększoną trwałość użytkową oraz higienę wyrobów z niej wykonanych.

2. Cel i zakres badań

Zadanie badawcze obejmowało ocenę aktywności mikrobiologicznej skór wyprawy chromowej, które zostały zabezpieczone substancjami czynnymi. Biostabilizację przeprowadzono na etapie procesu wykańczania skór w garbarni w sposób następujący:

- W przypadku skór z powłoką wykańczalniczą (podszewka z kozo-barana licowa, skóra kryta na galanterię), roztwór poliheksametylenobiguanidyny (PHMB) w ilości 0,5% został wprowadzony do zestawu (lakier Kazarro), tworzącego warstwę wykończeniową. Wykończenie lica skór przeprowadzono poprzez natrysk 420 ml/m², wykonano 3 natryski

od strony lica.

- W przypadku dwoiny welurowej na wierzchy lakier Kazarro z 0,5% PHMB został naniesiony jednostronnie w ilości 420 ml/m², wykonano 3 natryski.
- W przypadku dwoiny welurowej, przeznaczonej na podszewki biostabilizację wykonano poprzez naniesienie roztworu wodnego pirytionianu cynku w ilości 1,5% Sanitized TH 22-27. Naniesienie preparatu wykonano obustronnie za pomocą agregatu natryskowego w ilości 510 ml/m² skóry, wykonując po 3 natryski po każdej stronie.
- W przypadku skóry bydlęcej, hydrofobizowanej z wykończeniem licowym 1,5% roztwór wodny Sanitized TH 22-27 (pirytionianu cynku) naniesiono po stronie mizdry w ilości 500 ml/m², wykonano 3 natryski.

W celu określenia trwałości obróbki mikrobiologicznej skór wykonano wyroby (obuwie, torby, dywan), które poddano próbom użytkowania przez wytypowanych użytkowników w okresie 3 miesięcy. Użytkownikami byli mężczyźni w wieku od 16 do 47 lat, kobiety od 30-65 lat oraz dzieci w wieku 4-6 lat. W badaniu uczestniczyło 20 osób. Po zakończeniu użytkowania pobrano wymazy do badań mikrobiologicznych z wyściółek obuwia, powierzchni toreb i dywanu.

Praca przedstawia wyniki badań wykonanych we współpracy Instytutu Przemysłu Skórzanego w Krakowie z Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

3. Przedmiot i metodyka badań

Badania mikrobiologiczne prowadzono w dwóch seriach. W serii I przedmiotem badań było dwanaście różnych prób skór przeznaczonych na elementy wewnętrzne i wierzchy obuwia oraz bukat bydlęcy przeznaczony na galanterię. Testowano sześć prób skór biostabilizowanych i sześć skór kontrolnych bez ochrony mikrobiologicznej wykonanych według tej samej technologii.

Materiał do badań mikrobiologicznych stanowiły:

1. Próba 1 - podszewka z kozo-barana, licowa, kolor beżowy (próba „0”),
2. Próba 3 - podszewka z kozo-barana, licowa, kolor beżowy+PHMB,
3. Próba 4 - dwoina welurowa na podszewki, kolor czarny (próba „0”),
4. Próba 5 - dwoina welurowa na podszewki, kolor czarny+pirytionian cynku,
5. Próba 6 - skóra bydlęca z wykończeniem licowym, hydrofobizowana, kolor czarny (próba „0”),
6. Próba 8 - skóra bydlęca z wykończeniem licowym, hydrofobizowana, kolor czarny+pirytrionian cynku,
7. Próba 9 - dwoina bydlęca welurowa na wierzchy, kolor czarny (próba „0”),
8. Próba 11 - dwoina bydlęca welurowa na wierzchy, kolor czarny+PHMB,
9. Próba 12 - dwoina kryta na wierzchy, kolor czarny (próba „0”),
10. Próba 13 - dwoina kryta na wierzchy, kolor czarny+pirytionian cynku,
11. Próba 15 - skóra bydlęca z wykończeniem licowym, kolor beżowo-żółty (próba „0”),
12. Próba 16 - skóra bydlęca z wykończeniem licowym, kolor beżowo-żółty+PHMB.

Oznaczenie odporności mikrobiologicznej skór wykonano w odniesieniu do wybranych gatunków drobnoustrojów:

- bakterii (inkubacja w temp. 37°C): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (gram ujemna), *Escherichia coli* ATCC25922 (gram dodatnia),
- grzybów (inkubacja w temp. 27°C): *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 18748, *Candida albicans* ATCC 90028, *Aspergillus brasiliensis (niger)* ATCC16404.

Ocenę odporności skór na działanie bakterii oraz gatunku *Candida albicans* wykonano według zaleceń normy PN-EN ISO 20645: 2006 „Płaskie wyroby włókiennicze – Wyznaczanie właściwości antybakteryjnej – Metoda dyfuzji na płytce z agaru” [3].

Ocenę odporności skór na działanie grzybów: *Trichophyton mentagrophytes* i *Aspergillus brasiliensis* wykonano według normy PN-EN 14119: 2005 „Badania tekstyliów – Ocena działania mikrogrzybów. Metoda B1: badania rozwoju grzybów na kompletnym podłożu agarowym; efekt przeciwgrzybiczny oraz Metoda B2: aktywność przeciwgrzybicza” [4].

Odporność próbek materiałów obuwniczych na działanie grzybów strzępkowych odczytano po 72 h i 120 h inkubacji.

W prowadzonych badaniach ocenę wzrostu drobnoustrojów prowadzono według skali 1 lub skali 2 w zależności od rodzajów mikroorganizmów, tj.:

- skala 1 – ocena efektu antybakteryjnego [3] według normy PN-EN ISO 20645: 2006. „Płaskie wyroby włókiennicze – Wyznaczanie właściwości antybakteryjnej – Metoda dyfuzji na płytce z agaru” jest opisana następująco:
 - ✓ dobry efekt – brak wzrostu,
 - ✓ ograniczona efektywność – wzrost słaby – pojedyncze kolonie ograniczone, brak strefy hamowania, wzrost prawie całkowicie wstrzymany w porównaniu do kontrolnego,
 - ✓ niewystarczający efekt – wzrost średni (brak strefy hamowania, wzrost obniżony do połowy w porównaniu do kontrolnego) lub wzrost silny (brak obniżenia wzrostu w porównaniu do kontrolnego).
- skala 2 – ocena wzrostu grzybów na próbkach roboczych [4] według PN-EN ISO 14119: 200 „Badania tekstyliów. Ocena działania mikrogrzybów” jest opisana następująco:
 - ✓ 0^a - brak widocznego wzrostu oceniany pod mikroskopem (powiększenie 50x),
 - ✓ 1^a - brak widocznego wzrostu bez urządzeń powiększających, ale wyraźnie widoczny pod mikroskopem,
 - ✓ 2 - wzrost widoczny bez urządzeń powiększających, pokrywający do 25% badanej powierzchni,

- ✓ 3 - wzrost widoczny bez urządzeń powiększających, pokrywający do 50% badanej powierzchni,
- ✓ 4 - znaczny wzrost, pokrywający więcej niż 50% badanej powierzchni,
- ✓ 5 - silny wzrost, pokrywający badaną powierzchnię,
- ✓ 5^a - jeśli wzrost grzybów na agarze w pobliżu próbki roboczej jest częściowo lub całkowicie zatrzymany, należy zapisać, zmierzyć wielkość strefy zahamowania.

W serii II badaniom poddano wyroby wykonane z biostabilizowanych skór, po przeprowadzeniu próbnego użytkowania. Testowano wyściółki z użytkowanego obuwia, zewnętrzną powierzchnię korpusu i uchwytów toreb oraz powierzchnię dywanu. Wyroby oznaczone, jako próby nr 1-15 (1-12 obuwie, 13-15 torby lekarskie) i próba nr 20 (dywan) wykonane zostały ze skór z obróbką mikrobiologiczną PHMB. W przypadku obuwia wierzchy i podszewki były zabezpieczone PHMB, w przypadku toreb lekarskich i dywanu zastosowano podszewki tkaninowe bez ochrony mikrobiologicznej.

Wyroby oznaczone 18-19 (obuwie) wykonano z zastosowaniem podszewek i wyściółek ze skór zawierających pirytionian cynku. Wierzchy stanowiła skóra i dwoina welurowa z obróbką PHMB.

Badania mikrobiologiczne zostały przeprowadzone dla 35 pobranych próbek z wyrobów użytkowanych w odniesieniu do grzybów oraz dla 3 próbek (galanterii) w odniesieniu do bakterii. Były to wymazy z 18 wyrobów skórzanych: obuwia i galanterii. Wymazy pobierano w dwóch powtórzeniach (I, II).

Z badanych wyrobów pobierano wymazy za pomocą sterylnych, wiskozowych wymazówek, zwilżanych w jałowej soli fizjologicznej, z następujących lokalizacji:

- buty - wymaz z wewnętrznej strony (wkładka, boki) buta prawego (P),
wymaz z wewnętrznej strony (wkładka, boki) buta lewego (L) oraz

dla wybranych wyrobów tj. prób nr 1 i 6 dodatkowo wymaz z zewnętrznej powierzchni buta (W),

- torby lekarskie - wymaz z rączki (R), wymaz z zewnętrznej powierzchni torby (W); pobrano dodatkowe wymazy z rączki i zewnętrznej powierzchni torby do badań bakteriologicznych,
- dywan - wymaz z powierzchni żółtej skóry (Ż), wymaz z powierzchni czarnej skóry (C).

Pobrane wymazy z wyrobów nowych i użytkowanych posiewano na podłoża: agar Sabourauda z chloramfenikolem (SGA) i agar Sabourauda z chloramfenikolem i cykloheksymidem (SGA+CHX) dla grzybów. Hodowle inkubowano w temperaturze 27°C do 10 dni i okresowo sprawdzano wzrost grzybów. Wymazy z toreb lekarskich posiano dodatkowo na agar z dodatkiem krwi baraniej dla bakterii. Wyrosłe kolonie zliczano i identyfikowano na podstawie cech morfologicznych. Wyizolowane mikroorganizmy identyfikowano biorąc pod uwagę makroskopową i mikroskopową ocenę izolatu oraz wykonując testy biochemiczne.

4. Wyniki i ich omówienie

Analiza wyników uzyskanych z badań mikrobiologicznych dla prób skóry naturalnej i obuwia użytkowanego, wykonanego z zabezpieczonych skór polegała na ocenie skuteczności przeprowadzonej biostabilizacji.

Ocenę porównawczą antymikrobiotycznego efektu obróbki poszczególnych skór w zależności od substancji czynnej zastosowanej do biostabilizacji przedstawiono w tabelach nr 1-6 [5]. Jako wynik podano ocenę wzrostu poszczególnych mikroorganizmów oraz wielkości stref zahamowania wzrostu w mm wokół próbek roboczych. Szczegółowe wyniki badań użytkowanych wyrobów przedstawiono w tabeli nr 7 [6], która obejmuje rodzaje drobnoustrojów oraz gatunki grzybów chorobotwórczych, zidentyfikowanych w poszczególnych wyrobach. Równocześnie dla każdej badanej próbki (pobranego wymazu) podano

liczbę jednostek tworzących kolonię (jtk), CFU (od ang. *colony-forming unit*). Inaczej mówiąc, liczbę pojedynczych komórek, z których w wyniku podziałów powstaną kolonie komórek. Liczba kolonii jest w warunkach idealnych równa liczbie mikroorganizmów w próbce, co przez interpolację pozwala na określenie ich liczby w badanym materiale.

Tabela 1. Oznaczenie antymikrobiotycznego efektu dla próby dwoiny bydłowej, welurowej na podszewki, w kolorze czarnym z naniesieniem obustronnym preparatu Sanitized TH 22-27 [5] (*wzrost grzybów *Paecilomyces*, *Pencillium* i innych pleśni zanieczyszczających próbkę)

Ocena wzrostu mikroorganizmów								
Wielkości stref zahamowania wzrostu w [mm] wg skali ^{1,2}								
Strona próbki	Próba 4 (kontrolna) dwoina bydłowa, welurowa na podszewki			Próba 5 dwoina bydłowa, welurowa na podszewki + Sanitized TH 22-27				
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena		
<i>Staphylococcus aureus</i>								
			niewystarczający efekt					
Lico	0	średni	efekt	4	brak	dobry efekt		
Mizdra	0	średni	niewystarczający efekt	0	brak	dobry efekt		
<i>Escherichia coli</i>								
			niewystarczający efekt					
Lico	0	silny	efekt	4	brak	dobry efekt		
Mizdra	0	średni	niewystarczający efekt	0	słaby	ograniczona efektywność		
<i>Candida albicans</i>								
			ogranicz. efektywność					
Lico	0	słaby	efekt	8	brak	dobry efekt		
Mizdra	0	słaby	ogranicz. efektywność	9	brak	dobry efekt		
<i>Aspergillus brasiliensis</i>								
	Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico	0	1	0	2	13	0	0	1
Mizdra	0	1	0	1	2	0	9	0
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>								
	Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico	13	0*	8*	2*	15	0	25	0
Mizdra	13	1*	20*	1*	23	0	29	0

Tabela 2. Oznaczenie antymikrobiotycznego efektu dla próby skóry bydlęcej z wykończeniem licowym, hydrofobizowanej, w kolorze czarnym z naniesionym po stronie mizdzy preparatem Sanitized TH 22-27 - pirytionian cynku [5], (*mikrokolonie wewnątrz strefy, **wzrost grzybów *Paecilomyces*, *Pencillium*, *Rhizopus* i innych pleśni zanieczyszczających próbę*** zanieczyszczenie *Aspergillus* lub innymi pleśniami)

		Ocena wzrostu mikroorganizmów						
		Wielkości stref zahamowania wzrostu w [mm] wg skali ^{1,2}						
Strona próbki	Próba 6 (kontrolna) skóra bydlęca licowa, hydrofobizowana			Próba 8 skóra bydlęca licowa, hydrofobizowana + Sanitized TH 22-27				
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena		
<i>Staphylococcus aureus</i>								
Lico Mizdra	0/0	silny silny	niewystarczający efekt niewystarczający efekt	1/1	brak słaby	dobry efekt ograniczona efektywność		
<i>Escherichia coli</i>								
Lico Mizdra	0/0	silny silny	niewystarczający efekt niewystarczający efekt	0/0	silny brak	niewystarczający efekt/dobry efekt		
<i>Candida albicans</i>								
Lico Mizdra	3/4	brak brak	dobry efekt/ dobry efekt	9/15	brak brak	dobry efekt dobry efekt		
<i>Aspergillus brasiliensis</i>								
	Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico	13*	2	0	3	17*	2	8	0
Mizdra	0	0	5	0	13	0	8	0
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>								
	Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico	10**	0**	7**	2**	16	0	28***	3***
Mizdra	10**	0**	6**	2*	25	0	30	0

Tabela 3. Oznaczenie antymikrobiotycznego efektu dla próby dwoiny bydłej krytej na wierzchy, w kolorze czarnym z naniesionym po stronie mizdry preparatem Sanitized TH 22-27 - Pirytionian cynku [5] (*mikrokolonie wewnątrz strefy, **wzrost grzybów *Paecilomyces*, *Pencillium* i innych pleśni zanieczyszczających próbkę)

Ocena wzrostu mikroorganizmów								
Wielkości stref zahamowania wzrostu w [mm] wg skali ^{1,2}								
Strona próbki	Próba 12 (kontrolna) Dwoina kryta na wierzchy			Próba 13 Dwoina kryta na wierzchy + Sanitized TH 22-27				
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena		
<i>Staphylococcus aureus</i>								
Lico	0	średni	niewystarczający efekt	0	silny	niewystarczający efekt		
Mizdra	0	średni	niewystarczający efekt	5	brak	dobry efekt		
<i>Escherichia coli</i>								
Lico	0	silny	niewystarczający efekt	0	silny	niewystarczający efekt		
Mizdra	0	silny	niewystarczający efekt	6	brak	dobry efekt		
<i>Candida albicans</i>								
Lico	0	średni	niewystarczający efekt	7	brak	dobry efekt		
Mizdra	0	średni	niewystarczający efekt	15	brak	dobry efekt		
<i>Aspergillus brasiliensis</i>								
	Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico	0	0	0	2	3*	0	2	0
Mizdra	0	0	0	1	14	0	12	0
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>								
	Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico	6	0	7**	1**	8	0	13	0
Mizdra	8	0	10	1**	23	0	29	0

Tabela 4. Oznaczenie antymikrobiotycznego efektu dla próby skóry podszewkowej z kozo-barana, licowej w kolorze beżowym z naniesionym od strony lica preparatem **PHMB** [5] (*próba badana zanieczyszczona bakteriami *Bacillus sp.*, ** wzrost grzybów *Paecilomyces*, *Pencillium* i innych pleśni zanieczyszczających próbe)

Strona próbki		Ocena wzrostu mikroorganizmów							
		Wielkości stref zahamowania wzrostu w [mm] wg skali ^{1,2}							
		Próba 1 (kontrolna) podszewka z kozo-barana			Próba 3 podszewka z kozo-barana + PHMB				
Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena				
<i>Staphylococcus aureus</i>									
Lico/ Mizdra	0*	silny	niewystarczający efekt/	0/0	silny	niewystarczający efekt			
	0	silny	niewystarczający efekt				niewystarczający efekt		
<i>Escherichia coli</i>									
Lico/ Mizdra	0	silny	niewystarczający efekt	0	silny	niewystarczający efekt			
	0*	silny	niewystarczający efekt				niewystarczający efekt		
<i>Candida albicans</i>									
Lico Mizdra	0*	silny	niewystarczający efekt	0	silny	niewystarczający efekt			
	0	silny	niewystarczający efekt				niewystarczający efekt		
<i>Aspergillus brasiliensis</i>									
		Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
		Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico		0	2	0	5	0	2	0	4
Mizdra		0	2	0	2	0	2	0	2
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>									
		Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
		Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico		0**	2**	0**	2**	0**	2**	0**	2**
Mizdra		0**	1**	5**	1**	0**	1**	5**	1**

Tabela 5. Oznaczenie antymikrobiotycznego efektu dla próby dwoiny bydłowej welurowej na wierzchy, w kolorze czarnym z naniesionym jednostronnie preparatem *PHMB* [5] (*wzrost grzybów *Paecilomyces*, *Pencillium* i innych pleśni zanieczyszczających próbę)

Ocena wzrostu mikroorganizmów								
Wielkości stref zahamowania wzrostu w [mm] wg skali ^{1,2}								
Strona próbki	Próba 9 (kontrolna)			Próba 11				
	dwoina bydłowa, welurowa na wierzchy			dwoina bydłowa, welurowa na wierzchy + PHMB				
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena		
<i>Staphylococcus aureus</i>								
Lico	0	słaby	ograniczona efektywność	0	słaby	ograniczona efektywność		
Mizdra	0	słaby	ograniczona efektywność	0	słaby	ograniczona efektywność		
<i>Escherichia coli</i>								
Lico	0	słaby	ograniczona efektywność	0	słaby	ograniczona efektywność		
Mizdra	0	słaby	ograniczona efektywność	0	słaby	ograniczona efektywność		
<i>Candida albicans</i>								
Lico	0	średni	niewystarczający efekt	0	słaby	ograniczona efektywność		
Mizdra	0	średni	niewystarczający efekt	0	słaby	ograniczona efektywność		
<i>Aspergillus brasiliensis</i>								
	Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico	0	1	0	3	1	0	3	0
Mizdra	0	0	0	1	2	0	5	0
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>								
	Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico	9	0	18	2*	15	0*	18	0
Mizdra	13	0	19	0	15	0	22	0*

Tabela 6. Oznaczenie antymikrobiotycznego efektu dla próby skóry bydlęcej licowej na galanterię, w kolorze beżowo-żółtym, z naniesionym na lico lakieru z preparatem **PHMB** [5] (*wzrost grzybów *Paecilomyces*, *Pencillium* i innych pleśni zanieczyszczających próbę, **zanieczyszczenie *Aspergillus* lub innymi pleśniami utrudniło lub uniemożliwiło ocenę)

Ocena wzrostu mikroorganizmów								
Wielkości stref zahamowania wzrostu w [mm] wg skali ^{1,2}								
Strona próbki	Próba 15 (kontrolna)				Próba 16			
	Skóra bydlęca licowa, galanteryjna				Skóra bydlęca licowa, galanteryjna + PHMB			
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Ocena		
<i>Staphylococcus aureus</i>								
Lico	0	silny	niewystarczający	0	silny	niewystarczający		
Mizdra	0	średni	efekt	0	średni	efekt		
			niewystarczający efekt			niewystarczający efekt		
<i>Escherichia coli</i>								
Lico	0	silny	niewystarczający	0	silny	niewystarczający		
Mizdra	0	średni	efekt	0	średni	efekt		
			niewystarczający efekt			niewystarczający efekt		
<i>Candida albicans</i>								
Lico	0	silny	niewystarczający	0	silny	niewystarczający		
Mizdra	0	silny	efekt	0	silny	efekt		
			niewystarczający efekt			niewystarczający efekt		
<i>Aspergillus brasiliensis</i>								
	Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico	0	4	0	4	0	1	0	4
Mizdra	0	2	0	4	0	1	0	3
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>								
	Metoda B1		Metoda B2		Metoda B1		Metoda B2	
	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost	Strefa zaham. [mm]	Wzrost
Lico	0	1*	0**	3*	1	1*	4	2*
Mizdra	0	2*	5**	3*	1	2*	7	2*

Tabela 7. Wyniki badań mikrobiologicznych obuwia i galanterii [6] – część I

Nr próby/ wymazu	SGA		SGA + CHX		
	I	II	I	II	
1	1L	8 jtk 50% <i>Aspergillus versicolor</i> 40% bakterie 10% <i>Candida</i> sp.	10 jtk 50% <i>Penicillium</i> sp. 30% bakterie 10% <i>Alternaria</i> sp. 10% <i>Candida</i> sp.	ujemny	2 jtk <i>Aspergillus versicolor</i>
	1P	1 jtk <i>Aspergillus</i> sp.	57 jtk 75% <i>Fusarium</i> sp. 25% <i>Candida</i> sp.	ujemny	ujemny
	1W	PRAWY BUT 13 jtk 61% <i>Fusarium</i> sp. 23% <i>Cladosporium</i> sp. 8% <i>Alternaria</i> sp. 8% <i>Penicillium</i> sp.	LEWY BUT 3 jtk 67% <i>Cladosporium</i> sp. 33% <i>Alternaria</i> sp.	ujemny	ujemny
2	2L	1 jtk niezidentyfikowana pleśń	1 jtk niezidentyfikowana pleśń	ujemny	ujemny
	2P	2 jtk <i>Penicillium</i> sp.	18 jtk 44% <i>Penicillium</i> sp. 1 28% <i>Penicillium</i> sp. 2 11% <i>Cladosporium</i> sp. 6% <i>Mucor</i> sp. 11% drożdże	ujemny	2 jtk <i>Penicillium</i> sp.
3	3L	ujemny	3 jtk 67% <i>Rhodotorula</i> sp. 33% <i>Cryptococcus</i> sp.	ujemny	ujemny
	3P	ujemny	1 jtk <i>Cladosporium</i> sp.	ujemny	ujemny
4	4L	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
	4P	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
5	5L	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny
	5P	ujemny	ujemny	ujemny	ujemny

Tabela 7. Wyniki badań mikrobiologicznych obuwia i galanterii [6] – część II

Nr próby/ wymazu	SGA		SGA + CHX	
	I	II	I	II
6L	117 jtk			
	60% <i>Aspergillus versicolor</i>			
	30% <i>Cladosporium</i> sp.		64 jtk	9 jtk
	2% <i>Penicillium</i> sp. 2% <i>Rhodotorula</i> sp. 2% <i>Cryptococcus</i> sp. 2% <i>Fusarium</i> sp. 2% <i>Alternaria</i> sp.		47% drożdże (inne niż <i>Rhodotorula</i> sp.) 31% <i>Rhodotorula</i> sp. 14% <i>Penicillium</i> sp. 8% <i>Cladosporium</i> sp.	84% <i>Aspergillus versicolor</i> 16% <i>Cladosporium</i> sp. 78% <i>Aspergillus versicolor</i> 22% <i>Cladosporium</i> sp.
6P	103 jtk			
	87% <i>Penicillium</i> sp. 1 i		9 jtk	99 jtk
	6% <i>Cryptococcus</i> sp. 5% <i>Rhodotorula</i> sp. 2% <i>Cladosporium</i> sp.		67% <i>Cladosporium</i> sp. 33% <i>Aspergillus versicolor</i>	52% <i>Cladosporium</i> sp. 43% drożdże <i>Candida</i> sp. 4% <i>Penicillium</i> sp. 1% <i>Aspergillus versicolor</i>
	PRAWY BUT			
6W	92 jtk		PRAWY BUT	LEWY BUT
	68% <i>Penicillium</i> sp. 15% <i>Rhodotorula</i> 12% <i>Cryptococcus</i> sp. 3% <i>Cladosporium</i> sp. 1% <i>Alternaria</i> sp. 1% <i>Ulocladium</i> sp.		21 jtk 33,3% <i>Aspergillus versicolor</i> 29% <i>Penicillium</i> sp. 19% <i>Cryptococcus</i> sp. 10% <i>Rhodotorula</i> sp.	5 jtk 80% <i>Cladosporium</i> sp. 20% <i>Aspergillus versicolor</i> 1 jtk 100% <i>Aspergillus versicolor</i>
	LEWY BUT			
	21 jtk			
7	40 jtk			
	80% <i>Candida</i> sp. 7% <i>Paecilomyces variotti</i> , 7% <i>Penicillium</i> sp., 3% <i>Fusarium</i> sp. 3% <i>Cladosporium</i> sp.		8 jtk 75% <i>Candida</i> sp. 25% <i>Paecilomyces variotti</i>	ujemny
	46 jtk		18 jtk	ujemny
	94% <i>Penicillium</i> sp. 6% drożdże		94% <i>Penicillium</i> sp. 1 i <i>Penicillium</i> sp. 2 6% drożdże	ujemny
8	8L	ujemny	ujemny	ujemny
	8P	ujemny	ujemny	ujemny

Tabela 7. Wyniki badań mikrobiologicznych obuwia i galanterii [6] – część III

Nr próby/ wymazu	SGA		SGA + CHX	
	I	II	I	II
10	10L	ujemny	ujemny	ujemny
	10P	ujemny	ujemny	ujemny
11	3 jtk		1 jtk	ujemny
	11L	33,3% <i>Cladosporium</i> sp. 33,3% <i>Aureobasidium</i> sp. 33,3% <i>Alternaria</i> sp.	100% <i>Aspergillus</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp.
	11P	4 jtk <i>Alternaria</i> sp.	2 jtk <i>Alternaria</i> sp.	ujemny
12	12L	ujemny	ujemny	ujemny
	12P	ujemny	ujemny	ujemny
13	13R	ujemny	PODŁOŻE KRWAWÉ <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Micrococcus</i> sp.	ujemny
	13	5 jtk 40% <i>Aspergillus niger</i> 20% <i>Aspergillus</i> sp. 20% <i>Alternaria</i> sp. 20% <i>Penicillium</i> sp.	-	ujemny
14	14R	ujemny	PODŁOŻE KRWAWÉ <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Micrococcus</i> sp.	ujemny
	14	zlewny wzrost (nie do policzenia) <i>Rhizopus</i> sp.	-	2 jtk <i>Penicillium</i> sp.
15	15R	1 jtk <i>Penicillium</i> sp.	PODŁOŻE KRWAWÉ <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Micrococcus</i> sp. <i>Bacillus</i> sp. <i>Corynebacterium</i> sp.	ujemny
	15	9 jtk 89% pleśnie (<i>Cladosporium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.) 11% <i>Candida</i> sp.	-	ujemny
18	18L	ujemny	ujemny	ujemny
	18P	ujemny	ujemny	ujemny
19	3 jtk		ujemny	ujemny
	19L	67% <i>Penicillium</i> sp. 33% drożdże	ujemny	ujemny
	19P	71 jtk bakterie	ujemny	71 jtk bakterie
20	20-Ż	1 jtk <i>Cladosporium</i> sp.	ujemny	ujemny
	20-C	1 jtk <i>Rhodotorula</i> sp.	2 jtk <i>Cladosporium</i> sp.	ujemny

W przypadku testów odporności mikrobiologicznej prób skór biostabilizowanych na działanie drobnoustrojów wykonanych preparatem zawierającym pirytronian cynku wykazano, że:

- Dwoina welurowa na podszewki, kolor czarny, zabezpieczona pirytionianem cynku wykazała dobry efekt przeciwbakteryjny w przypadku *St. aureus*, *E. coli* oraz odniesieniu do drożdży *C. albicans*. Dwoina wykazała również dobry efekt przeciwgrzybiczy ze strefami zahamowania wzrostu wobec grzybów strzępkowych *A. brasiliensis* i *T. mentagrophytes*. Próba ta uzyskała najlepszy efekt antymikrobiotyczny wobec wszystkich użytych w badaniu drobnoustrojów, wykazując znaczącą poprawę odporności wobec drobnoustrojów w odniesieniu do próby dwoiny welurowej bez obróbki.
- Skóra bydlęca z wykończeniem licowym, hydrofobizowana, kolor czarny, zabezpieczona pirytionianem cynku, przeznaczona na wierzchy obuwia, wykazała dobry efekt przeciwbakteryjny w przypadku *S. aureus*, *E. coli* oraz w odniesieniu do drożdży *C. albicans* od strony mizdry. Wykazała również dobry efekt przeciwgrzybiczy ze strefami zahamowania wzrostu wobec grzybów strzępkowych *A. brasiliensis* i *T. mentagrophytes*, zwłaszcza od strony mizdry. W badaniach zaobserwowano wzrost grzybów pleśniowych zanieczyszczających próbki po stronie lica, na której nie naniesiono preparatu. Jednak, skóra wykazała znaczącą poprawę odporności wobec drobnoustrojów w odniesieniu do próby skóry bez obróbki.
- Dwoina kryta na wierzchy, kolor czarny, zabezpieczona pirytionianem cynku wykazała strefy zahamowania wzrostu wokół próbki od strony mizdry w odniesieniu do *S. aureus*, *E. coli*. Wykazała dobry efekt przeciwgrzybiczy z dużymi strefami zahamowania wzrostu w odniesieniu do drożdży *C. albicans* po obu stronach skóry. Dwoina kryta wykazała efekt przeciwgrzybiczy z dużymi strefami zahamowania wzrostu wobec grzybów strzępkowych *A. brasiliensis* i *T. mentagrophytes*. Pokazała znaczącą poprawę odporności wobec grzybów drożdżopodobnych i strzępkowych w odniesieniu

do próby skóry bez obróbki.

W przypadku skór z obróbką mikrobiologiczną wykonaną preparatem PHMB uzyskano następujące rezultaty:

- Podszewka z kozo-barana, licowa w kolorze beżowym, biostabilizowana poprzez włączenie substancji PHMB do lakieru wykańczalniczego, nie wykazała efektu antymikrobiotycznego. Na próbach roboczych obserwowano silny wzrost bakterii *S. aureus*, *E. coli*, oraz drożdży *C. albicans*, także obserwowano wzrost *A. brasiliensis* bez stref hamowania w przypadku obu metod badawczych. W przypadku *T. mentagrophytes* odczyty były utrudnione ze względu na przerastanie próbek pleśniami, m.in. *Peacelomyces*, *Penicilium* i *Rhizopus*, które zasiedlały skórę z kozo-barana. Skóra dodatkowo zanieczyszczona była bakteriami *Bacillus sp.* W tym przypadku należy stwierdzić, że nie zaobserwowano poprawy odporności mikrobiologicznej podszewki z kozo-barana, zabezpieczonej PHMB w odniesieniu do próby skóry bez obróbki mikrobiologicznej.
- Dwoina bydlęca welurowa z obróbką PHMB, przeznaczona na wierzchy obuwia, wykazała ograniczoną efektywność wobec *S. aureus*, *E. coli* oraz w odniesieniu do drożdży *C. albicans*. Wykazała efekt przeciwgrzybiczy ze strefami zahamowania wzrostu wobec grzybów strzępkowych *A. brasiliensis* i *T. mentagrophytes*. Dwoina uzyskała poprawę odporności wobec grzybów strzępkowych w odniesieniu do próby skóry bez obróbki.
- Skóra bydlęca licowa, wykończona lakierem zawierającym PHMB, przeznaczona na galanterię, nie wykazała poprawy odporności wobec bakterii i grzybów w porównaniu ze skórą bez obróbki mikrobiologicznej.

Na podstawie wykonanych badań przeprowadzonych dla skór, w kolejnym etapie badaniom poddano wyroby wykonane ze skór zabezpieczonych mikrobiologicznie.

Biorąc pod uwagę wyniki badań mikrobiologicznych wyrobów wykonanych ze skór zabezpieczonych preparatami stwierdzono, że spośród 12 par badanego obuwia z podszewkami i wyściółkami ze skóry podszewkowej z kozo-barana, licowej, wykończonej lakierem zawierającym PHMB, 2 pary obuwia męskiego (obuwie nowe i mało użytkowane) i szpilki damskie (rzadko użytkowane ze względu na bardzo wysoki obcas) oraz jedna para obuwia dziecięcego nowego nie były skażone grzybami.

Natomiast z 8 par obuwia intensywnie użytkowanego izolowano grzyby pleśniowe i drożdżopodobne. We wnętrzu obuwia męskiego stwierdzono pleśnie: *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Alternaria sp.*, *Cladosporium sp.*, *Penicillium sp.*, *Mucor sp.*, *Cryptococcus sp.* i drożdże: *Candida sp.*, *Rhodotorula sp.* Na powierzchni skóry cholewek obuwia męskiego stwierdzono obecność grzybów pleśniowych bytujących w środowisku: *Fusarium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Alternaria sp.*, *Penicillium sp.* Były to te same gatunki, które występowały we wnętrzu tego obuwia. W obuwiu damskim (wymazy z wnętrza obuwia) stwierdzono grzyby pleśniowe: *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sp.*, *Penicillium sp.*, *Paecilomyces variotti*, *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.*, *Ulocladium sp.*, i drożdże: *Candida sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Cryptococcus sp.* Na powierzchni skóry cholewek obuwia damskiego stwierdzono obecność grzybów bytujących w środowisku: *Aspergillus versicolor*, *Alternaria sp.*, *Penicillium sp.*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus sp.*, *Cladosporium sp.*, *Ulocladium sp.*, (były to te same gatunki grzybów, które stwierdzono we wnętrzu obuwia). W trzewikach dziecięcych stwierdzono pleśnie: *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Alternaria sp.*, *Paecilomyces variotti*, *Cladosporium sp.*, i drożdże: *Candida sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Cryptococcus sp.*, *Aureobasidium sp.*, drożdże niezidentyfikowane. W badaniach wymazów pobranych z wnętrza obuwia, obserwowano wzrost od pojedynczych do kilkuset jtk grzybów. W wymazach pobranych w drugim powtórzeniu, w odniesieniu do wszystkich badanych wyrobów, obserwowano znacznie mniejszą liczbę zarodników

grzybów. W niektórych przypadkach powtórne wymazy były jałowe, co może oznaczać, że zarodniki znajdowały się tylko na powierzchni materiału, lecz grzyby nie zasiedliły materiału w głębi struktury. W badaniach obuwia roboczego z wyściółką ze skóry licowej czarnej zabezpieczonej pirytionianem cynku (Sanitized TH 22-27), na jednej wyściółce spośród 2 par badanego obuwia wyizolowano pleśnie *Penicillium sp.* oraz niezidentyfikowane drożdże (3 jtk grzybów). Na drugiej wyściółce z tej samej pary obuwia zaobserwowano bakterie w ilości 71 jtk. Na jednej parze wyściółek pobranych z obuwia użytkowanego mniej intensywnie nie stwierdzono obecności drobnoustrojów. W przypadku toreb lekarskich ze skóry hydrofobizowanej, wykończonej lakierem zawierającym substancję czynną poliheksametyleno-biguanidyna (PHMB), badanie prowadzono oddzielnie dla uchwytów i korpusów. Pobrane wymazy z rączek poddano badaniom bakteriologicznym i mykologicznym, Wymazy z zewnętrznej powierzchni korpusów toreb badano na obecność grzybów. Z powierzchni skóry uchwytów wyizolowano 5 rodzajów bakterii: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus sp.*, *Bacillus sp.*, *Corynebacterium sp.* oraz pleśń *Penicillium sp.* Zaobserwowane gatunki bakterii występowały jako pojedyncze komórki. Należą one do mikroflory stałej i przejściowej, bytującej na skórze człowieka. Z powierzchni skóry stanowiącej korpus torby wyizolowano 9 rodzajów grzybów: pleśnie (*Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. sp.*, *Cladosporium sp.*, *Penicillium sp.*, *Alternaria sp.*, *Rhizopus sp.*) i drożdże: *Candida sp.*, *Rhodotorula sp.* Tylko w jednym przypadku obserwowano zlewny wzrost *Rhizopus*, natomiast pozostałe gatunki grzybów występowały, jako pojedyncze jtk. Na powierzchni dywanu, wykonanego ze skóry wykończonej lakierem matowym (lakier Kazarro) z dodatkiem PHMB, zidentyfikowano tylko pojedyncze pleśnie bytujące w środowisku *Cladosporium sp.*, i pleśnie niezidentyfikowane oraz drożdże *Rhodotorula sp.* w ilości 1-2 jtk.

W ostatnim etapie oceniono komfort użytkowanego obuwia oraz wpływ pozostałych wyrobów na kontakt ze skórą. Odnotowano pozytywne odczucia

wszystkich użytkowników noszących obuwie z podszewkami ze skóry zabezpieczonej obróbką mikrobiologiczną. W próbach użytkowych wykazano, że zastosowanie skór biologicznie aktywnych na podszewki w obuwiu całozamkniętym jest korzystnym rozwiązaniem dla komfortu użytkownika. Na podstawie odczuć użytkowników i obserwacji oddziaływania kontaktowego na stan skóry człowieka, nie stwierdzono zmian alergologicznych u żadnego z użytkowników wyrobów ze skór zawierających biocydy. Należy zauważyć, że oceniane obuwie, zwłaszcza damskie, użytkowane było na stopach ubranych w rajstopy, ale także na bose stopy. Użytkowniczki obuwia nie stwierdzały różnic w odczuwaniu komfortu oraz zachowaniu się skóry w bezpośrednim kontakcie ze skórzanymi podszewkami zabezpieczonymi mikrobiologicznie podczas użytkowania obuwia na gołą stopę lub z rajstopami. Nie stwierdzono żadnego wpływu na stan skóry stopy, brak było jakichkolwiek zmian (tj. zaczerwienienia, świądu, pieczenia) na skórze stóp użytkowniczek podczas chodzenia w obuwiu założonym na gołą stopę. Także, użytkowniczki toreb lekarskich nie zaobserwowały żadnych zmian na skórze rąk.

5. Wnioski

- 1) Wszystkie próby skór zabezpieczonych pirytionianem cynku, charakteryzują się dobrą odpornością mikrobiologiczną, co potwierdził obserwowany w badaniach efekt antymikrobiotyczny. Zaobserwowano znaczną poprawę odporności wobec bakterii, grzybów drożdżopodobnych i strzępkowych dla skór zabezpieczonych w odniesieniu do prób skóry bez obróbki.
- 2) Spośród prób zabezpieczonych substancją PHMB, tylko dwoina bydłęca welurowa wykazała poprawę odporności wobec grzybów strzępkowych w odniesieniu do próby skóry bez obróbki.

Preparat PHMB, który został zastosowany w połączeniu z lakierem, jako wykończenie lica lakierem poprzez natrysk, nie dał wystarczającego

efektu obróbki mikrobiologicznej podszewki z kozo-barana oraz skóry bydlęcej licowej wykończonej lakierem.

- 3) Analizując wyniki badań mikrobiologicznych prób skór pod kątem wyboru optymalnego preparatu do obróbki mikrobiologicznej skór według wybranej technologii tj. nanoszenia na etapie wykończenia dla uzyskania wykończenia higienicznego, wydaje się, że efektywność obróbki zależy od:

- rodzaju substancji czynnej,
- dawki preparatu,
- pierwotnego mikrobiologicznego stanu materiału ochranianego,
- dokładnego i równego naniesienia preparatu na całej powierzchni skóry.

Biorąc powyższe pod uwagę można zauważyć, że skóry zanieczyszczone bakteriami i/lub pleśniami wykazały gorszy efekt obróbki mikrobiologicznej.

- 4) Zaobserwowano różnice w odporności mikrobiologicznej badanych wyrobów skórzanych w zależności od zastosowanego preparatu.

Wydaje się, że na częstość zasiedlania wyrobów przez drobnoustroje również wpływ miały częstotliwość i okres użytkowania oraz sezon użytkowy (lato-jesień, jesień).

- 5) W badaniach mikrobiologicznych wyrobów (obuwia, toreb, dywanu) nie stwierdzono potencjalnie patogennych dla człowieka gatunków grzybów. Stwierdzone pleśnie i drożdże mogą być naturalną mikrobiotą bytującą na skórze bądź w środowisku.

- bakterie zasiedlające skórę, zastosowaną na torby, należą do stałej mikroflory skóry człowieka oraz znajdują się w środowisku.
- obecność bakterii patogenicznej *Staphylococcus aureus* na powierzchni skóry z wykończeniem lakierowym Kazaro + PHMB, zastosowanej na uchwyty toreb, w ilości pojedynczych komórek jest możliwa,

gdyż bakterie te należą do mikroflory stałej i przejściowej, bytującej na skórze człowieka.

- 6) Na podstawie przeprowadzonych prób użytkowych obuwia i galanterii oraz badań mikrobiologicznych wymazów z użytkowanych wyrobów stwierdzono przydatność preparatów, zastosowanych na etapie wykańczania powierzchni, do poprawy odporności mikrobiologicznej skór naturalnych.
- 7) W wyniku przeprowadzonych badań można stwierdzić, że bardziej przydatnym spośród dwóch badanych preparatów do kompleksowej ochrony mikrobiologicznej skór jest Sanitized TH 22-27 (pirytionian cynku).

Literatura

- [1] Skóra J., Gutarowska B., Śnioszek A.: *Zanieczyszczenie drobnoustrojami w garbarniach – zagrożenie dla przetwarzanego materiału, wyrobów skórzanych i zdrowia pracowników w garbarniach*, Przegląd Włókienniczy WOS, **1**, 2014: 26-33.
- [2] Falkiewicz-Dulik M., Kowalczyk M., Błyskał B., Lenart B.: *Badania mikrobiologiczne skóry wet-blue*, Wydawnictwo Instytutu Przemysłu Skózanego Oddział w Krakowie, 2013.
- [3] PN-EN ISO 20645: 2006 *Plaskie wyroby włókiennicze – Wyznaczanie właściwości antybakteryjnej – Metoda dyfuzji na płytce z agaru*.
- [4] PN-EN 14119: 2005 *Badania tekstyliów – Ocena działania mikrogrzybów*.
- [5] Falkiewicz-Dulik M., Panek M., Talaga-Ćwiertnia K.: *Badania porównawcze właściwości jakościowych ulepszonej skóry z próbą kontrolną*, Praca badawcza IPS, 2018.
- [6] Falkiewicz-Dulik M., Krzyściak P., Skóra M.: *Testowanie skóry ulepszonej w warunkach rzeczywistych*. Praca badawcza IPS, 2018.