

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Potenciál využití koloidního stříbra jako alternativy antibiotické terapie  
u rezistentních infekcí  
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Matěj Jelínek**  
Osobní číslo: **C21181**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Potenciál využití koloidního stříbra jako alternativy antibiotické terapie u rezistentních infekcí**  
Téma práce anglicky: **The Potential of Using Colloidal Silver as an Alternative to Antibiotic Therapy in Resistant Infections**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši popisující užití stříbra a jeho sloučenin při léčbě infekčních chorob.
2. Zaměřte se především na koloidní stříbro, jeho použití v minulosti a dnes.
3. Porovnejte benefity i možné nežádoucí účinky koloidního stříbra.
4. Zaměřte se na současnou situaci v oblasti antibiotické rezistence a naznačte možné cesty v léčbě rezistentních infekcí.
5. Bakalářskou práci zpracujte dle směrnice Univerzity Pardubice upravující formální zpracování závěrečných prací.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucí bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.**  
děkan

L.S.

**doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem *Potenciál využití koloidního stříbra jako alternativy antibiotické terapie u rezistentních infekcí* jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 13. 4. 2024

Matěj Jelínek v.r.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Tímto bych chtěl poděkovat paní doc. Marcele Pejchalové, Ph.D., za trpělivé vedení a velmi cenné rady při vypracovávání této bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat své matce za korekturu chyb a pomoc při stylistické úpravě textu.

## **ANOTACE**

Tato práce pojednává o problematice využití stříbra jako náhrady za antibiotika v boji proti infekčním multirezistentním bakteriím. Shrnuje využití stříbra v historii a současnosti, a to zejména jako dezinfekčního přípravku a léčiva. Hlavní důraz je kladen na popis využití koloidního stříbra, mechanismy jeho účinku, vznik rezistence a vliv na lidské tělo. Dále jsou v práci shrnuté základní informace o antibioticích a antibiotické rezistenci.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Koloidní stříbro, antibiotika, antibiotická rezistence, bakterie, nanostříbro

## **TITLE**

The potential of using colloidal silver as an alternative to antibiotic therapy in resistant infections

## **ANOTATION**

This thesis discusses the issue of using silver as a substitute for antibiotics in the fight against infectious multi-resistant bacteria. It summarizes the use of silver in history and today, especially as a disinfectant and medicine. The main emphasis is placed on the description of the use of colloidal silver, the mechanisms of its effect, the emergence of resistance and the effect on the human body. The work also summarizes basic information about antibiotics and antibiotic resistance.

## **KEYWORDS**

Colloidal silver, antibiotics, antibiotic resistance, bacteria, nanosilver

# **OBSAH**

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK .....	8
ÚVOD .....	9
HLAVNÍ ČÁST .....	10
1. Stříbro jako medikament .....	10
1.1 Využití stříbra v historii .....	10
1.2 Současné využití stříbra .....	11
1.3 Koloidní stříbro .....	12
1.4 Účinky stříbra na mikroorganismy .....	14
1.5 Výzkum .....	16
2. Antibiotika .....	19
2.1 Historie boje s infekčními chorobami .....	19
2.2 Mechanismy účinku antibiotik .....	20
2.3 Rezistence na antibiotika .....	23
2.4 Nedostatek antibiotik .....	26
3. Možnosti využití koloidního stříbra jako antibiotika .....	28
3.1 Porovnání účinnosti koloidního stříbra a ATB .....	28
3.2 Kombinovaná aplikace ATB a koloidního stříbra .....	28
3.3 Možná rezistence na koloidní stříbro .....	30
3.4 Vliv koloidního nanostříbra na lidský organismus .....	33
4. Budoucnost využití koloidního stříbra .....	37
4.1 Další možnosti ve využití stříbra jako antibakteriální látky .....	37
4.2 Využití koloidního stříbra v léčbě rakoviny .....	37
4.4 Budoucnost výzkumu .....	38
5. Závěr .....	39
POUŽITÁ LITERATURA .....	40
SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ .....	48
SEZNAM TABULEK .....	49

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

<b>ATB</b>	Antibiotikum
<b>MO</b>	Mikroorganismus
<b>G+</b>	Gram pozitivní
<b>G-</b>	Gram negativní
<b>MIC</b>	Minimální inhibiční koncentrace
<b>ROS</b>	Reaktivní sloučeniny kyslíku
<b>Ag-Np</b>	Nanočástice stříbra
<b>OMP</b>	Proteiny zevní membrány
<b>EPS</b>	Extracelulární polymerní substance
<b>ESBL</b>	Širokospektré beta-laktamázy
<b>i.v.</b>	Intravenózně
<b>i.m.</b>	Intramuskulárně
<b>ESKAPE</b>	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a <i>Enterobacter spp.</i>



## ÚVOD

Fenomén antibiotické rezistence je jednou z největších výzev pro současnou vědu a výzkum. „Zlatá éra“ antibiotik se totiž chýlí ke konci a lidstvo se pomalu, ale jistě vrací zpět do období, kdy lidé umírali na dnes již banální, či dokonce zdánlivě vymýcené nemoci, jako je například černý kašel, záškrť nebo tuberkulóza.

Tento stav je podnícen nejen zvyšováním počtu rezistentních bakterií, které je absolutně neúměrné rychlosti vývoje nových skupin antibiotik, ale také všudypřítomným znečištěním životního prostředí, zvýšenou migrací spojenou s globalizací a probíhajícími válečnými konflikty, či se snižující se proočkovanosťou populace způsobenou zvyšujícím se počtem skupin lidí vyznávajících „alternativní“ životní styl. Vědci se dnes snaží najít za čím dál tím méně fungující antibiotika náhradu a jako jedna z variant se zvažuje i využití stříbra.

Antibakteriální účinky stříbra jsou známy již tisíce let a na nás je tyto účinky dopodrobna prozkoumat, zhodnotit a určit, zda je jeho účinnost dostatečná. Existují však i rizika jeho užívání jako je například vznik rezistence, iniciace vzniku rezistence na současná antibiotika, nebo značná orgánová a buněčná toxicita stříbrných částic. Jednou z forem stříbra, která by mohla být dobře účinná je koloidní nanostříbro, které je hlavní látkou zkoumanou v této práci.

Cílem této rešerše je seznámit čtenáře s problematikou využití koloidního nanostříbra jako náhrady za antibiotika, jeho mechanismy účinku a vlivy na rezistentní bakterie a bakteriální biofilmy či jeho toxicitou. Dále se zabývá možností podávat nanostříbro spolu s antibiotiky a jejich vzájemnými interakcemi a v neposlední řadě též antibiotiky, antibiotickou rezistencí a krátce též historií boje s infekčními chorobami.

# HLAVNÍ ČÁST

## 1. Stříbro jako medikament

Stříbro je chemický prvek běžně se vyskytující v přírodě. Radíme ho do skupiny přechodných kovů. Jeho relativní atomová hmotnost činí 107,868 g/mol, teplota tání 1234,93 K, bod varu 2435,15 K a hustota 10,49 g/cm<sup>3</sup>. Nejčastěji se vyskytuje v prvním mocenství, ve formě dusičnanů a sulfidů. Je velmi dobře polarizovatelné a má jednu z největších elektronegativit. Stříbro nemá v lidském organismu žádnou známou roli (PubChem. 2024).

### 1.1 Využití stříbra v historii

Lidstvo je stříbrem fascinováno již po staletí. Za svou dlouhou historii ho používalo jako materiál na výrobu šperků, platidlo, či třeba jako dezinfekční činidlo. Lidé byli schopní ho těžít a zpracovávat již v ranné době bronzové. Nejdříve bylo stříbro používáno jako obchodní komodita. Tehdy se platilo za hmotnost stříbra. Již asi 600 let př.n.l. však byly ve východním středomoří raženy první stříbrné mince, takže došlo k jeho monetizaci (Albarède et al. 2021). Já jsem se ale zajímal spíše o jeho medicínální využití.

Alexandr Veliký, někdy kolem roku 325 př.n.l., jako prevenci proti infekcím na svých taženích skladoval vodu ve stříbrných nádobách, a dokonce pil ze stříbrných pohárů. Stejný trend byl pozorován i u antických Řeků a Římanů, ba i ve starověké Asii (Barillo et al. 2014). Římané skladovali v takových nádobách i víno, neboť to zabránilo plesnivění. Z toho důvodu, bylo také běžné, že bohatší obyvatelé používali stříbrné nádoby (Medici et al. 2019). Stříbrná purifikace vody byla znovu využita například i při projektech „dobývání vesmíru“, které iniciovalo USA a SSSR v 50. a 60. letech minulého století.

Již zmínění Asiaté prý přikládali stříbrné folie do otevřených ran, čímž zabránili vzniku infekcí (Barillo et al. 2014). Stejná metoda byla používána i za první světové války (Medici et al. 2019). Stříbro bylo jako medikament vedeno v lékařských knihách starých Římanů, přesněji řečeno šlo o stříbrné sole (Barillo et al. 2014). Stříbrné sole pak zaznamenaly velký úspěch i na konci devatenáctého století, kdy se začaly využívat jako lék proti očním infekcím, což přetrvávalo po několik desetiletí. V té době se však tyto látky využívaly i jako lék proti gastroenteritidám, syfilis, kapavce, či dokonce závislosti na nikotinu (Medici et al. 2019).

V šedesátých letech minulého století zažilo stříbro nový boom a opět se začalo používat jako krycí materiál na rány, z důvodu profylaxe a léčby ranných infekcí. Postupem času však bylo nahrazeno stále nově vznikajícími antibiotiky (May et al. 2021). Krycí materiály obsahující stříbrné sloučeniny se však udržely v léčbě a prevenci infekcí ran způsobených popálením, či opařením (Barillo et al. 2014). V osmdesátých letech se jako prevence otrav a antibiotické rezistence stříbro opět vrátilo a jako součást obvazových materiálů se využívá dodnes (May et al. 2021).

## 1.2 Současné využití stříbra

Současné využití stříbra se od využití v minulosti příliš neliší. I dnes je velmi hojně používáno ve šperkařství, v investicích, v průmyslu či ve zdravotnictví. Vybrané oblasti, kde je využíváno jsou k dispozici v následující tabulce:

*Tabulka 1 Odvětví využívající stříbro (PubChem. 2024)*

Využití stříbra
Galvanické pokovování
Kanalizace a čištění odpadních vod
Kompaktní disky
Kosmetika
Krycí obvazové materiály
Laboratorní diagnostika
Pájení
Potravinářství (obalové materiály)
Stavebnictví
Výroba barviv
Výroba baterií
Výroba elektrických spotřebičů
Výroba skla
Výroba šperků a zrcadel
Výroba vláken a tkanin
Vyvolávání fotografií
Zemědělství

### 1.2.1 Současné využití stříbra ve zdravotnictví

V současné době je stříbro ve zdravotnictví využíváno velmi hojně. Největší zastoupení nalezne při hojení ran. Užívá se zde zejména jako součást krycích a obvazových materiálů, případně sprejů a dezinfekcí.

Velmi často je součástí krycích materiálů sloučenina sulfadiazin stříbrný, který inhibuje množení bakterií (Juan-Juan et al. 2023). Další obvazové materiály mohou například obsahovat stříbrné nanočástice či dusičnan stříbrný. Používají se také stříbrné pěny, stříbrné amniové membrány a další.

Podle nedávných studií bylo zjištěno, že krycí materiály obsahující stříbro mohou zlepšit hojení rány oproti běžným materiálům až o padesát procent. Jiné studie zase odhalily, že diabetické vředy, ošetřované pomocí krycích materiálů se stříbrem, vykazují sníženou hloubku vředu a snížené množství infekcí (May et al. 2021).

Dalším zajímavým využitím stříbra ve zdravotnictví je výroba stříbrem pokrytých katetrů. Například u močových katetrů zajistí stříbro to, že mohou být zavedeny v močové trubici déle a zejména u dlouhodobě katetrizovaných pacientů mohou snížit riziko infekce (Chung et al. 2017).

### **1.3 Koloidní stříbro**

Jako koloidní stříbro nazýváme ultramikroskopické částice (velikost v řádu jednotek až stovek nanometrů), které jsou rovnoměrně suspendovány v tekutině (Sergeevna et al. 2018). Takovou tekutinou bývá nejčastěji deionizovaná, destilovaná voda či Aqua Purificata. Vzhledově má nažloutlou až hnědou barvu a nejčastěji se prodává v tmavých lahvích.

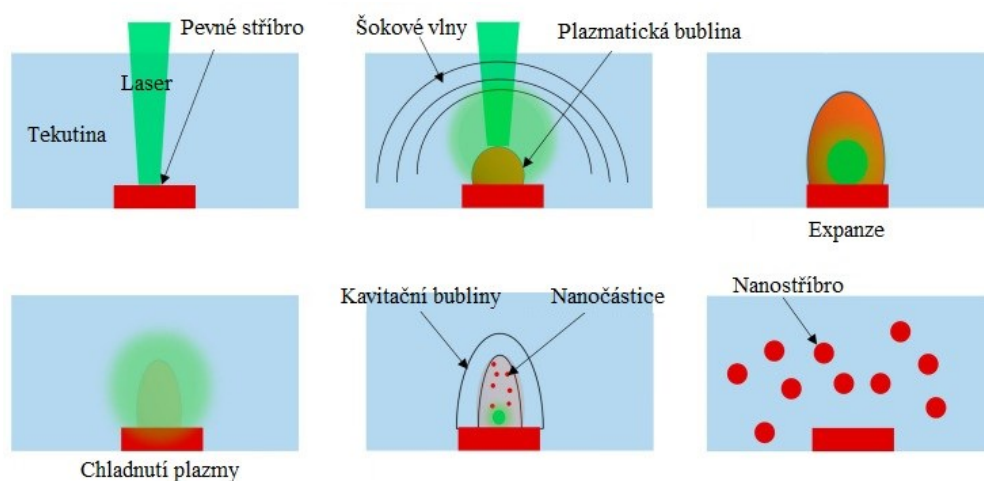
Vzhledem k vysoké antibiotické rezistenci bakterií, je koloidní stříbro a stříbrné nanočástice v současnosti velmi podrobně zkoumáno jako možná alternativa za současná antibiotika. Předmětem výzkumu je jak jeho účinek na bakterie, viry či parazity, tak i jeho případná toxicita, výroba a účinek na životní prostředí. Zkoumána je také antimikrobiální účinnost stříbrných sloučenin a jejich derivátů.

Účinek koloidního stříbra je podle všech dostupných informací závislý zejména na velikosti částic a při nesprávném užívání může způsobovat až otravy s rozsáhlým seznamem doprovodných potíží od anemie po nevratné hromadění stříbra v kůži, které se odborně nazývá argyrie. V České republice je v současnosti prodáváno koloidní stříbro jako kosmetický doplněk. Legislativa však zakazuje jeho doporučování pro vnitřní užití.

### 1.3.1 Výroba koloidního nanostříbra

Koloidní nanostříbro lze vytvořit mnoha způsoby. Jedná se o elektrochemické či biologické postupy. Většinou jde o redukci stříbra pomocí energie či chemických látek na miniaturní částice.

Jednou z používaných metod je syntéza koloidního stříbra pomocí laseru. Tato metoda se nazývá laserová ablace a v případě koloidního stříbra probíhá v tekutině. Světlo vycházející pulzně z laseru prochází tekutinou a svítí na pevné stříbro. Díky vzniklé energii pak dochází k rychlému zahřátí a odpaření kovu, což vede ke tvorbě plazmy a rázových vln, které vedou k tvorbě kavitačních bublin. Bubliny se zhroutí a tím vygenerované vysokotlaké proudy dopadnou na kov a dojde k ablaci nanočástiček (Alheshibri. 2023).



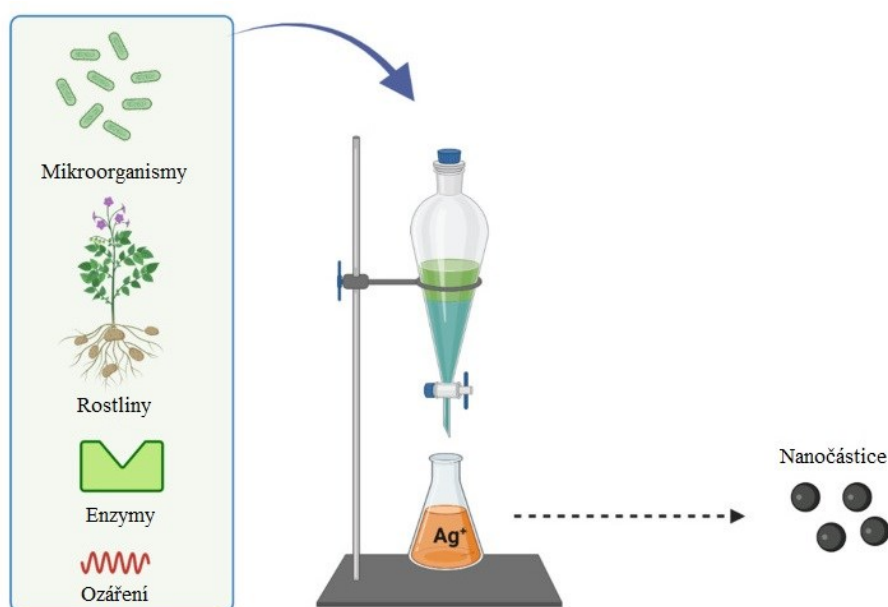
Obrázek 1 Laserová ablace (Alheshibri. 2023- upraveno)

Další metodou používanou pro syntézu koloidního stříbra je metoda elektrochemická, kdy jsou do roztoku vloženy dvě elektrody a pomocí generovaného napětí dochází k tvorbě nanočástic (Yan et al. 2021). V poslední době je také velmi populární „zelená-syntéza“ (z anglického „green-synthesis“) nanočástic stříbra.

Při „zelené-syntéze“ se pro redukci stříbra na nanočástice používají látky přírodního původu. Mohou to být například extrakty z kořenů, semen či zeleniny (Wasilewska et al. 2023). Ale lze použít i mikroorganismy, řasy či houby. Nanostříbro vyrobené touto metodou je dle posledních studií proti mikroorganismům ještě účinnější, neboť je obaleno organickými látkami, které mohou například zlepšit jeho prostup do buňky (Jain et al. 2021).

Syntézu pomocí mikroorganismů můžeme rozdělit na dvě skupiny. První z nich je syntéza intracelulární. Tento způsob využívá mikrobiálního metabolismu. Ionty stříbra jsou v mikrobech redukovány na nanočástice a po dostatečném nárůstu jsou „buňky sklizeny“ (Jain et al. 2021).

Druhou cestou je způsob extracelulární, kdy se využívá mikrobiálních sekretů nebo třeba enzymů na povrchu membrán. Z hlediska složitosti následného zpracování je tato metoda jednodušší. I přes to se však řadí metoda syntézy pomocí mikroorganismů mezi ty náročnější, neboť mikroby vyžadují velmi specifické podmínky k růstu, což je v průmyslovém zpracování náročné a drahé. Z mikroorganismů, na kterých byla syntéza testována můžeme vyjmenovat například mikroskopickou houbu *Trichoderma harzianum* nebo bakterie *Enterococcus spp.*, *Bacillus cereus* či *Pseudomonas stutzeri* (Jain et al. 2021).

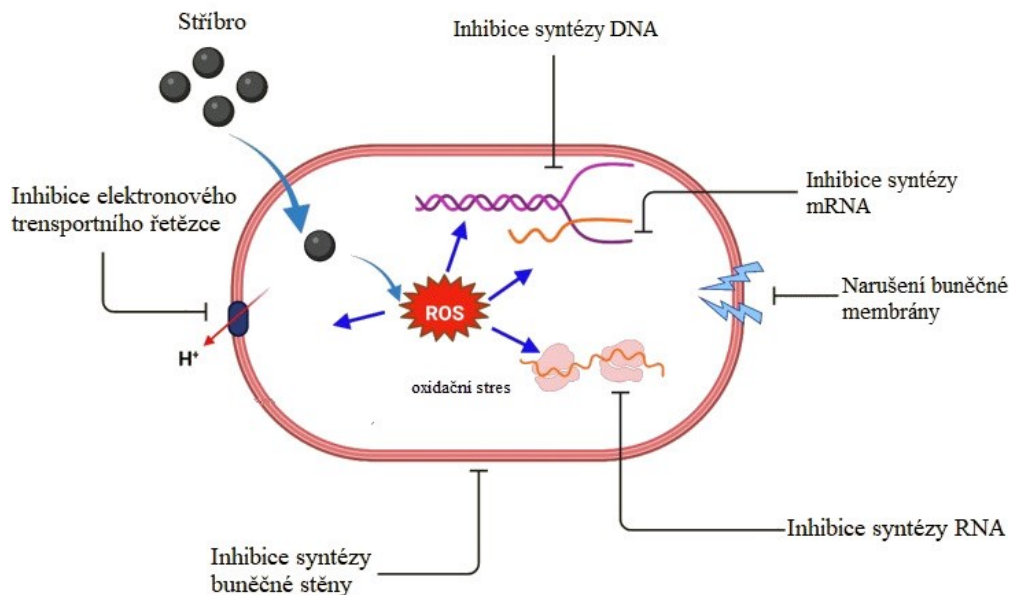


Obrázek 2 "Zelená-syntéza" nanočástic (Jain et al. 2021- upraveno)

## 1.4 Účinky stříbra na mikroorganismy

V současnosti je známých několik mechanismů účinku stříbra na mikroorganismy. Nejsou však dostatečně do hloubky prozkoumány. Většinou jsou založeny na reakci stříbra se sírou, která se nachází například na proteinech (cystein a methionin), která je možná díky tomu, že Ag-Np produkují v bakteriální buňce ionty  $\text{Ag}^+$ . Mezi mechanismy účinku patří: destabilizace buněčné membrány, produkce reaktivních sloučenin kyslíku, inhibice metabolických dějů a porušení

buněčného cyklu způsobené interakcemi stříbra s DNA. Účinnost stříbra také závisí na velikosti, charakteru a původu částic (Vila Domíngues et al. 2020).



Obrázek 3 Vliv stříbrných nanočástic na mikroorganismus (Jain et al. 2021- upraveno)

### 1.4.1 Destabilizace buněčné membrány

Jak jsem již zmínil, stříbro nejlépe reaguje s funkčními skupinami obsahujícími síru nebo fosfor. Proto se může vázat na membránové proteiny bakteriální buňky. Předpokladem je, že se stříbro naváže na fosfolipidovou vrstvu v membráně mikroorganismů a díky tomu dojde ke tvorbě pórů, změně propustnosti membrány a její depolarizaci. Cílovými strukturami mohou být například lipooligosacharid zevní membrány u gram negativních bakterií či membránové proteiny. Dále se může stříbro hromadit v buněčné stěně, což povede ke tvorbě děr a tím ke změně její propustnosti. (Wasilewska et al. 2023).

### 1.4.2 Produkce reaktivních sloučenin kyslíku

Bylo dokázáno, že v přítomnosti stříbrných nanočástic vznikají v bakteriálních buňkách reaktivní sloučeniny kyslíku. Tam můžeme řadit například superoxidový či hydroxilový radikál. Samotné nanočástice je dokáží produkovat i mimo buňku (reakcemi s membránovými strukturami), což může vést k „napadání“ buněčné membrány. Reaktivní sloučeniny kyslíku však vznikají i v samotné bakteriální buňce.

Nejpravděpodobnější příčinou tohoto jevu je reakce nanostříbra s enzymy dýchacího řetězce, které se nacházejí v membráně bakterie (Gunawan et al. 2020). Reaktivní sloučeniny kyslíku v bakteriálních buňkách působí na enzymy, strukturní proteiny, lipidy, ale i na nukleové kyseliny. Je možné, že v přítomnosti reaktivních sloučenin kyslíku dochází k napadání určitých struktur a následné produkci dalších ROS, což by mohlo vést až k buněčné smrti bakterie. Jedná se však o velmi komplexní děje, které jsou stále předmětem výzkumu (Zhao et al. 2014).

### 1.4.3 Inhibice metabolických dějů

Při působení nanočástic stříbra na metabolické děje se může uplatňovat jak oxidativní stres, popsáný v minulé podkapitole, tak i samotná vazba stříbra na jednotlivé enzymy, které tyto děje katalyzují. Dle některých studií napadá stříbro zejména enzymy potřebné ke glykolýze a také enzymy účastníci se Krebsova cyklu. Tyto metabolické děje jsou pro přežití bakteriálních buněk nezbytné a mohou vést k zastavení množení, případně až ke smrti bakterie (Wang et al. 2019).

### 1.4.4 Narušení buněčného cyklu

Jak inhibice metabolických dějů, způsobená buď vazbou stříbrných iontů či ROS na enzymy, tak i samostatný zvýšený oxidativní stres, mohou působit na strukturu Nukleových kyselin, čímž naruší buněčný cyklus. Stříbro by nemuselo působit jen na nukleové kyseliny, ale mohlo by též atakovat enzymy, které jsou pro replikaci DNA potřebné. Ruku v ruce s tím by mohlo dojít k nežádoucím interakcím mezi RNA a tedy k poruše proteosyntézy. Všechny tyto děje by však zcela jistě vedly k lýze bakteriální buňky, nebo alespoň k zastavení

## 1.5 Výzkum

Mnoho studií se věnuje citlivosti jednotlivých bakteriálních kmenů na koloidní stříbro. Nejčastějším terčem pozornosti jsou multirezistentní bakterie ze skupiny „ESKAPE“, tedy *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterobacter spp.* Dále jsou však zkoumány i další bakterie, jako například *Proteus mirabilis*, způsobující močové infekce, velmi známá bakterie z čeledi enterobacteriaceae *Escherichia coli* či různé druhy mykobakterií, jejichž rezistence začíná být čím dál tím větším problémem a rozličné skupiny streptokoků.



### 1.5.1 Biofilm *Staphylococcus aureus*

Častou komplikací virových zánětů horních cest dýchacích je sekundární infekce bakterií *Staphylococcus aureus*, který může tvořit v dýchacích cestách biofilmy. Tento druh stafylokoka je známý pro svou rezistenci, a tak někteří lidé používají pro léčbu této infekce nasální sprej vyrobený z koloidního stříbra (jedná se pouze o homeopatický přípravek).

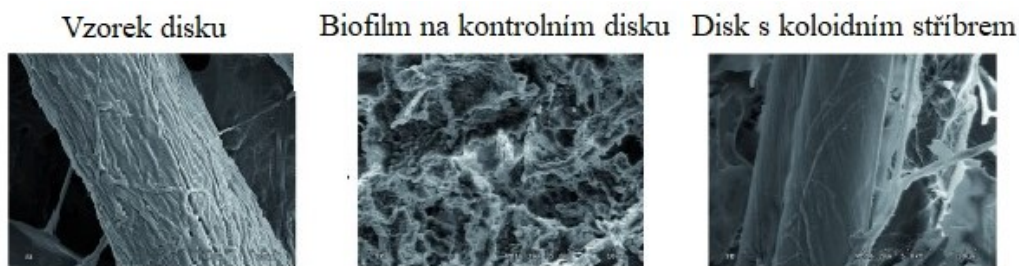
Cílem studie skupiny Goggin et al. z roku 2014 bylo zjistit, zda komerčně dostupné koloidní stříbro opravdu dokáže narušit biofilm vytvořený touto bakterií. Pro test byl použit kmen zlatého stafylokoka, který prokazatelně tvoří biofilm a výrobek z koloidního stříbra s obsahem 33,32 ppm ryzího stříbra a stopovým množstvím dalších organických sloučenin.

Bakterie byla inkubována 48 hod na speciálním inkubačním zařízení sestaveném pro podporu tvorby biofilmu a po inkubaci byly kolíčky s biofilmem ponořeny do roztoků koloidního stříbra o koncentracích 10 – 150  $\mu\text{l}$  koloidního stříbra ve 200  $\mu\text{l}$  vody.

Výsledky studie prokázaly, že koloidní stříbro opravdu dokáže narušovat biofilm. Jediný vzorek bez statisticky významného rozdílu mezi kontrolním a pracovním vzorkem byl ten o nejnižší koncentraci. U ostatních (20 – 150  $\mu\text{l}/200 \mu\text{l}$ ) byla pozorována 98,9 – 99,8% eradikace biofilmu (Goggin et al. 2014).

### 1.5.2 Biofilm ústních streptokoků

Bylo zjištěno, že některé přípravky na hygienu úst nejsou účinné proti biofilmům tvořeným *Strept. salivarius*, *Strept. mutans* a *Strept. sanquis*, původcům zubního kazu. V roce 2019 Tran et al. publikovali studii o účinku gelů s koloidním stříbrem na tyto biofilmy. Biofilmy byly vytvořeny na celulózových discích, které byly ošetřeny gelem s koloidním stříbrem. Z výsledků vyšlo, že na discích ošetřených koloidním stříbrem došlo ke 100% inhibici růstu bakteriálních biofilmů, jak dokládá fotografie z elektronového mikroskopu (Tran et al. 2019).



Obrázek 4 Inhibice biofilmu streptokoků (Tran et al. 2019- upraveno)

### 1.5.3 Účinek na skupinu „ESKAPE“

V roce 2020 zkoumali Vila Domínguez et al., zda bude koloidní stříbro účinkovat na bakterie kmenů: *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, stafylokoky *aureus* a *epidermidis* a *Enterococcus spp.* Zjišťovali, zda jsou tyto kmeny citlivé na stříbro a jaká je minimální inhibiční koncentrace pro inhibici 50 % (MIC50%) a 90 % (MIC90%) buněk. Dále se zabývali i mechanismy působení stříbra. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce:

Tabulka 2 MIC skupiny "ESKAPE" (Vila Domínguez et al. 2020)

	<b>Kmen</b>	<b>MIC (50 %) mg/l</b>	<b>MIC (90%) mg/l</b>
<b>G-</b>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	4	4
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	4
	<i>E. coli</i>	2	8
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	8
<b>G+</b>	<i>Stap. Aureus</i>	4	8
	<i>Stap. Epidermidis</i>	4	4
	<i>Enterococcus spp.</i>	4	4

Z naměřených minimálních inhibičních koncentrací vyplývá, že má koloidní stříbro účinek na bakterie ze skupiny „ESKAPE“. G+ bakterie vykazují vyšší koncentraci stříbra potřebnou pro inhibici, což si autoři studie vysvětlují tím, že mají širší buněčnou stěnu. Z toho vyplývá, že širší buněčné stěny je jedním z faktorů ovlivňujícím účinnost koloidního stříbra (Vila Domínguez et al. 2020).

## 2. Antibiotika

Antibiotika definujeme jako látky, které mají antibakteriální účinky. Dříve tak byly nazývány pouze látky biologického původu, v současnosti už však jako „antibiotika“ definujeme i látky semisyntetického či zcela syntetického původu (Martínková. 2018). Objev antibiotik byl jedním z největších milníků lidského vývoje a dnes už si život bez nich nedokážeme představit. Stala se v podstatě nezbytnou součástí léčby téměř všech infekčních onemocnění způsobených bakteriemi.

### 2.1 Historie boje s infekčními chorobami

Již od pradávna se lidstvo setkává s patogenními mikroorganismy. Díky archeologickým výzkumům víme, že staří Egyptané trpěli tuberkulózou způsobenou bakterií *Mycobacterium tuberculosis* již před více než 5000 lety (Daniel. 2006). Celá Evropa čelila skoro 1400 let epidemiím černého moru způsobeným bakterií *Yersinia pestis*, které si vyžádaly miliony životů (Raoult et al. 2012). Říká se, že mnoho slavných osobností, jako například ruský car Ivan Hrozný, spisovatel Oscar Wilde, či hudební skladatel Ludwig van Beethoven, trpěli syfilidou, způsobenou bakterií *Treponema pallidum* (Tampa et al. 2014). Nedávno proběhla pandemie viru *SARS-CoV-2*, která dokázala na rok zastavit svět. Lze tedy říct, že patogenní viry, bakterie a další parazité se velkou mírou podíleli a ve své podstatě stále podílejí na formování civilizací, mezilidských vztahů či ekonomického vývoje.

Lidé se dříve nedokázali infekcím účinně bránit. To bylo způsobeno například neznalostí dostatečně účinných látek, které by spolu s vyléčením onemocnění nepoškodili, či poškodili jen minimálně, zdraví nakaženého člověka. Pro léčbu syfilidy se například používala kovová rtuť, jejíž aplikace do lidského organismu však vedla k systematickým intoxikacím a pneumoniím (Tampa et al. 2014).

Důležitým aspektem byla i neznalost původců jednotlivých onemocnění. První mikroorganismy pozoroval v 17. století holandský přírodovědec Antoni van Leeuwenhoek, ale za zdroje infekčních onemocnění, je označili až v 19. století vědci Louis Pasteur a Robert Koch (Kourkouta et al. 2018). Stále však neexistovaly dostatečně účinné prostředky pro boj s patogeny.

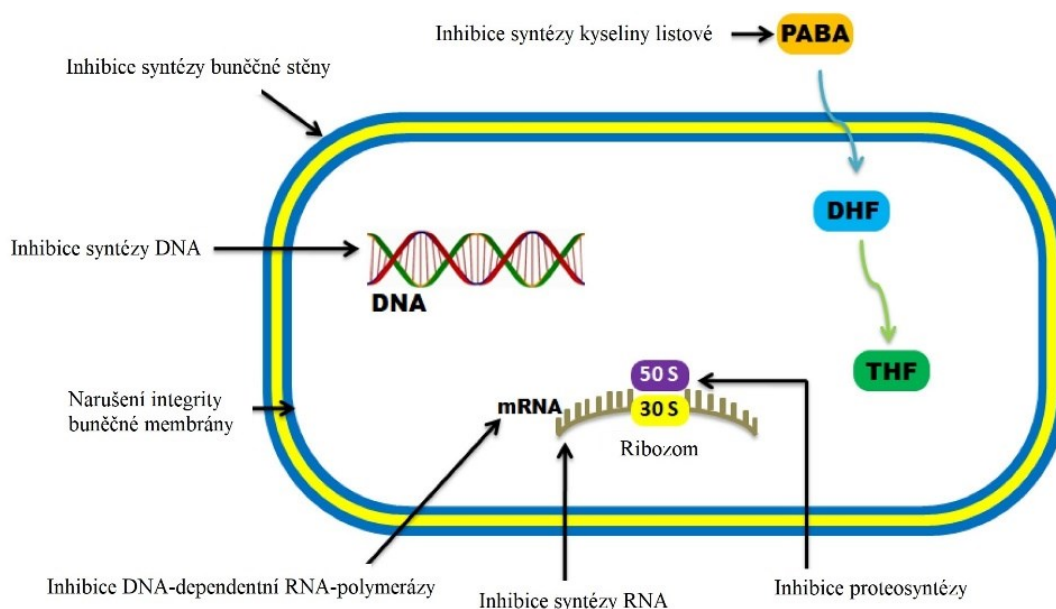
V devadesátých letech devatenáctého století vyizoloval mikrobiolog Bartolomeo Gosio, z plísně *Penicillium glaucum*, mykofenolovou kyselinu inhibující růst *Bacillus anthracis*

(Uddin et al. 2021). O několik let později zase Paul Ehrlich objevil lék Salvarsan, který se začal používat při léčbě již zmíněné syfilidy. Opravdový přelom však nastal až roku 1928, kdy skotský lékař Alexander Fleming zjistil, že v okolí plísně ze skupiny *Penicillium*, nerostou žádné další mikroorganismy. Tento jev ho velmi zaujal a začal tedy látky produkované touto plísní zkoumat. Díky tomu objevil penicilin, antibiotikum, které používáme dodnes (Kourkouta et al. 2018).

Penicilin byl poprvé využíván pro léčbu vojáků za druhé světové války a ihned po jejím konci se začal využívat i v terapii civilistů (Landecker. 2016). Následovala ho mnohá další antibiotika, jako sulfonamidy, tetracykliny... V dnešní době jsou antibiotika pro medicínu nezbytná. Vlivem mnoha faktorů však přestávají dostatečně účinkovat, což vede ke vzniku špatně léčitelných či dokonce neléčitelných infekcí.

## 2.2 Mechanismy účinku antibiotik

Antibiotika bychom mohli rozdělit do dvou základních skupin. Jednou skupinou jsou antibiotika, jejichž mechanismus účinku způsobuje usmrcení bakterií. Taková antibiotika nazýváme jako „baktericidní“. Druhou skupinou jsou antibiotika, jejichž mechanismus účinku způsobuje zastavení růstu a množení bakterií. Taková antibiotika nazýváme jako „bakteriostatická“ (Nemeth et al. 2014). Místa účinku ATB jsou vidět na obrázku dole.



Obrázek 5 Účinek ATB na bakteriální buňku (Uddin et al. 2021- upraveno)

Z hlediska přesnějšího mechanismu působení na bakteriální buňku můžeme antibiotika rozdělit do pěti základních skupin. Máme antibiotika, která inhibují biosyntézu buněčné stěny, narušují integritu buněčných membrán, inhibují syntézu nukleových kyselin, inhibují syntézu proteinů a antibiotika, která narušují metabolické procesy v buňce (Baran et al. 2023, Martínková. 2018) Jednotlivé mechanismy budou detailněji popsány níže.

### **2.2.1 Antibiotika inhibující syntézu buněčné stěny**

Hlavní stavební jednotkou bakteriální stěny je peptidoglykan (Baran et al. 2023). Peptidoglykany mezi sebou vytvářejí vazby (polymerizují), čímž vzniká buněčná stěna, jejíž síla je pro bakterie důležitá zejména proto, aby je chránila před vnějšími vlivy. K této polymerizaci je zapotřebí enzymů transglykosyláz a traspeptidáz. Antibiotika, která inhibují syntézu buněčné stěny se vážou na aktivní místa těchto enzymů, případně na jejich cílové struktury. Následkem toho dochází ke změně tvaru a velikosti buňky, zvýšení buněčného stresu a k její lýze (Kohanski. 2010). Nejvýznamnějšími skupinami antibiotik s tímto účinkem jsou beta-laktamy a glykopeptidy (Garde et al. 2021).

### **2.2.2 Antibiotika narušující integritu buněčných membrán**

Tento typ antibiotik může působit několika způsoby. Jedním z nich je například vazba antibiotika na vápník (Heidary et al. 2018), čímž dojde k vytvoření micel, které proniknou přes cytoplazmatickou membránu. Antibiotikum následně způsobí depolarizaci membrány, a tedy odtok významných iontů z buňky, čemuž následuje lýza buňky. Tímto způsobem účinkují například cyklické lipopeptidy (Baran et al. 2023). Další skupinou antibiotik, která působí na stavbu buněčné membrány, jsou například polymyxiny (Trimble et al. 2016).

### **2.2.3 Antibiotika inhibující syntézu nukleových kyselin**

Mezi antibiotika inhibující syntézu DNA patří například chinolony. Chinolony působí tak, že obsadí vazebné místo na enzymu topoizomeráze, což zabraňuje rozpletení, případně zpětnému spojení řetězců DNA, a tedy i její replikaci (Kohanski. 2010).

Syntéza RNA je naopak inhibována pomocí vazby antibiotika na beta podjednotku DNA dependentní RNA polymerázy, čímž dojde k zastavení transkripce, což vyústí k poklesu tvorby proteinů. Tímto způsobem účinkuje například ryfamycin (Baran et al. 2023).

## 2.2.4 Antibiotika inhibující proteosyntézu

Proteosyntéza probíhá na bakteriálních buňkách v ribozomech. Samotné ribozomy se pak skládají ze dvou podjednotek 50S a 30S. Antibiotika, která působí proti syntéze proteinů nasedají na jednu z těchto podjednotek a mohou bránit například vazbě ribozomu s tRNA nebo posunování tRNA skrze ribozom v průběhu translace (Wilson. 2014). Mezi antibiotika působící tímto způsobem patří například tetracykliny, aminoglykosidy nebo makrolidy (Kohanski. 2010).

## 2.2.5 Antibiotika narušující metabolické procesy v buňce

Mezi metabolické procesy, které mohou být narušovány pomocí antibiotik patří například syntéza kyseliny listové. Třeba taková antibiotika ze skupiny sulfonamidů mají podobnou strukturu jako substrát pro enzym, který je klíčový pro syntézu již zmíněné kyseliny listové. Z toho důvodu dochází ke kompetitivní inhibici (Awakawa et al. 2021). Jakmile jsou pak zásoby folátů vyčerpány, nastává blokáce syntézy purinů, pyrimidinů, aminokyselin a mnoha dalších bioaktivních molekul (Baran et al. 2023)

## 2.2.6 Vybrané skupiny antibiotik a jejich mechanismy účinku

V současnosti jsou v České republice asi nejčastěji používána antibiotika ze skupiny beta-laktamů, přesněji řečeno peniciliny (Malý. 2021). V následující tabulce je seznam vybraných skupin antibiotik registrovaných v ČR a jejich mechanismus účinku.

*Tabulka 3 Vybraná antibiotika a jejich mechanismy účinku (zpracováno z dat SÚKL)*

<b>Vybrané skupiny ATB a jejich mechanismy účinku</b>	
<b>Skupina</b>	<b>Mechanismus účinku</b>
Amfenikoly	Inhibice proteosyntézy
Aminoglykosidy	Inhibice proteosyntézy
Cefalosporiny	Inhibice syntézy buněčné stěny
Glycylcykliny	Inhibice proteosyntézy
Glykopeptidy	Inhibice syntézy buněčné stěny
Chinolony	Inhibice syntézy DNA
Linkosamidy	Inhibice proteosyntézy
Makrolidy	Inhibice proteosyntézy
Monobaktamy	Inhibice syntézy buněčné stěny

<b>Vybrané skupiny ATB a jejich mechanismy účinku</b>	
<b>Skupina</b>	<b>Mechanismus účinku</b>
Oxazolidinony	Inhibice proteosyntézy
Peniciliny	Inhibice syntézy buněčné stěny
Polypeptidy	Poškození buněčné membrány
Sulfonamidy	Narušení metabolických procesů
Tetracykliny	Inhibice proteosyntézy

## **2.3 Rezistence na antibiotika**

Antimikrobiální rezistencí, nazýváme schopnost mikroorganismu přežít i v přítomnosti různých antimikrobiálních látek. Může jít o dezinfekce, případně konzervační látky v potravinách. (Abushaheen. 2020). V této části se však budu zabývat zejména bakteriální rezistencí na antibiotika.

Podle zprávy světové zdravotnické organizace (WHO) z roku 2019 má antibiotická rezistence na svědomí smrt až 700 000 lidí ročně a odhaduje se, že toto číslo do roku 2050 stoupne na 10-20 milionů (Uddin. 2021). Počet rezistentních bakterií se neustále zvyšuje a je velkou hrozbou pro celou světovou populaci. Nejvýznamnější rezistentní mikroorganismy, které způsobují špatně léčitelné, nozokomiální a někdy až letální infekce můžeme zařadit do již zmíněné skupiny bakterií s názvem „ESKAPE (Baran et al. 2023).

### **2.3.1 Příčiny rezistence a její prevence v ČR**

Podle Ministerstva zdravotnictví české republiky (MZČR) je za alarmující zvyšování antibiotické rezistence v České republice zodpovědné nejvíce jejich nadužívání. Zejména se jedná o nadužívání širokospektrých antibiotik. Příčinou tohoto jevu může být nedodržení předepsaného dávkování, nedobře určená diagnóza či dokonce preventivní užívání a užívání antibiotik bez konzultace s lékařem. Každopádně všechny zmíněné jevy vyplývají z nedostatečné osvěty populace.

Mezi další příčiny rezistence můžeme zařadit i přílišné využívání ATB v zemědělství, nedostatečnou hygienu v nemocnicích nebo nedostatek nových druhů antibiotik (Uddin. 2021).

V současné době probíhá v ČR program s názvem Prevence antibiotické rezistence, který si klade za cíl zvýšit osvětu mezi laickou i odbornou populací. Podle webu [www.antibiotickarezistence.cz](http://www.antibiotickarezistence.cz) provozovaného Státním zdravotním ústavem ČR je pro prevenci antibiotické rezistence důležité snížit celkovou spotřebu antibiotik, předepisovat zejména úzkospektrá antibiotika, vyloučit zbytečné aplikace antibiotik tzn. relevantně zvážit, zda je nutné antibiotika předepsat a optimálně nastavit délku jejich užívání.

### **2.3.2 Mechanismy rezistence**

Antibiotickou rezistenci bychom mohli rozdělit do dvou základních skupin. Jednou skupinou je rezistence vrozená. Tento typ rezistence není většinou specifický, to znamená, že necílí na jedno specifické antibiotikum. Vrozená rezistence je dána stavbou bakteriální buňky či jejím přirozeným metabolismem. Například *Mycoplasma spp.* nemá buněčnou stěnu, což z ní dělá bakterii rezistentní na veškerá antibiotika, která působí inhibičně na syntézu buněčné stěny, třeba peniciliny (Abushaheen. 2020).

Druhou skupinou je antibiotická rezistence získaná. Tu může bakterie získat buď přenosem od jiné bakterie, nebo mutací ve své vlastní DNA (Uddin. 2021). Díky tomu pak bakterie dokáže buď: změnit cílovou strukturu ATB, změnit permeabilitu membrány, vypudit antibiotikum z buňky (efflux) či vytvořit enzymy, které antibiotika inaktivují (Baran. 2023).

### **2.3.3 Změna cílové struktury**

Tento typ rezistence je charakteristický tím, že dojde ke změně struktury, kterou antibiotikum ovlivňuje. V praxi to například vypadá tak, že bakterie změní strukturu enzymu transpeptidázy, čímž zabrání navázání beta-laktamového ATB a nedojde k inhibici syntézy buněčné stěny. Jiným příkladem může být například změna struktury na ribozomu a tím, nedojde k inhibici proteosyntézy. (Abushaheen. 2020)

### **2.3.4 Změna permeability membrány**

I v tomto případě může docházet k několika rozdílným dějům. Všechny však mají za následek nedostatečný průnik antibiotika do buňky. Bakterie například mohou snížit expresi genů pro poriny, kterými ATB do buňky vstupuje, mohou také změnit jejich strukturu či ovlivnit



selektivitu. Stafylokoky jsou schopné zesílit buněčnou stěnu, čímž znesnadní vstup antibiotika do buňky (Baran. 2023).

### **2.3.5 Vypuzení antibiotika z buňky**

Některé bakterie mají efluxní systém, kterým dokážou vypudit antibiotika z vnitřního prostředí buňky. Tím, že je antibiotikum vypuzeno z intracelulárního prostředí, dochází k inhibici jeho účinku (Baran. 2023). Efluxní pumpy jsou závislé na energii a dle zdroje energie, struktury a substrátového spektra je dělíme do šesti skupin (Uddin. 2021). Tento typ rezistence působí na velkou skupinu antibiotik, jako jsou tetracyklíny, beta-laktamy, makrolidy a další.

### **2.3.6 Inaktivace antibiotika enzymem**

Nejnámějším případem tohoto typu rezistence je produkce beta-laktamáz. Beta-laktamázy jsou poměrně širokou skupinou enzymů, která však štěpí jeden hlavní substrát, beta-laktamová antibiotika. Zjednodušeně řečeno jsou tyto enzymy schopné „otevřít“ beta-laktamový kruh a deaktivovat ho, například pomocí přidání molekuly vody (Bush. 2020). Jakmile k tomu dojde, antibiotikum není schopné obsadit enzymy katalyzující tvorbu vazeb na peptidoglykanu a nedochází k inhibici syntézy buněčné stěny.

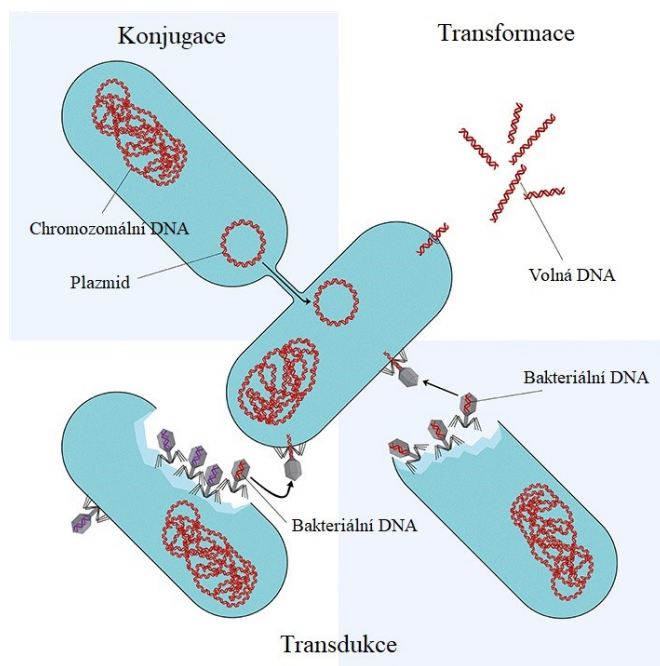
### **2.3.7 Přenos genů rezistence**

Geny rezistence mohou být přenášeny během buněčného dělení z mateřské na dceřiné buňky, tzn. vertikálně. Bakterie jsou ale schopné předávat si je i mimo tuto fázi buněčného cyklu. Existují tři základní typy tohoto tzv. horizontálního způsobu přenosu: transdukce, transformace a konjugace (Lerminiaux. 2018). Jednotlivé jevy znázorňuje obrázek na další straně.

Transdukci se rozumí přenos bakteriální DNA pomocí virové částice. Když dojde k infekci bakterie virem, bakteriofágem, je část bakteriální DNA zabalena do kapsidy bakteriofága. Tento bakteriofág pak napadá další buňky. DNA z původní buňky se zabuduje do genetické informace nově infikované bakterie a dojde k přenosu potřebných genů rezistence (Goh. 2016).

Jako transformaci nazýváme proces, kdy je do buňky z jejího okolí přijat a následně začleněn nový exogenní genetický materiál. Tato exogenní DNA je poté exprimována, stejně jako DNA bakterii vlastní. V prostředí se díky lýze a rozpadu bakteriálních buněk nachází takové genetické informace poměrně velké množství. Pro příjem genů z okolí musí být bakterie kompetentní (Wang et al. 2020).

Posledním ze zmíněných jevů je konjugace. Pro konjugaci je nutné, aby měla bakterie náležitou genetickou výbavu, ve formě R plasmidu. Probíhá tak, že se spolu spojí dvě bakterie pomocí pilu. Bakterie se k sobě přiblíží, vytvoří se mezi nimi kanálek a skrz tento kanálek, pak putuje replikovaná genetická informace nesoucí geny rezistence (Graf. 2019).



Obrázek 6 Horizontální formy přenosu genů rezistence (von Wintersdorff et al. - upraveno)

Tyto jevy jsou problematické zejména v nemocničním prostředí, kde je díky vysokému obsahu mikroorganismů (jak živých, tak mrtvých), přenos genů rezistence poměrně častým nežádoucím úkazem. Proto je nutné dodržování hygienických předpisů a častá dezinfekce.

## 2.4 Nedostatek antibiotik

Dalším problémem, spojeným s antibiotiky, který se v poslední době stále častěji vyskytuje, je jejich nedostatek. Poslední velká krize spojená s nedostatkem antibiotik, zejména těch s obsahem amoxicilinu, proběhla v první části roku 2023.

V té době vypukla, jako každoročně, epidemie respiračních onemocnění. Situace však byla umocněna probíhající koronavirovou pandemií. Roky před tím totiž lidé omezovali svoje kontakty a nosili respirátory, takže nemocnost nebyla tak vysoká. To vše navíc vyústilo ke snížení imunity a oslabení populace. Když pak přišla již zmíněná epidemie, rapidně vrostl počet indikací k předepsání antibiotik. Tento počet bohužel převýšil výrobu, nastavenou podle dat

o nemocnosti z roku 2019, navíc oslabenou ekonomickými dopady koronavirové pandemie, a došlo k velkému výpadku dodávek antibiotik (Šimůnková. 2023).

Z důvodů zde zmíněných (antibiotická rezistence, výpadky antibiotik, ale i velmi nízkého počtu nově objevených ATB) se vědci snaží objevit nové metody antimikrobiální léčby. Možnou alternativou za antibiotika, by mohla být například léčba pomocí přípravků obsahujících bakteriofágy, rostlinné extrakty, nebo třeba pomocí koloidního stříbra.

### 3. Možnosti využití koloidního stříbra jako antibiotika

Z výzkumů jednoznačně vyplývá, že koloidní opravdu disponuje jistými vlastnostmi, které působí proti růstu a množení mikroorganismů. V následující části práce se budu podrobněji věnovat možnostem využití koloidního nanostříbra, a to jak samostatně, tak i v kombinaci s antibiotiky. Zároveň se budu zabývat jeho případnou toxicitou pro lidský organismus a možným vznikem rezistence.

#### 3.1 Porovnání účinnosti koloidního stříbra a ATB

Porovnat účinnost koloidního stříbra s účinností antibiotik je, vzhledem k tomu, že se jedná o velmi odlišné skupiny látek, poměrně komplikované. Jednoznačně však můžeme říct, že obě skupiny látek působí na podobné buněčné děje (viz kapitoly 1.4 a 2.2). Stejně jako ATB, může mít i koloidní nanostříbro jak bakteriostatický, tak baktericidní efekt (Singh et al. 2022). Síla a charakter účinku je pak dána pravděpodobně koncentrací stříbrných nanočástic v koloidu a jak již bylo zmíněno, i jejich charakteru (způsob výroby, tvar, velikost apod.).

Různé studie zabývající se účinky koloidního nanostříbra naznačují, že koncentrace stříbra pro iradikaci bakterií je v porovnání s některými ATB nižší. V jedné ze studií je například MIC u Ag-Np pro bakterii *Enterococcus faecium* jen 8 µg/ml zatímco pro amikacin a ampicilin je to 128 µg/ml (Lopes-Carrizales et al. 2018).

Jiná studie využívala antibiotikum (streptomycin) pouze jako kontrolu úrovně citlivosti, ale z výsledků je patrné, že MIC koloidního nanostříbra byly mnohem menší než MIC antibiotika. Zajímavým jevem bylo také to, že jedna z testovaných bakterií si během výzkumu vyvinula proti streptomycinu rezistenci, zatímco stříbro si svůj účinek udrželo. I tato skutečnost by mohla být jednou z výhod při užívání koloidního stříbra (Pernas-Pleite et al. 2023)

#### 3.2 Kombinovaná aplikace ATB a koloidního stříbra

Při současné aplikaci několika látek s podobnými účinky může dojít k synergii, částečné synergii, aditivitě, indiferenci či antagonismu účinků. Synergický účinek je charakteristický vyšším účinkem, než je součet jednotlivých účinků (tzn.  $1 + 1 > 2$ ). Aditivní účinek je takový, kdy dochází k součtu jednotlivých účinků (tzn.  $1 + 1 = 2$ ). Indiferencí se rozumí „lhostejnost“

a tudíž žádné ovlivnění (tzn.  $1 + 1 = 1 + 1$ ) a antagonismem nazýváme účinek „záporný“, tedy takový, kdy se účinky látek navzájem vyruší (tzn.  $1 + 1 = 0$ ).

Jak již bylo zmíněno, koloidní nanostříbro má velmi podobné cílové struktury na bakteriální buňce jako antibiotika. Stejně jako ATB působí na buněčnou stěnu, nukleové kyseliny a jejich syntézu či na metabolismus. Díky tomuto jevu byly pozorovány při současné aplikaci antibiotik s nanostříbrem synergické, částečně synergické a aditivní efekty. Některé studie uvádějí při kombinaci s jistými ATB a MO i indiferenci, ale zatím nebyl objeven žádný antagonismus. Prvně zmíněné efekty by mohly být klíčové při využití kombinované terapie infekcí způsobených vysoce rezistentními kmeny MO (Hwang et al. 2012).

Hwang et al. v roce 2012 zjistili, že u tří z šesti zkoumaných MO působilo nanostříbro aplikované v kombinaci s antibiotikem ampicilinem synergickým efektem. Při kombinaci nanostříbro/chloramfenikol to byly dva druhy z šesti a u kombinace nanostříbro/kandamycin dokonce čtyři ze šesti. U těch MO, kde nebyl pozorován úplný synergismus, byl pozorován alespoň částečný synergismus. Co však z dané studie vyplývá je to, že by bylo možné léčit infekce pomocí nižší dávky ATB, což by mohlo vést ke zpomalení vzniku rezistentních kmenů.

Podobnou studii vytvořili i Lopez-Carrizales et al. v roce 2018. Ti zkoumali účinky kombinace antibiotik (ampicilin, amikacin) se stříbrnými nanočásticemi na dvanáct známých multirezistentních uropatogenů, které způsobují problematické infekce u pacientů s dlouhodobě zavedenými močovými katetry, čímž často prodlužují a prodražují délku jejich hospitalizace.

Z výsledků této studie vyplývá, že při kombinované aplikaci ampicilinu s nanostříbrem byl pozorován jeden synergický, sedm parciálně synergických a čtyři aditivní efekty. Kombinace nanostříbra s amikacinem ukázala tři synergické, osm parciálně synergických a jeden aditivní efekt, čímž potvrdila, že kombinace ATB s Ag-Np by mohla být slibnou cestou k léčbě infekcí močového traktu (Lopez-Carrizales et al. 2018).

Zajímavé výsledky přinesla též studie Mala et al. z roku 2017, která zkoumala potlačování růstu a adheze biofilmů uropatogenních bakterií na močových katetrech. V případě použití antibiotik (amikacin, nitrofurantoin) byla redukce připojení biofilmu na foleyův močový kate jen 31 % a v případě samotných Ag-Np to bylo 75 %. Pokud však byla použita kombinace ATB se stříbrem, došlo až k 90% redukci adheze biofilmu na povrch katetru.

### 3.3 Možná rezistence na koloidní stříbro

Koloidní nanostříbro je sice, z důvodu neustále rostoucího počtu bakterií rezistentních či dokonce multirezistentních na ATB, diskutováno jako alternativa za antibiotika, ale i na něj si, dle posledních výzkumů, mohou bakterie vybudovat poměrně silnou rezistenci. Tento problém by mohl mít, vzhledem k současnému široce rozšířenému využití stříbra jako antimikrobiálního činidla, ale i vzhledem k možnostem, které stříbro nabízí a lidstvo je stále nevyužilo, poměrně negativní vliv na léčbu chronických ran, či budoucnost výzkumu (Percival et al. 2019).

To, že si bakterie mohou vyvinout rezistenci na iontové stříbro už víme a mechanismy jsou poměrně dopodrobna popsány. Nejstarší takový případ je z roku 1969, kdy byla hlášena rezistence kmene *E. Coli* izolované z popáleninové rány ošetřované dusičnanem stříbrným. Jako jeden z mechanismů byly popsány efluxní pumpy související s exportem mědi z bakteriální buňky. Není však zcela jasné, zda se stejné mechanismy uplatňují i v rezistenci na stříbrné nanočástice (McNeilly et al. 2021).

Rezistence na Ag-Np je tématem novým a populárním poměrně krátce, proto nejsou kompletní bakteriální mechanismy rezistence proti této formě stříbra dosud odhaleny. Pozorované mechanismy rezistence jsou různorodé a z vědeckých studií nelze zcela usoudit, který je nejvíce účinný. Většina studií se shoduje na tom, že na rezistenci má značný podíl efluxní systém ATPázových pump a tvorba flagelinu. Dále se uplatňují též mechanismy obrany proti oxidativnímu stresu (Valentin et al. 2020). Na rezistenci se může podílet i tvorba biofilmů produkujících EPS (Terzioğlu et al. 2022).

#### 3.3.1 Efluxní systém

Jak bylo již zmíněno, jedním z mechanismů rezistence na stříbro je efluxní systém zodpovědný za export měděných iontů. Je prokázáno, že při dlouhodobém vystavení stříbrným iontům dochází u bakterií ke ztrátě důležitých OMP a zároveň ke zvýšené expresi Cus efluxních pump. Tyto změny jsou způsobeny změnou v genomu buňky a vedou ke sníženému přijímání a zvýšenému vypuzování stříbra přes buněčnou stěnu (Valentin et al. 2020).

Při výzkumu rezistence proti stříbru bylo objeveno, že mutace v genech kódující expresi zmíněných pump vznikají poměrně rychle. Zajímavým jevem je, že u bakterií, které jednoznačně prokazovaly rezistenci vůči iontovému stříbru byly objeveny obdobné mutace jako u bakterií rezistentních proti koloidnímu nanostříbru. Díky tomu se předpokládá, že bakteriální

rezistence proti Ag-Np souvisí s rezistencí na Ag<sup>+</sup> a se zvýšenou expresí Cus efluxního systému a sníženou expresí důležitých proteinů zevní membrány, ačkoliv přesné mechanismy nejsou zatím objasněny (Graves et al. 2015).

### **3.3.2 Tvorba flagellinu**

Flagellin je protein, který za standardních podmínek tvoří bakteriální bičík. Bylo objeveno, že syntéza tohoto proteinu je také částečně zodpovědná za bakteriální rezistenci proti stříbrným nanočásticím. Flagellin má významné adhezivní vlastnosti, díky kterým dokáže spustit agregaci nanočástic, čímž tyto částice ztratí svoji antibakteriální funkci definovanou zejména jejich tvarem a velikostí. Zajímavým poznatkem také je, že pro tento typ rezistence není zapotřebí žádná genotypová změna, ale jedná se pouze o změnu fenotypu (Panáček et al. 2018).

### **3.3.3 Produkce EPS**

EPS jsou vysokomolekulární polymerové látky, které produkují bakterie do svého okolí. Dokážou působit jak proti stříbrným nanočásticím, tak proti iontovému stříbru a jsou rezistenčním mechanismem pozorovaným zejména u bakterií formujících biofilm, jako například bakterie z odpadních vod *Aeromonas punctata*, nebo infekční bakterie *Micrococcus luteus* či *Staphylococcus aureus*. Mechanismus účinku EPS je popsán tak, že EPS obalí částice nanostříbra, čímž sníží či odstraní jejich antibakteriální účinek. Zároveň zajišťuje bakteriím značnou odolnost před vlivy působícími zvenčí, takže tvoří bariéru mezi biofilmem a Ag-Np (Terzioğlu et al. 2022).

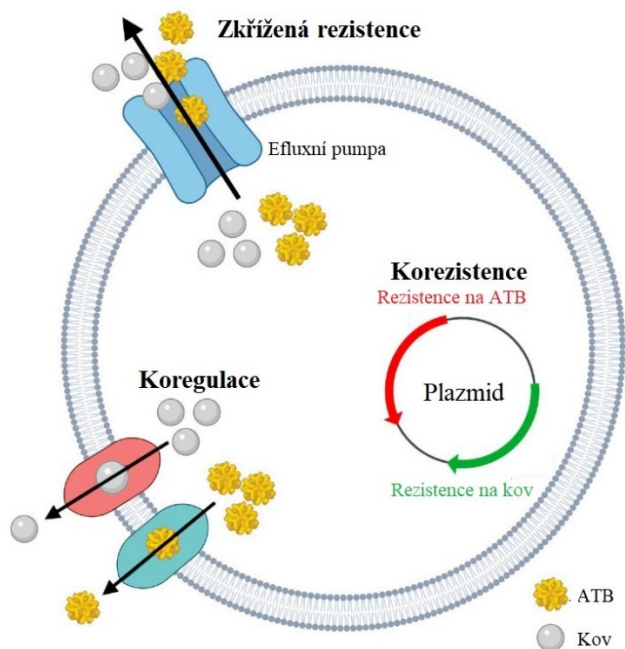
### **3.3.4 Obrana proti oxidativnímu stresu a jeho následkům**

Produkce reaktivních sloučenin kyslíku a následný oxidativní stres je jedním z hlavních mechanismů působení Ag-Np (viz kapitola 1.4.2). DNA bakterií, které jsou prokazatelně rezistentní na koloidní nanostříbro obsahuje mutace v genech, které kódují látky pomáhající se bakterii proti ROS bránit. Jedním z takových genů je například gen, který se podílí na tvorbě a modulaci cysteinu. Cystein je AMK, které je nezbytnou součástí thioredoxinu, významného bakteriálního antioxidantu. Ze studií vyplývá, že tento gen je exprimován až 5x více u bakterií vystavených Ag-Np než u bakterií „naivních“. Modulované jsou i geny potřebné pro syntézu purinů, které se podílejí na opravách DNA (Valentin et al. 2020).

### 3.3.5 Vznik kombinované rezistence

V poslední době se objevují znepokojivé důkazy o tom, že by stříbro a další těžké kovy mohlo potencovat vznik antibiotické rezistence. Prvně byl tento jev popsán již v roce 1974, kdy byla ze znečištěné vody vyizolována bakterie E. Coli, která získala, „nepřímo“ v důsledku vystavení těžkým kovům, rezistenci proti antibiotikům. Nedávno bylo dokonce objeveno, že některé bakterie z řeky Yamuna v Indii získali spolu s rezistencí na stříbro též schopnost produkovat ESBL, hlavní enzymy figurující v rezistenci na peniciliny. Bylo také dokázáno, že stříbro potencuje vznik rezistence u bakterií odpadních vod (McNeilly et al. 2021).

Kombinovaná rezistence může vzniknout několika možnými způsoby. Prvním z nich je korezistence. Ta vzniká, když se geny rezistence pro více látek najednou nacházejí na jednom genetickém elementu, například na plazmidu. Dalším způsobem kombinované rezistence je koregulace, kdy jsou geny rezistence transkripčně spojeny a tudíž dochází k expresi všech naráz. Třetí možností je zkřížená rezistence, což znamená, že stejné geny kódují rezistentní mechanismy pro více látek. Jednotlivé možnosti jsou znázorněny na následujícím obrázku (McNeilly et al. 2021).



Obrázek 7 Možnosti kombinované rezistence (McNeilly et al. 2021- upraveno)

Velmi zajímavým příkladem tohoto fenoménu je vliv válek na rozvoj antibiotické rezistence. Je všeobecně známo, že nezbytným materiálem pro výrobu vojenského arzenálu jsou těžké kovy. Podle některých studií jsou tyto těžké kovy zodpovědné za vznik rezistentních infekcí



způsobených bakterií *Acinetobacter baumannii*, který je asi nejvýznamnějším patogenem ranných infekcí způsobených během válečného konfliktu. Studie uvádějí, že tento patogen se v oblastech, kde probíhá válka (zejména země na blízkém východě – Írák, Sýrie, Afgánistán apod.) stává multirezistentním právě díky kontaktu s těžkými kovy obsaženými ve zbraních, nábojnicích apod (Bazzi et al. 2020).

### **3.4 Vliv koloidního nanostříbra na lidský organismus**

Jedním z klíčových aspektů, který ovlivní rozhodnutí, zda je možné využívat koloidní stříbro k antibakteriální léčbě lidí, je jeho vliv na lidský organismus. Z výzkumů je možné zjistit, že iontové stříbro je o něco toxičtější než nanostříbro. Ačkoliv hlavní toxický účinek nanostříbra je pravděpodobně v možnosti generovat stříbrné ionty. Z hlediska genotoxicity jsou výsledky pozitivní, ale pro jasný důkaz karcinogenity existuje příliš málo dat (Hadrup et al. 2020).

Je velmi složité posoudit globální míru cytotoxicity nanočástic stříbra, jelikož účinky závisí z velké míry na postupu přípravy částic. Udává se, že menší nanočástice jsou toxičtější než větší, díky jejich dobré schopnosti generovat stříbrné ionty. Jednou z dalších možností zdroje toxicity může být samotný vstup Ag-Np přes cytoplazmatickou membránu a jejich kontakt s buněčnými organelami (Hatipoglu et al. 2015).

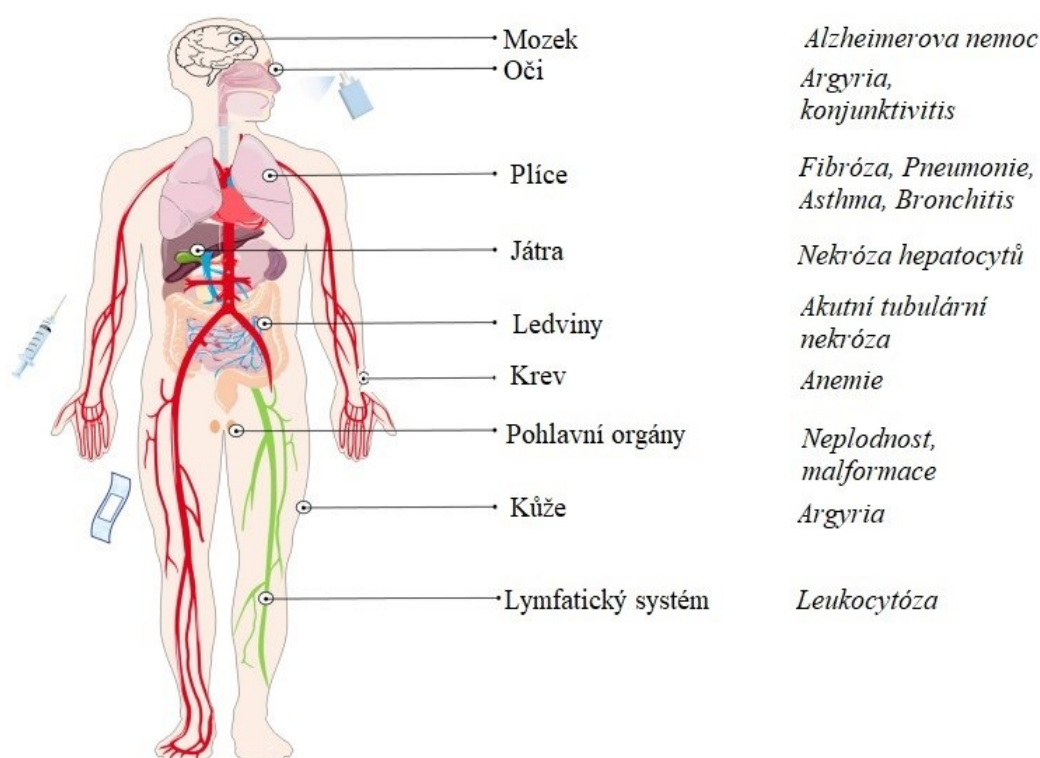
#### **3.4.1 Vliv na eukaryotické buňky**

Hlavním problémem popisovaným v různých studiích je již zmíněná produkce reaktivních sloučenin kyslíku. Tato „dvousečná zbraň“, která sice dokáže poměrně dobře zničit bakteriální buňku je schopna poškodit i buňku eukaryotickou – lidskou, kde jsou cílovými organelami zejména mitochondrie.

Klíčovou cestou toxicity je reakce z nanostříbra vygenerovaných  $Ag^+$  iontů s cysteinovým zbytkem NADH dehydrogenázy, čímž se iniciuje produkce ROS. Reaktivní sloučeniny kyslíku poté významně ovlivňují buňky, neboť oxidují lipidy, proteiny a poškozují DNA. Zároveň dochází k narušení mitochondriální membrány a tím i ke zvýšenému vylučování cytochromu C, aktivaci kaspáz 3, 9, 8 a ke snížení poměru Bcl-2/Bax. Tyto děje potom vedou k nastartování apoptózy s následnou smrtí buňky (Xue et al. 2018).

### 3.4.2 Orgánová toxicita

Toxické účinky stříbra pro lidské tělo jsou závislé na způsobu podání. Ten může být různý – požití, aspirace, kontakt s kůží, subkutánní či intravenózní apod. Obecně by se dalo říct, že čím „hlouběji“ je cesta vstupu, tím horší mohou být následky podání. To znamená, že cesta podání přes kůži je méně riziková, než například intravenózní aplikace či aspirace. Z tohoto důvodu je v ČR povoleno doporučovat koloidní stříbro pouze k zevnímu užití. Orgány, u kterých se předpokládá, že budou cílové pro toxicitu stříbra a poruchy, které mohou vzniknout jsou znázorněny na následujícím obrázku.



Obrázek 8 Orgánová toxicita stříbra (Xu et al. 2020- upraveno)

Na první pohled nejvýraznějším projevem zvýšenému vystavení stříbru je argyria. Toto onemocnění je charakteristické nápadným generalizovaným šedavým až šedomodrým zbarvením kůže, případně sliznic a očí. Toto zbarvení je způsobeno ukládáním částic stříbra do kůže. Onemocnění je sice spíše kosmetického rázu, ale některé studie ukázaly i toxický vliv Ag-Np na kůži. Nejlepší variantou léčby se jeví laserové odstranění (Almurayshid et al. 2020).

Dalším orgánem postiženým při vystavení stříbru jsou játra. Ta slouží jako hlavní detoxikační systém těla, a proto jsou při vnitřním vystavení organismu stříbru v „nejméně výhodné“ pozici. Ví se, že játra se snaží dostat nanočástice stříbra ven z těla přes žluč, proto stoupá u pacientů

intoxikovaných stříbrem obsah kovu ve stolici. Zároveň se o likvidaci stříbra pokoušejí i Kupfferovy buňky. Při testech na myších byly pozorovány po podání roztoku koloidního stříbra poměrně závažné potíže. Docházelo k významnému hepatobiliárnímu poškození, nekróze hepatocytů, krvácením a zvýšenému výskytu buněk imunitního systému (Xu et al. 2020).

Nanostříbro může být toxické i pro krevní buňky. Bylo například zjištěno že napadá hemoglobin, krevní barvivo složené ze dvou alfa a dvou beta podjednotek. V hemoglobinu může vlivem působení stříbra docházet ke ztrátě alfa podjednotek, a tedy vést k anemii. Pravděpodobný je též negativní účinek na hematopoézu v kostní dřeni, na buňky imunitního systému a slezinu (Chi et al. 2018).

Dále v těle stříbro atakuje ledviny, kde se akumuluje a může způsobit abnormality funkce či poškození bazální membrány. Při aspiraci se usazuje též v plicích, což vede k akutním zánětům, nekrotickým a při dlouhodobé expozici k asthma. Ve varlatech mohou Ag-Np způsobovat změnu sekrece hormonů, ale i negativně ovlivňovat vývoj spermií skrze Sertoliho buňky. Ve vaječnicích může docházet a apoptóze ovariálních folikulů. Tyto efekty mohou mít za následek neplodnost (Xu et al. 2020). Stříbro může dále atakovat oči, střeva a další orgány.

### 3.4.3 Kazuistika

Žena ve věku necelých šedesáti let byla z důvodu progresivní únavy a nevolnosti přivezena sanitkou do nemocniční ambulance. Nikdy nekouřila, žádné dřívější nemoci ani krvácení neuvěděla. V posledních dnech jí docházely síly a dnes už nedokázala chodit bez opory. Dále byla velmi bledá, bez výrazných pigmentací a hubená (Stjernbrandt. 2023).

Bylo u ní provedeno vyšetření krve, které odhalilo následující patologické hodnoty:

*Tabulka 4 Patologické hodnoty vyšetření krve při příjmu pacientky (Stjernbrandt. 2023)*

Parametr	Krevní vyšetření při příjmu		Jednotka
	Hodnota	Fyziologicky	
RBC	48	117-153	g/l
MCV	153	82-98	fL
MCH	51	37	pg
PLT	52	165-387	10 <sup>9</sup> /l
Kobalamin	< 75	145-596	pmol/l
Albumin	30	36-45	g/l
AST	1	< 0,6	μkat/l

Parametr	Krevní vyšetření při příjmu		Jednotka
	Hodnota	Fyziologicky	
LD	34	< 3,4	μkat/l
C_Bilirubin	87	< 25	μmol/l
P_Bilirubin	21	< 5	μmol/l
TnT	26	< 14,5	ng/l
proBNP	996	< 150	ng/l

Pacientku přijali na hematologické oddělení a byly jí podány dvě jednotky erytrocytů. Dále také glukóza i.v. a vitamín B12 i.m. Při biopsii z kosti kyčelní byla prokázána hyperplastická kostní dřev se zvýšenou erythropoézou. Bakteriologické vyšetření vyšlo negativní, CT hrudníku prokázalo pravostranný pleurální výpotek. Echokardiografie prokázala hyperdynamickou levou komoru, hraničně zvětšenou levou síň a nevýznamný výpotek. EKG neodhalilo žádné poruchy (Stjernbrandt. 2023).

Během pobytu v nemocnici pacientka informovala personál, že v posledních dvou až třech týdnech užívala jednu polévkovou lžici koloidního stříbra denně (15 ml), neboť trpěla potížemi spojenými s infekcí horních cest dýchacích. Jednalo se o přípravek na dezinfekci vody složený z deionizované vody a 99,99% koloidního stříbra 10 μg/ml. Pacientce byly tedy odebrány vzorky krve a moči, na kterých proběhla v laboratoři analýza obsahu kovů. Zjištěná koncentrace stříbra v krvi byla 20,0 μg/l a v moči 10 μg/l (Stjernbrandt. 2023).

Následně byla pacientka poučena, aby přerušila užívání koloidního stříbra a po deseti dnech propuštěna z nemocnice. Po šesti týdnech se cítila zcela zotavená a po hematologickém vyšetření krve, bylo zjištěno, že se všechny patologické hodnoty vrátily do fyziologického rozmezí. Po 95 dnech opakovali zdravotníci analýzu stříbra v krvi a ta klesla na 3,3 μg/l (Stjernbrandt. 2023).

Podle literatury otrava stříbrem postihuje mimo jiné jaterní, kardiovaskulární a hemopoetický systém, což by souhlasilo s výsledky vyšetření pacientky. Anemie, trombocytopenie a snížení koncentrace vitamínu B12 potvrzují předpoklad, že stříbro může mít toxický účinek na kostní dřev. Zvýšené jaterní testy zase, že stříbro může působit na jaterní tkáň. Lze tedy usuzovat, že pacientka opravdu prodělala otravu stříbrem (Stjernbrandt. 2023).

## **4. Budoucnost využití koloidního stříbra**

Koloidní stříbro se jeví jako poměrně účinná zbraň v boji proti rezistentním mikroorganismům. Stejně jako vše, má však své nevýhody. Mezi hlavní z nich patří již zmíněný možný vznik rezistence, možnost indukce antibiotické rezistence, či jeho buněčná a orgánová toxicita. Některé nevýhody v mikrobiologii však mohou být využity v jiném odvětví, třeba v léčbě nádorů.

### **4.1 Další možnosti ve využití stříbra jako antibakteriální látky**

V této práci jsem se dosud věnoval koloidnímu nanostříbru pouze v jeho „surové“ formě. V současnosti jsou však předmětem výzkumu i nanočástice stříbra obalené jinou látkou a pozadu v této oblasti výzkumu nejsou ani Češi.

Například Panáček et al. se ve své studii z roku 2021 zabývali nanočásticemi stříbra kovalentně vázanými na kyanografen. Takto navázané stříbro je schopné zabít bakterie v koncentracích až 30x nižších než ve své surové formě. Zároveň má velmi dobrou baktericidní aktivitu proti multirezistentním kmenům a je poměrně dobře cytocompatibilní s lidskými buňkami. Tato studie také dokazuje, že tuhé nosiče s navázaným stříbrem mohou velmi dobře pomoci v boji proti bakteriální antibiotické rezistenci.

Jiné studie se snaží využívat k léčbě multirezistentních infekcí stříbrný karboxylát. Jeho výhodou by byla menší cytotoxicita než u stříbrných nanočástic s poměrně dobře zachovaným baktericidním účinkem. Ačkoliv několik přípravků na bázi karboxylátů stříbra ukázalo slibné výsledky in vitro a mohlo by být potenciálně použito buď samostatně, nebo v kombinaci s ATB, je potřeba ještě provést testy in vivo (Mette et al. 2022).

### **4.2 Využití koloidního stříbra v léčbě rakoviny**

Cytotoxické účinky Ag-Np na eukaryotické buňky jsou při léčbě infekcí překážkou, je však možné využít je v léčbě nádorů. Díky svým jedinečným vlastnostem jsou schopné hromadit se v nádorových tkáních a interagovat s různými typy nádorových buněk. V praxi jsou internalizovány do vnitřního prostředí buněk, kde aktivují různé cesty buněčné smrti, mitochondriální dysfunkci a produkují nebezpečné ROS (Kovács et al. 2022).

Další velkou výhodou AG-Np je, že by mohly napomáhat vstupu dalších protinádorových látek do buněk. Problém by však mohl nastat při akumulaci nanočástic jinde než v cílovém místě.

Z toho důvodu je potřeba vytvořit různé modifikace nanočástic stříbra. Dále bude třeba vytvořit nové léčebné postupy a otestovat, jaké kombinace současných léčebných metod s nanočásticemi stříbra budou proti nádorům nejvhodnější (Kovács et al. 2022).

### **4.3 Využití stříbra jako antivirotika**

Problémem současné doby nejsou jen rezistentní bakterie, ale i patogenní viry, proti kterým nemáme účinnou léčbu. V roce 2020 vypukla pandemie viru SARS-CoV-19, ze které se lidstvo vzpamatovává dodnes. Proto je potřeba vyvinout funkční léčbu, která by nám pomohla obdobným problémům předejít a jako jedna z variant léčby se zkoumá i koloidní stříbro.

Mechanismy účinku nejsou zcela dopodrobna popsány, ale předpokládá se, že by nanočástice stříbra mohly inhibovat vazbu mezi virovou částicí a potenciální hostitelskou buňkou. Dalším mechanismem by mohla být například interakce AMK virových proteinů se stříbrem, nebo produkce ROS. Pro využitelnost koloidního stříbra v antivirové léčbě je však stále nutné jeho mechanismy účinku a účinnost podrobně prozkoumat (Bharti et al. 2021).

### **4.4 Budoucnost výzkumu**

Aby mohlo být koloidní stříbro využíváno jako medikament sloužící místo antibiotik, je třeba pokračovat ve výzkumu. Je nutné, aby se vědci zaměřili na možnou rezistenci a pokusili se navrhnout její řešení. Velmi důležité je též, vzhledem k poměrně značné cytotoxicitě, zjistit, jak koloidní stříbro aplikovat účelně a bezpečně, aby nedošlo intoxikacím.

Vědci by se též měli začít zabývat enviromentálními aspekty používání koloidního stříbra, neboť znečištění planety je čím dál tím větším problémem. Zároveň by zvýšený výskyt stříbra mohl způsobovat vznik dalších rezistentních kmenů, což by problém s rezistencí jen prohloubilo. Ze stejného důvodu je nutné se též zaměřit na využívání koloidního stříbra například v kosmetice, potravinářství, průmyslu, ale hlavně v zemědělství, které je jedním z nejvýznamnějších chemických znečišťovatelů současné krajiny. Pro to, aby mohlo být koloidní stříbro v budoucnosti efektivně využíváno je tedy nutná nejenom spolupráce vědců a lékařů ale též legislativního aparátu.

## 5. Závěr

Tato práce se věnuje možnosti využívat stříbro jako náhrady za antibiotika pro léčbu infekcí způsobených rezistentními kmeny mikroorganismů, jako jsou například ty ze skupiny „ESKAPE“. Důraz je kladen zejména na koloidní nanostříbro, tedy nanočástice stříbra suspendované ve vodném roztoku. Schopnost stříbra ničit mikroorganismy je známa již od starověku, ale mechanismy účinku stříbra nejsou zcela podobně známy dodnes.

Podle současných zjištění působí stříbro zejména na buněčnou stěnu a membrány bakterií. Jedním z nejdůležitějších účinků jsou totiž reakce se složkami dýchacího řetězce a následná produkce reaktivních sloučenin kyslíku. Tyto radikály poté dokáží zničit a narušit mnoho buněčných struktur, což vede k destrukci bakteriální buňky. Koloidní nanostříbro též vykazuje poměrně dobré účinky proti adhezi a vzniku biofilmu. Míra baktericidní schopnosti nanočástic je však dána zejména jejich tvarem a způsobem výroby. Dále bylo zjištěno, že stříbro užití v kombinaci s antibiotiky vykazuje synergický, částečně synergický a aditivní efekt, tedy napomáhá jejich vstupu do buněk a podporuje jejich účinek.

Problematické pro využití stříbra jako antibiotika by mohli být jeho cytotoxické vlastnosti. V eukaryotických buňkách totiž, stejně jako v bakteriích, způsobuje vznik reaktivních sloučenin kyslíku, a tedy indukce oxidativního stresu. Nejvýznamnějšími nepříznivými účinky na lidský organismus jsou vznik tubulárních a hepatálních nekros, zánětů dýchacích cest či anemie. Nejvýraznějším příznakem intoxikace je argyria, modravé zabarvení kůže a očí. Práce obsahuje též jednu kazuistiku zabývající se diagnostikou a léčbou intoxikace stříbrem.

Pokud bych měl zhodnotit, zda je možné stříbro využívat místo antibiotik, přihlédl bych k jeho toxicitě, jelikož destruktivní vliv na bakteriální buňky je jednoznačný. Vzhledem k množství nežádoucích účinků bych nedoporučoval stříbro užívat vnitřně, ale vnější podání by nemuselo být problémové. Každopádně je potřeba pokračovat ve výzkumu a pokusit se o vytvoření takové formy stříbra, která by co nejvíce omezila jeho toxické vlastnosti a co nejvíce zacílila jeho účinek na bakteriální buňky. Rozhodně by však bylo potřeba vyvarovat se chybě, kterou lidé udělali s antibiotiky a užívat stříbro s rozmyslem, jelikož stále existuje i riziko vzniku rezistence na stříbro, či dokonce riziko indukce rezistence proti ATB v případě, že by se stříbrné částice dostaly ve větší míře do životního prostředí.

## POUŽITÁ LITERATURA

1. ABUSHAHEEN MA, MUZAHEED, FATANI AJ, ALOSAIMI M, MANSY W, GEORGE M, ACHARYA S, RATHOD S, DIVAKAR DD, JHUGROO C, VELLAPPALLY S, KHAN AA, SHAIK J, JHUGROO P. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. *Dis Mon.* 2020 Jun;66(6):100971.
2. ALBARÈDE F, BLICHERT-TOFT J, DE CALLATAÏ F, DAVIS G, DEBERNARDI P, GENTELLI L, GITLER H, KEMMERS F, KLEIN S, MALOD-DOGNIN C, MILOT J, TÉLOUK P, VAXEVANOPOULOS M, WESTNER K. From commodity to money: The rise of silver coinage around the Ancient Mediterranean (sixth-first centuries bce). *Archaeomet.* 2021 Feb;63(1):142-155.
3. ALHAJJAR RK, ROCHE KM, TECHTMANN SM. Comparative Analysis of the Mechanism of Resistance to Silver Nanoparticles and the Biocide 2,2-Dibromo-3-Nitrilopropionamide. *Antimicrob Agents Chemother.* 2022 Jun 21;66(6):e0203121.
4. ALHESHIBRI M. Fabrication of Au-Ag Bimetallic Nanoparticles Using Pulsed Laser Ablation for Medical Applications: A Review. *Nanomaterials.* (Basel). 2023 Nov 13;13(22):2940.
5. ALMURAYSHID A, PARK S, OH SH. Effective laser treatment options for argyria: Review of literatures. *J Cosmet Dermatol.* 2020 Aug;19(8):1877-1882.
6. SZÚ. Antibiotickarezistence.cz. Dostupné z: <https://www.antibiotickarezistence.cz/> (cit. 26. 1. 2024)
7. AWAKAWA T, BARRA L, ABE I. Biosynthesis of sulfonamide and sulfamate antibiotics in actinomycete. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2021 Jun 4;48(3-4):kuab001.
8. BARAN A, KWIATKOWSKA A, POTOCKI L. Antibiotics and Bacterial Resistance- A Short Story of an Endless Arms Race. *Int J Mol Sci.* 2023 Mar 17;24(6):5777.
9. BARILLO DJ, MARX DE. Silver in medicine: a brief history BC 335 to present. *Burns.* 2014 Dec;40 Suppl 1:S3-8.



10. BAZZI W, ABOU FAYAD AG, NASSER A, HARAOUY LP, DEWACHI O, ABOU-SITTA G, NGUYEN VK, ABARA A, KARAH N, LANDECKER H, KNAPP C, MCEVOY MM, ZAMAN MH, HIGGINS PG, MATAR GM. Heavy Metal Toxicity in Armed Conflicts Potentiates AMR in *A. baumannii* by Selecting for Antibiotic and Heavy Metal Co-resistance Mechanisms. *Front Microbiol.* 2020 Feb 3;11:68
11. BHARTI S, MUKHERJI S, MUKHERJI S. Antiviral application of colloidal and immobilized silver nanoparticles. *Nanotechnology.* 2021 May 14;32(20):205102
12. BUSH K, BRADFORD PA. Epidemiology of  $\beta$ -Lactamase-Producing Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 2020 Feb 26;33(2):e00047-19
13. DANIEL TM. The history of tuberculosis. *Respir Med.* 2006 Nov;100(11):1862-70.
14. GARDE S, CHODISETTI PK, REDDY M. Peptidoglycan: Structure, Synthesis, and Regulation. *EcoSal Plus.* 2021 Jan;9(2).
15. GOGGIN R, JARDELEZA C, WORMALD PJ, VREUGDE S. Colloidal silver: a novel treatment for *Staphylococcus aureus* biofilms? *Int Forum Allergy Rhinol.* 2014 Mar;4(3):171-5.
16. GOGGIN R, JARDELEZA C, WORMALD PJ, VREUGDE S. Colloidal silver: a novel treatment for *Staphylococcus aureus* biofilms? *Int Forum Allergy Rhinol.* 2014 Mar;4(3):171-5.
17. GOH S. Phage Transduction. *Methods Mol Biol.* 2016;1476:177-85.
18. GRAF FE, PALM M, WARRINGER J, FAREWELL A. Inhibiting conjugation as a tool in the fight against antibiotic resistance. *Drug Dev Res.* 2019 Feb;80(1):19-23.
19. GRAVES JL JR, TAJKARIMI M, CUNNINGHAM Q, CAMPBELL A, NONGA H, HARRISON SH, BARRICK JE. Rapid evolution of silver nanoparticle resistance in *Escherichia coli*. *Front Genet.* 2015 Feb 17;6:42
20. GUNAWAN C, FAIZ MB, MANN R, TING SRS, SOTIRIOU GA, MARQUIS CP, AMAL R. Nanosilver Targets the Bacterial Cell Envelope: The Link with Generation of Reactive Oxygen Radicals. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2020 Feb 5;12(5):5557-5568.

21. HADRUP N, SHARMA AK, LOESCHNER K, JACOBSEN NR. Pulmonary toxicity of silver vapours, nanoparticles and fine dusts: A review. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2020 Aug;115:104690.
22. HATIPOGLU MK, KELEŞTEMUR S, ALTUNBEK M, CULHA M. Source of cytotoxicity in a colloidal silver nanoparticle suspension. *Nanotechnology*. 2015 May 15;26(19):195103.
23. HEIDARY M, KHOSRAVI AD, KHOSHNOOD S, NASIRI MJ, SOLEIMANI S, GOUDARZI M. Daptomycin. *J Antimicrob Chemother*. 2018 Jan 1;73(1):1-11.
24. HWANG IS, HWANG JH, CHOI H, KIM KJ, LEE DG. Synergistic effects between silver nanoparticles and antibiotics and the mechanisms involved. *J Med Microbiol*. 2012 Dec;61(Pt 12):1719-1726.
25. CHENG JH, ZOU S, MA J, SUN DW. Toxic reactive oxygen species stresses for reconfiguring central carbon metabolic fluxes in foodborne bacteria: Sources, mechanisms and pathways. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2023;63(13):1806-1821.
26. CHI Z, LIN H, LI W, ZHANG X, ZHANG Q. In vitro assessment of the toxicity of small silver nanoparticles and silver ions to the red blood cells. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018 Nov;25(32):32373-32380.
27. CHUNG PH, WONG CW, LAI CK, SIU HK, TSANG DN, YEUNG KY, IP DK, TAM PK. A prospective interventional study to examine the effect of a silver alloy and hydrogel-coated catheter on the incidence of catheter-associated urinary tract infection. *Hong Kong Med J*. 2017 Jun;23(3):239-45.
28. JAIN AS, PAWAR PS, SARKAR A, JUNNUTHULA V, DYAWANAPELLY S. Bionanofactories for Green Synthesis of Silver Nanoparticles: Toward Antimicrobial Applications. *Int J Mol Sci*. 2021 Nov 5;22(21):11993.
29. KALANTARI K, MOSTAFAVI E, AFIFI AM, IZADIYAN Z, JAHANGIRIAN H, RAFIEE-MOGHADDAM R, WEBSTER TJ. Wound dressings functionalized with silver nanoparticles: promises and pitfalls. *Nanoscale*. 2020 Jan 28;12(4):2268-2291.

30. KOHANSKI MA, DWYER DJ, COLLINS JJ. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nat Rev Microbiol.* 2010 Jun;8(6):423-35.
31. KOURKOUTA L, TSALOGLIDOU A, KOUKOURIKOS K, ILIADIS C, PLATI P, DIMITRIADOU A. History of Antibiotics. *Summerians J Med Healthcare.* 2018 Jan;1(2):51-54.
32. KOVÁCS D, IGAZ N, GOPISETTY MK, KIRICSI M. Cancer Therapy by Silver Nanoparticles: Fiction or Reality? *Int J Mol Sci.* 2022 Jan 13;23(2):839.
33. LANDECKER H. Antibiotic Resistance and the Biology of History. *Body Soc.* 2016 Dec;22(4):19-52.
34. LERMINIAUX NA, CAMERON ADS. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Can J Microbiol.* 2019 Jan;65(1):34-44.
35. LOPEZ-CARRIZALES M, VELASCO KI, CASTILLO C, FLORES A, MAGAÑA M, MARTINEZ-CASTANON GA, MARTINEZ-GUTIERREZ F. In Vitro Synergism of Silver Nanoparticles with Antibiotics as an Alternative Treatment in Multiresistant Uropathogens. *Antibiotics (Basel).* 2018 Jun 19;7(2):50.
36. MALA R, ANNIE AGLIN A, RUBY CELSIA AS, GEERTHIKA S, KIRUTHIKA N, VAZAGAPRIYA C, SRINIVASA KUMAR K. Foley catheters functionalised with a synergistic combination of antibiotics and silver nanoparticles resist biofilm formation. *IET Nanobiotechnol.* 2017 Aug;11(5):612-620.
37. MALÝ J, DOMECKÝ P, SUCHOPÁROVÁ L. Analýza spotřeby antibiotik v České republice a její závěry pro klinickou praxi, *Klin Farmakol Farm* 2021; 35(3): 49–55
38. MARTÍNKOVÁ J. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů. 2., zcela přepracované a doplněné vydání.* Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-247-4157-4.
39. MAY A, KOPECKI Z, CARNEY B, COWIN A. Antimicrobial silver dressings: a review of emerging issues for modern wound care. *ANZ J Surg.* 2022 Mar;92(3):379-384.
40. MCNEILLY O, MANN R, HAMIDIAN M, GUNAWAN C. Emerging Concern for Silver Nanoparticle Resistance in *Acinetobacter baumannii* and Other Bacteria. *Front Microbiol.* 2021 Apr 16;12:652863.

41. MEDICI S, PEANA M, NURCHI VM, ZORODDU MA. Medical Uses of Silver: History, Myths, and Scientific Evidence. *J Med Chem*. 2019 Jul 11;62(13):5923-5943.
42. METTE M, CONNOLLY W, VISHWANATH N, ALLU S, WHITAKER C, STONE BK, ANTOCI V, BORN CT, GARCIA DR. Silver Carboxylate as an Antibiotic-Independent Antimicrobial: A Review of Current Formulations, *in vitro* Efficacy, and Clinical Relevance. *Med Res Arch*. 2022 Dec;10(12):10.18103/mra.v10i12.3388.
43. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (2024). PubChem Compound Summary for CID 23954, Silver. Dostuné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Silver>. (cit. 27. 1. 2023)
44. NEMETH J, OESCH G, KUSTER SP. Bacteriostatic versus bactericidal antibiotics for patients with serious bacterial infections: systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2015 Feb;70(2):382-95.
45. PANÁČEK A, KVÍTEK L, SMÉKALOVÁ M, VEČEŘOVÁ R, KOLÁŘ M, RÖDEROVÁ M, DYČKA F, ŠEBELA M, PRUCEK R, TOMANEC O, ZBOŘIL R. Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. *Nat Nanotechnol*. 2018 Jan;13(1):65-71.
46. PANÁČEK D, HOCHVALDOVÁ L, BAKANDRITSOS A, MALINA T, LANGER M, BELZA J, MARTINCOVÁ J, VEČEŘOVÁ R, LAZAR P, POLÁKOVÁ K, KOLAŘÍK J, VÁLKOVÁ L, KOLÁŘ M, OTYEPKA M, PANÁČEK A, ZBOŘIL R. Silver Covalently Bound to Cyanographene Overcomes Bacterial Resistance to Silver Nanoparticles and Antibiotics. *Adv Sci (Weinh)*. 2021 May 3;8(12):2003090.
47. PASCU B, NEGREA A, CIOPEC M, DAVIDESCU CM, NEGREA P, GHERMAN V, DUTEANU N. New Generation of Antibacterial Products Based on Colloidal Silver. *Materials (Basel)*. 2020 Mar 29;13(7):1578.
48. PERCIVAL SL, SALISBURY AM, CHEN R. Silver, biofilms and wounds: resistance revisited. *Crit Rev Microbiol*. 2019 Mar;45(2):223-237.

49. PERNAS-PLEITE C, CONEJO-MARTÍNEZ AM, FERNÁNDEZ FREIRE P, HAZEN MJ, MARÍN I, ABAD JP. Microalga Broths Synthesize Antibacterial and Non-Cytotoxic Silver Nanoparticles Showing Synergy with Antibiotics and Bacterial ROS Induction and Can Be Reused for Successive AgNP Batches. *Int J Mol Sci*. 2023 Nov 10;24(22):16183.
50. RAOULT D, MOUFFOK N, BITAM I, PIARROUX R, DRANCOURT M. Plague: history and contemporary analysis. *J Infect*. 2013 Jan;66(1):18-26.
51. SERGEEVNA AS, ANATOLEVICH SO, NURCHALLAEVA SG, ALEKSANDROVICH BA, PETROVICH RE, VLADIMIROVICH SS, ALEXEEVNA GM, DIADOROVITCH II. Silver in the meat and organs of broiler chickens in case of using colloidal silver as an alternative to antibiotics. *Biometals*. 2018 Dec;31(6):975-980.
52. SINGH A, SHARMA S, BANERJEE T, PRATAP A, SHUKLA VK. Significant *in-Vitro* and *in-Vivo* Antimicrobial and Antibiofilm Activity of Colloidal Silver Nanoparticles (cAgNPs) in Chronic Diabetic Foot Ulcers. *Int J Low Extrem Wounds*. 2022 Mar 24:15347346221088690.
53. STJERNBRANDT A. Colloidal silver ingestion and severe anemia - A case report. *Toxicol Rep*. 2023 Sep 20;11:270-272.
54. SÚKL. Databáze léků. Dostupné z: <https://www.sukl.cz/vyhledavani-v-databazi-leku> (cit. 26. 1. 2023)
55. ŠIMŮNKOVÁ M. Nedostatek antibiotik na počátku roku 2023. *Remedia*. 2023. Dostupné z: <https://www.remédia.cz/z-novinek/nedostatek-antibiotik-na-pocatku-roku-2023/> (cit. 26. 1. 2023)
56. TAMPA M, SARBU I, MATEI C, BENEÁ V, GEORGESCU SR. Brief history of syphilis. *J Med Life*. 2014 Mar 15;7(1):4-10.
57. TANG S, ZHENG J. Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles: Structural Effects. *Adv Healthc Mater*. 2018 Jul;7(13):e1701503.

58. TERZIOĞLU E, ARSLAN M, BALABAN BG, ÇAKAR ZP. Microbial silver resistance mechanisms: recent developments. *World J Microbiol Biotechnol.* 2022 Jul 12;38(9):158.
59. TRAN PL, LUTH K, WANG J, RAY C, DE SOUZA A, MEHTA D, MOELLER KW, MOELLER CD, REID TW. Efficacy of a silver colloidal gel against selected oral bacteria *in vitro*. *F1000Res.* 2019 Mar 7;8:267.
60. TRIMBLE MJ, MLYNÁRČIK P, KOLÁŘ M, HANCOCK RE. Polymyxin: Alternative Mechanisms of Action and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016 Oct 3;6(10):a025288.
61. UDDIN TM, CHAKRABORTY AJ, KHUSRO A, ZIDAN BRM, MITRA S, EMRAN TB, DHAMA K, RIPON MKH, GAJDÁCS M, SAHIBZADA MUK, HOSSAIN MJ, KOIRALA N. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *J Infect Public Health.* 2021 Dec;14(12):1750-1766.
62. VALENTIN E, BOTTOMLEY AL, CHILAMBI GS, HARRY EJ, AMAL R, SOTIRIOU GA, RICE SA, GUNAWAN C. Heritable nanosilver resistance in priority pathogen: a unique genetic adaptation and comparison with ionic silver and antibiotics. *Nanoscale.* 2020 Jan 28;12(4):2384-2392.
63. VILA DOMÍNGUEZ A, AYERBE ALGABA R, MIRÓ CANTURRI A, RODRÍGUEZ VILLODRES Á, SMANI Y. Antibacterial Activity of Colloidal Silver against Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *Antibiotics (Basel).* 2020 Jan 19;9(1):36.
64. VON WINTERSDORFF CJH, PENDERS J, VAN NIEKERK JM, MILLS ND, MAJUMDER S, VAN ALPHEN LB, SAVELKOUL PHM AND WOLFFS PFG Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Front. Microbiol.* 2016 7:173.
65. MZČR. Výsledky výzkumu jsou jednoznačné: Projekt Antibiotická rezistence.cz zlepšil znalosti české populace o antibioticích a chování k nim. Citováno z: <https://mzd.gov.cz/vysledky-pruzkumu-jsou-jednoznacne-projekt-antibiotickarezistence-cz-zlepsil-znalosti-ceske-populace-o-antibioticich-a-chovani-k-nim/> (cit. 27. 1. 2024)

66. WANG H, YAN A, LIU Z, YANG X, XU Z, WANG Y, WANG R, KOOHI-MOGHADAM M, HU L, XIA W, TANG H, WANG Y, LI H, SUN H. Deciphering molecular mechanism of silver by integrated omic approaches enables enhancing its antimicrobial efficacy in *E. coli*. *PLoS Biol.* 2019 Jun 10;17(6):e3000292.
67. WANG Y, LU J, ENGELSTÄDTER J, ZHANG S, DING P, MAO L, YUAN Z, BOND PL, GUO J. Non-antibiotic pharmaceuticals enhance the transmission of exogenous antibiotic resistance genes through bacterial transformation. *ISME J.* 2020 Aug;14(8):2179-2196.
68. WASILEWSKA A, KLEKOTKA U, ZAMBRZYCKA M, ZAMBROWSKI G, ŚWIĘCICKA I, KALSKA-SZOSTKO B. Physico-chemical properties and antimicrobial activity of silver nanoparticles fabricated by green synthesis. *Food Chem.* 2023 Jan 30;400:133960.
69. WILSON DN. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. *Nat Rev Microbiol.* 2014 Jan;12(1):35-48.
70. WU JJ, ZHANG F, LIU J, YAO HJ, WANG Y. Effect of silver-containing hydrofiber dressing on burn wound healing: A meta-analysis and systematic review. *J Cosmet Dermatol.* 2023 May;22(5):1685-1691.
71. XU L, WANG YY, HUANG J, CHEN CY, WANG ZX, XIE H. Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics.* 2020 Jul 11;10(20):8996-9031.
72. XUE Y, WANG J, HUANG Y, GAO X, KONG L, ZHANG T, TANG M. Comparative cytotoxicity and apoptotic pathways induced by nanosilver in human liver HepG2 and L02 cells. *Hum Exp Toxicol.* 2018 Dec;37(12):1293-1309.
73. YAN K, XU F, WEI W, YANG C, WANG D, SHI X. Electrochemical synthesis of chitosan/silver nanoparticles multilayer hydrogel coating with pH-dependent controlled release capability and antibacterial property. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2021 Jun;202:111711.
74. ZHAO X, DRLICA K. Reactive oxygen species and the bacterial response to lethal stress. *Curr Opin Microbiol.* 2014 Oct;21:1-6.

## SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Laserová ablace (Alheshibri. 2023- upraveno) .....	13
Obrázek 2 "Zelená-syntéza" nanočástic (Jain et al. 2021- upraveno) .....	14
Obrázek 3 Vliv stříbrných nanočástic na mikroorganismus (Jain et al. 2021- upraveno).....	15
Obrázek 4 Inhibice biofilmu streptokoků (Tran et al. 2019- upraveno).....	17
Obrázek 5 Účinek ATB na bakteriální buňku (Uddin et al. 2021- upraveno).....	20
Obrázek 6 Horizontální formy přenosu genů rezistence (von Wintersdorff et al.- upraveno) .	26
Obrázek 7 Možnosti kombinované rezistence (McNeilly et al. 2021- upraveno) .....	32
Obrázek 8 Organová toxicita stříbra (Xu et al. 2020- upraveno) .....	34



## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Odvětví využívající stříbro (PubChem. 2024).....	11
Tabulka 2 MIC skupiny "ESKAPE" (Vila Domíngues et al. 2020).....	18
Tabulka 3 Vybraná antibiotika a jejich mechanismy účinku (zpracováno z dat SÚKL) .....	22
Tabulka 4 Patologické hodnoty vyšetření krve při příjmu pacientky (Stjernbrandt. 2023) .....	35