

„Čisté ruce?“ – analýza rezistence, žákovská sada

Obj. číslo 108.6405



I Obsah

II	Úvod	str. 2
III	Pomůcky.....	str. 3
IV	Časová náročnost	str. 4
V	Příprava praktického cvičení	str. 5
VI	Laboratorní postup	str. 6
VII	Další zdroje.....	str. 6

Předlohy ke kopírování pro žáky od str. 7

II Úvod

Je účinek nových „antibakteriálních“ mýdel na našich rukách skutečně lepší než účinek tradičního mýdla? Na tuto otázku mohou žáci odpovědět stěrem bakterií ze své ruky a jejich kultivací. Současně mohou otestovat antiseptický účinek čtyř mýdel podle svého výběru.

Dnes už všichni vědí, že mytí rukou je velmi důležité, jak pro osobní hygienu, tak jako prevence infekčních nemocí. Vždycky tomu tak ale nebylo. Až do poloviny 19. století si lékaři myli ruce jen velmi zřídka. Mysleli si, že nemoci vznikají změnou atmosféry kvůli nedostatečné hygieně, a nikdo se necítil za tyto vlivy odpovědný nebo schopný s tím něco udělat.

V roce 1839 Wendell Holmes, lékař z Nové Anglie, prosazoval myšlenku, že horečku omladnic mohou na zdravé nastávající matky přenášet lékaři přecházející mezi pitevnou a jinými odděleními. Navrhoval, aby se lékaři po provedení pitvy převlékli a před vyšetřením pacientek si umyli ruce. Tento návrh však narazil na prudký odpor lékařů.

V roce 1849 začal s umýváním rukou jako antiseptickým opatřením rakousko-uherský lékař Ignác Semmelweis ve Vídni. Také Semmelweis objevil souvislost mezi prováděním pitvy a horečkou omladnic a věřil, že lékaři přímo z mrtvol přenášejí na ženy jakýsi druh jedu. Ve své nemocnici nutil lékaře a studenty, aby si po každém vyšetření pacienta a po každé pitvě umyli ruce. Počet úmrtí na horečku omladnic se výrazně snížil. Přesto jeho objevy narážely na zuřivý odpor lékařů. Semmelweis zemřel dřív, než jeho nové poznatky převzala medicína. Přesto však svými hygienickými opatřeními významně přispěl k rozvoji porodnictví a chirurgie, mnoho let přes Josephem Listerem a před objevem choroboplodných zárodků Louisem Pasteurem.

Mytí rukou dokáže omezit počet choroboplodných zárodků na kůži. Velké množství zárodků se odstraní už samotným mytím vodou a mechanickým třením, mýdlo pak na ně působí chemicky. Mýdlo má solubilizační účinek, neboť snižuje povrchové napětí vody. Mýdlo se vyrábí z tuků a zásady, např. sodného louhu (hydroxid sodný). Kůže má tukovou vrstvu, ve které jsou spolu s olejnatými kožními sekrety, potem a odumřelými kožními buňkami usídleny choroboplodné zárodky. Voda a mýdlo tuto tukovou vrstvu emulgují na velmi jemné mikroskopické kapky, které se společně s emulgovaným olejem, částicemi nečistot a přichycenými zárodky odplavují pryč.

Mýdla se mohou používat k usmrcení choroboplodných zárodků a ke snížení jejich počtu na živých tkáních. Díky obsahu zásaditého sodíku dokážou mýdla usmrtit mnoho zárodků, jejich účinek je však příliš slabý na to, aby účinně odstranila většinu bakterií.

Přibližně 50 % dnes používaných tělových mýdel obsahuje antiseptické chemické látky. Tyto sloučeniny zpomalují křížovou kontaminaci, omezují tělesný zápach a brání vzniku infekcí u menších kožních poranění.

Jak velká čistota je zapotřebí? Zde bychom se měli pokusit najít zdravou střední cestu. Nechceme se vrátit k obyčejům 19. století, ani bychom si neměli vypěstovat fobii z choroboplodných zárodků. Zdraví lidé se mohou běžně infikovat pouze patogenními zárodky, avšak malé děti, staří lidé, nemocní a osoby s oslabeným imunitním systémem se mohou nakazit i nepatogenními zárodky. Proto je při péči o tyto osoby doma, v nemocnicích nebo domovech důchodců nutné dodržovat další hygienická opatření. Avšak

mikrobi, kteří se pravidelně objevují v televizních reklamách, patří k běžné flóře našeho těla a zpravidla nezpůsobují žádné problémy. Přesto bychom měli být opatrní, protože nevíme, kdy se dostaneme do kontaktu s takovými původci nemocí, jako jsou *Salmonella* nebo *Shigella* – pak se totiž zanedbávání hygienických pravidel vymstí.

III Pomůcky

Pomůcky obsažené v této sadě stačí pro 15 skupin složených z 2-3 žáků. Reakční činidla jsou určena pouze pro použití při tomto pokusu.

Tato sada obsahuje následující pomůcky:

- 3 lahvičky živného agarového roztoku
- 15 vatových tamponů napuštěných alkoholem
- 15 zkumavek na živný roztok
- 5 balení papírových koleček
- 10 balení aplikačních tyčinek
- 5 pinzet
- 15 sterilních Petriho misek
- odpadní sáček pro použití v autoklávu

Potřebné pomůcky, které nejsou součástí sady:

- pravítka s milimetrovou stupnicí
- dezinfekční prostředek (70% metanol)
- sterilní voda
- výběr čtyř mýdel (volitelně antibakteriální sprchový gel např. Clearsil atd.)
- vodní lázeň *
- bělidlo pro domácí použití (volitelně) ***

* Pokud není vodní lázeň k dispozici, můžete použít hrnec s vařící vodou. Sterilní vodu získáte tak, že vodu z kohoutku necháte 30 minut převařit v přikrytém hrnci.

** Pokud není autokláv k dispozici, musíte použité lahvičky od agaru, zkumavky na živný roztok a Petriho misky před likvidací sterilizovat ponořením do 30% roztoku peroxidu vodíku na 24 hodin.

IV Časová náročnost

Příprava - 1 hodina

Rozpusťte agar, nechte ho ochladit na 37 °C a nalijte ho do Petriho misek. Agar byste měli lít pokud možno tak, aby nevznikly bubliny. Misky by se měly poté ochladit, jestliže se nebudou po ochlazení dále používat.

Laboratorní pokus 1

20-30 minut Stěr bakterií pomocí vatových tyčinek (pod nehty na ruce a na dlaních), inkubace vatových tyčinek v živném agaru při pokojové teplotě po dobu 1 dne – 1 týdne. Růst bakterií se stanovuje podle zakalení živného agaru.

Laboratorní pokus 2

30-45 minut Naočkování bakteriálního roztoku do Petriho misek a vložení koleček napuštěných mýdlem. Po dobu 24-48 hodin bude při pokojové teplotě probíhat další inkubace.

30-45 minut **Diskuse**

V Příprava praktického cvičení

Příprava v laboratoři

Petriho misky byste měli připravit minimálně dvě hodiny před prvním pokusem. Před druhým pokusem je můžete v plastové hadice skladovat až po dobu jednoho týdne v lednici.

- Povolte uzávěry a lahvičky postavte na 20-30 minut do vařící vody, tak aby se agar rozpustil. Voda musí dosahovat až po horní hranu agaru v lahvičkách. Poté lahvičkami zatočte, abyste se ujistili, že je všechn obsah tekutý.
- Agar nechejte v lahvičkách ochladit na 45 °C (tak abyste mohli lahvičky pohodlně uchopit) – nechejte je pomalu vychladnout ve vodní lázni nebo je dejte na několik minut vychladit na vzduch.
- Vydezinfikujte pracovní plochu. Umyjte si ruce.
- Odšroubujte uzávěr lahve a plamenem očistěte její otvor. Obsah rozdělte do pěti Petriho misek. Víčko misky zvedněte jen natolik, kolik je pro naplnění tekutého agaru zapotřebí. Víčko misky zase okamžitě zavřete, aby nedošlo ke kontaminaci.
- Krok 4 zopakujte s ostatními lahvičkami s agarem.
- Lahvičky vložte do odpadního sáčku pro použití v autoklávu.
- Nechejte misky v klidu stát, dokud agar neztuhne.
- Všechny misky popište; uveďte na ně druh agaru a datum.

VI Laboratorní postup

Laboratorní pokus 1

Stěr bakterií pomocí vatových tyčinek (pod nehty na ruce a na dlaních), inkubace vatových tyčinek v živném agaru při pokojové teplotě po dobu 1 dne – 1 týdne. Růst bakterií se stanovuje podle zakalení živného agaru.

Laboratorní pokus 2

Naočkování bakteriálního roztoku do Petriho misek a vložení koleček napuštěných mýdlem. Po dobu 24-48 hodin bude při pokojové teplotě probíhat další inkubace.

VII Další zdroje

- Boyd, R. F. and B. G. Hoert. 1986. *Basic Medical Microbiology*. Little, Brown and Co., Boston.
- Brown, W. E. and R. P. Williams. 1990. Ignaz Semmelweis and the Importance of washing your hands. *The America Biology Teacher* 52(5): 291-294.
- Marshall, J. 1990. „Is Your Soap a Good Antiseptic?“. *Applied Biology and Chemistry*, Unit 7: Disease and Wellness. Center for Occupational Research and Development, Waco, TX.
- Norton, C. F. 1986. *Microbiology*, 2nd ed. Addison-Wesley, Reading, PA.
- Smith, A. L., 1985. *Principles of Microbiology*, 10th ed. Times Mirror/Mosby College Publishing, St. Louis, MO.

Předlohy ke kopírování (pokus + vyhodnocení pro žáky) najdete na
www.conatex.com

**Máte čisté ruce?
[sada pro analýzu rezistence]**



Jméno:

Třída:

Datum:

Úvod

Je účinek nových „antibakteriálních“ mýdel na našich rukách skutečně lepší než účinek tradičního mýdla? Na tuto otázku mohou žáci odpovědět sčtem bakterií ze své ruky a jejich kultivací. Současně mohou otestovat antiseptický účinek čtyř mýdel podle svého výběru.

Dnes už všichni vědí, že mytí rukou je velmi důležité, jak pro osobní hygienu, tak jako prevence infekčních nemocí. Vždycky tomu tak ale nebylo. Až do poloviny 19. století si lékaři myli ruce jen velmi zřídka. Mysleli si, že nemoci vznikají změnou atmosféry kvůli nedostatečné hygieně, a nikdo se necítil za tyto vlivy odpovědný nebo schopný s tím něco udělat.

V roce 1839 Wendell Holmes, lékař z Nové Anglie, prosazoval myšlenku, že horečku omladnic mohou na zdravé nastávající matky přenášet lékaři přecházející mezi pitevnou a jinými odděleními. Navrhoval, aby se lékaři po provedení pitvy převlékli a před vyšetřením pacientek si umyli ruce. Tento návrh však narazil na prudký odpor lékařů.

V roce 1849 začal s umýváním rukou jako antiseptickým opatřením rakousko-uherský lékař Ignác Semmelweis ve Vídni. Také Semmelweis objevil souvislost mezi prováděním pitvy a horečkou omladnic a věřil, že lékaři přímo z mrtvoly přenášejí na ženy jakýsi druh jedu. Ve své nemocnici nutil lékaře a studenty, aby si po každém vyšetření pacienta a po každé pitvě umyli ruce. Počet úmrtí na horečku omladnic se výrazně snížil. Přesto jeho objevy narážely na zuřivý odpor lékařů. Semmelweis zemřel dřív, než jeho nové poznatky převzala medicína. Přesto však svými hygienickými opatřeními významně přispěl k rozvoji porodnictví a chirurgie, mnoho let přes Josephem Listerem a před objevem choroboplodných zárodků Louisem Pasteurem.

Mytí rukou dokáže omezit počet choroboplodných zárodků na kůži. Velké množství zárodků se odstraní už samotným mytím vodou a mechanickým třením, mýdlo pak na ně působí chemicky. Mýdlo má solubilizační účinek, neboť snižuje povrchové napětí vody. Mýdlo se vyrábí z tuků a zásady, např. sodného louhu (hydroxid sodný). Kůže má tukovou vrstvu, ve které jsou spolu s olejnatými kožními sekrety, potem a odumřelými kožními buňkami usídleny choroboplodné zárodky. Voda a mýdlo tuto tukovou vrstvu emulgují na velmi jemné mikroskopické kapky, které se společně s emulgovaným olejem, částicemi nečistot a přichycenými zárodky odplavují pryč.

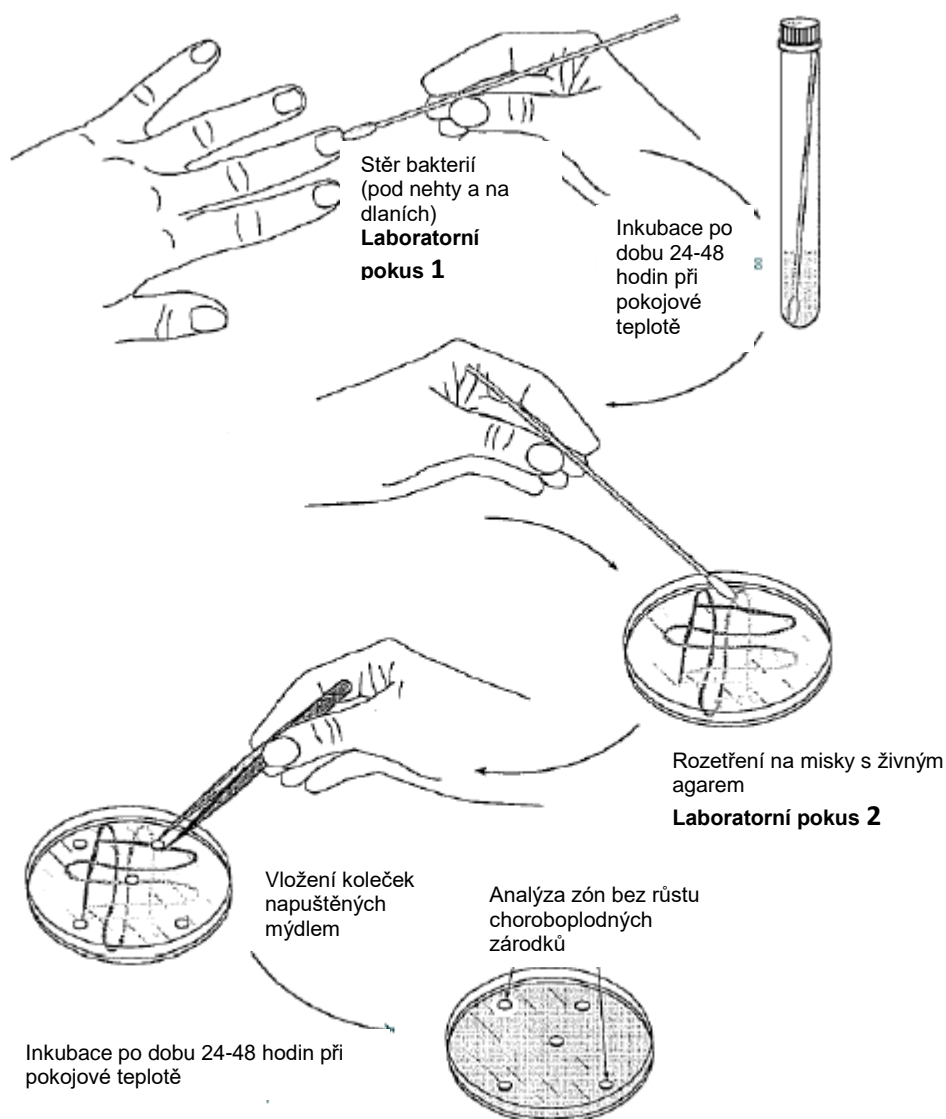
Mýdla se mohou používat k usmrcení choroboplodných zárodků a ke snížení jejich počtu na živých tkáních. Díky obsahu zásaditého sodíku dokážou mýdla usmrtit mnoho zárodků, jejich účinek je však příliš slabý na to, aby účinně odstranila většinu bakterií.

Přibližně 50 % dnes používaných tělových mýdel obsahuje antiseptické chemické látky. Tyto sloučeniny zpomalují křížovou kontaminaci, omezují tělesný zápach a brání vzniku infekcí u menších kožních poranění.

Jak velká čistota je zapotřebí? Zde bychom se měli pokusit najít zdravou střední cestu. Nechceme se vrátit k obyčejům 19. století, ani bychom si neměli vypěstovat fobii z choroboplodných zárodků. Zdraví lidé se mohou běžně infikovat pouze patogenními zárodky, avšak malé děti, staří lidé, nemocní a osoby s oslabeným imunitním systémem se mohou nakazit i nepatogenními zárodky. Proto je při péči o tyto osoby doma, v nemocnicích nebo domovech důchodců nutné dodržovat další hygienická opatření. Avšak mikrobi, kteří se pravidelně objevují v televizních reklamách, patří k běžné flóře našeho těla a zpravidla nezpůsobují žádné problémy. Přesto bychom měli být opatrní, protože nevíme, kdy se dostaneme do kontaktu s takovými původci nemocí, jako jsou *Salmonella* nebo *Shigella* – pak se totiž zanedbávání hygienických pravidel vymstí.

Laboratorní pokus 1: Naočkování a kultivace choroboplodných zárodků z rukou

- Vydezinfikujte pracovní plochu.
- Každý tým si vezme zkumavku na živný roztok a aplikační tyčinku. Živný roztok je čirá kapalina, která se zakalí až při růstu bakterií.
- Každý tým si mezi sebou určí „dárce“ a „sběrače“. „Sběrač“ by si měl před odběrem bakterií pečlivě umýt ruce, „dárce“ ne.
- Bakterie se z rukou „dárce“ a pod jeho nehty stírají vatovou tyčinkou.
- Přitom se špičkou vatové tyčinky přejede přes ruce a pod nehty „dárce“ (viz. obr. 1).



- Poté odstraňte víčko ze zkumavky na živný roztok a vložte do ní tyčinku. Nedotýkejte se přitom otvoru zkumavky. Zkumavku opět těsně uzavřete.
- Na zkumavku napište jméno skupiny a datum.
- Bakteriální kultura ve zkumavkách se bude při pokojové teplotě inkubovat po dobu 1-7 dnů. Růst bakterií je dobře patrný podle zakalení roztoku.
- Po ukončení pokusu si umyjte ruce a pracovní plochu opět sterilizujte.

Laboratorní pokus 2: Otestování účinnosti mýdel

- Připravte 5 pracovišť, každé vybavené sáčkem s papírovými kolečky, pinzetou a nádobou s mýdlem, popř. se sterilní vodou (jako negativní kontrolní vzorek). Pro dosažení tekuté konzistence mýdel stírejte mýdlo vatovou tyčinkou a postupně ho přidávejte do sterilní vody, dokud nebude voda zakalená. Tekutá mýdla není nutné ředit. Připravte si odpadní sáček pro použití v autoklávu, kam po použití vložte zkumavku na živný roztok a vatovou tyčinku.
- Každý tým dostane jednu misku s živným agarem a chomáček vaty napuštěný alkoholem. Na misku napište jméno a datum. Dále zapište do protokolu, kterým mýdlem jste které papírové kolečko (barva) napustili.
- Každý tým použije zkumavky na živný roztok z laboratorního pokusu 1. Je roztok ještě čirý? Pro rozmíchání bakterií přichycených na dně (sediment) zlehka zaklepejte prstem na zkumavku.
- Vatovou tyčinkou odeberte bakterie ze zkumavky a v co největší ploše je rozetřete na živný agar. (K rozetření můžete použít i pipetu a Drigalského špachtli).
- Každý tým otestuje všechny vzorky mýdla a vodu ve svých miskách. Pinzetu je třeba mezi jednotlivými odběry vzorků očistit vatovým tamponem napuštěným alkoholem a tampon uchovat pro další použití.
- Pinzetou vyjměte barevné papírové kolečko a ponořte ho do mýdlového roztoku nebo do vody. Nechejte papír zcela nasáknout tekutinou a přebytečnou tekutinu nechejte odtéct, tak že papír lehce naklopíte proti vnitřní stěně nádoby.
- Sejměte víčko Petriho misky a papírové kolečko položte na povrch živného agaru, tak aby lícovalo s jednou hranou. Obr. 1 ukazuje správnou polohou papíru na živné půdě. Okamžitě po umístění papírového kolečka nasadte na Petriho misku opět víčko.
- Kroky 7-9 zopakujte s dalšími mýdly, popř. vodou.
- Nakonec nechejte bakteriální kulturu v miskách inkubovat při pokojové teplotě po dobu 24-48 hodin.

- Po inkubaci vyhodnoťte růst bakterií.
- Většinou velikost oblastí, kde nedošlo k růstu choroboplodných zárodků (tzn. průměr čirých oblastí), měří několik milimetrů. Tyto výsledky zanepte do tabulky.
- Petriho misky vložte do odpadního sáčku pro použití v autoklávu k dezinfekci.
- Prodiskutujte dosažené výsledky s přihlédnutím k antibakteriálním přísadám obsaženým v mýdlech.

Diskuze

Typ mýdla	Barva kolečka	Oblast (mm) bez růstu choroboplodných zárodků	Látky obsažené v antibakteriálním mýdle
Voda (kontrolní vzorek)			
Vzorek 1			
Vzorek 2			
Vzorek 3			
Vzorek 4			
Vzorek 5			