



Středoškolská technika 2013

Setkání a prezentace prací středoškolských studentů na ČVUT

Vliv koloidního stříbra na mikroorganismy

Daniel Pospíšil

Vyšší odborná škola zdravotnická a Střední zdravotnická škola,
Hradec Králové, Komenského 234.

Hradec Králové, 2013

Konzultant: MUDr. Eva Budayová

Kraj: Královéhradecký

Prohlášení: Prohlašuji tímto, že jsem soutěžní práci pod vedením MUDr. Evy Budayové vypracoval samostatně a uvedl v seznamu literatury veškerou použitou literaturu a další informační zdroje včetně internetových.

V Hradci Králové dne

Podpis:

Poděkování:

V úvodu bych rád poděkoval zejména MUDr. Evě Budayové za odbornou konzultaci, nemalou pomoc a čas, který věnovala tomuto projektu. Bez její pomoci bych nedosáhl takových finálních výsledků, ke kterým jsem se dopracoval. Děkuji Vyšší odborné škole zdravotnické a Střední zdravotnické škole Hradec Králové za poskytnutí nezbytných prostředků a materiálů a také zázemí, které mi pro moji práci vytvořila.

Anotace:

Podnětem k vytvoření této práce mě vedla problematika a u většiny lidí neznalost tématu koloidního stříbra. Jeho antibakteriální účinky byly, známe již v dávné historii. Cílem této práce bylo popsání historie koloidního stříbra, výroby, chemických a fyzikálních vlastností a praktické prokázání antibakteriálních účinků.

Za velké pomoci MUDr. Evy Budayové jsem mohl testovat koloidní stříbro v laboratoři na mnoha typech bakterií a plísní. A mohl jsem si prakticky prokázat jeho antibakteriální účinky.

Klíčová slova: koloidní Stříbro, bakterie, antibakteriální účinky.

Obsah

1. Úvod.....	6
2. Teoretická část.....	7
2.1. Chemické a fyzikální vlastnosti koloidního stříbra	7
2.1 Historie medicínského použití stříbra.....	9
2.3 Působení koloidního stříbra	11
2.4 Použití koloidního stříbra	12
2.5 Dávkování koloidního stříbra	12
2.6 Výroba koloidního stříbra.....	13
2.7 Stříbro si můžeme vyrobit i sami.....	14
2.8 Účinky koloidního stříbra	15
2.9 Vedlejší účinky	15
2.10 Uchovávání koloidního stříbra	15
3. Praktická část.....	16
3.1 Materiál.....	16
3.1.1. Krevní agar.....	16
3.1.2. Müller - Hintonové agar	16
3.1.3. Masopeptonový bujon.....	16
3.1.4 Fyziologický roztok	17
3.1.5 Koloidní stříbro	17
3.2 Metodika	17
3.2.1 Kultivace	17
3.2.2 Difuzní test.....	18
3.2.3. Test kontroly sterility dle ČSL.....	18
3.2.4. Vlastní metodika	19
3.3 Výsledky	20
4. Závěr	21
5. Použitá literatura	23
6. Přílohy.....	I

1. Úvod

Problematiku související s koloidním stříbrem jsem si zvolil proto, že u běžné populace není jeho léčebný význam tak známý. Objevují se o něm velká množství tvrzení, která nejsou pravdivá. Mnoho lidí má právě o tomto tématu hodně pochybností. Domnívají se, že stříbro patří mezi těžké kovy, tvoří soli stříbra a ukládá se do organismu. Přitom jeho příznivé účinky jsou prokazatelné i z minulosti.

V mé práci se zabývám problematikou antibiotické rezistence, která se v poslední době stává znepokojivě se rozšiřujícím jevem, zasahujícím celý svět. Rezistence mikroorganismů k látkám, které po desetiletí představovaly účinnou zbraň v boji proti infekcím, se stává hrozbou pro moderní medicínu a její postupy v léčbě a profylaxi infekčních onemocnění.

Možnosti použití koloidního stříbra byly popsány u několika set původců nemocí (bakterie, viry a plísňe), zatímco antibiotika (lék proti bakteriální infekci) nebo antimykotika (lék proti plísňovým infekcím) jsou účinná vždy pouze proti malému počtu patogenů.

Rovněž průmysl v současnosti ve veliké míře objevil antiseptický potenciál koloidního stříbra. Dnes jsou k dostání textilie obsahující stříbro, suroviny obsahující stříbro, náplasti a mnohé další.

Touto prací bych chtěl uvést některá tvrzení ohledně koloidního stříbra na pravou míru. A prokázat, že jeho účinky na bakteriích jsou opravdu antibakteriální.

2. Teoretická část

2.1. Chemické a fyzikální vlastnosti koloidního stříbra

Pojem koloidní stříbro je velmi málo znám navzdory tomu, že se denně s koloidy setkáváme – náš život je na koloidních systémech založen. Pod názvem koloid rozumíme systém, ve kterém jsou částičky velmi jemně a pravidelně rozděleny. Tyto částičky se skládají z méně nežli několika tisíc atomů a mohou mít velikost až 200 nm. Tyto částičky nejsou pozorovatelné světelným mikroskopem, jsou však prokazatelné elektronovým mikroskopem. Koloidní stříbro vyrobené pomocí generátoru je však ještě menší. Je složeno z cca 15 atomů a má průměr pouze 0,126 nm.

Srovnání jednotlivých velikostí

Atom	0,1 nm
Koloidní stříbro (cca 15 atomů)	0,126 nm
Molekula cukru	0,7 nm
Virus	20-30 nm
Bakterie	20-80 000 nm
Červená krvinka	7.500 nm
Průměr vlasu	40-100.000 nm

Koloid můžeme popsat následovně

1. Musí být k dispozici dvě rozdílné látky, např. stříbro a voda.
2. Látky musí příslušet k rozdílným dispergovaným fázím, např. tekutá/pevná.
3. Částice nesmí být rozpustné a nesmí tvořit chemická spojení mezi sebou.

Koloidy jsou heterogenní, složené z více skupenství a nerozpustné.

Částičky stříbra v koloidním stříbře nejsou ve vodě rozpuštěné, ale suspendované. Jedná se tedy o suspenzi, ne o roztok.

Přidáme-li do vody soli (stejně tak soli stříbra jako dusičnan stříbrný nebo chlorid stříbrný), jsou tyto soli rozpuštěné. Znamená to, že části těchto solí svá spojení disociují a vznikají takto pozitivně nabitě ionty stříbra (Ag^+) a negativně nabitě ionty chlóru (Cl^-). Přitom se ale nejedná o elementární stříbro nebo chlór.

Z uvedeného příkladu je zřejmý důležitý rozdíl mezi koloidním, elementárním stříbrem a solí stříbra. Bohužel jsou často tyto informace mezi sebou zaměňovány nebo považovány za totožné. Z předložené práce vyplývá, že se jedná o změněné stavy (ionty, soli, proteiny atd.). Podle způsobu výroby (elektrolýza) je možné dosáhnout velikosti od méně než 1 nm až do 10 nm. Tyto částičky se nacházejí v destilované vodě. Je nutné koloidní stříbro uchovávat mimo dosah světla. Stříbro nám může po čase zežloutnout. Díky rozmělnění na částičky mikroskopické velikosti dochází k enormnímu zvětšení celkového povrchu, a tím i zvýšení účinku. Je výrazně zvýšena možnost průniku do těla a dosažení i nejnepřístupnějších míst. V koloidní tekutině se jednotlivé částičky pohybují lehce. Pokud se pohybují těžce, mluvíme o gelu. Tyto formy mohou přecházet jedna v druhou, přičemž přechod je plynulý. Koloidní stříbro se neusazuje. U malých předmětů stejně jako u koloidních částiček je ještě jedna síla, která zabraňuje jejich potopení. Tuto sílu označujeme jako Brownův molekulární pohyb. Nejmenší částičky se v tekutině neustále pohybují. Tímto na sebe neustále narážejí, což rovněž zabraňuje klesání ke dnu a jejich usazování.

2.1 Historie medicínského použití stříbra

Vedle zlata a platiny je stříbro jedním z nejobdivovanějších drahých kovů. Bílé se lesknoucí, měkké stříbro je prvkem s nejlepší elektrickou a tepelnou vodivostí.

Již v antice bylo kovové stříbro užíváno na nádoby pro uchovávání čerstvé vody, ale i k výrobě šperků a mincí.

Stříbro - nejenom ve své koloidní formě – bylo v medicíně používáno po tisíciletí. V Číně se před 7000 lety vyvinula akupunktura, která byla čím dál tím více zdokonalována. Nejprve bylo k ošetření akupunkturálních bodů používáno dřeva a bambusu, později byly nahrazeny kovovými jehličkami se zlatem a stříbrem. Přitom bylo zjištěno, že zlato při tomto ošetření spíše stimuluje a stříbro spíše uklidňuje.

Roku 1881 doporučil lipský gynekolog Carl Sigmund Franz Créde jako prevenci proti oční kapavce u novorozenců vkapávání dusičnanu stříbrného. Tento zánět spojivek byl často způsobován přenosem od nakažené matky při porodu a touto metodou bylo umožněno jeho okamžité odstranění.

Dodnes jsou používány oční kapky obsahující dusičnan stříbrný, které jsou u této indikace povoleny.

Počátkem 19. století mělo koloidní stříbro své samozřejmé místo v medicíně. Vyznačuje se svým velmi širokým spektrem účinnosti a je zcela bez vedlejších účinků. Protože koloidní stříbro, z důvodu dřívějších výrobních postupů, nebylo zrovna nejlevnější, bylo podporováno používání levnějších antibiotik.

Dnešní doba je zaměřena také na úpravy vody pomocí stříbra. K tomu slouží tzv. katadynový postup.

Ten byl objeven již v roce 1928. Při této metodě je stříbro nanášeno na nosič a je takto získán velký kovový povrch. Přes tento filtr je poté filtrována voda a likvidováni původci nemocí. Tento postup je neodmyslitelný jak v kosmických letech, tak v námořních plavbách. Slouží i k ochraně vody proti řasám.

K ošetření ran byla již od roku 1930 používána tenká válcovaná stříbrná fólie (stříbro je po zlatu kov, který je možné vytáhnout do nejslabší vrstvy). Tímto postupem bylo zamezeno přílišným ztrátám tekutin a byla podpořena tvorba nové tkáně. Při spáleninách a opařeních je důležité zamezit vzniku infekcí a kontaminaci rány. Také zde je stříbrná fólie a koloidní stříbro důležitým přínosem.

K antimikrobiálnímu, vlhkému ošetření ran je nyní k dostání tzv. hydrokoloidní obvaz jako zdravotnický výrobek, jehož účinek spočívá v uvolňování iontů stříbra do rány, což přispívá k následnému zklidnění a rychlému hojení.

Stříbro má své využití i v textilním průmyslu. Pomocí nanotechnologií se přidává od oděvu a chrání ho před nežádoucími účinky bakterií.

V době objevení antibiotik, např. penicilinu, byly účinky stříbra opomíjeny. Až s větším nárůstem rezistentních bakteriálních kmenů, na které nezabírala nejmodernější antibiotika, byly účinky koloidního stříbra opět objeveny. Navzdory tomu dochází i dnes k unáhlenému předepisování antibiotik, čímž je podporován větší nárůst rezistentních bakteriálních kmenů.

Dnes je možné koloidní stříbro vyrobit pomocí generátoru stříbra relativně levně.

V medicíně bylo známo, že voda zůstane déle pitná při jejím uchování ve stříbrných nádobách. V chirurgii má stříbro své místo např. u svorkování mozkových cév nebo uzavírání lebečních defektů.

Antibiotické účinky stříbra byly užívány i našimi předky. Před příchodem ledniček bylo přes léto téměř nemožné uchovávat potraviny déle čerstvé, proto se např. do mléka přidávala stříbrná mince jako ochrana před zkysnutím.

2.3 Působení koloidního stříbra

Přesný mechanismus působení koloidního stříbra na bakterie nebyl ještě dostatečně objasněn. Koloidní stříbro se v těle dostává krví do buněk, během několika dní se tak dostává do všech tkání a začíná působit.

Ničí enzymy, které jsou u jednobuněčných mikroorganismů, jako jsou bakterie a plísně, zodpovědné za zásobování kyslíkem. Dýchací řetězec mikroorganismů je tím přerušen a mikroorganismy během několika minut odumírají. Následně je koloidní stříbro po několika dnech vylučováno z těla přirozenou cestou ven. Také nukleové kyseliny bakterií jsou stříbrem postiženy. Schopnost koloidního stříbra vázat se silně s jinými substancemi se dá, kromě jiného, vysvětlit i jeho elektrickým nábojem.

Koloidní stříbro je univerzální prostředek téměř bez vedlejších účinků k léčení četných onemocnění. Ničí více než 650 choroboplodných bakterií, virů, kvasinek a plísní. Tito původci jsou během několika málo minut koloidním stříbrem usmrcováni. Pro lidský organizmus je důležité, že bakterie v tlustém střevě zůstávají ušetřeny, protože koloidní stříbro je do krevního řečiště nebo lymfatického systému přijímáno nejpozději v tenkém střevě. Koloidní stříbro může být použito k léčení i k prevenci, protože podporuje imunitní systém a ulehčuje mu jeho funkci.

Podporuje také růst nové tkáně - starší osoby pozorovaly rychlejší proces hojení ran po použití koloidního stříbra. Možným způsobem podporuje produkci nediferencovaných buněk, které jsou potřebné k náhradě zestárlých buněk.

Velmi důležitá je skutečnost, že koloidní stříbro je účinné rovněž proti původcům nemocí, kteří se proti antibiotikům stali rezistentní. Mnohé léky bojují pouze proti symptomům, koloidní stříbro vyřazuje již samotnou příčinu nemoci.

2.4 Použití koloidního stříbra

Protože je velmi dobře snášeno, jsou možnosti jeho použití téměř neomezené. Výjimku tvoří lidé, kteří jsou na tento kov alergičtí.

Vnější použití přichází v úvahu u kožních onemocnění jako akné, otevřené rány, opary a mykózy. Při těchto onemocněních mohou být postižená místa potírána látkou napuštěnou koloidním stříbrem. Jednou z metod je přikládání obvazu napuštěného koloidním stříbrem, např. při jizvách, řezných a tržných ranách.

Pro systematické užívání musí být koloidní stříbro užíváno orálně. Doporučuje se však tekutinu nepolknout okamžitě, ale nejprve ji ponechat několik vteřin pod jazykem (sublinguálně). Takto je část koloidního stříbra do těla přijata sliznicí v ústech a může být zabráněno usmrcení některých, pro trávicí systém důležitých, bakterií. Orální užívání se doporučuje například při parazitních nebo plísňových problémech (Candida), chronické únavě a při bakteriálních a virových infekcích, ale i při mnoha dalších onemocněních. Další způsoby užívání jsou vaginální nebo rektální, ale také jako nosní nebo inhalační spreje.

Pokud má být koloidní stříbro účinné v tlustém střevě, musí být užíváno s větším množstvím tekutiny, aby nebylo plně resorbováno ještě před tím, než dorazí do tlustého střeva. Následovně se doporučuje regenerovat přirozenou střevní flóru pomocí jogurtu nebo podobným prostředkem. Působení stopového množství stříbra má ochrannou povahu a posiluje imunitní systém.

Koloidní roztoky mají 98% vstřebatelnost oproti 40-60% vstřebatelnosti u tablet. Koloidní stříbro je bezpečné, netoxické, působí jako antibiotikum.

Pomáhá rozvoji buněk, neshromažďuje se, nedráždí sliznici, nevytváří závislost, neobsahuje volné radikály.

2.5 Dávkování koloidního stříbra

V každém případě je důležité používat čisté koloidní stříbro bez jakýchkoliv přísad. Jde i o velikost a počet v substanci obsažených částic. Čím čistší je koloidní stříbro, tím menší částičky obsahuje.

Koncentrace koloidního stříbra je udávána v ppm (parts per milion - částic na milion). Pomocí ppm označujeme počet účinných částic na milion částic roztoku nebo suspenze. Ke způsobu užívání existuje několik doporučení: užívat denní dávku spolu větším množstvím vody nebo malé množství vysoce koncentrovaného koloidního stříbra chvíli držet v ústech a poté polknout. Takto dochází k resorpci stříbra sliznicí v dutině ústní.

2.6 Výroba koloidního stříbra

Je důležité, jakým způsobem je koloidní stříbro vyrobeno. Nejčastější forma výroby bývá elektrolýzou pomocí generátoru. Takto získané koloidní stříbro je bez přísad a obsahuje drobné částičky stříbra. K výrobě koloidního stříbra používáme destilovanou vodu a 99,99 % čisté stříbrné elektrody z lékárny. Při výrobě nesmí být použita žádná sůl jako přísada, protože okamžitě vznikají nežádoucí soli stříbra, jako např. chlorid stříbrný. Koncentraci jemně rozptýleného stříbra v kapalině ovlivňuje řada faktorů (teplota vody, kvalita vody, množství a vzdálenost elektrod).

Výslednou koncentraci si můžeme lehce zkontrolovat pomocí Tyndallova efektu. Částice v koloidních tekutinách lomí světlo. Při prosvícení koloidní kapaliny laserovým ukazovátkem se nám objeví jemný mléčný pruh. Tento objev byl poprvé pozorován chemikem a fyzikem Michaele Faradayem a následně prozkoumán nástupcem Johnem Tyndallem. Tento jev je možné pozorovat pouze při tlumeném světle.

Z ekonomického hlediska je nejlepší, pokud si můžeme potřebné množství stříbra vyrobit sami. Pokud je koloidní stříbro vyráběné pomocí generátoru, jsou produktem malé částice koloidního stříbra.

Koloidní stříbro si svoji účinnost udržuje zhruba po dobu max. 3 týdnů. Největší účinnost má první týden; účinnost pak postupně klesá.

2.7 Stříbro si můžeme vyrobit i sami

Na internetu najdeme mnoho obchodníků, kteří prodávají drahé a zbytečně složité „generátory“ pro výrobu koloidu stříbra. Pro domácí výrobu stříbra nám postačí jednoduchý proudový zdroj sestavený z unipolárního tranzistoru typu J-FET¹. Zdroj je napájen 9 V baterií² a může být opatřen kontrolkou pro zkoušku funkčnosti obvodu. Toto zařízení nám stabilizuje proud na přesných 52,5 μA , který protéká přes elektrody ponořené v půllitrové lahvi s vodou určenou pro injekci. Elektrody jsou od sebe vzdáleny přibližně 6 cm tak, aby se nedotýkaly stěn lahve, a vystupují ven přes gumovou zátku. Voda musí být velmi čistá a demineralizovaná³. Pokud tomu tak není, budou se na záporné elektrodě vytvářet nečistoty z důvodu nežádoucích chemických reakcí s minerály vody. Při nasazení zátky s elektrodami vložíme lahev nejlépe do černé punčošky nebo ji nějakým jiným způsobem zastíníme před světlem. Připojíme kabely na elektrody a necháme odpojenou baterii. Nyní je nejlepší počkat přibližně jednu hodinu, aby se voda v lahvi ustálila a žádným způsobem se nepohybovala. Když je voda v klidu, připojíme baterii, odzkoušíme obvod testovacím tlačítkem a necháme 24 hodin protékat daný proud 52,5 μA ⁴. Po uplynutí doby odpojíme baterii a kabely, vyjmeme elektrody a očistíme zápornou elektrodu (katodu). Kladná elektroda zůstane neočištěna a elektrody umístíme do prázdné lahve nebo do sterilního obalu (uzavíratelný sáček).

Celkově nás vyjde stavba „generátoru“ pro výrobu koloidního stříbra maximálně na 600,- Kč, kdo je elektronicky znalý a vlastní doma své součástky, může se dostat i pod 500,- Kč. Nejdražší jsou elektrody - jsou to dva stříbrné dráty o čistotě 99,99 %, délce nejlépe 17 cm a průměru 2 mm (ty stojí cca 450,- Kč). Samotný proudový zdroj je v řádech desítek korun. Někteří prodejci prodávají zdroj s elektrodami za 3-5 tisíc korun, což je nesrovnatelné s výše uvedenými náklady.

¹ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 4

² Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 3

³ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 1

⁴ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 2

2.8 Účinky koloidního stříbra

Léčivé účinky stříbra je možné pozorovat jak u zvířat, tak i rostlin. U zvířat je koloidní stříbro podáváno spolu s potravou nebo v nápoji. Dávkování se řídí velikostí zvířete. Pro ilustraci účinků koloidního stříbra na zvířata zde zmíním vlastní zkušenost.

Můj děda měl v létě 21 králíků cca 2 měsíce staré. Při krmení si všiml, že 3 králíci jsou v kotci mrtví. Podle příznaků usoudil, že se jedná o králíčí mor (tuto diagnózu mu potvrdil i přítomný zvěrolékař). Děda chtěl zbývající králíky pozabíjet. Navrhnul jsem mu, aby zkoušel přidat do hliněných misek koloidní stříbro. Do každé misky přidal 0,5 dl koloidního stříbra a zbytek dolil vodou. Z těch 18 zbývajících králíků jich 18 zachránil, nezemřel ani jeden. Tento můj osobní zážitek mě přesvědčil, že koloidní stříbro funguje i u živočichů.

Při podávání koloidního stříbra u rostlin můžeme buď použít postřik, nebo přidávat stříbro do závlivky. Tímto způsobem je možné např. bez použití jedovatých látek vypěstovat zdravější a odolnější zeleninu nebo ošetřovat pokojové rostliny. I u rostlin působí stříbro na plísňové onemocnění. Pokud aplikujeme stříbro na rostliny ve formě roztoků, je vhodné ho aplikovat za soumraku, protože koloidní stříbro je na světle méně stálé.

2.9 Vedlejší účinky

Vedlejší účinky koloidního stříbra nejsou téměř známy, kontraindikace s medikamenty nebyly popsány. Koloidní stříbro neovlivňuje tělesné enzymy ani žaludek. U koloidního stříbra musíme ještě zdůraznit, že není chemicky vytvořenou substancí. K vedlejším účinkům může docházet pouze v případech, pokud jsou vytvořeny soli stříbra nebo jeho sloučeniny, a k tomu by došlo, pokud by se při přípravě dostaly do destilované vody nečistoty.

Často bývá také propagováno koloidní stříbro, ale prodávány bývají soli stříbra nebo jiné stříbrné sloučeniny. Jak už jsem zmiňoval, je nejlepší, pokud si můžeme určité množství čerstvého koloidního stříbra vyrobit sami.

2.10 Uchovávání koloidního stříbra

Správné uchovávání koloidního stříbra je důležité pro zachování jeho účinnosti. Mělo by být uskladněno v tmavých skleněných nádobách v prostředí s pokojovou teplotou, v žádném případě jej neumísťujeme do chladniček. Protože nízká teplota snižuje rozpustnost stříbra. Plastové obaly jsou pro uskladnění nevhodné z důvodu uvolňování částic z plastových stěn do kapaliny.

Koloidní stříbro může být při delším uskladnění zbarveno lehce do žluta. Tato barva nevypovídá nic o kvalitě ani závadě stříbra. Při výrobě vysokých koncentrací stříbra se mohou z elektrod uvolňovat větší částice. Ty se nekonzumují.

3. Praktická část

3.1 Materiál

3.1.1. Krevní agar⁵

Krevní agar patří mezi základní kultivační půdy. Obsahuje přídavek 5- 10 % krve. Nejčastěji se používá krev ovčí, která se přidává k agarovému základu zchlazenému na teplotu kolem 40 °C. Takto připravený agar je v lékařské mikrobiologii považován za základní půdu, na které vyrostou většina bakteriálních patogenů. Krevní agar je zároveň i půdou diagnostickou (rozlišujeme zde i hemolytické vlastnosti bakterií).

(výrobce: TRIOS, spol. s. r. o., Hradec Králové, Czech Republic)

3.1.2. Müller - Hintonové agar⁶

Müllerův – Hintonové agar je používán jako standardní půda k testování citlivosti na antibiotika. Obsahuje kromě agaru pouze hovězí infuzi, kyselý kaseinový hydrolyzát a škrob. Ten slouží jako ochrana u případných toxických substancí a umožňuje růst z velmi malého inokula. K testování růstově náročnějších mikrobů je možno MH agar obohatit přídavkem krve, nebo z něj připravit čokoládový agar. Nejvhodnější je krev beraní.

(výrobce: TRIOS, spol. s. r. o., Hradec Králové, Czech Republic)

3.1.3. Masopeptonový bujon⁷

Živný bujon pro bakteriologické použití je vývar z masa. Původně si jej laboratoře připravovaly samy, ale pro pracnost přípravy a nestandardnost se dnes dává přednost používání komerčních výrobků. Dnes se vyrábí nejčastěji z hovězího masa zbaveného šlach a tuku. Hotový výrobek s názvem živný bujon je pak zředěný masový extrakt s přídavkem 1 - 2 % peptonu (štěpené bílkoviny) a 0,5 % NaCl.

V lékařské mikrobiologii se pro pomnožování patogenních a růstově náročných bakterií používají obohacené živné bujony. Obohacují se krevním sérem nebo kousky zvířecích jater. Přísada jater v játrovém bujonu má kromě výživnosti ještě i ten význam, že zvyšuje množství redukujících látek, což je pro bakterie pěstované z lidského nebo zvířecího organismu výhodné, neboť i v něm se setkávají s tkáněmi a tekutinami s vyšším redukčním potenciálem.

Tekuté půdy jsou pro pomnožení bakterií vhodnější než půdy tuhé. Výhodou je, že bakterie mají lepší přísun živin, neumožní nám ale rozpoznání množství a druhu bakterií. Tekuté půdy k pomnožení lze připravit i jako selektivní, a to tak, že přidáním určité látky se potlačí růst nežádoucích bakterií a preferuje se růst patogenů (např. salmonel a shigel v selenitové půdě). K identifikaci bakterií vyočkováváme tekuté kultury na půdy pevné.

(výrobce: TRIOS, spol. s. r. o., Hradec Králové, Czech Republic)

⁵ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 5

⁶ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 6

⁷ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 8

3.1.4 Fyziologický roztok⁸

Fyziologický roztok se skládá z 0,9 % NaCl a má stejnou osmolalitu jako plazma. Osmolalita je množství osmoticky aktivních látek v jednotce hmotnosti rozpouštědla. Isotonické prostředí má stejnou koncentraci jako zkoumaná buňka.
(výrobce: TRIOS, spol. s r. o., Hradec Králové, Czech Republic)

3.1.5 Koloidní stříbro⁹

Další významnou částí v materiálu, bylo koloidní stříbro. Pro metodiku jsem použil stříbro vyrobené s 10 ppm a stříbro kupované 30 ppm.

Nejčastější forma výroby bývá elektrolyzou pomocí generátoru. Takto získané koloidní stříbro je bez přísad a obsahuje drobné částičky stříbra. K výrobě koloidního stříbra používáme destilovanou vodu a 99,99 % stříbrné elektrody z lékárny. Při výrobě nesmí být použita žádná sůl, protože okamžitě vznikají nežádoucí soli stříbra, jako např. chlorid stříbra. Koncentraci jemně rozptýleného stříbra v kapalině ovlivňuje řada faktorů (teplota vody, kvalita vody, množství, vzdálenost elektrod a výrobce).

3.2 Metodika

Součástí této praktické práce bylo i nesčetné množství pokusů. Naivně jsem si myslel, že mi budou veškeré pokusy od začátku vycházet. Bohužel tomu taky nebylo.

Veškeré práce jsem prováděl ve školní laboratoři v laminárním boxu.

3.2.1 Kultivace

První z pokusů jsme prováděli na bakteriích *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*¹⁰. Tento pracovní úkon jsme prováděli na základní pevné kultivační půdě- krevním agaru. Postup probíhal způsobem, že jsme na 4 krevní agary naočkovali masivně bakteriologickou kličkou bakterie *E. coli* a *Staphylococcus aureus*. Na 2 agary jsme přidali roztok 1 ml koloidního stříbra s koncentrací 10 ppm. A 2 ponechali bez přidání koloidního stříbra jako kontrolu. Všechny 4 agary jsme dali na 24 hodin do termostatu při teplotě 37 °C¹¹.

Dle mých předpokladů měl být na krevních agarech, na které jsem přidal koloidní stříbro růst bakterií pozastaven. Bohužel k těmto předpokladům nedošlo. Růst bakteriálních kolonií nebyl nikterak ovlivněn.

⁸ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 7

⁹ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 9

¹⁰ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 10

¹¹ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 11

3.2.2 Difuzní test

Další test byl prováděn jinou metodou a to přidáním sterilních disků filtračního papíru namočených v koloidním stříbře 30 ppm na pevnou půdu typu Muellerův – Hintonové agar¹². Předpokládal jsem, že se kolem disku filtračního papíru se stříbrem vytvoří inhibiční zóna. K tomuto pracovnímu úkonu jsem měl připravené 3 zkumavky o objemu 10 ml, fyziologický roztok, plastové kličky, stojánek na zkumavky, bakterie¹³ *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus*. Postup probíhal následujícím způsobem. Do připravených zkumavek jsem si odměřil po 2 mililitrech fyziologického roztoku. Poté jsem si naředil bakterie na zákal č. 2. Tuto suspenzi bakterií jsem pak vylil na agary a nechal 15 minut působit. Po uplynutí 15 minut jsem odsál přebytečnou suspenzi bakterií ve fyziologickém roztoku a doprostřed agarů vložil 1 nebo 2 stříbrem navlhčené papírové kotouče. Poté jsem agary vložil do termostatu na 24 hodin při teplotě 37 °C. U všech agarů jsem používal koloidní stříbro 30 ppm. Po 24 hodinách inkubace se kolem disků inhibiční zóna nevytvořila.

3.2.3. Test kontroly sterility dle ČSL

Další test probíhal pod jiným pracovním postupem. Pracovní postup probíhal následujícím způsobem. Celkově jsem měl připravených 8 zkumavek o objemu 10 mililitrů. Do těchto 8 zkumavek jsem přidal 2 ml fyziologického roztoku. V něm jsem si bakterie *Escherichia Coli* a *Staphylococcus aureus* naředil podle zákalové stupnice 0,5 a 1,0¹⁴. Do zkumavek jsem pak přidal různé množství stříbra o koncentraci 10 ppm a zkumavky umístil na 24 hod. do ledničky. Ledničku jsem využil proto, aby stříbro mělo dostatek času zabít bakterie. Pro kontrolu jsem 2 zkumavky zakápnul třemi kapkami formaldehydu, abych měl jistotu, že jsou bakterie mrtvé.

Druhý den jsem z každé zkumavky odebral 2 kapky suspenze a přidal je do bujony. Bujony jsem pak umístil na 24. hod do termostatu na 37 °C. Následující den se v bujony projevil zákal. Růst bakterií v tekuté kultivační půdě se projeví vytvořením určitého zákalu. Velmi slabý zákal vyhodnotíme porovnáním této zkumavky s nenaočkovanou kultivační půdou. Vytvořený zákal svědčí o tom, že bakterie žijí a stříbro je nezabílo¹⁵.

¹² Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 12

¹³ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 13

¹⁴ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 14

¹⁵ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 15

3.2.4. Vlastní metodika

Připravil jsem suspenzi bakterií *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* a *Staphylococcus epidermidis* ve 2 ml destilované vody o hodnotě 0,5. K této suspenzi jsem přidal koloidní stříbro o hodnotě 10 ppm. v množství 0,5 ml. Zkumavky jsem umístil na 24 hodin do termostatu při teplotě 37 °C.

Po 24 hodinové inkubaci jsem suspenzi vyočkoval v množství 0,5 ml na krevní agar. Krevní agary jsem umístil na 24 hodin do termostatu při teplotě 37 °C¹⁶.

Po 24 hodinové inkubaci bakterie nenarostly¹⁷. Byla provedena i kontrola bez stříbra.

Byly prováděny i testy s 0,1 – 0,2 a 0,4 ml stříbra. Tyto testy byly úspěšné.

¹⁶ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 16

¹⁷ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 17

3.3 Výsledky

První test s naočkováním na krevní agar¹⁸ nám nevyšel¹⁹. Bylo to z důvodu velkého množství bakterií.

U testů s disky se nám neprojevila inhibiční zóna, použili jsme kupované koloidní stříbro a fyziologický roztok.

Test kontroly sterility nevyšel, protože NaCl rapidně snižuje účinnost stříbra. A teplota +4 °C nám snižuje jeho rozpustnost.

U vlastní metodiky nám test vyšel. Růst bakterií nebyl zaznamenán.

Ve výsledcích musím ještě zmínit návštěvu Technické univerzity v Liberci. Setkal jsem se s týmem vědců, kteří přišli na převratný vynález. Vytvořili antibakteriální vrstvu, která zabíjí viry, bakterie, plísně. V této vrstvě je obsažen kationt stříbra! Při návštěvě s tímto týmem mi byly doporučeny nové metody pokusů a hlavně zakoupení denzitometru. Který mi určí přesný typ zákalu a tím i přesný počet bakterií v suspenzi.

	Mikrob:	Koloidní Ag:	Kontrola:
	Zákal 0,5	Růst na kultivační půdě	Suspenze bez Ag
1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	neroste	roste
2.	<i>Streptococcus faecalis</i>	neroste	roste
3.	<i>Escherichia coli</i>	neroste	roste
4.	<i>Pseudomonas sp.</i>	neroste	roste
5.	<i>Neisserie sp.</i>	neroste	roste

¹⁸ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 19

¹⁹ Obrázek uveden v Přílohách: Obr. 18

	Mikrob Zákal 0,5	Koloidní Ag/hodnota: 10 ppm Množství v ml: 0,4 Růst na kultivační půdě	Koloidní Ag/hodnota: 10 ppm Množství v ml: 0,1 Růst na kultivační půdě	Koloidní Ag/hodnota: 10 ppm Množství v ml: 0,2 Růst na kultivační půdě	Kontrola = suspenze bez Ag
1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	NE	NE	NE	ANO
2.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	NE	NE	NE	ANO
3.	<i>Escherichia coli</i>	NE	NE	ANO	ANO
4.	<i>Pseudomonas sp.</i>	NE	ANO	NE	ANO

	Mikrob Zákal 1,0	Koloidní Ag/hodnota:10ppm Množství v ml: 0,4 Růst na kultivační půdě	Koloidní Ag/hodnota: 10 ppm Množství v ml:0,1 Růst na kultivační půdě	Koloidní Ag/hodnota: 10 ppm Množství v ml:0,2 Růst na kultivační půdě	Kontrola = suspenze bez Ag
1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	NE	NE	NE	ANO
2.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	NE	NE	NE	ANO
3.	<i>Escherichia coli</i>	ANO	NE	NE	ANO
4.	<i>Pseudomonas sp.</i>	NE	ANO	NE	ANO

	Mikrob Zákal 1,5	Koloidní Ag/hodnota 10 ppm: Množství v ml: 0,4 Růst na kultivační půdě	Koloidní Ag/hodnota10 ppm: Množství v ml: 0,1 Růst na kultivační půdě	Koloidní Ag/hodnota10 ppm: Množství v ml: 0,2 Růst na kultivační půdě	Kontrola = suspenze bez Ag
1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	NE	NE	NE	ANO
2.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	NE	NE	ANO	ANO
3.	<i>Escherichia coli</i>	NE	NE	NE	ANO
4.	<i>Pseudomonas sp.</i>	NE	ANO	NE	ANO

	Mikrob Zákal 2,0	Koloidní Ag/hodnota 10 ppm: Množství v ml: 0,4 Růst na kultivační půdě	Koloidní Ag/hodnota10 ppm: Množství v ml: 0,1 Růst na kultivační půdě	Koloidní Ag/hodnota10 ppm: Množství v ml: 0,2 Růst na kultivační půdě	Kontrola = suspenze bez Ag
1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	ANO	NE	NE	ANO
2.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	NE	NE	NE	ANO
3.	<i>Escherichia coli</i>	NE	NE	ANO	ANO
4.	<i>Pseudomonas sp.</i>	ANO	ANO	NE	ANO

4. Závěr

Závěrem bych chtěl shrnout své informace, výsledky a pocity. Vypracováním této práce jsem získal spousty nových informací o koloidním stříbře. Mohl jsem si prakticky prokázat, že působí opravdu antibakteriálně a utvrdila mě v tom ještě moje návštěva na Technické univerzitě v Liberci.

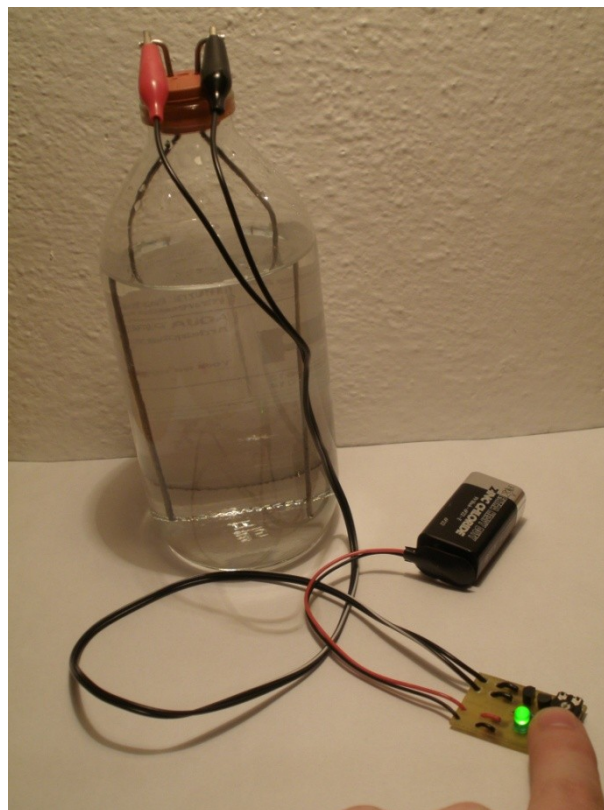
5. Použitá literatura

- VOTAVA, M : *Lékařská mikrobiologie obecná*. Brno: Neptun, 2005. ISBN 80-86850-00-5.
- VOTAVA, M. A KOL.: *Lékařská mikrobiologie speciální*. BRNO: NEPTUN, 2003.
- ŠEJDA, J. A KOL.: *Výkladový slovník epidemiologické terminologie*. Praha: Grada Publishing, 2005. ISBN 80-247-1068-4.
- ŠRAMOVÁ, H.: *Nozokomiální nákazy*. Praha, 2001. ISBN 80-85912-25-2.
- TICHÁČEK, B.: *Základy epidemiologie*. Praha: Galén, 1997. ISBN 80-7184-426-8.
- Josef Pies/ Uwe Reinelt.: *Koloidní stříbro. Velká kniha zdraví pro člověka, zvířata a rostliny*. Olomouc: Fontána, 2012. ISBN 978-80-7336-677-3
- <http://www.zshk.mmsw.cz/default.aspx>

6. Přílohy



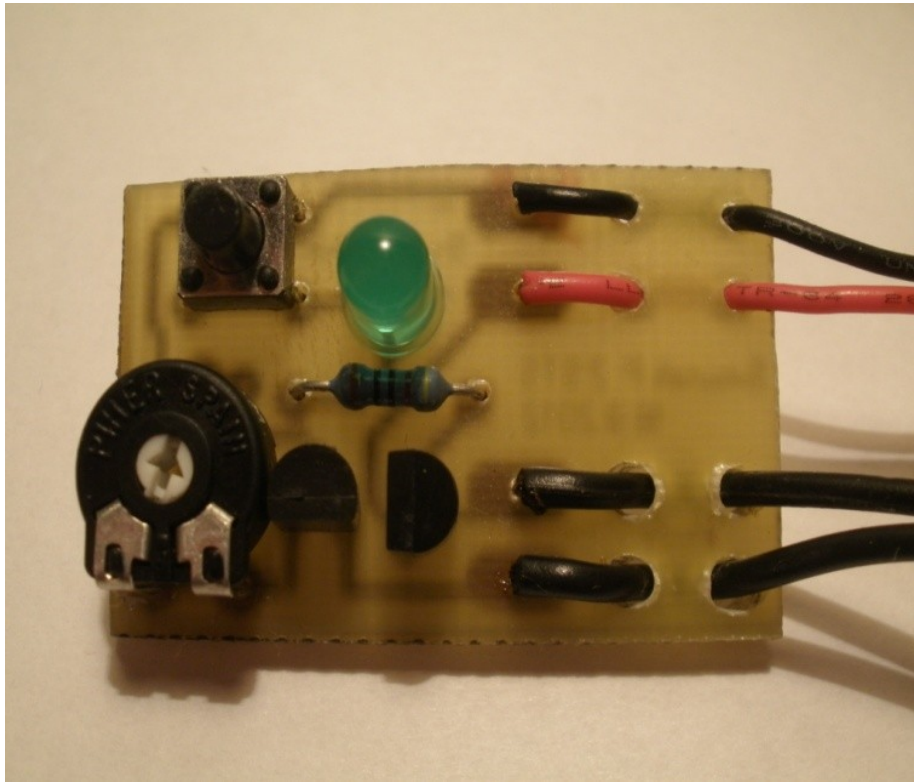
Obr. 1 Destilovaná voda



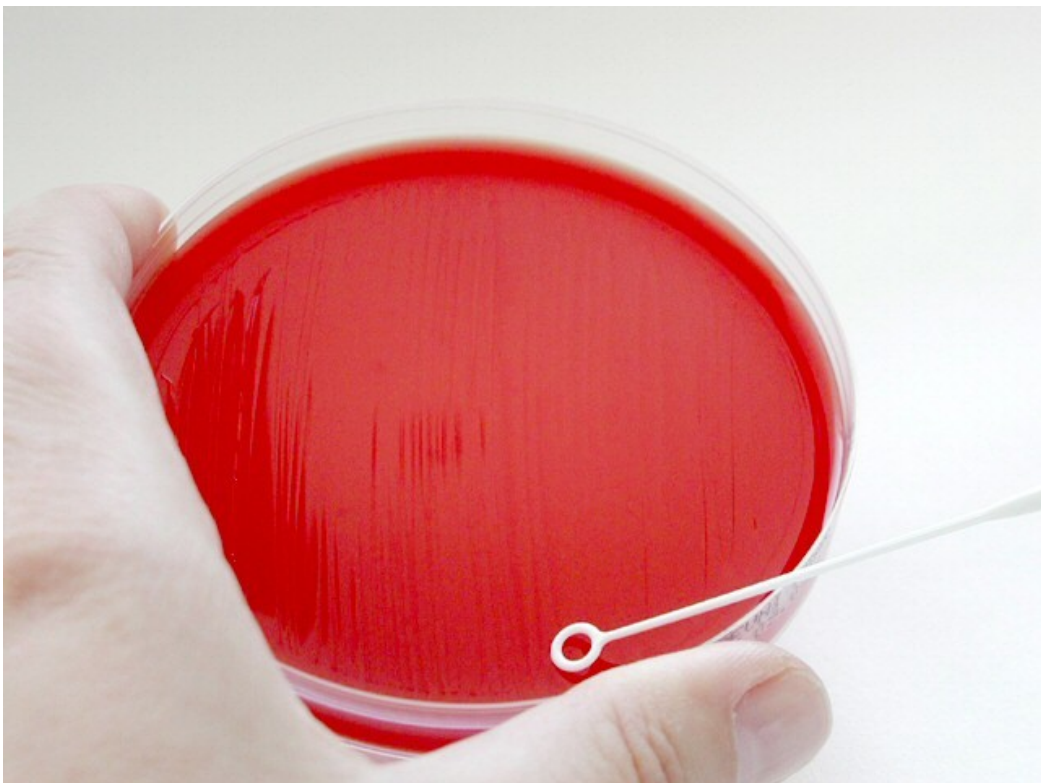
Obr. 2 Zapojený přístroj



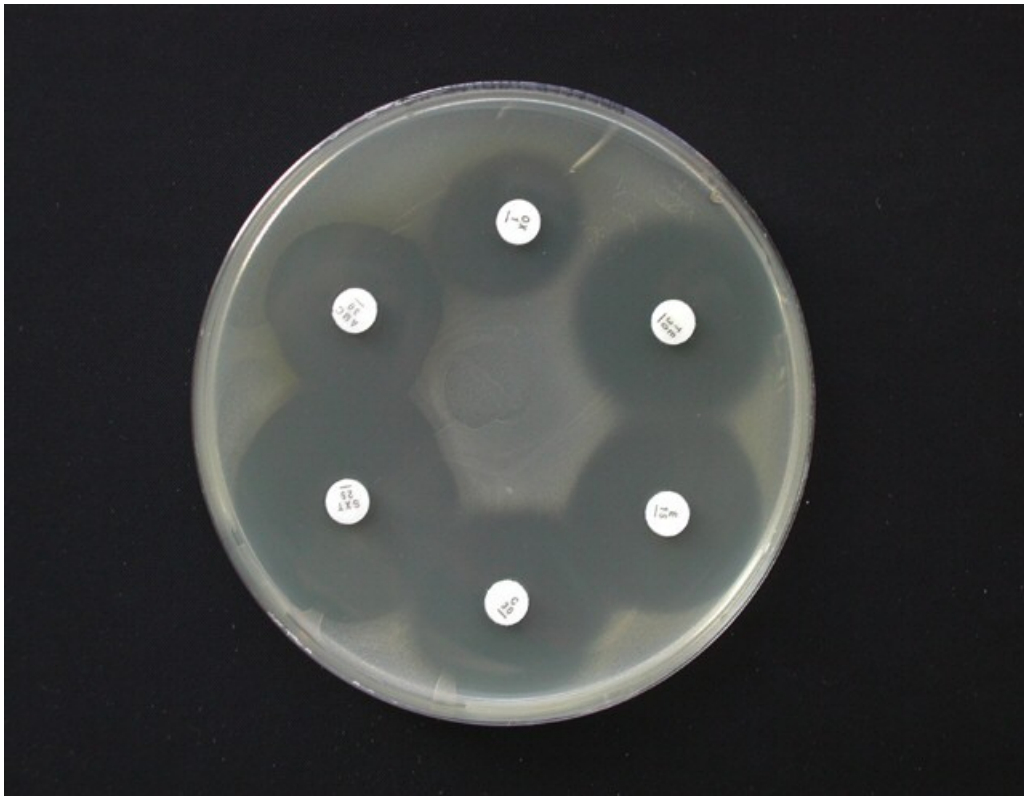
Obr. 3 Součástky



Obr. 4 Detail obvodu



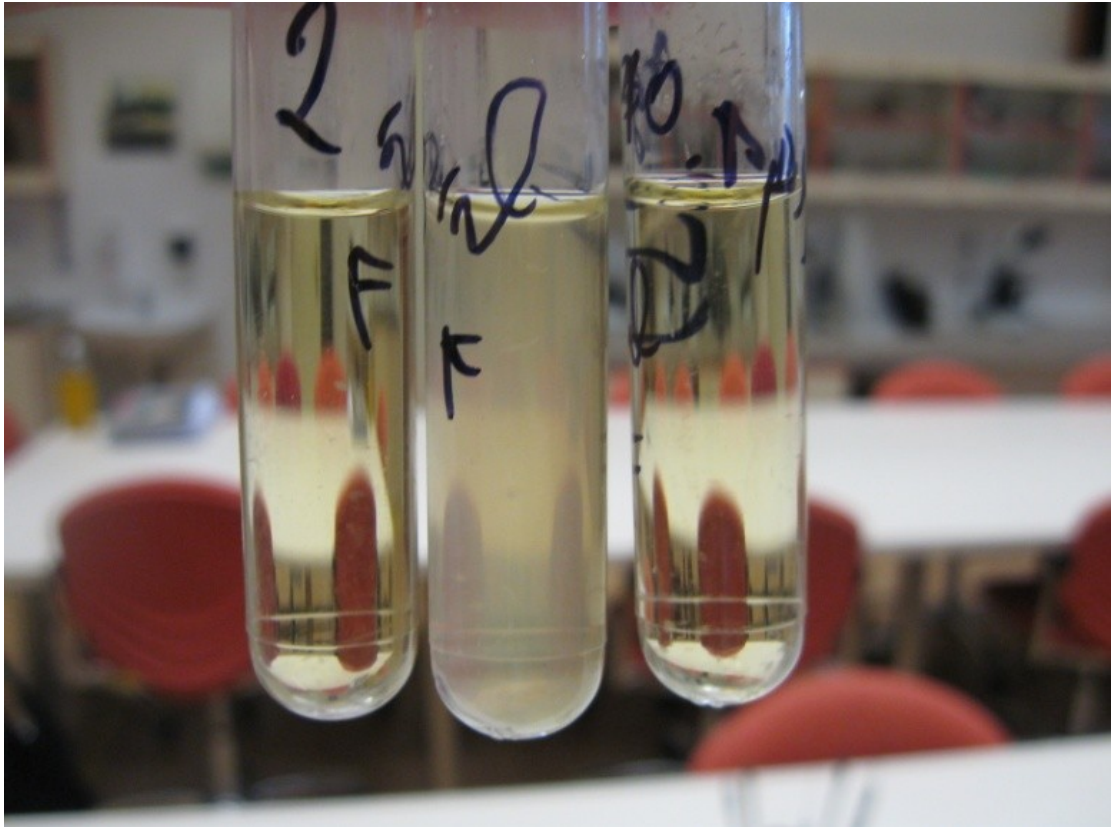
Obr. 5 Krevní agar



Obr. 6 Mueller- Hintonové agar



Obr. 7 Fyziologický roztok



Obr. 8 Masopeptonový bujon



Obr. 9 Koloidní stříbro



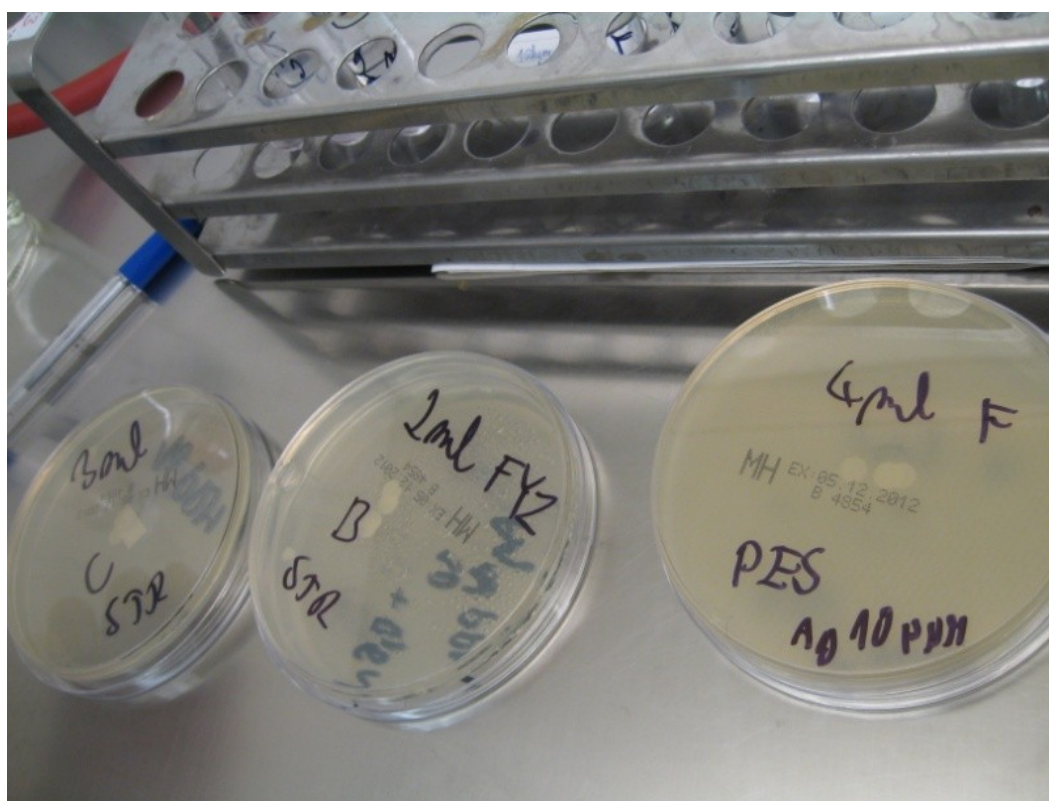
Obr. 10 Bakterie



Obr. 11 Pomůcky



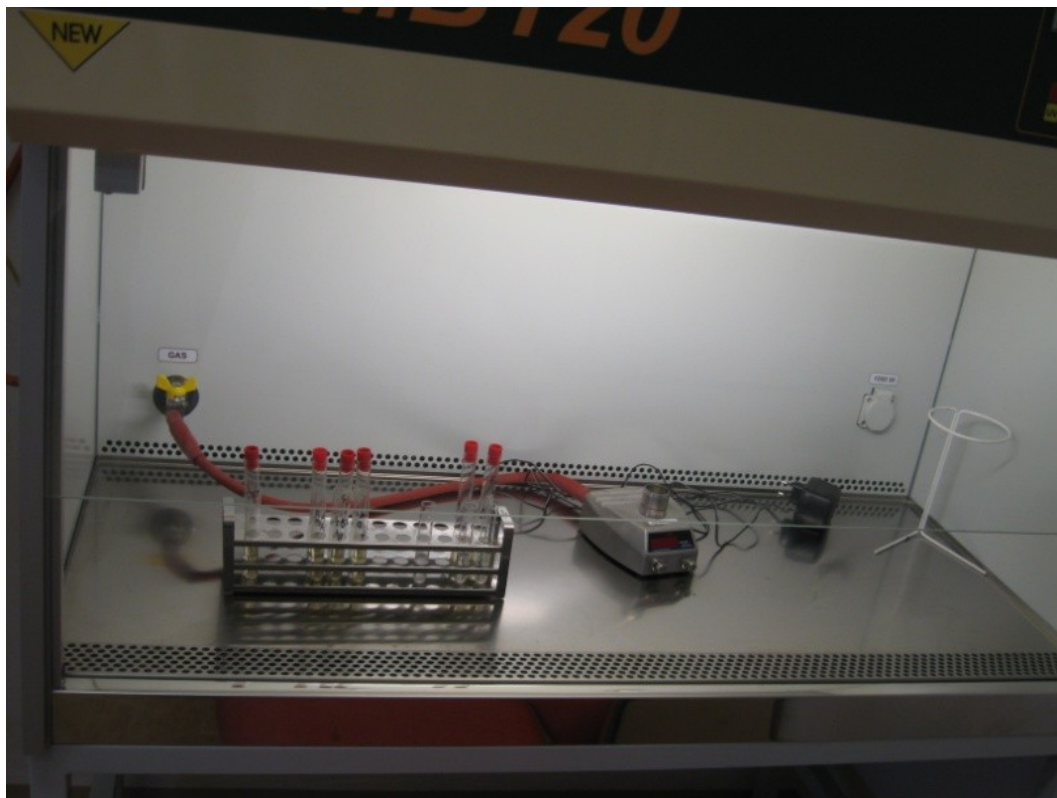
Obr. 12 Laminární box s pomůckami



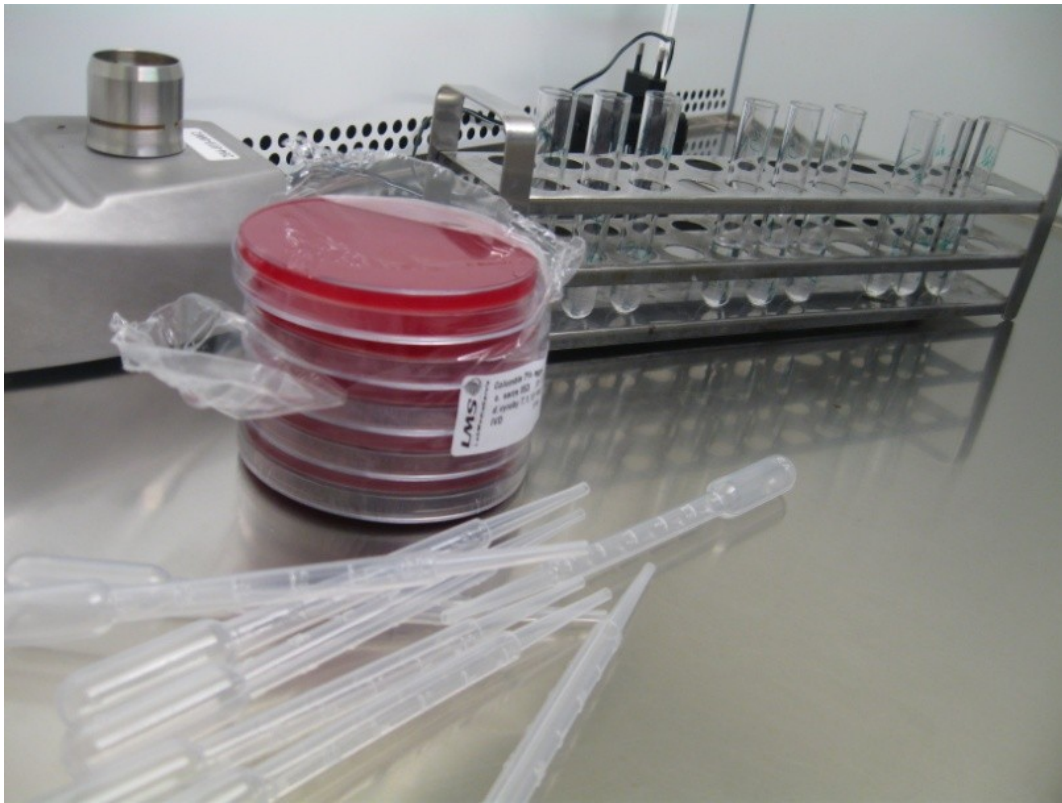
Obr. 13 Mueller- Hintonové agar



Obr. 14 Pomůcky



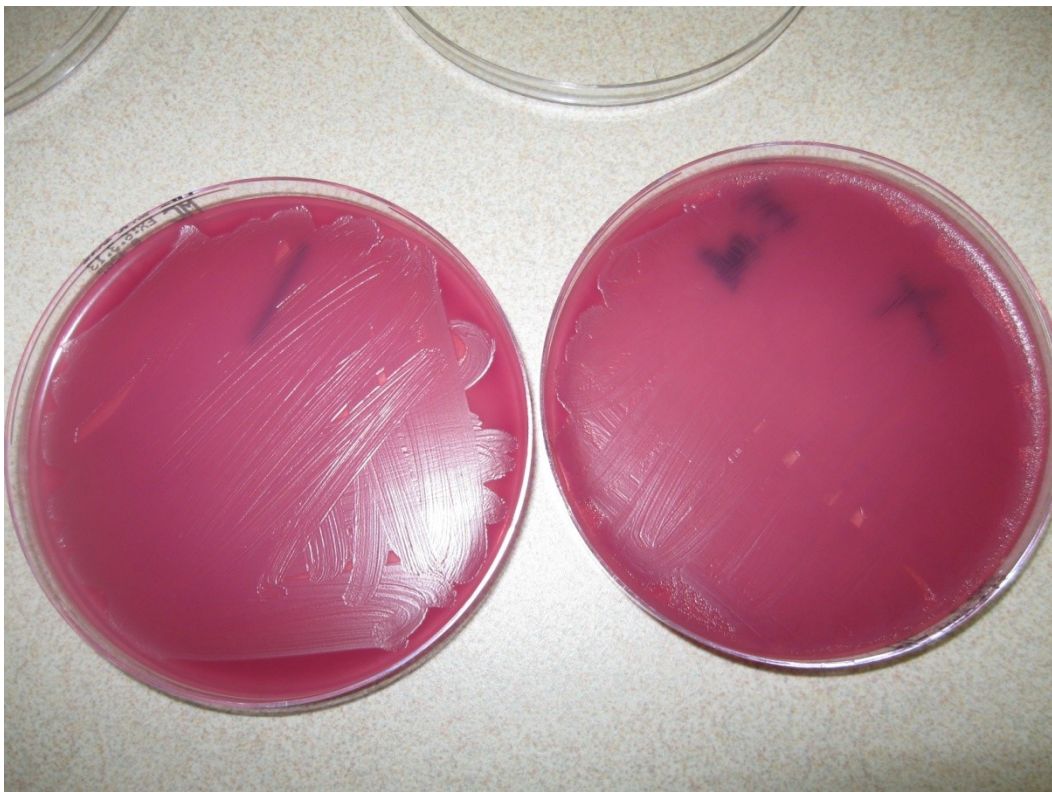
Obr. 15 Bujony v laminárním boxu



Obr. 16 Pomůcky v laminárním boxu



Obr. 17 Laminární box



Obr. 18 Narostlé bakterie



Obr. 19 Čisté kultivační půdy