

PRACA POGLĄDOWA

# BEZPIECZEŃSTWO I WYKORZYSTANIE NANOCZĄSTKOWEGO SREBRA W ZAKAŻENIACH O ETIOLOGII BAKTERYJNEJ

## SAFETY AND USE OF NANOPARTICLE SILVER IN DISEASES WITH BACTERIAL ETIOLOGY

✉ MARTA PAWŁOWSKA<sup>1,2,3</sup>, ANDRZEJ STAŃCZAK<sup>4</sup>, ŁUCJA PIJARCZYK<sup>2</sup>, IZABELA PAPKA<sup>2</sup>, PRZEMYSŁAW CZAJKA<sup>2</sup>, PIOTR HUDEMOWICZ<sup>5</sup>, MAREK PIĘTA<sup>5</sup>, ANNA M. GRUDNIAK<sup>6</sup>

1 Nano-Tech Polska

2 ACC Chemicals

3 Wyższa Szkoła Inżynierii Zdrowia w Warszawie

4 Zakład Farmacji Aptecznej Katedry Farmacji Stosowanej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

5 Hexanova

6 Zakład Genetyki Bakterii Instytutu Mikrobiologii Wydziału Biologii Uniwersytetu Warszawskiego



Marta Pawłowska  
ul. Grochowskiego 7 lok. 151,  
05-500 Piaseczno  
marta.pawłowska@acc.waw.pl

Wpłynęło: 23.11.2018  
Zaakceptowano: 21.12.2018  
Opublikowano on-line: 31.12.2018

Cytowanie: Pawłowska M, Stańczak A, Pijarczyk Ł i wsp. Bezpieczeństwo i wykorzystanie nanocząstkowego srebra w zakażeniach o etiologii bakteryjnej.

Zakażenia XXI wieku 2018;1(6):291–294.

10.31350/zakazenia/2018/6/Z2018051

Copyright by MAVIPURO Polska Sp. z o.o., Warszawa, 2018.  
Wszystkie prawa zastrzeżone. Żadna część niniejszej publikacji nie może być powielana i rozpowszechniana w jakiegokolwiek formie i w jakikolwiek sposób bez zgody wydawcy.

### STRESZCZENIE:

W ostatnich latach szczególną uwagę poświęcono badaniom nad metalami szlachetnymi i półszlachetnymi o rozmiarze nano. Odkryto bowiem, że substancje przeniesione do tej skali wykazują znakomite właściwości przeciwdrobnoustrojowe, zwłaszcza antybakteryjne. W licznych badaniach wykazano, że nanometale są skuteczne już w bardzo niskich stężeniach, natomiast nie stwierdzono ich toksyczności dla komórek ludzkich. Intensywność działania oraz możliwość długotrwałego stosowania, a także szerokie spektrum oddziaływania na mikroorganizmy to główne zalety nanometali. Liczne procesy dezaktywacji mikroorganizmów utrudniają wytworzenie mechanizmów stanowiących obronę przed działaniem nanosrebra. Nanocząstki srebra mogą być środkiem antybakteryjnym alternatywnym wobec chemioterapeutyków dotychczas stosowanych w leczeniu zakażeń bądź zapobieganiu infekcjom.

**SŁOWA KLUCZOWE:** srebro, nanocząstki, nanotechnologia, środek antybakteryjny

### ABSTRACT:

In the recent years, particular attention has been devoted to research on precious and semi-precious metals in the nano size range. It was found that substances transferred to this scale have excellent antimicrobial properties, in particular antibacterial properties. Many studies have shown that nanometals are effective already at very low concentrations, while showing no toxicity to human cells. The intensity of action, but also the possibility of long-term use, as well as the broad spectrum of action on microorganisms are the main advantage of nanometals. A multitude of processes of inactivation of microorganisms makes it difficult to create defense mechanisms for the operation of nanosilver. Silver nanoparticles may be a promising alternative to previously used chemotherapeutic agents in the treatment or prevention of infections.

**KEY WORDS:** silver, nanoparticles, nanotechnology, antibacterial agent

Badaniom nad metalami szlachetnymi i półszlachetnymi o rozmiarze nano poświęca się w ostatnich latach szczególną uwagę. Zaobserwowano, że substancje przeniesione do tej skali wykazują znakomite właściwości, zwłaszcza antybakteryjne, jak również przeciwgrzybicze, ponadto wykazano, że nanometale są skuteczne już w bardzo niskich stężeniach, natomiast nie stwierdzono ich toksyczności dla komórek ludzkich [1].

Znakomite właściwości srebra były znane już w starożytności. W celach antyseptycznych oraz w medycynie stosowano głównie srebro metaliczne oraz jego związki (azotan srebra lub sulfadianizynę srebra). Dopiero w XX w., kiedy to rozwinął się przemysł farmaceutyczny i rozpoczęto produkcję antybiotyków na dużą skalę, droższy i mniej dostępny kruszec zaczęto stosować rzadziej. Od XVII w. srebro było używane do dezynfekcji wody i opisywane jako uniwersalny środek leczniczy [1, 2]. Od końca XIX w. aż do czasów współczesnych stosowano 1% roztwór azotanu srebra  $\text{AgNO}_3$  jako środek antyseptyczny do przemywania oczu noworodków. Obecnie ze względu na poprawę stanu higieny oraz możliwość większej kontroli ewentualnych zakażeń zaniechano takich praktyk prewencyjnych. W roku 1901 pierwszy raz opisano użycie koloidu srebra jako wewnętrznego środka antyseptycznego [3], natomiast w 1920 r. FDA (Food and Drug Administration) uznała koloidy srebra za środki antybakteryjne, co umożliwiło ich powszechne stosowanie. W roku 2012 BNF (The British National Formulary) wymienia 40–95% azotan srebra jako środek do zewnętrznego stosowania na niektóre choroby skórne, np. brodawki, natomiast 1% roztwór sulfadiazyny srebra jako dobry środek do krótkotrwałego leczenia oparzeń i odleżyn [4].

Przez wiele lat srebro było wykorzystywane również w stomatologii, głównie w wypełnieniach amalgamatowych, ze względu jednak na małą plastyczność materiału oraz interakcje srebra z surowicą krwi, czego skutkiem było ciemnienie zęba, powoli zostało ono wyparte przez wypełnienia polimerowe. W roku 2011 otrzymano eksperymentalny kompozyt dentystyczny, który zawierał związki srebra [5], a badania potwierdziły jego działanie antypróchnicowe. W roku 2012 uzyskano polimerowe wypełnienie zawierające nanocząstki o właściwościach antybakteryjnych [6]. Przeprowadzone w 2012 r. testy *in vitro* oraz *in vivo* wykazały ponad wszelką wątpliwość działanie przeciwpróchnicowe związków srebra, lecz autorzy badań nie byli w stanie ustalić dokładnego mechanizmu tego działania.

Ze względu na antybakteryjne właściwości srebra stosowano również w opatrunkach przeznaczonych do leczenia poparzonej skóry [7, 8, 9]; badania wykazały, że srebro penetrowało głębiej położone tkanki. Natomiast analogiczne badania przeprowadzone na nieuszkodzonej skórze wykazały niski stopień przenikania do głębszych warstw zdrowej skóry.

Efektywność i skuteczność działania srebra zależy w dużym stopniu od rodzaju nanocząstki oraz jej kształtu, a także

od zastosowanych kompleksów lub stabilizatorów zapobiegających aglomeracji nanocząstek. Im mniejsze cząstki, tym większa skuteczność ich działania, wzrasta bowiem wówczas ich aktywna powierzchnia i zdolność oddziaływania na mikroorganizmy. Stosunek powierzchni aktywnej w nanocząstce do jej masy jest wysoki, a to zdecydowanie poprawia działanie antybakteryjne nawet przy niskich stężeniach, zwiększa również zdolność wiązania i przenoszenia innych związków.

Badania antybakteryjnych właściwości nanocząstek potwierdzają ich dużą skuteczność, a także niską aktywność hemolityczną w porównaniu z obecnie stosowanymi lekami o działaniu antybakteryjnym. Właściwości te wynikają między innymi z zaburzenia przez nanocząstki integralności osłon komórkowych. Nanosrebro katalizuje procesy utleniania, dzięki temu materiał genetyczny komórki mikroorganizmu ulega utlenieniu, co doprowadza do śmierci komórki.

W ostatnich latach obserwuje się intensywny wzrost oporności bakterii, wirusów i grzybów na klasyczne terapie antybakteryjne, antywirusowe i antygrzybicze, dlatego wciąż poszukuje się alternatywnych metod zwalczania drobnoustrojów. Wydaje się, że nanocząstki metali (NPS) mogą zastąpić mykotyki czy antybiotyki, ponieważ zakres ich działania jest szeroki nawet w niskich stężeniach.

Nanocząstki srebra oprócz działania antybakteryjnego wykazują również działanie przeciwzapalne, które polega na hamowaniu czynników prozapalnych oraz aktywacji w ich komórkach szlaku apoptotycznego.

Według danych z piśmiennictwa srebro i jego związki cechuje duża aktywność w zwalczaniu takich mikroorganizmów, jak *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata* [10, 11, 12, 13], a także działanie bakterio- i grzybobójcze.

Srebro jest zdolne do silnej interakcji z resztami fosforanowymi, imidazolowymi, sulfhydrylowymi oraz karboksylowymi wchodzącymi w skład białek oraz kwasów nukleinowych [14]. Nanosrebro reaguje również z peptydoglikanem obecnym w ścianach komórkowych bakterii. Ze względu na odmienną budowę komórek eukariotycznych nanosrebro nie reaguje z ich komórkami.

W przeciwieństwie do jonów srebra nanocząstki wykazują silną tendencję do agregacji, która powoduje, że tracą swoje właściwości. Natomiast jony srebra ze względu na obecność ładunku cechuje wysokie powinowactwo do grup funkcyjnych wchodzących w skład także komórek ludzkich. Dlatego też wciąż trwają prace mające na celu stworzenie cząstek o silnych właściwościach antybakteryjnych i jednocześnie bezpiecznych dla komórek eukariotycznych. Cząstki te nie ulegałyby agregacji prowadzącej do utraty właściwości fizykochemicznych i w rezultacie do zmniejszenia aktywności biologicznej. Sposobem na rozwiązanie tego

problemu i zachowanie wysokiej skuteczności nanopreparatów jest immobilizacja nanocząstek srebra na nośnikach, np. dwutlenku tytanu [15]. Jednym z takich nośników jest już stosowany i dostępny na rynku kompleks TIAB (titanium-argentum-bezoicum, tytan-srebro-chlorek benzalkoniowy), w którym jony srebra są połączone z nanokryształami dwutlenku tytanu za pomocą wiązania kowalencyjnego. Współdzielenie elektronów, charakterystyczne dla wiązań kowalencyjnych, sprawia, że w kompleksie występują jedynie formy jonowe srebra ( $Ag^+$ ). Chlorek benzalkoniowy zastosowany w kompleksie ma bardzo podobny mechanizm antybakteryjny co jony srebrne, dlatego też można zaobserwować synergiczne działanie obu substancji i wzmocnienie działania antyseptycznego – wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową i szerokie spektrum działania [16]. Testy pokazują duży większy zakres działania kompleksu TIAB niż powszechnie używana chlorheksydyna. Skuteczność tę potwierdzono, wyznaczając wartość MIC, która w przypadku srebra i jego kompleksów była dużo niższa niż chlorheksydyny [17].

Od kilku lat grupa naukowców i lekarzy zajmuje się badaniem antybakteryjnych i antygrzybiczych właściwości nanometali otrzymanych w technologii aXonnite®. Badania prowadzone w Zakładzie Genetyki Bakterii UW wykazały wysoką wrażliwość bakterii na nanocząstki srebra: *Listeria monocytogenes* MIC – 8  $\mu g/mL$ , *Pseudomonas aeruginosa* MIC – 1  $\mu g/mL$ . Badane preparaty aXonnite® wykazywały również silne działanie na biofilm bakteryjny [18].

Skuteczność nanocząstki aXonnite® badano wobec 30 klinicznych i środowiskowych szczepów *Enterococcus* spp., prezentujących różne wzory zjadliwości i oporności. Badania wykazały, że minimalne stężenie hamujące (MIC) dla wszystkich szczepów wynosiło od 3,125  $\mu g/mL$  do 0,39  $\mu g/mL$ . Izolaty bardziej odporne na AgNPs (o stężeniach 3,125  $\mu g/mL$  lub 1,56  $\mu g/mL$ ) były jednocześnie bardziej odporne na badane antybiotyki [19].

Pojawienie się szczepów wirusów opornych na działanie leków, np. HIV i HCV, mobilizuje naukowców do poszukiwania nowych metod zwalczania infekcji wirusowych. Nanotechnologia dzięki manipulacji wielkością, kształtem i stężeniem nanocząstek wraz z zastosowaniem nanosrebra lub jego kompleksów daje obecnie duże możliwości zwalczania różnego rodzaju mikroorganizmów.

Szczególnie interesujące właściwości, jak już wspominało, ma srebro, wykazuje ono dużą aktywność w zwalczaniu wielu bakterii, grzybów oraz wirusów, takich jak: HIV, HBV, HPV, HSV [20, 21]. W większości przypadków może to być bezpośrednio oddziaływanie nanocząstki na białka powierzchniowe wirusa. Oprócz tego nanocząstki mogą dostać się do wnętrza komórki i blokować replikację komórki, co prowadzi do jej śmierci [20].

Główne zalety nanometali to nie tylko intensywność ich działania, ale również możliwość długotrwałego stosowania,

a także wspomniane już wcześniej szerokie spektrum działania; te cechy nanometali utrudniają wytworzenie mechanizmów dezaktywujących ich działanie.

Oporności na antybiotyki, typowej dla enterokoków, można zapobiec przez zastosowanie nanocząstek pokrytych antybiotykami. Użycie nanocząstek wydaje się doskonałą metodą docierania do miejsca infekcji i unikania pobierania antybiotyku przez sąsiadujące tkanki. Nanocząstki srebra mogą być środkiem antybakteryjnym alternatywnym wobec chemioterapeutyków dotychczas stosowanych w leczeniu zakażeń enterokokowych oraz w zapobieganiu infekcjom.

Potencjalne narażenie osób stosujących terapie z wykorzystaniem nanocząstkowego srebra zależy od drogi podania i ewentualnej absorpcji srebra w miejscu podania. Wychwytwanie nanomateriałów i absorpcja przez skórę jest albo bardzo niska, albo w ogóle nie występuje.

Według danych z piśmiennictwa nanocząstki srebra w przeciwieństwie do srebra jonowego nie ulegają biokumulacji w organizmach wyższych, w związku z tym nie powodują groźnej dla ludzi choroby – argyrii. W niektórych badaniach *in vitro* wykazano szkodliwy efekt cząstek nanosrebra, jednak wielu badaczy [22] zgadza się z tezą, że genotoksyczność jest wywoływana przez obecne w mieszaninie dodatki, które mają zapobiegać aglomeracji; ryzyko to może być wyeliminowane np. przez dokładne wymywanie. W badaniach *in vivo* toksyczność nanosrebra nie została potwierdzona [23]. Ponadto badania cytotoksyczności oraz genotoksyczności przeprowadzone w Narodowym Instytucie Leków potwierdzają bezpieczeństwo stosowanych metali aXonnite®.

Ponieważ choroby skórne i nabłonkowe występujące w miejscach intymnych wciąż są trudnym tematem, intensywnie poszukuje się nowych rozwiązań i metod leczenia ran, szczególnie dotyczy to stworzenia idealnego opatrunku. Opatrunek przeznaczony do leczenia ran przewlekłych, takich jak: oparzenia, rany cukrzycowe, powinien wykazywać działanie wobec wysięków i zapewniać mikrośrodowisko sprzyjające procesom naprawczym. W przypadku ran krytycznie skolonizowanych opatrunki powinny penetrować przez biofilm i powodować redukcję patogenów. Badania wykonane na cząstkach aXonnite® potwierdzają możliwość penetracji cząstek do wnętrza warstwy biofilmu, co jest niezwykle istotne podczas zwalczania źródła zakażeń czy skolonizowanych przestrzeni [24]. Obecnie na rynku jest dostępnych wiele produktów, w tym opatrunków zawierających nanosrebro. Nowoczesne opatrunki łączą nanocząstki srebra z substancjami destabilizującymi macierz biofilmu, co znacznie zwiększa ich antybakteryjną skuteczność.

Opatrunki powinny cechować się właściwościami chłonnymi i autolitycznymi do stosowania miejscowego, tam gdzie proces gojenia zatrzymał się w fazie zapalnej. Takie opatrunki z nanocząstkami srebra cechuje duża skuteczność: powodują znaczną redukcję masy biofilmowej oraz miana bakterii patogennych w zakażonych ranach.

KONFLIKT INTERESÓW: nie zgłoszono.

## PIŚMIENICTWO

- Silver S, Phung le T, Silver G. Silver as biocides in burn and wound dressings and bacterial resistance to silver compounds. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2006;33(7):627–634 [doi: 0.1007/s10295-006-0139-7].
- Edwards-Jones V. The benefits of silver in hygiene, personal care and healthcare. *Lett Appl Microbiol* 2009;49(2):147–152 [doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02648.x].
- Russell AD, Hugo WB. Antimicrobial activity and action of silver. *Prog Med Chem* 1994;31:351–370.
- BNF 2011.
- Durner J, Stojanovic M, Reichl FX. Influence of silver nanoparticles on monomer elution from light-cured composites. *Dent Mater* 2011;27(7):631–636 [doi: 10.1016/j.dental.2011.03.003].
- Rodrigues-Magalhães AP, Santos LB, Lopes LG. Research article nanosilver application in dental cements. *Nanotechnology* 2012;365438 [doi: 10.5402/2012/365438].
- Trop M, Novak M, Goessler W, Trop M. Silver-coated dressing acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient. *J Trauma* 2006;60(3):648–652 [doi: 10.1097/01.ta.0000208126.22089.b6].
- Vlachou E, Chipp E, Moiemens NS. The safety of nanocrystalline silver dressings on burns: a study of systemic silver absorption. *Burns* 2007;33(8):979–985 [doi: 10.1016/j.burns.2007.07.014].
- Samberg ME, Orndorff PE, Monteiro-Riviere NA. Antibacterial efficacy of silver nanoparticles of different sizes, surface conditions and synthesis methods. *Nanotoxicology* 2011;5(2):244–253 [doi: 10.3109/17435390.2010.525669].
- Łysakowska M, Denys P. Przeciwdrobnoustrojowe zastosowania srebra. *Kwart Ortop* 2009;4:408–417.
- Petca A, Gavrilu S, Panzaru C. Colloidal silver solutions with antimicrobial properties. *Materials Science and Engineering* 2008;152(1–3):22–27 [doi: 10.1016/j.mseb.2008.06.021].
- Białynicki-Birula R, Nawrot U, Kołodziej T. Skuteczność przeciwgrzybiczego opatrunku textus®. *Mikol Lek* 2006;13(2):143–147.
- Dworniczek E, Nawrot U, Białynicki-Birula R. The in vitro effect of a silver-containing dressing on biofilm development. *Adv Clin Exp Med* 2009;18(3):277–281.
- Liau S, Furr Jr, Russell Ad. Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions. *Lett Appl Microbiol* 1997;25(4):279–283.
- Kędzióra A, Sobik K. Oporność bakterii na srebro – problem stary czy nowy? *Kosmos* 2013;62(4):557–570.
- McDonnell G, Russell Da. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12(1):147–179.
- Besinis A, Peralta T De, Handy RD. The antibacterial effects of silver, titanium dioxide and silica dioxide nanoparticles compared to the dental disinfectant chlorhexidine on *Streptococcus mutans* using a suite of bioassays. *Nanotoxicology* 2014;8(1):1–16 [doi: 10.3109/17435390.2012.742935].
- Markowska K, Grudniak AM, Wolska K i wsp. The effect of silver nanoparticles on *Listeria monocytogenes* PCM2191 peptidoglycan metabolism and cell permeability. *Polish Journal of Microbiology* 2018;67(3):315–320 [doi: 10.21307/pjm-2018-037].
- Łysakowska M, Denys A, Klimek L, Sienkiewicz M. Działanie nanocząstek srebra (Axonnite) na kliniczne i środowiskowe szczepy *Enterococcus* spp. *Med Dośw Mikrobiol* 2009;61:125–132.
- Galdiero S, Falanga A, Cantisani M i wsp. Silver nanoparticles as potential antiviral agents. *Molecules* 2011;16(10):8894–8918 [doi: 10.3390/molecules16108894].
- Khandelwal N, Kaur G, Kumara N, Tiwari N. Application of silver nanoparticles in viral inhibition: A new hope for antivirals. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 2014;9(1):175–186.
- Kim W-Y, Kim J, Park JD. Histological study of gender differences in accumulation of silver nanoparticles in kidneys of fischer 344 rats. *J Toxicol Environ Health A* 2009;72:1279–1284.
- Asare N, Instanes C, Brunborg G. Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cells. *Toxicology* 2012;27;291(1–3):65–72 [doi: 10.1016/j.tox.2011.10.022].
- Wolska K, Markowska K, Dahm H. Nanocząstki srebra, synteza i biologiczna aktywność. *Kosmos* 2017;66(1):125–138.