

Ocena skuteczności NanoCare Plus Silver Gold

w eliminacji *Enterococcus faecalis* z zainfekowanych kanałów zębowych.

M.K. Bednarski¹, H. Pawlicka¹, B. Zarzycka², A. Soska-Czop¹

¹Katedra Endodoncji, Uniwersytet Medyczny w Łodzi ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

²Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

Tel. 604 615 949 or 503 348 611, e-mail: soskaaga@gmail.com lub michbednarski@gmail.com

STRESZCZENIE:

Nanotechnologia to niezwykle szybko rozwijająca się gałąź technologii i mająca ogromny wpływ na medycynę. Jednak obecnie jedynie kilka „nanoproduktów” jest w niej używanych. Najbardziej znaczącym z nich jest nanosrebro. Cząsteczki nanosrebra są mniejsze niż 100 nm i co najważniejsze wykazują niezwykle właściwości chemiczne, fizyczne i co najważniejsze dla badaczy – biologiczne. Środek ten wykazuje znakomite działanie przeciwko szerokiej gamie mikroorganizmów. Dzięki tym cechom produkt jest bardzo szybko wprowadzany do użytku w medycynie i innych gałęziach nauki, dlatego też postanowiliśmy przeprowadzić badania i zweryfikować antybakteryjne działanie nanosrebra.

SŁOWA KLUCZE:

Nanocząsteczki, srebro, nanotechnologia, *Enterococcus faecalis*, nanomedycyna.

WSTĘP:

Nanotechnologia to najbardziej obiecująca dziedzina w zakresie tworzenia nowych zastosowań i produktów w całej technologii, a szczególnie w medycynie. Słowo „Nano” pochodzi od greckiego słowa oznaczającego karła i zazwyczaj stosowane jest jako przedrostek (np. nanometr, nanotechnologia, nanorobot). Nanometr (nm) to 10^{-9} lub jedna bilionowa metra. Nanotechnologia to wykorzystywanie bardzo małych, uprzednio wytworzonych cząstek o wielkościach 5 do 100 nm, które nazywa się nanocząsteczkami lub ultra małymi cząsteczkami. Ponieważ trudno jest uświadomić sobie rzeczywistą wielkość, jaką jest nanometr, warto przyrównać go do innej skali. Jeżeli wysokość przeciętnego człowieka byłaby równa odległości między ziemią i księżycem, wtedy każdy atom, z którego składałoby

się ciało tej osoby byłby wielkości piłki do baseball'a (o średnicy ok. 10 cm). Nanometr byłby pięcioma takimi piłeczkami ustawionymi w rzędzie [1]. Pojęcia takie jak nanomedycyna i nanostomatologia zostały stworzone niedawno. Geneza koncepcji stworzenia nanomedycyny wywodzi się z niegdyś wizjonerskiej idei, że małe nanoroboty i podobne im maszyny mogłyby być projektowane, produkowane a następnie wprowadzane do organizmów ludzkich, gdzie dokonywałyby napraw komórek na poziomie molekularnym. [2] Nanomedycyna dzisiaj rozwija się w setkach różnych kierunków i odnosi sukcesy w zarówno w sferze badań naukowych jak i w sferze klinicznej. W szerokim ujęciu nanomedycyna [3] to przeprowadzanie diagnozy, leczenia i profilaktyki chorób i okaleczeń, uśmierzania bólu i dbania o ludzkie zdrowie przy użyciu narzędzi molekularnych i wiedzy na tym poziomie. W krótszym ujęciu, nanomedycyna to praktyczne zastosowanie nanotechnologii w medycynie. Mówiąc o nanotechnologii myślimy o cząsteczkach, których nie możemy dostrzec, więc musimy używać naszej wyobraźni, aby przewidzieć przyszłość nanomedycyny tak, jak to zrobił Richard P. Feynman prawie 50 lat temu.

W roku 1959, zdobywca nagrody Nobla fizyk Richard P. Feynman na dorocznym spotkaniu „the American Physical Society” (Amerykańskiego Towarzystwa Fizycznego) przedstawił prelekcję zatytułowaną "There's Plenty of Room at the Bottom" („Na dole jest wiele miejsca”) [4]. Feynman zaproponował użycie odpowiednich narzędzi mechanicznych do wyprodukowania mniejszych narzędzi mechanicznych, które z kolei były by wykorzystane do zbudowania jeszcze mniejszych narzędzi i tak dalej aż do poziomu molekularnego. Zasugerował, że w końcu takie nanomaszyny, nanoroboty i nanosprzęty mogłyby być użyte do stworzenia szerokiej gamy mikroskopijnych narzędzi i maszyn, które działałyby za atomową precyzją. Fizyk twierdził, że te narzędzia mogłyby być zastosowane do stworzenia ogromnej ilości ultramałych komputerów i różnego rodzaju mikro- i nanorobotów. W swoim wniosku powiedział : „Jest to rozwój, którego jak sądzę nie da się uniknąć”. Wtedy powstała wizja całej nanotechnologii !

Kilkadziesiąt lat wstecz, ten wykład został przyjęty z zaskoczeniem i sceptyzmem, jednak od tamtej pory zrobiono wiele postępu w kierunku zrealizowania wersji Feynmana. Od powstania mikrokomputera, kilka dekad temu, staliśmy się świadkami znacznego wzrostu mocy i szybkości komputerów. Właśnie to, w dużej mierze doprowadziło do ciągłego zmniejszania się rozmiarów

elektronicznych części, które upakowywane są coraz gęściej na ciągle zmniejszających się silikonowych chipach. Jeżeli tylko uzmysłowić sobie potencjalne zastosowania nanotechnologii w medycynie, nietrudno wyobrazić sobie jak wyglądałaby nanostomatologia. Nie sposób przecenić długoterminowego wpływu jaki będzie miała nanomedycyna na czynności stomatologiczne takie jak znieczulenie miejscowe, rekonstrukcja twardych tkanek w obrębie jamy ustnej, leczenie ortodontyczne i profilaktyka schorzeń. Zwłaszcza działanie nanoproduktów przeciwko mikroorganizmom może sprawić, że wiele chorób z zakresu stomatologii, ale także całej medycyny stanie się możliwymi do wyleczenia. Taka technologia może mieć ogromne skutki.

Wzrastające zainteresowanie przyszłymi medycznymi zastosowaniami nanotechnologii doprowadziło do powstania nanomedycyny [5]. Jest to nauka i technologie pomagające diagnozować, leczyć choroby (i zapobiegać im i okaleczeniom), uśmierzać ból i dbać o ludzkie zdrowie przy użyciu materiałów ukształtowanych w nanoskali, biotechnologii, inżynierii genetycznej i wreszcie złożonych molekularnych maszyn i nanorobotów.

Liczebność grupy naukowców, która wciąż poddaje w wątpliwość możliwość działania nanotechnologii ciągle maleje. Nietrudno zauważyć dlaczego. Ta technologia jest oparta na znanych nam prawach chemii i fizyki. Jakkolwiek jednak nanotechnologia jest dynamicznie rozwijającym się i obiecującym działem nauki, jedynie kilka nanoproduktów jest obecnie używanych w celach medycznych.

Najbardziej znaczącym produktem jest nanosrebro. Cząsteczki nanosrebra mierzą zazwyczaj mniej niż 100 nm i zawierają 20–15,000 atomów srebra. W nanoskali, srebro wykazuje zauważalnie niezwykle właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne. Dzięki swoim silnym antybakteryjnym właściwościom pokrycia z nanosrebra są używane w różnych tekstyliach, ale również w niektórych implantach. Co więcej, nanosrebro jest używane do leczenia ran i oparzeń lub jako środek im zapobiegający i wprowadzone na rynek jako środek do dezynfekcji wody i spray do pomieszczeń [6]. Z tych powodów używanie nanosrebra staje się coraz bardziej rozpowszechnione w medycynie i w związku z tym powinno zostać dokładnie zbadane w zakresie toksykologii i działania na środowisko. W kontraście do uwagi jaka jest poświęcana nowym zastosowaniom nanosrebra, jedynie kilka badań pokazuje jak te cząsteczki oddziałują z ludzkim organizmem. Biorozprowadzanie, gromadzenie się w tkankach, rozkład, możliwe efekty uboczne i toksyczność są słabo zbadane.

Srebro jest białym i połyskliwym pierwiastkiem metalicznym, jego liczba atomowa w układzie okresowym to 47 a symbol Ag, który jest skrótem od słowa „*argentum*”. Podobnie jak złoto, inny rzadki i cenny metal, srebro jest szeroko używane przez człowieka tysiące lat. Stosuje się je między innymi do wyrobu biżuterii, pieniędzy (monet), wypełnień stomatologicznych, w fotografii czy w produkcji środków wybuchowych. Srebro jest używane od wieków także w medycynie ze względu na swoje właściwości dezynfekujące, których mechanizm nie jest jednak do końca poznany. Srebrne naczynia były używane w czasach antycznych do ochrony wody i wina. Proszek srebrny, według Hipokratesa, ojca współczesnej medycyny, miał mieć dobroczynne właściwości uzdrawiające i przeciwdziałające chorobom, opisał go też także jako lek na wrzody. Ale to zazwyczaj związki srebra były wykorzystywane w lekarskiej praktyce. Te związki były główną bronią przeciwko infekcjom ran podczas I Wojny Światowej, zanim wynaleziono antybiotyki. W 1884 roku niemiecki położnik C.S.F. Crede wprowadził 1 % roztwór azotanu srebra jako środek do wprowadzania do oka, w celu zapobiegania *Gonococcal ophthalmia neonatorum* (niemowlęce bakteryjne zapalenie spojówek), co jest prawdopodobnie pierwszym naukowo udokumentowanym medycznym zastosowaniem srebra. Nieodwracalne przebarwienia skóry i/lub oka pod wpływem obcowania organizmu ze srebrem nazywane Argyrią mogą pojawić się przy przedłużonym kontakcie z srebrem lub związkami srebra [7,8]. Z powodu tego problemu wraz z pojawieniem się antybiotyków takich jak penicyliny i cefalosporyny czasy świetności srebra jako środka przeciwko infekcjom przeminęły. Jednakże, w trakcie rozwoju nowoczesnej nauki ponownie wprowadzono srebro do powszechnego użytku.

W dzisiejszych czasach metalicznemu srebru nie nadaje się dużych rozmiarów, ale rozdrabnia na bardzo małe cząstki, których rozmiar jest mierzony w nanometrach (nm). Jeżeli te cząstki mają chociażby jeden wymiar mniejszy niż 100 nm, nazywane są nanocząsteczkami. [9,10]. Kiedy zredukowane do nanoskali, tak jak i inne nanomateriały srebro wykazuje zauważalnie niezwykle właściwości fizykochemiczne i aktywność biologiczną [12,13,14,15]. Ze względu na te cechy, zastosowania wyprodukowanych nanocząsteczek srebra (nanosrebra) zostały dokładnie przebadane (ten proces jednak nadal trwa) zwłaszcza, jeżeli chodzi o sektor medyczny. Produkcja i stosowanie nanocząsteczek srebra ukazują się nam jako jedna z najszybciej wzrastających kategorii w całym przemyśle

nanotechnologicznym. Najważniejszą właściwością, będącą jednocześnie głównym kierunkiem rozwoju tych produktów jest ich silne działanie przeciwko mikroorganizmom. Szeroka gama produktów tej kategorii już jest dostępna na rynku. W zakresie medycyny są to opatrunki na rany, środki zapobiegawcze, instrumenty chirurgiczne i środki do obudowy kości - wszystkie pokryte i wypełnione nanosrebrem [16,17,18,19,20,21,22]. W życiu codziennym dla konsumentów dostępne są aerozole do pomieszczeń, detergenty do prania, środki do czyszczenia wody i farby do ścian [16, 23]. Cząsteczki nanosrebra są również wprowadzane do tekstyliów w celu produkcji ubrań, bielizny czy skarpetek [24]. Są również pralnie używające nanosrebra. O wiele więcej produktów wkrótce zostanie wprowadzonych na rynek. Szacuje się, że zastosowanie nanosrebra w największej mierze i stopniu dostępności ze wszystkich nanomateriałów ma miejsce właśnie w sektorze medycyny i ochrony zdrowia.

Z wyżej wymienionych powodów wystawienie ludzkiego ciała na działanie nanosrebra gwałtownie rośnie. Nanocząsteczki srebra mają w ten sposób duży dostęp do tkanek, komórek i cząsteczek w organizmie człowieka. Jeżeli jednak chodzi o same cząsteczki niewiele prac pojawiło się na temat ich cytotoksyczności.

Srebrne nanocząsteczki są syntezowane przy użyciu wielu różnych metod takich jak: Wyładowania iskrowe, redukcja elektrochemiczna, napromieniowanie roztworów czy stosowanie syntezy kriochemicznej, jeżeliby wymienić tylko kilka [25,26]. Tak jak w przypadku wszystkich nanomateriałów, główna charakterystyka tych cząsteczek to ich ultra mały rozmiar. Takie wymiary prowadzą do bardzo dużego stosunku powierzchni do masy a także do tego, że duża część atomów ma kontakt ze środowiskiem zewnętrznym i jest „gotowa” do wejścia w reakcję. Doświadczalnie udowodniono niezwykle działanie nanocząsteczek srebra w obecności bakterii i wirusów. [13,27,28].

CEL:

Celem badania było zrewidowanie obecnej wiedzy na temat nanotechnologii i materiałów z nanosrebrem i użycia ich zwłaszcza w medycynie i w życiu codziennym. Podczas testów skupiliśmy się zwłaszcza na badaniu antybakteryjnych właściwości nanosrebra i jego działaniu przeciwko bakteriom *Enterococcus faecalis*. Podczas badań nanosrebro zostało użyte jako środek do płukania kanałów zębów. Równocześnie antybakteryjne działanie roztworu nanosrebra zostało porównane z

działaniem pasty z wodorotlenkiem wapnia w tym samym zakresie. Wodorotlenek wapnia jest szeroko używany w leczeniu endodontycznym jako substancja bakteriobójcza i używany jako tymczasowe wypełnienie kanałów.

MATERIAŁ I METODA:

Model eksperymentu, który został wykonany w tym badaniu bazował na tym wykonanym przez Ørstavik i Haapasalo [29] ale został przez nas zmodyfikowany. Użyto trzydziestu dziewięciu świeżo usuniętych, nietkniętych (próchnicą) zębów o jednym korzeniu z żuchwy bydłcej. Po ekstrakcji zęby były przechowywane w 0,5 % roztworze podchlorynu sodu przez noc, w celu usunięcia resztek tkanek i oczyszczenia ich powierzchni. Po tej procedurze zęby zostały wypłukane w roztworze soli fizjologicznej a ich wymiary uśrednione. Części koronowe i wierzchołkowe zostały odcięte (przy jednoczesnym chłodzeniu wodą) przy użyciu diamentowego wiertła w kształcie cylindra (Dentsply Maillefer, Szwajcaria) zamontowanego do szybkoobrotowej kątownicy. W ten sposób otrzymano „rurki” lub „tuby” z zębiny (fragmenty z kanałem wewnątrz) – każdą o długości 8 mm. Następnie kanały zostały opracowane mechanicznie w celu uśrednienia średnicy ich światła przy użyciu wiertel Largo (Dentsply Maillefer, Szwajcaria) aż do uzyskania przez nie rozmiaru #4 (1,3 mm). Kanały które pierwotnie miały rozmiary mniejsze niż #3 Largo (1,1 mm) zostały poszerzone. Cement korzeniowy został usunięty przy użyciu dużego krążka SofLex o kolorze ceglasczerwonym (3M ESPE, USA) a zewnętrzna powierzchnia każdej z „tubek” została spreparowana w taki sposób, aby uzyskać średnicę zewnętrzną 6 mm. W końcu uzyskano fragmenty zębów o wymiarach 8 mm długości, 1,3 mm wewnętrznej średnicy i 6 mm średnicy zewnętrznej (Schemat nr 1). Warstwa mazista została usunięta przez płukanie w 17% EDTA (10 min) i 5,25% podchlorynie sodu (10 min).

Próbki zostały wysterylizowane w autoklawie w temperaturze 131°C, w ciągu 20 min, pod ciśnieniem 1 bar. Potem trzy losowo wybrane zęby zostały przeniesione do trzech fiolek zawierających 10 ml sterylnej pożywki BHI (wyciąg z mózgow i serc) (Graso, Polska) każdy, aby potwierdzić ich sterylność. Ewentualne zmiany w gęstości optycznej (zmierzone przy użyciu turbidymetru) bulionu BHI świadczyłyby o niekompletnej sterylizacji. Po 24 godzinach takich zmian nie zauważono.

Jednocześnie przygotowano zawiesinę bakterii *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 w sterylnym BHI, jako środek do zainfekowania zębów. W celu jej stworzenia

stopniowo dodawano czystą kulturę *E. faecalis* do 100 ml wysterylizowanej pożywki BHI aż do uzyskania gęstości 0,5 według skali McFarland'a ($1,5 \times 10^8$ bakterii/ml). Zaraz po przygotowaniu zawiesiny zawierająca bakterie, sterylne walce zostały przeniesione do naczynia z nią i pozostały tam 24 godziny w 37°C w celu zarażenia. Po okresie kontaktu z materiałem zakaźnym próbki zostały usunięte z pojemnika w aseptycznych warunkach, wypłukane w sterylnej wodzie destylowanej i wysuszone przy użyciu sterylnych sączków papierowych i sterylnych kuleczek z waty celulozowej. W celu potwierdzenia zakażenia tubek z zębów, wybrano losowo 10 próbek (grupa 1) z których pobrano fragmenty i hodowano kultury bakterii w sposób opisany poniżej.

26 pozostałych zakażonych próbek zostało losowo podzielono na 3 grupy ze względu na środek zastosowany wewnątrz kanału:

- Grupa 2 (grupa kontrolna, 13 próbek), sterylny fizjologiczny roztwór chlorku sodu
- Grupa 3 (13 próbek): NanoCare Plus Silver Gold

Po zaaplikowaniu środków wewnątrz kanałów tubek z zębów zostały one zakryte przy użyciu kleistego wosku i umieszczone w dwóch naczyniach (ze względu na środek jaki w nich użyto) zawierających 100 ml soli fizjologicznej. Te grupy zębów inkubowano następnie przez tydzień w temperaturze 37°C.

Po czasie eksperymentu próbki wyjęto z naczynia i wysuszono przy użyciu sterylnych celulozowych wacików. Kanały zostały wypłukane przy użyciu sterylnego roztworu soli fizjologicznej w celu usunięcia większości pozostałości po użytych środkach a następnie wysuszone sączkami papierowymi. Aby usunąć wszystkie pozostałości po zastosowanych medykamentach kanały opracowano przy użyciu wiertła Largo #5 przymocowanego do kątnicy endodontycznej (TR ZX Morita, Japonia).

Skrawki zębiny zostały uzyskane z kanałów dzięki ich preparacji przy użyciu wiertła Largo #6. Kawalki z każdego kanału zostały zebrane na osobne sterylne aluminiowe folie o znanej masie. Uzyskane skrawki były suche i wolne od pozostałości użytych substancji. Folie aluminiowe wraz z kawałkami zębiny zostały ponownie zważone. Na podstawie wiedzy o wadze folii bez skrawków i z nimi oszacowano masę kawałków.

Kawałki zębiny z każdego kanału zostały następnie wprowadzone do fiolki zawierającej 2 ml soli fizjologicznej i przeprowadzono wirowanie (5 Hz, 30 s). Następnie powstały osad złożony z fragmentów zębiny wraz *Enterococcus faecalis* w sterylnym roztworze soli fizjologicznej został wysiany na wybiórcze podłoże agarowe Enterococoseł (Graso, Poland) i inkubowany przez 24 h w 37°C.

Kawałki zębów z tubek użytych jako kontrola zarażenia zostały uzyskane, wysiane i inkubowane w ten sam sposób, jedyną różnicą było to, że wszystkie te procedury przeprowadzono zaraz po zainfekowaniu.

Po 24 godzinach policzono CFU (ilość kolonii bakterii), którą następnie przeliczono na 1 mg zębiny i obliczono średnie wyniki.

WYNIKI:

1 mg zarażonej zębiny zawierał początkowo (Grupa 1) 3×10^6 komórek *E. faecalis* (Tabela 1). Aby potwierdzić żywotności bakterii po jednotygodniowym okresie stworzono grupę kontrolną (Grupa 2). Poziom przeżywalności bakterii pokazany jest w Tabeli 2. Ilość komórek bakteryjnych z Grupy 3 (z użyciem NanoCare Plus Silver Gold), które przeżyły jest pokazana w Tabeli 3. W wyniku analizy statystycznej, udowodniono, że nowy produkt NanoCare Silver Plus Gold efektywnie zabija bakterie *in vitro* $R < 0.05$.

WNIOSKI I DYSKUSJA:

Nanosrebro, jako najbardziej obiecujący nanoproduct stało się przedmiotem naszych badań. Cząsteczki nanosrebra okazują się być doskonałym środkiem do zwalczania bakterii i prawdopodobnie innych mikroorganizmów. Używanie wyżej opisanego środka w medycynie dopiero się rozpoczęło i będzie się rozpowszechniać.

Nasze badania pokazały, że nanosrebro ma ogromny potencjał, jeżeli chodzi o działanie bakteriobójcze, jest bardzo efektywny w zwalczaniu *Enterococcus faecalis* i może być używany jako płyn do płukania kanałów w endodoncji.

Istnieje niewiele badań, które mówią o toksyczności nanosrebra [30,31]. Wraz z teraźniejszym i przyszłym rozpowszechnianiem się nanocząsteczek srebra w medycynie i podobnych jej dziedzinach należy przyjrzeć się temu środkowi pod względem toksykologicznym i **środowiskowym**. Te aspekty powinny zostać zbadane zanim nanosrebro wejdzie do powszechnego użytku w medycynie i życiu codziennym.

REFERENCES:

- [1]. SHLEYER T.L.: Nanodentistry fact or fiction? JADA. **131**, 1567-1568, **2000**
- [2]. FREITAS R.A.: What is nanomedicine? Nanomedicine: nanotechnology: biology and medicine. **1**, 2-9, **2005**.
- [3]. FREITAS R.A.: Nanomedicine. **1**, 1-2, **1999**.
- [4]. FEYMAN R.P.: There's plenty of room at the bottom. Eng Sci Feb. **23**, 22-36, 1960
- [5]. FREITAS RA JR.: Nanomedicine -Basic capabilities. Landes Bioscience. **2000**.
- [6]. CHEN X.. SCHLUESENER H.J.: Nanosilver: a nanoproduct in medical application. Toxicology letters. **176**, 1-12, **2008**.
- [7]. VAN DE VOORDE K., NIJISTEN T., SHELFHOUT K., MOORKENS G., LAMBERT J.: Long-term use of silver containing nose-drops resulting in systemic argyria" Acta Clin. Belg. 33-35, **2005**
- [8]. SPENCER i wsp.: Endogenous and exogenous ocular and systemic silver deposition. Trans. Ophthalmol. Soc. U.K. 171-178, **1980**
- [9]. OBERDORSTER i wsp.: Part Fibre Toxicol. 8-43, **2005**
- [10]. WERHEIT I wsp. : : Testing strategies to establish the safety of nanomaterials: conclusions of an ECETOC workshop" Inhal. Toxicol. 631-643, **2007**
- [11]. LEE K.S. and EL-SAYED M.A.: Gold and silver nanoparticles in sensing and imaging: sensitivity of plasmon response to size, shape, and metal composition. J. Phys. Chem 19220. -19225, **2006**
- [12]. EVANOFF D.D., CHUMANOFF G.: Synthesis and optical properties of silver
- [13]. ELECHIGUERRA, J.L.; BURT, J.L.; MORONES, J.R.; CAMACHO-BRAGADO, A.; GAO, X.; LARA, H.H.; YACAMAN, M.J.: Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. J. Nanobiotechnol. str 6, **2005**
- [14]. LIU, H.H.; CAO, X.; YANG, Y.; LIU, M.G.; WANG, Y.F.: Array-based nano-amplification technique was applied in detection of hepatitis E virus. J. Biochem. Mol. Biol. Str. 247-252, **2006**
- [15]. MAKARAVA, N.; PARFENOV, A.; BASKAKOV, I.V.: Water-soluble hybrid nanoclusters with extra bright and photostable emissions: a new tool for biological imaging. Biophys. J. str 572-580, **2005**
- [16]. CHENG, D.; YANG, J.; ZHAO, Y.: Antibacterial materials of silver nanoparticles application in medical appliances and appliances for daily use. Chin. Med. Equip. J.. 26-32, **2004**
- [17]. CHRISTIE, M.S.; WAHI, R.; PREETHA, A.K.; LIU, Y.; JENNIFER, L.W.; KEVIN, D.A.; DAVID, B.W.; VICKI, L.C.: Correlating nanoscale titania structure with toxicity: a cytotoxicity and inflammatory response study with human dermal fibroblasts and human lung epithelial cells. Toxicol. Sci.. 174-185, **2006**
- [18]. MUANGMAN, P.; CHUNTRASAKUL, C.; SILTHRAM, S.; SUVANCHOTE, S.; BENJATHANUNG, R.; KITTIDACHA, S.; RUEKSOMTAWIN, S.: Comparison of efficacy of 1% silver sulfadiazine and Acticoat for treatment of partial-thickness burn wounds. J. Med. Assoc. Thai.. 953-958, 2006
- [19]. LANSDOWN, A.B.: Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use. Curr. Probl. Dermatol. 17-34. **2006**
- [20]. ZHANG, Y.; SUN, J., "A Study on the bio-safety for nano-silver as anti-bacterial materials. Chin. J. Med. Instrumen.. 35-37, **2007**
- [21]. ZHANG, Y.; CHEN, F.; ZHUANG, J.: Synthesis of silver nanoparticles via electrochemical reduction on compact zeolite film modified electrodes. Chem. Commun. (Camb.). 2814-2815, **2002**
- [22]. Freitas RA Jr.. The Sciences **40**, 26-31, **2000**

- [23]. Zhang, Z.; Yang, M.; Huang, M.; Hu, Y.; Xie, J., "Study on germicidal efficacy and toxicity of compound disinfectant gel of nanometer silver and chlorhexidine acetate. *Chin. J. Health Lab. Technol.* . 1403-1406, **2007**
- [24]. LEE, H.Y.; PARK, H.K.; LEE, Y.M.; KIM, K.; PARK, S.B.: A practical procedure for producing silver nanocoated fabric and its antibacterial evaluation for biomedical applications. *Chem. Commun. (Camb.)*. 2959-2961, **2007**
- [25]. SUN, Y.; XIA, Y.: Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles. *Science*. 2176-2179 , **2002**
- [26]. BOGLE, K.A.; DHOLE, S.D.; BHORASKAR, V.N.: Silver nanoparticles: synthesis and size control by electron irradiation. *Nanotechnology*. 3204-3208, **2006**
- [27]. JOSE, R.M.; JOSE, L.E., ALEJANDRA, C.; KATHERINE, H.; JUAN, B.K.; JOSE, T.R.; MIGUEL, J.Y.: The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*. 2346-2353, **2005**
- [28]. LOK, C.N.; HO, C.M.; CHEN, R.; HE, Q.Y.; YU, W.Y.; SUN, H.; TAM, P.K.; CHIU, J.F.; CHE, C.M.: Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *J. Proteome Res.* 916-924, **2006**
- [29]. M.HAAPASALO, D. ØRSTAVIK.: in vitro infection and disinfection of dentinal tubules. *J. Dent. Res.* **8**, 1375-1379, **1987**
- [30]. HUSSAIN, S.M., HESS, K.L., GEARHART, J.M., GEISS, K.T., SCHLAGER, J.J.: In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol. In Vitro* **19**, 975–983, **2005**.
- [31]. BRAYDICH-STOLLE, L., HUSSAIN, S., SCHLAGER, J.J., HOFMANN, M.C., In vitro cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stemcells. *Toxicol. Sci.* **88**, 412–419, **2005**

Schemat. 1 – Wygląd i wymiary przygotowanej próbki zęba.

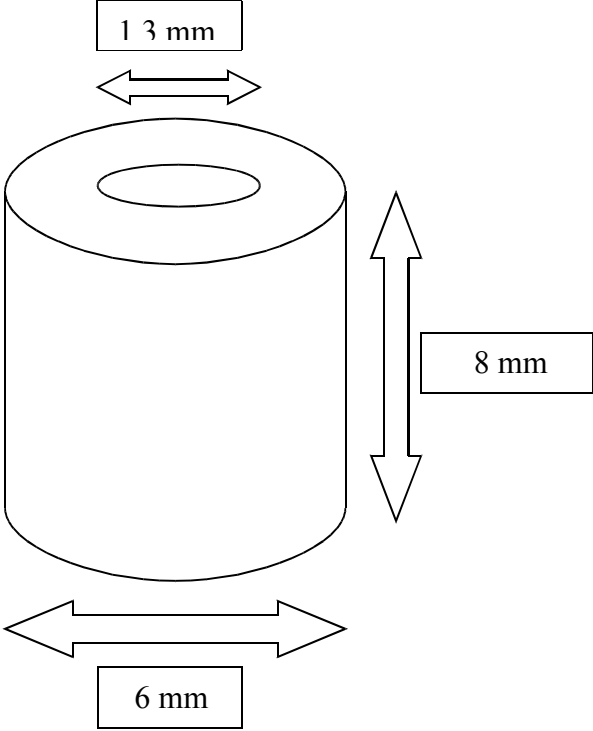


Tabela 1 – Stan początkowe, ilość CFU wytworzonych tuż po inkubacji (CFU/1 mg zębiny).

Numer próbki	CFU(ilość koloni)
1	41 x10 ⁵
2	26 x10 ⁵
3	35 x10 ⁵
4	27 x10 ⁵
5	21 x10 ⁵
6	40 x10 ⁵
7	21 x10 ⁵
8	32 x10 ⁵
9	30 x10 ⁵
10	27 x10 ⁵
Średnio	3x10 ⁶

Tabela 2 – Sterylna sól fizjologiczna, ilość wytworzonych CFU po jednym tygodniu inkubacji (CFU/1mg zębiny)

Numer próbki	CFU(ilość koloni)
1	90×10^3
2	90×10^3
3	88×10^3
4	86×10^3
5	74×10^3
6	112×10^3
7	75×10^3
8	121×10^3
9	104×10^3
10	100×10^3
11	86×10^3
12	75×10^3
13	69×10^3
Średnio	9×10^4

Tabela. 3 – NanoCare Plus Silver Gold – liczba CFU wytworzonych po jednym tygodniu inkubacji (CFU/ 1 mg zębiny)

Numer próbki	CFU(ilość koloni)
1	0
2	0
3	0
4	0
5	0
6	0
7	0
8	0
9	0
10	0
11	0
12	0
13	0
Średnio	0

