



KUTATÁSI JELENTÉS

**A Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási
Közalapítvány Nanotechnológiai Kutatóintézete
részére**

*DrJuice termékek
– Ezüstkolloid Hydrogél és Kolloid oldat –
hatásvizsgálata*

2010.



KIEGÉSZÍTŐ KUTATÁSI JELENTÉS

**Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közalapítvány
Nanotechnológiai Kutatóintézete részére**


A Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közalapítvány Nanotechnológiai Kutatóintézete és a DEAK Zrt. között 2009. április 14-én létrejött kutatási szerződéshez tartozóan az alábbi jelentés tartalmazza a bakteriális kolonizáció csökkentésére szolgáló Ezüstkolloid Hydrogél és Kolloid oldat klinikai vizsgálatának eredményét.

1. Vizsgált termékek:
Ezüstkolloid Hydrogél
Kolloid oldat

2. Előzetes vizsgálatok:
A termék hatékonyságának vizsgálata in vitro baktérium tenyészeteken.
A termék hatékonyságának vizsgálata in vivo humán bőrön, a baktériumgátlás vizsgálata.

3. A vizsgálat kivitelezéséhez a Szegedi Tudományegyetem Orvostikai Bizottsága 2009. június 29-i ülésén hozzájárult.

Az Egészségügyi Tudományos Tanács Tudományos és Kutatásetikai Bizottsága az „Ezüstkolloid tartalmú orvostechnikai eszköz alkalmazása a bőr és a nyálkahártya védekezőképességének fokozására” című beadványt 2009. szeptember 23-i ülésén megtárgyalta és állásfoglalása szerint hozzájárult a kutatás elvégzéséhez.


Prof. Dr. Kemény Lajos
Divízióvezető
Egészségipari Divízió

2010.

Ezüstkolloid tartalmú orvostechnikai eszköz alkalmazása a bőr és a nyálkahártya védekezőképesség fokozására

Vizsgálati módszer:

Az in vivo vizsgálatokat 20 fő egészséges önkéntes bevonásával végeztük el.

A tenyésztéshez alkalmazott táptalaj: véres agar (Columbia AGAR 5% birkavérrel)

Vizsgálati minta: ezüstkolloid oldat (DrJuice, gyári kiszerelés, 20ppm ezüst),
ezüstkolloid hydrogél (DrJuice, pH6,8, 13ppm ezüst)

Vizsgálati koncentráció: tömény, hígítatlan oldat

Vizsgálati hőmérséklet: a kezeléseket szobahőmérsékleten végeztük, a tenyésztés 37°C-os termosztátban történt.

Inkubálási idő: 24-48 óra

I. A vizsgálat menete

1. A bőrön végzett vizsgálat (alkar belső felületén végeztük)



A vizsgálatokhoz üvegből készült, 3 cm átmérőjű, kb. 1cm magasságú, üveg karikát használtunk, amelyet alkoholos leégetéssel sterilizáltunk minden esetben. Két hasonló méretű üvegarika egy közös nyélre volt rögzítve úgy, hogy a két karikát egyszerre lehetett az alkarra helyezni, és a közös nyéllel feszesen tartani. Ilyen módon egy időben tudtuk elvégezni az ezüstkolloid oldat, és az ezüstkolloid tartalmú gél vizsgálatát. (1. ábra)

1. ábra

1-es minta: (kiindulási érték)

A vizsgálandó felületre (alkar belső része) felhelyeztünk egy üvegből készült, 3 cm átmérőjű, kb. 1cm magasságú, üveg karikát. Ebbe 3 ml steril, 0,1% Triton-X tartalmú PBS-t mértünk. A folyadékot steril pipettával 15x felszuszpendáltuk, majd mintát vettünk a kezelt felületről, oly módon, hogy 0,1% Triton-x tartalmú PBS oldatban megnedvesített, steril vattatamponnal áttöröltük a felületet, majd a tampon visszahelyeztük a 2 ml steril, 0,1% Triton-X tartalmú PBS-t tartalmazó csőbe. A folyadékot felráztuk, majd 30perc várakozás után, 500 µl mintát mértünk a táptalajra, és steril üvegbottal szélesztettük.

2-es minta: Ezüstkolloid kezelés

Ráhelyeztük a két sterilizált üveg karikát az alkar belső részére. A felső karikába 3 ml ezüstkolloid tartalmú (DrJuice, gyári kiszerelés, 20ppm ezüst tartalom) oldatot mértünk steril pipettával, amit 6 percig tartottuk a kezelendő felületen. 6 perc elteltével levettük a karikákat, lecsorgattuk az oldatot a kar elfordításával, és leitattuk a felesleget a kezelt terület mellett. 10 perc várakozás után, mintát vettünk a kezelt felületről, oly módon, hogy 0,1% Triton-x tartalmú PBS oldatban megnedvesített, steril vattatamponnal áttöröltük a felületet, majd a tampon visszahelyeztük a 2 ml steril, 0,1%

Triton-X tartalmú PBS-t tartalmazó steril csőbe. A folyadékot felráztuk, majd 30perc várakozás után, 500 µl mintát mértünk a táptalajra, és steril üvegbottal szélesztettük.

3-as minta: Ezüst gél kezelés

Az ezüstkolloid hidrogél kezelést egy időben végeztük az ezüstkolloid kezeléssel. Az alkarra helyezett, sterilizált, alsó üveg karikába 3ml ezüst tartalmú gélt (ezüstkolloid hidrogél, DrJuice, pH6,8, 13ppm ezüst) mértünk, és egy steril üvegbottal egyenlő vastagságúra szélesztettük a vizsgált felületen. 6 perc elteltével levettük a karikákat, óvatosan letöröltük a gélt, majd 10perc várakozás után, mintát vettünk a kezelt felületről, oly módon, hogy 0,1% Triton-x tartalmú PBS oldatban megnedvesített, steril vattatamponnal áttöröltük a felületet, majd a tampon visszahelyeztük a 2 ml steril, 0,1% Triton-X tartalmú PBS-t tartalmazó steril csőbe. A folyadékot felráztuk, majd 30perc várakozás után, 500 µl mintát mértünk a táptalajra, és steril üvegbottal szélesztettük.

2. Szájnyálkahártyán végzett vizsgálat



4-es minta: Száj nyálkahártya (kiindulási érték)

A nyelv felületét 10x áttöröltük steril, garattörő pálcával (2. ábra), amit 5 ml 0,1% Triton-x tartalmú, PBS oldatot tartalmazó, steril csőbe tettünk. Összeráztuk, majd 30 perc várakozás után, 1000x hígítottuk a vizsgálati anyagot steril, 0,1% Triton-x tartalmú PBS-ben, és ebből 500 µl mintát mértünk a táptalajra, és steril üvegbottal szélesztettük.

2. ábra

5-ös minta: Ezüstkolloid oldat öblögetés után

5 ml ezüstkolloid oldattal 30 másodpercig tartó öblögetés végeztek a vizsgált személyek. 10 perc elteltével a nyelv felületét 10x áttöröltük garattörő pálcával, amit 5 ml 0,1% Triton-x tartalmú, PBS oldatot tartalmazó, steril csőbe tettünk. Összeráztuk, majd 30 perc várakozás után, 1000x hígítottuk a vizsgálati anyagot steril, 0,1% Triton-x tartalmú PBS-ben, és ebből 500 µl mintát mértünk a táptalajra, és steril üvegbottal szélesztettük.

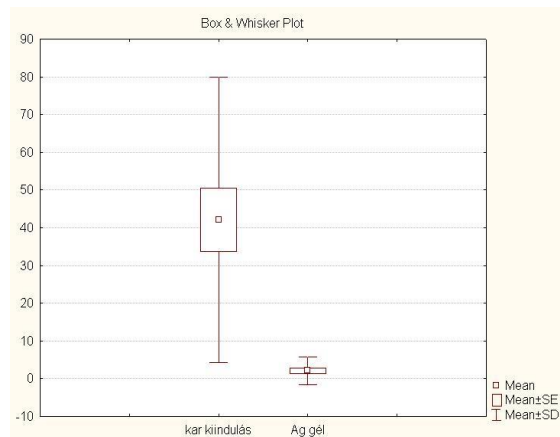
A tenyészeteket 37°C-ra termosztátba helyeztük, majd 24 és 48 óra múlva értékeltük. Minden esetben a kitenyészett baktériumtelepeket számoltuk.

II. Eredmények

Statisztikai kiértékeléshez a Wilcoxon Matched Pairs próbát alkalmaztuk, amelyet a Statistica 8.0 programmal készítettünk el. Az 3. ábrán bemutatjuk az alkaron történt ezüstkolloid oldat kezelés után, 24 óra inkubációs idő elteltével kapott eredményeinket. Jól látszik, hogy a kezelés erősen csökkentette a baktériumtelepek számát. Az egyes vizsgálati személyek mintáiban, a kitenyészett baktériumtelepek száma közötti szórás viszonylag nagy volt, főleg a kiindulási értékek vonatkozásában, a kezelés azonban minden esetben határozott baktériumölő képességgel rendelkezett, amely csökkenés minden esetben szignifikáns volt. Telepszámolás alapján a kiindulási érték átlaga: 42,1, míg az ezüstkolloid oldattal történt kezelés utáni telepszám átlaga 24 órás tenyésztést követően: 8,35. A kezelés a baktérium- telepek 80,3 százalékát elpusztította. A 4. ábrán a 48 óra tenyésztést követő telepszám alakulást ábrázoltuk. A kiindulási érték átlaga: 71.45. Ez az

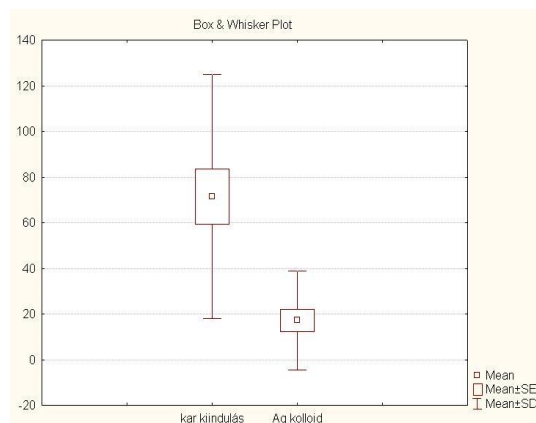
érték jól mutatja, hogy számos, 24 óra inkubációs idő letelte után, szemmel nem látható baktériumtelep is felnövekedett. Az ezüstkolloid oldattal történt kezelés utáni telepszám átlaga 48 órás tenyésztést követően: 17.25. Az eredmény azt mutatja, hogy az ezüstkolloid kezelés hatásosnak bizonyult a baktériumok elpusztításában, hiszen a mikroorganizmusok 75.86 százalékát végérvényesen elpusztította.

Az ezüstkolloid hidrogél (DrJuice, pH6,8, 13ppm ezüst) kezelés baktériumokra kifejtett hatása hasonló volt az ezüstkolloid oldat használata után kapott eredményekhez. A bőrön történő kezelés kivitelezésére rendkívül alkalmas volt. A baktériumok pusztulására vonatkozó eredményeinket az 5. és 6. ábrán mutatjuk be.



3. ábra

Ezüstkolloid oldat kezelés után történt baktériumtenyészet telepszáma, a kiindulási értékhez viszonyítva, 24 órás tenyésztési időt követően.

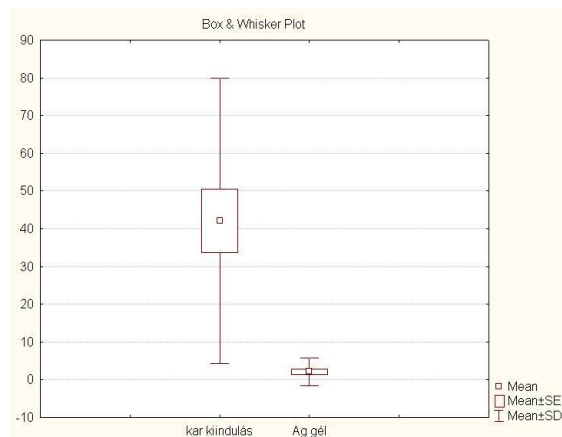


4. ábra

Ezüstkolloid oldat kezelés után történt baktériumtenyészet telepszáma, a kiindulási értékhez viszonyítva, 48 órás tenyésztést követően.

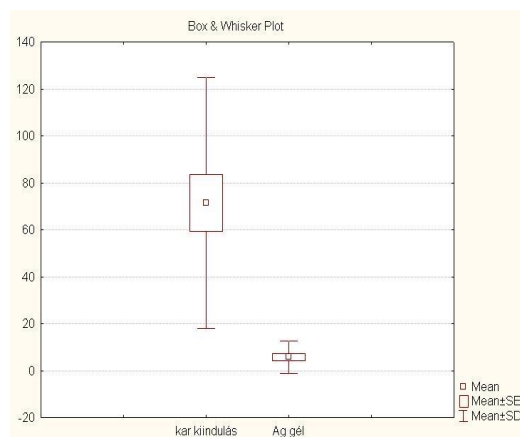
A 5. ábrán a 24 órás inkubálást követően kitenyészett baktériumtelepek számának alakulását ábrázoltuk, a kezeletlen értékekhez viszonyítva. Ebben az esetben is a statisztikai értékeléshez a Wilcoxon Matched Pairs próbát alkalmaztuk, amelyet a Statistica 8.0 programmal készítettünk el. Az 5. ábrán bemutatjuk az alkaron történt ezüstkolloid hidrogél kezelést követően, 24 óra

inkubációs idő elteltével kapott eredményeinket. Jól látszik, hogy a kezelés erősen csökkentette a baktériumtelepek számát. Telepszámolás alapján a kiindulási érték átlaga: 42,1, míg az ezüstkolloid hidrogél kezelés utáni telepszám átlaga 24 órás tenyésztést követően: 2,0. Az ezüstkolloid hidrogél alkalmazása a baktériumok 95.25 százalékát elpusztította. A 6. ábrán a 48 óra tenyésztést követő telepszám alakulást ábrázoltuk. A kiindulási érték átlaga: 71,45. Ez az érték jól mutatja, hogy számos, 24 óra inkubációs idő letelte után, szemmel nem látható baktérium telep is felnövekedett. Az ezüstkolloid hidrogéllal történt kezelés utáni telepszám átlaga 48 órás tenyésztést követően: 5.75. A kezelés a baktériumok 91.95 százalékát végérvényesen elpusztította.



5. ábra

Ezüstkolloid hidrogél kezelés után történt baktériumtenyészetek telepszáma, a kiindulási értékhez viszonyítva, 24 órás tenyésztési időt követően.



6. ábra

Ezüstkolloid hidrogél kezelés után történt baktériumtenyészetek telepszáma, a kiindulási értékhez viszonyítva, 48 órás tenyésztési időt követően.

A 7. ábrán egy, az alkarról készített, kiindulási értéket ábrázoló, tenyészet képét mutatjuk be. A 8. ábrán az ezüst kolloid oldat kezelés után készült tenyészet képét, 24 órás inkubáció után, a 9. ábrán az ezüstkolloid hidrogél kezelés utáni tenyészet 24 órás inkubációt követő alakulását prezentáljuk.



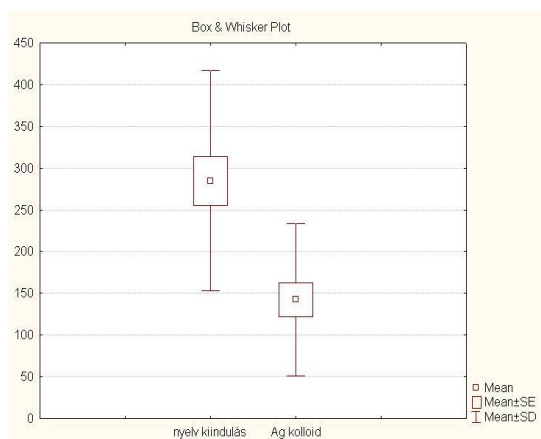
7. ábra

8. ábra

9. ábra

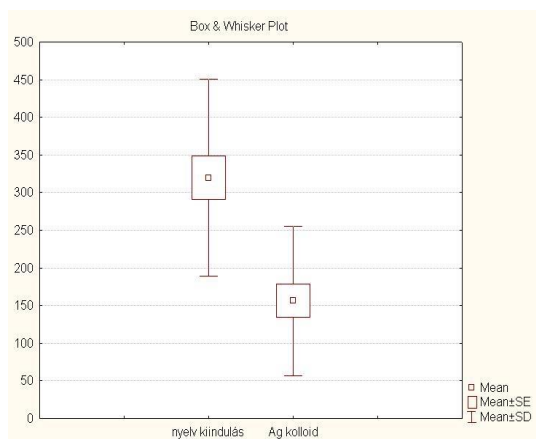
A száj nyálkahártyáról végzett vizsgálatok eredménye hasonló eredményt mutat az előzőekhez. Ebben az esetben csak az ezüstkolloid oldattal végeztünk vizsgálatokat. A nyelvről vett mintákból minden esetben normál flóra tenyésztett. 5 esetben 3-8 telep *Streptococcus béta haemolyticus* tenyésztett. Az ezüstkolloid oldattal történt öblítés a *Streptococcus* telepeket is arányosan csökkentette, a normál flórát alkotó baktérium-telepekhez viszonyítva. A 10. ábrán, a kiindulási értékhez viszonyítva az ezüstkolloid oldat öblítést követő baktériumtelepszám alakulását ábrázoltuk. A statisztikai értékeléshez a Wilcoxon Matched Pairs próbát alkalmaztuk, amelyet a Statistica 8.0 programmal készítettünk el. A kezelés előtti, 24 órás inkubációt követő baktériumtelep-szám átlaga 284.8 volt, míg a kezelést követően 24 órás inkubáció elteltével a telepszám átlaga 142.55. Az ezüstkolloid oldat öblögetés után a baktériumok közel 50%-a (49.95%) pusztult el.

A 11. ábrán ábrázoltuk a 48 órás inkubációt követő baktériumszám alakulását, amelyet az ezüstkolloid oldat öblítés után készítettünk. A kiindulási érték átlaga ebben az esetben 319.85 baktériumtelep volt, amely a kezelést követően 156.15 baktériumtelepre csökkent. Az ezüstkolloid oldattal történt öblögetés tehát a baktériumtelepek 51.48 százalékát elpusztította.



10. ábra.

Ezüstkolloid oldat öblögetés után történt baktériumtenyésztések telepszáma, a kiindulási értékhez viszonyítva, 24 órás tenyésztési időt követően, a száj nyálkahártyáról.



11. ábra

Ezüstkolloid oldat öblögetés után történt baktériumtenyészetek telepszáma, a kiindulási értékhez viszonyítva, 48 órás tenyésztési időt követően, a száj nyálkahártyáról.

12. ábrán a száj nyálkahártyáról készített kontroll tenyészetet mutatjuk be. A 13. ábrán az ezüstkolloid oldat kezelés után készült tenyészet képét, 24 órás inkubáció után készült képét mutatjuk be.



12. ábra

13. ábra

IV. Mellékhatások

A kar bőrén végzett vizsgálatok során az ezüstkolloid oldat használatakor mellékhatást nem tapasztaltunk.

Az ezüstkolloid tartalmú gél alkalmazása során, egy esetben kifejezett bőrpírt figyeltünk meg, és egy esetben enyhe bőrpír keletkezett a kezelt felületen. Mind a két személynél a bőrpír néhány perc alatt elmúlt, gyógykezelést nem kellett alkalmazni egyik esetben sem.

A 20 vizsgált személynél az ezüstkolloid oldattal történt 30 másodperces öblítés senkinek nem okozott kellemetlen érzést, és nem volt megfigyelhető semmilyen mellékhatás.

V. További vizsgálatok

Két esetben további mintákat is vettünk a kar bőréről a kezelést követően 1 óra, illetve 2 óra múlva. Azt tapasztaltuk, hogy az ezüstkolloid oldattal kezelt területen már az egy óra múlva számolt értékek megközelítik a kiindulási értéket, míg ezüstkolloidot tartalmazó géllal kezelt területen, a kezelést követően, 1 óra múlva még megközelítően 20%-kal alacsonyabb telepszámot kaptunk, és két óra elteltével vált hasonlónak a telepek száma a kiindulási értékhez. Ezeket a vizsgálatokat csak tájékoztató jelleggel végeztük, két vizsgálatból értékelhető eredményt levonni nem szándékozunk.

Szájnyálkahártya vizsgálataink esetében, két alkalommal elvégeztük a vizsgálatot olyan módon, hogy a vizsgálat személyek 60 másodpercig tartották az ezüstkolloid oldatot a szájukban, de nem tapasztaltunk változást az oldat hatásfokában a 30 másodperces öblítéshez viszonyítva.

VI. Tenyésztett baktériumok típusai

Karról legnagyobb arányban *Staphylococcus albus* tenyésztett, mellette *Staphylococcus aureus* volt megfigyelhető. Négy esetben *E. coli* tenyésztett 1-3 telep mennyiségben, és két esetben 1-2 *Streptococcus B haemolyticus* telepet számoltunk. Az ezüstkolloid mind oldat, mind hidrogél formájában az összes típusú baktériumot arányosan elpusztította.

A nyelvről vett mintákból minden esetben normál flóra tenyésztett. 5 esetben 3-8 telep *Streptococcus béta-haemolyticus* tenyésztett. Az ezüstkolloid öblítés a *Streptococcus* telepeket is arányosan csökkentette.

VII. Eredmények értékelése

A vizsgálatban részt vevő személyeknek nem okozott semmilyen negatív érzést a kezeléseik alkalmazása. Több vizsgált személy kiemelte a hidrogél kellemes illatát. Eredményeink azt mutatják, hogy mind a bőr felületén, mind a száj nyálkahártyáján az ezüstkolloid baktériumölő hatással rendelkezik.

1. számú melléklet

	Kar Kiindulási érték	Ag kolloid	Ag gél	Nyelv Kiindulási érték	Ag Kolloid
24h	10	0	1	234	113
48h	10	2	2	242	149
24h	28	8	4	313	182
48h	30	13	5	387	191
24h	15	3	7	392	138
48h	21	2	8	428	145
24h	17	3	15	319	308
48h	17	3	26	387	389
24h	124	20	0	227	132
48h	156	28	17	248	144
24h	122	3	1	184	133
48h	135	5	3	192	147
24h	68	42	1	238	110
48h	142	53	6	242	112
24h	65	12	1	282	86
48h	82	18	3	312	104
24h	11	0	0	102	48
48h	13	0	2	119	53
24h	24	0	0	82	27
48h	31	1	2	96	33
24h	2	0	0	238	111
48h	102	11	0	263	121
24h	17	1	1	224	72
48h	42	3	2	308	103
24h	72	23	3	566	67
48h	72	33	4	574	71
24h	16	5	0	208	81
48h	72	32	3	207	82
24h	92	23	5	324	182
48h	175	81	18	412	186
24h	42	5	0	582	162
48h	39	1	1	562	174
24h	67	16	0	412	382
48h	126	43	0	469	391
24h	19	0	0	129	62
48h	107	11	5	235	65
24h	18	2	2	312	283
48h	44	2	7	385	291
24h	13	1	1	328	172
48h	13	3	1	329	172