

Antibakterijska svojstva vune

Rajič, Antonija

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:423880>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Antonija Rajič

Antibakterijska svojstva vune

Diplomski rad

Zagreb, 2020.

Ovaj rad je izrađen u Laboratoriju za bakteriologiju na Zavodu za mikrobiologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom doc.dr.sc. Tomislava Ivankovića. Ovaj rad je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom IP2016-06-5278., voditelja prof. dr. sc. Zenuna Skenderija „Udobnost i antimikrobna svojstva tekstila i odjeće“, a u suradnji s Tekstilno – tehnološkim fakultetom Sveučilišta u Zagrebu. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra edukacije biologije i kemije.

ZAHVALA!

Ovim putem se zahvaljujem svom mentoru doc.dr.sc. Tomislavu Ivankoviću što mi je omogućio da napravim rad pod njegovim vodstvom na Zavodu za mikrobiologiju. Hvala na ukazanom povjerenju, strpljivosti i korisnim savjetima tijekom izrade ovog rada! Najveće hvala mojoj obitelji koja mi je tijekom cijelog studija bila velika podrška!

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Diplomski rad

Antibakterijska svojstva vune

Antonija Rajič

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Vuna u odnosu na druge prirodne materijale ima sposobnost reducirati razvoj neugodnih mirisa na odjeći. Smatra se da struktura vlakna vune ne pogoduje razvoju bakterija, a lanolin na površini vlakna štiti ovcu od infekcija. Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti uz pomoć testa difuzije u agaru (ISO 20645:2004) antibakterijska svojstva vune te predložiti mehanizam djelovanja određivanjem broja vezanih bakterija na vuni nakon 1 i 24-satnog kontakta s bakterijama na hranjivim podlogama. Vuna je uspoređena s pamukom i medicinskom gazom. Testirane bakterije bile su *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, te više sojeva bakterije *Acinetobacter baumannii*, uključujući dva bolnička izolata. Prema testu difuzije na agaru, vuna je pokazala dobar antibakterijski učinak (određen odsustvom bakterija na hranjivoj podlozi ispod tekstilnog uzorka) za sve bakterije osim *S. aureus*. Pamuk je za testirane bakterije pokazao od nedovoljnog do dobrog antibakterijskog učinka. Medicinska gaza je pokazala granični i nedovoljan učinak za sve testirane bakterije. Za većinu testiranih bakterija ne postoji značajna razlika u broju vezanih bakterija između vune, pamuka i gaze nakon 1-satnog kontakta. Nakon 24-satnog kontakta za većinu bakterija vuna je pokazala manji ili jednak broj vezanih bakterija u odnosu na gazu, a veći ili jednak u odnosu na pamuk. Površina vune omogućava jako dobro prijanjanje bakterija, ali se bakterije nastavljaju na njoj značajno umnožavati. Antibakterijski učinak je stoga rezultat čvrstog vezanja bakterija na vlakna vune, čime se smanjuje prisutnost bakterija na hranjivoj podlozi ispod vunenog uzorka.

(81 stranica, 101 slika, 9 tablica, 30 literaturnih navoda)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Ključne riječi: vuna, antibakterijska svojstva, test difuzije u agaru

Voditelj: Doc. dr. sc. Tomislav Ivanković

Ocjenitelji: Doc. dr. sc. Mirela Sertić Perić, doc. dr. sc. Sara Essert, izv. prof. dr. sc. Draginja Mrvoš-Sermek

Rad prihvaćen: 16.09.2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Biology

Graduation Thesis

Antibacterial properties of wool

Antonija Rajič

Rooseveltov Trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Wool, compared to other natural materials, has the ability to reduce the development of unpleasant odors on clothing. It is believed that the structure of wool fibers does not favor the development of bacteria, and lanolin on the surface of the fiber protects the sheep from infections. The aim of this study was to evaluate the antibacterial properties of wool using agar diffusion test (ISO 20645: 2004) and to suggest a mechanism of action by determining the number of bound bacteria on wool after 1 and 24 hours of contact with bacteria on nutrient media. Wool was compared to cotton and medical gauze. Tested bacteria were *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *B. cereus*, and several strains of *A. baumannii*, including two hospital isolates. According to the agar diffusion test, wool showed a good antibacterial effect (determined by the absence of bacteria on the nutrient medium below the textile sample) for all bacteria except *S. aureus*. Cotton showed insufficient to good antibacterial effect for tested bacteria. Medical gauze showed marginal and insufficient effect for all tested bacteria. For most of the bacteria tested, there is no significant difference in the number of bound bacteria between wool, cotton and gauze after 1 hour of contact. After 24 hours of contact for most bacteria, wool showed less or equal number of bound bacteria compared to gauze, and greater or equal to relative to cotton. The surface of the wool allows very good adhesion of bacteria, but bacteria continue to multiply significantly on it. The antibacterial effect is therefore the result of a strong binding of bacteria to the wool fiber, thus reducing the presence of bacteria on the nutrient media under the wool sample.

(81 pages, 101 figures, 9 tables, 30 references)

Thesis deposited in the Central Biological Library

Key words: wool, antibacterial properties, agar diffusion plate test

Supervisor: Doc. dr. sc. Tomislav Ivanković

Reviewers: Doc. dr. sc. Mirela Sertić Perić, doc. dr. sc. Sara Essert, izv. prof. dr. sc. Draginja Mrvoš-Sermek

Thesis accepted: 16.09.2020.

Sadržaj

1. UVOD	1
1.1. Tekstilni materijali.....	1
1.1.1. Podjela tekstilnih materijala	1
1.1.2. Tekstilni materijali i mikroorganizmi	1
1.1.3. Medicinski tekstil i mikroorganizmi	2
1.2. Vuna.....	2
1.2.1. Općenito o vuni	2
1.2.2. Kemijski sastav i struktura vlakna vune.....	3
1.2.3. Antibakterijsko djelovanje vune.....	5
1.3. Antimikrobna sredstva.....	6
1.4. Ostali tekstilni materijali korišteni u ovom istraživanju.....	7
1.4.1. Pamuk – prirodna celulozna vlakna	7
1.4.2. Medicinska gaza	8
1.4.3. Aquacel Ag.....	8
1.4.4. Antibakterijski uložak za cipele	8
1.5. Procjena antibakterijske učinkovitosti tekstilnih materijala	9
2. CILJ	10
3. MATERIJALI I METODE	11
3.1. Materijali	11
3.1.1. Bakterijski sojevi.....	11
3.1.2. Tekstilni materijali	11
3.1.3. Kemikalije i hranjive podloge	11
3.1.4. Pribor i uređaji.....	12
3.2. Metode	13
3.2.1. Priprema uzoraka materijala.....	13
3.2.2. Bojanje bakterija po Gramu	13
3.2.3. Test difuzije u agaru (ISO 20645:2004).....	14
3.2.4. Određivanje broja vezanih bakterija na uzorku materijala nakon 1- i 24-satnog kontakta.....	15
4. REZULTATI.....	18
4.1. Bojenje bakterija metodom po Gramu.....	18
4.2. Test difuzije u agaru (ISO 20645:2004)	20
4.2.1. Pozitivna kontrola, Aquacel Ag i antibakterijski uložak za cipele.....	20
4.2.2. Test difuzije u agaru za bakteriju <i>S. aureus</i>	29

4.2.3.	Test difuzije u agaru za bakteriju <i>K. pneumoniae</i>	34
4.2.4.	Test difuzije u agaru za bakteriju <i>B. cereus</i>	39
4.2.5.	Test difuzije u agaru za bakteriju <i>A. baumannii</i>	44
4.2.6.	Test difuzije u agaru za soj 3831, bakterije <i>A. baumannii</i>	49
4.2.7.	Test difuzije u agaru za soj 4138, bakterije <i>A. baumannii</i>	55
5.	RASPRAVA.....	73
6.	ZAKLJUČAK	76
7.	LITERATURA.....	77
8.	ŽIVOTOPIS	81

1. UVOD

1.1. Tekstilni materijali

1.1.1. Podjela tekstilnih materijala

Tekstil je fleksibilan materijal koji se sastoji od mreže prirodnih ili umjetnih vlakana. Tekstilni materijali mogu imati različite izvore: biljne (pamuk, lan), životinjske (vuna, svila), mineralne (azbest, staklena vlakna) i sintetičke (poliester, akril, najlon). Tekstilni materijali se primarno koriste za odijevanje, ali široku upotrebu imaju i u medicini, kućanstvu i održavanju higijene. Također, koriste se i u građevini, poljoprivredi, prometu i brojnim drugim industrijama. Zadnjih godina razvijaju se nove tehnologije koje se primjenjuju za produkciju "funkcionalnih tekstila" i "pametnih tekstila" tj. tekstila koji se imaju sposobnost mijenjati u skladu s uvjetima okoliša i ljudskog tijela te reagirati na te promjene (Hipler i Elsner, 2006.).

1.1.2. Tekstilni materijali i mikroorganizmi

Ljudska koža je kompleksni mikrobiološki ekosistem koji sadrži 10^2 - 10^7 bakterija po cm^2 . Većina tih mikroorganizama ne predstavlja zdravstveni problem, a prisutnost i ravnoteža nekih od njih je ključna za naše zdravlje. Mnogi vanjski faktori mogu izmijeniti ekosustav kože što dovodi do promjena u mikrobiološkim populacijama (Roth i James, 1988). Mikroorganizmi se mogu brzo umnožavati kada su zadovoljeni osnovi zahtjevi kao što su vlaga, nutrijenti i temperatura (Gao i Cranston, 2008.). Tekstilni materijali organskog podrijetla sadrže proteine (keratin), celulozu i dr. koji služe mikroorganizmima kao izvor hranjivih tvari i energije. Također, organski materijali pružaju dobru osnovu za pričvršćivanje biofilma, veliko površinsko područje i apsorbiraju ljudski znoj. Kada su osigurani idealni uvjeti za rast, mikroorganizmi se brzo razmnožavaju i uzrokuju oštećenja na tekstu, stvaraju neugodne mirise i uzrokuju potencijalne infekcije nosioca. Oštećenja tekstilnih materijala mikroorganizmima ovisi o njihovoj stopi nošenja, vrsti i podrijetlu, organskom sastavu, uvjetima temperature i vlažnosti, stupnju prozračivanja (Pekhtasheva i sur., 2012.). Takva oštećenja uzrokuju fizičku iritaciju, a mikroorganizmi na materijalima mogu dovesti do alergijske osjetljivosti, toksičnih reakcija, infekcija i bolesti.

1.1.3. Medicinski tekstil i mikroorganizmi

Mikroorganizmi predstavljaju veliki problem za medicinski tekstil koji može biti potencijalni izvor zaraze. Sve veći broj dokaza sugerira da je odjeća zdravstvenih radnika često onečišćena mikroorganizmima ili patogenima koji mogu uzrokovati infekcije ili bolesti (Mitchell i sur., 2015.). Mikroorganizmi na tekstilu mogu se prenijeti sa zaraženog pacijenta, zdravstvenog radnika ili iz okoliša na tekstil, zadržavati se unutar njega i onda prenijeti na neku drugu bolesnu osobu kod koje izazivaju infekciju. Infekcije produžuju proces liječenja kod pacijenata, uzrokuju potencijalne rizike za razvoj ozbiljnih bolesti, ali i uzrokuju dodatne troškove za zdravstveni sustav. Infekcije bakterijom *Acinetobacter baumannii* postale su glavnim uzrokom bolničkih infekcija širom svijeta (Alsan i Klompas, 2010.). Ova gram-negativna bakterija brzo razvija otpornost na različite antibiotike i sposobna je dugotrajno preživjeti izvan čovjeka u bolničkoj sredini. U Hrvatskoj se pojavila 2002. godine (HZZO, 2017.). Pojavom različitih novih patogena javlja se sve veća potreba za osiguravanjem zaštitne medicinske odjeće (kirurških maski, kapa, kuta) koja ima antimikrobno djelovanje te se pronalaze nova rješenja koja bi dovela do redukcije prijenosa štetnih mikroorganizama u bolničkim sredinama.

1.2. Vuna

1.2.1. Općenito o vuni

Ovce su proizvodno najsvestranija vrsta domaćih životinja. Služe kao izvor mesa, mliječnih proizvoda i vune. Vuna se dobiva strižom ovaca, a rjeđe iščešljavanjem i čupanjem. Striža ovaca je postupak skidanja prirodnog vunskog ogrtača (runa) nakon jednogodišnjeg rasta, uz primjenu ručnih ili električnih škara (Mioč i sur., 2006.). Prinos i kvaliteta vune ovise o pasmini, uvjetima hranidbe i držanja, dobi, zdravlju te postupcima s vunom nakon striže. U nekim zemljama vuna je najvažniji proizvod ovaca (npr. Australija) kojim se osigurava velik dio dohotka. U Hrvatskoj proizvodnja vune gotovo da nema nikakvu gospodarsku važnost (Mioč i sur., 2006.). Uzgaja se oko 600 000 ovaca (HPA, 2017.) od kojih se godišnje proizvede oko 1 083 tona neprane vune (Statistički ljetopis Republike Hrvatske, 2016.), a većina te vune se odlaže kao otpad zbog loših fizikalnih svojstava. Vuna niske kvalitete koristi se za izolaciju, proizvodnju tepiha, madraca, namještaja. Vuna visoke kvalitete poput merino vune koristi se u tekstilnoj industriji za proizvodnju odjeće i obuće. Vuna ima sposobnost primanja (apsorpcija)

i otpuštanja (desorpcija) vlage. To svojstvo omogućava regulaciju tjelesne temperature i hlađenje tijela tijekom toplih razdoblja, a grijanje tijekom hladnih razdoblja. Vuna je prirodno otporna na visoke temperature uzrokovane vatrom zbog čega se često koristi za vatrogasnu odjeću. Ne topi se i ne lijepi za kožu koja je opečena. Vuneni proizvodi imaju dug životni vijek, koriste se i nose duže od ostalih tekstilnih materijala (IWTO, 2020.). Vuneni tekstil potrebno je rjeđe prati, može se reciklirati, a kao proteinski bazirano vlakno ne zagađuje okoliš kao neki umjetni tekstili poput poliestera.

1.2.2. Kemijski sastav i struktura vlakna vune

Vlakna vune su kompozitni materijal s visoko kompleksnom fizikalnom i kemijskom kompozicijom koja je evoluirala tijekom milijuna godina kako bi štitila ovcu od ekstremne vrućine, hladnoće i kiše. Sa sposobnošću promjene oblika vlakna kao odgovora na vanjske uvjete, vlakno vune se smatra izrazito pametnim materijalom (Caven i sur., 2018). Vuna je izgrađena najvećim dijelom od proteina, keratin čini 80% mase vune. Osim keratina, vuna sadrži i 17% nekeratinskih proteina, 1,5% makromolekularnih spojeva (polisaharidi, nukleinske kiseline) i 1,5% niskomolekularnih tvari (lipidi i anorganski spojevi) (Erlač i sur., 1996.). Keratin izgrađuju različite aminokiseline koje se vežu u duge polipeptidne lance (α -heliks). Strukturno gledano kod vunenog vlakna mogu se razlikovati dva (kod finih vuna) i tri (kod grubih vuna) osnovna dijela:

- kutikula (*lat. cuticula*) ili ljuskavi pokrov (vanjski omotač)
- korteks (*lat. cortex*) koji je glavni dio vlakna ili jezgra vlakna, te
- srž ili medula odnosno središnji dio vlakna koji je karakterističan za grublja vunena vlakna (Čunko i Andrassy, 2005.).

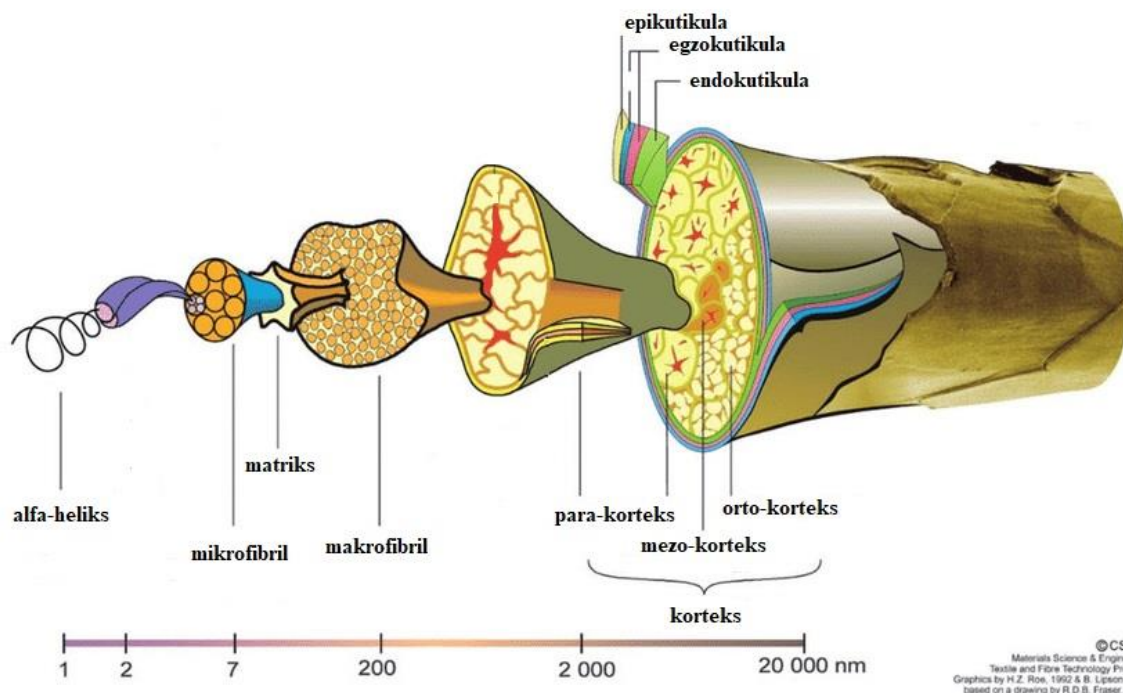
Kutikula predstavlja vanjski omotač sastavljen od pločastih stanica (ljusaka) koje se preklapaju po cijeloj površini vlakna. Svaka stanica kutikule slojevito je formirana od četiri sloja:

- epikutikule (10-65 nm), tvrdog, tankog, vanjskog ljuskastog sloja izgrađenog od lipida i proteina, utječe na svojstva površine vlakna
- egzokutikule (40-400 nm), sloja bogatog sumporom, s velikim brojem disulfidnih mostova, otpornog na vanjske utjecaje i kemikalije
- mezokutikule, mekanijeg sloja, s manjim brojem disulfidnih mostova

- endokutikule (30-300 nm), mehanički najslabiji sloj sa niskim sadržajem cistina odnosno siromašan sumporom (Feughelman, 1997.)

Na vanjskoj strani ljusaka nalazi se tanki voštani film koji odbija vodu, a sadrži otvore kroz koje mogu prodirati molekule vodene pare. Kada se vuneno vlakno navlaži, voda prodire iz hidrofobnih ljuskica kutikule u korteks. To uzrokuje bubrenje korteksa i uzrokuje otvaranje ljuskica kutikule (Lewis, 1992.). Kutikula obavlja osnovnu vlaknastu tvar koja se naziva kora ili korteks (Čunko, Andrassy, 2005.). Korteks je smješten ispod kutikule i sastavljen je od vretenastih stanica. Postoje dvije vrste stanica: bazofilne (orto-korteks) i acidofilne (para-korteks). Stanice para-korteksa slabije upijaju vlagu i imaju manju reaktivnost prema kemikalijama jer sadrže veću količinu sumpora, imaju jaču međumolekularnu povezanost i zbijeniju strukturu u odnosu na stanice orto-korteksa. Vretenaste stanice korteksa su građene od nitastih elemenata makrofibrila koji su međusobno povezani nevlaknastom proteinskom tvari (matriks). Makrofibrile izgrađuju nitasti elementi mikrofibrili, a mikrofibrile protofibrili. Svaki protofibril sastoji se od četiri spiralne proteinske makromolekule. Dvije antiparalelno usmjerene makromolekule međusobno se povezuju u dimer. Na taj je način u građi prisutan hijerarhijski slijed vlaknatog oblika od lančane makromolekule, preko unutar staničnih fibrila do cjelovitog vlakna (Cook, 2001.).

STRUKTURA VLAKNA MERINO VUNE



Slika 1. Shematski prikaz vlakna vune

(Preuzeto i prilagođeno na temelju CSIRO, 2008.)

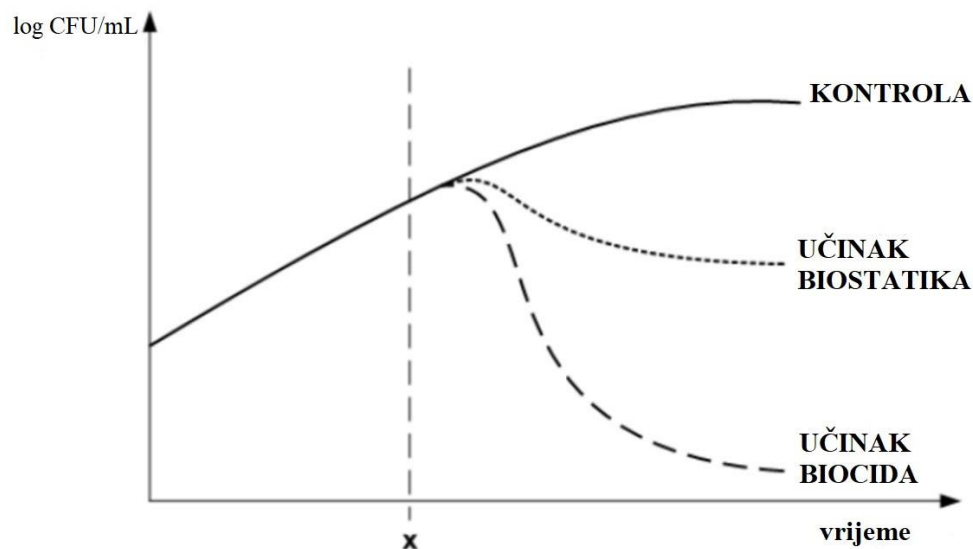
1.2.3. Antibakterijsko djelovanje vune

Istraživanja provedena 2011. (Liu i sur.) i 2015. (Yu i sur.) pokazala su da je vuna dobar domaćin za razvoj mikroorganizama. Takvi rezultati imaju smisla jer je vuna građena od proteinski baziranih vlakana koja mogu biti izvor nutrijenata za mikroorganizme. Ipak, vuna ima sposobnost reducirati razvoj neugodnih mirisa na odjeći, osobito sportskoj koja je podložna razvoju neugodnih mirisa zbog pojačanog znojenja tijekom nošenja. U istraživanju provedenom 2007. (McQueen i sur.) pet žena je nosilo različite materijale, među kojima je bila i vuna. Rezultati su pokazali da se na vuni razvija najmanje neugodnih mirisa u odnosu na druge tekstilne materijale (pamuk i poliester). Razvoj neugodnih mirisa povezuje se s povećanim razvojem mikroorganizama, te je zato predloženo da sama vuna posjeduje antibakterijska svojstva. Također, antibakterijsko djelovanje vune povezuje se sa strukturom

njezina vlakna. Intrizično svojstvo vune je da ima hidrofilni korteks i hidrofobnu površinu što znači da je takva mikroklima na površini vlakna nepovoljna za razvoj bakterija (Caven i sur., 2018). Lojne žlijezde ovce izlučuju lanolin koji se nalazi na vuni, a smatra se da štiti kožu ovce od infekcije. Lanolin se u farmaceutске svrhe ekstrahira iz runa ovce, prerađuje te se dobiva sirovi vuneni vosak. Koristi se za zacjeljivanje oštećene kože, djeluje protuupalno i regenerira kožu. Diplomskim radom istražit ću sadrži li prirodna vuna antibakterijska svojstva jer zbog potencijalno štetnog djelovanja biocida i biostatika na ljudsku kožu pokušavaju se pronaći prirodni materijali koji imaju antibakterijska svojstva.

1.3. Antimikrobna sredstva

Pojam "antimikrobno" odnosi se na širok spektar tehnologija koje pružaju različit stupanj zaštite tekstilnih materijala protiv mikroorganizama (Ristić i sur., 2011.). Antimikrobna sredstva se razlikuju po kemijskoj strukturi, načinu djelovanja, stupnju ispiranja te utjecaju na ljude i okoliš. Antimikrobna sredstva se mogu podijeliti na biocide i biostatike. Biocidi uzrokuju smrt mikroorganizama, a biostatiki inhibiraju rast mikroorganizama. Većina dostupnih antimikrobnih sredstava su biocidi, npr. srebro, kvaterni amonijevi spojevi i triklosan.



Slika 2. Biocidni i biostatiki učinak antimikrobnog sredstva na rast mikroorganizama (x označava vrijeme dodavanja antimikrobnog sredstva)

(Preuzeto i prilagođeno na temelju Ristić i sur., 2011.)

Postoje različiti načini djelovanja antimikrobnih sredstava na mikroorganizme. Mogu sprječavati staničnu reprodukciju, mijenjati propusnost stanice, narušavati strukturu stanične stijenke, denaturirati proteine, blokirati enzime itd. Antimikrobna sredstva mogu biti trajno pričvršćena na površinu vlakana i na taj način sprječavati rast mikroorganizama koji dolaze u kontakt s površinom vlakna. Drugi tip su sredstva s mehanizmom kontroliranog oslobađanja, ona se polako otpuštaju na površinu vlakna i/ili s površine (Ristić i sur., 2011.). Na taj način ne samo da štite vlakna od razvoja mikroorganizama već i sprječavaju rast mikroorganizama u okružujućem okolišu. Antimikrobno djelovanje tekstila se postiže na različite načine, a ovisi korištenom antimikrobnom sredstvu i vrsti tretiranog vlakna. Za sintetska vlakna, antimikrobno aktivna sredstva se mogu ugraditi u polimer prije isprešavanja ili miješati u vlakna tijekom njihova stvaranja što pruža najveću trajnost jer se sredstvo fizički ugradi u strukturu vlakna (Gao i Cranston, 2008.). Za prirodna vlakna mogući su samo naknadni tretmani koji vežu antimikrobna sredstva na površinu vlakna. Zbog štetnih učinaka mikroorganizama, javlja se sve veća potreba za antibakterijskim materijalima. Antimikrobno obrađeni tekstil bi trebao biti učinkovit za široki spektar mikroorganizama, ali siguran prema potrošačima i okolišu. Antimikrobna obrada bi trebala biti trajna za pranje i ne utjecati na kvalitetu i izgled tekstila.

1.4. Ostali tekstilni materijali korišteni u ovom istraživanju

1.4.1. Pamuk – prirodna celulozna vlakna

Pamuk zauzima prvo mjesto među kulturama za proizvodnju vlakana. Vlakno se formira na sjemenu. Dugo vlakno se najviše iskorištava za proizvodnju odjeće, a kratko vlakno za izradu vate, fitilja, umjetne kože. Pamuk je građen od celuloznih vlakana. Sve biljke sadrže celulozu, ali u različitim količinama. Oko 90% pamuka čini celuloza (Hsieh, 2007.). Celuloza je složeni polisaharid sastavljen od linearno povezanih jedinica D-glukoze. Vlakno može izdržati visoke temperature i ima veliku apsorpcijsku sposobnost. Pamuk nije skup, savitljiv je i lako se može prestići u konac. Ne zahtijeva posebnu njegu, a dobro se pere i dugo traje.

1.4.2. Medicinska gaza

Gaza je rijetko tkana pamučna, svilena ili lanena tkanina. U medicini se koristi pamučna gaza. U ovom istraživanju korištena je kompresa od gaze. Kompresa je pamučna gaza složena u nekoliko međusobno opšivenih slojeva, četverokutna oblika. Upotrebljava se za oblaganje rana ili unutarnjih organa pri operacijama. Dobro upija vlagu, a zbog mekoće dobro prianja uz ranu.

1.4.3. Aquacel Ag

Rane na koži su otvorene za okoliš i povoljna su okolina za rast bakterija. U novije vrijeme, u medicini se potiče korištenje materijala koji sprječavaju rast bakterija i potiču zacjeljivanje rana. Aquacel Ag je primarna obloga obogaćena ionima srebra (Ag^+). Sastoji se od natrij karboksimetilceluloze s 1,2% srebra. Kod takvih materijala se ioni srebra otpuštaju kada se zamijene kationima u anionskom polimeru supstrata ili sadrže spojeve srebra koji imaju sposobnost otpuštanja srebrovih iona. Srebrovi ioni reagiraju s membranskim proteinima i DNA bakterije, pri čemu dolazi do denaturacije proteina i sprječavanja replikacije DNA (Yunoki, 2015.). Aquacel Ag uništava širok spektar patogenih bakterija. Upija eskudat iz rana, stvara gel i sprječava razvoj bakterija u oblozi. Srebro je stalno aktivno dok je obloga na rani, a antibakterijsko djelovanje traje do 7 dana. Iako su takvi materijali odličan način za sprječavanje rasta bakterija, smatra se produžuju vrijeme zacjeljivanja rana. Velike količine srebrovih iona mogu biti štetne i uzrokovati oštećenje tkiva.

1.4.4. Antibakterijski uložak za cipele

Antibakterijski uložak za cipele marke Coccine izrađen je od kože i lateksa koji sadrži aktivni ugljen. Aktivni ugljen je apsorvent prirodnog podrijetla s velikom sposobnošću vezanja mikroorganizama, raznih toksina, plinova i štetnih tvari. Najviše se koristi u kozmetičke svrhe i u farmaciji kao lijek za nadutost, dijareju. Uzima se kod trovanja hranom ili nekim drugim oralno unesenim otrovima i lijekovima. Istraživanje (Katsumi i sur., 2001.) pokazalo je da aktivni ugljen ima veliku sposobnost adsorpcije bakterije *Escherichia coli* i verotoksina koji proizvodi. Aktivni ugljen može biti impregniran srebrom. Na taj način aktivni ugljen adsorbira bakterije i toksine, a ioni srebra ih ubijaju.

1.5. Procjena antibakterijske učinkovitosti tekstilnih materijala

ISO – Internacionalna organizacija za standardizaciju je nezavisna međunarodna organizacija koja okuplja stručnjake iz cijeloga svijeta kako bi razvili internacionalne standarde. Ti standardi osiguravaju zahtjeve, smjernice i specifikacije za materijale, proizvode, procese i usluge kako bi se osigurala njihova kvaliteta, sigurnost i učinkovitost. Za procjenu antibakterijske učinkovitosti tekstilnih materijala mogu se koristiti kvalitativne i kvantitativne metode. Kvalitativne se većinom temelje na testovima difuzije u agaru. Kvantitativne metode su točnije i preciznije, ali zahtijevaju više vremena i materijala. Antibakterijska učinkovitost se može ispitati prvo kvalitativnom metodom jer je jednostavnija pa ako materijali pokažu antimikrobna svojstva, ona se dalje provjeravaju nekom kvantitativnom metodom. U ovom istraživanju kao kvalitativnu metodu koristila sam ISO 20645:2004 standard. On propisuje metodu za određivanje efekta antibakterijskih tretmana na tkaninama, pleteninama i drugim ravnim materijalima. Standard je primjenjiv i na druge materijale ako je pravilno prilagođen (www.iso.org). Kvantitativna metoda korištena u mojem istraživanju nije točno određena ISO standardom već je prilagođena. Uzorak se inokulira s određenim brojem bakterija. Nakon inkubacije, bakterije se ekstrahiraju iz uzoraka tako da se tresu na vortexu u poznatoj količini fiziološke otopine. Konačan broj bakterija određuje se serijskim razrjeđenjima i nasađivanjem na ploče na kojim se broje kolonije i određuje CFU. Standardne metode potiču upotrebu i Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija jer se one razlikuju staničnoj stijenci, a posljedično i u osjetljivosti na antibakterijska sredstva (Pinho i sur., 2010.)

2. CILJ

Ciljevi ovog diplomskog rada jesu:

1. Odrediti antibakterijsku aktivnost prirodne vune - pratiti bakterijski rast ispod uzorka vune i usporediti s rastom ispod drugih prirodnih tekstilnih materijala i materijala koji su tretirani antimikrobnim sredstvima.
2. Odrediti mogući mehanizam antibakterijske aktivnosti vune - odrediti broj vezanih bakterija na uzorku vune nakon 1- i 24-satnog kontakta te usporediti s brojem vezanih bakterija na uzorcima pamuka i medicinske gaze nakon 1- i 24-satnog kontakta.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Materijali

3.1.1. Bakterijski sojevi

U ovom istraživanju koristila sam standardizirane bakterije navedene u ISO standardu - *Staphylococcus aureus* (ATCC 25 923) i *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 11 296). Također, testirala sam bakteriju *Bacillus cereus* (LBK 4080), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19 606) i dva bolnička izolata bakterije *A. baumannii*, sojeve označene 3831 i 4138. Bolnički izolati su bili pohranjeni u banci mikroorganizama Bakteriološkog laboratorija Zavoda za mikrobiologiju, PMF-a u Zagrebu.

3.1.2. Tekstilni materijali

Istraživala sam antibakterijska svojstva prirodne netretirane vune. Uzorci vune su nabavljeni u Varteksu, hrvatskoj tvrtki za proizvodnju odjeće. Uz vunu sam testirala još dva prirodna tekstilna materijala, pamuk i sterilnu kompresu od gaze. Uzorci pamuka uzeti su s laboratorijske kute koju proizvodi Marija d.o.o. koja se bavi proizvodnjom medicinske zaštitne i radne odjeće. Proizvođač komprese od gaze je tvrtka Lianyungang Ruikang sanitarna odjeća, Lianyungang, Kina. Također, testirala sam materijale tretirane antimikrobnim sredstvima koji su u tom obliku i kupljeni, Aquacel Ag i antibakterijski uložak za cipele. Primarna obloga Aquacel Ag proizvođača ConvaTec, tretirana ionima srebra, koja je bila pozitivna kontrola u istraživanju. Antibakterijski uložak za cipele marke Coccine, tvrtke Dakoma Sp., Wiazowna, Poljska koji je izrađen od kože i lateksa koji sadrži aktivni ugljen.

3.1.3. Kemikalije i hranjive podloge

Bojanje bakterija po Gramu:

- kristal violet
- Lugolova otopina
- etanol
- safranin

Mikroskopiranje obojenog preparata:

- imerzijsko ulje

Priprema decimalnih razrjeđenja:

- sterilna fiziološka otopina, 0,9%-tna otopina natrijeva klorida

Flambiranje:

- 96 %-tni etanol

Hranjiva podloga:

Tryptic Soy Agar (Biolife, Italija)

- | | |
|-------------------|--------|
| • pepton C | 15 g/L |
| • sojin pepton | 5 g/L |
| • natrijev klorid | 5 g/L |
| • agar | 15 g/L |

3.1.4. Pribor i uređaji

- predmetna stakalca za mikroskop
- mikroskop
- staklene i plastične epruvete
- stalak za epruvete
- plamenik
- eza
- staklene čaše
- petrijeve zdjelice
- pinceta
- sterilni štapići s pamučnom vatom
- sterilne plastične epruvete
- mikropipeta
- Vortex
- Drygalski štapić
- brojač kolonija
- autoklav
- inkubator

3.2. Metode

3.2.1. Priprema uzoraka materijala

Za istraživanje sam pripremila kvadratne uzorke vune, pamuka, gaze, Aquacela Ag i antibakterijskog uloška za cipele. Za određivanje vezanih bakterija nakon 1 i 24-satnog kontakta pripremila sam uzorke dimenzije 2 x 2 cm (površina 4 cm²). Neki uzorci za test difuzije u agaru znali su se razlikovati veličinom i oblikom npr. Aquacel Ag sam na početku istraživanja imala dostupan samo u tom obliku (Slika 13.). Prema ISO 20645:2004 standardu uzorci su trebali biti nesterilizirani pa sam ih tako i pripremila (osim sterilne komprese od gaze koja je u takvom obliku kupljena). Tijekom pripreme materijala obavezno sam nosila dezinficirane rukavice kako ih ne bi dodatno zagađila bakterijama koje se nalaze na rukama, a odmah nakon pripreme uzorke sam stavljala u zatvorene petrijeve zdjelice.

3.2.2. Bojanje bakterija po Gramu

Kako bi utvrdila da su bakterije s našeg fakulteta koje sam koristila u istraživanju zaista čiste kulture bojala sam ih po Gramu, a zatim mikroskopirala uz pomoć imerzijskog objektiva. Bakterije se nacjepljuju dan ranije na hranjivu podlogu i rastu 24 sata na 37 °C. Prije početka bojenja predmetno stakalce sam provukla kroz plamen kako bi uklonila nečistoće, a zatim sam sterilizirala ezu u plamenu. Na predmetno stakalce sam stavila malo vodovodne vode, a zatim pomoću eze razmazala u vodi bakterije one bakterijske kulture koju sam željela obojiti te je fiksirala tako što sam predmetno stakalce provukla iznad plamena nekoliko puta. Na preparat sam prvo nanijela kristal violet i držala ga 1 minutu. Zatim sam dodala Lugolovu otopinu koju sam držala još 1 minutu. Preparat sam isprala etanolom, a zatim vodom. Nakon ispiranja sam stavila safranin koji sam nakon 1 minute isprala s vodom. Preparat sam osušila, stavila na njega imerzijsko ulje i mikroskopirala. Bojenje po Gramu sam napravila za sve bakterijske kulture korištene u ovom istraživanju.

3.2.3. Test difuzije u agaru (ISO 20645:2004)

Za test difuzije u agaru koristila sam za svaku testiranu bakteriju dvije početne suspenzije, jednu visoke i drugu niske koncentracije (određeno brojem poraslih kolonija: CFU – *Colony Forming Unit*). U plastičnu epruvetu stavila sam 9 mL fiziološke otopine i u nju dodala dvije pune eze bakterija čiste bakterijske kulture s hranjive podloge. Epruvetu sam vorteksirala dok nisam dobila homogenu bakterijsku suspenziju. Iz otprije određenog protokola se zna da je to koncentracija od otprilike 10^8 CFU/mL i nju sam koristila kao visoku koncentraciju CFU. Bakterijsku suspenziju niske koncentracije CFU priredila sam tako što sam suspenziju visoke koncentracije CFU razrijedila tisuću puta pri čemu sam dobila koncentraciju 10^5 CFU/mL. Bakterijsku livadu na hranjivoj podlozi napravila sam tako što sam sterilni štapić s vatom uronila u odgovarajuću suspenziju i potom rotirajući štapić i podlogu četiri puta po 90° razmazala po čitavoj površini. U staklenu čašicu stavila sam 96 %-tni etanol koji sam koristila za flambiranje pincete. Pincetom sam stavila na hranjivu podlogu s bakterijama po dva uzorka istog materijala. Npr. za bakteriju *Staphylococcus aureus* napravila sam jednu podlogu sa suspenzijom visoke koncentracije CFU i još jednu podlogu s niskom koncentracijom CFU te sam na svaku podlogu stavila 2 uzorka vune. Zatim sam isto napravila za svaki testirani materijal. Cijeli postupak sam ponovila za svaku testiranu bakteriju. Sve podloge sam inkubirala 24 sata na 37°C .

Bakterijski rast ispod uzoraka ispitivala sam vizualno i pod mikroskopom nakon što sam maknula uzorak, a antibakterijski učinak odredila sam na temelju tablice koju propisuje ISO 20645:2004 standard. Za bakterije *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *B. cereus* i *A. baumannii* ispitivala sam rast ispod uzoraka na podlogama koje su pripremljene samo za test difuzije u agaru i na podlogama koje sam pripremila za određivanje broja vezanih bakterija na uzorku jer se rade na isti način. Za dva soja (3831 i 4138) bakterije *A. baumannii*, ispitivala sam rast ispod uzorka i broj vezanih bakterija na istim podlogama. Procjena antibakterijskog učinka temelji se na odsustvu ili prisustvu bakterijskog rasta u kontaktnoj zoni između hranjive podloge i uzorka materijala te eventualnoj pojavi zone inhibicije oko uzorka materijala.

Tablica 1. Procjena antibakterijskog učinka prema ISO 20645:2004 standardu

Zona inhibicije (mm)	Rast ispod uzorka	Opis	Procjena
>1	Nema rasta	Zona inhibicije veća od 1 mm, nema rasta	Dobar učinak
1-0	Nema rasta	Zona inhibicije do 1 mm, nema rasta	
0	Nema rasta	Nema zone inhibicije, nema rasta	
0	Blagi rast	Nema zone inhibicije, samo neke ograničene kolonije, rast gotovo potpuno potisnut	Granični učinak
0	Umjereni rast	Nema zone inhibicije, u usporedbi s kontrolom rast reduciran do pola	Nedovoljan učinak
0	Jaki rast	Nema zone inhibicije, u usporedbi s kontrolom nema redukcije rasta	

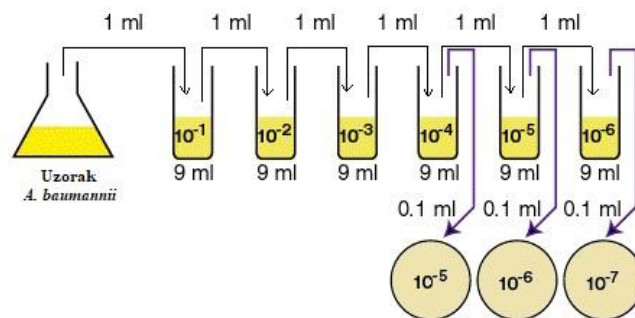
3.2.4. Određivanje broja vezanih bakterija na uzorku materijala nakon 1- i 24-satnog kontakta

Osim testa difuzije u agaru određivala sam i broj vezanih bakterija na uzorku materijala nakon 1 i 24-satnog kontakta između hranjive podloge s bakterijama i uzorka materijala. Broj vezanih bakterija određivala sam na vuni, pamuku i gazi. Uzorke materijala postavila sam na hranjive podloge s bakterijama jednako kao i za test difuzije u agaru, ali sam za svaku postavljenu hranjivu podlogu radila i jednu ponavljajuću podlogu.

Nakon 1-satne inkubacije na 37 °C, uzorak materijala s podloge stavila sam u sterilnu plastičnu epruvetu u koju sam prethodno stavila 20 mL fiziološke otopine. Epruvetu sam vorteksirala 5 puta po 5 sekundi. Mikropipetom sam uzela 1 mL bakterijske suspenzije iz plastične epruvete i stavila u staklenu epruvetu u koju sam prethodno stavila 9 mL fiziološke otopine pri čemu sam dobila razrjeđenje 10^{-1} . Za uzorke materijala postavljene na podlogu s bakterijama iz početne suspenzije niske koncentracije CFU to je bilo dovoljno razrjeđenje. Na hranidbenu podlogu za brojanje inokulirala sam 0,1 mL suspenzije iz sterilne plastične epruvete, a na drugu podlogu 0,1 mL iz epruvete s razrjeđenjem 10^{-1} . Inokulirane suspenzije na podlogama za

brojanje razmazala sam po čitavoj površini s Drygalskim štapićem koji sam prethodno flambirala. Isto sam ponovila i za uzorke s ponavljajuće podloge. Za uzorke materijala postavljene na podlogu s bakterijama iz početne suspenzije visoke koncentracije CFU ponovila sam isti postupak, ali epruvete iz kojih sam inokulirala suspenzije na podlogu za brojanje bile su s razrjeđenjima 10^{-1} i 10^{-2} te 10^{-2} i 10^{-3} za uzorke s ponavljajuće podloge. Sve podloge sam stavila inkubirati 24 sata na $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nakon 24 sata odredila sam CFU uz pomoć brojača kolonija prema formuli:

$$\text{CFU/mL} = (\text{broj naraslih kolonija} \times \text{faktor razrjeđenja}) / \text{volumen inokuluma}$$



Slika 3. Priprema serijskih decimalnih razrjeđenja za određivanje CFU

Pošto sam uzorke stavljala u 20 ml fiziološke otopine te određivala broj vezanih bakterija na uzroku materijala površine 4 cm^2 , dalje sam koristila CFU/cm^2 prema formuli:

$$\text{CFU/cm}^2 = (\text{CFU/mL} \times 20\text{ mL}) / 4\text{ cm}^2$$

Nakon 24-satne inkubacije uzoraka na $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ponovila sam isti postupak kao i nakon 1 sata. Za uzorke materijala postavljene na podlogu s bakterijama iz početne suspenzije niske koncentracije CFU priredila sam epruvete s razrjeđenjem 10^{-4} i 10^{-5} te 10^{-5} i 10^{-6} za uzorke s ponavljajuće podloge. Za uzorke materijala postavljene na podlogu s bakterijama iz početne suspenzije visoke koncentracije CFU priredila sam epruvete s razrjeđenjem 10^{-5} i 10^{-6} te ista razrjeđenja za uzorke s ponavljajuće podloge.

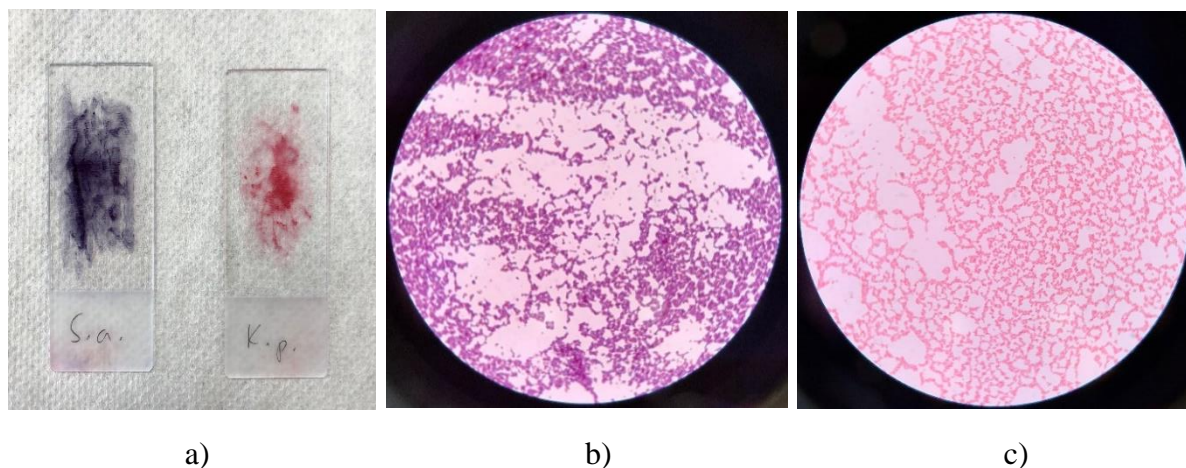
Također, odredila sam koncentraciju CFU početnih bakterijskih suspenzija. Iz početne bakterijske suspenzije visoke koncentracije priredila sam epruvete s razrjeđenjem 10^{-5} i 10^{-6} . Hranjive podloge za brojanje pripremila sam isto kao i za određivanje CFU na uzorcima materijala nakon 1 i 24-satnog kontakta. Nakon 24-satne inkubacije izbrojala sam kolonije i odredila CFU početnih bakterijskih suspenzija (startni broj).

Navedena razrjeđenja koja sam koristila u istraživanju dala su brojive podloge. Na manjim razrjeđenjima naraslo je previše bakterija, a na većim razrjeđenjima premalo bakterija pa su bile nebrojive. Broj vezanih bakterija određivala sam na vuni, pamuku i gazi za sve testirane bakterije.

4. REZULTATI

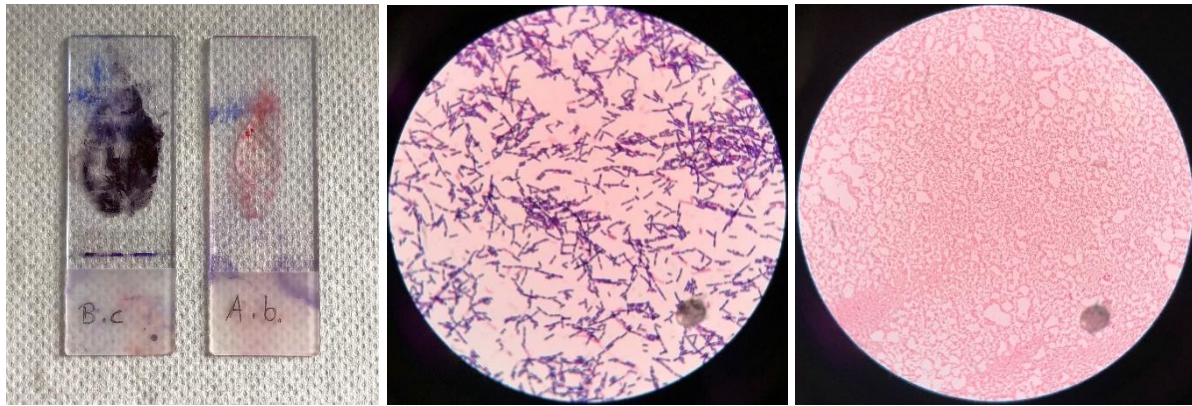
4.1. Bojenje bakterija metodom po Gramu

Gram pozitivna bakterija *S. aureus* obojila se ljubičasto, a gram negativna bakterija *K. pneumoniae* ružičasto. Obje bakterijske kulture bile su čiste, nije bilo zagađenja.



Slika 4. Obojeni preparati bakterija *S. aureus* i *K. pneumoniae* (a), mikroskopski prikaz ljubičasto obojene gram pozitivne bakterije *S. aureus* (b) i ružičasto obojene gram negativne bakterije *K. pneumoniae*

Gram pozitivna bakterija *B. cereus* obojila se ljubičasto, a gram negativna bakterija *A. baumannii* ružičasto. Sivi krug dolje desno (Slika 3. b i c) je onečišćenje na mikroskopu. Obje bakterijske kulture bile su čiste, nije bilo zagađenja. Na mikroskopskom prikazu (Slika 3. b) jasno se vidi štapićasti oblik bakterije *B. cereus*.



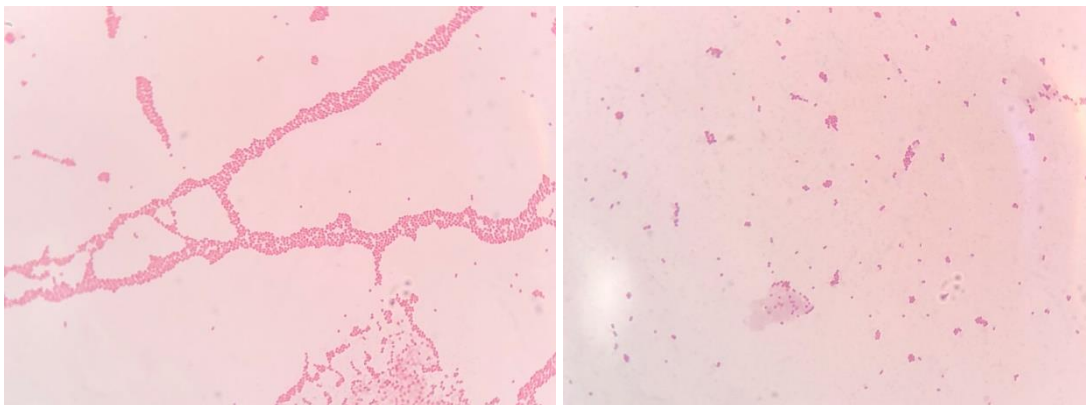
a)

b)

c)

Slika 5. Obojeni preparati bakterija *B. cereus* i *A. baumannii* (a), mikroskopski prikaz ljubičasto obojene gram pozitivne bakterije *B.cereus* (b) i ružičasto obojene gram negativne bakterije *A. baumannii*

Dva bakterijska soja (3831 i 4138) poznatog bolničkog patogena, bakterije *A. baumannii* obojili su se ružičasto. Nije bilo zagađenja u bakterijskim kulturama.



Slika 6. Mikroskopski prikaz ružičasto obojenog soja 3831 (lijevo) i ružičasto obojenog soja 4138 (desno) bakterije *A. baumannii*

4.2. Test difuzije u agaru (ISO 20645:2004)

4.2.1. Pozitivna kontrola, Aquacel Ag i antibaterijski uložak za cipele

Aquacel Ag koristila sam kao pozitivnu kontrolu te ispod uzoraka na podlozi visoke i niske koncentracije bakterije *S. aureus* nije bilo rasta (Slika 7.b i d) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 8.b i d). Uzorci Aquacela Ag imaju zonu inhibicije (Slika 7.a i c).



a)

b)

c)

d)

Slika 7. Nema rasta ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke (b) i niske koncentracije (d) za bakteriju *S. aureus*. Uzorci Aquacela Ag imaju zonu inhibicije (a,c).



a)

b)

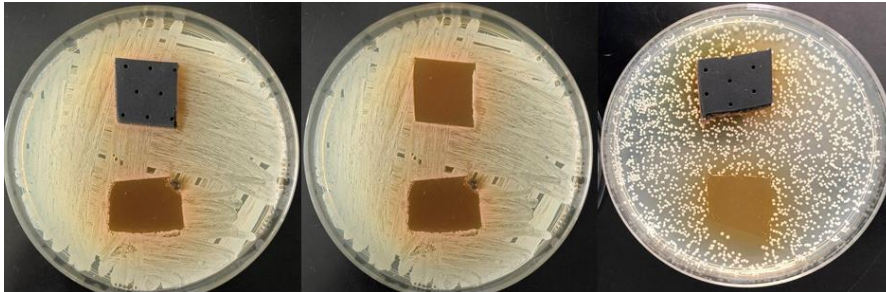
c)

d)

Slika 8. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzoraka Aquacela Ag na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka Aquacela Ag i podloge sa zonom inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *S. aureus*

Ispod uzoraka antibakterijskog uložka za cipele na svim podlogama nije bilo rasta za bakteriju *S. aureus* (Slika 9.). Uzorci nisu imali zonu inhibicije (Slika 9.a i c) što se vidi i na

mikroskopskom prikazu ruba ispod uzorka uloška za cipele i podloge (Slika 10.a i c). Mikroskopski prikaz također pokazuje da nije bilo rasta ispod uzorka (Slika 10.b i d).

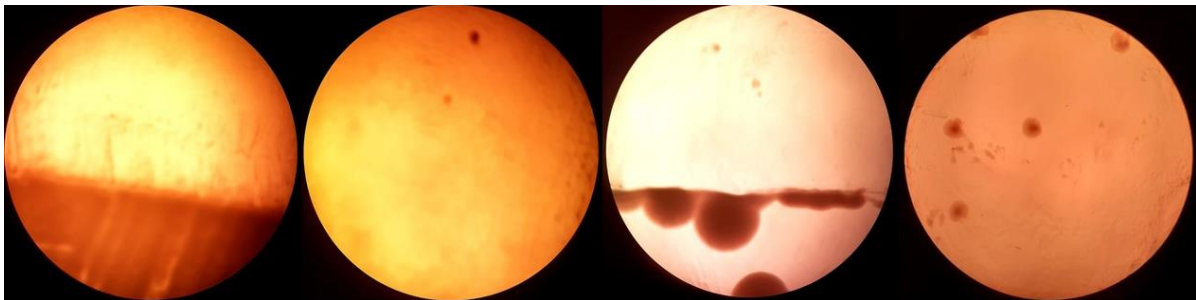


a)

b)

c)

Slika 9. Nema rasta ispod uzorka antibakterijskog uloška za cipele na podlozi visoke koncentracije (b) i donjeg uzorka na podlozi niske koncentracije (c) za bakteriju *S. aureus*. Uzorci uloška za cipele nemaju zonu inhibicije (a,c).



a)

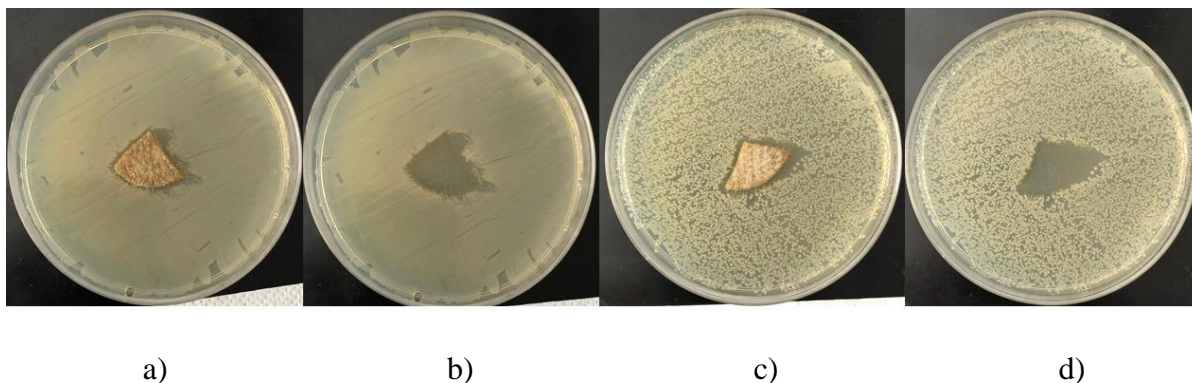
b)

c)

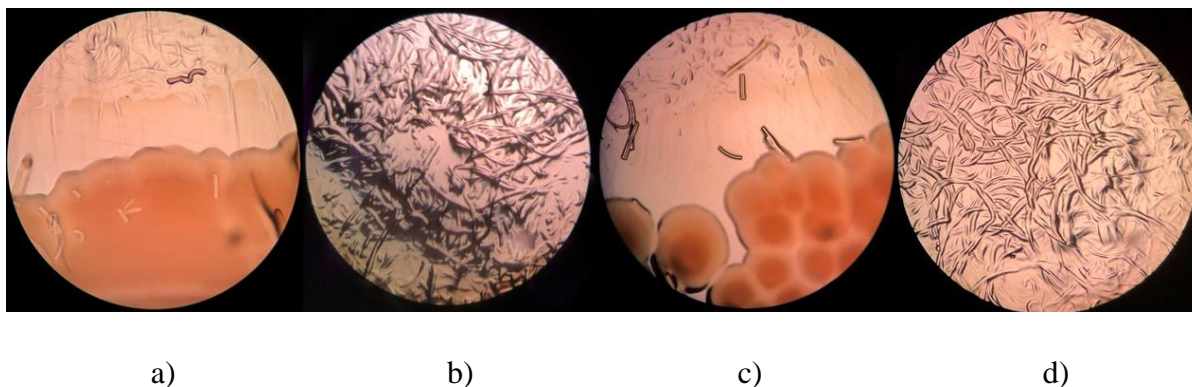
d)

Slika 10. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka antibakterijskog uloška za cipele na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka uloška i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *S. aureus*

Ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke i niske koncentracije bakterije *K. pneumoniae* nije bilo rasta (Slika 11. b i d) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 12.b i d). Uzorci Aquacela Ag imaju zonu inhibicije (Slika 11.a i c).

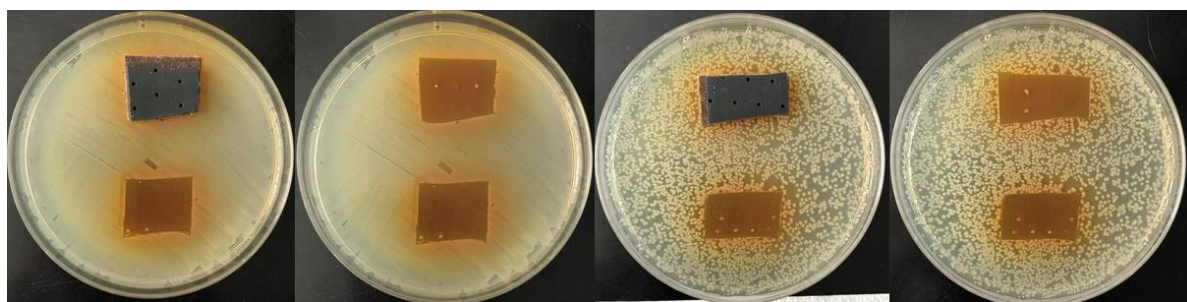


Slika 11. Nema rasta ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke (b) i niske koncentracije (d) za bakteriju *K. pneumoniae*. Uzorci Aquacela Ag imaju zonu inhibicije (a,c).



Slika 12. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka Aquacela Ag i podloge sa zonom inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *K. pneumoniae*

Ispod uzoraka antibakterijskog uloška za cipele na svim podlogama bakterije *K. pneumoniae* bio je blagi rast (Slika 13.b i d). Uzorci nisu imali zonu inhibicije (Slika 13.a i c) što se vidi i na mikroskopskom prikazu ruba ispod uzorka uloška za cipele i podloge (Slika 14.b). Mikroskopski prikaz (Slika 14.a i c) pokazuje da nije bilo rasta ispod uzoraka. Ispod uzoraka je naraslo nekoliko kolonija, ali mikroskopski prikaz nije uslikan u tom području. Pregledom cijelog područja ispod uzoraka utvrdila sam blagi rast.



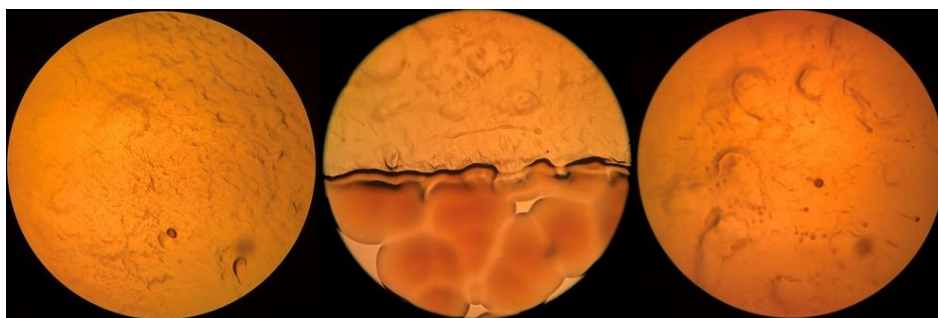
a)

b)

c)

d)

Slika 13. Blagi rast ispod uzoraka antibakterijskog uloška za cipele na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d) za bakteriju *K. pneumoniae*. Uzorci uloška za cipele nemaju zonu inhibicije (a,c).



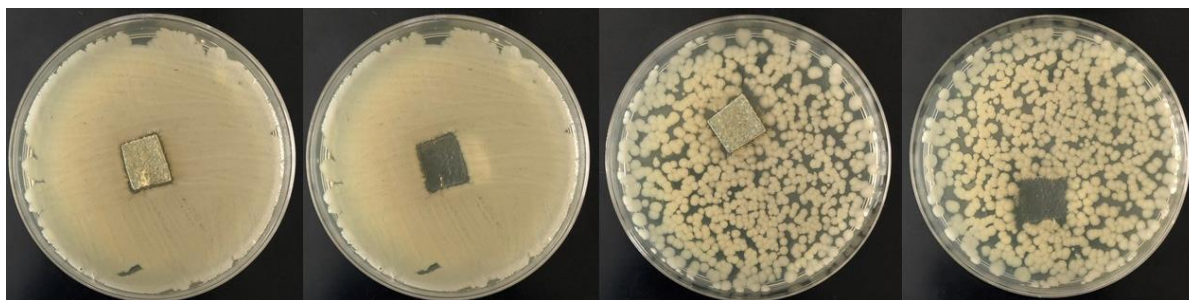
a)

b)

c)

Slika 14. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzoraka antibakterijskog uloška za cipele na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka uloška i podloge bez zone inhibicije na podlozi niske koncentracije (b) za bakteriju *K. pneumoniae*

Ispod uzoraka Aquacela Ag na podlozi visoke i niske koncentracije bakterije *B. cereus* nije bilo rasta (Slika 15. b i d) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 16.b i d). Uzorci su imali zonu inhibicije za uzorak na podlozi visoke koncentracije dok je na podlozi niske koncentracije zona inhibicije neznatna (Slika 15. a i c). U usporedbi s npr. bakterijom *S. aureus*, zona inhibicije oko uzoraka za bakteriju *B. cereus* je znatno manja.



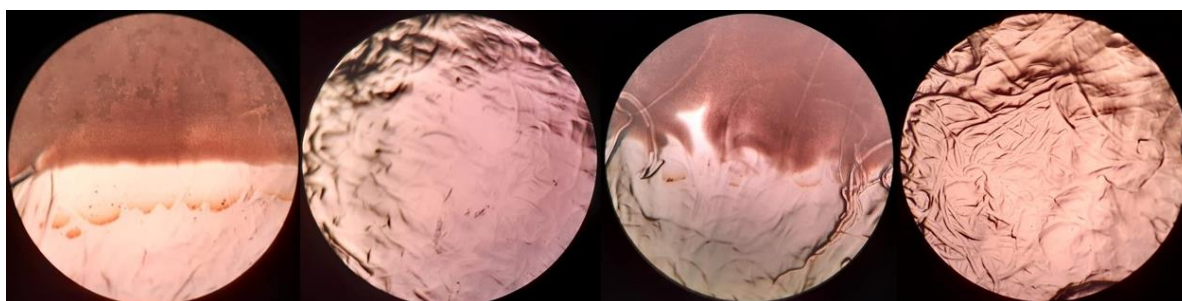
a)

b)

c)

d)

Slika 15. Nema rasta ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke koncentracije (b) i podlozi niske koncentracije (d) za bakteriju *B. cereus*. Uzorak Aquacela Ag sa zonom inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i bez zone inhibicije na podlozi niske koncentracije (c).



a)

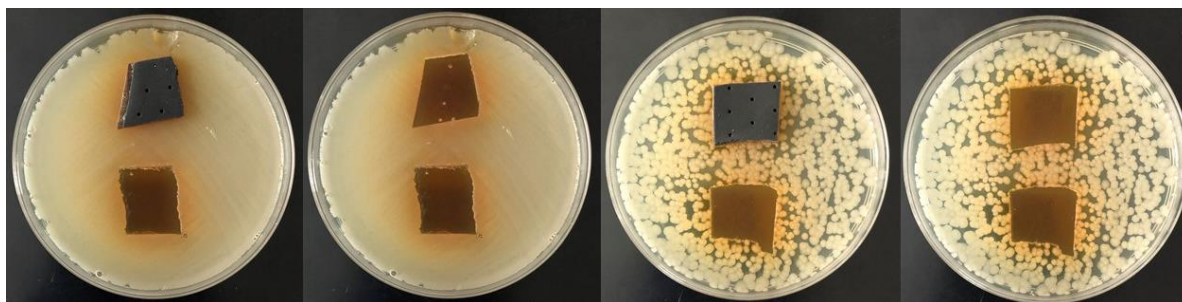
b)

c)

d)

Slika 16. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka Aquacela Ag i podloge sa zonom inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i bez zone inhibicije na podlozi niske koncentracije (c) za bakteriju *B. cereus*

Ispod uzoraka antibakterijskog uložka za cipele na podlozi visoke koncentracije bakterije *B. cereus* je bio blagi rast (Slika 17.b) dok na podlozi niske koncentracije nije bilo rasta (Slika 17.d). Uzorci nisu imali zonu inhibicije (Slika 17.a i c) što se vidi i na mikroskopskom prikazu ruba ispod uzorka uložka za cipele i podloge (Slika 18.a i c). Mikroskopski prikaz također pokazuje blagi rast ispod uzorka na podlozi visoke koncentracije (Slika 18.b) i odsutan rast ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (Slika 18.d).



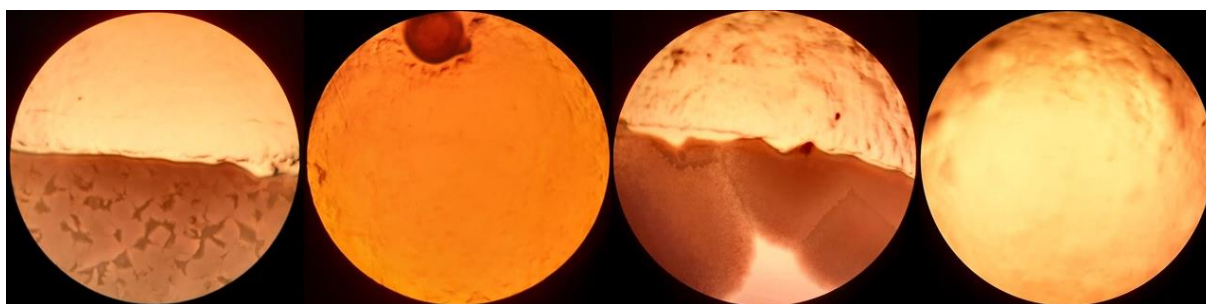
a)

b)

c)

d)

Slika 17. Blagi rast ispod uzoraka antibakterijskog uloška za cipele na podlozi visoke koncentracije (b) i bez rasta ispod uzoraka na podlozi niske koncentracije (d) za bakteriju *B. cereus*. Uzorci uloška za cipele nemaju zonu inhibicije (a,c).



a)

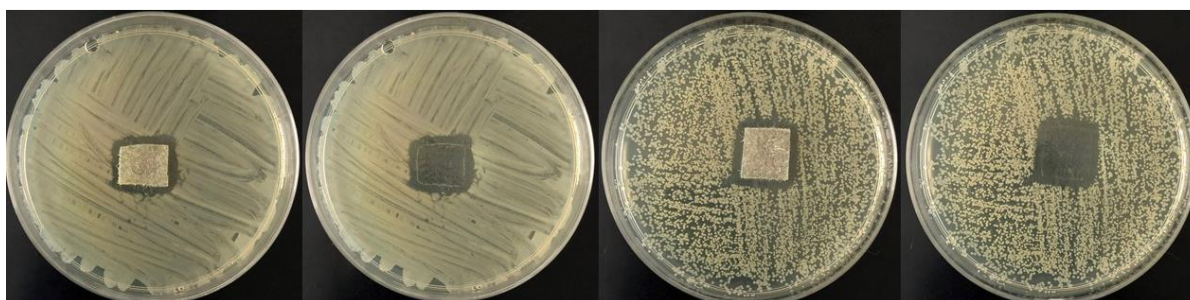
b)

c)

d)

Slika 18. Mikroskopski prikaz s blagim rastom ispod uzorka antibakterijskog uloška za cipele na podlozi visoke koncentracije (b) i bez rasta ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka uloška i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *B. cereus*

Ispod uzoraka Aquacela Ag na podlozi visoke i niske koncentracije bakterije *A. baumannii* nije bilo rasta (Slika 19.b i d) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 20.b i d). Uzorci su imali zonu inhibicije (Slika 19.a i c).



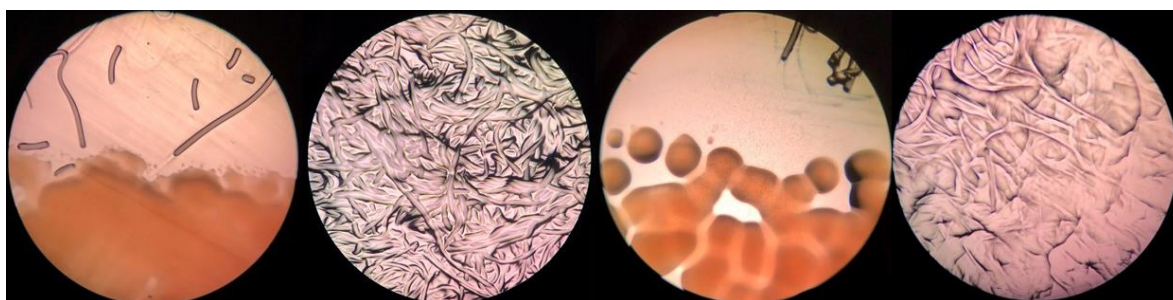
a)

b)

c)

d)

Slika 19. Nema rasta ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke (b) i niske koncentracije (d) za bakteriju *A. baumannii*. Uzorci Aquacela Ag imaju zonu inhibicije (a,c).



a)

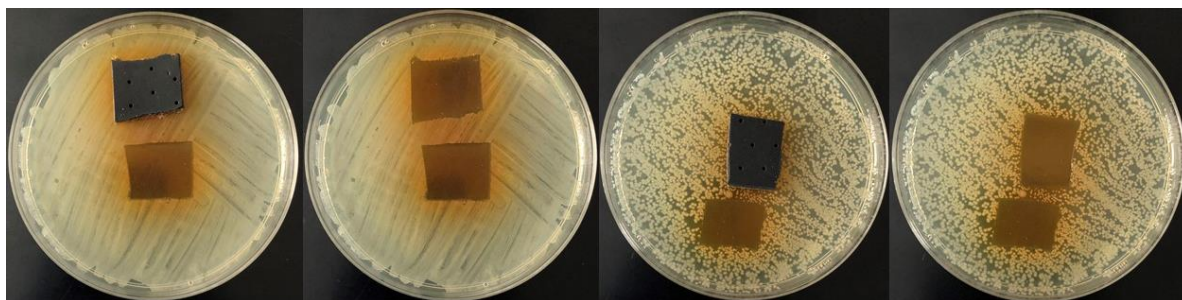
b)

c)

d)

Slika 20. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka Aquacela Ag i podloge sa zonom inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *A. baumannii*

Ispod uzoraka antibakterijskog uložka za cipele na svim podlogama bakterije *A. baumannii* nije bilo rasta (Slika 21.b i d). Uzorci nisu imali zonu inhibicije (Slika 21.a i c) što se vidi i na mikroskopskom prikazu ruba ispod uzorka uložka za cipele i podloge (Slika 22.a i b). Mikroskopski prikaz (Slika 22.c i d) pokazuje da nije bilo rasta ispod uzoraka.



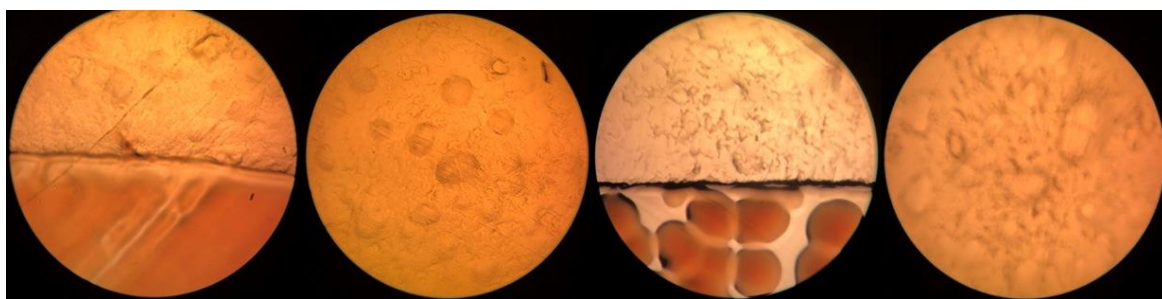
a)

b)

c)

d)

Slika 21. Nema rasta ispod uzoraka antibakterijskog uloška za cipele na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d) za bakteriju *A. baumannii*. Uzorci uloška za cipele nemaju zonu inhibicije (a,c).



a)

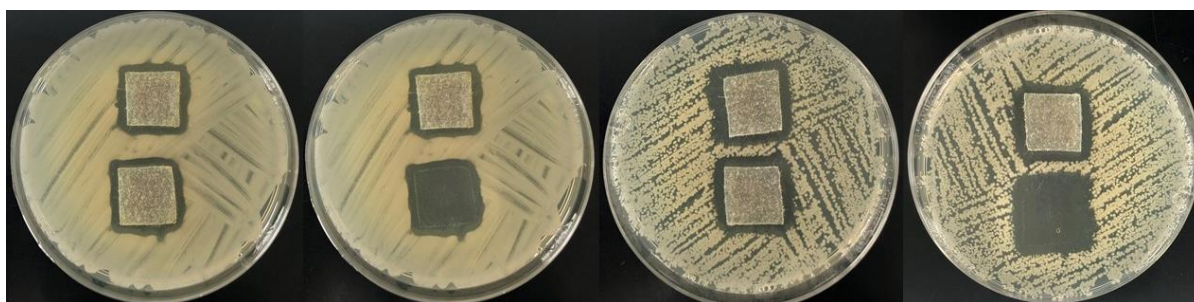
b)

c)

d)

Slika 22. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka antibakterijskog uloška za cipele na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka uloška i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *A. baumannii*

Ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke i niske koncentracije soja 3183, bakterije *A. baumannii* nije bilo rasta što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 24. b i d). Uzorci su imali zonu inhibicije (Slika 23. a i c).



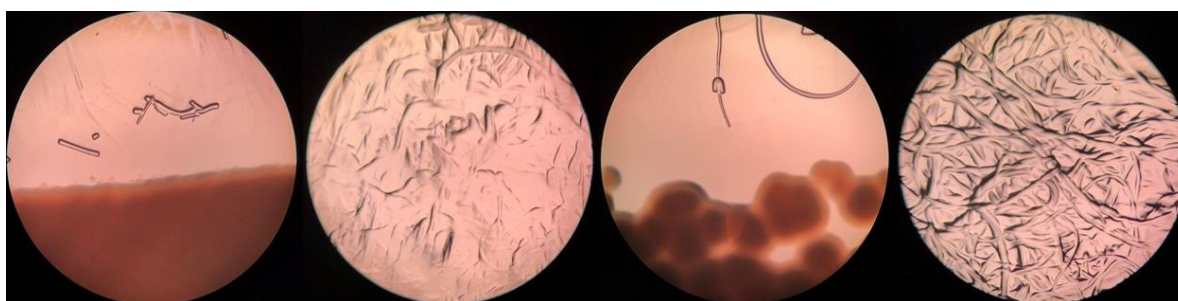
a)

b)

c)

d)

Slika 23. Nema rasta ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke (b) i niske koncentracije (d) za soj 3183, bakterije *A. baumannii*. Uzorci Aquacela Ag imaju zonu inhibicije (a,c).



a)

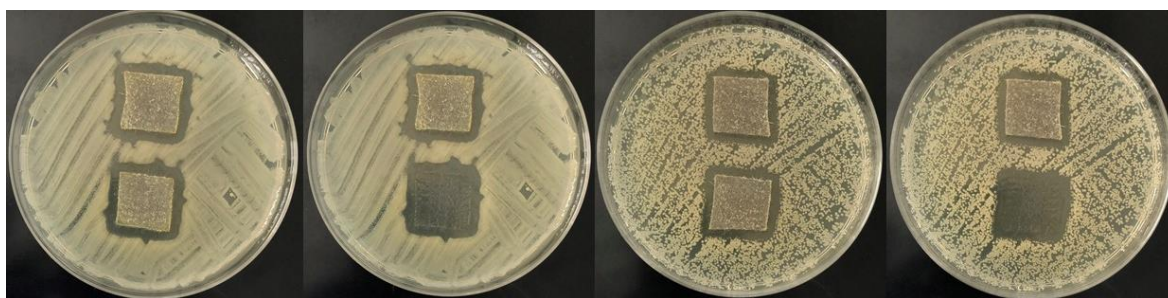
b)

c)

d)

Slika 24. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka Aquacela Ag i podloge sa zonom inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za soj 3183, bakterije *A. baumannii*

Ispod uzoraka Aquacela Ag soja 4138, bakterije *A. baumannii* na podlozi visoke i niske koncentracije nije bilo rasta (Slika 25.b i d) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 26.b i d). Uzorci Aquacela Ag imali su zonu inhibicije (Slika 25.a i c).



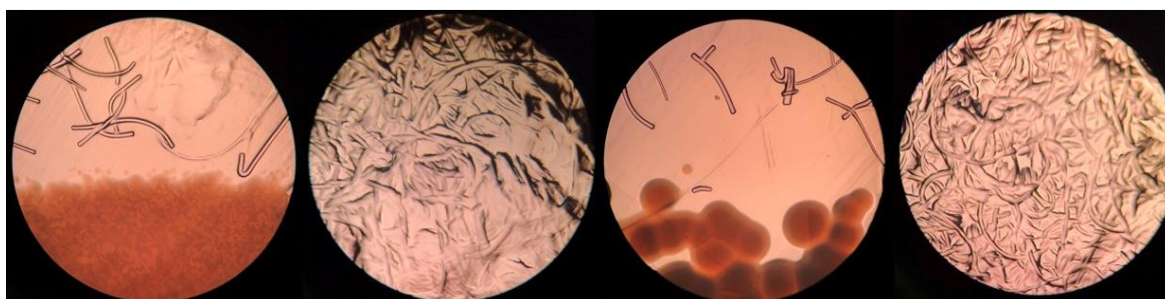
a)

b)

c)

d)

Slika 25. Nema rasta ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke (b) i niske koncentracije (d) za soj 4138, bakterije *A. baumannii*. Uzorci Aquacela Ag imaju zonu inhibicije (a,c).



a)

b)

c)

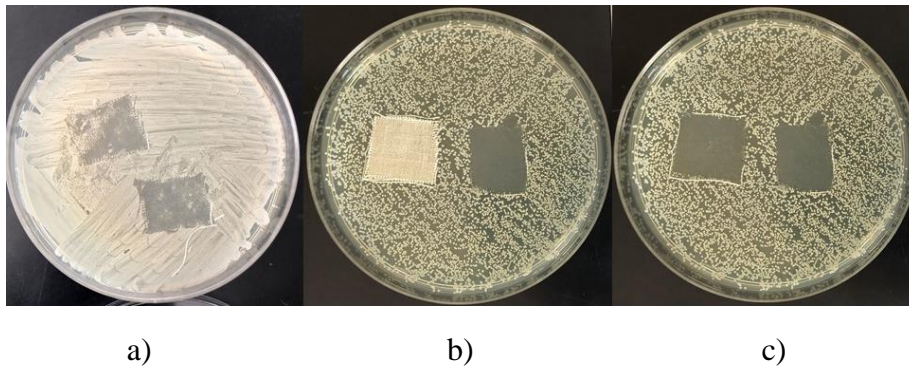
d)

Slika 26. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka Aquacela Ag na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka Aquacela Ag i podloge sa zonom inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za soj 4138, bakterije *A. baumannii*

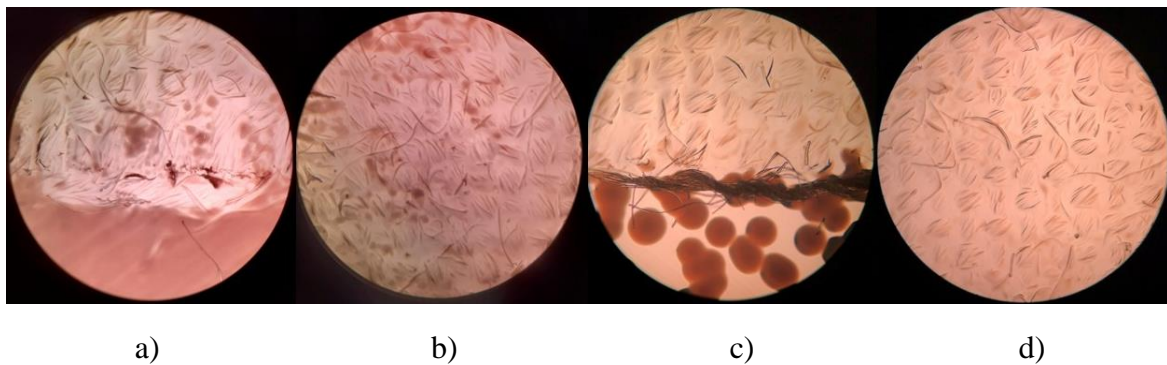
4.2.2. Test difuzije u agaru za bakteriju *S. aureus*

Antibakterijska svojstva vune za bakteriju *S. aureus* ispitivala sam na pet podloga. Na jednoj podlozi s visokom koncentracijom vuna se tijekom inkubacije savinula pa je nije bilo moguće ispitati. Blagi i umjereni rast je bio ispod uzoraka na jednoj podlozi visoke koncentracije (Slika 27.a) dok na drugoj nije bilo rasta (Slika 29. a). Ispod uzoraka na svim podlogama niske koncentracije nije bilo rasta. Za uzorke vune nije bilo zone inhibicije što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 28.a i c). Mikroskopski prikaz pokazuje blagi rast ispod

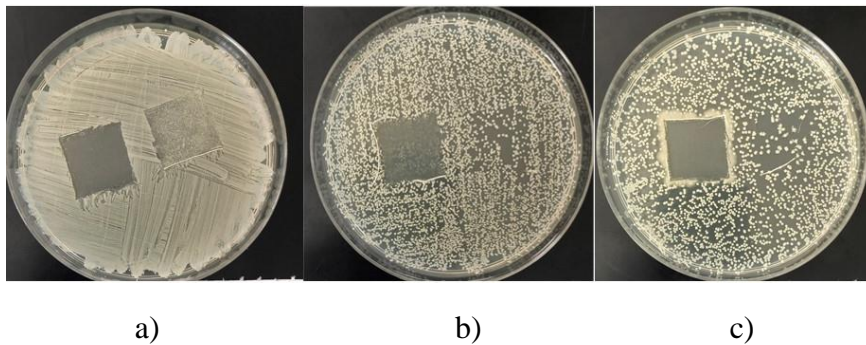
uzorka na podlozi visoke koncentracije (Slika 28.b) i odsutan rast ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (Slika 28.d). Desni uzorci (Slika 29.) uklonjeni su nakon 1-satne inkubacije nakon čega su bakterije nastavile rasti na području na kojem su bili uzorci dok su lijevi uzorci uklonjeni nakon 24-satne inkubacije i ispod njih je rast bio neznatan.



Slika 27. Blagi i umjereni rast ispod uzorka vune na podlozi visoke koncentracije (a) i bez rasta ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (c) za bakteriju *S. aureus*. Uzorak vune nema zonu inhibicije (b).

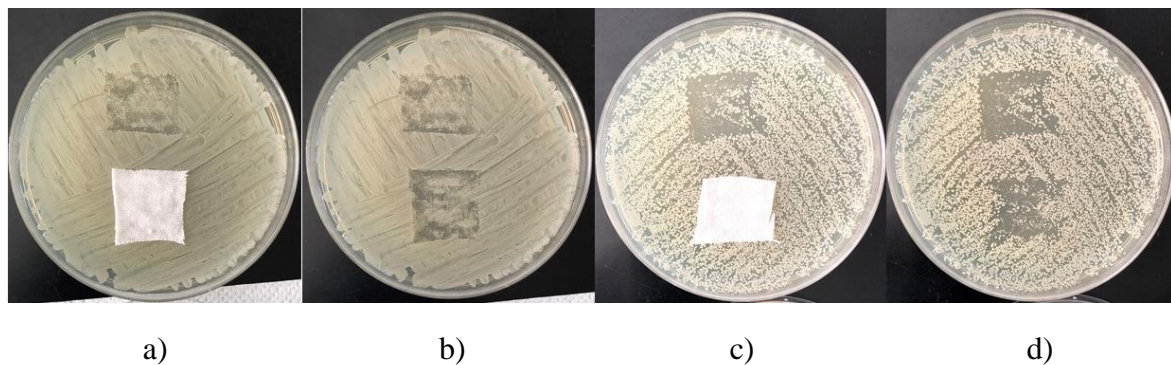


Slika 28. Mikroskopski prikaz blagog rasta ispod uzorka vune na podlozi visoke koncentracije (b) i bez rasta ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka vune i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *S. aureus*

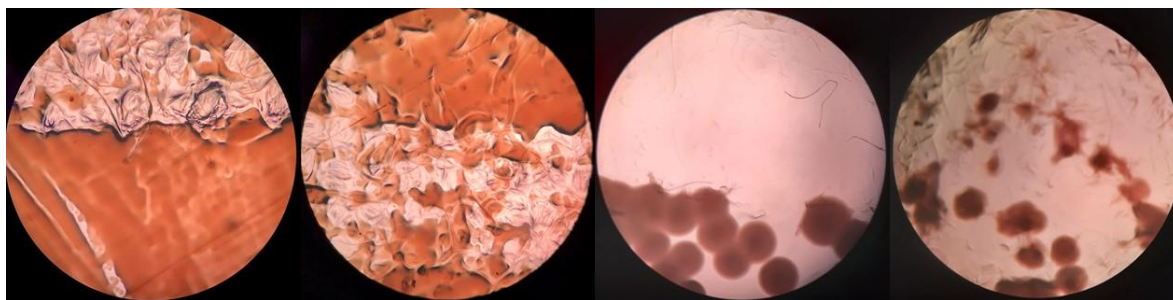


Slika 29. Nema rasta ispod lijevog uzorka vune na podlozi visoke koncentracije (a) i podlogama niske koncentracije (b,c) za bakteriju *S. aureus*

Ispod uzoraka pamuka na jednoj podlozi visoke koncentracije (Slika 30.b) bio je jaki rast dok je na druge dvije podloge (Slika 32.a i b) bio umjereni rast. Ispod uzoraka pamuka na podlogama niske koncentracije bio je umjereni rast (Slika 30.d) i blagi rast ispod desnih uzoraka (Slika 32.c i d). Kod uzoraka pamuka nije bila vidljiva zona inhibicije (Slika 30.a i c) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 31.a i c). Mikroskopski prikaz pokazuje umjereni rast ispod uzorka pamuka na podlozi visoke koncentracije (Slika 31.b) te blagi rast ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (Slika 31.d).



Slika 30. Jaki rast ispod uzorka pamuka na podlozi visoke koncentracije (b) i umjereni rast ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (d) za bakteriju *S. aureus*. Uzorci pamuka nemaju zonu inhibicije (a,c).



a)

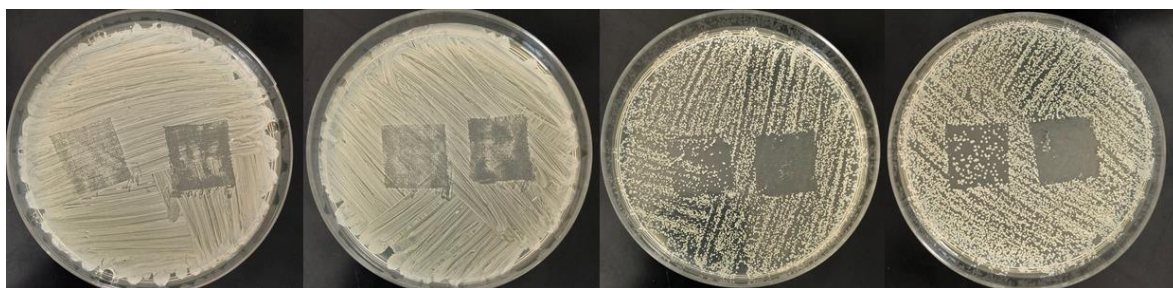
b)

c)

d)

Slika 31. Mikroskopski prikaz umjerenog rasta ispod uzorka pamuka na podlozi visoke koncentracije (b) i blagim rastom ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (d).

Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka pamuka i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *S. aureus*



a)

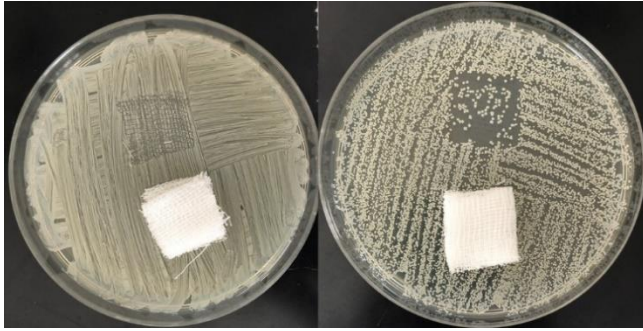
b)

c)

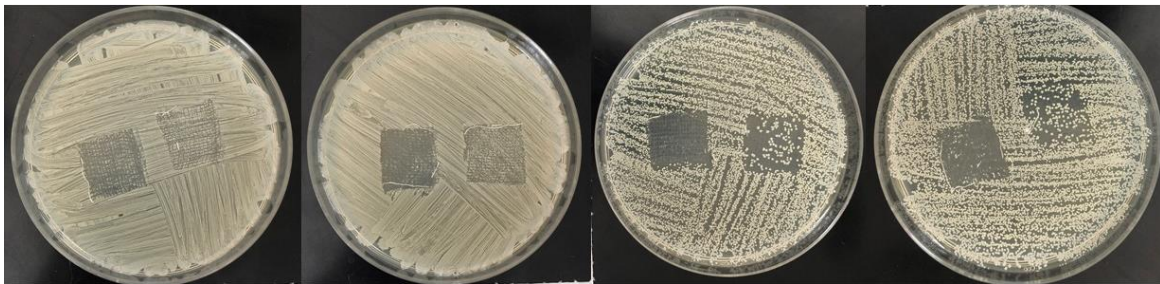
d)

Slika 32. Umjereni rast ispod desnog uzorka pamuka na podlogama visoke koncentracije (a,b) i blagi rast podlogama niske koncentracije (c,d) za bakteriju *S. aureus*

Ispod uzoraka gaze na svim podlogama je bio blagi rast. Nije bilo zone inhibicije što se vidi u području oko donjih uzoraka gaze (Slika 33.). Desni uzorci (Slika 34.) uklonjeni su nakon 1-satne inkubacije nakon čega su bakterije nastavile rasti na području na kojem su bili uzorci dok su lijevi uzorci uklonjeni nakon 24-satne inkubacije i ispod njih je bio blagi rast.



Slika 33. Uzorci gaze na podlozi visoke i niske koncentracije nemaju zonu inhibicije za bakteriju *S. aureus*



a)

b)

c)

d)

Slika 34. Umjereni i blagi rast ispod lijevih uzorka gaze na podlogama visoke koncentracije (a,b) i blagi rast ispod lijevih uzoraka niske koncentracije (c,d) za bakteriju *S. aureus*

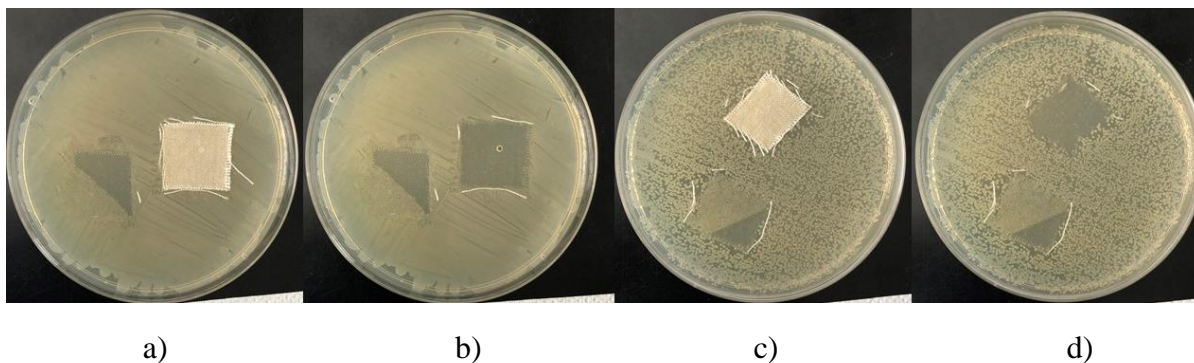
Dobar antibakterijski učinak imali su uzorci vune koji su bili postavljeni na podloge niske koncentracije dok su uzorci na podlogama visoke koncentracije imali dobar do nedovoljan učinak. Pamuk na podlogama visoke koncentracije imao je nedovoljan antibakterijski učinak, a na podlogama niske koncentracije granični i nedovoljan učinak. Gaza je imala na podlogama visoke koncentracije granični i nedovoljan učinak, a na podlogama niske koncentracije granični učinak.

Tablica 2. Rezultati testa difuzije u agaru za bakteriju *S. aureus*

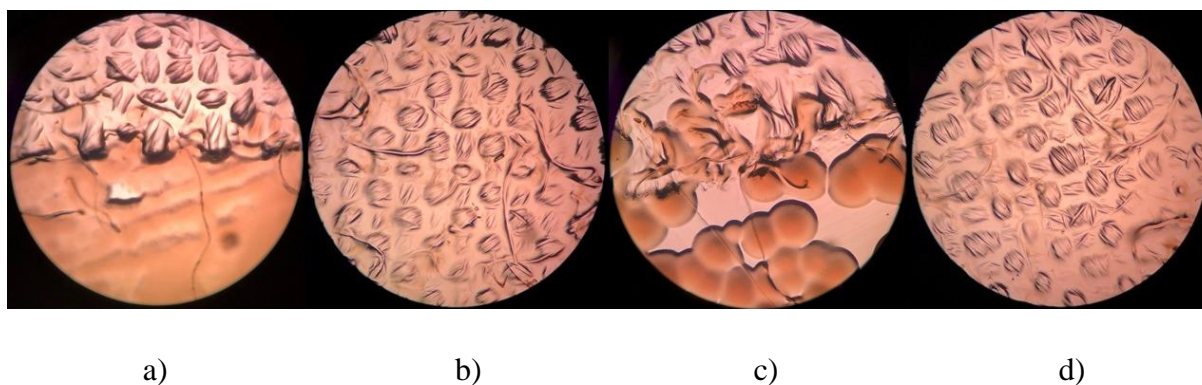
	Uzorak	Zona inhibicije	Rast ispod uzoraka	Antibakterijski učinak
<i>S. aureus</i>	Vuna (vk)	Nema	Umjereni/blagi rast i nema rasta	Nedovoljan učinak/granična učinkovitost/doobar učinak
	Vuna (nk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
	Pamuk (vk)	Nema	Umjereni/blagi rast	Nedovoljan učinak
	Pamuk (nk)	Nema	Umjereni/blagi rast	Nedovoljan učinak/granična učinkovitost
	Gaza (vk)	Nema	Umjereni/blagi rast	Nedovoljan učinak/granična učinkovitost
	Gaza (nk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
	Aquacel Ag (vk)	Ima	Nema rasta	Dobar učinak
	Aquacel Ag (nk)	Ima	Nema rasta	Dobar učinak
	Uložak za cipele (vk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
	Uložak za cipele (nk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak

4.2.3. Test difuzije u agaru za bakteriju *K. pneumoniae*

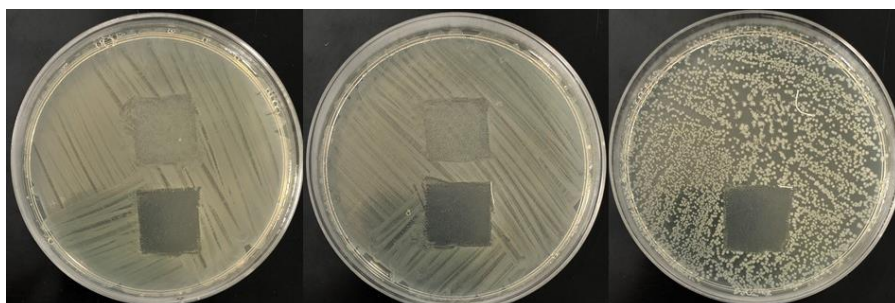
Antibakterijska svojstva vune za bakteriju *K. pneumoniae* ispitivala sam na pet podloga. Ispod nekih uzoraka nije bilo moguće ispitati rast jer su se uzorci vune savinuli tijekom inkubacije. Na svim podlogama ispod uzoraka nije bilo rasta. Za uzorke vune nije bilo zone inhibicije. Mikroskopski prikaz pokazuje da nema rasta ispod uzorka na podlozi visoke koncentracije i niske koncentracije (Slika 36. b i d). Gornji uzorci (Slika 37.) uklonjeni su nakon 1-satne inkubacije nakon čega su bakterije nastavile rasti na području na kojem su bili uzorci dok su donji uzorci uklonjeni nakon 24-satne inkubacije i ispod njih nije bilo rasta.



Slika 35. Nema rasta ispod desnog uzorka vune na podlozi visoke koncentracije (b) i ispod gornjeg uzorka na podlozi niske koncentracije (d) za bakteriju *K. pneumoniae*. Uzorci vune (a,c) nemaju zonu inhibicije



Slika 36. Mikroskopski prikaz bez rasta ispod uzorka vune na podlozi visoke koncentracije (b) i bez rasta ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka vune i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *K. pneumoniae*



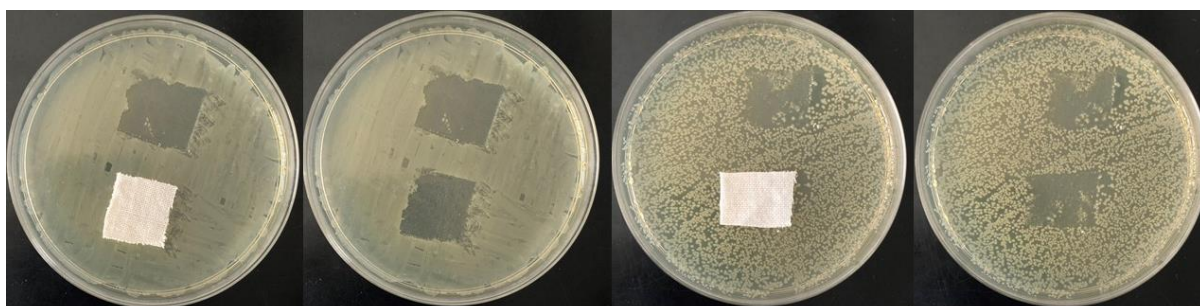
a)

b)

c)

Slika 37. Nema rasta ispod donjeg uzorka vune na podlogama visoke koncentracije (a,b) i podlozi niske koncentracije (c) za bakteriju *K. pneumoniae*

Blagi rast je bio ispod uzoraka pamuka na jednoj podlozi visoke koncentracije (Slika 38.b) dok na druge dvije podloge (Slika 40.a i b) nije bilo rasta ispod donjih uzoraka. Na jednoj podlozi niske koncentracije (Slika 38.d) bio je blagi rast. Nije bilo rasta ispod donjeg uzorka pamuka na jednoj podlozi niske koncentracije (Slika 40.c) dok je na drugoj bio blagi rast (Slika 40.d). Kod uzoraka pamuka nije bilo zone inhibicije (Slika 38.a i c) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 39. a i c). Mikroskopski prikaz pokazuje blagi rast ispod uzorka pamuka na podlozi visoke koncentracije (Slika 39.b) te blagi rast ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (Slika 39.d).



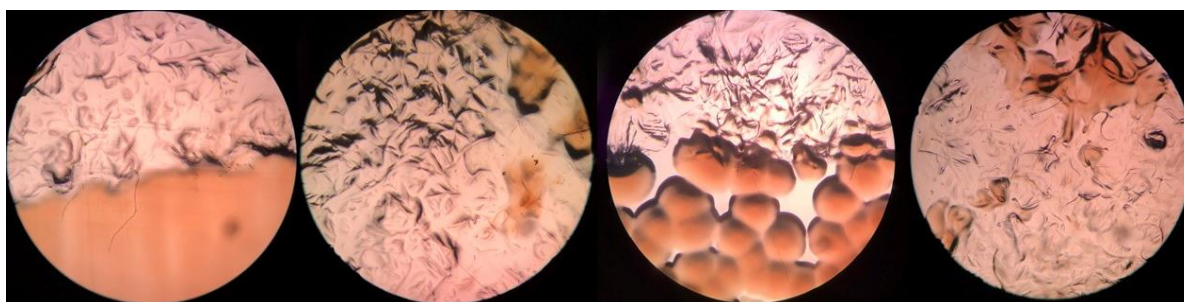
a)

b)

c)

d)

Slika 38. Blagi rast ispod uzoraka pamuka na podlozi visoke koncentracije (b) i blagi rast ispod uzoraka na podlozi niske koncentracije (d) za bakteriju *K. pneumoniae*. Uzorci pamuka nemaju zonu inhibicije (a,c).



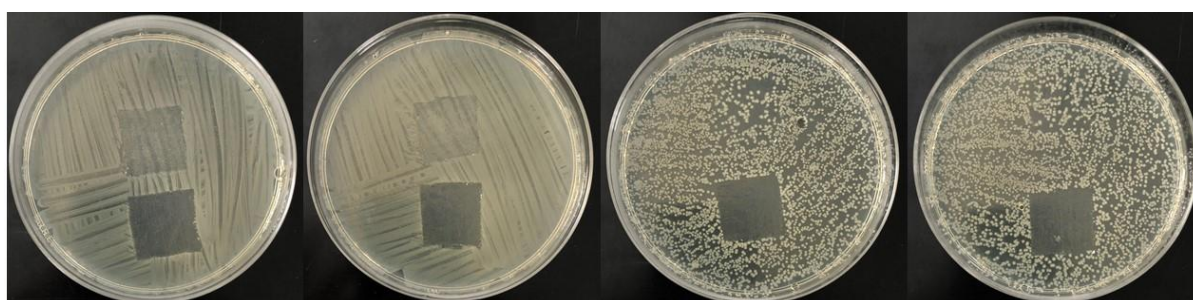
a)

b)

c)

d)

Slika 39. Mikroskopski prikaz blagog rasta ispod uzorka pamuka na podlozi visoke koncentracije (b) i blagog rasta ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka pamuka i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *K. pneumoniae*



a)

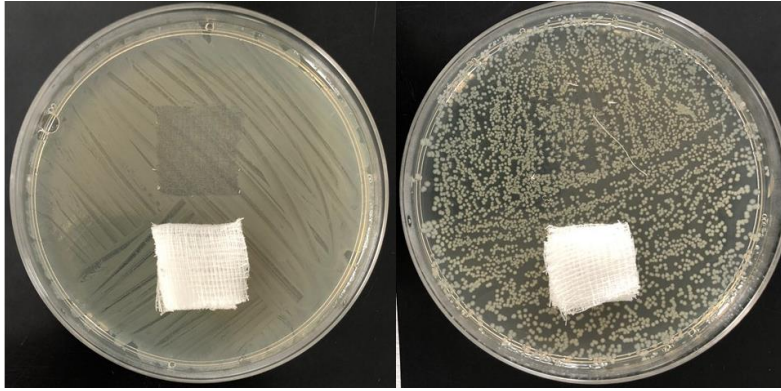
b)

c)

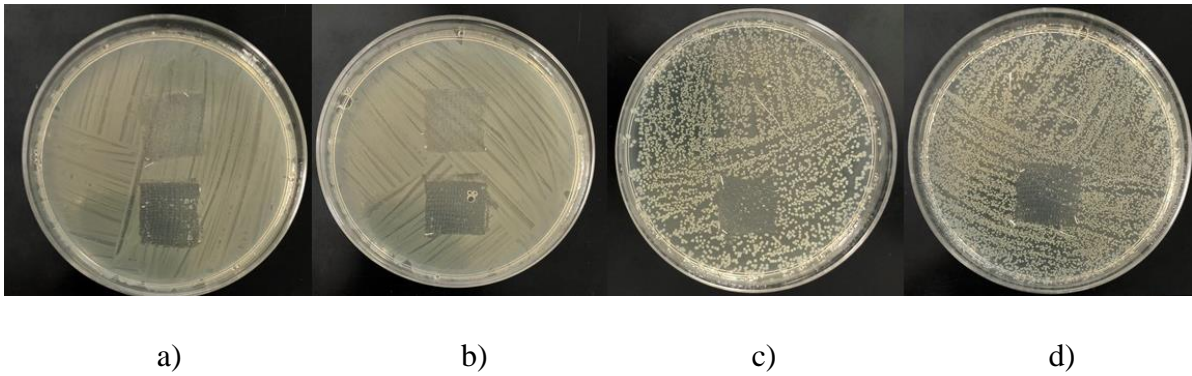
d)

Slika 40. Nema rasta ispod donjeg uzorka pamuka na podlogama visoke koncentracije (a,b) i ispod donjeg uzorka na podlozi niske koncentracije (c). Blagi rast ispod donjeg uzorka na podlozi niske koncentracije (d) za bakteriju *K. pneumoniae*

Blagi rast je bio ispod uzoraka gaze na svim podlogama. Nije bilo zone inhibicije što se vidi u području oko donjih uzoraka gaze (Slika 41.). Gornji uzorci (Slika 42.) uklonjeni su nakon 1-satne inkubacije nakon čega su bakterije nastavile rasti na području na kojem su bili uzorci dok su donji uzorci uklonjeni nakon 24-satne inkubacije i ispod njih je bio blagi rast.



Slika 41. Uzorci gaze na podlozi visoke i niske koncentracije nemaju zonu inhibicije za bakteriju *K. pneumoniae*



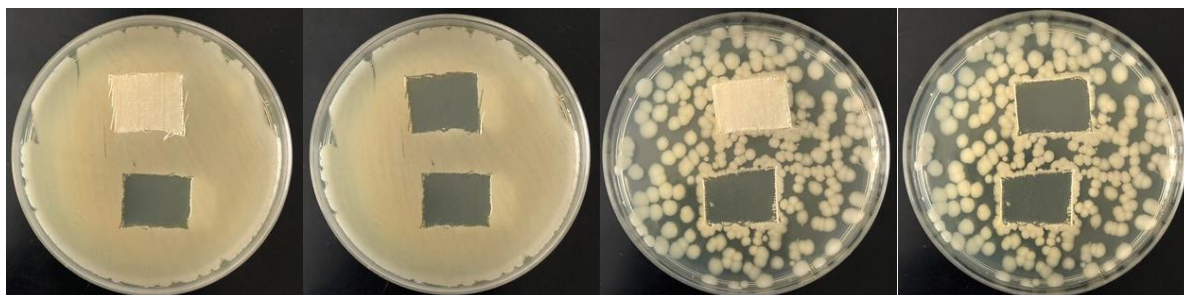
Slika 42. Blagi rast ispod donjeg uzorka gaze na podlogama visoke koncentracije (a,b) i podlogama niske koncentracije (c,d) za bakteriju *K. pneumoniae*

Tablica 3. Rezultati testa difuzije u agaru za bakteriju *K. pneumoniae*

<i>K. pneumoniae</i>	Uzorak	Zona inhibicije	Rast ispod uzoraka	Antibakterijski učinak
	Vuna (vk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
	Vuna (nk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
	Pamuk (vk)	Nema	Blagi rast/nema rasta	Granična učinkovitost/dobar učinak
	Pamuk (nk)	Nema	Blagi rast/nema rasta	Granična učinkovitost/dobar učinak
	Gaza (vk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
	Gaza (nk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
	Aquacel Ag (vk)	Ima	Nema rasta	Dobar učinak
	Aquacel Ag (nk)	Ima	Nema rasta	Dobar učinak
	Uložak za cipele (vk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
	Uložak za cipele (nk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost

4.2.4. Test difuzije u agaru za bakteriju *B. cereus*

Antibakterijska svojstva vune za bakteriju *B. cereus* ispitivala sam na šest podloga. Na svim podlogama visoke i niske koncentracije ispod uzoraka nije bilo rasta. Za uzorke vune nije bilo zone inhibicije. Mikroskopski prikaz (Slika 44.b i d) pokazuje da nema rasta ispod uzorka na podlozi visoke koncentracije i niske koncentracije. Gornji uzorci (Slika 45.) uklonjeni su nakon 1-satne inkubacije nakon čega su bakterije nastavile rasti na području na kojem su bili uzorci dok su donji uzorci uklonjeni nakon 24-satne inkubacije i ispod njih nije bilo rasta.



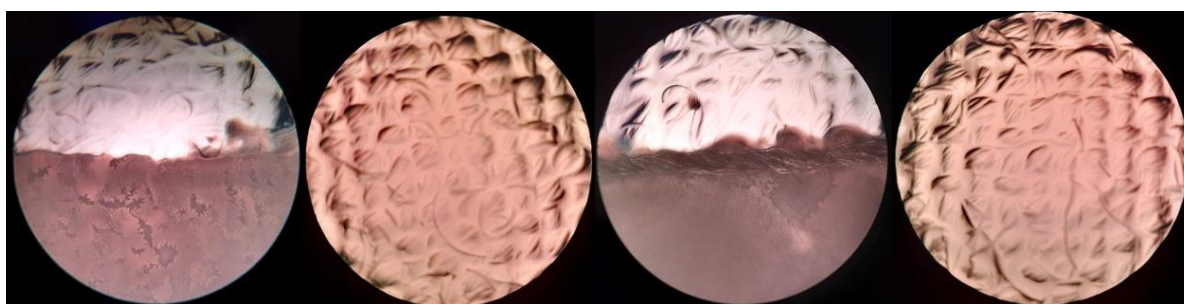
a)

b)

c)

d)

Slika 43. Nema rasta ispod uzoraka vune na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d) za bakteriju *B. cereus*. Uzorci vune nemaju zone inhibicije (a i b).



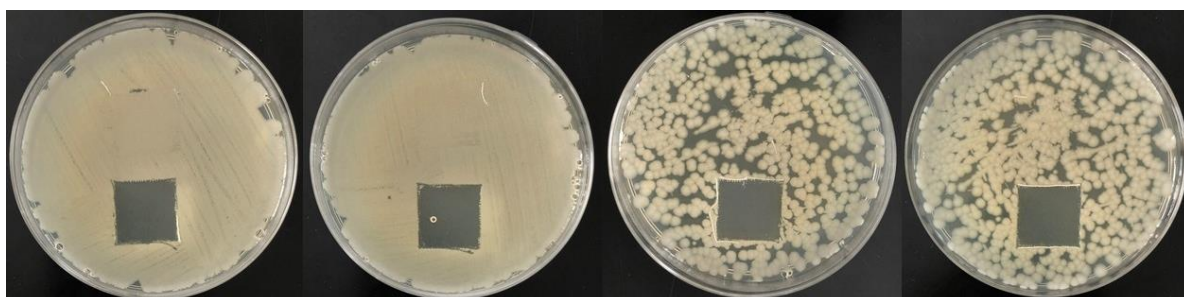
a)

b)

c)

d)

Slika 44. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka vune na podlozi visoke koncentracije (b) i na podlozi niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka vune i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *B. cereus*



a)

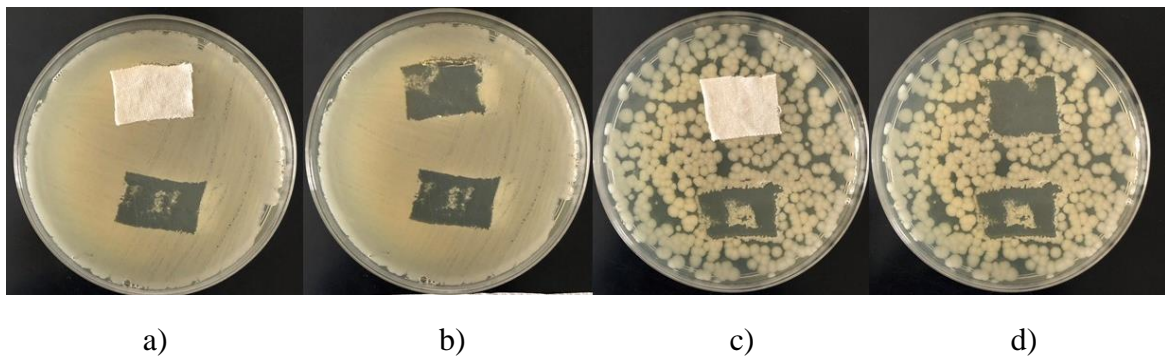
b)

c)

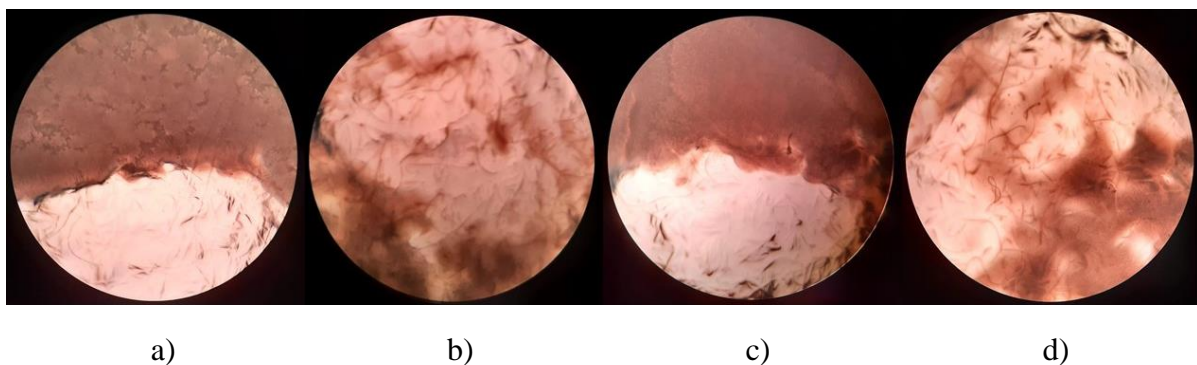
d)

Slika 45. Nema rasta ispod donjeg uzorka vune na podlogama visoke koncentracije (a,b) i podlogama niske koncentracije (c,d) za bakteriju *B. cereus*

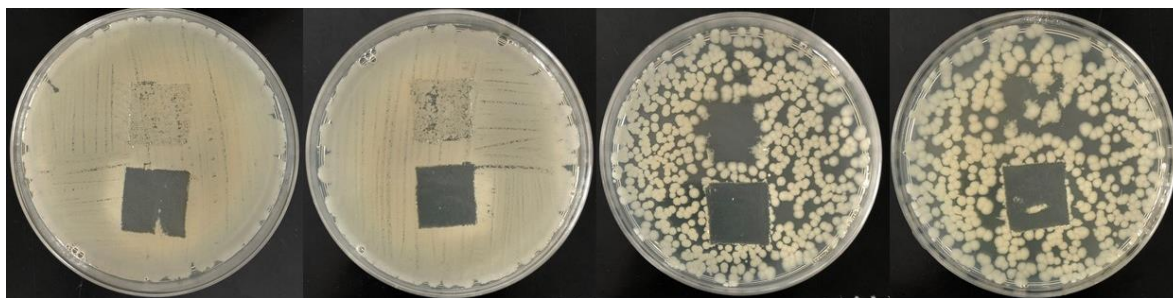
Blagi i umjereni rast je bio ispod uzoraka pamuka na dvjema podlogama visoke koncentracije dok na jednoj podlozi nije bilo rasta. Također, blagi rast je bio ispod uzoraka pamuka na dvjema podlogama niske koncentracije. Na jednoj podlozi niske koncentracije nije bilo rasta ispod uzorka. Kod uzoraka pamuka nije vidljiva zona inhibicije (Slika 46.a i c) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 47.a i c). Mikroskopski prikaz (Slika 47.b i d) pokazuje blagi rast ispod uzorka pamuka na podlozi visoke koncentracije te blagi rast ispod uzorka na podlozi niske koncentracije.



Slika 46. Blagi rast ispod uzoraka pamuka na podlozi visoke koncentracije (b). Blagi i umjereni rast ispod uzoraka na podlozi niske koncentracije (d) za bakteriju *B. cereus*. Uzorci pamuka nemaju zonu inhibicije (a,c).



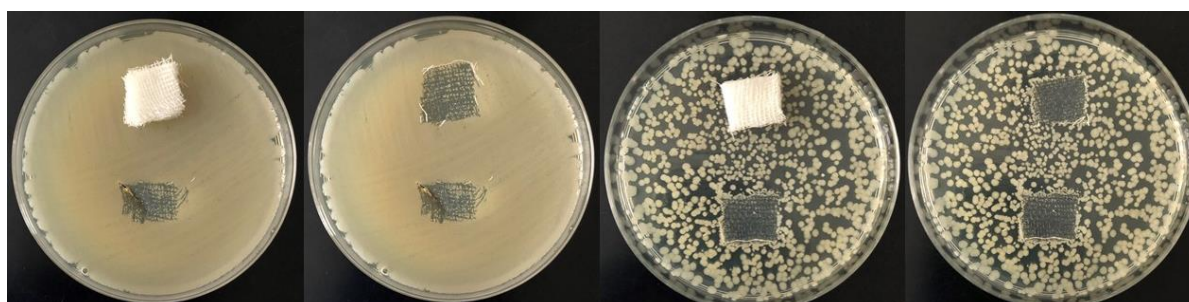
Slika 47. Mikroskopski prikaz blagog ispod uzorka pamuka na podlozi visoke koncentracije (b) i prikaz blagog rasta ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka pamuka i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *B. cereus*



a) b) c) d)

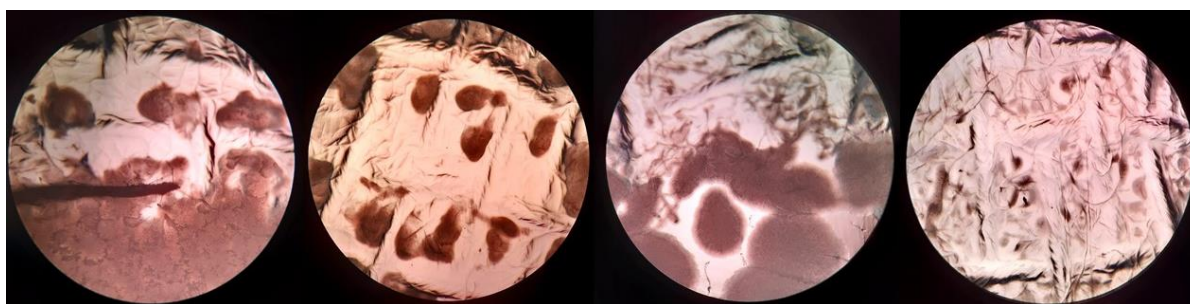
Slika 48. Blagi rast ispod donjeg uzorka pamuka na podlozi visoke koncentracije (a) i podlozi niske koncentracije (d). Nema rasta ispod donjeg uzorka na podlozi visoke koncentracije (b) i podlozi niske koncentracije (d) za bakteriju *B. cereus*

Ispod uzoraka gaze na podlogama visoke koncentracije bio je umjereni i blagi rast, a na podlogama niske koncentracije bio je blagi rast. Za uzorke gaze nije bilo zone inhibicije (Slika 37.a i c) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 38.a i c). Također, mikroskopski prikaz podloge ispod uzoraka pokazuje blagi rast (Slika 38.b i d).



a) b) c) d)

Slika 49. Umjereni ispod uzoraka gaze na podlozi visoke koncentracije (b) i blagi rast ispod uzoraka na podlozi niske koncentracije (d) za bakteriju *B. cereus*. Uzorci gaze nemaju zonu inhibicije (a,c).



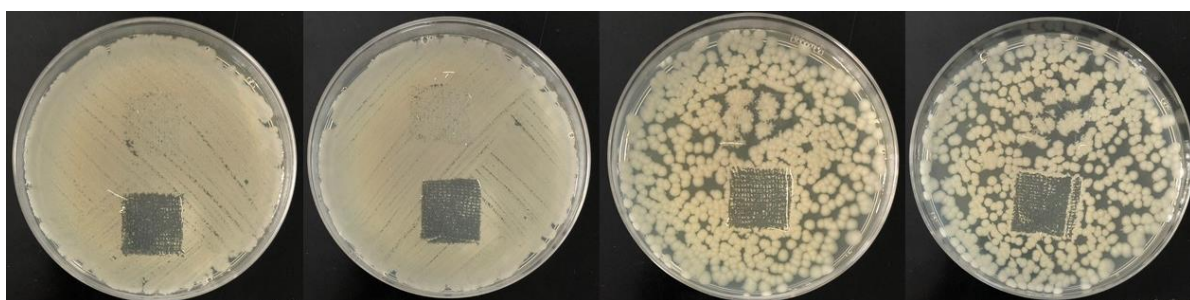
a)

b)

c)

d)

Slika 50. Mikroskopski prikaz blagog rasta ispod uzorka gaze na podlozi visoke koncentracije (b) i blagog rasta ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka gaze i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *B. cereus*



a)

b)

c)

d)

Slika 51. Blagi rast ispod donjeg uzorka gaze na podlogama visoke koncentracije (a,b) i podlogama niske koncentracije (c,d) za bakteriju *B. cereus*

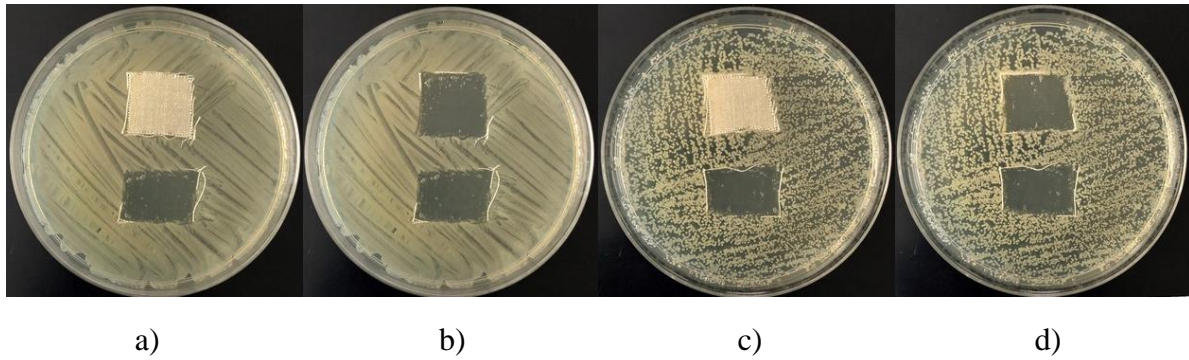
Tablica 4. Rezultati difuzije u agaru za bakteriju *B. cereus*

<i>B. cereus</i>	Uzorak	Zona inhibicije	Rast ispod uzoraka	Antibakterijski učinak
	Vuna (vk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
	Vuna (nk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
	Pamuk (vk)	Nema	Blagi rast/nema rasta	Granična učinkovitost/dobar učinak
	Pamuk (nk)	Nema	Umjereni/blagi rast/nema rasta	Nedovoljan učinak/granična učinkovitost/dobar učinak
	Gaza (vk)	Nema	Umjereni rast/blagi rast	Nedovoljna učinkovitost/granična učinkovitost
	Gaza (nk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
	Aquacel Ag (vk)	Ima	Nema rasta	Dobar učinak
	Aquacel Ag (nk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
	Uložak za cipele (vk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
	Uložak za cipele (nk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak

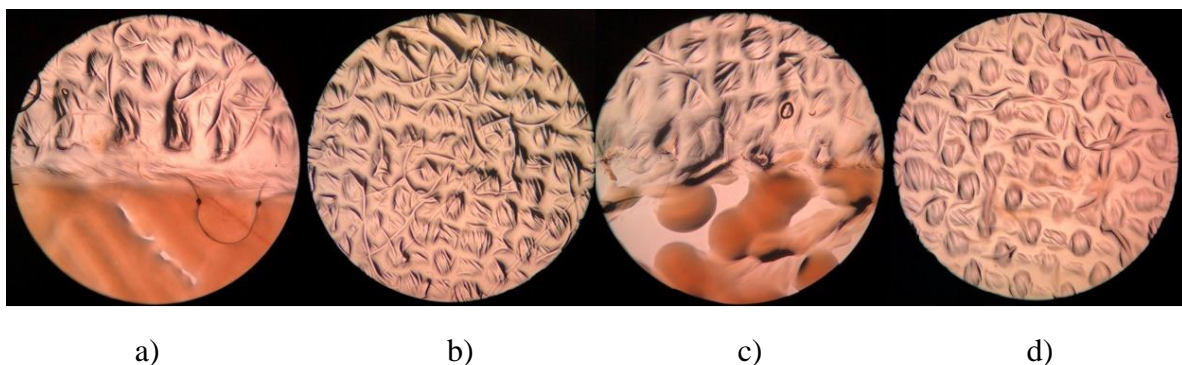
4.2.5. Test difuzije u agaru za bakteriju *A. baumannii*

Antibakterijska svojstva vune za bakteriju *A. baumannii* ispitivala sam na šest podloga. Nije bilo rasta ispod uzoraka na svim podlogama visoke i niske koncentracije. Oko uzoraka vune nije bilo zone inhibicije (Slika 52.a i c) što potvrđuje i mikroskopski prikaz (Slika 53. a i c). Mikroskopski prikaz pokazuje da nema rasta ispod uzorka na podlozi visoke koncentracije (Slika 53.b) i ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (Slika 53.d). Donji uzorci (Slika 54.

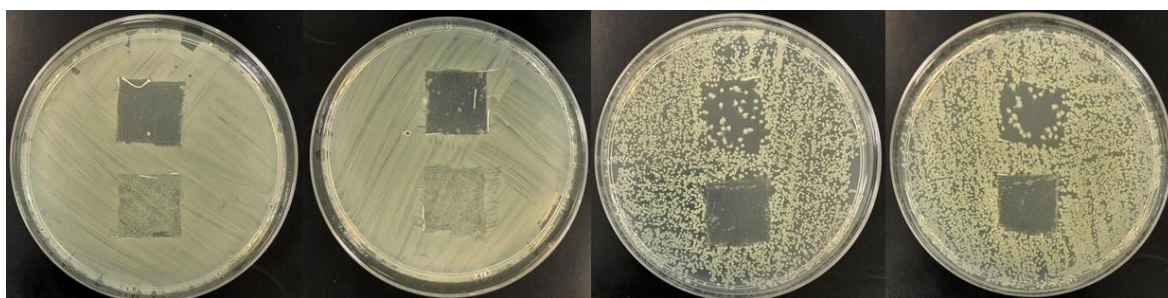
a i b) i gornji uzorci (Slika 54.c i d) uklonjeni su nakon 1-satne inkubacije nakon čega su bakterije nastavile rasti na području na kojem su bili uzorci dok su ostali uzorci uklonjeni nakon 24-satne inkubacije i ispod njih nije bilo rasta.



Slika 52. Nema rasta ispod uzoraka vune na podlozi visoke koncentracije (b) i niske koncentracije (d) za bakteriju *A. baumannii*. Uzorci vune nemaju zone inhibicije (a i b).



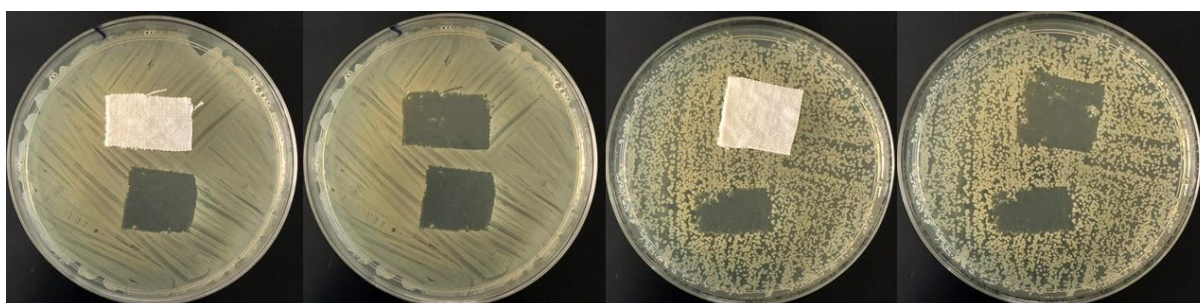
Slika 53. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka vune na podlozi visoke koncentracije (b) i na podlozi niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka vune i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *A. baumannii*



a) b) c) d)

Slika 54. Nema rasta ispod gornjeg uzorka vune na podlogama visoke koncentracije (a,b) i donjeg uzorka vune na podlogama niske koncentracije (c,d) za bakteriju *A. baumannii*

Ispod uzoraka pamuka na svim podlogama visoke koncentracije nije bilo rasta dok je ispod uzoraka na svim podlogama niske koncentracije bio blagi rast. Oko uzoraka pamuka nije bila vidljiva zona inhibicije (Slika 55.a i c) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 56.a i c). Mikroskopski prikaz pokazuje da ispod uzorka na podlozi visoke koncentracije (Slika 56.b) nema rasta, a ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (Slika 56.d) uočen je blagi rast.



a) b) c) d)

Slika 55. Nema rasta ispod uzoraka pamuka na podlozi visoke koncentracije (b) i blagi rast ispod uzoraka na podlozi niske koncentracije (d) za bakteriju *A. baumannii*. Uzorci pamuka nemaju zonu inhibicije (a,c).



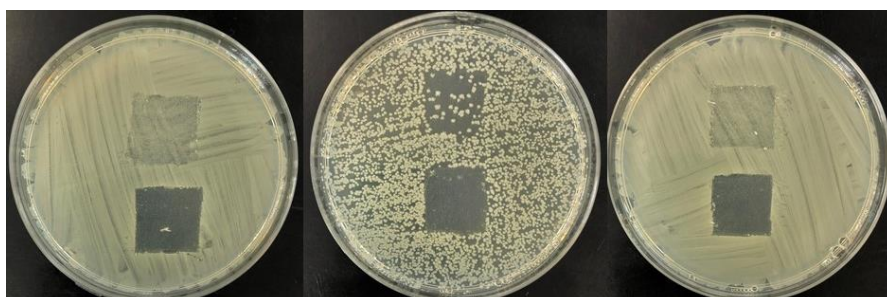
a)

b)

c)

d)

Slika 56. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka pamuka na podlozi visoke koncentracije (b) i prikaz blagog rasta ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka pamuka i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *A. baumannii*



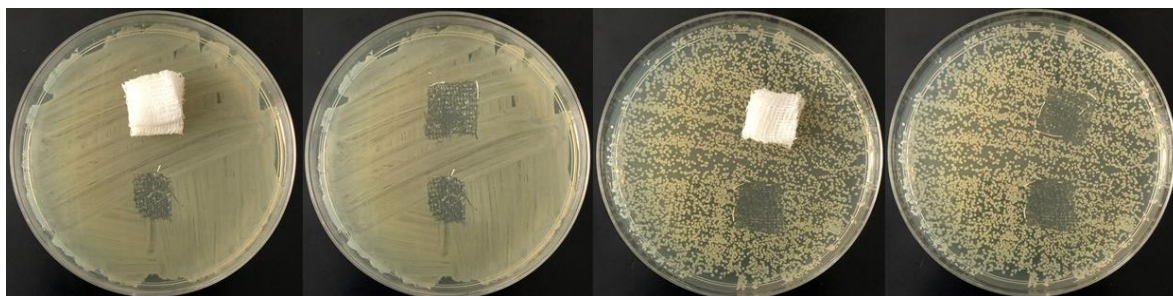
a)

b)

c)

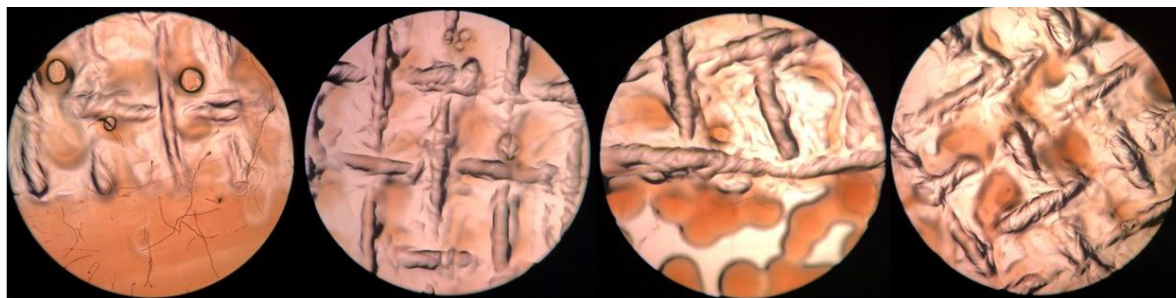
Slika 57. Nema rasta ispod donjeg uzorka pamuka na podlogama visoke koncentracije (a,c) i blagi rast ispod donjeg uzorka na podlozi niske koncentracije (b) za bakteriju *A.baumannii*

Ispod uzoraka gaze na svim podlogama visoke i niske koncentracije bio je blagi rast. Za uzorke gaze nije bilo zone inhibicije (Slika 58.a i c) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 59.a i c). Također, mikroskopski prikaz podloge ispod uzoraka pokazuje blagi rast (Slika 59.b i d).



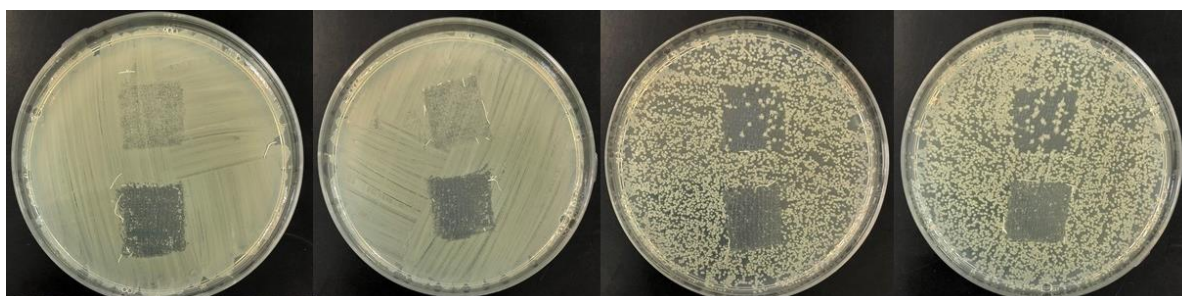
a) b) c) d)

Slika 58. Blagi rast ispod uzoraka gaze na podlozi visoke koncentracije (b) i blagi rast ispod uzoraka na podlozi niske koncentracije (d) za bakteriju *A. baumannii*. Uzorci gaze nemaju zonu inhibicije (a,c).



a) b) c) d)

Slika 59. Mikroskopski prikaz blagog rasta ispod uzorka gaze na podlozi visoke koncentracije (b) i blagog rasta ispod uzorka na podlozi niske koncentracije (d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka gaze i podloge bez zone inhibicije na podlozi visoke koncentracije (a) i niske koncentracije (c) za bakteriju *A. baumannii*



a) b) c) d)

Slika 60. Blagi rast ispod donjeg uzorka gaze na podlogama visoke koncentracije (a,b) i podlogama niske koncentracije (c,d) za bakteriju *A. baumannii*

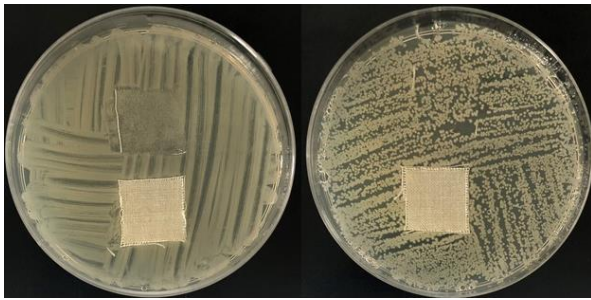
Dobar antibakterijski učinak za bakteriju *A. baumannii* pokazali su vuna i uzorci pamuka na podlozi visoke koncentracije. Uzorci pamuka koji su bili postavljeni na podloge niske koncentracije imali su granični učinak. Također, granični antibakterijski učinak imali su i uzorci gaze.

Tablica 5. Rezultati testa difuzije u agaru za bakteriju *A. baumannii*

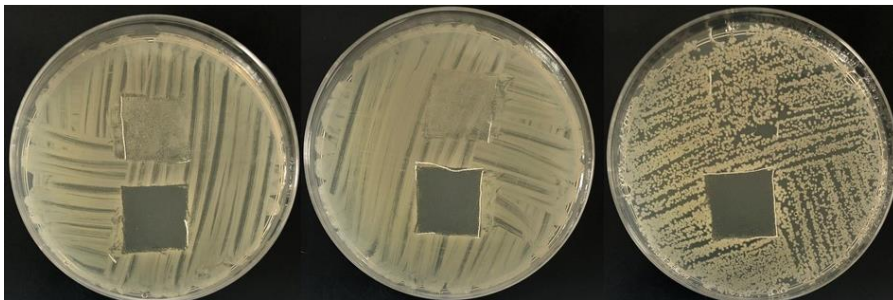
	Uzorak	Zona inhibicije	Rast ispod uzoraka	Antibakterijski učinak
A. Baumannii	Vuna (vk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
	Vuna (nk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
	Pamuk (vk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
	Pamuk (nk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
	Gaza (vk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
	Gaza (nk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
	Aquacel Ag (vk)	Ima	Nema rasta	Dobar učinak
	Aquacel Ag (nk)	Ima	Nema rasta	Dobar učinak
	Uložak za cipele (vk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
	Uložak za cipele (nk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak

4.2.6. Test difuzije u agaru za soj 3831, bakterije *A. baumannii*

Antibakterijska svojstva vune za soj 3831, bakterije *A. baumannii* ispitala sam na tri podloge. Gornji uzorci uklonjeni su nakon 1-satne inkubacije nakon čega su bakterije nastavile rasti na području na kojem su bili uzorci dok su donji uzorci uklonjeni nakon 24-satne inkubacije i ispod njih nije bilo rasta (Slika 62.). Mikroskopski prikaz pokazuje da nema rasta ispod uzorka na podlogama visoke koncentracije (Slika 63.b). Oko uzoraka vune nije bilo zone inhibicije (Slika 61.) što potvrđuje i mikroskopski prikaz (Slika 63.a i c).



Slika 61. Uzorci vune na podlozi visoke i niske koncentracije nemaju zonu inhibicije za soj 3831, bakterije *A. baumannii*

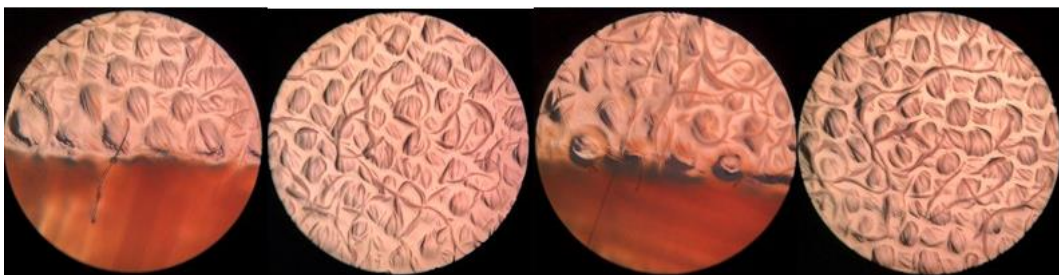


a)

b)

c)

Slika 62. Nema rasta ispod donjeg uzorka vune na podlogama visoke koncentracije (a,b) i podlozi niske koncentracije (c) za soj 3831, bakterije *A. baumannii*



a)

b)

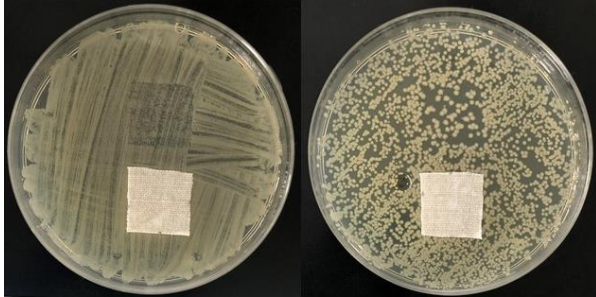
c)

d)

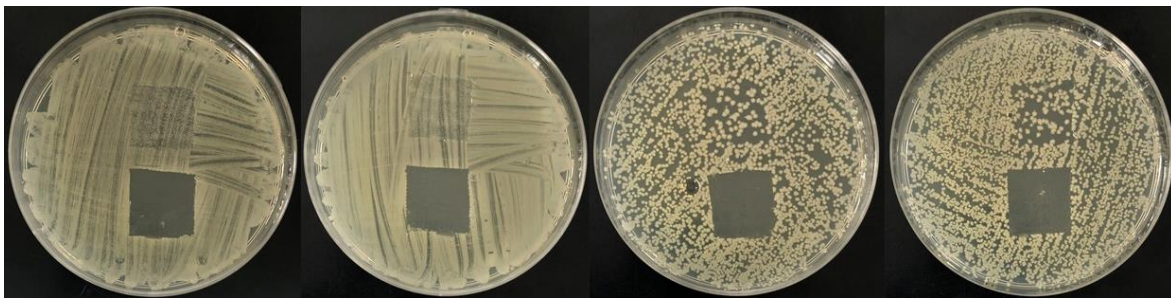
Slika 63. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka vune na podlogama visoke koncentracije (b,d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka vune i podloge bez zone inhibicije na podlogama visoke koncentracije (a,c) za soj 3831, bakterije *A. baumannii*

Ispod uzorka pamuka na jednoj podlozi visoke koncentracije bio je blagi rast dok na drugoj podlozi nije bilo rasta. Također, ispod uzorka pamuka na jednoj podlozi niske koncentracije bio

je blagi rast dok na drugoj podlozi nije bilo rasta. Takve rezultate potvrđuje je i mikroskopski prikaz ispod uzoraka. Za uzorke pamuka nije bilo zone inhibicije (Slika 64.).



Slika 64. Uzorci pamuka bez zone inhibicije na podlozi visoke i niske koncentracije za soj 3831, bakterije *A. baumannii*



a)

b)

c)

d)

Slika 65. Blagi i odsutan rast ispod donjih uzoraka pamuka na podlogama visoke koncentracije (a,b). Odsutan i blagi rast ispod donjih uzoraka pamuka na podlogama niske koncentracije (c,d) za soj 3831, bakterije *A.baumannii*



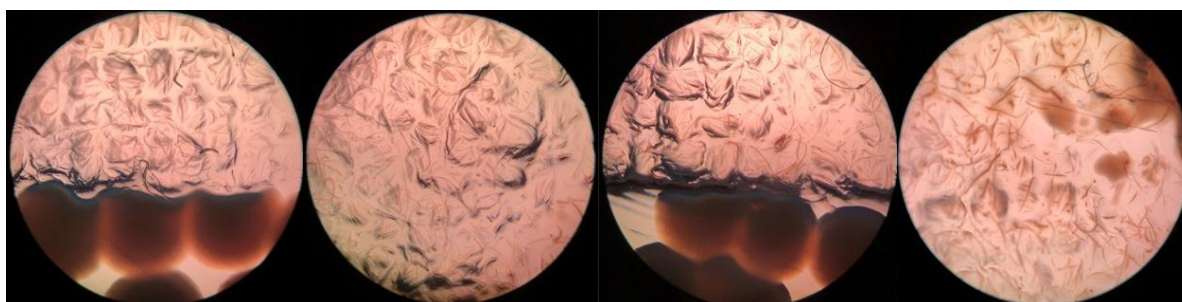
a)

b)

c)

d)

Slika 66. Mikroskopski prikaz blagog rasta (b) i odsutnog rasta (d) ispod uzorka pamuka na podlogama visoke koncentracije. Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka pamuka i podloge bez zone inhibicije na podlogama visoke koncentracije (a,c) za soj 3831, bakterije *A. baumannii*



a)

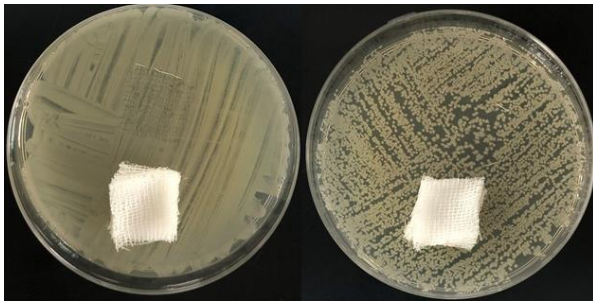
b)

c)

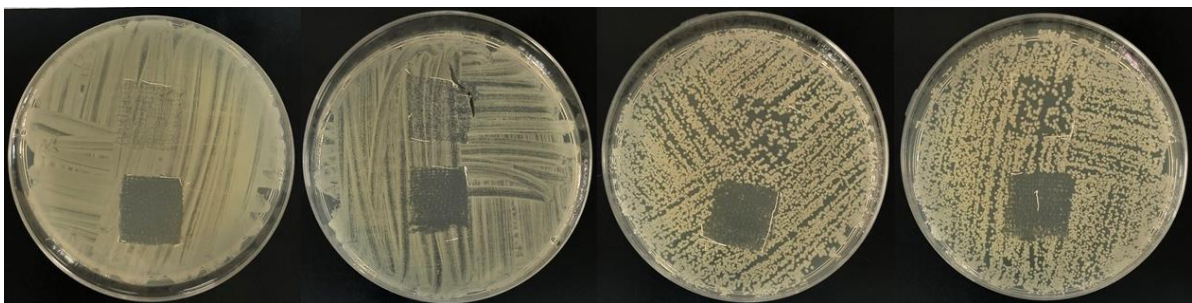
d)

Slika 67. Mikroskopski prikaz blagog rasta (d) i odsutnog rasta (b) ispod uzorka pamuka na podlogama niske koncentracije. Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka pamuka i podloge bez zone inhibicije na podlogama niske koncentracije (a,c) za soj 3831, bakterije *A. baumannii*

Ispod uzoraka gaze na svim podlogama visoke i niske koncentracije bio je blagi rast. Za uzorke gaze nije bilo zone inhibicije (Slika 68.) što se vidi i na mikroskopskom prikazu. Također, mikroskopski prikaz podloge ispod uzoraka pokazuje blagi rast (Slika 70.b i d i 71.b i d).



Slika 68. Uzorci gaze bez zone inhibicije za soj 3831, bakterije *A. baumannii*



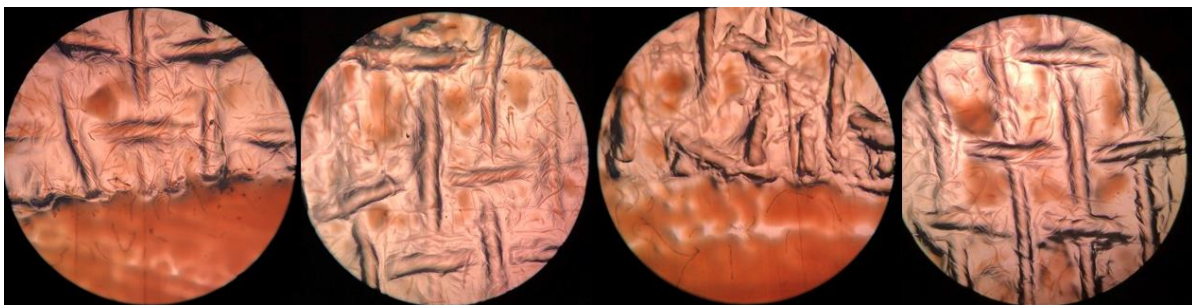
a)

b)

c)

d)

Slika 69. Blagi rast ispod donjeg uzorka gaze na podlogama visoke koncentracije (a,b) i podlogama niske koncentracije (c,d) za soj 3831, bakterije *A. baumannii*



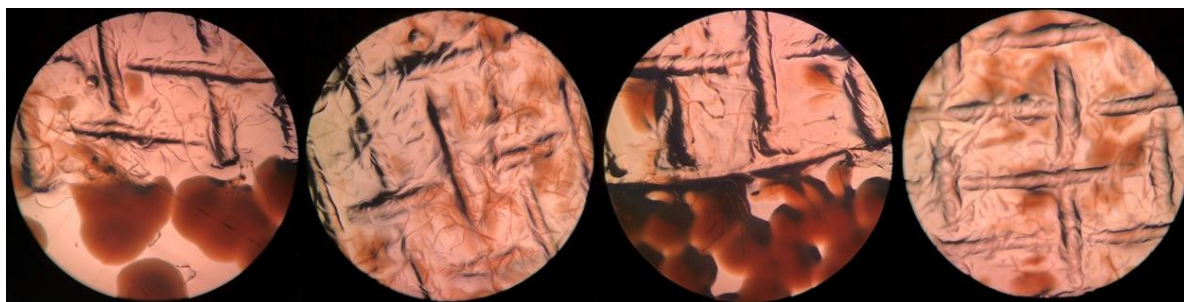
a)

b)

c)

d)

Slika 70. Mikroskopski prikaz blagog rasta ispod uzorka gaze na podlogama visoke koncentracije (b,d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka gaze i podloge bez zone inhibicije na podlogama visoke koncentracije (a,c) za soj 3831, bakterije *A. baumannii*



a)

b)

c)

d)

Slika 71. Mikroskopski prikaz blagog rasta ispod uzorka gaze na podlogama niske koncentracije (b,d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka gaze i podloge bez zone inhibicije na podlogama niske koncentracije (a,c) za soj 3831, bakterije *A. baumannii*

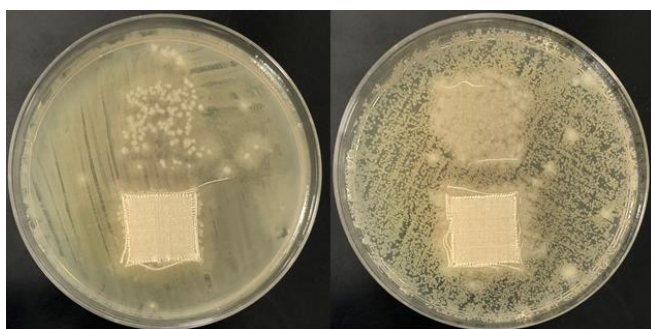
Dobar antibakterijski učinak za soj 3183, bakterije *A. baumannii* pokazali su vuna i neki uzorci pamuka. Granični učinak imali su neki uzorci pamuka i gaza. Antibakterijski uložak za cipele nisam testirala za ovaj soj.

Tablica 6. Rezultati testa difuzije u agaru za soj 3138 bakterije *A. baumannii*

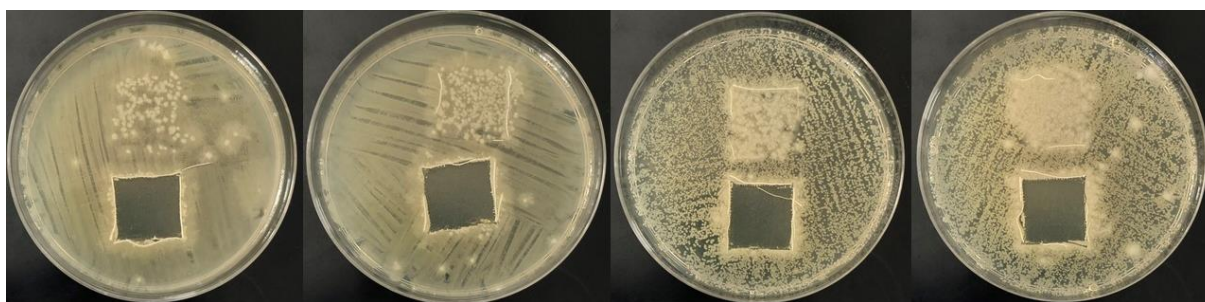
Uzorak	Zona inhibicije	Rast ispod uzoraka	Antibakterijski učinak
Vuna (vk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
Vuna (nk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
Pamuk (vk)	Nema	Blagi rast/nema rasta	Granična učinkovitost/dobar učinak
Pamuk (nk)	Nema	Blagi rast/nema rasta	Granična učinkovitost/dobar učinak
Gaza (vk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
Gaza (nk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
Aquacel Ag (vk)	Ima	Nema rasta	Dobar učinak
Aquacel Ag (nk)	Ima	Nema rasta	Dobar učinak

4.2.7. Test difuzije u agaru za soj 4138, bakterije *A. baumannii*

Antibakterijska svojstva vune za soj 4138, bakterije *A. baumannii* ispitivala sam na tri podloge. Gornji uzorci uklonjeni su nakon 1-satne inkubacije nakon čega su bakterije nastavile rasti na području na kojem su bili uzorci dok su donji uzorci uklonjeni nakon 24-satne inkubacije i ispod njih nije bilo rasta (Slika 73.). Mikroskopski prikaz pokazuje da nema rasta ispod uzorka na podlogama visoke koncentracije (Slika 74.b i d) te ispod uzorka na podlogama niske koncentracije (Slika 75.b i d). Oko uzoraka vune nije bilo zone inhibicije (Slika 72.) što potvrđuje i mikroskopski prikaz. Na podlogama je došlo do onečišćenja tj. narasle su i neke druge bakterije jer uzorci vune u ovom istraživanju nisu bili sterilni.



Slika 72. Uzorci vune na podlozi visoke i niske koncentracije nemaju zonu inhibicije za soj 4138, bakterije *A. baumannii*



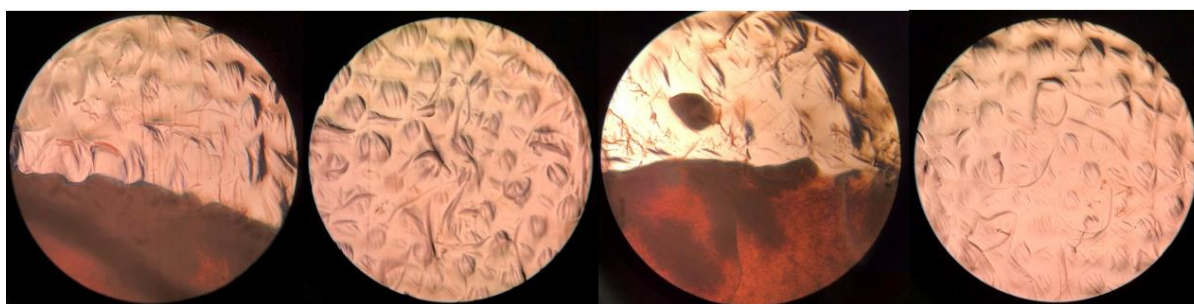
a)

b)

c)

d)

Slika 73. Nema rasta ispod donjeg uzorka vune na podlogama visoke koncentracije (a,b) i podlogama niske koncentracije (c,d) za soj 4138, bakterije *A. baumannii*



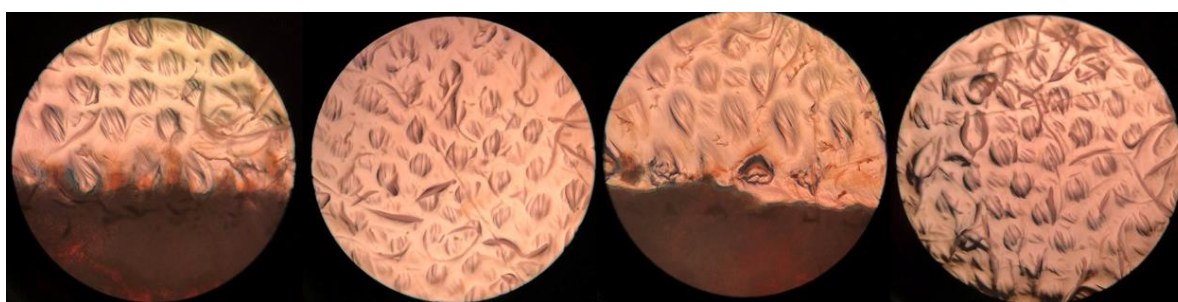
a)

b)

c)

d)

Slika 74. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka vune na podlogama visoke koncentracije (b,d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka vune i podloge bez zone inhibicije na podlogama visoke koncentracije (a,c) za soj 4138, bakterije *A. baumannii*



a)

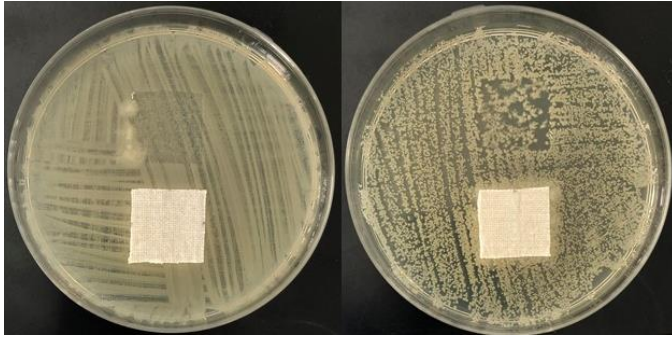
b)

c)

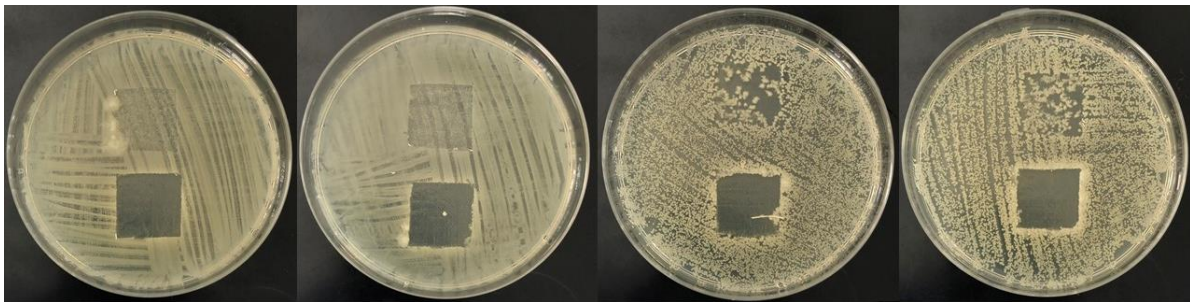
d)

Slika 75. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka vune na podlogama niske koncentracije (b,d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka vune i podloge bez zone inhibicije na podlogama niske koncentracije (a,c) za soj 4138, bakterije *A. baumannii*

Ispod uzoraka pamuka na podlogama visoke koncentracije nije bilo rasta. Ispod uzoraka pamuka na podlogama niske koncentracije bio je blagi rast. Takve rezultate potvrđuje je i mikroskopski prikaz ispod uzoraka (Slika 78.b i d, slika 79.b i d). Za uzorke pamuka nije bilo zone inhibicije (Slika 76.).



Slika 76. Uzorci pamuka bez zone inhibicije na podlozi visoke i niske koncentracije za soj 4138, bakterije *A. baumannii*



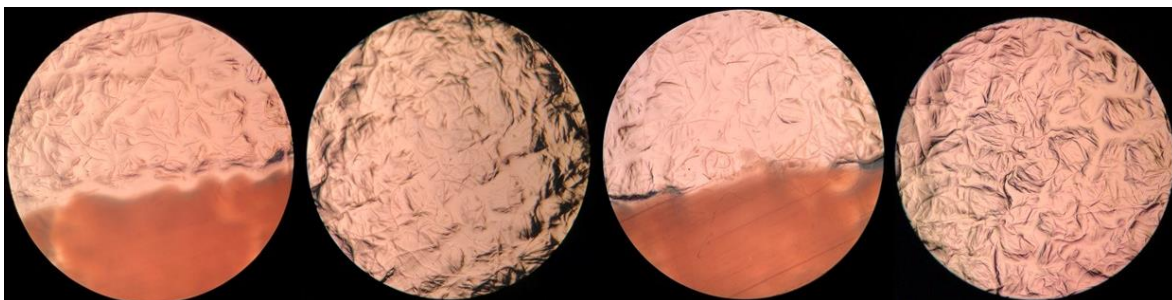
a)

b)

c)

d)

Slika 77. Nema rasta ispod donjeg uzorka pamuka na podlogama visoke koncentracije (a,b). Blagi rast ispod donjeg uzorka pamuka na podlogama niske koncentracije (c,d) za soj 4138, bakterije *A.baumannii*



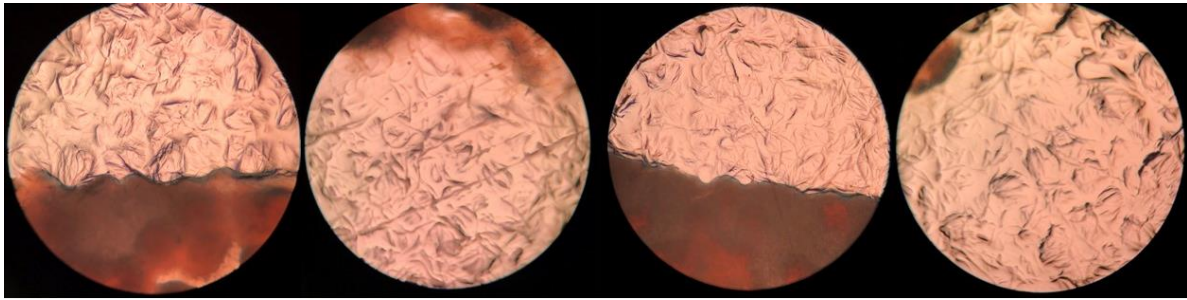
a)

b)

c)

d)

Slika 78. Mikroskopski prikaz na kojem nema rasta ispod uzorka pamuka na podlogama visoke koncentracije (b,d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka pamuka i podloge bez zone inhibicije na podlogama visoke koncentracije (a,c) za soj 4138, bakterije *A. baumannii*



a)

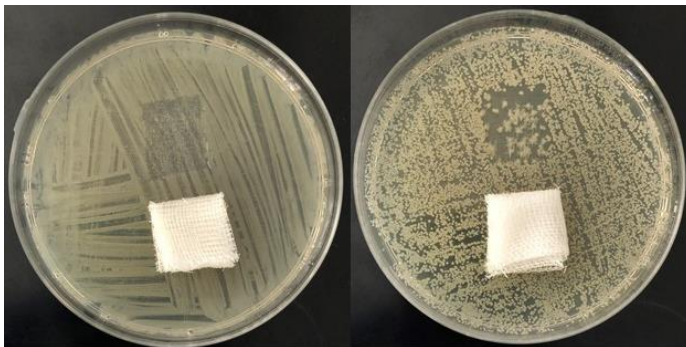
b)

c)

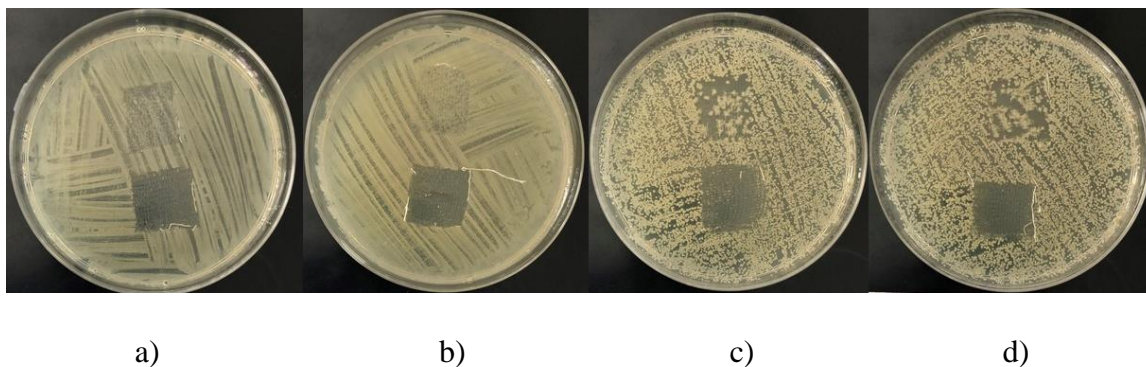
d)

Slika 79. Mikroskopski prikaz s blagim rastom ispod uzorka vune na podlogama niske koncentracije (b,d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka vune i podloge bez zone inhibicije na podlogama niske koncentracije (a,c) za soj 4138, bakterije *A. baumannii*

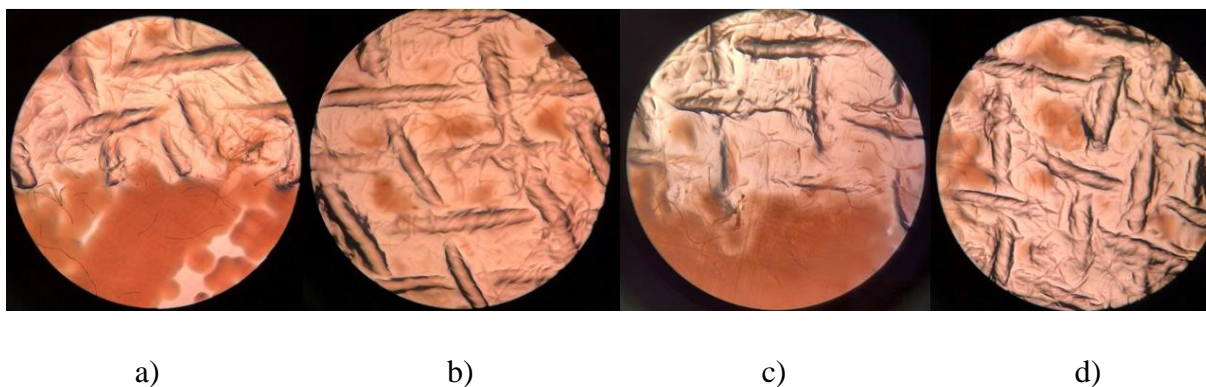
Ispod uzoraka gaze na svim podlogama visoke i niske koncentracije bio je blagi rast. Za uzorke gaze nije bilo zone inhibicije (Slika 80.) što se vidi i na mikroskopskom prikazu (Slika 82.a i c, slika 83.a i c). Također, mikroskopski prikaz podloge ispod uzoraka pokazuje blagi rast (Slika 82.b i d, slika 83.b i d).



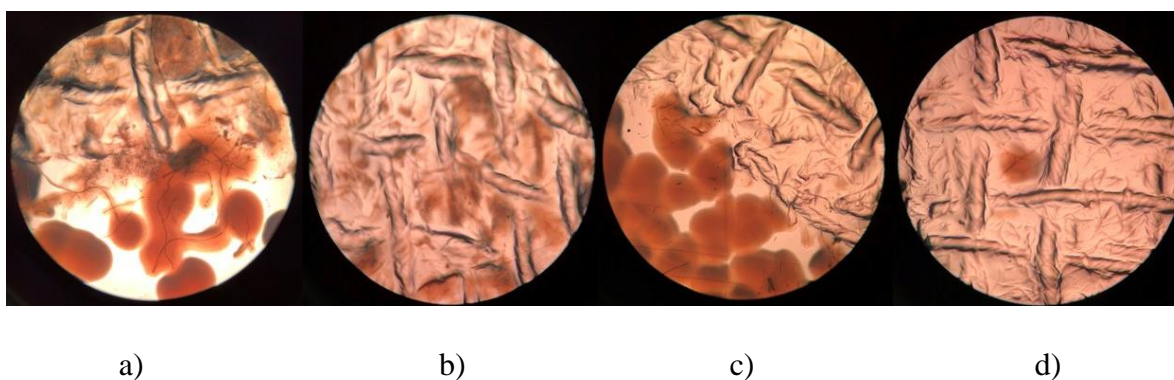
Slika 80. Uzorci gaze bez zone inhibicije za soj 4138, bakterije *A. baumannii*



Slika 81. Blagi rast ispod donjeg uzorka gaze podlogama visoke koncentracije (a,b) i podlogama niske koncentracije (c,d) za soj 4138, bakterije *A. baumannii*



Slika 82. Mikroskopski prikaz blagog rasta ispod uzorka gaze na podlogama visoke koncentracije (b,d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka gaze i podloge bez zone inhibicije na podlogama visoke koncentracije (a,c) za soj 4138, bakterije *A. baumannii*



Slika 83. Mikroskopski prikaz blagog rasta ispod uzorka gaze na podlogama niske koncentracije (b,d). Mikroskopski prikaz ruba ispod uzorka gaze i podloge bez zone inhibicije na podlogama niske koncentracije (a,c) za soj 4138, bakterije *A. baumannii*

Dobar antibakterijski učinak za soj 4138, bakterije *A. baumannii* pokazali su vuna i uzorci pamuka na podlogama visoke koncentracije. Granični učinak imali su uzorci pamuka na podlogama niske koncentracije i gaza. Antibakterijski uložak za cipele nisam testirala za ovaj soj.

Tablica 7. Rezultati testa difuzije u agaru za soj 4138 bakterija *A. baumannii*

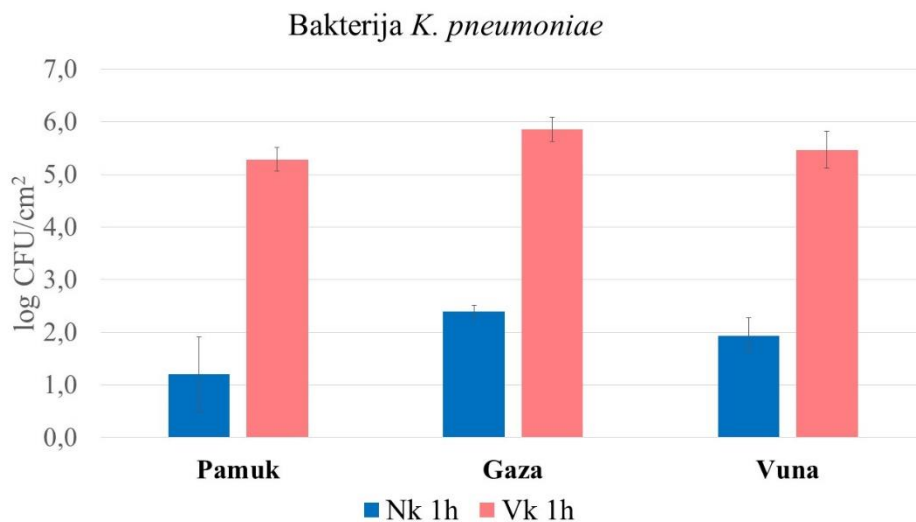
Uzorak	Zona inhibicije	Rast ispod uzoraka	Antibakterijski učinak
Vuna (vk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
Vuna (nk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
Pamuk (vk)	Nema	Nema rasta	Dobar učinak
Pamuk (nk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
Gaza (vk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
Gaza (nk)	Nema	Blagi rast	Granična učinkovitost
Aquacel Ag (vk)	Ima	Nema rasta	Dobar učinak
Aquacel Ag (nk)	Ima	Nema rasta	Dobar učinak

4.3. Broj vezanih bakterija na uzorku materijala nakon 1- i 24-satnog kontakta

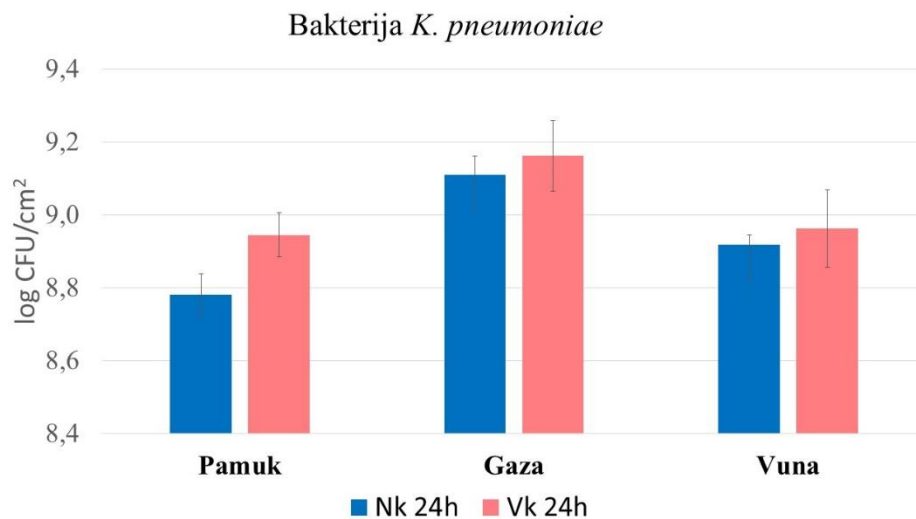
Na podlogama niske koncentracije bakterije *K. pneumoniae* nije bilo statistički značajne razlike u broju vezanih bakterija između materijala nakon 1-satne inkubacije (Slika 84.). Nakon 24-satne inkubacije na gazi je bilo znatno više vezanih bakterija u odnosu na vunu i pamuk dok je vuna imala više vezanih bakterija od pamuka (Slika 85.).

Na podlogama visoke koncentracije bakterije *K. pneumoniae* gaza je imala statistički značajno više vezanih bakterija u odnosu na pamuk i vunu, a između pamuka i vune nije bilo statistički značajne razlike nakon 1-satne inkubacije (Slika 84.). Nakon 24-satne inkubacije gaza je imala znatno više bakterija od vune i pamuka, a vuna više od pamuka (Slika 85.). Razlika u broju

vezanih bakterija između gaze i pamuka je bila veća nakon 24-satne inkubacije u odnosu na 1-satnu inkubaciju, na gazi su se bakterije više umnožavale.



Slika 84. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 1-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije bakterije *K. pneumoniae*

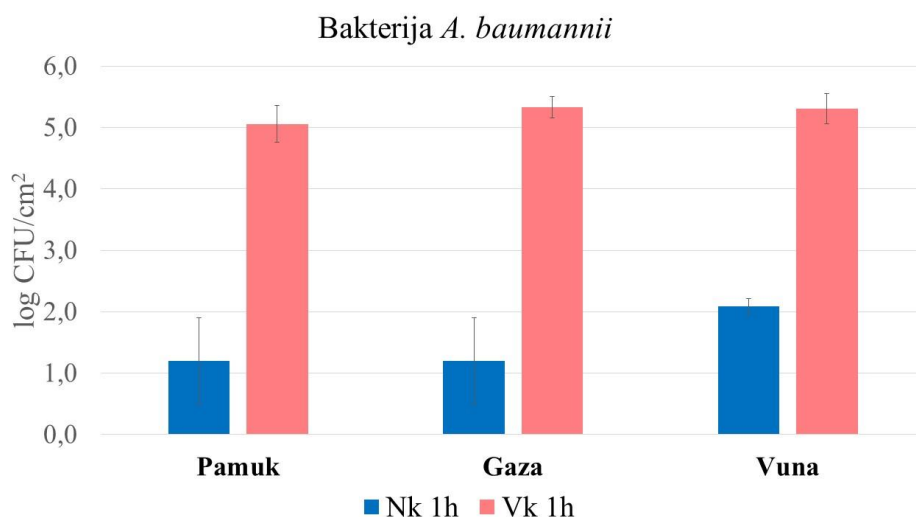


Slika 85. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 24-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije bakterije *K. pneumoniae*

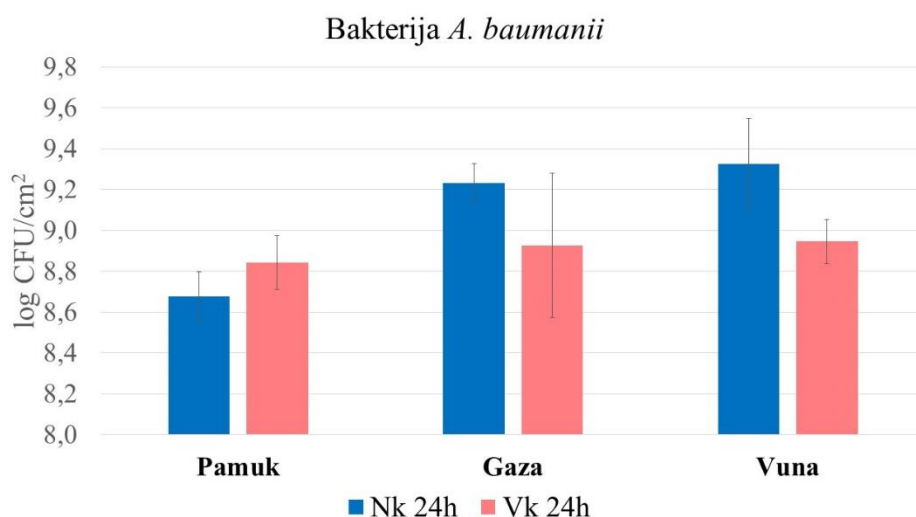
Na podlogama niske koncentracije bakterije *A. baumannii* nije bilo statistički značajne razlike u broju vezanih bakterija između pamuka, gaze i vune nakon 1-satne inkubacije (Slika 86.).

Nakon 24-satne inkubacije na gazi i vuni je bilo statistički značajno više vezanih bakterija nego na pamuku dok između vune i gaze nije bilo razlike (Slika 87.).

Na podlogama visoke koncentracije bakterije *A. baumannii* nije bilo statistički značajne razlike između materijala nakon 1-satne inkubacije (Slika 86.). Također, nije bilo razlike u broju vezanih bakterija između materijala ni nakon 24-satne inkubacije (Slika 87.).



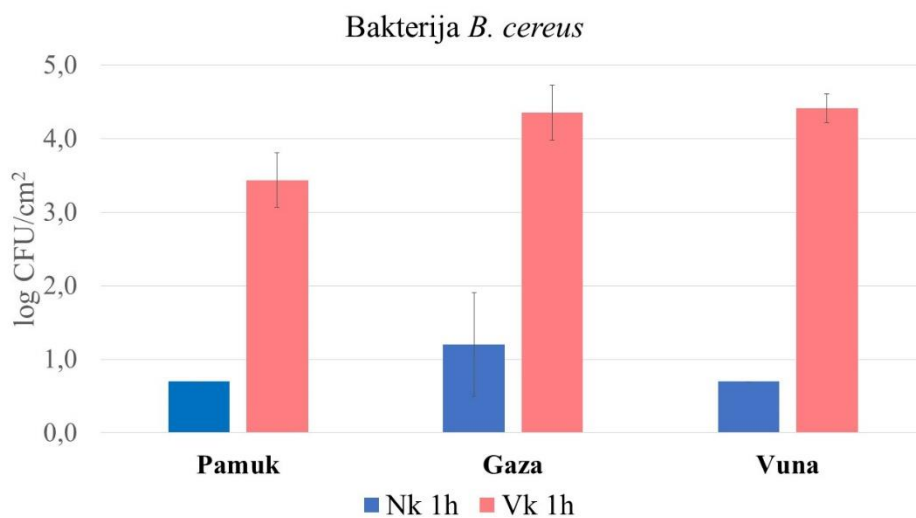
Slika 86. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 1-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije bakterije *A. baumannii*



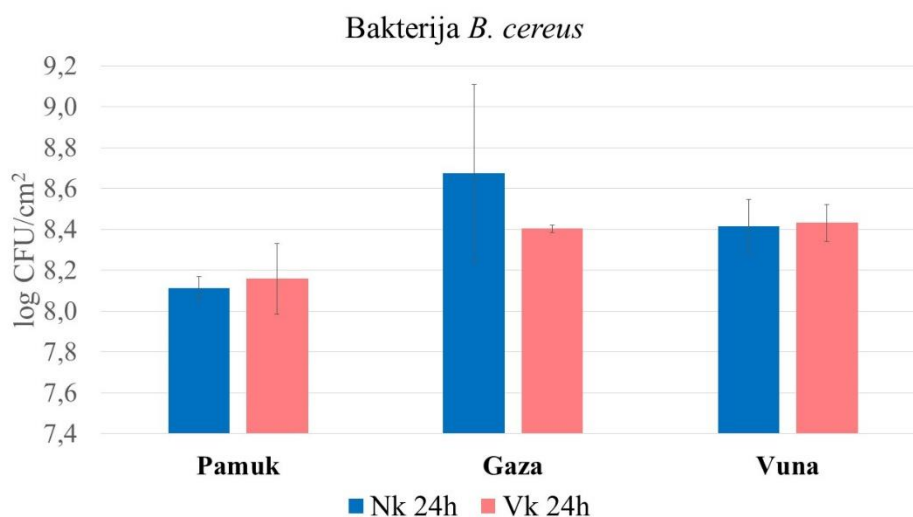
Slika 87. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 24-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije bakterije *A. baumannii*

Na podlogama niske koncentracije bakterije *B. cereus* nije bilo statistički značajne razlike u broju vezanih bakterija između pamuka, gaze i vune nakon 1-satne inkubacije (Slika 88.). Nakon 24-satne inkubacije na gazi i vuni je bilo statistički značajno više vezanih bakterija nego na pamuku dok između vune i gaze nije bilo razlike (Slika 89.).

Na podlogama visoke koncentracije bakterije *B. cereus* gaza nije imala statistički značajnu razliku u broju vezanih bakterija u odnosu na vunu i pamuk dok je vuna imala znatno više od pamuka nakon 1-satne inkubacije (Slika 88.). Nakon 24-satne inkubacije vuna i gaza su imale znatno više vezanih bakterija u odnosu na pamuk dok između vune i gaze nije bilo razlike (Slika 89.). Razlika u broju vezanih bakterija između vune i pamuka je bila statistički značajno veća nakon 1-satne inkubacije u odnosu na 24-satnu inkubaciju, bakterije na pamuku su se više umnožavale nego na vuni.



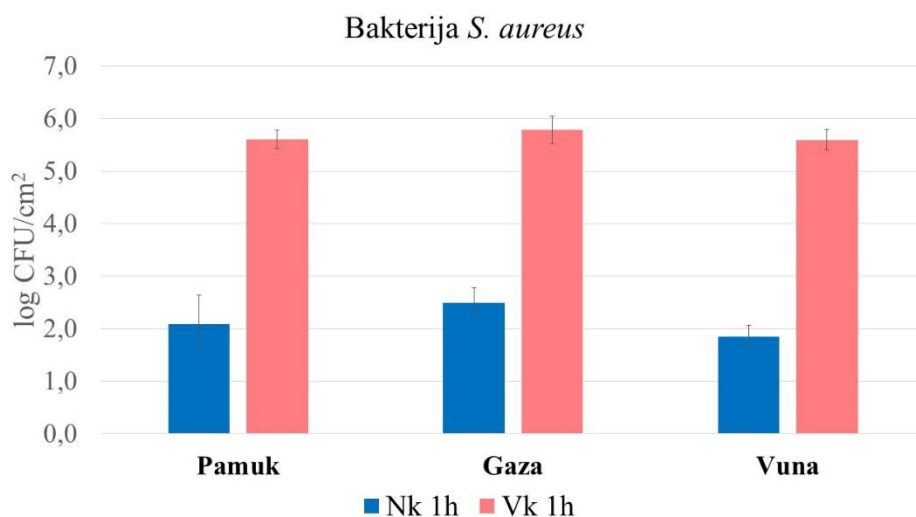
Slika 88. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 1-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije bakterije *B. cereus*



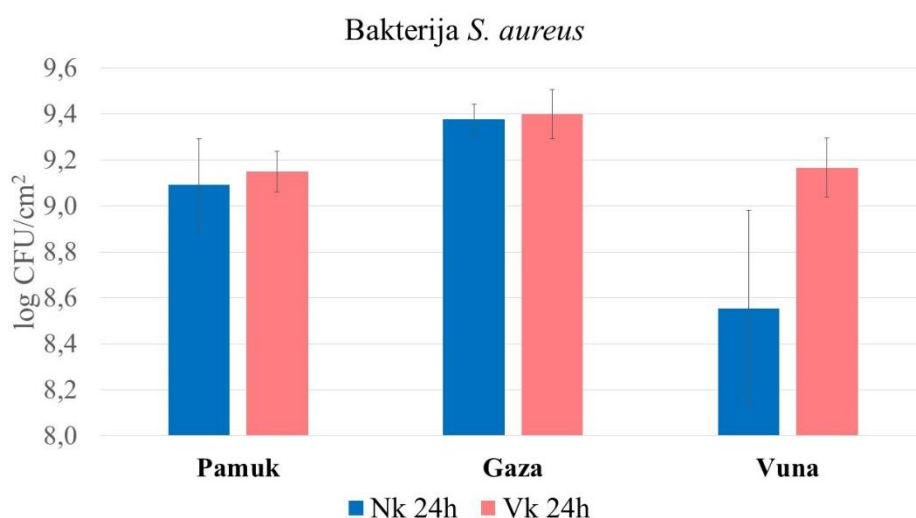
Slika 89. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 24-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije bakterije *B. cereus*

Na podlogama niske koncentracije bakterije *S. aureus* nije bilo statistički značajne razlike u broju vezanih bakterija između pamuka, gaze i vune nakon 1-satne inkubacije (Slika 90.). Nakon 24-satne inkubacije gaza je imala statistički značajno više vezanih bakterija od vune i pamuka. Pamuk nije imao statistički značajnu razliku u odnosu na vunu (Slika 91.).

Na podlogama visoke koncentracije bakterije *S. aureus* nije bilo statistički značajne razlike u broju vezanih bakterija između materijala nakon 1-satne inkubacije (Slika 90.). Nakon 24-satne inkubacije gaza je imala znatno više vezanih bakterija od vune i pamuka dok između pamuka i vune nije bilo značajne razlike (Slika 91.).



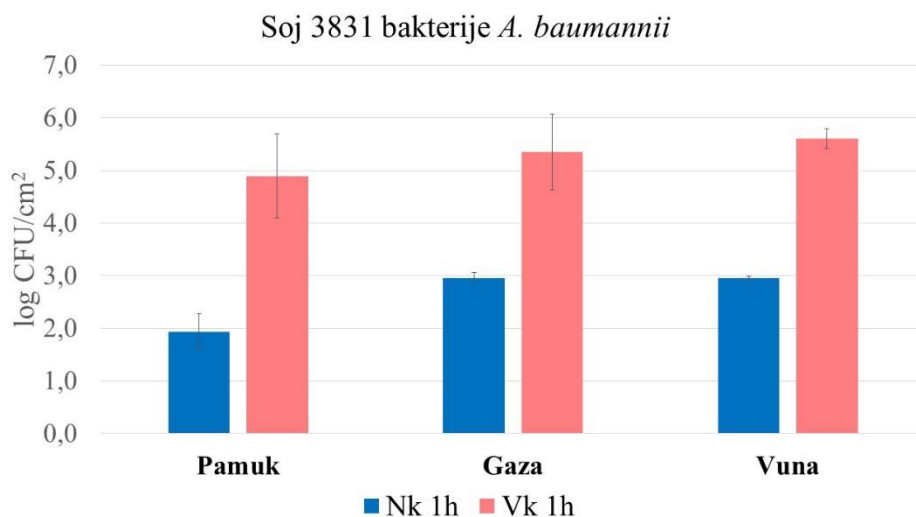
Slika 90. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 1-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije bakterije *S. aureus*



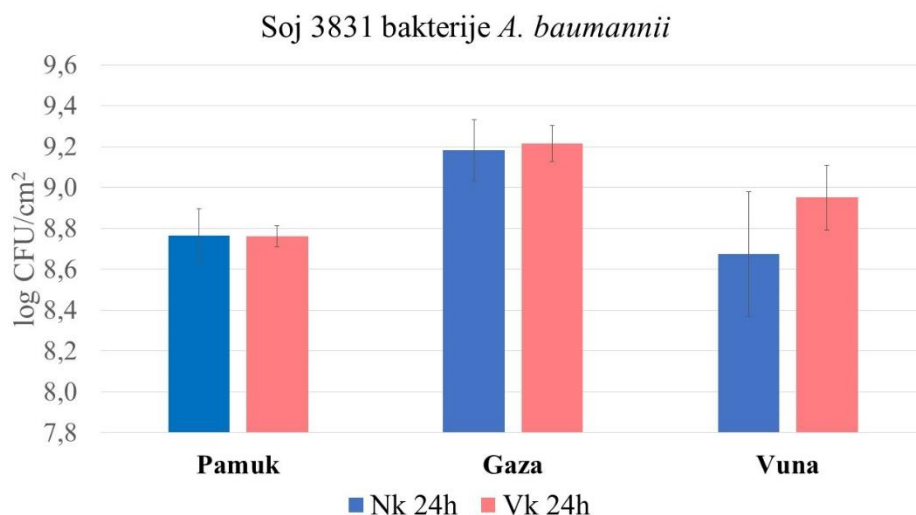
Slika 91. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 24-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije bakterije *S. aureus*

Na podlogama niske koncentracije soja 3831 bakterije *A. baumannii* gaza i vuna su imale statistički značajno više vezanih bakterija u odnosu na pamuk nakon 1-satne inkubacije. Između gaze i vune nije bilo značajne razlike u broju vezanih bakterija (Slika 92.). Nakon 24-satne inkubacije gaza je imala znatno više vezanih bakterija u odnosu na vunu i pamuk. Između vune i pamuka nije bilo značajne razlike u broju vezanih bakterija (Slika 93.).

Na podlogama visoke koncentracije soja 3831 bakterije *A. baumannii* nije bilo statistički značajne razlike u broju vezanih bakterija između materijala nakon 1-satne inkubacije (Slika 92.). Nakon 24-satne inkubacije gaza je imala znatno više vezanih bakterija od vune i pamuka dok između pamuka i vune nije bilo značajne razlike (Slika 93.).



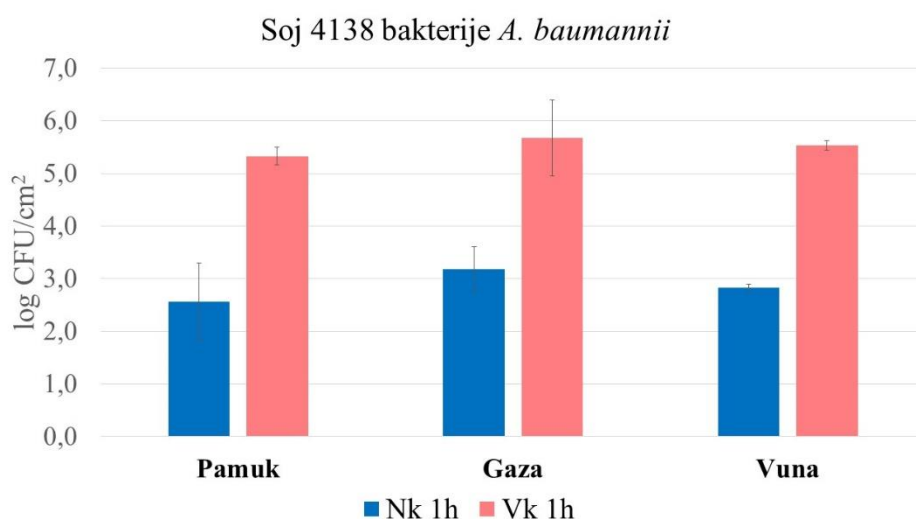
Slika 92. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 1-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije soja 3831 bakterije *A. baumannii*



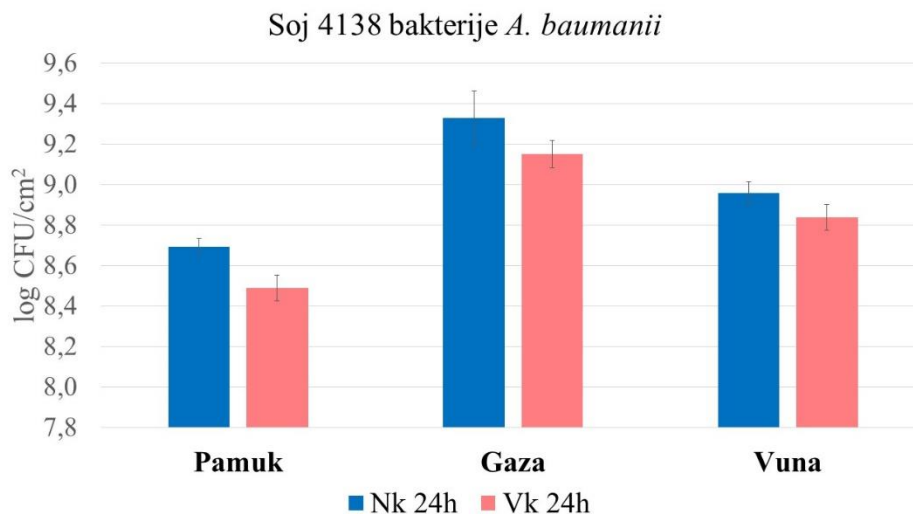
Slika 93. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 24-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije soja 3831 bakterije *A. baumannii*

Na podlogama niske koncentracije soja 4138 bakterije *A. baumannii* nije bilo statistički značajne razlike u broju vezanih bakterija između materijala nakon 1-satne inkubacije (Slika 94.). Nakon 24-satne inkubacije broj vezanih bakterija na gazi je bio znatno veći u odnosu na pamuk i vunu dok je vuna imala znatno više vezanih bakterija od pamuka (Slika 95.).

Na podlogama visoke koncentracije soja 4138 bakterija *A. baumannii* nije bilo statistički značajne razlike u broju vezanih bakterija između materijala nakon 1-satne inkubacije (Slika 94). Nakon 24-satne inkubacije gaza je imala znatno više vezanih bakterija u odnosu na pamuk i vunu dok je vuna imala više nego pamuk (Slika 95.).



Slika 94. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 1-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije soja 4138 bakterije *A. baumannii*

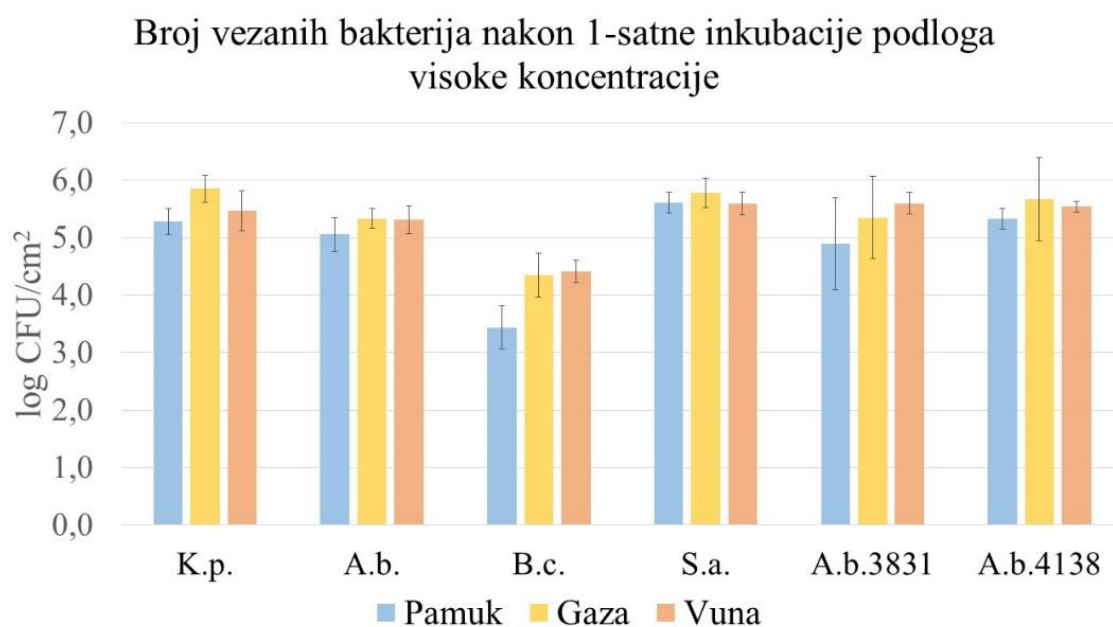


Slika 95. Broj vezanih bakterija na uzorcima materijala nakon 24-satnog kontakta na podlogama niske (Nk) i visoke (Vk) koncentracije soja 4138 bakterije *A. baumannii*

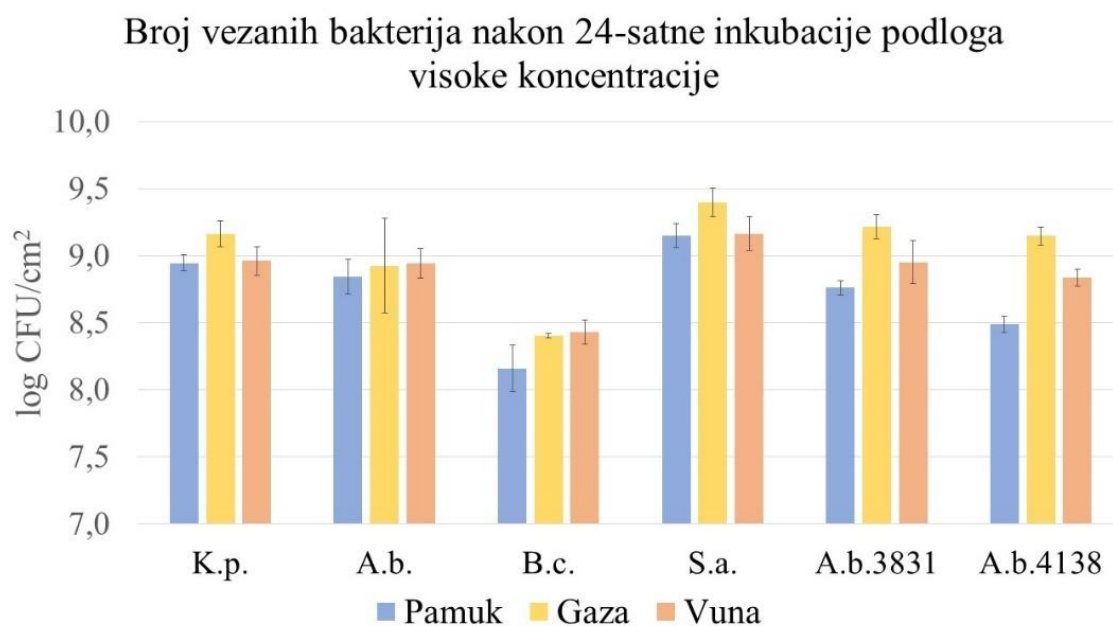
Za podloge visoke koncentracije znatno nižu koncentraciju početne suspenzije u odnosu na ostale bakterije imala je bakterija *B. cereus* što je utjecalo i na manji broj vezanih bakterija na pamuku, gazi i vuni nakon 1-satne inkubacije (Slika 96.). Ipak, bakterija *B. cereus* imala je najveće umnožavanje između 1-satne i 24-satne inkubacije (Slika 98.). Za podloge niske koncentracije najveću koncentraciju početne suspenzije imala je bakterija *A. baumannii*, ali je ipak vezala manje bakterija na materijale u odnosu na patogene sojeve. Sojevi 3831 i 4138 imali su najviše vezanih bakterija nakon 1-satne inkubacije na podlogama niske koncentracije, ali najmanje umnožavanje između 1-satne i 24-satne inkubacije. Bakterije koje su se nakon 1-satne inkubacije manje vezale na određene materijale kasnije su imale veće umnožavanje na tim materijalima. Na svim materijalima koji su bili na podlogama niske koncentracije umnožavanje bakterija na njima je bilo znatno veće u odnosu na materijale koji su bili postavljeni na podloge visoke koncentracije (Slika 98. i 101.).

Tablica 8. Koncentracije početnih suspenzija različitih bakterija za podloge visoke koncentracije

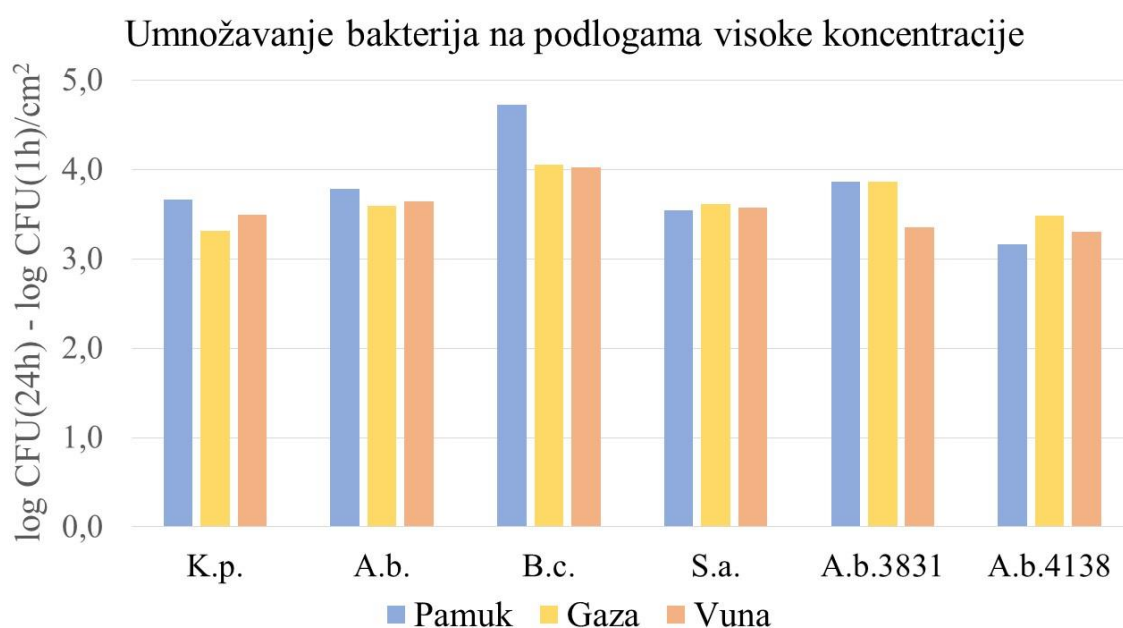
Koncentracija početnih bakterijskih suspenzija (CFU/mL)	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	Soj 3831, <i>A. baumannii</i>	Soj 4138, <i>A. baumannii</i>
Srednja vrijednost	9,65E+08	1,70E+09	7,60E+07	2,11E+09	2,47E+09	1,16E+09
Standardna devijacija	7,78E+07	6,10E+08	1,44E+07	1,57E+09	1,17E+09	2,81E+08



Slika 96. Broj vezanih bakterija na uzorcima različitih materijala nakon 1-satne inkubacije podloga visoke koncentracije za različite bakterije



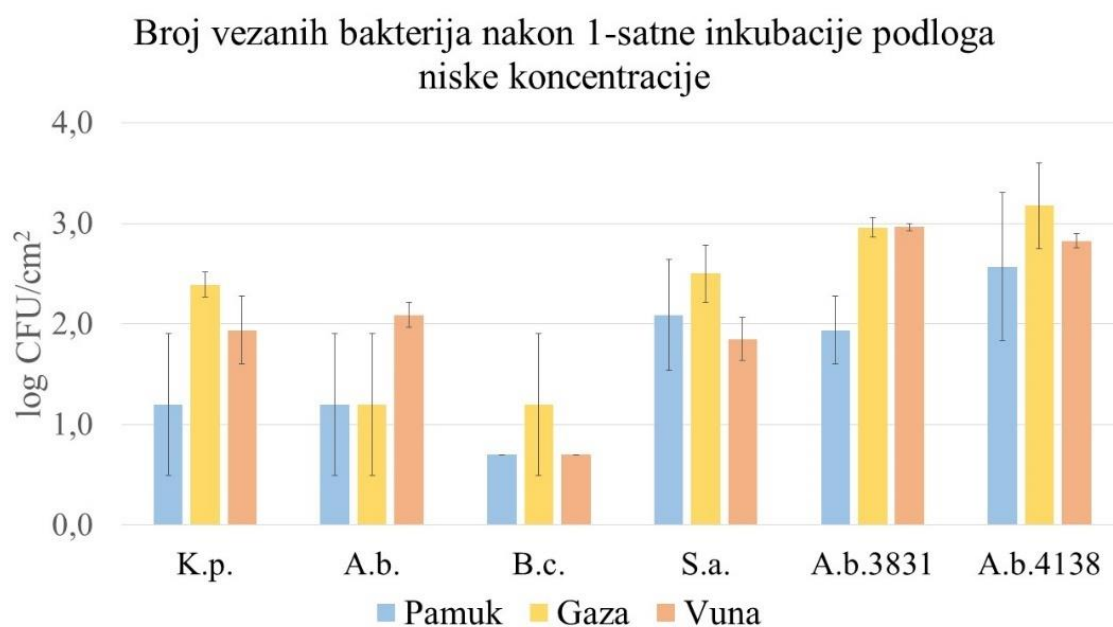
Slika 97. Broj vezanih bakterija na uzorcima različitih materijala nakon 24-satne inkubacije podloga visoke koncentracije za različite bakterije



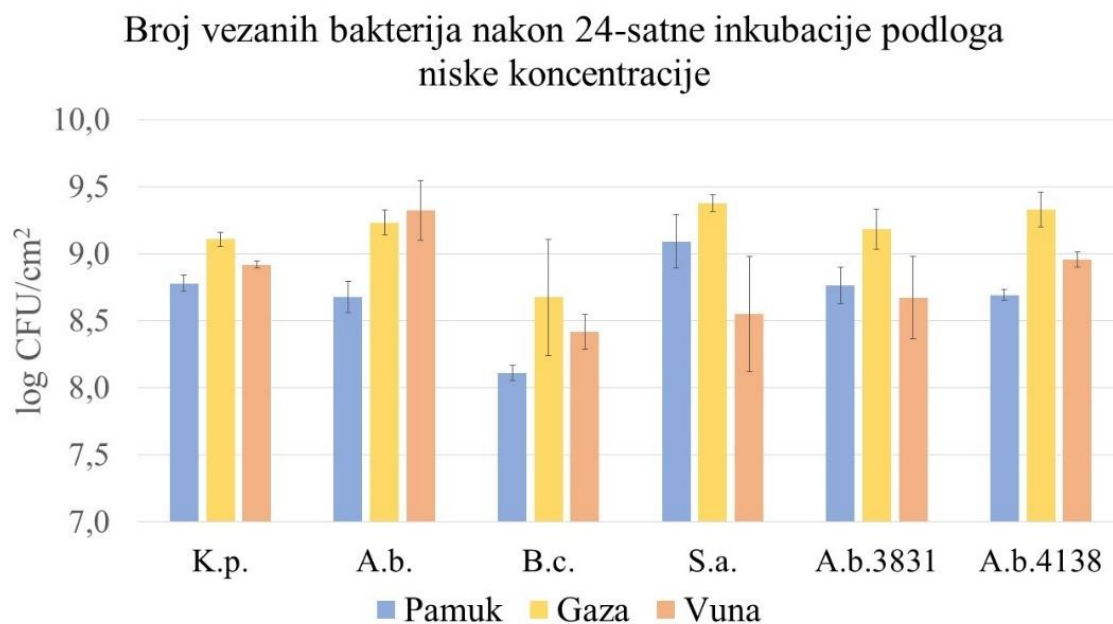
Slika 98. Razlika u broju vezanih bakterija između 1-satne i 24-satne inkubacije podloga visoke koncentracije za različite bakterije

Tablica 9. Koncentracije početnih suspenzija različitih bakterija za podloge niske koncentracije

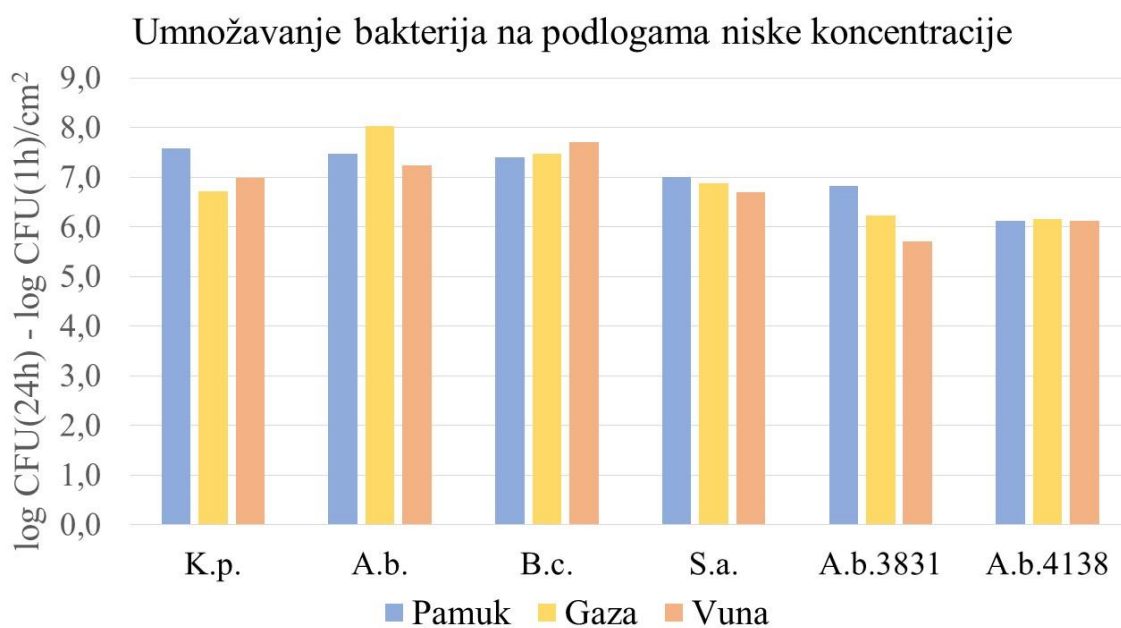
Koncentracija početnih bakterijskih suspenzija (CFU/mL)	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	Soj 3831, <i>A. baumannii</i>	Soj 4138, <i>A. baumannii</i>
Srednja vrijednost	9,65E+05	4,94E+06	7,60E+04	2,11E+06	2,47E+06	3,68E+06
Standardna devijacija	7,78E+04	5,08E+06	1,44E+04	1,57E+06	1,17E+06	4,08E+06



Slika 99. Broj vezanih bakterija na uzorcima različitih materijala nakon 1-satne inkubacije podloga niske koncentracije za različite bakterije



Slika 100. Broj vezanih bakterija na uzorcima različitih materijala nakon 24-satne inkubacije podloga niske koncentracije za različite bakterije



Slika 101. Razlika u broju vezanih bakterija između 1-satne i 24-satne inkubacije podloga niske koncentracije za različite bakterije

5. RASPRAVA

Vuna je testom difuzije u agaru pokazala dobra antibakterijska svojstva za bakterije *K. pneumoniae*, *B. cereus*, *A. baumannii* i patogene sojeve 3831 i 4138 bakterije *A. baumannii*. Samo kod bakterije *S. aureus* uzorci su imali dobru do nedovoljnu učinkovitost. Peran i sur. (2020.) su istim testom pokazali dobru antibakterijsku učinkovitost vune za bakterije *S. aureus* i *K. pneumoniae*. Za ostale testirane bakterije nisam pronašla podatke za ovu metodu u literaturi. Pamuk je za gram negativne bakterije *K. pneumoniae*, *A. baumannii* i patogene sojeve bakterije *A. baumannii* pokazao granični ili dobar učinak. Za gram pozitivne bakterije *S. aureus* i *B. cereus* je uglavnom pokazao nedovoljan i granični učinak. Perera (2013.) je istim testom pokazao da pamuk ne pokazuje antibakterijsku aktivnost za bakteriju *S. aureus* što se slaže s mojim rezultatima za tu bakteriju. Sterilna medicinska gaza je za sve testirane bakterije pokazala graničnu ili nedovoljnu antibakterijsku učinkovitost. U većini istraživanja testiraju se prirodni materijali koji su tretirani nekim antimikrobnim sredstvom i procjenjuje se njihova sigurnost tako da rezultate testa difuzije u agaru za netretiranu gazu nisam pronašla. Pozitivna kontrola Aquacel Ag pokazao je za sve testirane bakterije dobru antibakterijsku učinkovitost što je bilo očekivano jer je obogaćen ionima srebra koji sprječavaju rast bakterija. Ioni srebra se otpuštaju na hranjivu podlogu što uzrokuje stvaranje zone inhibicije što se vidi i u ovom istraživanju. Takve rezultate za test difuzije u agaru za bakteriju *S. aureus* dobio je i Yunoki (2015.), ispod uzoraka Aquacela Ag nije bilo bakterijskog rasta i uzorci su pokazivali zonu inhibicije. Antibakterijski uložak za cipele s aktivnim ugljenom pokazao je dobar učinak za bakterije *S. aureus* i *A. baumannii* dok je za bakterije *K. pneumoniae* i *B. cereus* pokazao dobar ili granični učinak. Gram negativne bakterije u usporedbi s gram pozitivnim bakterijama imaju složeniju i gušću strukturu stanične stijenke koja je sklonija oduprijeti se antibakterijskom djelovanju. U ovom istraživanju ta pretpostavka nije potvrđena jer je gram negativna bakterija *K. pneumoniae* pokazala jednak učinak kao i gram pozitivna bakterija *B. cereus*. Za svaku bakteriju testirano je više uzoraka istog materijala, a antibakterijska učinkovitost se znala razlikovati između tih uzoraka. Najčešće se radilo o graničnoj razlici, npr. neki uzorak je pokazao dobru učinkovitost dok je neki pokazao graničnu učinkovitost.

Kako bi provjerila antibakterijsku aktivnost koju je pokazao kvalitativni test difuzije u agaru, kvantitativno sam određivala i broj vezanih bakterija nakon 1-satne i 24-satne inkubacije za uzorke pamuka, gaze i vune.

Bakterije imaju sposobnost da prijanjaju na površinu različitih materijala što je pokazala i ova kvantitativna metoda. Testirani materijali su pokazali značajan broj vezanih bakterija nakon 1-satne inkubacije. Uzorci pamuka, gaze i vune postavljeni na podloge niske koncentracije nisu pokazali razliku u broju vezanih bakterija nakon 1-satne inkubacije za sve testirane bakterije osim za soj 3831, gaza i vuna pokazale su veći broj vezanih bakterija u odnosu na pamuk. Uzorci pamuka, gaze i vune na podlogama visoke koncentracije nisu pokazali razliku u broju vezanih bakterija nakon 1-satne inkubacije za bakterije *A. baumannii*, *S. aureus* i sojeve 3831 i 4138 bakterije *A. baumannii*. Gaza je pokazala više vezanih bakterija od pamuka i vune, a vuna jednako kao pamuk za bakteriju *K. pneumoniae* na podlogama visoke koncentracije. Također, gaza je pokazala više vezanih bakterija u odnosu na vunu i pamuk, a vuna više od pamuka za bakteriju *B. cereus* na podlogama visoke koncentracije. Broj vezanih bakterija na materijalima nakon 24-satne inkubacije pokazao je da su se bakterije nastavile umnožavati na svim materijalima. Pamuk, gaza i vuna su prirodni materijali koji u ovom istraživanju nisu tretirani. Prirodna vlakna sadrže proteine (keratin), celulozu i dr. koji mogu djelovati kao nutrijenti i izvori energije (Gao i Cranston, 2008.). Nakon 24-satne inkubacije gaza je za testirane bakterije pokazala veći ili jednak broj vezanih bakterija u odnosu na vunu, dok je vuna pokazala veći ili jednak broj vezanih bakterija u odnosu na pamuk.

Ono što je bitno je razlika između početnog i konačnog broja bakterija. Bakterije su se na svim testiranim materijalima nastavile umnožavati tijekom 24-satne inkubacije tj. nije došlo do redukcije rasta koji bi pokazao da neki materijal ima antibakterijski učinak. Uzorci koji su postavljeni i inkubirani na podlogama niske koncentracije vezali su manje bakterija u odnosu na uzorke s podloga visoke koncentracije. Uzorci koji su vezali manje bakterija kasnije su pokazali veće umnožavanje bakterija. Razlog tome je eksponencijalni rast bakterija s obzirom na kapacitet staništa i izvor hranjivih tvari. Manji broj vezanih bakterija na uzorku materijala površine 4 cm² znači više hranjivih tvari i veće stanište za njihovo umnožavanje.

Test difuzije u agaru pokazao je da za većinu testiranih bakterija vuna ima dobar antibakterijski učinak odnosno na podlogama ispod uzoraka vune bakterije nisu rasle, iznimka su samo podloge visoke koncentracije *S. aureus*. Gaza je za većinu bakterija pokazala graničnu ili nedovoljnu antibakterijsku učinkovitost odnosno blagi ili umjereni rast ispod uzoraka. S obzirom da bakterije imaju sposobnost vezanja na različite materijale moglo bi se pretpostaviti da bakterije bolje prijanjaju na vunu nego na gazu. Određivanjem broja vezanih bakterija na uzorcima materijala ta se pretpostavka nije potvrdila jer je u većini slučajeva gaza pokazala veći broj vezanih bakterija nakon 24-satne inkubacije. Antibakterijsko djelovanje vune

povezuje se sa strukturom njezina vlakna. Intrizično svojstvo vune je da ima hidrofilni korteks i hidrofobnu površinu što znači da je takva mikroklima na površini vlakna nepovoljna za razvoj bakterija (Caven i sur., 2018). Također, lojne žlijezde ovce izlučuju lanolin koji se nalazi na vuni, a smatra se da štiti kožu ovce od infekcije. Ovo istraživanje je pokazalo da vlakna vune nisu nepovoljna za rast bakterija. Uzorci vune između 1-satne i 24-satne inkubacije pokazali su znatno umnožavanje broja bakterija što pokazuje da je vuna pogodna za rast bakterija. U istraživanju provedenom 2007. (McQueen i sur.) pet žena je nosilo različite materijale, među kojima je bila i vuna. Rezultati su pokazali da se na vuni razvija najmanje neugodnih mirisa u odnosu na druge tekstilne materijale (pamuk i poliester). Razvoj neugodnih mirisa povezuje se s povećanim brojem bakterija na tom materijalu. Ljudsku kožu možemo usporediti s hranjivom podlogom jer su na njoj idealni uvjeti za rast bakterija, pogodna temperatura, vlažnost i izvor nutrijenata. Razvoj neugodnih mirisa na odjeći ovisit će o tome koliko bakterije s kože prijanjaju na nošene materijale i nastavljaju se umnožavati na njima. Za većinu testiranih bakterija nakon 1-satne inkubacije pamuk i vuna su pokazali jednak broj vezanih bakterija, samo je na podlogama visoke koncentracije bakterije *B. cereus* i niske koncentracije *K. pneumoniae* vuna pokazala više od pamuka.. Nakon 24-satne inkubacije vuna je pokazala veći ili jednak broj vezanih bakterija u odnosu na pamuk za sve testirane bakterije. Manji razvoj neugodnih mirisa na vuni ne možemo povezati s manjim brojem bakterija jer je ovo istraživanje pokazalo da ih je na vuni više ili jednako u odnosu na pamuk. Istraživanja provedena 2011. (Liu i sur.) i 2015. (Yu i sur.) pokazala su da je vuna dobar domaćin za razvoj mikroorganizama. Vuna s obzirom na građu vlakna ima jako dobru sposobnost primanja i otpuštanja vlage što se možda može povezati s manjim razvojem neugodnih mirisa na vuni u odnosu na pamuk.

6. ZAKLJUČAK

- Testom difuzije u agaru (ISO 20645:2004) za većinu testiranih bakterija određena je dobra antibakterijska aktivnost vune, iznimka su samo podloge visoke koncentracije bakterije *S. aureus*. Medicinska gaza je pokazala granični i nedovoljan antibakterijski učinak. Pamuk je za testirane bakterije najčešće pokazivao granični učinak, ali i nedovoljan ili dobar učinak. Vuna je u odnosu na ostale testirane prirodne materijale testom difuzije u agaru pokazala najbolja antibakterijska svojstva.
- Za većinu testiranih bakterija ne postoji značajna razlika u broju vezanih bakterija između vune, pamuka i gaze nakon 1-satnog kontakta. Nakon 24-satnog kontakta za većinu bakterija vuna je pokazala manji ili jednak broj vezanih bakterija u odnosu na gazu, a veći ili jednak u odnosu na pamuk.

Površina vune omogućava jako dobro prianjanje bakterija, ali se bakterije nastavljaju na njoj značajno umnožavati. Antibakterijski učinak je stoga rezultat čvrstog vezanja bakterija na vlakna vune, čime se smanjuje prisutnost bakterija na hranjivoj podlozi ispod vunenog uzorka.

7. LITERATURA

1. Abdel-Fattah S.H., El-Khatib E.M. (2012.) Wool Fabrics with Antibacterial Properties. National Research Centre, Textile research division, 16, 42-48.
2. Alsan M., Klompas M. (2010.) *Acinetobacter baumannii*: An Emerging and Important Pathogen. *Journal of clinical outcomes management*, 17, 27-35.
3. Caven B., Redl B., Bechtold T. (2018) An investigation into the possible antibacterial properties of wool fibers. *Textile Research Journal*, 0(00), 1-7.
4. Cook J.G. (2001.) *Handbook of textile fibers, Vo.1: Natural fibres*. Woodhead Publishing Limited, 2, 91-102.
5. Čunko R., Andrassy M. (2005) *Vlakna*. *Zrinski*, 16, 138-153.
6. Erlač I., Lutkić A., Soljačić I. (1996.) Rast, sastav i građa vune. *Tekstil*, 45, 133-141.
7. Feughelman M. (1997.) *Mechanical properties and structure of alpha – keratin fibers*. *Wales Press*, 67, 3-6.
8. Gao Y., Cranston R. (2008) Recent advances in antimicrobial treatments of textiles. *Textile research journal*, 78, 60-72.
9. Hana S., Yanga Y. (2005) Antimicrobial activity of wool fabric treated with curcumin. *Dye Pigment*, 64, 157-161.
10. Hee Y.K., Jong H.K., Soon C.K., Sung H.J. (2006.) A study on multifunctional wool textiles treated with nano-sized silver. *J Mater Sci*, 42, 8020-8024.
11. Hipler U.C., Elsner P. (2006.) Biofunctional textiles and the skin. *Krager*, 33, 9-10.

12. Hsieh T.L. (2007.) Chemical structure and properties of cotton. University of California, 3-4.
13. ISO 20645:2004 Textile fabrics – Determination of antibacterial activity – Agar diffusion plate test
14. Jin C., Jiang Y., Niu T., Huang J. (2012) Cellulose-based material with amphiphobicity to inhibit bacterial adhesion by surface modification. *Journal of materials chemistry*, 22, 12562-12567.
15. Katsumi N., Shinobu W., Kaoru I. (2001.) Adsorption effect of activated charcoal on enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Journal of Veterinary Medical Science*, 63, 1-5.
16. Koca O., Altoparlak U., Ayyildiz A., Kaynar H. (2012.) Persistence of Nosocomial Pathogens on Various Fabrics. *The Eurasian Journal of Medicine*, 44, 28-31.
17. Lewis D.M. (1992.) *Wool Dyeing*. Society of dyers and colorists, 13, 372.
18. Liu X., Lin T., Peng B. (2011.) Antibacterial activity of capsaicin-coated wool fabrics. *Textile Research Journal*, 82, 584-590.
19. McQueen R.H., Laing R.M., Brooks H.J.L., Niven B.E. (2007) Odor intensity in apparel fabrics and the link with bacterial populations. *Textile Research Journal*, 77, 449-456.
20. Mioč B., Sušić V., Pavić V., Barać Z., Prpić Z. (2006.) Priprema ovaca za strižu, striža i postupci s vunom do transporta. *Stočarstvo*, 60, 129-141.
21. Mitchell A., Spencer M., Edmiston Jr. C. (2015.) Role of healthcare apparel and other healthcare textiles in the transmission of pathogens: a review of the literature. *Journal of Hospital Infection*, 90, 1-8.
22. Pollini M., Paladini F., Licciulli A., Maffezzoli A., Nicolais L., Sannino A. (2011.) Silver-Coated Wool Yarns with Durable Antibacterial Properties. *Journal of Applied Polymer science*, 125, 2239-2244.

23. Pekhtasheva E., Neverov A., Kubica S., Zaikov G. (2012.) Biodegradation and biodeterioration of some natural polymers. *Chemistry & chemical technology*, 6, 263-280.
24. Peran J., Ercegović Ražić S., Sutlović A., Ivanković T., Glogar M.I. (2020.) Oxygen plasma pretreatment improves dyeing and antimicrobial properties of wool fabric dyed with natural extract from pomegranate peel. *Coloration technology*, 136, 177-187.
25. Pinho E., Magalhaes L., Henriques M., Oliveira R. (2010.) Antimicrobial activity assessment of textiles: standard methods comparison. *Annals of microbiology*, 61, 493-498.
26. Roth R.R., James W.D. (1988) Microbial ecology of the skin. *Annual Review Microbiology*, 42, 441-464.
27. Ristić T., Fras Zemljić L., Novak M., Kralj Kunčić M., Sonjak M., Gunde Cimerman N., Strnad S. (2011.) Antimicrobial efficiency of functionalized cellulose fibres as potential medical textiles. Mendez-Vilas A. (ed) *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. Formatex research center, 36-51.
28. Teufel L., Redl B. (2006) Improved methods for the investigation of the interaction between textiles and microorganisms. *Lenzinger berichte*, 85, 54-60.
29. Yu D., Tian W., Li Y. (2015.) Preparation of silver-plated wool fabrics with antibacterial and anti-mould properties. *Mater Lett*, 151, 1-4.
30. Yunoki S., Masushi K., Yoshimi O., Tetsuji I. (2015.) In vitro parallel evaluation of antibacterial activity and cytotoxicity of commercially available silver-containing wound dressings. *Chronic Wound Care Management and research*, 2, 1-2.

<http://www.dzs.hr>

<http://www.scienceimage.csiro.au>

<http://www.iso.org>

<https://www.hzjz.hr/>

<https://www.iwto.org>

8. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI:

Ime i prezime: Antonija Rajič

Datum i mjesto rođenja: 31.08.1992., Požega, Hrvatska

E-mail adresa: arajic@stud.biol.pmf.hr

OBRAZOVANJE:

2007.-2011. Opća Gimnazija Požega

2011.-2020. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno – matematički fakultet, Biološki odsjek, integrirani preddiplomski i diplomski sveučilišni studij Biologija i kemija

VJEŠTINE:

Poznavanje jezika: engleski

Kompjuterski programi. MS Office

Vozačka dozvola: B kategorija