



Metodický postup sledovania
dekontaminačného účinku
nízkotepelnej ADRE plazmy na
modelových vzorkách mäkkého
polyvinylchloridu (PVC-P) pre
mikroorganizmus *Aspergillus niger*.

DOMINIKA SMATANOVÁ, RADKO TIŇO,
BARBORA KALIŇÁKOVÁ

Metodický postup sledovania dekontaminačného účinku nízкотеплотnej ADRE plazmy na modelových vzorkách mäčkého polyvinylchloridu (PVC-P) pre vláknitú hubu *Aspergillus niger*.

Cieľom práce bolo zistiť dekontaminačný účinok nízкотеплотnej ADRE plazmy (NTP) na vzorkách mäčkého polyvinylchloridu (PVC-P) kontaminovaných vláknitou hubou *Aspergillus niger*. NTP sa považuje za rýchlu, bezpečnú a efektívnu sterilizačnú metódu vhodnú aj pre citlivé materiály ako sú plasty, ktoré sú prítomné v súčasnom a modernom umení. Má potenciál nahradiť konvenčné sterilizačné a dekontaminačné metódy práve tam, kde dochádza k poškodeniu materiálov. Na základe predchádzajúcich výsledkov sa ukázalo, že ADRE plazma za použitia vlhčeného vzduchu ako plazmotvorného plynu nedegraduje PVC-P. Kontaminované modelové vzorky PVC-P historickej receptúry (obsah 40 % hm. dioktylfталátu ako zmäččovadla, 3,8 % hm. tepelných stabilizátorov stearanu zinočnatého a vápenatého) boli vystavené účinku ADRE plazmy pri piatich rôznych časoch expozície na sledovanie dekontaminačného účinku. Výsledky ukázali, že došlo k dekontaminačnému účinku 98%. Potvrďilo sa, že s časom expozície rastie dekontaminačný účinok NTP.

Postup stanovenia dekontaminačného účinku ADRE plazmy:

1. Modelové vzorky PVC-P boli narezané na rozmer 2,5 x 2,5 cm a sterilizované 15 minút v 70 % roztoku etanolu a prepláchnuté sterilnou deionizovanou vodou. Následne boli sušené a skladované v sterilných Petriho miskách. Takýto postup odstránil pôvodnú kontamináciu PVC-P vzoriek.
2. Polystyrénové Petriho misky s MEA agarom, na ktorom bol kultivovaný *Aspergillus niger*, boli zaliate dostatočným množstvom sterilnej vody s 0,1% povrchovo aktívnym prostriedkom Tweenom 80. Konídie vláknitej huby boli uvoľňované pomocou plastovej „hokejky.“ Suspenzia bola odpipetovaná do kónickej skúmavky. Celá suspenzia bola premiešaná vo vortexe.
3. Natmavo zafarbená suspenzia bola odpipetovaná do striekačky s filtrom s nylonovou sieťkou na oddelenie zvyšku agaru a hýfov. Výsledná suspenzia bola štandardizovaná: koncentrácia spór bola počítaná pomocou Bürkerovej mriežky.
4. Takisto sa sledovala viabilita spór suspenzie – zisťovala sa koncentrácia tzv. kolóniotvorných jednotiek (KTJ).
5. Takáto zriedená suspenzia bola následne napipetovaná v množstve 100 µl na povrch PVC-P vzoriek približne v usporiadaní mriežky 4x4 kvapky, tak aby celkový počet spór vyšiel približne 10⁴.
6. Takéto vzorky sa dali na noc sušiť do sušiarne pri teplote 35°C. Následne boli vystavené NTP v triplikátoch, pričom celkovo bolo pripravených 18 vzoriek.

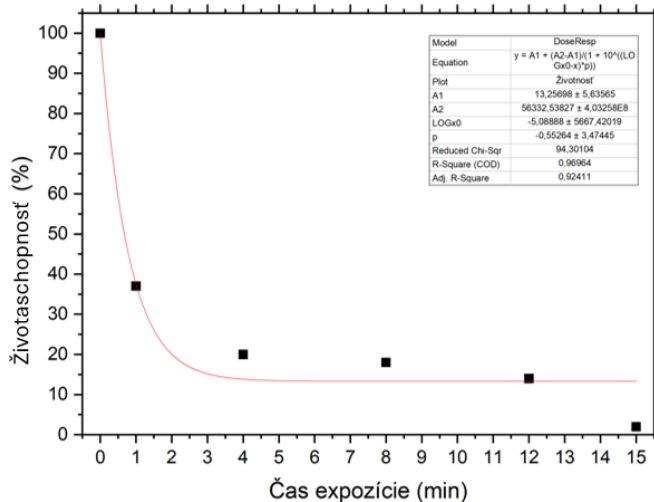
Rozpis experimentu je v tabuľke 1:

Tab. 1: Rozpis experimentu sledujúceho dekontaminačný účinok spór *Aspergillus niger* na modelových vzorkách PVC-P.

Označenie vzorky	Čas expozície [min]	Energia [J/s]	Frekvencia [Hz]
0_A, 0_B, 0_C	0	0	0
1_A, 1_B, 1_C	1	0,67	1250
4_A, 4_B, 4_C	3:50	0,67	1250
8_A, 8_B, 8_C	8	0,67	1250
12_A, 12_B, 12_C	12:10	0,67	1250
15_A, 15_B, 15_C	15	0,67	1250

7. Na začiatku bola plazmová komora samostatne plazmovaná na sterilizáciu povrchu. Potom boli vzorky prenesené do komory pomocou sterilnej pinzety (sterilizovaná v plameni) a vystavené podmienkam podľa Tab. 1.
8. Tieto plazme vystavené vzorky boli potom prenesené do malej sterilnej polystyrénovej Petriho misky s 1 ml roztoku sterilnej vody s Tweenom 80 na zmytie spór z povrchu PVC-P. Tieto vzorky boli pretrepávané po dobu 1 h.

9. Po dokončení pretrepávania bolo odpipetovaných 100 µl pôvodnej zmytej suspenzie (10⁰) a zároveň sa pripravili 10x a 100x zriedené suspenzie, ktoré sa preniesli na polystyrénové Petriho misky s MEA agarom a boli rozotrené plastovou hokejkou po jeho ploche.
10. Po 5 dňoch sa spočítali KTJ a z vypočítaného priemeru sa zostrojila krivka viability (graf 1).



$$y = A1 + \frac{A2 - A1}{1 + 10^{(LOGx0 - x)p}}$$

Graf 1: Krivka viability pre *Aspergillus niger* zostrojená na základe počtu KTJ v závislosti od času expozície.

Výsledok:

Pri dekontaminácii spór *Aspergillus niger* na PVC-P sa dosiahla dekontaminačná účinnosť 98 %. Na základe predchádzajúcich výskumov, ktoré potvrdili, že ADRE plazma nepoškodzuje PVC-P, môžeme vyhodnotiť, že táto metóda má potenciál byť aplikovateľná v oblasti ochrany súčasného a moderného umenia.

Analogický postup je možné použiť aj na sledovanie dekontaminačného/sterilizačného účinku ADRE plazmy na iné mikroorganizmy (vláknité huby, plesne a/alebo baktérie) a iné polymérne substráty, s prihliadnutím na špecifiká jednotlivých mikroorganizmov a ich individuálne požiadavky/nároky na kultiváciu na živných médiách. Po realizácii obdobných testov bude možné presne vyšpecifikovať bezpečné podmienky sterilizačného účinku ADRE plazmy na jednotlivé materiálové skupiny a pre najvýznamnejšie mikroorganizmy.