

## Silver nanoparticles as antibiotics: bactericidal effect, medical applications and environmental risks.

Nanopartículas de plata como antibióticos: efecto bactericida, aplicaciones médicas y riesgos medioambientales.

Marcet, E.; Medell, M.; Marcet, M.  
[marcet.henry@gmail.com](mailto:marcet.henry@gmail.com)

December 1, 2016

### Abstract

**Resumen:** Las nanopartículas de plata (Ag-NPs) se encuentran entre los nanomateriales con más aplicaciones médicas debido principalmente a su efecto antimicrobiano, resonancia plasmón y la posibilidad de impregnarlas en materiales poliméricos. Recientemente han sido utilizadas en sistemas de tratamiento de aguas, catéteres venosos centrales, vendaje para pacientes quemados, así como en la fabricación de biosensores para la detección de los niveles de la proteína p53 asociada al desarrollo de carcinomas. Por otra parte, las Ag-NPs han sido estudiadas por ser potencialmente peligrosas para el ser humano y el medio ambiente, donde son transformadas bajo las condiciones de los ecosistemas, pudiendo aumentar incluso su agresividad. El objetivo del siguiente artículo es investigar el estado actual del conocimiento acerca del efecto bactericida de las Ag-NPs, los principales métodos de obtención, sus aplicaciones basadas en su capacidad antibiótica, así como las transformaciones medioambientales que las mismas sufren y su impacto sobre el hombre.

**Palabras clave:** nanopartículas, plata, nanotecnología, antibiótico, medicina

**Abstract:** Silver nanoparticles (Ag-NPs) are among the most medical applications nanomaterials mainly due to its antimicrobial effect, plasmon resonance and its capacity to impregnate polymeric materials. Recently Ag-NPs have been used in water treatment systems, central venous catheters, burn dressing, as well as in biosensors for detecting levels of p53 protein associated with cancer development. Moreover, the Ag-NPs have been studied for being potentially dangerous to humans and environment. Ag-NPs are transformed under the ecosystems conditions and may even increase their aggressiveness. The aim of this paper is to investigate the current state of knowledge about the bactericidal effect of Ag-NPs, the main synthesis methods, its application based on antibiotic capacity, Ag-NPs environmental transformations and their impact on the human.

**Keyword:** nanoparticles, silver, nanotechnology, antibiotic, medicine

## Introducción

### 1.1 Antecedentes

La nanotecnología y las nanopartículas poseen extrema importancia por sus aplicaciones potenciales en ingeniería aeroespacial, nano-electrónica, remediación ambiental, medicina, entre otras<sup>1,2</sup>. De acuerdo con CEN ISO/TS 27687:2009 una nanopartícula es una partícula intencionalmente manufacturada, en la cual al menos dos dimensiones se encuentran en el intervalo 1-100 nm.

Las nanopartículas de plata (Ag-NPs) poseen una amplia gama de aplicaciones en productos como dispositivos de desinfección, de tratamiento de aguas<sup>3,4</sup>, biosensores (debido a la resonancia plasmón)<sup>5,6</sup>, así como las importantísimas aplicaciones en el tratamiento de enfermedades que requieren mantenimiento de concentraciones de fármacos o selección de células específicas u órganos<sup>7,8</sup>. Se han explorado los potenciales de las Ag-NPs (biológicamente sintetizadas) sobre ascitis del linfoma de Dalton en vitro y en vivo<sup>9</sup>, y basado en la resonancia plasmón de las Ag-NPs, se han desarrollado biosensores para la detección de los niveles de la proteína p53 (proteína asociada al desarrollo de carcinomas)<sup>10</sup>.

El desarrollo de nuevas cepas de bacterias resistentes a los antibióticos comunes produce serios problemas en cuestiones de salud pública, lo cual es un fuerte incentivo para el desarrollo de nuevos bactericidas<sup>11,12</sup>. De los diferentes tipos de nanomateriales como cobre, zinc, titanio<sup>13</sup>, magnesio, oro y plata, es precisamente esta última la que mayor efecto antimicrobiano y antiviral muestra<sup>14</sup>.

La incorporación de Ag-NPs en las estructuras poliméricas resulta atractiva en dispositivos médicos, fibras sintéticas, artículos especiales de plástico, pinturas, tintas, etc.<sup>15</sup>. Las superficies sólidas proveen a los microbios de un ambiente favorable para crecer y extenderse por las mismas. La impregnación de nanopartículas en las matrices poliméricas permite combatir este fenómeno de forma controlada, lo que ha dado lugar a un gran número de aplicaciones que abarcan desde la industria textil (por ejemplo: la fabricación de telas bactericidas) hasta la producción de polímeros con el objetivo de recubrir superficies, lo que resultan de especial interés en la medicina<sup>15,16</sup>.

Las Ag-NPs son transformadas en el medio ambiente, donde se modifican sus propiedades y se afecta su transporte, destino y toxicidad. A pesar de sus potenciales aplicaciones bactericidas y médicas, recientemente ha sido foco de intensa investigación los riesgos potenciales que estas poseen para los humanos y otros organismos biológicos<sup>17-25</sup>. La toxicidad de las Ag-NPs ha sido demostrada en muchos estudios recientes. Por ejemplo: ha sido observada toxicidad en plantas acuáticas (*Lemna minor*)<sup>26,27</sup> y terrestres (*Lolium multiflorum*)<sup>28</sup>, algas y hongos<sup>20</sup>; también en vertebrados (pez cebra)<sup>29</sup>, invertebrados (*Caenorhabditis elegans*)<sup>30,31</sup>, microorganismos (*Escherichia coli*<sup>12,32</sup>, *Pseudomonas putida*<sup>33</sup>) y células humanas<sup>34,35</sup>. Por otra parte, existe una larga lista de estudios que revela el impacto negativo de las Ag-NPs sobre los humanos y el medio ambiente<sup>17-25</sup>; también de cómo influyen las transformaciones

medio ambientales en la toxicidad de estas<sup>36</sup>.

## 1.2 Objetivos

Los objetivos de este artículo son:

- Investigar el estado actual del conocimiento acerca de las Ag-NPs, específicamente sobre el efecto bactericida, mecanismos de acción y principales métodos de obtención de las mismas.
- Investigar el estado actual del conocimiento acerca de las principales aplicaciones médicas de las Ag-NPs basadas en su capacidad bactericida.
- Investigar el estado actual del conocimiento acerca de los efectos negativos de las Ag-NPs para el medio ambiente y el hombre.

## Metodología

Este artículo está basado en una extensa revisión de literatura publicada en el período: 1993-2016. La literatura seleccionada consiste fundamentalmente en publicaciones científicas y patentes, aunque también en libros e información proveniente de conferencias.

## 2. Nociones del mecanismo bactericida de Ag-NPs

Es muy conocido que la plata exhibe alta toxicidad frente un gran número de microorganismos, por esta razón los compuestos basados en plata son usados de manera extensa en muchas aplicaciones bactericidas<sup>37-41</sup>. A pesar de ser bien conocido el efecto bactericida de los iones de plata sobre los microorganismos, el mecanismo de este efecto es solo parcialmente entendido. Se ha planteado que los iones de plata interactúan fuertemente con los grupos tiol de enzimas vitales (in-

volucradas en la respiración celular) inactivándolas<sup>42,43</sup>. La evidencia experimental sugiere que el ADN pierde su capacidad de replicación una vez ha sido tratado con iones de plata<sup>44</sup>. Otros estudios han probado la existencia de cambios estructurales en las membranas de las células así como la formación de pequeños y densos gránulos de plata y sulfuro<sup>44,45</sup>.

Estudios recientes han demostrado la alta efectividad de las Ag-NPs frente a las bacterias Gram-negativa *E. coli*, *V. cholera*, *P. aeruginosa* y *S. typhus*<sup>46</sup>. El mecanismo mediante el cual las nanopartículas pueden penetrar las bacterias no es totalmente comprendido, para el caso del *E. coli* tratado con Ag-NPs, ha sido reportado que los cambios creados en la morfología de la membrana pueden producir un significativo incremento en la permeabilidad de la misma<sup>12</sup>. En otros estudios se han observado un considerable número de Ag-NPs en el interior de las bacterias lo cual puede ser explicado por las transformaciones ocurridas en la membrana<sup>46</sup>.

La observación de Ag-NPs adjuntas a la membrana de la célula y en el interior de la misma es fundamental para comprender el mecanismo bactericida<sup>46</sup>. Ha sido establecido por la teoría de ácidos y bases fuertes y débiles que la plata tiende a tener alta afinidad a reaccionar con compuestos de fósforo y sulfuro<sup>47,48,49</sup>. La membranas bacterianas poseen muchas proteínas con sulfuro, por lo que estas podrían ser sitios preferenciales para las Ag-NPs, por otra parte, en el interior de las células las Ag-NPs pueden reaccionar con otras proteínas que contienen sulfuro y compuestos

contenedores de fósforo (el ADN por ejemplo)<sup>44</sup>. Las fuerzas electrostáticas pueden ser una causa adicional de interacción de las nanopartículas con las bacterias. Ha sido reportado en la literatura que toda la superficie de las bacterias se encuentra negativamente cargada debido a la disociación de un gran número de grupos carboxílicos (y otros) en la membrana de la célula<sup>50</sup>.

El efecto bactericida de las Ag-NPs depende considerablemente del tamaño, la morfología y la concentración de las mismas en el medio donde se encuentran las bacterias. Las pequeñas partículas metálicas (  $5nm$ ) presentan efectos que son definidos como cambios en la estructura electrónica local de la superficie debido al tamaño. Se ha reportado que estos efectos aumentan la reactividad de la superficie de la nanopartícula<sup>51</sup>. Adicionalmente, es posible decir que los efectos nanopartículas-bacteria dependen del área superficial de interacción. Un alto porcentaje de la superficie tendrá interacción directa preferiblemente con partículas pequeñas que con aquellas de mayor tamaño. Estas razones pueden explicar la presencia de una gran cantidad de partículas con tamaños entre 1-10 nm (adjuntas a la membrana celular) en los estudios de Morones y colaboradores<sup>46</sup>.

### 3. Principales métodos de obtención de Ag-NPs

Existen muchos procedimientos descritos en la literatura para la obtención de Ag-NPs, los que abarcan métodos físicos, químicos y biológicos. Los métodos químicos y físicos son muchos en cuanto al número, dentro de los que destacan algunos por ser extremadamente caros<sup>12</sup>.

La producción de nanopartículas en cuanto a procesos químicos y físicos se refiere puede ser clasificada de dos formas: métodos de *arriba hacia abajo* y de *abajo hacia arriba*. Los métodos de *arriba hacia abajo* envuelven los procesos de división de sólidos másicos (evaporación térmica, depósito químico en fase de vapor, etc.), seguido del uso de agentes protectores coloidales<sup>52-54</sup>. Por otra parte, los métodos de *abajo hacia arriba* incluyen el método coloidal, la reducción fotoquímica y radioquímica, la irradiación con microondas, entre otros<sup>55-59</sup>.

El efecto plasmón posee un rol muy importante en la determinación del espectro de absorción de nanopartículas metálicas, moviéndose a longitudes de ondas mayores con el incremento del tamaño de la partícula. Un menor tamaño de las nanopartículas implica que estas tienen un área superficial mayor para *contactar* con las células bacterianas, lo que implica un mayor porcentaje de interacción con respecto a las partículas de mayor tamaño<sup>60</sup>.

La eficiencia antimicrobiana de las nanopartículas depende de las formas de las mismas; esto ha sido confirmado en estudios de inhibición del crecimiento bacteriano utilizando nanopartículas con diferentes formas. Según Pal y colaboradores<sup>61</sup> las nanopartículas triangulares truncadas muestran inhibición bacteriana con solamente  $1 \mu g$ , mientras que en el caso de partículas esféricas  $12.5 \mu g$  son necesarios para lograr el mismo efecto.

Con el decrecimiento del tamaño de las nanopartículas (y el consecuente

aumento del área superficial específica) se produce un incremento en la energía superficial de dichas nanopartículas, lo que facilita su agregación. Consecuentemente, después de su crecimiento hasta el tamaño deseado, es necesario estabilizar la superficie de las nanopartículas adicionando agentes dispersantes<sup>62</sup>. Estos agentes químicos (por ejemplo: citrato de sodio) sobre la superficie de las nanopartículas generan fuerzas repulsivas entre partículas (electrostáticas, estéricas o electroestéricas) favoreciendo la resistencia a la agregación. Una comparación de Ag-NPs estabilizadas solo por fuerzas electrostáticas con Ag-NPs estabilizadas por fuerzas estéricas y electroestéricas mostró mejores resultados para estas últimas<sup>63</sup>.

En los últimos años se han reportado un gran número de métodos de producción de Ag-NPs que poseen significativa importancia por ser operacionalmente simples y viables económicamente<sup>64–82</sup>.

### 3.1 Métodos de síntesis por reducción de una sal de plata

Los métodos de síntesis de Ag-NPs por reducción de sales de plata varían en cuanto a la concentración de la sal, tipo y concentración de agente reductor y estabilizante, tiempo y temperatura de reacción, etc.<sup>65</sup>. Por ejemplo: Banach y Pult lograron la síntesis de Ag-NPs con tamaños inferiores a los 10 nm mediante reducción química a elevadas presiones utilizando nitrato de plata ( $AgNO_3$ ), gelatina (estabilizante) y ácido ascórbico (agente reductor) en un reactor 4525 PARR64. A presiones de 138000 Pa (presión manométrica) y 130 °C (tiempo de reacción de 2 a 30 min) obtuvieron Ag-NPs con tamaños

entre los 5.1 y 8.2 nm con formas esféricas y elipsoidales.

Cyril y Howie obtuvieron Ag-NPs altamente estables utilizando  $AgNO_3$  y citrato de litio como agente reductor y estabilizante. Las soluciones de nanopartículas obtenidas presentaron alta estabilidad durante los primeros 5 meses de almacenamiento en recipientes de vidrio y materiales poliméricos como polietileno, polipropileno y tereftalato de polietileno. El tamaño de las Ag-NPs oscila entre los 4 - 4.5 nm con un número significativamente pequeño de partículas que superan los 11 nm. Estas Ag-NPs sintetizadas con citrato de litio son especialmente útiles para espectroscopía Raman<sup>66</sup>.

Mousa y Linhardt obtuvieron nanopartículas por la reducción de  $AgNO_3$  utilizando glucosa, heparina, hialuronano (HA) y DAPHP<sup>68</sup>. Las Ag-NPs-HA mostraron una gran actividad antimicrobiana comparada con Ag-NPs-DAPHP frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* a concentraciones de 1  $\mu M$ . Sin embargo, Ag-NPs-glucosa frente a las mismas especies mostró un porcentaje de inhibición que no supera el 10%.

### 3.2 Métodos biológicos de síntesis

Otros importante avance es la síntesis de Ag-NPs utilizando agentes biológicos (hongo *Verticillium*<sup>70</sup>, *Sargassum wightii*<sup>71</sup>, *Pseudomonas stutzeri*<sup>72</sup>, *Aspergillus flavus*<sup>73</sup>, *Volvariella volvacea*<sup>74</sup>, Yeast strain MKY375). Estos microorganismos realizan la síntesis de las Ag-NPs de forma intracelular (por ejemplo: *Aspergillus flavus* y *Pseudomonas stutzeri*) y extracelular (por ejemplo: *Sargassum wightii*

y *Volvariella volvacea*). Las Ag-NPs sintetizadas poseen formas específicas (esferoide, hexagonales, esféricas, etc.). Estos microorganismos poseen la habilidad de utilizar sus procesos bioquímicos para transformar los iones  $Ag^+$  en nanopartículas metálicas<sup>85</sup>.

La biosíntesis de Ag-NPs utilizando plantas como *Aloe vera*<sup>77</sup> (obteniéndose Ag-NPs esféricas y triangulares de 50-350 nm), *Camelia sinensis*<sup>78</sup> (Ag-NPs esféricas, triangulares e irregulares de 30-40 nm) y otras<sup>79,80</sup>, resulta ventajosa sobre la síntesis utilizando microorganismos, ya que se evitan las preparaciones de cultivos y la aplicación de técnicas de separación que tienden a ser procedimientos costosos<sup>81</sup>. La biosíntesis ocurre gracias al potencial que poseen estas plantas de reducir biológicamente iones metálicos ( $Ag^+$  en este caso)<sup>82</sup>. La biosíntesis de Ag-NPs basada en plantas se realiza mediante técnicas relativamente sencillas por lo que puede ser fácilmente escalada para la producción industrial de nanopartículas<sup>81</sup>.

#### 4. Aplicación de Ag-NPs basadas en su capacidad bactericida

##### 4.1 Aplicación en materiales textiles

Los materiales textiles (MT) que contienen Ag-NPs constituyen la mayor forma de comercio de los nanomateriales funcionales<sup>83</sup>. Los MT y plásticos contenedores de Ag son considerados como una de las principales fuentes de este metal en el medio ambiente<sup>84</sup>. Las Ag-NPs pueden ser insertadas en el interior o sobre la superficie de los MT. El método de preparación puede afectar la durabilidad de la funcionalidad de las Ag-NPs y el potencial para liberar nanopartícu-

las y/o iones en el medio<sup>85</sup>.

Recientemente, Tofail y colaboradores propusieron metodologías para la aplicación de nanopartículas con propiedades bactericidas en MT como rayón de celulosa, acetato de celulosa, poliéster, poliamida, poliuretano, acrílico, olefinas, etc., así como combinaciones de los mismos. Parte importante de la metodología es la aplicación de las nanopartículas en una sola cara del material, lo que resulta de suma importancia por su aplicación en MT utilizados en hospitales (por ejemplo: gasas y vendajes usados en pacientes quemados).<sup>21,16</sup>

##### 4.2 Aplicación en dispositivos portables de tratamiento de aguas contaminadas

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), al menos un billón de personas en el mundo no posee acceso a fuentes de agua limpias y potables<sup>86</sup>. La amenaza más grande contenida en el agua para la salud humana es la contaminación bacteriana en fuentes de aguas destinadas al consumo humano, provocando enfermedades como gastritis, cólera, gastroenteritis, etc.<sup>87</sup> Recientemente ha surgido considerable interés en el uso de la nanotecnología para la desinfección de agua.<sup>88</sup>

Por ejemplo: Dankovich y Gray desarrollaron un papel bactericida impregnado con Ag-NPs para su uso en el tratamiento de agua, mostrando una reducción máxima de 107.5 UFC/ml para *E. coli* (c[Ag-NPs] de 6 mg/g de papel) y de 103.4 UFC/ml para *E. faecalis* (c[Ag-NPs] de 2.4 mg/g de papel). El análisis del efluente mostro concentraciones de 0.0475 ( $\pm 0.0177$ ) ppm lo que no supera los límites de la OMS referidos al contenido de plata

en agua potable.<sup>89</sup>

#### 4.3 Aplicación en implantes y otros dispositivos médicos

Las infecciones son una causa bien conocida de los implantes. Aproximadamente 3 millones de catéteres venosos centrales (CVC) son insertados cada año en Estados Unidos de América, resultando en 850 000 infecciones de las cuales aproximadamente el 20 son serias, con una tasa de mortalidad de hasta 28.90,91 Furno y colaboradores estudiaron las potencialidades (in vitro) de Ag-NPs en dispositivos médicos poliméricos utilizados en implantes<sup>92</sup> basándose en la utilización de dióxido de carbono supercrítico, lo que permite fabricar mejores biomateriales antimicrobianos<sup>93</sup>.

Acticoat® es el primer vendaje para heridas comercial constituido por dos capas de membranas poliamida ester cubierto con plata nano-cristalina. Este reduce la frecuencia de la aparición de sepsis en quemaduras e infecciones secundarias.<sup>94,95</sup>

Choi y Lee crearon un método para la preparación de compuestos polímeros-AgNPs donde las Ag-NPs son uniformemente incorporadas al polímero con el objetivo de maximizar el efecto antibacteriano, sin el deterioro de las propiedades y funciones del polímero. La metodología consiste en la introducción del polímero pre-calentado en una solución de Ag-NPs y la posterior agitación y extrusión de la mezcla, proporcionando la posibilidad de fabricación de materiales poliméricos antibacterianos de especial interés para el desarrollo de dispositivos médicos más avanzados.<sup>15</sup>

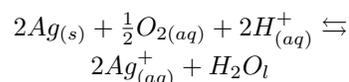
## 5. Nociones sobre las transformaciones de Ag-NPs en el medio ambiente y su impacto sobre el hombre

La producción y utilización de las Ag-NPs ha traído como consecuencia una creciente preocupación acerca del impacto de las mismas sobre el medio ambiente y el hombre.<sup>36,96</sup>

### 5.1 Transformaciones de las Ag-NPs en el medio ambiente

El comportamiento de las Ag-NPs en una solución es difícil de analizar debido a la complejidad química de Ag en soluciones acuosas.<sup>97,98,99</sup> La oxidación de la plata es favorecida termodinámicamente a temperatura ambiente ( $G_{298}^0 = -11.25$  kJ/mol).<sup>36</sup> Cuando las Ag-NPs son expuestas a medios oxigenados, una capa de  $Ag_2O$  se forma sobre la superficie de las Ag-NPs. La disolución de la capa de  $Ag_2O$  formada trae como consecuencia la liberación de cationes  $Ag^+$ .<sup>99,100</sup>

La solubilidad de iones  $Ag^+$  (en presencia de  $O_2$  disuelto) aumenta con la disminución del pH, demostrando la importancia de los protones<sup>110</sup>. La siguiente ecuación ha sido propuesta para la disolución de  $Ag^+$  en una medios aeróbicos simples<sup>36</sup>:



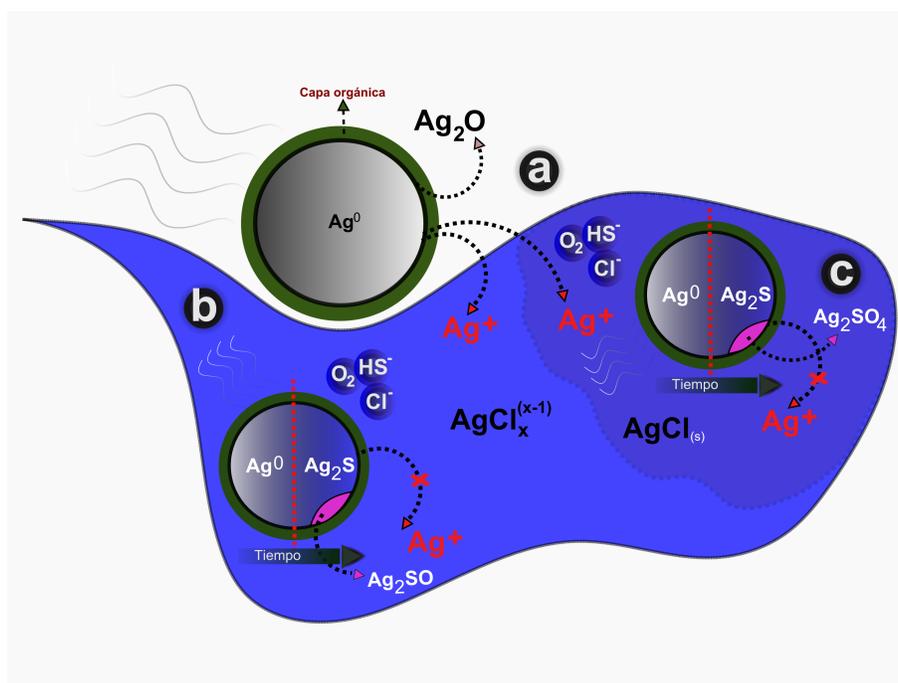
Una vez oxidada,  $Ag^+$  tiende a reaccionar con bases suaves (bases de Lewis) como compuestos de sulfuro (formándose  $Ag_2S$ ), con una constante del producto de solubilidad (Kps) muy baja ( $Kps = 5.92 \times 10^{-51}$ ).<sup>101</sup> Este compuesto de sulfuro y plata, al

tener una solubilidad muy baja, resulta menos peligroso para el medio ambiente.

La formación de  $Ag_2S$  ocurre tanto en aguas dulces como en los mares, pudiéndose deber a la alta solubilidad de  $H_2S$  en aguas y el consecuente aumento de la probabilidad de contacto entre el  $H_2S$  y las Ag-NPs.<sup>36,102-104</sup>

Otra formación probable es la del com-

puesto  $AgCl$  ( $Kps = 1.77 \times 10^{-10}$ ), principalmente en aguas dulces, ya que a mayores concentraciones de  $Cl^-$  pueden formarse compuestos cargados negativamente como  $AgCl_2^-$ ,  $AgCl_3^{2-}$  y  $AgCl_4^{3-}$ , posiblemente aumentando la toxicidad frente a bacterias<sup>36</sup> (Figura 1).



**Figura 1.** Representación del comportamiento de Ag-NPs en el medio ambiente. a) Ag-NPs recientemente sintetizada, b) Ag-NPs en agua de mar, c) Ag-NPs en agua dulce.

También es posible la formación de compuestos de plata y especies orgánicas de sulfuro como Ag-cisteína con alta estabilidad termodinámica<sup>105</sup>. La sulfidación en las Ag-NPs (formación de  $Ag_2S$ ) ha sido observada por producir una dramática reducción en

los efectos antibacterianos debido a la poca solubilidad que posee  $Ag_2S$ , sin embargo, debe tenerse en cuenta la posible oxidación de las  $Ag_2S$ -NPs y la transformación microbiana en  $Ag_2SO_4$  (Figura 1), ya que este es considerablemente más soluble que

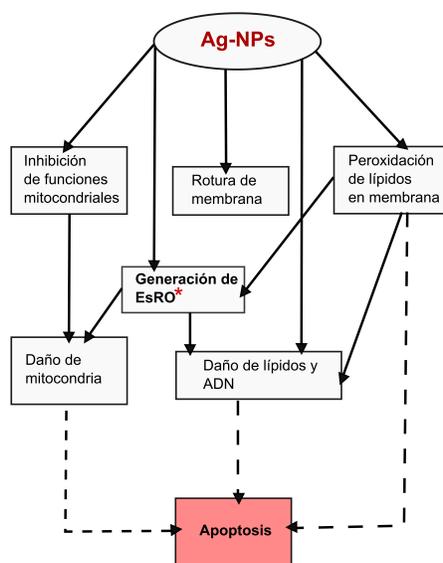
$Ag_2S$  ( $K_{ps} = 1.2 \times 10^{-5}$  y  $5.9 \times 10^{-5}$  respectivamente) y por consiguiente potencialmente peligrosa en el medio ambiente<sup>36</sup>.

### 5.2 Nociones del efecto de las Ag-NPs sobre el hombre

Estudios recientes han demostrado que las Ag-NPs pueden inducir toxicidad en células pertenecientes a una gran variedad de órganos. Ag-NPs de 15 nm (sin capa estabilizante) demostraron reducir funciones mitocondriales en células de ratón C18-4.<sup>106</sup> En carcinomas humanos de piel (A431)

y fibrosarcomas humanos (HT-1080), Ag-NPs entre 720 nm, redujeron la viabilidad de las células, provocaron estrés oxidativo y fragmentación del ADN<sup>107</sup>.

Algunos de los posibles mecanismos de toxicidad de las Ag-NPs son los daños provocados por estas en las mitocondrias, evitando el desarrollo de la cadena de respiración mitocondrial y provocando la interrupción de la síntesis de ATP<sup>35</sup>. Los mecanismos inductores de toxicidad propuestos se muestran en Fig.2<sup>108</sup>.



**Figura 2.** Posibles mecanismos por el cual las Ag-NPs provocan toxicidad. \*Especies reactivas de oxígeno.

Las exposiciones a altos niveles de Ag-NPs son causa de toxicidad significativa en órganos como los pulmones, el hígado y el cerebro. Por ejemplo: algunos experimentos utilizando diferentes nanopartículas sug-

ieren que las nanopartículas inhaladas poseen una alta probabilidad de depositarse en la mucosa olfativa en la región nasofaríngea y seguidamente ser trasladadas al cerebro por la vía del nervio olfatorio.<sup>109,110</sup> Estos tipos de

estudios, nos proveen de un modelo de exposición referido a todo el cuerpo. La distribución de las nanopartículas luego de la inhalación e ingestión, requiere de extensivas investigaciones referidas a la cinética de distribución y la progresión de la toxicidad.<sup>108,111</sup>

### 6. Investigaciones necesarias

Algunos de los principales objetivos de futuras investigaciones deben ser el esclarecimiento de los mecanismos de toxicidad contra bacterias y células de distinto origen. Aquellas investigaciones referidas a aplicaciones específicas de las Ag-NPs, deben estudiar las rutas mediante las que Ag-NPs se incorporarán al medio ambiente (según la aplicación específica) y las transformaciones que estas sufrirán en di-

cho recorrido, siendo el objetivo final la obtención de un modelo completo referido al comportamiento de las Ag-NPs en el medio ambiente. Otra dirección importante en el desarrollo de investigaciones es la obtención de Ag-NPs con mayor control de los tamaños y formas, así como la incorporación de aspectos ingenieriles que permitan abaratar los costos de producción de estos nanomateriales. Es importante que las futuras investigaciones y esfuerzos en el desarrollo de dispositivos basados en Ag-NPs realicen un vínculo más realístico entre las ventajas de las nuevas tecnologías y los daños que estas pueden ocasionar al medio ambiente y al hombre, lo que contribuiría a la perfección y desarrollo de tecnologías más limpias.

### Referencias

1. Gerber CLang H. How the doors to the nanoworld were opened. *Nature Nanotech.* 2006;1(1):3-5.
2. Singh N, Manshian B, Jenkins G, Griffiths S, Williams P, Maffei T et al. NanoGenotoxicology: The DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials.* 2009;30(23-24):3891-3914.
3. Vigneshwaran N, Kathe A, Varadarajan P, Nachane R, Balasubramanya R. Functional Finishing of Cotton Fabrics Using Silver Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology.* 2007;7(6):1893-1897.
4. Tolaymat T, El Badawy A, Genaidy A, Scheckel K, Luxton T, Suidan M. An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Science of The Total Environment.* 2010;408(5):999-1006.
5. Dubas ST, Pimpan V. Humic acid assisted synthesis of silver nanoparticles and its application to herbicide detection. *Materials Letters.* 2008;62(17-18):2661-2663.

6. Schrand A, Braydich-Stolle L, Schlager J, Dai L, Hussain S. Can silver nanoparticles be useful as potential biological labels?. *Nanotechnology*. 2008;19(23):235104.
7. Moghimi SM, Hunter AC, Murray JC. Long-circulating and target-specific nanoparticles: theory to practice. *Pharmacol Rev* 2001;53:283-318.
8. Panyam J, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2003;55(3):329-47.
9. Sangiliyandi G. Antitumor activity of silver nanoparticles in Dalton lymphoma ascites tumor model. *International Journal of Nanomedicine*. 2010:753.
10. Zhou W. A label-free biosensor based on silver nanoparticles array for clinical detection of serum p53 in head and neck squamous cell carcinoma. *International Journal of Nanomedicine*. 2011:381.
11. Kyriacou S, Brownlow W, Xu X. Using Nanoparticle Optics Assay for Direct Observation of the Function of Antimicrobial Agents in Single Live Bacterial Cells. *Biochemistry*. 2004;43(1):140-7.
12. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2004;275(1):177-182.
13. Schabes-Retchkiman P, Canizal G, Herrera-Becerra R, Zorrilla C, Liu H, Ascencio J. Biosynthesis and characterization of Ti/Ni bimetallic nanoparticles. *Optical Materials*. 2006;29(1):95-9.
14. Gong P, Li H, He X, Wang K, Hu J, Tan W et al. Preparation and antibacterial activity of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Ag nanoparticles. *Nanotechnology*. 2007;18(28):604-11.
15. Choi GB, Lee JH, inventors; Method for the preparation of silver nanoparticles-polymer composite. WO Patent 2005085339A1, 2005.
16. Tofail S, et al. Embedding nanoparticles in thermoplastic polymers. WO Patent 2012127326A1, 2012.
17. Ratte H. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 1999;18(1):89-108.

18. Quadros Marr L. Environmental and Human Health Risks of Aerosolized Silver Nanoparticles. *Journal of the Air and Waste Management Association*. 2010;60(7):770-781.
19. Panyala NR, Pena-Mendez EM, Havel, J. Silver or silver nanoparticles: a hazardous threat to the environment and human health? *J. Appl. Biomed*. 2008;6(3),117-129.
20. Navarro E, Baun A, Behra R, Hartmann N, Filser J, Miao A, et al. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology*. 2008;17(5):372-386.
21. Marambio-Jones C, Hoek E. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *Journal of Nanoparticle Research*. 2010;12(5):1531-1551.
22. Luoma, S. N. *Silver nanotechnologies and the environment: old problems or new challenges*; Washington, DC, 2008.
23. Klaine S, Alvarez P, Batley G, Fernandes T, Handy R, Lyon D et al. Nanomaterials in the environment: Behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2008;27(9):1825-1851.
24. Khaydarov RR, et al. Silver Nanoparticles Environmental and Human Health Impacts. *Nanomaterials: Risks and Benefits 2009*, 287-297.
25. Fabrega J, Luoma S, Tyler C, Galloway T, Lead J. Silver nanoparticles: Behaviour and effects in the aquatic environment. *Environment International*. 2011;37(2):517-531.
26. Navarro E, Piccapietra F, Wagner B, Marconi F, Kaegi R, Odzak N et al. Toxicity of Silver Nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*. *Environmental Science and Technology*. 2008;42(23):8959-8964.
27. Gubbins E, Batty L, Lead J. Phytotoxicity of silver nanoparticles to *Lemna minor* L. *Environmental Pollution*. 2011;159(6):1551-1559.
28. Yin LY, et al. More than the Ions: The Effects of Silver Nanoparticles on *Lolium multiflorum*. *Environ.Sci. Technol*. 2011, 45 (6), 2360-2367.
29. Asharani P, Lian Wu Y, Gong Z, Valiyaveetil S. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. *Nanotechnology*. 2008;19(25):255102.

30. Roh J, et al. Ecotoxicity of Silver Nanoparticles on the Soil Nematode *Caenorhabditis elegans* Using Functional Ecotoxicogenomics. *Environmental Science and Technology*. 2009;43(10):3933-3940.
31. Meyer J, Lord C, Yang X, Turner E, Badireddy A, Marinakos S et al. Intracellular uptake and associated toxicity of silver nanoparticles in *Caenorhabditis elegans*. *Aquatic Toxicology*. 2010;100(2):140-150.
32. Dror-Ehre A, Mamane H, Belenkova T, Markovich G, Adin A. Silver nanoparticle-*E. coli* colloidal interaction in water and effect on *E. coli* survival. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2009;339(2):521-526.
33. Fabrega J, Renshaw J, Lead J. Interactions of Silver Nanoparticles with *Pseudomonas putida* Biofilms. *Environmental Science and Technology*. 2009;43(23):9004-9009.
34. Lu W, Senapati D, Wang S, Tovmachenko O, Singh A, Yu H et al. Effect of surface coating on the toxicity of silver nanomaterials on human skin keratinocytes. *Chemical Physics Letters*. 2010;487(1-3):92-96.
35. Asharani P, Mun GLK, Hande M, Valiyaveetil S. Cytotoxicity and Genotoxicity of Silver Nanoparticles in Human Cells. *ACS Nano*. 2009;3(2):279-290.
36. Levard C, Hotze E, Lowry G, Brown G. Environmental Transformations of Silver Nanoparticles: Impact on Stability and Toxicity. *Environmental Science and Technology*. 2012;46(13):6900-6914.
37. Murray R, Steed P, Elson H. The location of the mucopeptide in sections of the cell wall of *Escherichia coli* and other gram-negative bacteria. *Can J Microbiol*. 1965;11(3):547-560.
38. Shockman GD, Barren J. Structure, Function, and Assembly of Cell Walls of Gram-Positive Bacteria. *Annual Review of Microbiology*. 1983;37(1):501-527.
39. Liao S, Read D, Pugh W, Furr J, Russell A. Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterial action of silver ions. *Letters in Applied Microbiology*. 1997;25(4):279-283.
40. Nomiya K, et al. Synthesis and structural characterization of silver(I), aluminium (III) and cobalt (II) complexes with 4-isopropyltropolone (hinokitiol) showing noteworthy biological activities. Action of silver(I)-oxygen bonding complexes on the antimicrobial activities. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2004;98(1):46-60.

41. Gupta A, Silver S. Molecular Genetics: Silver as a biocide: Will resistance become a problem?. *Nat Biotechnol.* 1998;16(10):888-888.
42. Matsumura Y, Yoshikata K, Kunisaki S, Tsuchido T. Mode of Bactericidal Action of Silver Zeolite and Its Comparison with That of Silver Nitrate. *Applied and Environmental Microbiology.* 2003;69(7):4278-4281.
43. Gupta A, Maynes M, Silver S. Effects of halides on plasmid-mediated silver resistance in *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol* 1998;64:5042-5
44. Feng Q, Wu J, Chen G, Cui F, Kim T, Kim J. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Biomedical Materials Research.* 2000;52(4):662-8.
45. Nover L, Scharf K, Neumann D. Formation of cytoplasmic heat shock granules in tomato cell cultures and leaves. *Molecular and Cellular Biology.* 1983;3(9):1648-1655.
46. Morones J, Elechiguerra J, Camacho A, Holt K, Kouri J, Ramírez J et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology.* 2005;16(10):2346-2353.
47. Hatchett DW, Henry S. Electrochemistry of Sulfur Adlayers on the Low-Index Faces of Silver. *The Journal of Physical Chemistry.* 1996;100(23):9854-9859.
48. J.M. Savant J. *Electroanal. Chem.*, 112 (1980) 175-188. *Journal of Electroanalytical Chemistry.* 1983;143(1-2):447. 48. [22] Vitanov T and Popov A 1983 *J. Electroanal. Chem.* 159:437-41
49. Ahrland S, Chatt J, Davies N. The relative affinities of ligand atoms for acceptor molecules and ions. *Quarterly Reviews, Chemical Society.* 1958;12(3):265-76
50. Stoimenov P, Klinger R, Marchin G, Klabunde K. Metal Oxide Nanoparticles as Bactericidal Agents. *Langmuir.* 2002;18(17):6679-6686.
51. Raimondi F, Scherer G, Kütz R, Wokaun A. Nanoparticles in Energy Technology: Examples from Electrochemistry and Catalysis. *Angewandte Chemie International Edition.* 2005;44(15):2190-2209.
52. Gaffet E, Tachikart M, El Kedim O, Rahouadj R. Nanostructural materials formation by mechanical alloying: Morphologic analysis based on transmission and scanning electron microscopic observations. *Materials Characterization.* 1996;36(4-5):185-190.

53. Amulyavichus A, DaugvilaA, Study of chemical composition of nano structural material prepared by laser cutting of metals. *Fizika Met.* 1998.
54. Rao, C. N. R., MÃijller, A., y Cheetham, A. K. (2004). *The Chemistry of Nanomaterials* (vols. 1 y 2). Weinheim: Wiley-VCH.
55. Thirumalai Arasu V, Stable silver nanoparticle syntemethos and application, *J. Bio. Sci. Res* 2010
56. de-Jong, K. P. (2009). *Synthesis of solid catalyts.*Weinheim: Wiley-VCH.
57. Schmid, G. (2004). *Nanoparticles.From theory to application.*Weinheim: Wiley-VCH.
58. Revina, D. A., Egorova, E. M., y Karataeva, A. D. (1999). *Russian Journal of Physical Chemistry*, 73, 1708-1715
59. Zhu H, Zhang C, Yin Y. Rapid synthesis of copper nanoparticles by sodium hypophosphite reduction in ethylene glycol under microwave irradiation. *Journal of Crystal Growth*. 2004;270(3-4):722-728.
60. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 2009;27(1):76-83.
61. Pal S, Tak Y, Song J. Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007;73(6):1712-1720.
62. 71. Lea MC. Allotropic forms of silver. *American Journal of science* 1889;37:476-491.
63. Badawy A, Luxton T, Silva R, Scheckel K, Suidan M, Tolaymat T. Impact of Environmental Conditions (pH, Ionic Strength, and Electrolyte Type) on the Surface Charge and Aggregation of Silver Nanoparticles Suspensions. *Environmental Science and Technology*. 2010;44(4):1260-1266.
64. Banach M, et al. Preparation of nanosilver via one-step chemical reduction in aqueous medium at elevated pressure. *CHEMIK* 2014;68(2): 111-116.
65. Natalia LP, et al. Synthetic Routes for the Preparation of Silver Nanoparticles, A Mechanistic Perspective."Silver Nanoparticle Applications. Springer International Publishing, 2015. 13-46.

66. White PC, Howie J, inventors; Preparation of stable silver colloids. EP Patent 2007513A1, 2008.
67. Courrol L, de Oliveira SF, Gomes L. A simple method to synthesize silver nanoparticles by photo-reduction. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2007;305(1-3):54-57.
68. Mousa, SA, Linhardt R, inventors; Silver nanoparticles as anti-microbial. US Patent 20100317617, 2010.
69. Tien DC, et al. Novel technique for preparing a nano-silver water suspension by the arc-discharge method. *Rev. Adv. Mater. Sci* 2008;18:750-756.
70. Mukherjee P, Ahmad A, Mandal D, Senapati S, Sainkar S, Khan M et al. Fungus-Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Immobilization in the Mycelial Matrix: A Novel Biological Approach to Nanoparticle Synthesis. *Nano Letters*. 2001;1(10):515-519.
71. Singaravelu G, Arockiamary J, Kumar V, Govindaraju K. A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2007;57(1):97-101.
72. Belliveau B, Starodub M, Cotter C, Trevors J. Metal resistance and accumulation in bacteria. *Biotechnology Advances*. 1987;5(1):101-127.
73. Vigneshwaran N, Ashtaputre N, Varadarajan P, Nachane R, Paralikar K, Balasubramanya R. Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus*. *Materials Letters*. 2007;61(6):1413-1418.
74. Philip D. Biosynthesis of Au, Ag and Au-Ag nanoparticles using edible mushroom extract. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2009;73(2):374-381.
75. Kowshik M, Ashtaputre S, Kharrazi S, Vogel W, Urban J, Kulkarni S et al. Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a silver-tolerant yeast strain MKY3. *Nanotechnology*. 2002;14(1):95-100.
76. Baker S, Harini B, Rakshith D, Satish S. Marine microbes: Invisible nanofactories. *Journal of Pharmacy Research*. 2013;6(3):383-388.
77. Chandran S, Chaudhary M, Pasricha R, Ahmad A, Sastry M. Synthesis of Gold Nanotriangles and Silver Nanoparticles Using Aloe vera Plant Extract. *Biotechnol Prog*. 2006;22(2):577-583.
78. Vilchis-Nestor A, Sánchez-Mendieta V, Camacho-López M, Gómez-Espinosa R, Camacho-López M, Arenas-Alatorre J. Solventless synthesis and

optical properties of Au and Ag nanoparticles using *Camellia sinensis* extract. *Materials Letters*. 2008;62(17-18):3103-3105.

79. Satyavani K, Ramanathan T, Gurudeeban, S. Green synthesis of silver nanoparticles by using stem derived callus extract of bitter apple (*Citrullus colocynthis*). *Dig J Nanomater Biostruct* 2011;6(3):1019-1024.

80. Mittal A, Kaler A, Banerjee U. Free Radical Scavenging and Antioxidant Activity of Silver Nanoparticles Synthesized from Flower Extract of *Rhododendron dauricum*. *Nano BioMed ENG*. 2012;4(3).

81. Mittal A, Chisti Y, Banerjee U. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*. 2013;31(2):346-356.

82. Shah M, Fawcett D, Sharma S, Tripathy S, Poinern G. Green Synthesis of Metallic Nanoparticles via Biological Entities. *Materials*. 2015;8(11):7278-7308.

83. Walser T, Demou E, Lang D, Hellweg S. Prospective Environmental Life Cycle Assessment of Nanosilver T-Shirts. *Environmental Science and Technology*. 2011;45(10):4570-4578.

84. Blaser S, Scheringer M, MacLeod M, Hungerbühler K. Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: Contribution of nano-functionalized plastics and textiles. *Science of The Total Environment*. 2008;390(2-3):396-409.

85. Geranio L, Heuberger M, Nowack B. The Behavior of Silver Nanotextiles during Washing. *Environmental Science and Technology*. 2009;43(21):8113-8118.

86. World Health Organization (WHO). *Water for Life: Making it Happen*, World Health Organization (WHO): Geneva, 2005, 4.

87. World Health Organization (WHO). *Guidelines for drinking water quality*, 3rd ed.; IWA Publishing.: London, 2006; pp 121-144.

88 Li Q, Mahendra S, Lyon D, Brunet L, Liga M, Li D et al. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. *Water Research*. 2008;42(18):4591-4602.

89. Dankovich T, Gray D. Bactericidal Paper Impregnated with Silver Nanoparticles for Point-of-Use Water Treatment. *Environmental Science and Technology*. 2011;45(5):1992-1998.

90. Elliott T. An audit programme for central venous catheter-associated infections. *Journal of Hospital Infection*. 1995;30(3):181-191.

91. Arnow PM, Quimosing EM, Beach M. Consequences of intravascular catheter sepsis. *Clinical Infectious Diseases*. 1993;16:778-84.
92. Furno F. Silver nanoparticles and polymeric medical devices: a new approach to prevention of infection?. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;54(6):1019-1024.
93. Webb P, Marr P, Parsons A, Gidda H, Howdle S. Dissolving biomolecules and modifying biomedical implants with supercritical carbon dioxide. *Pure and Applied Chemistry*. 2000;72(7):1347-55.
94. Trop M, Novak M, Rodl S, Hellbom B, Kroell W, Goessler W. Silver-Coated Dressing Acticoat Caused Raised Liver Enzymes and Argyria-like Symptoms in Burn Patient. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care*. 2006;60(3):648-652.
95. Vlachou E, Chipp E, Shale E, Wilson Y, Papini R, Moiemem N. The safety of nanocrystalline silver dressings on burns: A study of systemic silver absorption. *Burns*. 2007;33(8):979-985.
96. Reidy B, Haase A, Luch A, Dawson K, Lynch I. Mechanisms of Silver Nanoparticle Release, Transformation and Toxicity: A Critical Review of Current Knowledge and Recommendations for Future Studies and Applications. *Materials*. 2013;6(6):2295-2350.
97. Adams N, Kramer J. Silver speciation in wastewater effluent, surface waters, and pore waters. *Environ. Toxicol. Chem*. 1999;18(12):2667.
98. Chappell M, Miller L, George A, Pettway B, Price C, Porter B et al. Simultaneous dispersion-dissolution behavior of concentrated silver nanoparticle suspensions in the presence of model organic solutes. *Chemosphere*. 2011;84(8):1108-1116.
99. Liu J, Hurt R. Ion Release Kinetics and Particle Persistence in Aqueous Nano-Silver Colloids. *Environmental Science and Technology*. 2010;44(6):2169-2175.
100. Elzey S, Grassian V. Agglomeration, isolation and dissolution of commercially manufactured silver nanoparticles in aqueous environments. *Journal of Nanoparticle Research*. 2009;12(5):1945-1958.
101. Stumm, W.; Morgan, J. J. *Aquatic chemistry*; Wiley: New-York, 1981; p 780.

102. Davidson R, Anderson D, Van Winkle L, Pinkerton K, Guo T. Evolution of Silver Nanoparticles in the Rat Lung Investigated by X-ray Absorption Spectroscopy. *J Phys Chem A*. 2015;119(2):281-289.
103. Glover R, Miller J, Hutchison J. Generation of Metal Nanoparticles from Silver and Copper Objects: Nanoparticle Dynamics on Surfaces and Potential Sources of Nanoparticles in the Environment. *ACS Nano*. 2011;5(11):8950-8957.
104. Theodorou I, Botelho D, Schwander S, Zhang J, Chung K, Tetley T et al. Static and Dynamic Microscopy of the Chemical Stability and Aggregation State of Silver Nanowires in Components of Murine Pulmonary Surfactant. *Environmental Science and Technology*. 2015;49(13):8048-8056.
105. Bell R, Kramer J. Structural chemistry and geochemistry of silver-sulfur compounds: Critical review. *Environ. Toxicol. Chem.* 1999;18(1):9-22.
106. Braydich-Stolle L. In Vitro Cytotoxicity of Nanoparticles in Mammalian Germline Stem Cells. *Toxicological Sciences*. 2005;88(2):412-419.
107. Arora S, Jain J, Rajwade J, Paknikar K. Cellular responses induced by silver nanoparticles: In vitro studies. *Toxicology Letters*. 2008;179(2):93-100.
108. Ahamed M, AlSalhi M, Siddiqui M. Silver nanoparticle applications and human health. *Clinica Chimica Acta*. 2010;411(23-24):1841-1848.
109. Oberdörster G, Sharp Z, Atudorei V, Elder A, Gelein R, Kreyling W et al. Translocation of Inhaled Ultrafine Particles to the Brain. *Inhalation Toxicology*. 2004;16(6-7):437-445.
110. Elder A, Gelein R, Silva V, Feikert T, Opanashuk L, Carter J et al. Translocation of Inhaled Ultrafine Manganese Oxide Particles to the Central Nervous System. *Environ Health Perspect*. 2006;114(8):1172-1178.
111. Petrescu L, et al. Aspects of nanoparticles toxicity on the human body. *Proc. Rom. Acad., Series B*. 2016;18(1):3-10.