

*Justyna Syguła-Cholewińska*

*Jadwiga Szostak-Kot*

*Barbara Błyskal*

*Tomasz Sawoszczuk*

*Tomasz Lech*

Katedra Mikrobiologii

Uniwersytet Ekonomiczny w Krakowie

## Wykorzystanie metody manualnej i instrumentalnej w ilościowej ocenie bakterii przeżywających w tkaninach po procesie prania

### Streszczenie

Ocena efektywności procesu prania wymaga sprawdzenia czystości mikrobiologicznej. Nie ma jednoznacznie ustalonych sposobów wyznaczania liczby drobnoustrojów pozostających w tkaninach po praniu. Celem badań było określenie liczby bakterii przeżywających proces prania w zabrudzonych krwią tkaninach. Próbkę tkaniny bawełnianej zaszczipiano trzema gatunkami bakterii, poddawano procesowi prania modelowego, a następnie wyekstrahowane z tkanin drobnoustroje hodowano i zliczano z wykorzystaniem metody manualnej i instrumentalnej. Wykazano, że pranie zainfekowanych tkanin powoduje obniżenie liczby wszystkich badanych gatunków bakterii. Jednakże dwa z badanych szczepów, tj. *Staphylococcus aureus* i *Bacillus cereus* przeżywały w dużej liczbie w kąpielach piorących, co może potencjalnie prowadzić do przenoszenia zakażenia pomiędzy tkaninami. Metoda instrumentalna sprawdza się przy zliczaniu do 500 kolonii bakterii, dodatkowo skraca całkowity czas prowadzenia badań.

**Słowa kluczowe:** pranie, bakterie, zliczanie kolonii, zabrudzenia krwawe, tkaniny.

## **1. Wprowadzenie**

Higiena tkanin jest bardzo istotna z punktu widzenia osób zatrudnionych w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym czy kosmetycznym, jak również pracowników i pacjentów szpitali, hospicjów i domów opieki społecznej. Tekstylia mogą być bowiem źródłem mikroorganizmów, w tym chorobotwórczych, pochodzących bezpośrednio od człowieka lub z jego płynów ustrojowych, z powietrza, powierzchni sprzętów itp. Usuwanie mikroorganizmów z wyrobów tekstylnych zachodzi w procesie prania, jednakże nie każdy sposób prania zapewnia ten efekt [Wiksell, Pickett i Hartman 1973, Neely i Maley 2000, Fijan, Cencič i Šostar-Turk 2006]. W poszczególnych sektorach wprowadza się pranie przemysłowe, szpitalne czy komercyjne, a jednocześnie każdy ma do czynienia z praniem domowym. Ocena efektywności tych procesów wymaga m.in. sprawdzenia czystości mikrobiologicznej po ich przeprowadzeniu. Nie ma jednoznacznie ustalonych sposobów oznaczania liczby drobnoustrojów pozostających w tkaninach po praniu. Najczęściej oceny dokonuje się metodami spektrofotometrycznymi z zastosowaniem fluorochromów lub metodami hodowlanymi. Te ostatnie, mimo powszechnego stosowania, wymagają dopracowania.

## **2. Czynniki wpływające na eliminację bakterii w procesie prania**

Na proces prania mają wpływ cztery główne czynniki, które wchodzi z sobą w interakcję. Zgodnie z kołem Sinnera czynniki te to [Davis i Ainsworth 1989, Kurz 2003, Lee i in. 2008]: akcja mechaniczna, temperatura, czas, stężenie zastosowanego środka piorącego. Zapewniają one optymalne usuwanie zabrudzeń i najwyższą wydajność procesu. Jeśli jeden z czynników ulega redukcji udział pozostałych musi zostać zwiększony, aby zachować tę samą efektywność prania, w tym efekt dezynfekcyjny. Obserwowane obecnie tendencje w obniżaniu temperatury prania powinny zatem prowadzić do zastosowania większej ilości środka piorącego bądź środka o specjalnym składzie oraz wydłużenia czasu procesu. W większości procedur prania, zwłaszcza w praniu domowym, nie jest to jednak łatwe do osiągnięcia z jednej strony z powodu ograniczeń technicznych (stałe opcje w oprogramowaniu pralek, stałe reżimy czasowe) z drugiej strony ze względu na niską świadomość konsumenta o konieczności takich zmian.

Kolejnym czynnikiem wpływającym w istotny sposób na końcowy efekt prania są zabrudzenia występujące na tkaninach. W przypadku określania skuteczności procesu prania bierze się pod uwagę rodzaj zabrudzenia (jednorodne czy mieszane) oraz stopień zabrudzenia tkanin, występujący po przeprowadzonym procesie [Carthy 1993]. Powszechnie wyróżniamy kilka rodzajów zabrudzeń:

rozpuszczalne w wodzie, olejowe (tłuszcze, oleje), pigmentowe, białkowe, takie jak krew stosowana w prezentowanych badaniach, inkrustacyjne i inne.

### ***Środki piorące***

Środki piorące stosowane do prania zawierają różnorodne grupy składników, z których każda ma spełniać odpowiednią funkcję. Podstawowym komponentem proszków są środki powierzchniowo czynne (detergenty anionowe i niejonowe, mydła), które mają za zadanie usunąć wszelkiego rodzaju zabrudzenia z tkanin i przeprowadzić je do roztworu kąpeli piorącej. Eliminacja zanieczyszczeń wspomagana jest także przez aktywne wypełniacze oraz enzymy, głównie proteazy i lipazy.

Wśród składników środka piorącego zasadniczą rolę w zapewnieniu efektu higienicznego prania odgrywają wybielacze chemiczne o aktywności utleniającej. Pod względem sposobu działania wybielacze można zakwalifikować do dwóch grup: wybielacze nadtlenowe i chlorowe. W przypadku tych pierwszych ich działanie związane jest z wytworzeniem reaktywnych form tlenu, które wchodząc w reakcje z wieloma biocząsteczkami występującymi w komórce mikroorganizmu, takimi jak: białka, kwasy nukleinowe, lipidy, powodują ich dysfunkcję, destabilizację struktur komórkowych i w konsekwencji prowadzą do śmierci mikroorganizmów [Bartosz 2004]. Chlorowe wybielacze wykazują skuteczne działanie przeciwdrobnoustrojowe zarówno względem form wegetatywnych, jak i przetrwalników. Zaletą tych związków jest ich wysoka skuteczność w małych stężeniach przy prowadzeniu prania w niskich temperaturach, tj. poniżej 60° C, czego nie obserwuje się w przypadku wybielaczy nadtlenowych. W wyniku prania odzieży w niższych temperaturach z zastosowaniem podchlorynu sodu uzyskuje się porównywalne efekty higieniczne jak przy dezaktywacji termicznej [Rutala i Weber 1997, Terpstra 1998, Scott i Bloomfield 1999]. Jednakże pomimo wysokiej skuteczności przeciwdrobnoustrojowej wybielacze chlorowe są obecnie systematycznie wycofywane w krajach Unii Europejskiej ze względów ekologicznych, a także ze względu na niszczący wpływ na włókno i powodowanie zażółceń.

### ***Czas procesu prania***

Czas trwania procesu prania jest odwrotnie proporcjonalny do stężenia środków piorących i akcji mechanicznej. Wiadomo, że odpowiednia interakcja pomiędzy środkiem piorącym, a wyrobem w zadanej temperaturze procesu wymaga pewnego, skończonego okresu. W określonym czasie powstaje równowaga pomiędzy powierzchnią włókien, a kąpielą piorącą, która wpływa na oddzielanie się cząsteczek brudu i ich eliminację. Optymalizacja czasu prania wymaga uwzględnienia tych oddziaływań, a także dawki i rodzaju środków piorących oraz wzięcia pod uwagę aspektów ekonomicznych, jak np. zużycie energii. Przy obec-

ności enzymów w środkach piorących, wydłużanie czasu poszczególnych etapów prania, ze względu na charakter reakcji, nie wpływa na zwiększenie wydajności pralniczej [Milczyński 2002]. Ponadto wydłużony czas prania może powodować wtórne osadzanie się zabrudzeń lub barwników (pochodzących m.in. z zabrudzeń), co przyczynia się głównie do szarzenia pranych wyrobów. Z drugiej strony, zmniejszanie czasu procesu, zwłaszcza działania maksymalnej temperatury, może osłabić efekt higieniczny prania [Terpstra 1998, Terpstra i van Kessel 2005].

### ***Temperatura***

Temperatura procesu prania powinna być dobierana głównie do rodzaju pranych wyrobów. Ze względu na skład surowcowy, a więc charakter fizykochemiczny włókna, wyroby lniane i bawełniane mogą być poddawane praniu w wyższych temperaturach niż wyroby z włókien syntetycznych czy naturalnych pochodzenia zwierzęcego, jak wełna i jedwab. Również rodzaj wykończenia ma wpływ na wrażliwość wyrobu na temperaturę kąpieli piorącej [Perenich i Rhonda 1993]. Podwyższanie temperatury zwiększa energię kinetyczną jonów powierzchniowych, co ułatwia usuwanie zabrudzeń, a po osiągnięciu pewnych wartości, ma działanie dezynfekcyjne.

### ***Zabrudzenia***

Zabrudzenia odzieży krwią i innymi płynami ustrojowymi zwierząt, fragmentami tkanek, pyłem kostnym, skrzepami lub treścią przewodu pokarmowego, jakie występują np. podczas produkcji żywności, mogą stanowić bogate źródło substancji odżywczych dla mikroorganizmów. Podobnie drobiny surowców roślinnych (części łodyg, korzeni, liści, kwiatów) oraz substancje czynne, pozyskiwane w czasie ich ekstrakcji, wykorzystywane w produkcji kosmetyków czy farmaceutyków, osadzając się na tkaninach, tworzą sprzyjające środowisko do utrzymywania się potencjalnie patogennych drobnoustrojów. Należy zwrócić uwagę również na inne zanieczyszczenia organiczne np. pochodzące z gleby, które dotyczą tkanin używanych zwłaszcza podczas wstępnego oczyszczania surowców pochodzenia roślinnego. Zatem tekstylia zabrudzone związkami organicznymi stają się dogodnym miejscem bytowania mikroorganizmów, które mogą się na nich namnażać i przetrwać przez długi czas. Ważne zatem staje się określenie czy zabrudzenia organiczne występujące na tkaninach chronią mikroorganizmy przed ich usunięciem z wyrobu w trakcie prania. W przypadku nieefektywnej higienizacji wyrobu w procesie prania (np. przez dobór nieodpowiednich warunków lub przy silnym skażeniu wsadu) tekstylia stają się rezerwuarem drobnoustrojów, stanowiąc źródło skażenia, co może zagrozić bezpieczeństwu zdrowotnemu wytwarzanego produktu, pracowników i konsumentów.

Celem badań było określenie liczby bakterii, przeżywających proces prania w tkaninach zabrudzonych krwią, z wykorzystaniem metody manualnej i automatycznego licznika do zliczania kolonii bakteryjnych.

### 3. Materiały i metody badań

*Tkanina.* Badania prowadzono na tkaninie o 100% zawartości bawełny (wątek = osnowa), niepoddanej obróbce wykańczalniczej. Z materiału wycinano próbki o wymiarach  $5 \times 5$  cm, które poddawano sterylizacji w autoklawie. Na wyjąłowane kwadraty nanoszono następnie zabrudzenia z odwłóknionej krwi baraniej, zawierającej 65% osocza i 35% elementów morfotycznych. Próbki pozostawiano do wyschnięcia w temperaturze 22–25°C przez 24 godziny i dopiero wówczas zaszczepiano zawiesinami bakterii testowych [Szostak-Kot i in. 2011].

*Bakterie.* W badaniach wykorzystano trzy gatunki bakterii *Staphylococcus aureus* CBM1 (ATCC 25923), *Escherichia coli* CBM17 (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (BBP-3), z których przygotowywano zawiesiny w płynie fizjologicznym o gęstości  $6 \times 10^8$  CFU/ml (2 McF). Pomiarów gęstości zawiesiny bakterii dokonano na densytometrze DENSIMAT firmy bioMérieux [Jekiel, Szostak-Kot i Syguła-Cholewińska 2011].

*Inokulacja tkanin bakteriami.* Przygotowane zawiesiny bakterii nanoszono na próbki zabrudzonej tkaniny bawełnianej w ilości 1 ml na próbkę, a następnie inkubowano w temperaturze 22–25°C, połowę próbek przez 24 godziny, a pozostałe przez 7 dni [Syguła-Cholewińska, Szostak-Kot i Błyskal 2012]. Czas inkubacji został dobrany na podstawie wcześniejszych badań nad przeżywalnością bakterii prowadzonych na tkaninach niezabrudzonych i w obecności zabrudzeń krwawych [Szostak-Kot, Syguła-Cholewińska, Jekiel 2010, Szostak-Kot 2011].

Dla wszystkich badanych szczepów bakterii wykonywano posiew w sześciu powtórzeniach dla każdego z wyznaczonych kroków badawczych. Dwie próbki stanowiły próby kontrolne, dwie kolejne po okresie inkubacji były poddawane praniu zasadniczemu, a dwie następną pełnemu cyklowi prania.

*Proces prania modelowego.* Próbki zabrudzonej tkaniny zaszczepionej bakteriami po 24-godzinach od zainfekowania umieszczano pojedynczo w kolbach szklanych z roztworem kąpieli piorącej i poddawano procesowi prania modelowego. Kąpiel piorącą stanowił 0,5% roztwór standaryzowanego środka piorącego w wodzie destylowanej [PN ISO C01-05], a moduł kąpieli wynosił 1:50. Proces prania składał się z etapu prania zasadniczego i trzech płukań. Pranie zasadnicze prowadzono w temperaturze 40°C przez 12 minut, na wytrząsarce Elan typu 357, przy akcji mechanicznej  $50 \pm 2$  obrotów na minutę [Fijan, Šostar-Turk i Cencič 2005]. Po praniu zasadniczym część próbek tkanin przenoszono pojedynczo do

zlewek z jałową wodą destylowaną i poddawano trzykrotnemu płukaniu przez 3 minuty, dokonując ręcznego wstrząsania co 15 sekund [ISO 15797]. Po zakończonym procesie prania próbki tkanin przenoszono do kolb z jałowym płynem fizjologicznym i poddawano ekstrakcji. W analogiczny sposób przeprowadzono proces prania próbek tkaniny po 7 dniach inkubacji od zainfekowania.

Dla każdego testowanego gatunku mikroorganizmu liczbę bakterii określano:

- w ekstraktach pozyskanych z zabrudzonej tkaniny zaszczerpionej zawiesiną danej bakterii po 24 godzinach i 7 dniach inkubacji, niepoddanej praniu – próbki kontrolne,
- w ekstraktach z zabrudzonej tkaniny zainfekowanej i poddanej następnie praniu zasadniczemu po 24 godzinach i 7 dniach inkubacji,
- w ekstraktach z zabrudzonej tkaniny zainfekowanej i poddanej pełnemu cyklowi prania, tj. praniu zasadniczemu z trzema etapami płukania, po 24 godzinach i 7 dniach inkubacji.

Dodatkowo, analizy przeprowadzono w:

- kąpieli piorącej pozostającej po wypraniu tkaniny,
- wodzie po ostatnim płukaniu.

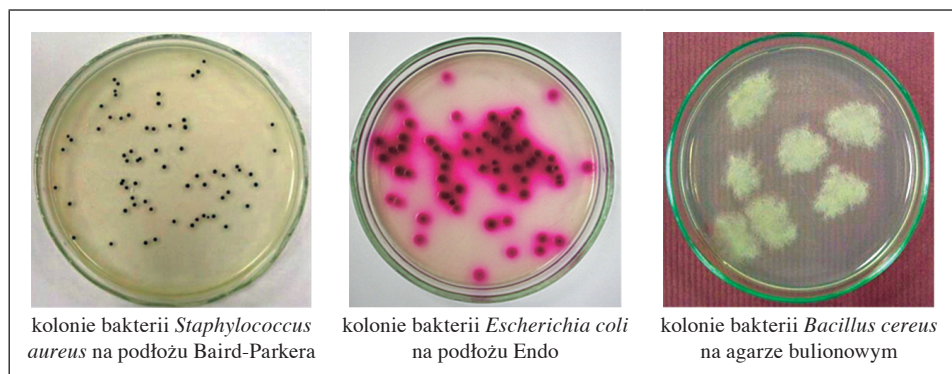
*Ekstrakcja drobnoustrojów z tkaniny.* Ekstrakcję bakterii pozostających na zabrudzonej tkaninie po praniu i na próbkach kontrolnych przeprowadzono na wytrząsarce typu Elan 357, przez 6 minut przy 250 rpm, zgodnie z procedurą opracowaną na podstawie wyników poprzednich doświadczeń [Syguła-Cholewińska, Szostak-Kot i Błyskal 2012]. Z otrzymanych ekstraktów tkanin, kąpieli piorących pozostających po praniu zabrudzonych, zaszczerpionych bakteriami próbek tkaniny i wody po ostatnim płukaniu próbek sporządzano dziesięciokrotne seryjne rozcieńczenia. Uzyskane rozcieńczenia wysiewano na podłoża hodowlane metodą wysiewu powierzchniowego. Ponadto próbki tkanin po ekstrakcji umieszczano na podłożach hodowlanych w celu zaobserwowania wzrostu bakterii, które pozostały na zabrudzonej tkaninie po procesie prania i ekstrakcji.

*Oznaczanie liczby drobnoustrojów metodą hodowlaną.* Hodowle prowadzono w temperaturze  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$  przez 24 godziny na podłożach selektywnych. Bakterie *Escherichia coli* hodowano na agarze Endo, *Staphylococcus aureus* na podłożu Baird-Parkera, a bakterie *Bacillus cereus* na podłożu ogólnym do hodowli bakterii – agarze bulionowym [Atlas 1997]. Po hodowli zliczano wyrosłe na pożywkach, charakterystyczne dla danej bakterii kolonie widoczne na fot. 1.

Zliczanie kolonii prowadzono dwoma sposobami:

- metodą manualną,
- metodą instrumentalną z zastosowaniem automatycznego licznika kolonii i oprogramowania komputerowego Easy Count 2 model 7510/AES AES CHEMUNEX (rys. 2).





Fot.1. Charakterystyczny wzrost bakterii na podłożach hodowlanych

Źródło: opracowanie własne.



Fot. 2. Automacyjny licznik kolonii z oprogramowaniem komputerowym Easy Count 2 model 7510/AES AES CHEMUNEX

Źródło: opracowanie własne.

W metodzie manualnej zliczania dokonuje bezpośrednio obserwator, zaznaczając znacznikiem policzone kolonie, natomiast aparat do liczenia kolonii z oprogramowaniem komputerowym Easy Count 2 model 7510/AES AES CHEMUNEX posiada dwie opcje zliczania „Click and Count” i „Supercount”. Po wprowadzeniu danych na temat próbki (nazwy, krotności rozcieńczenia) oraz po wyborze progu czułości kamery i zaznaczeniu obszaru zliczania, w pierwszej z opcji aparat zlicza kolonie po zadaniu polecenia „zlicz”. W drugiej z opcji „Supercount” po samodzielnym zliczeniu kolonii przez aparat istnieje możliwość weryfikacji wyników przez obserwatora poprzez wskazanie kursorem dodatkowych, niezarejestrowanych automatycznie kolonii. Dodatkowo w pomiarach dokonywanych automatycznie po zliczeniu kolonii i wprowadzeniu danych o krotności rozcieńczenia danej próbki oprogramowanie wyznacza liczby badanych bakterii z uwzględnieniem poprawki statystycznej, zawierającej w sobie błędy zliczeniowe aparatu.

## 4. Wyniki badań

### 4.1. Oznaczenie liczby kolonii bakterii dla zabrudzonej tkaniny poddanej praniu 24 godziny od zainfekowania

W celu sprawdzenia przeżywalności bakterii w zabrudzonych tkaninach w procesie prania określono liczbę kolonii badanych bakterii w ekstraktach z tkanin po kolejnych etapach prania oraz w pozostających po wypraniu tkanin kąpielach piorących i wodzie po płukaniu.

Tabela 1. Liczba kolonii *Staphylococcus aureus* dla zabrudzonej krwią tkaniny niepoddanej i poddanej praniu po 24 godzinach od zainfekowania

Tkanina	Rozcieńczenia 1 ml ekstraktów z tkanin					
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
Zliczanie manualne						
Próba kontrolna 1	w.j.	>1000	>300	80	9	1
Próba kontrolna 2	w.j.	>1000	>300	103	10	0
Tkanina po praniu zasadniczym 1	>300	>300	37	3	0	0
Tkanina po praniu zasadniczym 2	>300	91	15	1	0	0
Kąpiel piorąca 1	w.j.	>300	>300	141	10	1
Kąpiel piorąca 2	w.j.	>300	140	8	2	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 1	22	0	0	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 2	4	0	5	1	0	0
Woda po płukaniu 1	3	0	0	0	0	0
Woda po płukaniu 2	42	10	0	0	0	0
Zliczanie instrumentalne						
Próba kontrolna 1	1832	1497	908	79	9	1
Próba kontrolna 2	1746	1350	687	97	10	0
Tkanina po praniu zasadniczym 1	1566	522	32	3	0	0
Tkanina po praniu zasadniczym 2	739	89	16	1	0	0
Kąpiel piorąca 1	1235	1753	896	141	10	1
Kąpiel piorąca 2	1811	818	176	22	3	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 1	21	0	0	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 2	5	2	0	0	0	0
Woda po płukaniu 1	4	0	0	0	0	0
Woda po płukaniu 2	51	9	0	0	0	0

Objaśnienie: w.j. – wzrost jednolity na całej powierzchni płytki

Źródło: opracowanie własne.



Aby określić przeżywalność bakterii *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Bacillus cereus*, wyrosłe na pożywkach kolonie bakterii zliczano dwoma metodami, a uzyskane wyniki w dwóch powtórzeniach, opisane jako próbka 1 i 2, zamieszczono w tabelach. Próbki zabrudzonej tkaniny 1 i 2 zaszczepiano tym samym gatunkiem bakterii, ale poddawano oddzielnie ekstrakcji i praniu. Wyniki zliczeń kolonii bakterii *Staphylococcus aureus* zebrano w tabeli 1, bakterii *Escherichia coli* – w tabeli 2, a *Bacillus cereus* – w tabeli 3.

Jak wynika z tabeli 1, bakteria *Staphylococcus aureus* charakteryzowała się dobrą przeżywalnością w zabrudzonych krwią tkaninach po 24 godzinach od zainfekowania, o czym świadczy intensywny, niepoliczalny manualnie, wzrost tej bakterii na podłożach po hodowli dla rozcieńczeń  $10^{-1}$ – $10^{-3}$  ml. W przypadku pozostałych rozcieńczeń liczba kolonii pomiędzy próbą kontrolną 1 i 2 była policzalna i porównywalna, zarówno w zliczaniu manualnym, jak i instrumentalnym.

Po praniu zasadniczym tkaniny zainfekowanej *Staphylococcus aureus* liczba bakterii w niej pozostających uległa zredukowaniu. Obecność na poziomie kilkudziesięciu kolonii zarejestrowano w hodowlach z początkowych rozcieńczeń, tj.  $10^{-2}$  i  $10^{-3}$  ml ekstraktów. Obserwowano również pewne różnice w określaniu liczby kolonii techniką instrumentalną a zliczaniem manualnym. Znaczny udział gronkowca stwierdzono w kąpielach piorących, do których bakterie były wypłukiwane w etapie prania zasadniczego. Liczba kolonii wyznaczona z próbek kąpeli piorących była porównywalna do kontrolnych, pomimo obecnego w nich środka piorącego, który mógł hamować wzrost mikroorganizmów. Ponadto wykazano różnice ilościowe pomiędzy obiema próbkami (1 i 2) tkanin po praniu. W przypadku próbki 1 odzyskano więcej bakterii zarówno z ekstraktu z tkaniny, jak i z kąpeli, w której tę próbkę prano. W przypadku zabrudzonej krwią tkaniny poddanej pełnemu cyklowi prania można było zaobserwować radykalne zmniejszenie liczby wyhodowanych bakterii w porównaniu z pozostałymi próbkami tkaniny zainfekowanej *Staphylococcus aureus*. Nieliczne kolonie stwierdzono zarówno w przypadku ekstraktów z wypranej tkaniny, jak i wody po ostatnim płukaniu.

Należy zaznaczyć, że wyekstrahowane próbki tkaniny kontrolnej, jak również po praniu zasadniczym i tej po pełnym cyklu prania, umieszczano na podłożach hodowlanych w celu sprawdzenia obecności bakterii *Staphylococcus aureus* pozostających w tkaninie, pomimo przeprowadzenia ekstrakcji. Na wszystkich próbkach stwierdzono silny wzrost bakterii, dobrze widoczny zwłaszcza w miejscach przylegania próbek do podłoża. Wydaje się więc, że mniejsza liczba bakterii w analizowanych roztworach wynika głównie ze słabszego ich wypłukiwania z zabrudzonych krwią tkanin, a nie ze skutecznej eliminacji gronkowca w procesie prania.

Tabela 2. Liczba kolonii *Escherichia coli* dla zabrudzonej krwią tkaniny niepoddanej i poddanej praniu po 24 godzinach od zainfekowania

Tkanina	Rozcieńczenia 1 ml ekstraktów z tkanin					
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
Zliczanie manualne						
Próba kontrolna 1	>300	>300	>300	104	22	2
Próba kontrolna 2	>300	>300	>300	125	21	0
Tkanina po praniu zasadniczym 1	>300	65	7	1	0	0
Tkanina po praniu zasadniczym 2	>300	34	6	0	0	0
Kąpiel piorąca 1	211	27	4	0	0	0
Kąpiel piorąca 2	125	12	1	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 1	416	33	5	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 2	48	13	0	1	0	0
Woda po płukaniu 1	85	15	0	0	0	0
Woda po płukaniu 2	308	37	0	1	0	0
Zliczanie instrumentalne						
Próba kontrolna 1	1608	1275	518	100	21	2
Próba kontrolna 2	1121	1204	537	125	21	0
Tkanina po praniu zasadniczym 1	466	68	7	1	0	0
Tkanina po praniu zasadniczym 2	340	34	6	0	0	0
Kąpiel piorąca 1	201	27	6	0	0	0
Kąpiel piorąca 2	110	14	0	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 1	(.) <sup>a</sup>	34	5	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 2	49	14	0	0	0	0
Woda po płukaniu 1	90	13	0	0	0	0
Woda po płukaniu 2	259	29	0	1	0	0

<sup>a</sup> wzrost miejscowy w postaci kolonii zlewających się, brak możliwości interpretacji

Źródło: opracowanie własne.

W porównaniu ze *Staphylococcus aureus* wzrost drugiego z badanych gatunków bakterii, tj. *Escherichia coli*, widoczny w hodowlach prowadzonych po ekstrakcji z zabrudzonych próbek kontrolnych tkaniny po 24 godzinach od zainfekowania był bardziej intensywny (por. tabela 1 i 2). Policzalną liczbę kolonii obserwowano dopiero w przypadku rozcieńczeń 10<sup>-4</sup> i 10<sup>-5</sup> ml ekstraktów dla obu próbek 1 i 2 (tabela 2), utrzymującą się na porównywalnym poziomie przy obu sposobach zliczeń. Podobną tendencję obserwowano w badaniach tkanin niezabrudzonych [Szostak-Kot, Syguła-Cholewińska, Jekiel 2009], pomimo że obie bakterie zostały posiane na tkaniny przy zastosowaniu zawiesin o takiej

samej gęstości. Po przeprowadzeniu prania zasadniczego obserwowano znaczące ograniczenie liczby przeżywających bakterii *Escherichia coli* zarówno w hodowlach ekstraktów z wypranych tkanin, jak i kąpielach piorących. W ekstraktach z tkanin bakterie były wykrywane głównie w pierwszych trzech rozcieńczeniach. Podobnie jak w przypadku prania zasadniczego tkanin zainfekowanych *Staphylococcus aureus* obserwowano pewne różnice w liczbie kolonii zliczanych manualnie i instrumentalnie. Z ekstraktów z wypranych tkanin otrzymano więcej kolonii aniżeli z kąpeli piorących, odmiennie jak w przypadku gronkowca (por. tabele 1 i 2). Poddanie zainfekowanych bakterią *Escherichia coli* zabrudzonych tkanin pełnemu cyklowi prania nie wpłynęło na tak znaczne, jak w przypadku *Staphylococcus aureus*, obniżenie liczby tych bakterii. Zarówno w ekstraktach z wypranych tkanin, jak i w wodzie po ostatnim płukaniu wykrywano bakterie na poziomie zbliżonym do wyników z kąpeli piorącej przy praniu zasadniczym. Silny wzrost bakterii był także widoczny na wszystkich próbkach tkaniny umieszczonych na podłożach hodowlanych po ekstrakcji.

Sposób wzrostu *Bacillus cereus* na podłożu hodowlanym (w postaci rozległych, rozgałęzionych kolonii uniemożliwiało dokonanie instrumentalnego pomiaru liczby kolonii za pomocą licznika automatycznego. Z tego powodu w tabeli 3 zamieszczono jedynie wyniki zliczeń manualnych.

Tabela 3. Liczba kolonii *Bacillus cereus* dla zabrudzonej krwią tkaniny niepoddanej i poddanej praniu po 24 godzinach od zainfekowania

Tkanina	Rozcieńczenia 1 ml ekstraktów z tkanin					
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
Zliczanie manualne						
Liczba kolonii bakterii						
Próba kontrolna 1	>300	>300	73	9	4	0
Próba kontrolna 2	>300	>300	215	28	3	2
Tkanina po praniu zasadniczym 1	w.j.	7	0	0	0	0
Tkanina po praniu zasadniczym 2	80	12	1	0	0	0
Kąpiel piorąca 1	>300	>300	0	0	0	0
Kąpiel piorąca 2	68	16	0	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 1	0	0	0	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 2	0	0	0	0	0	0
Woda po płukaniu 1	6	0	0	0	0	0
Woda po płukaniu 2	11	3	0	0	0	0

Objaśnienie: w.j. – wzrost jednolity na całej powierzchni płytki

Źródło: opracowanie własne.

Jak wynika z danych z tabeli 3, jednolity wzrost *Bacillus cereus* był stwierdzany w dwóch początkowych rozcieńczeniach próbek kontrolnych  $10^{-1}$  i  $10^{-2}$  ml, policzalne kolonie obserwowano dopiero w kolejnych. Podobnie jak w przypadku pozostałych bakterii poddanie zabrudzonej krwią tkaniny praniu wpłynęło na obniżenie liczby *Bacillus cereus*, jednakże w przypadku tej bakterii odnotowano duże różnice ilościowe pomiędzy 1 i 2 próbką zarówno tkanin po praniu, jak i w przypadku kąpieli piorącej. Poddanie zainfekowanych, zabrudzonych tkanin pełnemu cyklowi prania zredukowało liczbę kolonii *Bacillus cereus* do kilku, wykrytych wyłącznie w wodzie po ostatnim płukaniu tkanin. Jednakże intensywny wzrost tej bakterii, podobnie jak pozostałych badanych mikroorganizmów, był stwierdzany na wyekstrahowanych tkaninach po hodowli.

#### **4.2. Oznaczanie liczby kolonii bakterii w zabrudzonych krwią tkaninach poddanych praniu 7 dni od zainfekowania**

W analogiczny sposób, jak w pkt 4.1, dokonano określenia liczby kolonii bakterii *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Bacillus cereus* w ekstraktach pozyskanych po praniu tkanin zainfekowanych 7 dni wcześniej. Wyniki obserwacji dla *Staphylococcus aureus* zebrano w tabeli 4, dla *Escherichia coli* przedstawiono w tabeli 5, a dla *Bacillus cereus* – w tabeli 6.

Jak wynika z tabeli 4, bakteria *Staphylococcus aureus* wykazywała intensywny wzrost w hodowlach z pierwszych rozcieńczeń ekstraktów, tj.  $10^{-1}$  i  $10^{-2}$  ml. Policzalną, reprezentatywną liczbę kolonii obserwowano w rozcieńczeniach  $10^{-3}$ – $10^{-4}$  ml. Przy tysiącokrotnie rozcieńczonej próbce zauważono ponadto różnicę, na poziomie kilkudziesięciu kolonii, pomiędzy zliczeniami metodą manualną a instrumentalną. Bakteria nie była wykrywana w najbardziej rozcieńczonych ekstraktach próbek kontrolnych.

Po praniu zasadniczym, policzalną liczbę kolonii *Staphylococcus aureus*, podobnie jak w próbkach kontrolnych, obserwowano dla środkowych zakresów rozcieńczeń ekstraktów pozyskanych z wypranych tkanin i kąpieli piorących. Tak jak w przypadku tkanin zaszczepionych tą bakterią poddanych praniu po 24 godzinach od zainfekowania (por. tabele 1 i 4) liczba kolonii stwierdzana na podłożach była wyższa w hodowlach z kąpieli piorących niż z wyekstrahowanych tkanin.

Liczba bakterii w hodowlach z zabrudzonych, zanieczyszczonych bakteriami tkanin po pełnym cyklu prania była obniżona w porównaniu z poprzednio omawianymi hodowlami. Dla rozcieńczeń ekstraktów  $10^{-1}$ – $10^{-3}$  ml, w przypadku obu próbek tkaniny po praniu, obserwowano zmniejszającą się liczbę kolonii *Staphylococcus aureus* wraz ze wzrostem krotności rozcieńczenia. Jednak (wbrew spodziewanej tendencji) przy kolejnych rozcieńczeniach, tj.  $10^{-4}$  i  $10^{-5}$  ml, zaob-

serwowano wzrost bakterii na podłożach dla próbki 1, pomimo że w ekstraktach próbki 2 obecność *Staphylococcus aureus* nie była wykrywana. Wyniki dla rozcieńczeń  $10^{-4}$  i  $10^{-5}$  ml sklasyfikowano więc jako błąd oznaczenia.

Tabela 4. Liczba kolonii *Staphylococcus aureus* dla zabrudzonej krwią tkaniny niepoddanej i poddanej praniu po 7 dniach od zainfekowania

Tkanina	Rozcieńczenia 1 ml ekstraktów z tkanin					
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$
Zliczanie manualne						
Próba kontrolna 1	>300	>300	144	10	1	0
Próba kontrolna 2	>300	>300	227	11	1	0
Tkanina po praniu zasadniczym 1	>300	>300	90	9	1	0
Tkanina po praniu zasadniczym 2	>300	310	34	3	1	0
Kąpiel piorąca 1	>300	>300	650	47	8	0
Kąpiel piorąca 2	>300	>300	545	61	9	2
Tkanina po pełnym cyklu prania 1	240	22	3	15	( <sup>a</sup> )	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 2	292	27	1	0	0	0
Woda po płukaniu 1	>300	338	57	4	0	0
Woda po płukaniu 2	416	62	10	2	0	0
Zliczanie instrumentalne						
Próba kontrolna 1	1307	524	124	11	1	0
Próba kontrolna 2	1642	842	181	11	1	0
Tkanina po praniu zasadniczym 1	1207	447	86	9	1	0
Tkanina po praniu zasadniczym 2	1052	257	28	3	1	0
Kąpiel piorąca 1	1132	1251	507	60	9	0
Kąpiel piorąca 2	1035	1407	509	61	9	2
Tkanina po pełnym cyklu prania 1	215	21	3	15	228	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 2	245	20	1	0	0	0
Woda po płukaniu 1	1175	265	37	5	0	0
Woda po płukaniu 2	312	53	15	2	0	0

<sup>a</sup> wzrost miejscowy w postaci kolonii zlewających się, brak możliwości interpretacji

Źródło: opracowanie własne.

Woda po ostatnim płukaniu obu próbek tkaniny zawierała większą o około rząd wielkości liczbę kolonii w porównaniu z ekstraktami z tej wypranej. Obserwowano różnice zarówno pomiędzy próbkami 1 i 2, jak i pomiędzy zliczeniem manualnym i instrumentalnym.

Tabela 5. Liczba kolonii *Escherichia coli* dla zabrudzonej krwią tkaniny niepoddanej i poddanej praniu po 7 dniach od zainfekowania

Tkanina	Rozcieńczenia 1 ml ekstraktów z tkanin					
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
Zliczanie manualne						
Próba kontrolna 1	>300	>300	>300	417	18	1
Próba kontrolna 2	>300	>300	>300	287	47	4
Tkanina po praniu zasadniczym 1	0	0	0	0	0	0
Tkanina po praniu zasadniczym 2	>300	51	14	1	0	0
Kąpiel piorąca 1	55	2	0	0	0	0
Kąpiel piorąca 2	0	0	0	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 1	0	0	0	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 2	0	0	0	0	0	0
Woda po płukaniu 1	4	0	0	0	0	0
Woda po płukaniu 2	2	0	0	0	0	0
Zliczanie instrumentalne						
Próba kontrolna 1	1403	1144	887	318	17	1
Próba kontrolna 2	1482	1408	899	242	42	4
Tkanina po praniu zasadniczym 1	0	0	0	0	0	0
Tkanina po praniu zasadniczym 2	318	56	11	1	0	0
Kąpiel piorąca 1	58	2	0	0	0	0
Kąpiel piorąca 2	0	0	0	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 1	0	0	0	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 2	0	0	0	0	0	0
Woda po płukaniu 1	4	0	0	0	0	0
Woda po płukaniu 2	2	0	0	0	0	0

Źródło: opracowanie własne.

Bakteria *Escherichia coli* charakteryzowała się silną przeżywalnością w tkaninach w obecności zabrudzeń krwawych po 7 dniach od zaszczepienia (tabela 5). Nawet w dziesięciotysięcznych rozcieńczeniach ekstraktów obu próbek kontrolnych obserwowano około 300 kolonii tej bakterii. Poddanie tkanin praniu zasadniczemu po 7 dniach od wprowadzenia bakterii radykalnie zredukowało liczbę przeżywających ten proces komórek. W przypadku tkaniny po praniu 2 stopień redukcji sięgał trzech rzędów wielkości w porównaniu z kontrolnymi, a wyznaczona liczba kolonii była zbliżona do wyników uzyskanych z próbek ekstraktów z tkaniny wypranej 24 godziny od zainfekowania (por. tabele 2 i 5). W przypadku tkaniny po praniu 1, etap prania zasadniczego wpłynął tak silnie na przeżywalność *Escherichia coli* w tkaninach, że bakteria nie była wykrywana w żadnym

rozcieńczeniu ekstraktu tej próbki, a tylko nieliczne kolonie były obserwowane w hodowlach kąpieli piorącej, pozostającej po jej wypraniu. Dalszą redukcję liczby bakterii obserwowano po kolejnych etapach prania. W rozcieńczeniach ekstraktów tkaniny po pełnym cyklu prania bakteria *Escherichia coli* nie była wykrywana, a jedynie pojedyncze kolonie stwierdzono w wodzie po wypłukaniu próbek.

Kolejną badaną bakterią był zdolny do wytwarzania przetrwalników *Bacillus cereus*. Podobnie jak w badaniu omówionym w pkt 4.1. bakteria ta była zliczana tylko metodą manualną. Z próbek kontrolnych zanieczyszczonych tą bakterią, w obecności zabrudzeń krwawych, po 7 dniach policzalną liczbę kolonii pozyskano z ekstraktów rozcieńczonych  $10^{-3}$  i  $10^{-4}$  ml (tabela 6). W mniej rozcieńczonych próbkach bakterie tworzyły rozległe wzajemnie przerastające się kolonie, co zakwalifikowano jako jednolity wzrost na powierzchni podłoża, niemożliwy do ilościowej interpretacji.

Tabela 6. Liczba kolonii *Bacillus cereus* dla zabrudzonej krwią tkaniny niepoddanej i poddanej praniu po 7 dniach od zainfekowania

Tkanina	Rozcieńczenia 1 ml ekstraktów z tkanin					
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$
Zliczanie manualne						
Próba kontrolna 1	w.j.	w.j.	68	28	8	1
Próba kontrolna 2	w.j.	w.j.	42	10	1	0
Tkanina po praniu zasadniczym 1	w.j.	w.j.	61	11	0	0
Tkanina po praniu zasadniczym 2	w.j.	w.j.	21	3	0	0
Kąpiel piorąca 1	w.j.	w.j.	w.j.	40	9	0
Kąpiel piorąca 2	w.j.	w.j.	w.j.	37	10	1
Tkanina po pełnym cyklu prania 1	35	11	1	0	0	0
Tkanina po pełnym cyklu prania 2	14	2	0	0	0	0
Woda po płukaniu 1	w.j.	42	8	1	0	0
Woda po płukaniu 2	66	14	3	0	0	0

Objaśnienie: w.j. – wzrost jednolity na całej powierzchni płytki.

Źródło: opracowanie własne.

Poddanie próbek zainfekowanych tkanin praniu zasadniczemu po tygodniu od wprowadzenia bakterii nie wpłynęło na obniżenie liczby *Bacillus cereus*. Liczba kolonii bakterii w hodowlach z ekstraktów z tkanin po praniu była zbliżona do próbek kontrolnych. Takiej sytuacji nie obserwowano w przypadku próbek zaszczipionych tą bakterią, ale podanych praniu po 24 godzinach (por. tabela 3 i 6). Wówczas liczba bakterii stwierdzana zarówno w ekstraktach z tkanin, jak i w kąpielach piorących była znacząco zredukowana w stosunku do



tych samych próbek siedmiodniowych. Podobnie jak w przypadku *Staphylococcus aureus* liczba bakterii wyhodowanych z kąpeli piorących była wyższa aniżeli z ekstraktów z wypranych tkanin.

Jak wynika z tabeli 6, próbki po praniu zasadniczym i trzech płukaniach charakteryzowały się zmniejszoną liczbą kolonii *Bacillus cereus* w porównaniu z kontrolnymi i poddanymi jedynie praniu zasadniczemu. Redukcja nie była jednakże tak znacząca jak w przypadku *Escherichia coli* (por. tabele 5 i 6), która po pełnym cyklu prania była prawie niewykrywalna. Ponadto zaobserwowano duże rozbieżności w liczbie laseczek *Bacillus cereus* pomiędzy próbkami wody 1 i 2 po ostatnim płukaniu (rozcieńczenie  $10^{-1}$  ml – wzrost jednolity vs. 66 kolonii).

Należy dodać, że podobnie jak w badaniach omówionych w pkt 4.1. na wszystkich wyekstrahowanych próbkach tkaniny (kontrolnej, po praniu zasadniczym i po pełnym cyklu prania) umieszczonych na podłożach hodowlanych uzyskano silny wzrost każdego badanego gatunku bakterii, tj. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Bacillus cereus*.

### 4.3. Porównanie manualnej i instrumentalnej metody zliczania kolonii bakteryjnych

Porównując wyniki zliczeń kolonii bakterii *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* prezentowane w tabelach w pkt 4.1 i 4.2. można zauważyć, że przy niewielkiej liczbie (1–10) kolonii wyrosłych na podłożu właściwie nie obserwuje się różnic pomiędzy metodą manualną i instrumentalną. Przy większej liczbie kolonii występują różnice sięgające kilkunastu kolonii. Powodów tych rozbieżności może być kilka. W przypadku gdy na podłożu widoczne są wzajemnie przerastające się kolonie lub takie, które różnią się nieznacznie barwą od medium, aparat może zliczać mniej kolonii niż jest w stanie wyodrębnić oko doświadczonego obserwatora. W przypadku bardzo drobnych, licznych kolonii, zwłaszcza z połyskiem, jak u *Escherichia coli* rosnącej na podłożu Endo, zliczanie automatyczne sprawdza się lepiej. Dzięki wykorzystaniu opcji oprogramowania „Supercount” możliwe jest wyodrębnienie i powiększenie wybranego obszaru z trudnym do interpretacji wzrostem, co ułatwia obserwację i poprawia zdolność rozróżniania wzrastających blisko siebie kolonii.

Należy pamiętać, że za możliwą do policzenia „nieuzbrojonym” okiem, bez obarczenia wyniku dużym błędem, uznaje się liczbę 300 kolonii bakterii. Dla doświadczonego obserwatora możliwe jest policzenie nawet powyżej 500 kolonii, jednak wraz ze wzrostem ich liczby zwiększa się prawdopodobieństwo uzyskania wyniku z większym błędem. Aparat do liczenia kolonii jest w stanie zliczyć więcej niż 500 kolonii i dla tego zakresu sprawdza się lepiej niż ludzkie oko, jednakże jak wynika z danych w tabelach w pkt 4.1 i 4.2 przy pomiarach

powyżej tysiąca określane wartości są już mniej wiarygodne. Wskazują jednak na pewien przedział liczbowy, podczas gdy w metodzie manualnej ten rodzaj wzrostu można określić jedynie jako zlewający się lub jednolity. Reasumując, w przypadku hodowli o bardzo dużym zagęszczeniu kolonii bakterii żadna z metod nie daje w pełni reprezentatywnych wyników.

Metoda instrumentalna ma również inne mankamenty. Przy nieprawidłowym ustawieniu płytek dochodzi do zaciemnienia ich brzegów, które aparat rozpoznaje błędnie jako kolonie. Ponadto oprogramowanie nie jest dostosowane do zliczania kolonii o różnej morfologii oraz kolonii o znacznych rozmiarach, tj. średnicy przekraczającej 0,5 cm, dlatego nie było możliwe zastosowanie metody instrumentalnej w badaniach *Bacillus cereus*, którego kolonie mogą osiągać średnicę nawet kilka centymetrów.

Poddając interpretacji hodowle z koloniami jednego rodzaju, o intensywnej, dobrze odróżniającej je od podłoża barwie, reprezentatywne wyniki uzyskuje się również w opcji „Click and Count”. Pozwala ona na szybki, możliwy do powtórzenia pomiar, co nie jest bez znaczenia przy konieczności zliczenia dużej liczby płytek. Zaletą tej metody jest również usprawniające pracę automatyczne przeliczenie (po wprowadzeniu danych o krotności rozcieńczenia) liczby kolonii na liczbę bakterii w 1 ml próbki. Ponadto aparat zlicza kolonie najczęściej na 90% obszaru płytki, a wyniki ilościowe dla 100% ekstrapoluje z uwzględnieniem poprawki statystycznej. Zmniejsza to prawdopodobieństwo niedoszacowania rzeczywistej liczby bakterii.

## 5. Podsumowanie

Pranie tkanin zanieczyszczonych bakteriami w procesie prania modelowego (w temperaturze 40°C w obecności standaryzowanego środka piorącego) prowadzi do redukcji liczby wszystkich badanych gatunków bakterii. W przypadku *Escherichia coli* po etapie prania zasadniczo zmniejsza się liczba bakterii wykrywanych zarówno w ekstraktach z tkanin, jak i w kąpielach piorących. Przy zabrudzonych próbkach, zaszczepionych *Staphylococcus aureus* i *Bacillus cereus*, zwłaszcza poddanych praniu po 7 dniach, w kąpielach piorących stwierdza się znaczną, większą niż w ekstraktach, liczbę tych bakterii. Obecność żywych bakterii w kąpielach piorących w tak dużej liczbie (kilku mln w 1 ml) stwarza ryzyko przenoszenia bakterii pomiędzy tkaninami podczas procesu prania.

Możliwość zastosowania metody manualnej zliczania lub automatycznego licznika kolonii w badaniach ilościowych zależy od liczby i morfologii kolonii. Przy zliczaniu niewielkiej liczby kolonii nie stwierdza się zasadniczych różnic pomiędzy obiema metodami, jednak w przypadku silnego zanieczyszczenia

bakteriami żadna z metod nie jest w pełni reprezentatywna. Przy średniej liczbie kolonii (10–500) najbardziej wiarygodne jest zliczanie instrumentalne z wykorzystaniem automatycznego licznika kolonii w opcji „Supercount”, dającej eksperymetatorowi możliwość weryfikacji otrzymanych wyników. Nie bez znaczenia jest również fakt, że stosowanie metody instrumentalnej skraca całkowity czas wykonywania obliczeń.

## Literatura

- Atlas R.M. [1997], *Handbook of Microbiological Media*, ed. L.C. Parks, CRC Press, Inc, New York–Tokyo.
- Bartosz G. [2004], *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Carthy P. [1993], *Home Laundering*, part I: *An Evaluation of the Effectiveness of Laundering Soiled Textiles*, „Journal of Consumer Studies and Home Economics”, vol. 7.
- Davis S., Ainsworth P. [1989], *The Disinfectant Action of Low-temperature Laundering*, „Journal of Consumer Studies and Home Economics”, vol. 13.
- Fijan S., Cencič A., Šostar-Turk S. [2006], *Hygiene Monitoring of Textiles Used in the Food Industry*, „Brazilian Journal of Microbiology”, vol. 37.
- Fijan S., Šostar-Turk S., Cencič A. [2005], *Implementing Hygiene Monitoring Systems in Hospital Laundries in Order to Reduce Microbial Contamination of Hospital Textiles*, „Journal of Hospital Infection”, vol. 61.
- ISO 15797: 2002. Textiles – Industrial washing and finishing procedures for testing of workwear.
- Jekiel K., Szostak-Kot J., Syguła-Cholewińska J. [2011], *Przeżywalność bakterii Staphylococcus aureus na tkaninach użytkowych*, „Przegląd Włókienniczy. Włókno–Odzież–Skóra”, Sigma-NOT, nr 11–12.
- Kurz J. [2003], *Laundering in the Prevention of Skin Infection*, „Current Problems in Dermatology”, vol. 31.
- Milczyński J. [2002], *Pranie bielizny szpitalnej w krajach zachodniej Europy i w Polsce*, „Pralnictwo”, nr 1(12).
- Nelly A.N., Maley M.P. [2000], *Survival of Enterococci and Staphylococci on Hospital Fabrics and Plastic*, „Journal of Clinical Microbiology”, vol. 38, nr 2.
- Perenich T.A., Rhonda P. [1993], *Bacterial Survival on Fabrics Laundered in Cold Water*, „Journal of Consumer Studies and Home Economics”, vol. 17.
- PN ISO 105 C01-C05: Badania odporności wybarwień na pranie: metoda 2.
- Rutala W.A., Weber D.J. [1997], *Use of Inorganic Hypochlorite (Bleach) in Health-care Facilities*, „Clinical Microbiology Reviews”, vol. 10(4).
- Scott E., Bloomfield S.F. [1999], *Investigation of Effectiveness of Detergent Washing, Drying and Chemical Disinfection on Contamination of Cleaning Cloths*, „Journal of Applied Bacteriology”, vol. 68(3).
- Syguła-Cholewińska J., Szostak-Kot J., Błyskal B. [2012], *Methods of Microorganisms' Recovery Surviving on Textile* [w:] *Wybrane problemy jakości wyrobów przemysłowych*, red. J. Żuchowski, Politechnika Radomska–Wydawnictwo, Radom.

- Szostak-Kot J. i in. [2011], *Wpływ zabrudzeń na przeżywalność drobnoustrojów w tkaninach*, Raport z badań statutowych nr 125/KMb/1/2011/S/604.
- Szostak-Kot J., Syguła-Cholewińska J., Jekiel K. [2009], *Studia nad przeżywalnością drobnoustrojów w tekstyliach po procesie prania*, Raport z badań statutowych, Umowa nr 14/KMb/1/2009/S/478.
- Szostak-Kot J., Syguła-Cholewińska J., Jekiel K. [2010], *Kinetyka przeżywania drobnoustrojów na tkaninach*, Raport z badań statutowych, Umowa nr 21/KMb/1/2010/S/534, Kraków 2010.
- Terpstra P.M.J. [1998], *Domestic and Institutional Hygiene in Relation to Sustainability. Historical, Social and Environmental Implications*, „International Biodeterioration and Biodegradation”, vol. 41.
- Terpstra P.M.J., van Kessel I.A.C. [2005], *On the Interference between Sustainable Domestic Technology and Home Hygiene*, Proceedings of the 7th International Commodity Science Conference (IGWT), „Current Trends in Commodity Science”, Poznań.
- Wiksell J.C., Pickett M.S., Hartman P.A. [1973], *Survival of Microorganisms in Laundered Polyester-cotton Sheeting*, „Applied Microbiology”, vol. 25(3).

### **Manual and Instrumental Methods in the Quantitative Assessment of Bacteria Surviving in Laundered Fabrics**

The evaluation of the laundering process requires microbiological cleanness testing. There are no clearly established methods for determining the number of microorganisms surviving in fabrics after washing. The aim of the study was to evaluate the number of bacteria surviving the laundry process in textiles stained with blood. Cotton textile samples were infected with three species of bacteria and subjected to model laundering. Following this process, microorganisms were extracted, cultivated and counted. Two colony counting methods – manual and instrumental – were applied. The results show that laundering infected textiles reduces the number of all the bacteria tested. Nevertheless, two species, i.e. *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* survived in large numbers when a wash bath was used, which may potentially lead to cross-contamination. The instrumental method proved to be better when there are up to 500 colonies to be measured. It also shortens the total time needed to perform the analysis.

**Keywords:** laundering, bacteria, colony counting, blood soils, textiles.