

Testing the antimicrobial efficiency of silver nanoparticles and *Aloe vera* gel

TEODORA ELENA, OPRICA
UNIVERSITATEA TEHNICĂ DIN CLUJ-NAPOCA
Facultatea de Științe
Specializarea: Biologie
Email: t.oprica@yahoo.com

Abstract

This paper aims to evaluate the antimicrobial effect of solutions based on silver nanoparticles and Aloe vera gel on some pathogenic and facultative pathogenic strains. In order to highlight the bactericidal properties of these products, measurements of the inhibition zone diameter were performed for each tested strain. The results showed that the most effective antimicrobial effect is in the case of the combination between biosynthesized silver nanoparticles solution and Aloe vera gel, having the diameter of action of 15 mm on the Staphylococcus aureus strain.

Keywords: silver nanoparticles, Aloe vera, antimicrobial, pathogenic strains, biosynthesis.



Introducere

În absența oricăror resurse medicale contemporane, este recunoscut faptul că civilizațiile antice au căutat întotdeauna soluții și strategii terapeutice pentru a preveni și trata o varietate de afecțiuni. Argintul, și în special obiectele realizate din argint din acea perioadă, au fost una dintre cele mai mari descoperiri ale acestora iar incorporarea argintului în produsele de uz casnic a reprezentat o practică obișnuită de-a lungul istoriei pentru a preveni răspândirea bolilor. Grecia, Roma și chiar națiunile mediteraneene și asiatice au unele dintre cele mai vechi utilizări documentate ale argintului în scopuri medicinale datând din anul 1500 î.Hr. Pentru purificarea și obținerea apei potabile aceste popoare preistorice au introdus monede de argint în recipientele de apă iar mai târziu au confecționat vase din acest material [1].

De-a lungul timpului, acest element chimic a fost integrat în medicină și utilizat sub diverse forme precum nitrat de argint, argint coloidal sau nanoparticule de argint.

Nitratul de argint are o istorie îndelungată în tratarea afecțiunilor infecțioase și s-a dovedit a fi un antiseptic puternic pentru tratarea rănilor, constituind un element esențial din baza antibioticelor care au fost sigure pentru utilizare în medicină până în anii 1920. Primele investigații clinice au arătat că efectul antibacterian local al nitraturului de argint poate fi controlat cu ușurință și că acesta formează "precipitate rezistente" la contactul cu proteinele din rănilor cutanate. Documentele medicale timpurii au o mulțime de informații despre calitățile caustice și astringente ale creionului de nitrat de argint, care s-a dovedit a fi util în tratamentul calusurilor, al negilor și al granulațiilor inestetice ale pielii. Chiar dacă nitratul de argint este anastaltic și poate decolora țesuturile, clinicile de îngrijire a rănilor și arsurilor încă îl utilizează [2].

Preparatele de argint coloidal au fost introduse în farmacii în urmă cu aproximativ optzeci de ani, cu scopul de a diminua nivelul de disconfort pe care îl generau soluțiile de nitrat de argint. Farmacologii au susținut că, prin precipitarea argintului sub formă de soluție coloidală, ar putea crea un antibacterian puternic

fără efecte secundare nefavorabile [2]. Particulele de argint aflate în suspensie într-o soluție lichidă sunt cunoscute sub denumirea de argint coloidal. Sinteza chimică umedă este cea mai accesibilă și populară tehnică de producere a dispersiilor coloidale de argint în solvenți organici sau în apă. Acest proces combină mai multe abordări, inclusiv metoda electrochimică, reducerea chimică, fotoreducerea, microemulsia și sinteza asistată de microunde. Reducerea chimică este una dintre cele mai eficiente procedee enunțate fiind relativ simplă și accesibilă din punct de vedere economic. Aceasta reprezintă procesul de reducere chimică a sării de argint în apă sau într-un solvent organic pentru a crea o suspensie coloidală. Pentru această procedură sunt necesare sarea de argint, un agent de reducere și un agent de stabilizare. Nitratul de argint este reactivul cel mai frecvent utilizat pentru obținerea sării de argint în cadrul acestui proces [3].

Argintul coloidal este utilizat în sectoare industriale variate și are proprietăți antibacteriene semnificative datorită adaptabilității sale. În domeniul medical, este utilizat pe scară largă în cremele topice și pansamente pentru a facilita vindecarea rănilor și pentru a le proteja împotriva infecțiilor. În plus, este utilizat într-o serie de dispozitive medicale, cum ar fi tuburile de respirație și echipamentele chirurgicale, oprind proliferarea microorganismelor și a cazurilor de infecții nosocomiale.

Unul dintre cele mai populare elemente din domeniul ingineriei nanometrice este reprezentat de nanoparticulele de argint iar progresele în nanotehnologie au făcut posibilă modificarea structurii sale chimice și fizice, ceea ce îi poate consolida calitățile antibacteriene. Bacteriile gram-pozitive și gram-negative sunt inhibitate de ionii de argint, care sunt produși prin dizolvarea nitrului de argint și a sulfadiazinei de argint. Fiecare sursă de argint trebuie să elibereze ioni de argint pentru a elimina eficient organismele periculoase.

Activitatea antibacteriană a ionilor de argint este legată de interacțiunile acestora cu învelișul celular bacterian, acizii nucleici, enzimele și speciile reactive de oxigen produse în interiorul celulei. Interacțiunea dintre ionii de argint și membrana internă a bacteriilor este unul dintre principalele mecanisme de toxicitate a ionilor de Ag^+ [4].

Pentru a crea nanoparticule de argint pot fi utilizate o serie de tehnici chimice și fizice, inclusiv vaporizarea termică, sinteza sol-gel, reducerea fotochimică, reducerea electrochimică, sinteza asistată de microunde și ultrasonarea [5]. Chiar dacă aceste proceduri au un spectru larg de toxicitate atât la vertebrate, cât și la nevertebrate, există un interes global pentru sintetizarea nanoparticulele de argint prin diverse reacții chimice în vederea utilizării în aplicații care valorifică potențialul lor antibacterian. Sinteza verde, sau biosinteza nanoparticulelor de argint este sugerată ca o opțiune mai puțin costisitoare și mai ecologică pentru a preveni toxicitatea chimică [6]. Această sinteză verde se poate realiza folosind culturi de bacterii și fungi sau extracte de plante. S-a constatat că uneori poate fi mai avantajos ca sinteza să se realizeze folosind o varietate de plante și extractele acestora decât alte tehnici de sinteză biologică care necesită proceduri foarte complicate de gestionare a culturilor microbiene [7].

Aloe vera, este o plantă succulentă din familia *Asphodelaceae* des întâlnită ca plantă cultivată în interior sau în zonele temperate ca plantă perenă în aer liber. În industria cosmetică și farmaceutică reprezintă un compus natural cu o varietate de proprietăți. Timp de milenii, oamenii au folosit și apreciat beneficiile terapeutice și de îngrijire a acestei plante asupra organismului fie că este utilizată local sub formă de unguent, sau consumată pe cale orală. *Aloe vera* este adesea folosită în dermatoterapie, deoarece funcționează ca astringent, loțiune de corp, umidificator și curățător. Ea vindecă acneea, psoriazisul, eczema, micoza, arsurile, înmoaie pielea, reduce ridurile și protejează pielea de poluare [7].

De-a lungul istoriei, a fost numită plantă universală cu beneficii remarcabile. Tulpinile scurte, care sunt aproape de suprafața solului, susțin frunzele ascuțite și înguste ale plantei. În interiorul frunzelor se găsește un gel transparent, format din 99% apă și restul de aminoacizi, lipide, steroli și vitamine. În *Aloe vera* se pot întâlni 75 de ingrediente potențial active, inclusiv vitamine(A, E, B12), enzime(peroxidaze, catalaze),

minerale(zinc, calciu, cupru), carbohidrați, lignină, saponine, aminoacizi și acizi salicilici. Efectele avantajoase suplimentare cuprind calități imunomodulatoare, hipoglicemiant și anticancerigene, de vindecare a rănilor și arsurilor, gastroprotectoare, antifungice și antiinflamatorii [5]. Deoarece unii dintre constituenții activi ai gelului par să se degradeze în timp, se recomandă, de obicei, gelul proaspăt. Atunci când gelul de aloe vera este aplicat pe piele, se dezvoltă un material care seamănă cu un adeziv. Acesta servește ca un fel de "plasture" organic, reținând substanțele nutritive și împiedicând agenții sau bacteriile să împiedice procesul de vindecare. Gelul de *Aloe vera* are, de asemenea, un conținut ridicat de apă, ceea ce este benefic pentru procesul de vindecare al organismului [7].

Aloe vera este benefic utilizată pentru sinteza nanoparticulelor de argint deoarece conține substanțe fitochimice naturale care acționează ca agenți de reducere și de acoperire. Numeroase studii care au examinat efectele antimicrobiene, antifungice și ale nanoparticulelor de argint au folosit extracte de *Aloe vera* pentru sinteza studiilor stabile. Compușii care se găsesc în extractele de aloe induc repulsie sterică între indivizi, împiedicând agregarea nanoparticulelor. Se crede că proteinele și enzimele din extractul acestei plante acționează ca un agent de complexare prin atașarea ușoară la ionii de argint. Numeroasele ingrediente chimice lucrează împreună pentru a reduce energia de suprafață, ceea ce, la rândul său, oprește agregarea nucleelor atunci când sunt utilizate ca agent tensioactiv [7].

Scopul acestui studiu este de a urmări activitatea antimicrobiană a preparatelor care conțin argint coloidal și nanoparticule de argint biosintetizate în combinație cu gelul de *Aloe vera*, asupra unor tulpini patogene și facultativ patogene care afectează organismul uman.

Bacteriile gram-pozitive din genul *Staphylococcus* sunt cunoscute sub numele de cocci datorită formei lor sferice fiind distinse microscopic prin structura asemănătoare unui chiorchine în care se grupează. Sunt foarte răspândite, importanța lor ca agenți patogeni umani fiind sporită de capacitatea de a dobândi rezistență la penicilină și la alte antibiotice. Un agent patogen important care cauzează o gamă largă de probleme clinice este *Staphylococcus aureus*. Printre acestea se numără abcese profunde, leziuni cutanate superficiale alături de o serie de boli piogene precum osteomielite, endocardita și foliculita. Sinteza pigmentilor carotenoizi în coloniile de *S. aureus* face ca acestea să prolifereze în galben, de unde reiese și denumirea. În medii solide, coloniile sunt sferice, lucioase, netede și vizibile. *Staphylococcus aureus* poate crea toxine care duc la îmbolnăvire sau atacă direct, omorând țesuturile [8].

Staphylococcus epidermidis reprezintă o bacterie facultativ patogenă regăsită în microbiota tegumentului uman. Este cel mai frecvent agent cauzal al infecțiilor care implică orice tip de dispozitiv medical fixat, inclusiv cateterele intravenoase centrale sau periferice. Aceste infecții debutează, de obicei, atunci când bacteriile din pielea pacientului sau a personalului medical sunt introduse în organism în timpul inserției unui dispozitiv și au devenit probabil mai frecvente ca urmare a utilizării crescute a acestor dispozitive. Pentru a supraviețui pe pielea umană, *Staphylococcus epidermidis* a dezvoltat o varietate de mecanisme de apărare pentru a identifica și a face imposibilă apărarea antimicrobiană a gazdei. Unul dintre factorii săi cheie de virulență este capacitatea de a produce mucus. Bacteria produce în cantități uriașe un polimer numit glicocalix, despre care se crede că favorizează aderența prin împiedicarea activității neutrofilelor și limfocitelor [8].

Streptococul gram-pozitiv de grup A, denumit și *Streptococcus pyogenes*, este o bacterie care se dezvoltă în lanțuri și provoacă o serie de afecțiuni umane inclusiv amigdalită, faringită și scarlatină. Singurele gazde naturale cunoscute ale acestui streptococ sunt pielea și membranele mucoase umane. Streptococii din grupa A se dezvoltă cel mai ușor pe plăci de geloză cu sânge, deoarece produc colonii punctate înconjurate de o zonă de beta-hemoliză completă [9]. Infecțiile cu *S. pyogenes* sunt extrem de infecțioase. Particulele transmise în aer, contactul mâinilor cu secreții nazale sau cu obiecte, suprafețe contaminate bacterian,

contactul pielii cu leziuni contaminate și sursele alimentare contaminate reprezintă căi potențiale de transmitere [10].

Enterococcus reprezintă un gen de cocci anaerobi facultativi gram-pozitivi cu lanțuri scurte și medii care cauzează infecții dificil de tratat. Aceștia provoacă rareori infecții intraabdominale și meningită, dar în mod frecvent provoacă infecții urinare, bacteriemie și endocardită infecțioasă [11]. Enterococii populează tractul digestiv și au un rol în modularea sistemului imunitar atât la om, cât și la animale, în calitate de comensali. În prezent sunt cunoscute 58 de specii de enterococi, *E. faecalis* și *E. faecium* fiind cele mai importante și mai răspândite. Enterococii pot prolifera într-o varietate de condiții datorită gradului lor mare de adaptabilitate. Solul, apele de suprafață și apele reziduale sunt cele mai frecvente medii în care sunt descoperiți. Datorită faptului că fac parte din categoria bacteriilor lactice, produsele lactate fermentate sunt cele în care se găsesc cel mai frecvent [12].

Materiale și metode

În scopul testării eficacității antimicrobiene asupra tulpinilor menționate, a avut loc prepararea unor soluții pe bază de particule de argint și *Aloe vera*. Acestea au fost utilizate atât individual cât și sub formă combinată, în vederea urmăririi acțiunii lor asupra gradului de inhibare a tulpinilor microbiene.

Biosinteza nanoparticulelor de argint

Nitratul de argint AgNO_3 și extractul de *Aloe vera* au constituit materiile prime în biosinteza nanoparticulelor de argint. Pentru realizarea soluției de nitrat de argint de concentrație 1mM AgNO_3 s-au utilizat 0,17 g de sare de argint AgNO_3 și 1000 ml de apă distilată. Într-un balon cotat de 1000 ml s-au adăugat 500 ml de apă distilată și granulele de sare de argint după care se omogenizează printr-o agitare ușoară, urmând ca restul de 500 ml de apă distilată să fie adăugat până la semn (fig 1).

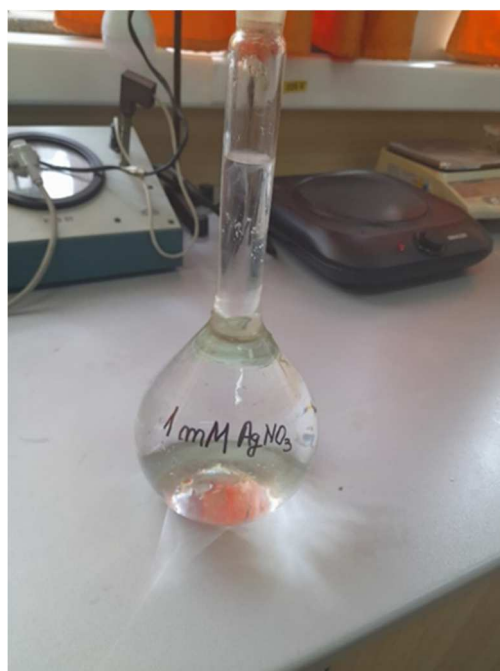


Figura 1- Soluție AgNO_3 1mM.
Autor: Teodora Oprica

Următorul procedeu îl constituie prepararea extractului apos din frunzele plantei de Aloe vera. Acest extract a fost realizat folosind 50g de frunze de *Aloe vera* cântărite pe o sticlă de ceas, care au fost clătite cu apa deionizată și tăiate mărunt. Materialul vegetal proaspăt tăiat a fost transferat într-un pahar Berzelius cu 50 ml de apă deionizată și supus fierberii timp de 20 de minute, în urma căruia s-a observat colorarea extractului apos într-o nuanță gălbuie. Extractul răcit a fost filtrat cu ajutorul hârtiei de filtru și depozitat la frigider.(adauga si poza cu el)

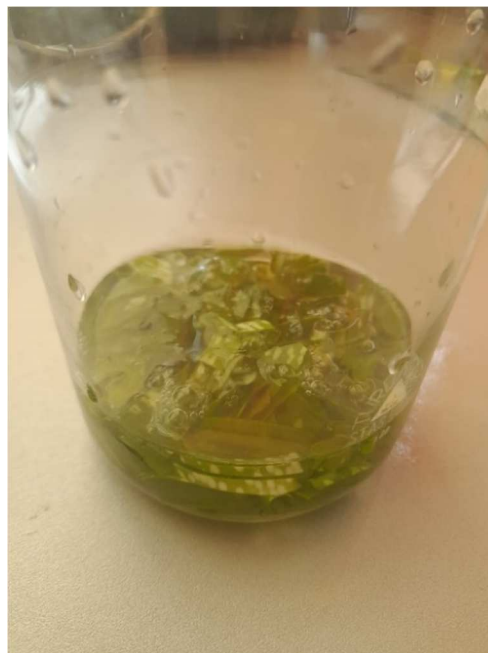


Figura 2- Extractul de Aloe vera înainte de filtrare. Autor: Teodora Oprica.



Figura 3- Extractul de Aloe vera filtrat. Autor: Teodora Oprica

Din soluția AgNO_3 1mM se iau 50 ml și se amestecă prin picurare cu 20 ml de extract filtrat de *Aloe vera*, agitându-se constant. Se observă o nuanță mai închisă a soluției rezultată ca urmare a reducerii ionilor de argint de către extractul vegetal lichid și a creării de nanoparticule de argint stabile [7].



Figura 4- Soluție biosintetizată de nanoparticule de argint. Autor: Teodora Oprica

Pe lângă soluțiile preparate în laborator, au fost achiziționate din comerț soluție de argint coloidal 111 ppm și planta de *Aloe vera* din care s-a utilizat doar gelul.

Pregătirea mediilor de cultură și efectuarea însămânțărilor

Pentru testarea soluției rezultate în urma biosintezei nanoparticulelor de argint s-a trecut la efectuarea analizelor microbiologice.

Mai întâi au fost pregătite mediile de cultură și anume : Agar nutritiv pentru *Cutibacterium acnes*, mediu de cultură Agar Chapman pentru testarea tulpinilor de *Staphylococcus epidermidis* și *Staphylococcus aureus* și mediu Geloză Sânge pentru tulpinile *Streptococcus sp* și *Enterococcus sp*.

Tulpini microbiene au fost izolate prin prelevarea de probe de pe tegumentul uman(*Staphylococcus epidermidis*, *Acnes cutibacterium*), urină(*Enterococcus sp.*) și exudat faringian(*Streptococcus sp.*). Tulpina bacteriană *Staphylococcus aureus* a fost izolată prin teste efectuate pe produse lactate obținute din lapte de capră. S-a efectuat însămânțarea pe medii de cultură turnate în cutii Petri sterile iar în urma incubării la 37° C s-a observat dezvoltarea coloniilor tipice.

Metoda disc difuzimetrică adaptată

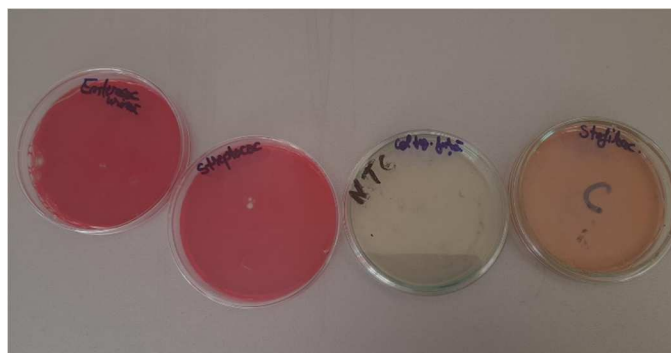


Figura 5- Medii de cultură însămânțate. Autor: Teodora Oprica

Această metodă reprezintă una dintre cele mai eficiente abordări ale sensibilității antimicrobiene asupra unor compuși și se realizează prin aplicarea unor discuri sterile care conțin proporții egale a soluțiilor preparate pe mediul de cultură gata însămânțat.

Fiecare dintre cele patru cutii Petri conține cinci discuri sterile (pregătite din hârtie de filtru sterilizată), îmbibate în proporție de 20 μ l conform următoarelor precizări:

- argint coloidal 111 ppm achiziționat din comerț;
- gel pur din planta de *Aloe vera*;
- argint coloidal 111 ppm + gel pur de *Aloe vera*;
- argint coloidal 111 ppm + extractul filtrat de *Aloe vera*;
- soluția AgNP(soluția biosintetizată de nanoparticule de argint) + gel pur de *Aloe vera*.

Pe cutiile Petri sterile pregătite cu mediile corespunzătoare s-au efectuat însămânțări cu tulpinile microbiene testate folosind bețișoare cu tampon de vată pentru antibiogramă, în condiții sterile la lampa becului de gaz, iar ulterior au fost aplicate rondellele îmbibate cu soluțiile cu rol antimicrobian. Aspectul cutiilor pregătite conform metodei disc difuzimetrică adaptate pot fi observate în figura 6.

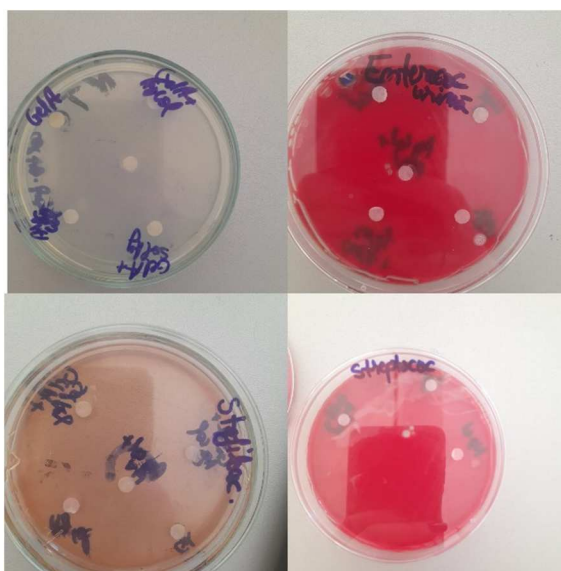


Figura 6- Metoda disc difuzimetrică adaptată. Autor: Teodora Oprica

Plăcile astfel pregătite au fost incubate la 37° C pentru 20 de ore. După perioada de incubare plăcile Petri au fost analizate, fotografiate și s-au efectuat măsurători privind diametrul zonei de imhibiție pentru fiecare cultură în parte.

Rezultate și discuții

În urma incubării timp de 20 de ore la 37 °C s-a constatat că în jurul discurilor plasate a avut loc inhibarea tulpinilor patogene. Aspecte ale rezultatelor obținute în urma analizei efectuate asupra tulpinilor *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus sp.*, *Enterococcus sp* și *Cutibacterium acnes* pot fi observate în figurile 7,8 și 9.



Figura 7- Efectul inhibării discurilor testate asupra speciilor *Cutibacterium acnes* și *Staphylococcus epidermidis*. Autor: Teodora Oprica



Figura 8- Efectul inhibării discurilor testate asupra speciilor *Enterococcus* și *Streptococcus*. Autor: Teodora Oprica

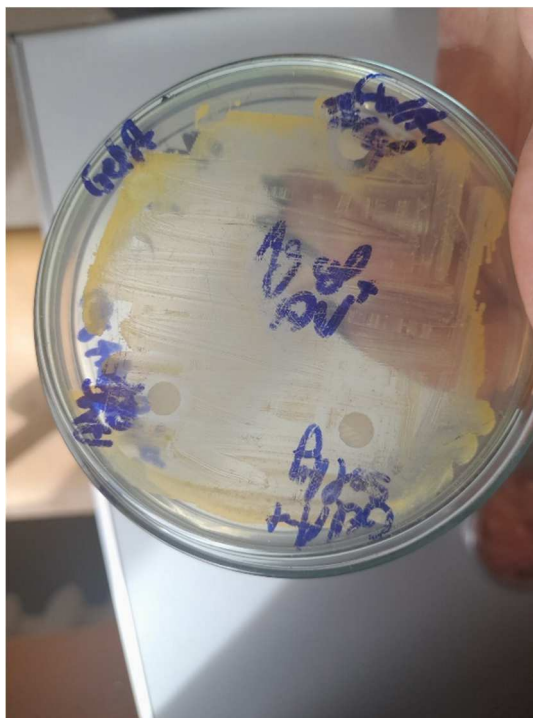
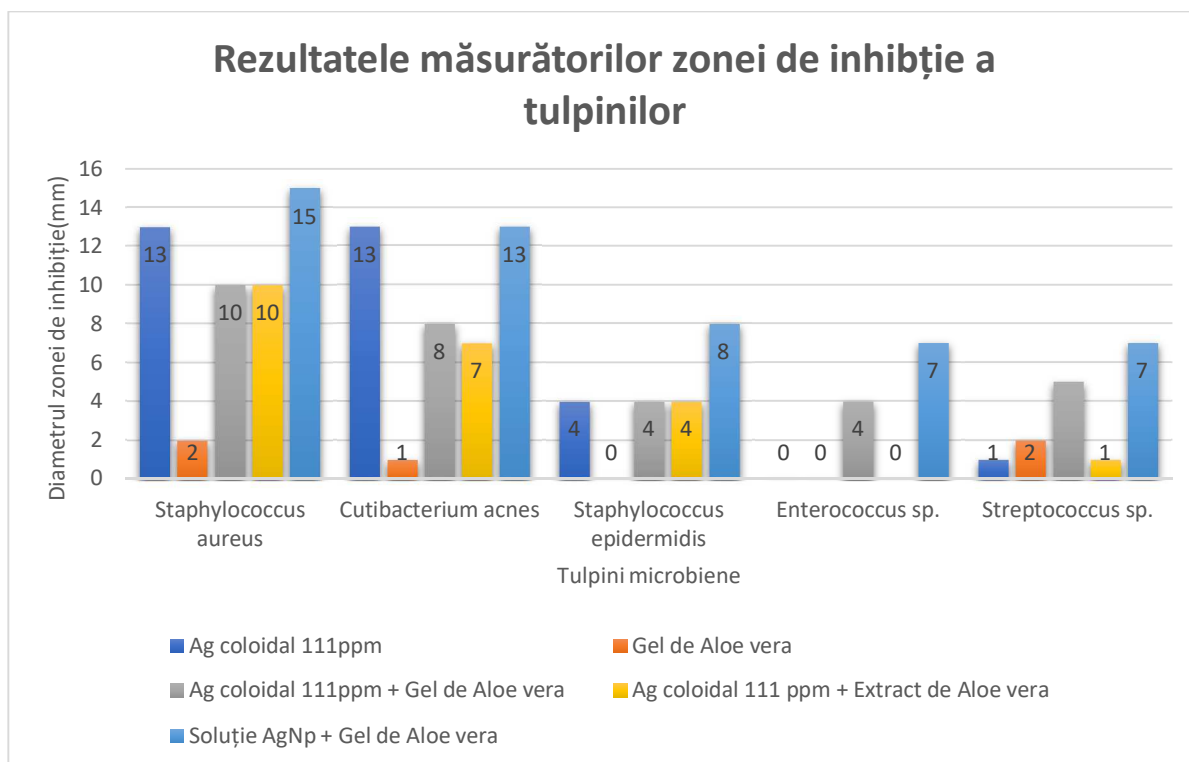


Figura 9- Efectul inhibării discurilor testate asupra speciei *Staphylococcus aureus*. Autor: Teodora Oprica

Pentru a monitoriza efectele antimicrobiene ale preparatelor utilizate s-au realizat măsurători ale diametrului zonei de inhibiție pentru fiecare tulpină testată cu ajutorul unei rigle. Astfel rezultatele privind metoda disc difuzimetrică adaptată se prezintă în graficul 1.



Grafic 1- Rezultatele măsurătorilor zonei de inhibiție a tulpinilor

În urma măsurătorilor efectuate s-a constatat că soluțiile folosite în vederea testării antimicrobiene au eficiență variată în funcție de tulpina microbiană testată. Dintre cele cinci variante de soluții pe baza de argint și *Aloe vera* folosite s-a dovedit faptul că soluția biosintetizată în laborator prezintă eficiența cea mai ridicată pentru toate cele 5 tulpini de bacterii, fiind urmată de soluția de argint coloidal 111 ppm din comerț.

În ceea ce privește planta de *Aloe vera* s-a dovedit că gelul pur este mai eficient comparativ cu cel sub forma de extract obținut prin fierbere și filtrare.

Staphylococcus aureus a dovedit sensibilitatea cea mai ridicată față de soluția AgNP + gel de *Aloe vera* (diametrul zonei de inhibiție fiind 15 mm), urmată de soluția de argint coloidal din comerț (13 mm), și mai apoi de variantele de argint coloidal din comerț combinate cu soluțiile de *Aloe vera* (10 mm). Gelul simplu de *Aloe vera* are eficiența cea mai scăzută, acest lucru fiind ușor observat. Diametrele zonelor de inhibiție pentru *Cutibacterium acnes* au fost asemanătoare cu cele ale tulpinii de *Staphylococcus aureus*.

În cazul *Staphylococcus epidermidis*, efectul antimicrobian cel mai pronunțat s-a dovedit în cazul soluției de AgNP+ gel de *Aloe vera* (8 mm) urmat de argint coloidal 111ppm, argint coloidal 111 ppm + gelul *Aloe vera* și argint coloidal+ extractul de *Aloe vera* (4 mm). Gelul simplu de *Aloe vera* nu a avut efect antibacterian.

Asupra tulpinii *Enterococcus sp* izolată din urină a avut efect doar soluția de AgNP + gel de *Aloe vera* și puțin soluția de argint coloidal 111ppm+ gelul de *Aloe vera*. În cazul celorlalte soluții nu s-a observat eficiența acțiunii antibacteriene.

În ceea ce privește *Streptococcus sp.* efectul cel mai bun a fost observat la soluția de AgNP+ gelul de *Aloe vera* urmat de argintul coloidal din comerț cu gelul de *Aloe vera*, celelalte soluții având un foarte slab efect antibacterian (1-2 mm).

Concluzii

Alegerea materiilor prime în prepararea soluțiilor pentru acest studiu a fost bazată pe un istoric antibacterian remarcabil în domeniul medical atât contemporan cât și din antichitate. Este recunoscut faptul că de-a lungul timpului preparatele pe bază de argint cât și gelul de *Aloe vera* au demonstrat proprietăți antibacteriene și terapeutice importante fiind folosite în numeroase sectoare ale domeniului medical sub forma unor creme, loțiuni pentru arsuri, pansamente, produse cosmetice și soluții împotriva infecțiilor.

Biosinteza nanoparticulelor de argint constituie o metodă ecologică și accesibilă având rezultate impresionante și îndeplinind o serie de standarde considerate necesare pentru ca noile tehnologii antimicrobiene să fie eficiente. Printre aceste calități se enumeră citotoxicitate scăzută, acțiune rapidă și performanță antimicrobiană, nanoparticulele de argint putând fi modificate pentru a obține selectivitate și a fi livrate către anumite ținte.

Tulpinile patogene și facultativ patogene utilizate sunt des întâlnite în organismul uman având o incidență ridicată în cazul afecțiunilor de gripă, infecții urinare, toxiiinfecții alimentare și leziuni cutanate din rândul populației.

Din rezultatele obținute se observă că preparatul realizat prin combinația de gel de *Aloe vera* și soluție biosintetizată de nanoparticule de argint a arătat efectul antimicrobian cel mai eficient diametrul său de acțiune variind în funcție de tulpina testată, cea mai semnificativă fiind de 15 mm în cazul tulpinii *Staphylococcus aureus*. Speciile *Enterococcus*, *Staphylococcus epidermidis* și *Streptococcus* s-au dovedit a fi

mult mai rezistente, comparativ cu *Staphylococcus aureus* care a avut cele mai bune rezultate inhibitorii fiind urmat de *Cutibacterium acnes*.

În urma rezultatelor prezentei lucrări s-a constatat că preparatele utilizate în acest studiu pot fi alternative medicamentoase în tratamentul unor afecțiuni ale tractului respirator, răceli, afecțiuni cutanate sau chiar infecții ale tractului urinar.

Bibliografie

- [1] D. J. B. a. D. E. Marx, „Silver in medicine: A brief history BC 335 to present,” *Journal of the International Society for Burn Injuries*, pp. S3-S8, 2014.
- [2] A. B. Lansdown, „Silver in Health Care: Antimicrobial,” *Current Problems in Dermatology*, vol. 33, pp. 17-34, 2006.
- [3] Y. L. T. a. S. C. Chengzhu Liao, „Bactericidal and Cytotoxic Properties of Silver Nanoparticles,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 2, 2019.
- [4] A. Kędziora, M. Speruda, E. Krzyżewska, J. Rybka și A. Ł. a. G. Bugła-Płoskońska, „Similarities and Differences between Silver Ions and Silver in Nanoforms as Antibacterial Agents,” *International Journal of Molecular Sciences*, pp. 19(2), 444, 2018.
- [5] G. S. a. C. Kumari, „Green synthesis of silver nanoparticles using Aloe vera extract and assessing their antimicrobial activity against skin infections,” *International Journal of Scientific Research in Biological Sciences*, vol. 6, nr. 1, pp. 60-65, 2019.
- [6] N. P. P. B. a. A. C. Patcharaporn Tippayawat, „Green synthesis of silver nanoparticles in aloe vera plant extract prepared by a hydrothermal method and their synergistic antibacterial activity,” *PeerJ*, vol. 4, 2016.
- [7] M. G. T. R. A. B. V. R. M. V. K. S. S. N. S. R. A. S. & R. R. M. Prashant J. Burange, „Synthesis of silver nanoparticles by using Aloe vera and Thuja orientalis leaves extract and their biological activity: a comprehensive review,” *Bulletin of the National Research Center*, vol. 45, 2021.
- [8] S. C. Parija, „Staphylococcus,” în *Textbook of Microbiology and Immunology*, 2nd ed., Elsevier, 2012, p. 173.
- [9] D. L. K. a. E. L. Stevens, *Streptococcal Infections Clinical Aspects, Microbiology and Molecular Pathogenesis*, New York: Oxford University Press, 2000, pp. 20-21.
- [10] P. V. Sidrah Kanwal, *Streptococcus Pyogenes*, StatPearls, 2023.
- [11] E. T. ., E. L. Mina S. Said, *Enterococcus Infections*, StatPearls, 2024.
- [12] M. V. M. & K. I. Růžicková, „The characterization of Enterococcus genus: resistance mechanisms and inflammatory bowel disease,” *Open Medicine*, vol. 15, nr. 1, pp. 211-224, 2020.