

М. М. Гребенщикова, Е. А. Ванюкова, Д. Н. Гиззатуллина,
Э. Б. Гатина

ОБ ИССЛЕДОВАНИИ БАКТЕРИОСТАТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОЖЕВЕННОГО МАТЕРИАЛА, ПРИМЕНЯЕМОГО В ОРТОПЕДИИ

Ключевые слова: натуральная кожа, хромовое дубление, биodeградация, патогенная микрофлора, фунгициды.

Изучена возможность исследования бактерицидности и бактериостатичности свойств натуральной кожи, применяемой ортопедии. Установлен спектр микроорганизмов, наиболее часто встречающихся в кожевенном полуфабрикате. Проведен обзор микробиологических методов исследования полуфабриката.

Keywords: leather, chrome tanning, biodegradation, pathogenic microflora, fungicides.

The possibility of bactericidal and bacteriostatic properties of genuine leather applied in orthopedics is researched. A review of microbiological research methods semi is made.

Натуральная кожа, вырабатываемая кожевенной промышленностью, не отвечает всем необходимым требованиям, предъявляемым ей как материалу для ортопедии, при изготовлении изделий медицинской промышленности, а так же для целей кожевенной промышленности [1]. В ортопедическом материаловедении актуальной задачей является совмещение важнейших свойств материалов медицинского назначения - биологической совместимости и антимикробных свойств в одном материале, с сохранением гигиенических и эксплуатационных свойств материала, поскольку традиционные способы достижения антимикробных свойств на основе воздействия химическими препаратами устарели [2].

Натуральная кожа является благородным материалом природного происхождения, который благодаря промышленной обработке приобретает уникальные потребительские свойства.

Различают следующие типы натуральных кож: обувная, шорно-седельная, техническая и одежно-галантерейная кожа [3].

Натуральная кожа – мягкий, пластичный, тягучий материал, прошедший обработку дублением. Производят кожу путем отмачивания шкур, обезжиривания, дубления и химической обработки с последующей окраской. Готовая кожа имеет толщину от 0,5 до 1,5 мм. Натуральная кожа – это экологический материал, хорошо удерживающий тепло, но в тоже время «дышащий» и отводящий излишнюю влагу из изделия благодаря своей природной пористости.

Натуральная кожа является широко применяемым материалом в медицине за счет своих свойств, таких как биостойкость, биоцидность, гипоаллергенность.

Натуральная кожа – лучший материал для изготовления изделий ортопедического назначения. Изделия из кожи прочны и долговечны, они прекрасно держат первоначальную форму и хорошо переносят сильный мороз. Эти свойства натуральная кожа приобретает после качественного дубления и тщательной обработки антибактериальными препаратами и красителями.

Натуральная кожа, являясь природным белковым материалом, приобретает товарные

качества в результате многостадийной обработки различными химическими реагентами и представляет собой питательную среду, на которой могут развиваться бактерии и плесневые грибы [4].

Покров животных имеет сложное строение, и пути проникновения в него микроорганизмов весьма разнообразны.

Шкура еще при жизни животного несет на себе значительное количество микробов, попадающих на нее из окружающей среды (воды, воздуха, почвы), так как животные непосредственно соприкасаются с ней (купание, катание по земле, оседание пыли). Те микроорганизмы, которые оказываются на шкуре после ее снятия, находились там еще при жизни животного, частично же - попали на нее после снятия с туши при последующем загрязнении. После убоя и съемки шкуры происходит вторичное загрязнение ее микробами, источниками которых являются грязный пол, загрязненные корзины, попадающий навоз и грязь.

Огромное значение в порче шкуры имеет специфическая микрофлора убойных камер и кожсырьевых складов, состоящая из микробов, размножающихся в большом количестве, как на разлагающихся отбросах производства, так и на хранящемся сырье и хозяйственном инвентаре. Воздух этих помещений обычно в значительной степени загрязнен этой специфической микрофлорой, спорами плесеней, микрофлорой соли и др. [2].

Свежеснятые шкуры с наружной стороны содержат значительное количество микробов, в то время как внутренняя ее сторона стерильна. Однако уже через два часа парная шкура почти полностью теряет свои товарные качества под действием микроорганизмов, поэтому сразу после снятия ее подвергают консервированию растворами, в которые вводят биоциды.

Введение антимикробных добавок в различные материалы не только предохраняет их от воздействия микроорганизмов в критических условиях эксплуатации, но и дает возможность придавать товарам антимикробные свойства, например, устойчивость к воздействию болезнетворных организмов. К таким товарам

относятся всем известные ортопедическая кожа, стельки и подкладки ортопедической обуви и др. Материалы, из которых изготавливаются такие изделия, должны быть устойчивы к развитию на их поверхности грибковых и бактериальных инфекций.

В большинстве случаев сырье уже поступает на завод микробиологически обсемененным. Большинство спор и колоний грибов погибают в течение процессов обработки, особенно при экстремальных значениях pH. Но при хранении кожаный полуфабрикат очень быстро заражается спорами из окружающего воздуха, т.к. грибковые споры вместе с сырьем с помощью персонала и транспорта быстро распространяются по всем цехам. В процессе хранения wet-blue, пораженные грибом, вскоре сами становятся постоянным источником заражения на производстве.

Обработка фунгицидом не дает желаемого эффекта в нескольких случаях:

- если фунгицид не действует на данный вид грибка (с течением времени на предприятии появляются новые разновидности грибов);
- если концентрация фунгицида недостаточна для подавления данного микроорганизма (часто экономия на расходе фунгицида приводит к заражению производства и оборудования и, как следствие, к необходимости полной дезинфекции предприятия, т.е. влечет за собой гораздо большие материальные расходы);
- при неправильной стадии введения фунгицида;
- при инаktivации фунгицида химикатами, использующимися в кожаной промышленности;
- когда фунгицид плохо проникает в срез кожи.

С течением времени в воздухе производственных помещений появляются споры грибов, устойчивых к определенному фунгициду. В таких случаях технологи часто вынуждены увеличивать его дозировку, что не всегда помогает. Кроме того, это увеличивает риск токсического воздействия на персонал и окружающую среду.

Иногда технологи вынуждены чередовать различные виды фунгицидов, но при отсутствии продуманной стратегии их использования (учет химической природы, последовательность чередования обработки различными фунгицидами и пр.) может возникнуть перекрестная грибковая устойчивость сразу к нескольким видам фунгицидов.

Говоря о воздействии на кожу микроорганизмов, необходимо ввести понятие биодegradации. Биодegradация – это изменение структуры, качества материалов или объектов в результате деятельности живых организмов. Обычно под биодegradацией подразумевают потерю основных (полезных) свойств. Последняя стадия биодegradации - образование углекислоты, аммиака, нитратов, то есть минерализация органического вещества.

Биодegradация может выражаться как в необходимых процессах, например в разложении

умерших организмов, так и приносить человеку существенный ущерб. В таком случае говорят о биоповреждениях. При биодegradации может меняться структура и свойства материала, что может сделать непригодными для использования различные объекты: от пищевых продуктов, до строительных конструкций.

Признаки повреждения материалов микроорганизмами достаточно разнообразны. В ряде случаев наблюдается «плесневение» материала, которое заметно невооруженным глазом и указывает на участие в его порче грибов. На коже под воздействием микроорганизмов часто появляются различные окрашенные пятна [5].

Плесневение и пигментация материалов нередко сопровождаются изменением их физико-химических свойств. Одни материалы теряют прочность, у других снижаются относительное удлинение при разрыве, показатели модуля упругости и напряжения при растяжении.

Наибольший вред материалам приносят плесневые грибы. Они повреждают все природные, многие синтетические материалы. Мицелий начинает свое развитие из спор, прорастающих при определенной температуре и влажности. Первое время развитие гиф идет за счет запасных веществ споры, в дальнейшем - путем адсорбции питательных веществ их материала. Сильнее всего повреждаются материалы, содержащие питательные для грибов вещества. Это ткани из натуральных волокон, древесные наполнители, белковые клеи, углеводороды. Используя указанные материалы в качестве источников углерода и энергии, грибы приводят их в негодность.

Воздействие грибов на материал можно классифицировать следующим образом:

- 1) Химическое действие агрессивных продуктов жизнедеятельности плесневых грибов, к которым относятся органические кислоты (щавелевая, уксусная, винная, муравьиная, лимонная и др.), ферменты, аминокислоты.
- 2) Непосредственное потребление материала или его отдельных компонентов.
- 3) Создание местной повышенной влажности

Особое внимание необходимо обратить на то, что развитие самых разнообразных плесеней вызывает, помимо всего, увлажнение поверхности материалов в определенных условиях их хранения. Плесневению материалов способствуют чрезмерно высокая влажность воздуха складских помещений или хранения; резкие колебания температуры, вызывающие отпотевание поверхностей хранящихся материалов. Начавшая развиваться плесень может дальше интенсивно поражать материал, так как она увлажняет его водой, образующейся при метаболизме. Плесневение может также провоцировать развитие бактерий, поскольку плесени в условиях, препятствующих высыханию поврежденных материалов, повышают их влажность до предела и делают возможным развитие бактерий. Размножение последних приводит к еще более активной порче разнообразных материалов.

Эффективные средства борьбы с плесневыми грибами можно разрабатывать лишь при знании их физиологии.

Участие микроорганизмов в биоповреждениях должно быть подтверждено экспериментально в каждом конкретном случае. Одним из доказательств является обнаружение микроорганизмов на (или в) поврежденном материале и последующее их выделение.

Обнаружить микроорганизмы в (или на) материалах и даже определить их численность еще недостаточно для того, чтобы утверждать, что именно микроорганизмы являются ведущей причиной повреждения.

Участие микроорганизмов в биоповреждениях должно быть подтверждено экспериментально в каждом конкретном случае. Одним из доказательств является обнаружение микроорганизмов на (или в) поврежденном материале и последующее их выделение.

Обнаружить микроорганизмы в (или на) материалах и даже определить их численность еще недостаточно для того, чтобы утверждать, что именно микроорганизмы являются ведущей причиной повреждения. Применив знаменитую триаду Коха к повреждению материалов, Хук ван-дер Плас (1974) [6] сформулировал следующие положения:

- 1) микроорганизмы, повреждающие материал, должны регулярно обнаруживаться на нем или быть от него в непосредственной близости;
- 2) необходимо выделить эти микроорганизмы в чистую культуру;

- 3) феномен повреждения материала следует получить с выделенными микроорганизмами в контролируемых условиях лаборатории и сравнить с результатами, наблюдаемыми в природе.

Лишь при выполнении отмеченных условий можно с уверенностью говорить о связи повреждения данного материала с жизнедеятельностью микроорганизмов.

Для выявления микроорганизмов на поверхности твердых материалов широко применяют микроскопические методы. Обычно готовят реплики (отпечатки) поврежденной поверхности на липкой целлюлозной ленте и исследуют их под микроскопом. Для получения более четких результатов рекомендуется окрашивать реплики флуорохромами и просматривать их в люминесцентном микроскопе. В последнее время для анализа реплики используют сканирующий микроскоп.

В топливах, жировых эмульсиях и других материалах жидкой консистенции микроорганизмы можно обнаружить, используя стекла обростания. Однако ни микроскопические методы, ни стекла обростания не позволяют выделить микроорганизмы - возбудители повреждений.

Наибольшее распространение для обнаружения и выделения микроорганизмов получили методы, основанные на внесении поврежденного материала в жидкие или на плотные питательные среды. В зависимости от физико-

химических свойств материала и степени его повреждения в среды помещают поврежденные образцы, соскобы или смывы с их поверхности.

Методом «соскоба», например, определяют количество микроорганизмов на стенах жилых или производственных помещений. Для этого с площади 100 см² (по 25 см² с каждой из 4-х стен) соскабливают слой штукатурки и помещают в 100 мл стерильной воды. После тщательного встряхивания 1 мл взвеси помещают в чашку Петри и заливают селективной питательной средой.

Методом смывов контролируют обсемененность не только строительных конструкций производственных и жилых помещений, производственного оборудования и инвентаря, но и наличие микроорганизмов на продуктах питания, упаковочных материалах, а также руках обслуживающего персонала.

Для взятия пробы на обследуемый объект накладывают профламбированный трафарет, который делают из проволоки или металлической пластинки в форме квадрата площадью 25, 50 или 100 см².

Ограниченную трафаретом поверхность объекта тщательно протирают извлеченным из пробирки (при помощи стерильного пинцета) смоченным тампоном в двух взаимно перпендикулярных направлениях. Затем тампоны погружают в ту же пробирку. Площадь, с которой берут пробу (смыв), должна быть не менее 100 см².

Бактерии рода *Pseudomonas* выделяют обычно на мясо-пептонном агаре [6], бактерии родов *Arthrobacter*, *Mycobacterium* - на агаризованной среде, включающей равные объемы мясо-пептонного бульона и суслу. Для выделения нитрифицирующих бактерий используют минеральные среды с аммонием, для сульфатредуцирующих - специальные среды с сульфатами.

Если на (или в) поврежденном материале обнаружены микроорганизмы, то следует обратить внимание на их численность. При неблагоприятных условиях количество микроорганизмов невелико, напротив, когда условия для их жизнедеятельности благоприятны и процессы, ими вызываемые, идут достаточно интенсивно, численность микроорганизмов заметно возрастает. Следовательно, чем больше клеток микроорганизмов в поврежденном материале, тем вероятнее ведущая роль микроорганизмов в его повреждении.

В настоящее время существует тенденция разработки экспрессных методов, основанных на активации роста микроорганизмов путем подбора суперселективных сред, автоматизации подсчета колоний, использования специальных красителей в цитохимических реакциях. Перспективными считаются методы качественного обнаружения микроорганизмов на основе измерения концентрации продуцируемых ими метаболитов (в том числе ферментов и продуктов их взаимодействия с субстратом) или измерения

физических свойств (электрохимических, радиоактивных и других).

Проведено патентное исследование способов придания текстильным и кожевенным материалам бактерицидных и бактериостатических свойств. Анализ патентов показал, что основными недостатками указанных материалов является высокий расход антимикробных препаратов, неблагоприятное влияние используемых химических соединений на окружающую среду, узкий спектр биоцидного действия и отсутствие оценки биологической совместимости материалов с тканями и кожей человека.

В результате проведенного анализа литературного обзора установлено, что в кожевном производстве в основном приходится встречаться с бактериями (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* *Micrococcus* sp., *Proteus vulgaris*) в сырье и на отмоке и грибами (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Trichoderma* sp.) на пикеле, wet blues, wet white и в растительном дублении.

Использование устаревших фунгицидов запрещено в связи с крайне неблагоприятными экотоксикологическими и канцерогенными характеристиками.

Консерванты "нового поколения" не заменили устаревшие антисептики, а лишь дополнили список бактерицидов и фунгицидов, призванных обеспечить максимальную защиту кожевнного производства от микроорганизмов, практически свести к нулю их отрицательное воздействие и тем самым повысить качество выпускаемой кожи.

Комплексные исследования повышения биологической совместимости кожевенных материалов, в частности, повышение

антимикробных свойств и оценка воздействия на организм живого человека не проводились.

В связи с вышеизложенным, представляет интерес исследование возможности повышения микробиологической устойчивости кожевнного материала нетрадиционными способами обработки, в том числе, с применением электрофизических методов. Одним из таких методов является нанесение металлоподобных нитридных покрытий из плазменной фазы, микробиологическая активность которых на металлических подложках доказана предыдущими исследованиями [7].

Литература

1. Гребенщикова М.М. Технология получения кожевнного материала для изделий протезно-ортопедического назначения с биологически совместимыми свойствами/ М.М. Гребенщикова, И.Ш. Абдуллин, Р.А. Кайдриков, Э.Б. Гатина // Вестник Казанского технологического университета. – 2012.- №3 – С.101-103.
2. Евсюков С. С. Антисептические препараты для различных отраслей промышленности// "Кожа и обувь" 3 (9) 29.06.2004
3. Афанасьев Р.Я. Справочник кожевника (сырье и материалы) / Р.Я. Афанасьева.-М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984.- 384 с.,ил.
4. Страхов И.П. Химия и технология кожи и меха / И.П. Страхова.- М.: Легпромбытиздат, 1985.-496 с.,ил.
5. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований / А.С. Лабинская. – М.: Медицина, 1978. -392с.
6. Методы общей микробиологии. В 3 т. Т.1.: пер. с англ./под ред. Ф.Герхардта. – М.: Мир, 1983. – 563с.
7. Антимикробные свойства конденсатов нитридов и металлов четвертой группы/ М.М. Гребенщикова, И.Ш. Абдуллин// Вестник Казанского технологического университета. – 2010.- №11 – С.548-549.