

Nanokompozyty chitozanowo-srebrowe – nowoczesne materiały antybakteryjne

Anna REGIEL, Agnieszka KYZIOŁ – Wydział Chemii, Zespół Fizykochemii Koordynacyjnej i Bionieorganicznej, Uniwersytet Jagielloński, Kraków; Manuel ARRUEBO – Department of Chemical Engineering, Nanoscience Institute of Aragon (INA), Networking Research Center on Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Saragossa, Hiszpania

Prosimy cytować jako: CHEMIK 2013, 67, 8, 683–692

Wstęp

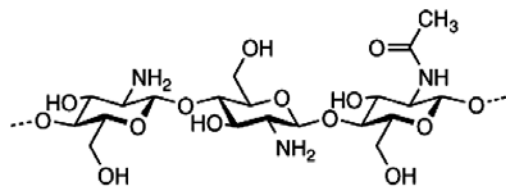
Obecnie obserwuje się duże zainteresowanie bionanomateriałami wykazującym aktywność antybakteryjną wobec wielolekoopornych szczepów bakteryjnych (ang. *MDR-multidrug resistance*). Większość stosowanych dziś antybiotyków nie jest już tak skuteczna jak dawniej. Nabywana oporność jest wynikiem mutacji (np. w trakcie replikacji) występujących na skutek niekonsekwentnego i nadmiernego stosowania antybiotyków. Ponadto jedną z adaptacji ewolucyjnych, w odpowiedzi na różne formy walki z drobnoustrojami, jest wytwarzany przez szczepy bakteryjne biofilm, stanowiący barierę ochronną dla komórek bakterii. Jego formowanie uniemożliwia działanie biobójcze wielu powszechnie stosowanych leków antybakteryjnych. Zwarta struktura polisacharydów, białek i kwasów nukleinowych, stwarza swoistą barierę pomiędzy koloniami bakterii a zewnętrznym środowiskiem, chroniąc je przed niesprzyjającymi warunkami [1].

Konsekwencją wzrastającej oporności szczepów bakteryjnych są coraz częściej pojawiające się przewlekłe zakażenia szpitalne (infekcje ran pooperacyjnych, zapalenie szpiku, septyczne zapalenie stawów, zapalenie wsierdza itp.). Wielolekowa oporność stała się problemem globalnym, choćby ze względu na łatwość rozprzestrzeniania się chorobotwórczych patogenów. Raport ECDE/EMA (ang. *the European Centre for Disease Prevention and Control/the European Medicines Agency*) wskazał najgroźniejsze, antybiotykooporne szczepy bakteryjne, tj. *Staphylococcus aureus* MRSA (ang. *methicillin resistance*), *Staphylococcus aureus* VISA/VRSA (ang. *vancomycin intermediate resistance*, *vancomycin resistance*). Infekcje wywoływane przez wymienione szczepy niejednokrotnie prowadzą do śmierci pacjentów [2]. Zatem, poszukiwanie nowych środków terapeutycznych do walki z chorobotwórczymi mikroorganizmami jest ogromnym wyzwaniem współczesnej nauki. Zastosowanie nanotechnologii w tworzeniu skutecznych terapeutyków umożliwi poszukiwanie nowych rozwiązań w walce z mikroorganizmami, właśnie ze względu na bardzo małe rozmiary proponowanych układów. Jednymi z najbardziej skutecznych i obiecujących materiałów są nanokompozyty oparte na nanocząstkach srebra (AgNPs) i chitozan.

Chitozan jako środek antybakteryjny?

Struktura i właściwości chitozanu

Chitozan to naturalny, polikationowy polisacharyd uzyskiwany z chityny. Jest to drugi, po celulozie, najczęściej występujący w naturze polimer [3]. Kopolimer ten składa się z β -1,4-połączonych podjednostek N-acetylo-D-glukozaminy i D-glukozaminy (Rys. 1). W zależności od warunków otrzymania (w procesie deacetylacji), chitozan dostępny jest w kilku formach różniących się stopniem deacetylacji oraz średnią masą cząsteczkową. Zarówno masa cząsteczkowa jak i stopień deacetylacji, świadczą o liczbie wolnych grup aminowych, silnie wpływają na właściwości fizykochemiczne polimeru i determinują jego późniejsze zastosowanie.



Rys. 1. Struktura chitozanu

Dzięki obecności grup funkcyjnych (aminowych i hydroksylowych), chitozan odznacza się wieloma ciekawymi właściwościami fizykochemicznymi [4]. Jego zastosowania są wynikiem takich istotnych cech, jak biodegradowalność, biokompatybilność i nietoksyczność. Ponadto polimer ten wykazuje aktywność antybakteryjną przeciwko Gram-dodatnim i Gram-ujemnym szczepom bakteryjnym [5], co zostało udowodnione w badaniach na wielu szczepach bakterii, grzybów i drożdży [6, 7]. Niestety dotychczas nie poznano dokładnego mechanizmu antybakteryjnego działania chitozanu, choć istnieje wiele hipotez próbujących go wyjaśnić. Jedną z nich opiera się na polikationowej naturze polimeru i stwierdza, że interakcja pomiędzy sprotonowanymi grupami aminowymi, a negatywnie naładowanymi składnikami ściany komórkowej mikroorganizmów prowadzi do jej dekompozycji i wycieku komponentów komórkowych. Zatem wzrost gęstości dodatniego ładunku (wysoki stopień deacetylacji) powoduje wzrost aktywności biologicznej [8, 9]. Efekt antybakteryjny może być również wynikiem zdolności chitozanu do kompleksowania jonów metali, niezbędnych komórkom bakteryjnym do prawidłowego funkcjonowania [10]. Dodatkowym czynnikiem wpływającym na aktywność antybakteryjną chitozanu jest jego średnia masa cząsteczkowa (Mw). Frakcje o niskiej Mw penetrują ścianę komórkową i oddziałują np. z DNA; zaś frakcje o wysokiej Mw oddziałują raczej z zewnętrzną powierzchnią ściany. W obu przypadkach, chitosan zaburza homeostazę komórek bakteryjnych, wywołując przez to nieodwracalne, często śmiertelne zmiany [11]. Ponadto, skład i budowa ściany komórkowej, różna w przypadku Gram-dodatnich i Gram-ujemnych szczepów, również determinuje mechanizm i siłę efektu antybakteryjnego chitozanu [12]. Zatem bez wątpienia można stwierdzić, że wystąpienie akcji antybakteryjnej warunkowane jest formą preparatu chitozanowego: roztwór, hydrożel, membrana etc.

Wybrane zastosowania chitozanu

Ze względu na swoje unikalne właściwości chitozan znalazł szereg komercyjnych zastosowań. Polimer ten oraz jego pochodne są powszechnie stosowane jako biomateriały w farmaceutyce, kosmetyce, medycynie, przemyśle spożywczym itd. W Tablicy 1 zestawiono najważniejsze, komercyjne zastosowania chitozanu.

Wymienione zastosowania chitozanu sprawiają, że jest on w centrum zainteresowania wielu zespołów badawczych, które badają nowe możliwości jego wykorzystania.

Tablica I

Wybrane zastosowania chitozanu

Zastosowanie
<p>Farmaceutyka</p> <ul style="list-style-type: none"> • Żele, hydrożele (kontrolowane, przedłużone uwalnianie leków [13, 14]) • Filmy i membrany (kontrolowane uwalnianie leków [14]) • Emulsje (mikrosfery, mikrokapsułki), (przedłużone uwalnianie leków, wzrost biodostępności, mukoadhezja [15]) • Celowana terapia antynowotworowa (retencja i akumulacja leku w guzie [16]) • Systemy do kontrolowanego dostarczania/uwalniania leków peptydowych [17], szczepionek [18], genów [19]
<p>Medycyna i biomedycyna</p> <ul style="list-style-type: none"> • Opatrunki, produkty do stosowania na rany, bandaże [20] • Szwy i implanty chirurgiczne [21] • Membrany hemodializacyjne, powłoki urządzeń biomedycznych [22] • Hemostatyki [23], antykoagulanty [24]
<p>Inżynieria tkankowa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Rusztowania do hodowli tkanek, sztuczne przeszczepy skóry [25]
<p>Inne:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Agrokultura, przemysł spożywczy [26], włókiennictwo [5], oczyszczanie ścieków [25]

Nanocząstki srebra – lek czy pestycyd?

Nanocząstki metali wykazują bardzo specyficzne właściwości: modulowany kształt, rozmiar i właściwości powierzchniowe (możliwość kontrolowanej funkcjonalizacji). Umożliwia to zaplanowaną i ukierunkowaną syntezę w celu uzyskania pożądanej ich charakterystyki fizykochemicznej. Ponadto nanocząstki takich metali, jak srebro, złoto czy miedź, wykazują aktywność bakteriobójczą lub bakteriostatyczną wobec różnych szczepów bakteryjnych [27÷29]. Zatem są one obiecującą alternatywą w zwalczaniu przewlekłych infekcji bakteryjnych, a niektóre rozwiązania z ich zastosowaniem mają już odzwierciedlenie w dostępnych produktach komercyjnych [30]. Niestety, nanocząstki metali stosowane w wysokich stężeniach wykazują wysoką cytotoksyczność, także wobec komórek zdrowych, co sprawia, iż wciąż poszukiwane są nowe rozwiązania mające na celu minimalizację skutków ubocznych terapii z ich wykorzystaniem.

Srebro znane jest od dawna jako czynnik antybakteryjny, przeciwgrzybiczny, antywirusowy i przeciwzapalny [31, 32]. Poza preparatami opartymi na jonach srebra, które odchodzą powoli w niepamięć, ogromne zainteresowanie zyskało metaliczne srebro w skali nano. Obecnie nanocząstki srebra stosowane są powszechnie w opatrunkach antybakteryjnych i powłokach antybakteryjnych, m.in. na sprzęcie AGD, laptopach itp. W związku z coraz szerszym i niejednokrotnie nieuzasadnionym wykorzystywaniem metalicznego srebra nie milną dyskusje na temat skutków ubocznych, takich jak: argyria, mdości, osłabienie, dreszcze, zaburzenie jelitowej flory bakteryjnej czy występowanie reakcji autoimmunologicznej.

Nanocząstki srebra (AgNPs) cieszą się dużym zainteresowaniem głównie ze względu na swoje właściwości optyczne oraz elektryczne i związane z tym potencjalne zastosowanie w elektronice, katalizie, biotechnologii oraz w medycynie. Istnieje wiele metod fizycznego lub chemicznego otrzymania AgNPs [33], jednak najpopularniejszą i najczęściej stosowaną pozostaje chemiczna redukcja soli srebra, w wyniku której uzyskuje się stabilną koloidalną zawiesinę w stosowanym rozpuszczalniku [34]. W tym celu stosowane są takie reduktory, jak borowodorek sodu, kwas askorbinowy czy kwas cytrynowy. Wybór i kontrola parametrów syntezy (temperatura, czas trwania, szybkość dozowania reagentów), reduktora oraz czynnika stabilizującego zależy od pożądanych parametrów nanocząstek [35].

Aktywność antybakteryjna nanocząstek srebra

Wykazano, iż maksymalny efekt antybakteryjny wywołują nanocząstki o rozmiarach poniżej 10 nm, gdyż ze względu na swoje małe rozmiary nie tylko wiążą się one z bakteryjną ścianą komórkową, ale również przenikają przez membranę do wnętrza komórek, oddzia-

lując z różnymi jej strukturami zaburzając homeostazę i prowadząc w konsekwencji do śmierci komórkowej [36]. Mechanizm aktywności antybakteryjnej nanocząstek srebra jest bardzo złożony. Wiele badań wskazuje na oddziaływanie nanosrebra ze ścianą komórkową, jej penetrację i następującą w wyniku tego śmierć komórek [37]. Adsorpcja NPs na powierzchni ściany bakteryjnej zmienia jej przepuszczalność przez co zaburzona zostaje funkcja utrzymywania homeostazy. Inne badania wskazują, że efekt bakteriobójczy jest wynikiem działania jonów srebra, uwalnianych z powierzchni nanocząstek [38]. Wystarczająco małe nanocząstki przenikają do wnętrza komórek i uwalniają jony, które z kolei łączą się z grupami sulfonowymi białek, prowadząc do ich denaturacji. Ponadto, AgNPs wpływają na rozpraszanie siły protonomotorycznej, co prowadzi to zaburzeń w łańcuchu oddechowym [38]. Inna hipoteza zakłada, iż AgNPs wywołują formowanie się wolnych rodników, czego skutkiem są uszkodzenia błon i w konsekwencji śmierć komórki [28]. W rzeczywistości, wpływ jaki wywołują nanocząstki srebra w kontakcie z komórkami bakteryjnymi jest najpewniej kumulatywnym, wypadkowym efektem powyższych mechanizmów ich aktywności. Jednak, bez względu na mechanizm, w każdym przypadku: im mniejsze nanocząstki – tym większy obserwowany efekt bakteriobójczy. Wiąże się to z większym stosunkiem powierzchni do objętości cząstek, co sprawia, że utlenianie srebra na powierzchni jest wzmożone, a więc ilość jonów uwalnianych z ich powierzchni także, co odpowiada wzmocnionemu efektowi antybakteryjnemu [39]. Siła tego efektu zależy również w dużej mierze od struktury ściany komórkowej bakterii; szczepy Gram-ujemne w większości przypadków są mniej odporne na działanie AgNPs [38].

Cytotoksyczność nanocząstek srebra

Rozwój nanotechnologii skutkuje niemiłkającymi debatami dotyczącymi toksyczności nanomateriałów. Cytotoksyczność nanocząstek jest nadal postrzegana jako temat niewystarczająco przebadany [40]. Badania wykazały i potwierdziły, że efekt toksyczny nanocząstek występuje na poziomie komórkowym, subkomórkowym i biomolekularnym (białka, geny) [41]. Proponowany mechanizm, poprzez który nanocząstki prowadzą do cytotoksyczności, zakłada indukcję reaktywnych form tlenu (ROS) [42]. Spadek poziomu glutationu (wewnątrzkomórkowego antyutleniacza), wzrost stężenia ROS i postępująca w czasie peroksydacja lipidów w wyniku kontaktu AgNPs została zaobserwowana *in vivo* [43]. Wzrost stężenia ROS wywołuje także nieodwracalne zmiany i uszkodzenia DNA oraz zależnie od ich stężenia indukcję apoptozy lub nekrozy [42, 43]. Niepożądane działania AgNPs skłoniły organizację EPA (ang. *Environmental Protection Agency*) do wprowadzenia regulacji dotyczących ich stosowania, uznając nanosrebro za stwarzające poważne środowiskowe zagrożenie pestycyd [44]. Wynika stąd konieczność dalszego zgłębiania wiedzy na temat toksyczności, nanocząstek srebra. Ponadto poszukiwanie nowych nanokompozytów zawierających nanometryczne srebro powinno zakładać minimalizację toksycznego działania, co jest nadrzędnym warunkiem jego zastosowania medycznego.

Nanokompozyty chitozanowo-srebrowe

Nanokompozyty polimerowe są zaawansowanymi, funkcjonalnymi materiałami składającymi się z nanocząstek zdyspergowanych w matrycy polimerowej i/lub pokrytych polimerem (ang. *core-shell*) [45, 46]. Wiele praktycznych zastosowań AgNPs wymaga pokrycia ich specjalną matrycą, np. polimerem, dla zminimalizowania działania cytotoksycznego. Jednak to polimery najczęściej są najlepszym wyborem, właśnie ze względu na specyficzną morfologię oraz łańcuchową strukturę umożliwiającą odpowiednią inkorporację NPs do ich sieci, zapewniając tym samym równomierną dyspersję syntetyzowanych nanocząstek. Odpowiednio dobrane grupy funkcyjne polimerów mogą brać czynny udział w syntezie, np. redukując jony metali lub stabilizując powstające nanocząstki [47].

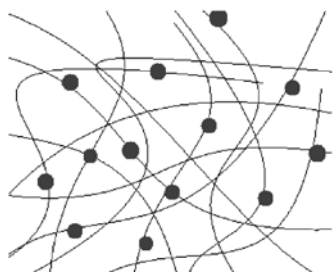
Projektowanie i tworzenie hybrydowych nanomateriałów, angażujących różne mechanizmy działania antybakteryjnego oraz wykazujących zminimalizowaną cytotoksyczność, jest istotnym wyzwaniem dla współczesnej nauki. Niestety często bywa tak, że substancje toksyczne wobec komórek bakteryjnych są także cytotoksyczne wobec zdrowych komórek ludzkich. W takim przypadku, nie nadają się one do stosowania jako materiały medyczne. Dla minimalizacji niekontrolowanej cytotoksyczności nanokompozyty powinny wykazywać kilka podstawowych cech:

- być wykonane w skali makro z biokompatybilnych i nietoksycznych materiałów (np. polimerów takich jak chitozan, alginian itd.)
- selektywnie oddziaływać na komórki bakteryjne
- nie powinny uwalniać nadmiaru czynnika toksycznego do otoczenia (np. nanocząstek metali).

Zakładając minimalizację cytotoksyczności, nanokompozyty chitozanowo-srebrowe doskonale wpisują się w wymagania dotyczące materiałów antybakteryjnych.

Otrzymywanie nanokompozytów chitozanowo-srebrowych oraz ich właściwości antybakteryjne

W literaturze opisano wiele różnych, choć w większości zbliżonych, sposobów otrzymywania tych materiałów. Co ciekawe, chitozan stosowany jest nie tylko jako matryca, lecz także jako czynnik redukujący i stabilizujący w syntezie nanocząstek srebra [4, 48÷50]. Jest to doskonały przykład syntezy AgNPs przyjaznej środowisku (ang. *green synthesis*). Jony srebra w zakwaszonym roztworze chitozanu, są koordynowane przez grupy aminowe łańcuchów polimerowych, po czym następuje ich redukcja do metalicznych nanocząstek, sprzężona z utlenieniem grup hydroksylowych [38, 51]. Nanocząstki są więc silnie związane z chitozaniem poprzez utworzone wiązanie chemiczne pomiędzy bogatymi w elektrony atomami azotu, a wolnymi orbitalami jonów srebra [36]. Całość tworzy sieć łańcuchów polimerowych z osadzonymi nanocząstkami (Rys. 2).



Rys. 2. Sieć łańcuchów chitozanu ze związanymi po redukcji nanocząstkami srebra

Stabilizacja nanocząstek Ag, dzięki zastosowaniu chitozanu, zapewnia długoterminową trwałość takich materiałów. Trwałe połączenie AgNPs z łańcuchami polimeru pozwala także na ominięcie problemu ich agregacji w wyniku kontaktu z płynami fizjologicznymi, co jest niezwykle ważne z punktu widzenia ich późniejszego praktycznego zastosowania [25].

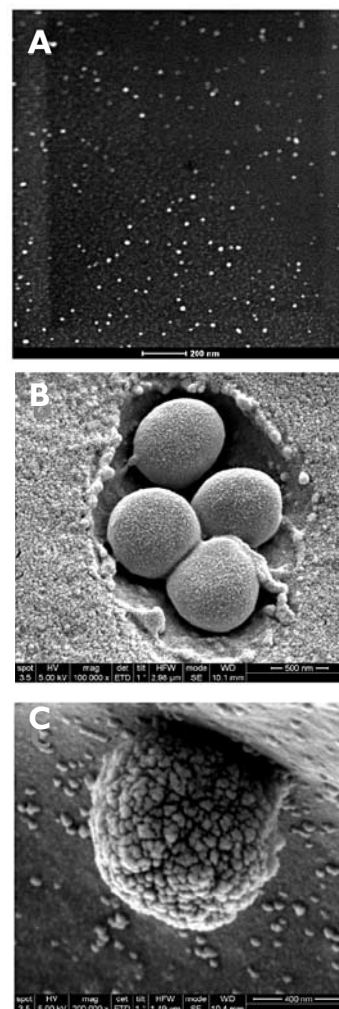
Proponowane w literaturze inne drogi syntezy AgNPs dotyczą zastosowania takich czynników redukujących, jak: borowodorek sodu, poliwinylpirolidon (PVP), kwas askorbinowy, anilina bądź inne (niż chitozan) polisacharydy [4, 35, 38, 52÷55]. Mając jednak na uwadze toksyczność i właściwości, jakimi powinien cechować się materiał do zastosowań medycznych, wybór chitozanu jako reduktora, stabilizatora a docelowo także głównego składnika kompozytu wydaje się być najbardziej optymalne. Ważną zaletą stosowania chitozanu jako matrycy jest dodatkowo fakt, iż – jak wspomniano powyżej – polimer ten wykazuje aktywność antybakteryjną lub bakteriostatyczną, w zależności od oporności badanego szczepu bakteryjnego. Połączenie bakteriobójczych nanocząstek srebra z bakteriostatycznym chitozaniem zwiększa skuteczność antybakteryjną stosowanego biomateriału. Istnieją doniesienia o synergicznym działaniu

antybakteryjnym chitozanu i AgNPs, połączonych w formę nanokompozytu [48]. Zapewnienie skutecznej bakteriobójczej aktywności takich nanokompozytów jest uwarunkowane homogenicznie rozmieszczonymi w matrycy polimerowej AgNPs.

Nanokompozyty chitozanowo-srebrowe mogą występować w formie koloidów, proszków bądź membran [4, 50, 56]. To, jaką formę nadaje się kompozytom zależy od ich docelowego zastosowania. Z punktu widzenia zastosowań medycznych, takich jak opatrunki, bandaże czy powłoki antybakteryjne na materiały chirurgiczne (np. cewniki, dreny), najbardziej odpowiednią formą nanokompozytów są filmy.

Przykłady aktywności antybakteryjnej

Przykładem biomateriału wykazującego działanie antybakteryjne *in vitro* są otrzymane przez nas nanokompozyty chitozanowo-srebrowe. Zostały one uzyskane w wyniku zoptymalizowanej syntezy nanocząstek srebra, a następnie wylane w postaci filmów. Tak przygotowane nanokompozyty spełniały wymagania stawiane materiałom do zastosowań medycznych [57]. Homogenicznie rozmieszczone w obrębie całej membrany AgNPs charakteryzowały się pożądanymi rozmiarami, a ich osadzenie w matrycy było na tyle silne, iż metaliczne srebro nie było uwalniane do otoczenia. Wysoka aktywność antybakteryjna otrzymanych nanokompozytów pochodząca z biobójczego wpływu nanocząstek, jonów srebra oraz bakteriostatycznej chitozanu została wykazana na dwóch produkujących biofilm, antybiotykoopornych szczepach *Staphylococcus aureus* (Rys. 3).



Rys. 3. (A) Zdjęcie TEM nanokompozytu chitozanowo-srebrowego wykonane w technice ciemnego pola, pokazujące równomierność rozmieszczenia AgNPs w matrycy polimerowej (jasne punkty przedstawiają AgNPs); (B) Komórki bakteryjne *Staphylococcus aureus* 9213 po 24-godzinnej inkubacji z filmem chitozanowym; (C) Komórki bakteryjne *Staphylococcus aureus* 9213 po 24-godzinnej inkubacji z nanokompozytem chitozanowo-srebrowym. W przeciwieństwie do czystego chitozanu, nanokompozyty wywołały znaczne zmiany w morfologii ścianek komórek prowadząc w konsekwencji do śmierci komórek

Doniesienia literaturowe pokazują, że nanokompozyty chitozano-srebrowe wykazują silny efekt bakteriobójczy również wobec takich szczepów, jak *Escherichia coli*, *Escherichia bacillus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Candida albicans*, *Lactobacillus fermentum* i wielu innych [4, 38, 48, 49].

Podsumowanie

Przewlekłe infekcje bakteryjne stanowią dziś niezwykle istotny problem, głównie ze względu na wzrastającą oporność wielu szczepów bakteryjnych na antybiotyki. Zastosowanie nanotechnologii w poszukiwaniu nowych rozwiązań w walce z opornymi mikroorganizmami pozwala na tworzenie materiałów o małych rozmiarach i związanych z tym unikalnych właściwościach fizykochemicznych i biologicznych. Nanokompozyty chitozano-srebrowe stanowią idealną alternatywę zastąpienia często nieskutecznych już antybiotyków. Układy takie wykazują szereg zalet z punktu widzenia stosowania ich jako materiałów medycznych. Synergizm aktywności antybakteryjnej chitozanu i nanocząstek srebra pozwala na skuteczną walkę z infekcjami bakteryjnymi.

Literatura

- Fux C.A., Costerton J.W., Stewart P.S., Stoodley P.: *Survival strategies of infectious biofilms*. Trends in Microbiology 2005, **13**, (1), 34–40.
- European Centre for Disease Prevention and Control/European Medicines Agency Joint Technical Report The bacterial challenge: time to react. http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf, 2009.
- Dash M., Chiellini F., Ottenbrite R.M., Chiellini E.: *Chitosan – A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications*. Progress in Polymer Science 2011, **36**, (8), 981–1014.
- Dongwei Wei W.S., Weiping Qian, Yongzhong Ye, Xiaoyuan Mac: *The synthesis of chitosan-based silver nanoparticles and their antibacterial activity*. Carbohydrate Research 2009, **344**, 2375–2382.
- Raafat D., Sahl H.-G.: *Chitosan and its antimicrobial potential – a critical literature survey*. Microbial Biotechnology 2009, **2**, (2), 186–201.
- Ralston G.B.T., M.V., Wrench P.M.: *Inhibition of fermentation in bakers yeast by chitosan*. Biochimica et Biophysica Acta 1964, **93**, (3), 653.
- Fang S.W., Li C.F., Shih D.Y.C.: *Antifungal activity of chitosan and its preservative effect on low-sugar candied kumquat*. Journal of food protection 1994, **57**, (2), 136–140.
- Ignatova M., Manolova N., Rashkov I.: *Novel antibacterial fibers of quaternized chitosan and poly(vinyl pyrrolidone) prepared by electrospinning*. European Polymer Journal 2007, **43**, (4), 1112–1122.
- Takahashi T., Imai M., Suzuki I., Sawai J.: *Growth inhibitory effect on bacteria of chitosan membranes regulated with deacetylation degree*. Biochemical Engineering Journal 2008, **40**, (3), 485–491.
- Varma A.J., Deshpande S.V., Kennedy J.F.: *Metal complexation by chitosan and its derivatives: a review*. Carbohydrate Polymers 2004, **55**, (1), 77–93.
- Kong M., Chen X.G., Xing K., Park H.J.: *Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review*. International Journal of Food Microbiology 2010, **144**, (1), 51–63.
- Zheng L.-Y., Zhu J.-F.: *Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights*. Carbohydrate Polymers 2003, **54**, (4), 527–530.
- Kofuji K., Akamine H., Qian C.J., Watanabe K., Togan Y., Nishimura M., Sugiyama I., Murata Y., Kawashima S.: *Therapeutic efficacy of sustained drug release from chitosan gel on local inflammation*. International Journal of Pharmaceutics 2004, **272**, 65–78.
- Bhattarai N., Gunn J., Zhang M.: *Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery*. Advanced Drug Delivery Reviews 2009, **62**, (1), 83–99.
- Dudhani A.R., Kosaraju S.L.: *Bioadhesive chitosan nanoparticles: Preparation and characterization*. Carbohydrate Polymers 2010, **81**, (2), 243–251.
- Ta H.T., Dass C.R., Dunstan D.E.: *Injectable chitosan hydrogels for localised cancer therapy*. Journal of Controlled Release 2008, **126**, (3), 205–216.
- Prego C., Torres D., Fernandez-Megia E., Novoa-Carballal R., Qui E., Alonso M.J.: *Chitosan-PEG nanocapsules as new carriers for oral peptide delivery: Effect of chitosan pegylation degree*. Journal of Controlled Release 2006, **111**, (3), 299–308.
- Illum L., Jabbal-Gill I., Hinchcliffe M., Fisher A.N., Davis S.S.: *Chitosan as a novel nasal delivery system for vaccines*. Advanced Drug Delivery Reviews 2001, **51**, 81–96.
- Saranya N., Moorthi A., Saravanan S., Devi M.P., Selvamurugan N.: *Chitosan and its derivatives for gene delivery*. International Journal of Biological Macromolecules 2010, **48**, (2), 234–238.
- Atiyeh B.S., Costagliola M., Hayek S.N., Dibo SA: *Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature*. Burns 2007, **33**, (2), 139–148.
- Bumgardner J.D., Wiser R., Gerard P.D., Bergin P., Chestnutt B., Marini M., Ramsey V., Elder S.H., Gilbert J.A.: *Chitosan: potential use as a bioactive coating for orthopaedic and craniofacial/dental implants*. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition 2003, **14**, (5), 423–438.
- Radhakumary C., Nair P.D., Reghunadhan Nair C.P., Mathew S.: *Chitosan-graft-poly(vinyl acetate) for hemodialysis applications*. Journal of Applied Polymer Science 2012, **125**, (3), 2022–2033.
- Wedmore I., McManus J.G., Pusateri A.E., Holcomb J.B.: *A special report on the chitosan-based hemostatic dressing: experience in current combat operations*. J Trauma 2006, **60**, (3), 655–658.
- Vongchan P., Sajomsang W., Subyen D., Kongtawelert P.: *Anticoagulant activity of a sulfated chitosan*. Carbohydrate Research 2002, **337**, (13), 1239–1242.
- Ravi Kumar M.N.V.: *A review of chitin and chitosan applications*. Reactive and Functional Polymers 2000, **46**, (1), 1–27.
- Arora A., Padua G.W.: *Review: Nanocomposites in Food Packaging*. Journal of Food Science 2010, **75**, (1), R43–R49.
- Kuo W.-S., Chang C.-N., Chang Y.-T., Yeh C.-S.: *Antimicrobial gold nanorods with dual-modality photodynamic inactivation and hyperthermia*. Chemical Communications 2009, (32), 4853–4855.
- Kim J.S., Kuk E., Yu K.N., Kim J.-H., Park S.J., Lee H.J., Kim S.H., Park Y.K., Park Y.H., Hwang C.-Y., Kim Y.-K., Lee Y.-S., Jeong D.H., Cho M.-H.: *Antimicrobial effects of silver nanoparticles*. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 2007, **3**, (1), 95–101.
- Cioffi N., Torsi L., Ditaranto N., Tantillo G., Ghibelli L., Sabbatini L., Blev-Zacheo T., D'Alessio M., Zamboni P.G., Traversa E.: *Copper Nanoparticle/Polymer Composites with Antifungal and Bacteriostatic Properties*. Chemistry of Materials 2005, **17**, (21), 5255–5262.
- Ülkür E., Oncul O., Karagoz H., Yeniz E., Çeliköz B.: *Comparison of silver-coated dressing (Acticoat™), chlorhexidine acetate 0.5% (Bactigras®), and fusidic acid 2% (Fucidin®) for topical antibacterial effect in methicillin-resistant Staphylococci-contaminated, full-skin thickness rat burn wounds*. Burns 2005, **31**, (7), 874–877.
- Vaidyanathan R., Kalishwaralal K., Gopalram S., Gurunathan S.: *Nano-silver – The burgeoning therapeutic molecule and its green synthesis*. Biotechnology Advances 2009, **27**, (6), 924–937.
- Panáček A., Kolář M., Večeřová R., Pucek R., Soukupová J., Kryštof V., Hamal P., Zbořil R., Kvitek L.: *Antifungal activity of silver nanoparticles against Candida spp.* Biomaterials 2009, **30**, (31), 6333–6340.
- Kholoud M.M., Abou El-Nour, Eftaiha A.A., Al-Warthan A., Ammar R.A.: *Synthesis and applications of silver nanoparticles*. Arabian Journal of Chemistry 2010, **3**, (3), 135–140.
- Sharma V.K., Yngard R.A., Lin Y.: *Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities*. Advances in Colloid and Interface Science 2009, **145**, 83–96.
- Qin Y., Ji X., Jing J., Liu H., Wu H., Yang W.: *Size control over spherical silver nanoparticles by ascorbic acid reduction*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2010, **372**, 172–176.
- Rai M., Yadav A., Gade A.: *Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials*. Biotechnology Advances 2009, **27**, (1), 76–83.
- Sondi I., Salopek-Sondi B.: *Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria*. Journal of Colloid and Interface Science 2004, **275**, (1), 177–182.
- Tran H.V., Tran L.D., Ba C.T., Vu H.D., Nguyen T.N., Pham D.G., Nguyen P.X.: *Synthesis, characterization, antibacterial and antiproliferative activities of monodisperse chitosan – based silver nanoparticles*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2010, **360**, 32–40.
- Somnath Ghosh T.K.R. and Vasan H.N.: *Study of Antibacterial Efficacy of Hybrid Chitosan-Silver Nanoparticles for Prevention of Specific Biofilm and Water Purification*. In 2011; Vol. 2011.

40. Lewinski N., Colvin V., Drezek R.: *Cytotoxicity of Nanoparticles*. Small 2008, **4**, (1), 26–49.
41. Chi Z., Liu R., Zhao L., Qin P., Pan X., Sun F., Hao X.: *A new strategy to probe the genotoxicity of silver nanoparticles combined with cetylpyridine bromide*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 2009, **72**, (3), 577–581.
42. Foldbjerg R., Dang D., Autrup H.: *Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549*. Archives of Toxicology 2011, **85**, (7), 743–750.
43. Kim S., Choi J.E., Choi J., Chung K.-H., Park K., Yi J., Ryu D.-Y.: *Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells*. Toxicology in Vitro 2009, **23**, (6), 1076–1084.
44. <http://www.washingtonpost.com/wp-dyn/content/article/2006/11/22/AR2006112201979.html>, 2013.
45. Choi Y.-J., Luo T.-J.M.: *Self-Assembly of Silver-Aminosilica Nanocomposites through Silver Nanoparticle Fusion on Hydrophobic Surfaces*. ACS Applied Materials & Interfaces 2009, **1**, (12), 2778–2784.
46. Levin C.S., Hofmann C., Ali T.A., Kelly A.T., Morosan E., Nordlander P., Whitmire K.H., Halas N.J.: *Magnetic-Plasmonic Core-Shell Nanoparticles*. ACS Nano 2009, **3**, (6), 1379–1388.
47. Dallas P., Sharma V.K., Zboril R.: *Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: Classification, synthetic paths, applications, and perspectives*. Advances in Colloid and Interface Science 2010, **166**, 119–135.
48. Potara M.E.J., Damert A., Popescu O., Canpean V. and Astilean S: *Synergistic antibacterial activity of chitosan–silver nanocomposites on Staphylococcus aureus*. Nanotechnology 2011, **22**, (13), 135101.
49. Vimala K., Mohan Y.M., Sivudu K.S., Varaprasad K., Ravindra S., Reddy N.N., Padma Y., Sreedhar B., MohanaRaju K.: *Fabrication of porous chitosan films impregnated with silver nanoparticles: A facile approach for superior antibacterial application*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2009, **76**, (1), 248–258.
50. Thomas V., Yallapu M.M., Sreedhar B., Bajpai S.K.: *Fabrication, Characterization of Chitosan/Nanosilver Film and Its Potential Antibacterial Application*. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition 2009, **20**, (14), 2129–2144.
51. Wei D., Qian W.: *Facile synthesis of Ag and Au nanoparticles utilizing chitosan as a mediator agent*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2008, **62**, (1), 136–142.
52. Wani I.A., Ganguly A., Ahmed J., Ahmad T.: *Silver nanoparticles: Ultrasonic wave assisted synthesis, optical characterization and surface area studies*. Materials Letters 2011, **65**, (3), 520–522.
53. Kim J.-S.: *Reduction of Silver Nitrate in Ethanol by Poly(N-vinylpyrrolidone)*. J. Ind. Eng. Chem. 2007, **13**, (4), 566–570.
54. Huang H., Yang X.: *Synthesis of polysaccharide-stabilized gold and silver nanoparticles: a green method*. Carbohydrate Research 2004, **339**, (15), 2627–2631.
55. Tan Y., Li Y., Zhu D.: *Preparation of silver nanocrystals in the presence of aniline*. Journal of Colloid and Interface Science 2003, **258**, (2), 244–251.
56. Twu Y.-K., Chen Y.-W., Shih C.-M.: *Preparation of silver nanoparticles using chitosan suspensions*. Powder Technology 2008, **185**, (3), 251–257.
57. Regiel A., Irusta S., Kyzioł A., Arruebo M., Santamaria J.: *Preparation and characterization of chitosan-silver nanocomposite films and their antibacterial activity against Staphylococcus aureus*. Nanotechnology 2013, **24**, (1), 015101.

Mgr Anna REGIEL jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego (2012), gdzie obecnie realizuje studia doktoranckie w Zespole Fizykochemii Koordynacyjnej i Bionieorganicznej. Jest współautorką publikacji naukowej oraz wielu prezentacji konferencyjnych. Jej zainteresowania naukowe koncentrują się wokół nanomateriałów wykazujących aktywność antybakteryjną do zastosowań medycznych.

e-mail: regiel@chemia.uj.edu.pl; tel. 12 663–20–76

Dr Agnieszka KYZIOŁ jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego (2002). W 2007 r. uzyskała tytuł doktora nauk chemicznych. Obecnie jest adiunktem w Zespole Fizykochemii Koordynacyjnej i Bionieorganicznej na Wydziale Chemii UJ. Głównym obszarem jej zainteresowań i prowadzonych prac naukowych jest badanie związków kompleksowych metali oraz biomateriałów o potencjalnej aktywności biologicznej do zastosowań medycznych (terapia antynowotworowa, środki bakteriobójcze). Jest współautorką ponad 20. publikacji naukowych oraz licznych prezentacji konferencyjnych.

e-mail: kyziol@chemia.uj.edu.pl; tel. 12 663 22 21

Prof. Manuel ARRUEBO zyskał w 2012 r. tytuł Profesora Inżynierii Chemicznej na Uniwersytecie w Saragossie (Hiszpania). Jest autorem 50. publikacji naukowych w wielu czasopismach o wysokim wskaźniku IF, np. Nature Nanotechnology, Nano Today. Autor wielu publikacji przeglądowych (Wiley Interdisciplinary Review in Nanomedicine and Nanobiotechnology, Expert Opinion on Drug Delivery itd.). Jest współautorem 6. patentów i 3. rozdziałów w książkach naukowych. W ramach stażu podoktorskiego pracował w Massachusetts Institute of Technology pod nadzorem Profesora Robert S. Langer. Prowadzi ponadto niezależnie badania w Aragon Biomedical Research Center (CIBA).

e-mail: arruebom@unizar.es

Eko-Staż

W ramach projektu „Eko-Staż” 62 pracowników naukowych z województwa śląskiego, prowadzących badania w branży „eko” może skorzystać z płatnych staży w przedsiębiorstwach z tej branży.

Stażyci, którzy wezmą udział w programie, będą mogli skorzystać ze 180 godzin płatnego stażu w przedsiębiorstwie. Przebieg stażu ustalany jest indywidualnie między przedsiębiorcą i stażystą, i wpisuje się w jeden z dwóch modeli (pracownik naukowy prowadzi część swoich badań w przedsiębiorstwie lub pracownik naukowy wykonuje zleconą przez firmę pracę, np. prowadzi badania nad istotnym dla firmy problemem).

Adresatami projektu są pracownicy naukowcy, naukowo-dydaktyczni oraz pracownicy instytucji naukowych, których jednostki macierzyste znajdują się na terenie województwa śląskiego, a profil działalności naukowej związany jest z branżą eko (rozumianą zgodnie z wytycznymi programu Rozwoju Technologicznego Województwa Śląskiego 2010–2020), a także mikro, małe lub średnie przedsiębiorstwa z branż określonych w programie Rozwoju Technologicznego Województwa Śląskiego 2010–2020 – Technologie dla ochrony środowiska i Technologie dla energetyki i górnictwa.

Głównym celem programu jest zwiększenie efektywności transferu wiedzy i wzmocnienie powiązania sfery badań i rozwoju z przedsiębiorstwami.

Projekt jest realizowany od sierpnia 2012 do lipca 2014 roku. Zgłoszenia potrąją do końca kwietnia 2014 roku.

Organizatorami projektu są: Regionalna Izba Gospodarcza w Katowicach oraz Uniwersytet Śląski w Katowicach i Naczelna Organizacja Techniczna Federacja Stowarzyszeń Naukowo-Technicznych Rada Miejska w Gliwicach.

Więcej informacji na temat projektu można znaleźć na stronie: www.ekostaz.pl (em)