

Innowacyjność i skuteczność biobójcza nanokompleksów srebra na przykładzie krajowego produktu Silveco+

Grzegorz Woźniakowski¹, Klaudia Kwiecińska², Anna Tokarz², Tomasz Bigaj², Krzysztof Polowczyk²

z Katedry Diagnostyki i Nauk Klinicznych Instytutu Medycyny Weterynaryjnej Wydziału Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu¹ oraz firmy Smart Nanotechnologies S.A. w Alwerni²

Skuteczne środki antyseptyczne oraz biobójcze stanowią w medycynie człowieka oraz weterynarii jeden z najważniejszych elementów ochrony przed rozwojem oraz szerzeniem się chorób o etiologii bakteryjnej, wirusowej czy grzybiczej (1, 2, 3). Jednym z głównych ograniczeń wielu środków biobójczych, stosowanych w obszarze weterynarii jako elementu składowego bioasekuracji gospodarstw rolnych, jest aktywny czas kontaktu pomiędzy dezynfekowaną powierzchnią oraz nieką lub matą nasączoną środkiem dezynfekcyjnym. W związku z tym oprócz chwilowego działania danego produktu stosowanego w dezynfekcji istotna jest możliwość jego długotrwałego działania, co jest możliwe m.in. w przypadku nanocząstek, w tym srebra koloidalnego (ryc. 1).

Powszechnie stosowane pojęcie nanotechnologii odnosi się do materiałów o wielkości od 1 do 100 nm (10^{-9} – 10^{-7} m). Przewaga w stosowaniu nanomateriałów polega na ich niezwykle wielkiej przestrzeni aktywnej, przez co rozumie się interakcje pomiędzy atomami pierwiastków na powierzchni materiału oraz atomami wewnątrz danego materiału. Rozmiar nanocząstek pozwala na bardziej efektywne wykorzystanie właściwości wielu materiałów, włączając np. miedź wspomagającą efektywny wzrost masy ciała u zwierząt hodowlanych, czy też srebro o znanych właściwościach antyseptycznych i biobójczych (4, 5, 6). Obecnie pod pojęciem nanocząstek kryją się różne typy materiałów, takich jak metale, składniki naturalne czy polimery. Jednymi z naturalnie występujących polimerów są micelle białkowe kazeiny – białka mleka krowiego, stanowiącego prawie 80% wszystkich białek zawartych w mleku. Niektóre postaci (izoformy) kazeiny stanowią transporter jonów wapnia (Ca^{2+}) lub innych białek i związków odżywczych, w tym witaminy D (7, 8). Zwiększona dostępność witaminy D jest zapewniona dzięki bardzo dużej powierzchni aktywnej nanocząstek kazeiny. Taka forma witaminy D charakteryzuje się również bardzo wysoką przyswajalnością (8).

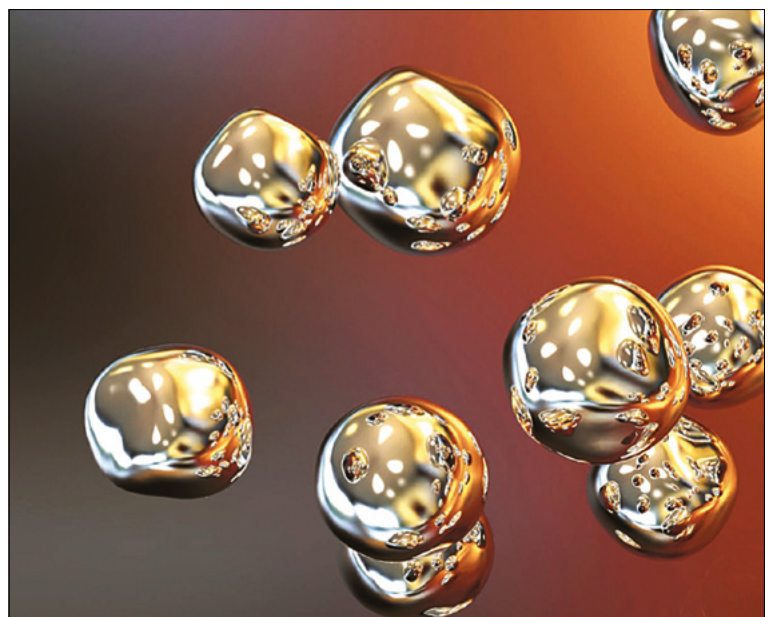
Metale w postaci nanocząstek mają własności biobójcze, szczególnie w stosunku do bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich, powodując rozrywanie grup tiolowych – SH w obrębie peptydów błony lub ściany komórkowej bakterii (9, 10). Zastosowanie srebra w medycynie ma długą i bogatą historię, wykorzystywano je już ponad 1000 lat p.n.e do konserwowania i dezynfekcji wody pitnej. Z kolei w czasach Hipokratesa (460 lat p.n.e.) uważano, że metal ten posiada właściwości lecznicze wobec wielu chorób

Nanocomplexes as innovative and effective bactericidals – on the example of Polish formulation Silveco+

Woźniakowski G.¹, Kwiecińska K.², Tokarz A.², Bigaj T.², Polowczyk K.², Department of Diagnostics and Clinical Sciences, Institute of Veterinary Medicine, Faculty of Biological and Veterinary Sciences, Nicolaus Copernicus University in Toruń¹. Smart Nanotechnologies S.A. in Alwernia²

One of the key issues related to the welfare and safety of livestock production, i.e., broadly understood biosecurity in a farm, is the application of disinfectants that are safe for animals and effective with a broad spectrum of biocidal activity. On the market many commercial products are available but they appear final formulation, what may complicate the correct selection of effective agents for farm disinfection as well as the farm surroundings. During the last few years, interest in nanoparticles has been observed in many areas of human and veterinary medicine. Meanwhile, nanoparticles may also be considered as alternative to antibiotics in farm animals, as prevention of resistant bacterial strains development. Many of the recent results in nanoparticles research they can be used in parallel as an active compound in products with broad biocidal activity. Considering speculations regarding the potential harmful effects of accumulation of some elements used as active nanoparticles, the presented paper aims to dispel them by presenting a multifactorial and detailed scientific research. Regarding all the advantages of nanoparticles in human and veterinary medicine, this technology seems to be the future in the field of modern therapies and biosecurity. Currently, the most in-depth experience in application of the silver nanoparticles has a Polish company - Smart Nanotechnologies producing Silveco+ formulation.

Keywords: disinfection, veterinary medicine, silver nanoparticles, Silveco+ product.



Ryc. 1. Nanocząstki srebra

zakaźnych (11). Do srebra przekonano się również w latach 80. XIX wieku, gdy niemiecki lekarz dr Crede, położnik, zastosował 1% roztwór azotanu srebra do leczenia ślepoty u noworodków w przebiegu zakażenia o etiologii bakteryjnej. Po wynalezieniu penicyliny w latach 40. ubiegłego wieku rola srebra jako preparatu leczniczego skutecznego przeciwko bakteriom została zmarginalizowana. W XX wieku kilkakrotnie jednak powracano do stosowania roztworu azotanu srebra w leczeniu ran po poparzeniach, a maść wynaleziona w 1968 r. na bazie sulfadiazyny srebra jest używana do dziś jako lek pomocniczy w leczeniu oparzeń i zakażeń powierzchniowych skóry (12).

U podstaw biobójczego działania jonów srebra występuje prosta reakcja chemiczna polegająca na reakcji srebra metalicznego z potem na skórze lub wysiękiem z ran. W reakcji tej powstają dodatnio naładowane jony srebra Ag^+ o bardzo wysokiej reaktywności, głównie względem peptydów budujących błonę i ścianę komórkową bakterii. Ponadto jony srebra powodują również denaturację bakteryjnego DNA i RNA, uniemożliwiając przez to procesy replikacji czy translacji informacji genetycznej bakterii. Bakterie giną głównie na skutek uszkodzenia struktur ściany komórkowej oraz braku możliwości funkcjonowania mechanizmów wymiany gazowej. Wspomniane procesy chemiczne uszkadzające ścianę komórkową bakterii nie funkcjonują w przypadku komórek ssaków ze względu na brak, obecnych u bakterii, peptydoglikanów (13, 14). Poza biobójczym działaniem na komórki bakteryjne jony srebra powodują również inaktywację wszelkich form drobnoustrojów nieposiadających ściany komórkowej, w tym wirusów (15). Co istotne, w przypadku srebra koloidalnego nie wykazano właściwości alergizujących. Ponadto występują przesłanki mówiące o stymulującym efekcie jonów srebra na układ immunologiczny człowieka (16).

Salmonellozy i badania nad biobójczym działaniem nanocząstek srebra

Jednym z aktualnie największych problemów w hodowli drobiu są salmonellozy powodowane przez bakterie z rodzaju *Salmonella* spp. Jak powszechnie wiadomo, zakażenia *Salmonella* spp. stanowią poważne zagrożenie zoonotyczne, prowadząc do częstych zatruc pokarmowych, co ma szczególne znaczenie dla konsumentów mięsa drobiowego. Na terenie Europy w 2018 r. potwierdzono ponad 91 tys. zakażeń spowodowanych przez pałeczki z rodzaju *Salmonella* spp., jednak wiadomo, że na skutek braku dostatecznej liczby badań skala problemu może być dużo większa (17). Najwięcej zakażeń zanotowano w Niemczech – 13 293 przypadki i w Republice Czeskiej – 10 901 przypadków. W Polsce w 2018 r. potwierdzono 9064 przypadki salmonellozy u ludzi, a najczęstszą ich przyczyną były zakażenia *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* (17). Oprócz poważnych problemów w produkcji drobiu, szczególnie na terenie wylęgarni oraz w hodowli kurcząt brojlerów, duży problem stanowi występowanie pałeczek *Salmonella* w środowisku i przenoszenie ich przez gryzonie, ptactwo wolno żyjące czy muchy. Brak zachowania odpowiednich zasad

higieny i bioasekuracji w obrębie fermy, jak również w transporcie pasz i drobiu może być przyczyną zalekania bakterii na duże odległości. Czynnikiem sprzyjającym występowaniu salmonelloz są również warunki chowu drobiu, w tym zbyt duże zagęszczenie ptaków, za wysoka temperatura na fermie, wilgotność i brak odpowiedniego dostępu światła. Zakażenia *Salmonella* spp. mogą powodować u ptaków immunosupresję, co powoduje większą wrażliwość na zakażenie innymi patogenami bakteryjnymi czy wirusowymi. Biorąc pod uwagę szerokie rozprzestrzenienie się tej bakterii w hodowli drobiu, należy także wspomnieć o występującej często antybiotykooporności. Profilaktyka salmonellozy obejmuje szczepienie stad kur nieśnych oraz stosowanie pre- i probiotyków jako dodatków paszowych. Problem zwalczania tego zarazka komplikuje długi czas przeżywalności bakterii w środowisku oraz niewrażliwość na niektóre środki dezynfekcyjne (18, 19).

W celu oceny skuteczności biopreparatów zawierających srebro przeprowadzono badania z użyciem preparatu Silveco+ zawierającego aktywne formy srebra w stężeniu 2000 ppm (części na milion) oraz nadtlenu wodoru. Doświadczenie obejmowało dezynfekcję 12 kurników zanieczyszczonych bakteriami z rodzaju *Salmonella* spp. Próbkami do badań stanowiły wymazy powierzchniowe z obszaru ok. 100 cm². Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono eliminację bakterii w siedmiu na dziewięć obiektów hodowlanych, w których przed dezynfekcją stwierdzano zanieczyszczenie. Badania wykonano tradycyjnymi metodami hodowlanymi na podłożu chromogennym (ChromeAgar Salmonella Plus; **ryc. 2**). U podstaw skutecznego działania preparatu na bazie aktywnych form srebra (Silveco+) leży również jego złożona formuła, tj. 17–18% nadtlenu wodoru, 1–5% etanolu, 1–5% azotanu (V) potasu (20).

Kontynuując badania preparatu Silveco+ na bazie aktywnych form srebra, przeprowadzono ocenę zanieczyszczenia mikrobiologicznego w kurnikach przed i po przeprowadzeniu dezynfekcji. Próbkami do badań pobierano podobnie jak w poprzednim wypadku, jako wymazy z powierzchni posadzek, rusztów i gniazd ptaków. Do badań pobierano również próbki metodą „podeszwową”. Badania mikrobiologiczne przeprowadzono na podstawie normy ISO 6579, dotyczącej wykrywania i oznaczania liczby i serotypowania bakterii z rodzaju *Salmonella* spp.

Przed dezynfekcją liczba jednostek tworzących kolonie (jtk) *Salmonella* spp. na powierzchniach rusztów w kurnikach wynosiła od $1,1 \times 10^2$ do $9,4 \times 10^3$ jtk/cm², natomiast na powierzchni gniazd była nieco niższa i wynosiła od $7,9 \times 10^2$ do $6,3 \times 10^3$ jtk/cm². Z kolei w przypadku podeń zanieczyszczenie powierzchni wynosiło od $1,3 \times 10^5$ do $1,5 \times 10^5$ jtk/cm². Po dezynfekcji kurników i ponownym pobraniu wymazów z tych samych powierzchni w żadnym przypadku nie obserwowano wzrostu kolonii na podłożu TSA dla *Salmonella* spp. (**ryc. 3**).

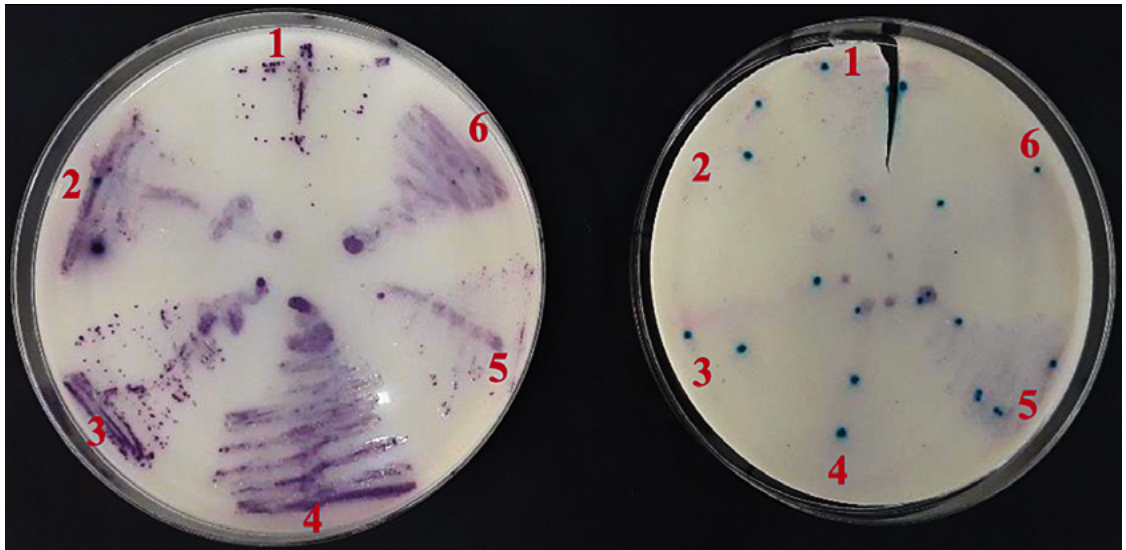
Poza eksperymentalnym podejściem do badania skuteczności preparatu do dezynfekcji pomieszczeń gospodarskich na bazie nanokompleksów srebra wykonano również oficjalne badania urzędowe,

Miejsce
pobrania próbki

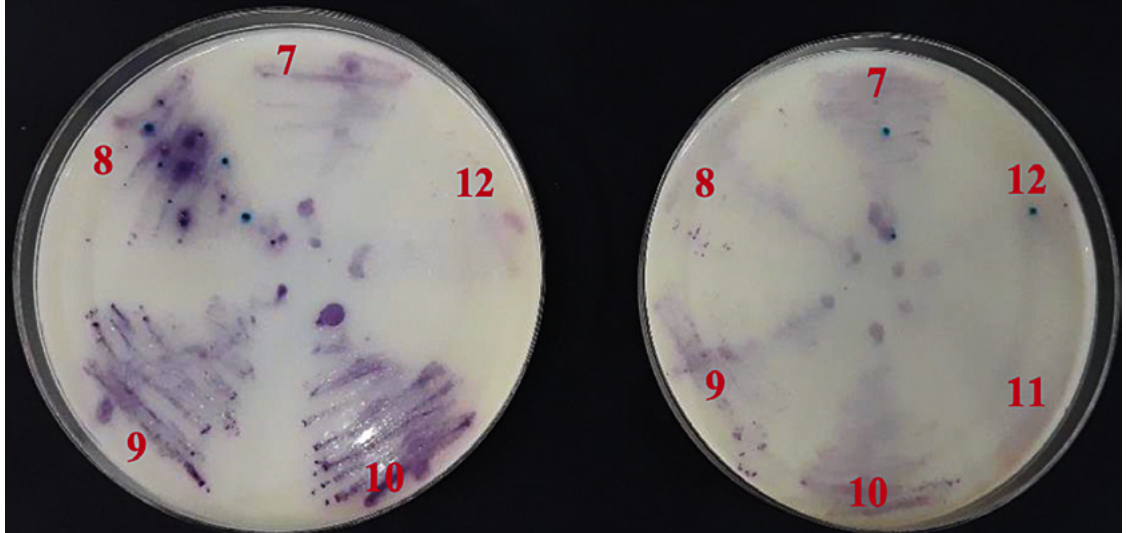
Przed dezynfekcją

Po dezynfekcji

Kurnik 1–6



Kurnik 7–12



Ryc. 2. Badanie skuteczności dezynfekcyjnej preparatu Silveco+ (Smart Nanotechnologies, Alwernia, Kraków) w kurnikach zanieczyszczonych bakteriami z rodzaju *Salmonella* spp. Badania wykonano na podłożu chromogennym (ChromeAgar Salmonella Plus). Po przeprowadzeniu zabiegów dezynfekcji, brak wzrostu kolonii bakterii obserwowano po wysianiu próbek wymazów pochodzących z siedmiu na dziewięć zanieczyszczonych kurników

potwierdzające pełną skuteczność Silveco+ wg normy pozwalającej na określenie działania produktu na porowatych powierzchniach metodą ilościową (PN-EN 16437+A1:2020-03). Badania wykonane przez akredytowane Laboratorium Lab-Test z Katowic wykazały skuteczność preparatu Silveco+ w stężeniu 20% v/v w warunkach wysokiego zanieczyszczenia symulowanego przez roztwór albuminy wołowej oraz ekstraktu drożdżowego w czasie 60 min i temperaturze 10°C. Działanie biobójcze Silveco+ o stężeniu 20% doprowadziło do redukcji jtk *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serowar Typhimurium (ATCC13311) o 4log₁₀, co jest równoznaczne z redukcją kolonii bakterii o 99,9% w stosunku do początkowej ich liczby. Dodatkowym potwierdzeniem skuteczności Silveco+ wobec *S. Typhimurium* są wyniki badań przeprowadzone przez Państwowy Naukowo-Badawczy Instytut Kontroli Preparatów Weterynaryjnych i dodatków do pasz we Lwowie w Ukrainie. Badania prowadzono na licznej grupie kurcząt

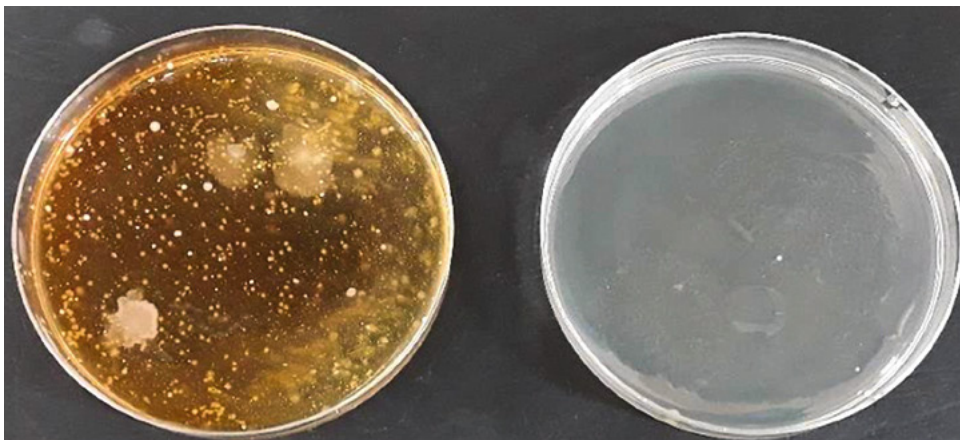
brojlerów (16 200 ptaków) rasy Cobb-500 pomiędzy 1. a 42. dniem życia. Preparat podawano jako 5% roztwór w wodzie demineralizowanej metodą areozolową od 3. do 5. dnia życia oraz *per os* pomiędzy 25. i 27. dniem życia w dawce 1 l/tonę wody. Wyniki badań wykazały, że podawanie preparatu Silveco+ kurczętom nie wpływało istotnie w żadnym stopniu na przyrost średniodobowy, konwersję paszy, czy też żywą wagę kurcząt w 44.–45. dniu doświadczenia. Ponadto obserwowano stymulujący wpływ preparatu na podwyższenie miana przeciwciał przeciwko wirusowi zakaźnego zapalenia oskrzeli (IBV; 1,3-krotnie) oraz wirusowi choroby Newcastle (NDV; ponad 2-krotnie) względem grupy kontrolnej kurcząt. Obserwowany europejski wskaźnik wydajności był nieznacznie wyższy (5,4%) w grupie ptaków, w której stosowano preparat Silveco+. Na podstawie wyników badań potwierdzono brak działań ubocznych preparatu na bazie srebra oraz wykazano jego wysoką skuteczność przeciwko patogenom drobiu.

Miejsce pobrania próbki

Przed dezynfekcją

Po dezynfekcji

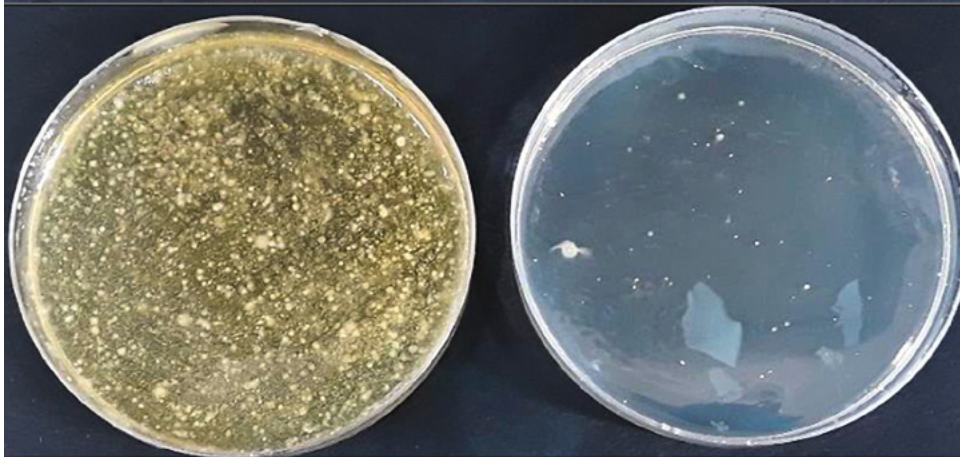
ŚCIANA VII



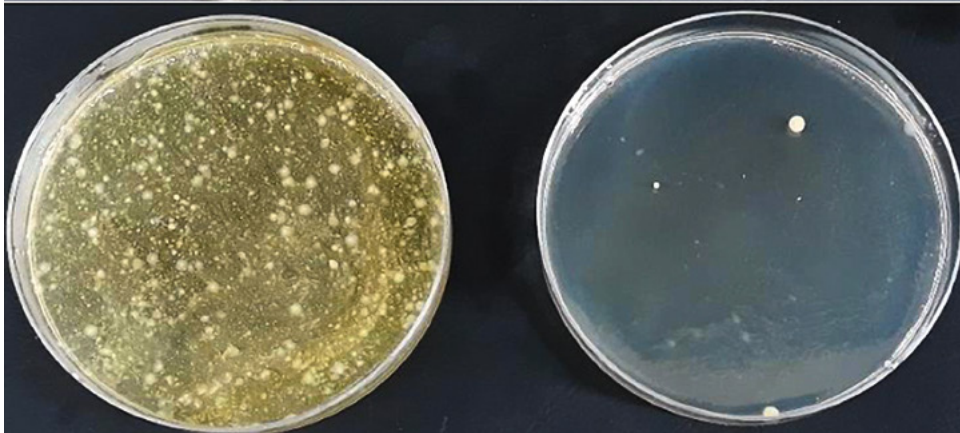
KARMIDŁO VII



PODŁOGA II



POIDŁO I



Ryc. 3. Wzrost bakterii na agarze tryptonowo-sojowym (TSA) po wysianiu materiału pochodzącego z wymazów przed- i po dezynfekcji preparatem Silvecot+. Po zabiegach dezynfekcji prawie na wszystkich badanych powierzchniach nie obserwowano wzrostu *Salmonella* spp.

Co interesujące, zaobserwowano także podwyższenie wskaźników produkcyjnych i ogólnej kondycji zdrowotnej ptaków. Poza *Salmonella* spp., czyli jednym z ważniejszych czynników chorobotwórczych w produkcji drobiu, stanowiącym poważne zagrożenie w kontekście zdrowia publicznego, przeprowadzono badania zgodnie z normą PN-EN 16437:2014-04, mające na celu określenie skuteczności preparatu wobec *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus hauseri* i *Enterococcus hirae*. Preparat był skuteczny przy stężeniach roboczych w zakresie 18-100% v/v w czasie kontaktu 60 min. Uzyskane wyniki badań dowodzą wcześniej omówionych zagadnień związanych z wysoką skutecznością środków dezynfekcyjnych na bazie nanocząstek srebra (21, 22, 23).

Wirusobójczość preparatu na bazie aktywnych form srebra

Badania ogólnej wirusobójczości wspomnianego preparatu na bazie srebra wg normy PN-EN 14675+2015-06 wykonano przy współpracy z akredytowanym laboratorium mikrobiologicznym we Wrocławiu. Wykazały one wysoką skuteczność tego preparatu w odniesieniu do modelowego wirusa stosowanego w badaniach oceny ogólnej wirusobójczości, tj. szczepu enterowirusa bydlęcego (ECBO) typu 1. Jako skuteczne stężenie wirusobójcze, działające nawet przy wysokim poziomie zabrudzenia dezynfekowanej powierzchni, ustalono 20% v/v roztwór preparatu – tak, jak to miało miejsce we wcześniejszych doświadczeniach związanych z biobójczością Silveco+ w stosunku do *Salmonella* spp. i innych patogenów bakteryjnych. Skuteczność produktu potwierdzono przy dwóch różnych okresach aktywnego działania preparatu, tj. przez 30 i 60 min w temperaturze 10°C. We wspomnianych warunkach dochodziło, podobnie jak w przypadku *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp., czy też *Pseudomonas* spp., do redukcji miana wirusa o 99,9% w porównaniu do badania kontrolnego.

Działanie srebra w stosunku do adenowirusów i herpeswirusów

W Zakładzie Mikrobiologii Katedry Patologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu przeprowadzono badania skuteczności produktu SILVECO+ wobec adenowirusów i herpeswirusów. Zakres badań został wykonany zgodnie z obowiązującą normą PN-EN 14476 z użyciem ludzkiego adenowirusa typu 36 (Ad 36). Wyniki uzyskanych badań również w przypadku adenowirusów ludzkich wykazały wysoką skuteczność Silveco+ w stężeniu 20%. Co niezwykle ważne, w tym przypadku czas eskpozycji (aktywnego działania preparatu) wynosił zaledwie 5 min. Analogiczne badania przeprowadzono dla sprawdzenia skuteczności wirusobójczej preparatu wobec herpeswirusa koni typu 1 (EHV-1). Badania te są niezwykle istotne, biorąc pod uwagę ubikwitalny charakter wirusów u ludzi (np. w przypadku wirusa opryszczki typu 1 czy 2) oraz w hodowli zwierząt gospodarskich (wirus choroby Aujeszkiego u świń – SHV-1, wirus choroby Mareka u kur (MDV), czy też wspomniany herpeswirus koni (EHV-1)). Badania wirusobójczości przeprowadzono w temperaturze 10°C przy czasie kontaktu 30 min. Wyniki przeprowadzonych badań, na bazie zmodyfikowanej normy PN-EN 14675 dotyczącej wykonania analiz metodą zawiesinową, wykazały skuteczność preparatu wobec EHV-1 w stężeniu wynoszącym 20%. Dopelnieniem badań nad inaktywację herpeswirusów jest również określenie skuteczności Silveco+ wobec wspomnianego już wirusa opryszczki. Badania wykonane zgodnie z normą PN-EN 14476 wykazały, że preparat ten był skuteczny wobec wspomnianego herpeswirusa przy czasie kontaktu 5 min w stężeniu 20%.

Przyszłość nowoczesnych preparatów do dezynfekcji

W miarę rozwoju technologii i zdobywania coraz większej wiedzy dotyczącej skuteczności nanocząstek metali w różnych dziedzinach nauki, szczególnie



SILVECO+

POLSKI PRODUKT

**SKONCENTROWANY
PREPARAT BIOBÓJCZY**

*Nowy standard
w higienie zwierząt*





-  **DWUFAZOWE DZIAŁANIE BIOBÓJCZE**
– połączenie dwóch sił – nadtlenku wodoru oraz aktywnych form srebra
-  **SZEROKIE SPEKTRUM DZIAŁANIA**
-  **MOŻLIWOŚĆ STOSOWANIA W OBECNOŚCI ZWIERZĄT**
– bioasekuracja w trakcie hodowli
-  **BEZPIECZNY DLA UŻYTKOWNIKÓW I ŚRODOWISKA**

Zdrowy inwentarz

Produktów biobójczych należy używać z zachowaniem środków ostrożności. Przed każdym użyciem należy przeczytać etykietę i informacje dotyczące produktu.

w zakresie medycyny człowieka i weterynarii, rośnie zainteresowanie innowacyjnymi produktami, które mogłyby przynajmniej częściowo zastąpić stosowanie antybiotyków (24, 25). Oprócz antyseptyki i dezynfekcji, prawdopodobnie w najbliższej przyszłości możliwe będzie przynajmniej częściowe wprowadzanie nano-suplementów w celu wzbogacenia paszy dla zwierząt gospodarskich (26, 27). Wydaje się jednak, że możliwość całkowitego zastąpienia antybiotyków przez preparaty na bazie nanocząstek jest procesem długotrwałym, wymagającym jeszcze wielu prób klinicznych i testów bezpieczeństwa żywności w kontekście możliwości kumulowania się niektórych pierwiastków metali (28). Wiele nadziei wiąże się również z wdrożeniem technologii nanocząstek w terapii przeciwnowotworowej, jednakże podobnie jak w przypadku zwierząt gospodarskich, konieczne są dogłębne badania skupione na ewentualnej cytotoxycznosci nanocząstek dla różnych typach tkanek (29, 30, 31). Po potwierdzeniu nieszkodliwości nanocząstek w warunkach hodowli komórkowych, czyli *in vitro*, należałoby również skupić się na efekcie ich działania na żywych organizmach, aby wykluczyć potencjalne skutki uboczne.

Podsumowanie

Obecnie w medycynie i weterynarii istnieje wiele możliwych zastosowań nanocząstek, m.in. w antyseptyce czy dezynfekcji. Dostępność nanocząstek na rynku pozwala na dalsze badanie ich właściwości oraz wyeliminowanie potencjalnych działań niepożądanych. Duże nadzieje wiąże się przede wszystkim z możliwością ograniczenia stosowania antybiotyków na rzecz nanocząstek, jednakże droga do ich zastąpienia z pewnością jest stopniowa i wymaga rzetelnych badań laboratoryjnych oraz eksperymentów *in vivo*. Jak wykazały przedstawione w niniejszym opracowaniu badania z użyciem preparatu na bazie nanocząstek srebra, produkty opracowane w tej technologii wykazują szerokie działanie wirusobójcze oraz bakterioobójcze w stosunku do najważniejszych patogenów zwierząt gospodarskich, a szczególnie w obszarze hodowli drobiu oraz trzody chlewnej. Wydaje się, że przyszłe próby wdrożenia nanotechnologii do produkcji zwierzęcej jako elementu skutecznej bioasekuracji poprzez efektywną i bezpieczną dezynfekcję pomieszczeń gospodarskich otwiera nowy rozdział w medycynie weterynaryjnej oraz w zakresie dobrostanu zwierząt.

Piśmiennictwo

1. Brady M. J., Lisay C. M., Yukovetskiy A. V., Sawan S. P.: Persistent silver disinfectant for the environmental control of pathogenic bacteria. *Am. J. Infect. Control* 2003, 4, 208-214.
2. Czaplewski L., Bax R., Cloukie M., Dawson M.: Alternatives to antibiotics – a pipe portfolio review. *Lancet. Infect. Dis.* 2016, 16, 239, 251.
3. Pejsak Z., Tarasiuk K.: Silver nanoparticles in disinfection. *Med. Weter.* 2021, 77, 221-225.
4. Auffan M., Rose J., Bottero J., Lowry G., Jolivet J., Wiesner M.: Towards a definition of inorganic nanoparticles from environmental, health and safety perspective. *Nature. Nanotechnology* 2009, 4, 634-665.
5. Chmiel M.J., Szczerba A.: Analiza porównawcza właściwości przeciw-bakteryjnych preparatów stosowanych do dezynfekcji w pomieszczeniach inwentarskich. *Woda-Srodowisko-Obszary Wiejskie* 2017, 17, 37-49.

6. Chojniak J., Libera M., Król E., Paza G.: A nonspecific synergistic effect of biogenic silver nanoparticles and biosurfactant towards environmental bacteria and fungi. *Ecotoxicology* 2018, 27, 352-359.
7. Zhang H., Wang D., Butler R., Campbell N.L., Long J., Tan B.: Formation and enhanced biocidal activity of water-dispersible organic nanoparticles. *Nat. Nanotechnol.* 2008, 3, 506-511.
8. Semo E., Kesselman E., Danino D., Livney Y.D.: Casein micelle as a natural nano-capsular vehicle for nutraceuticals. *Food Hydrocol.* 2006, 21, 936-942.
9. Irvani S., Korbekandi H., Mirmohamadi S.V., Zolfaghari B.: Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical, and biological methods. *Res. Pharm. Sci.* 2014, 9, 385-406.
10. Maillard J.Y., Harteman P.: Silver as an antimicrobial: facts and gaps in knowledge. *Crit. Rev. Microbiol.* 2013, 39, 373-383.
11. Wolska K.J., Markowska K., Wypij M., Glińska P., Dahn H.: Nanocząsteczki srebra synteza i biologiczna aktywność. *Kosmos* 2017, 66, 125-138.
12. Silvestry-Rodríguez N.: Silver as a disinfectant. *Rev. Envir. Contam. Toxicol.* 2007, 191, 23-45.
13. Speruda H., Kędziora A., Bugla-Pławińska G.: Antybakteryjne działanie nanocząstek srebra syntetyzowanych metodą zielonej chemii. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 2017, 69, 281-289.
14. Yang Z., Liu Z.W., Allaker R.P., Reip P., Oxford J., Ahmad Z.: A review of nanoparticle functionality and toxicity on the central nervous system. *J. R. Soc. Interface.* 2010, 7, 411-422.
15. Weiss C., Carriere H., Fusco I.: Toward nanotechnology-enabled approaches against the COVID-19. *Am. Chemical Soc. Public Health Emergency Collect.* 2020, doi: 10.1021/acsnano.0c03697.
16. Sanchez-Lopez E., Gomes D., Esteruales G.: Metal-Based Nanoparticles as Antimicrobial Agents: An Overview. *Nanomaterials (Basel)* 2020, 10, 292-310.
17. EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2019. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. *EFSA Journal* 2019, 17(12):5926, 276. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926>.
18. Antunes P., Mourão J., Campos J., Peixe L.: Salmonellosis: the role of poultry meat. *Clin. Microbiol. Infect.* 2016, 110-121. Doi: 10.1016/j.cmi.2015.12.004.
19. Kurtz J.R., Nieves W., Bauer D.L., Israel K.E., Adcox H.E., Gunn J.S., Morici L.A., McLachlan J.B.: *Salmonella* Persistence and Host Immunity Are Dictated by the Anatomical Microenvironment. *Infect Immun.* 2020, 88:e00026-20. Doi: 10.1128/IAI.00026-20.
20. Strona internetowa producenta produktu Silveco + <https://silveco.com.pl/>
21. Wzorek Z., Konopka M.: Nanosrebro – nowy środek bakterioobójczy. *Czasopismo Techniczne* 2007, 1, 175-180.
22. Ruparelia J.P., Chatterjee A.K., Duttguptab S.P., Mukherjia S.: Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomater* 2008. Doi: 10.1016/j.actbio.2007.11.006.
23. Rai M., Yadav A., Gade A.: Silver nanoparticles as a new generation of anti-microbials. *Biotechnology Advances* 2009, 27, 76-83.
24. Balcazar J.L., Subritas J., Borrego C.M.: The role of biofilms as environmental reservoirs of antibiotic resistance. *Front. Microbiol.* Doi: 10.3389/fmicb.2015.01216.
25. Deshmukh S., Patil S., Mullai S., Delekar S. D.: Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Mater. Sci. Eng. Mater. Biol. Appl.* 2019, 97, 954-965.
26. Feynman R. P.: There's Plenty of Room at the Bottom, *Engineering and Science magazine* 1960, 5, 22-26. Hong S., Choi D. W., Kim H. N., Park C.G.: Protein-Based Nanoparticles as Drug Delivery System. *Pharmaceutics* 2020, 12, 604-610.
27. Gonzales-Eguia A., Fu C., Lu F., Lien T.: Effects of nanocopper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets. *Livest. Sci.* 2009, 126, 122-129.
28. Kawata K., Osawa M., Okabe S.: In vitro toxicity of silver nanoparticles at noncytotoxic doses to HepG2 human hepatoma cells. *Environ Sci Technol.* 2009, 43, 6046-6051.
29. Mathur P., Jha S., Ramteke S., Jain N.K.: Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2018;46 (sup1):115-126. doi: 10.1080/21691401.2017.1414825
30. Kalińska A., Jaworski S., Wierzbicki M., Gołębiowski M.: Silver and Copper Nanoparticles – An Alternative in Future Mastitis Treatment and Prevention. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Doi: 10.3390/ijms20071672.
31. Jiang W., Kim B.Y.S., Rutka J.T., Chan W.C.W.: Nanoparticle-mediated cellular response is size-dependent. *Nat. Nanotechnol.* 2008, 3, 145-150.

Prof. dr hab. Grzegorz Woźniakowski
e-mail: grzegorz.wozniakowski@umk.pl