Machine Translated by Google

Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect
Nanomédecine : nanotechnologie, biologie et médecine 3 (2007) 95 – 101
nanomedicine
www.nanomedjournal.com

Expérimental

Effets antimicrobiens des nanoparticules d'argent

Jun Sung Kim, DMV, PhD,a Eunye Kuk, MS,b Kyeong Nam Yu, MS,a Jong-Ho Kim, MS,g
Sung Jin Park, BS,a Hu Jang Lee, DVM, PhD,c So Hyun Kim, DVM, PhD,d
Young Kyung Park, docteur en médecine vétérinaire, maîtrise en médecine familiale , docteur ...
Cheol-Yong Hwang, docteur en médecine vétérinaire, Ph. D., E. Yong-Kwon Kim, Ph. D., F. Yoon-Sik Lee, Ph. D., G.
Dae Hong Jeong, Ph. D., b, 4 Myung-Haing Cho, D. V. M., Ph. D. a

[a]Laboratoire de toxicologie, Université nationale de Séoul, Séoul, Corée
bDépartement d'enseignement de la chimie, Collège d'éducation, Université nationale de Séoul, Séoul, Corée
[c]Institut de médecine animale, Collège de médecine vétérinaire, Université nationale de Gyeongsang, Chinju, Corée
dDépartement de microbiologie, Université nationale de Séoul, Séoul, Corée
eDépartement de médecine interne, Collège de médecine vétérinaire, Université nationale de Séoul, Séoul, Corée
[f]Laboratoire de microcapteurs et d'actionneurs, École d'ingénierie électronique et d'informatique, Université nationale de Séoul, Séoul, Corée Laboratoire de synthèse organique, École d'ingénierie chimique et biologique, Université nationale de Séoul, Séoul, Corée

Reçu le 28 juillet 2006; accepté le 15 décembre 2006

Abstrait

Les effets antimicrobiens des ions ou des sels d'argent (Ag) sont bien connus, mais les effets des nanoparticules d'Ag sur les micro-organismes et le mécanisme antimicrobien n'ont pas été clairement révélés.
Des nanoparticules d'Ag stables ont été préparées et leur forme et leur distribution de taille ont été caractérisées par caractérisation des particules et étude au microscope électronique à transmission. L'activité antimicrobienne des nanoparticules d'Ag a été étudiée contre la levure, Escherichia coli et Staphylococcus aureus. Dans ces tests, des plaques d'agar Muller Hinton ont été utilisées et des nanoparticules d'Ag de diverses concentrations ont été ajoutées dans des systèmes liquides. En conséquence, la levure et E. coli ont été inhibées à la faible concentration de nanoparticules d'Ag, tandis que les effets inhibiteurs de croissance sur S. aureus étaient légers. L'effet de génération de radicaux libres des nanoparticules d'Ag sur l'inhibition de la croissance microbienne a été étudié par spectroscopie de résonance de spin électronique. Ces résultats suggèrent que les nanoparticules d'Ag peuvent être utilisées comme inhibiteurs de croissance efficaces dans divers micro-organismes, ce qui les rend applicables à divers dispositifs médicaux et systèmes de contrôle antimicrobien.
D 2007 Elsevier Inc. Tous droits réservés.

Mots clés: Nanoparticules d'Ag; Effets antimicrobiens

Avec l'émergence et l'augmentation des organismes microbiens résistants à de nombreux antibiotiques et l'accent mis sur les coûts des soins de santé, de nombreux chercheurs ont essayé de développer de nouveaux réactifs antimicrobiens efficaces, sans résistance ni coût. Ces problèmes et besoins ont conduit à la résurgence de l'utilisation d'antiseptiques à base d'Ag qui pourraient être liés à une activité à large spectre et à une propension bien inférieure à induire une résistance microbienne par rapport aux antibiotiques [1].

Les effets antibactériens des sels d'Ag ont été observés depuis l'Antiquité [2], et l'Ag est actuellement utilisé pour contrôler la croissance bactérienne dans diverses applications, notamment les soins dentaires, les cathéters et les brûlures [3,4]. En fait, il est bien connu que les ions Ag et les composés à base d'Ag sont hautement toxiques pour les micro-organismes, montrant de puissants effets biocides sur pas moins de 12 espèces de bactéries, dont E. coli [5].
Récemment, Mecking et ses collègues ont montré que des hybrides de nanoparticules d'Ag avec des macromolécules amphiphiles hyperramifiées présentaient des agents de revêtement de surface antimicrobiens efficaces [6].

La réduction de la taille des particules des matériaux est un outil efficace et fiable pour améliorer leur biocompatibilité. En fait, la nanotechnologie permet de surmonter les limitations de taille

Aucun conflit d'intérêt n'a été signalé par les auteurs de cet article.
JS Kim et E. Kuk ont contribué de manière égale à ce travail.
4 Auteur correspondant. Département d'éducation en chimie, Collège d'éducation, Université nationale de Séoul, Séoul, Corée.
Adresse e-mail : jeongdh@snu.ac.kr (DH Jeong).

1549-9634/$ – voir page de garde D 2007 Elsevier Inc. Tous droits réservés.
doi:10.1016/j.nano.2006.12.001

Machine Translated by Google

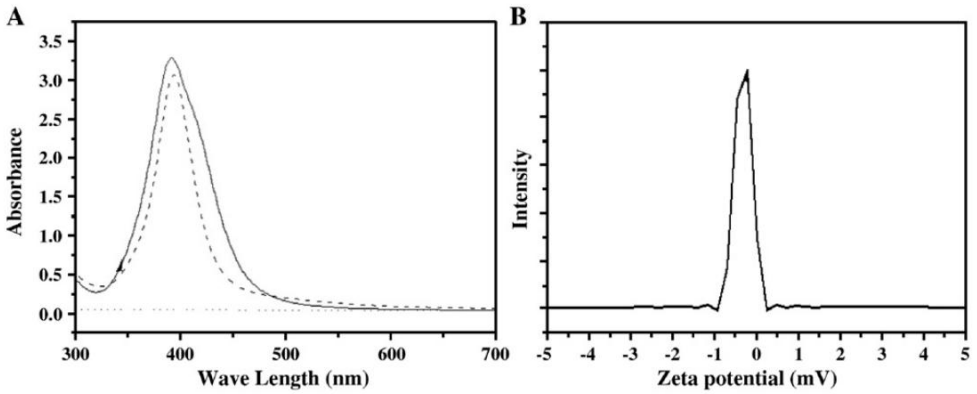

Fig 1. Spectres d'absorption des solutions de nanoparticules d'Ag (A). La ligne continue correspond à la solution de nanoparticules d'Ag telle que préparée, la ligne en pointillés correspond à la solution concentrée dix fois après dilution à la concentration d'origine et la ligne en pointillés correspond à la solution restante après l'élimination des nanoparticules d'Ag par sédimentation. Les pics de potentiel maximum des nanoparticules d'Ag ont été mesurés à -0,33 mV (B). Le potentiel zêta effectif en solution aqueuse a été mesuré par le caractérisateur de particules bDelsa 440 SXQ (Coulter Ltd., Miami, FL), et les valeurs moyennes ont été calculées à partir des données d'essai 3 fois.

et peut changer la vision du monde concernant la science [7]. De plus, les nanomatériaux peuvent être modifiés pour une meilleure efficacité afin de faciliter leurs applications dans différents domaines tels que les biosciences et la médecine. Dans cette étude, notre équipe de recherche, composée d'experts de plusieurs disciplines, a étudié les effets antimicrobiens des nanoparticules d'Ag contre des micro-organismes représentatifs d'intérêt public. Une possibilité d'implication des radicaux libres près de la surface des nanoparticules d'Ag dans l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'Ag a été discutée sur la base de mesures de résonance magnétique nucléaire (ESR). Ici, nous rapportons que les nanoparticules d'Ag peuvent être appliquées efficacement dans le contrôle des micro-organismes et la prévention des infections délétères. Nos résultats soutiennent l'hypothèse selon laquelle les nanoparticules d'Ag peuvent être préparées de manière simple et rentable et conviennent à la formulation de nouveaux types de matériaux bactéricides.

Matériels et méthodes

Préparation de nanoparticules d'Ag

Français Les nanoparticules d'Ag ont été fabriquées selon la recette décrite dans la littérature [8,9]. En bref, une solution aqueuse de 100 ml de nitrate d'argent 1,0 10–3 M a été mélangée à 300 ml de borohydrure de sodium 10-3 M. Une solution aqueuse solutions, et les deux solutions triple de 2,0 d'eau distillée a été utilisée pour les ont été refroidies à la température de la glace avant le mélange. En mélangeant les deux solutions, les ions Ag ont été réduits et regroupés pour former des nanoparticules monodispersées sous forme de sol transparent dans un milieu aqueux. La solution d'Ag était jaune en raison de l'absorption à ~390 nm. La solution a été agitée à plusieurs reprises chaque fois qu'une couleur foncée apparaissait pendant environ une heure jusqu'à ce qu'elle se stabilise. À ce stade, cette solution de nanoparticules d'Ag était si stable qu'elle n'a pas changé de couleur pendant plusieurs mois sans aucun agent stabilisant. Comme la concentration en particules de la solution n'est que de 3,3 nM, elle a été concentrée 10 fois à l'aide d'un évaporateur rotatif à vide. Ensuite, en diluant cette solution, chaque échantillon de concentration différente a été utilisé pour étudier la dépendance à la concentration de l'effet antifongique des nanoparticules d'Ag.

Dosage de l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'Ag contre les micro-organismes

L'activité antimicrobienne des nanoparticules d'Ag a été évaluée contre la levure (isolée de la mammite bovine), E. coli O157:H8 (ATCC 43886) et S. aureus (ATCC 19636) par modification de la méthode de diffusion sur disque d'agar du National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS ; désormais renommé Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI, 2000). Environ 107 unités formant des colonies de chaque micro-organisme ont été inoculées sur des plaques d'agar Muller Hinton (MHA), puis 20 AL de nanoparticules d'Ag ont été étalées à une concentration de 0,2 à 33 nM.

L'itraconazole (pour la levure, 33 nmol) et la gentamicine (pour E. coli et S. aureus, 33 nmol) ont été utilisés comme témoins positifs. Les plaques ont été incubées pendant 24 heures à 378°C.

Pour évaluer l'inhibition de la croissance des nanoparticules d'Ag, nous avons conçu une nouvelle méthode. Après une incubation de 24 heures, chaque plaque a été analysée par LAS3000 (FUJI, Tokyo, Japon) ; en bref, nous avons analysé la densité des micro-organismes au centre de la plaque avec des nanoparticules d'Ag (A) et au bord extérieur de la plaque sans nanoparticules d'Ag (B). Les différences de densité des micro-organismes entre (A) et (B) ont été mesurées et divisées par le nombre de zones analysées. Les résultats sur les trois plaques correspondant à un échantillon particulier ont été moyennés et cette valeur a été considérée comme la concentration minimale inhibitrice (CMI) des nanoparticules d'Ag contre chaque micro-organisme.

Spectroscopie de résonance de spin électronique

Les nanoparticules d'Ag ont été agrégées en agitant la solution colloïdale jaune avec une barre de Zn. L'agitation avec une barre de Zn a induit l'agrégation des particules colloïdales d'Ag en rompant l'équilibre de charge entre les nanoparticules d'Ag sans rien ajouter d'autre.
D'autres méthodes d'obtention de nanoparticules d'Ag agrégées, telles que l'ajout de sel ou de produits chimiques, ont été exclues afin de permettre une évaluation précise de l'effet des nanoparticules d'Ag seules. En agitant la solution de nanoparticules d'Ag avec une barre de Zn, la solution est devenue brun foncé, après quoi les nanoparticules d'Ag agrégées se sont lentement déposées. Les nanoparticules d'Ag précipitées ont été recueillies sous forme de poudre et conditionnées dans un tube capillaire en verre.

Machine Translated by Google

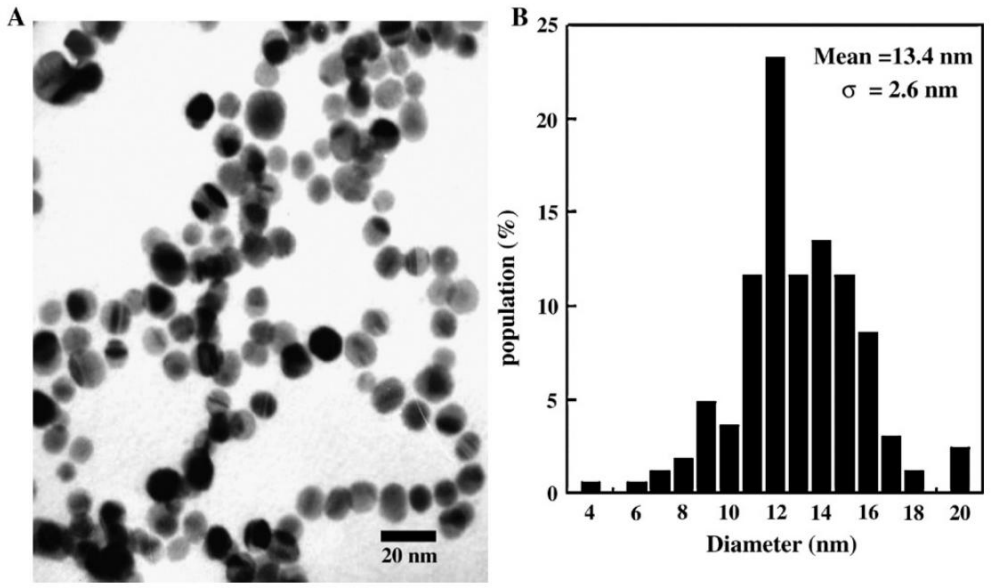

Fig 2. (A) Image TEM de nanoparticules d'Ag dispersées sur une grille de cuivre TEM (a, barre d'échelle : 30 nm). (B) Histogramme montrant la distribution de taille des nanoparticules d'Ag.

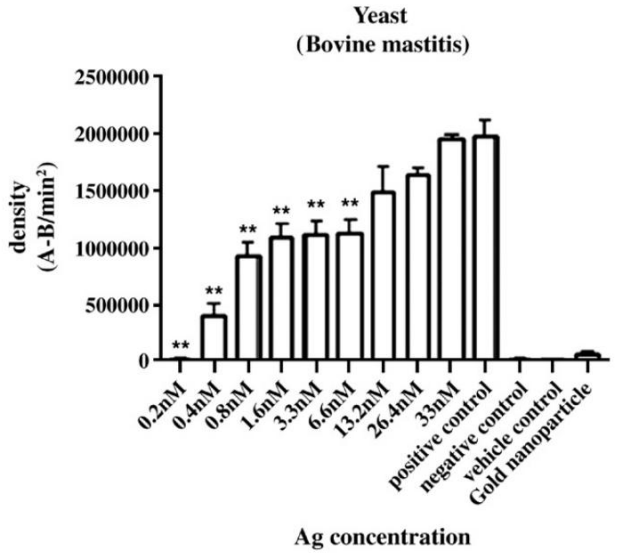

Fig 3. Inhibition de la croissance des nanoparticules d'Ag contre la levure. L'itraconasol, l'eau distillée et la solution dépourvue de support d'Ag ont été utilisés pour le contrôle positif, le contrôle négatif et le contrôle du véhicule. La concentration de nanoparticules d'or était de 30 nM. Chaque point représente la moyenne F SD. ** : Significativement différent du contrôle positif (P b .01).

Les données de génération de nanoparticules d'argent ont été enregistrées dans un spectromètre ESR JES-TE 200 (JEOL, Tokyo, Japon). Le réglage ESR et les conditions expérimentales sont décrits dans les légendes des figures.

Effet antioxydant des nanoparticules d'Ag et du nitrate d'argent dans l'activité antimicrobienne

Pour confirmer les effets des nanoparticules d'Ag, une étude comparative des nanoparticules d'Ag et du nitrate d'argent sur l'activité antimicrobienne contre E. coli O157:H8 a été réalisée. Environ 107 unités formant des colonies d'E. coli ont été inoculées sur des plaques MHA, puis 20 AL de nanoparticules d'Ag et de nitrate d'argent ont été étalées

Tableau 1
Résultats MIC des nanoparticules d'Ag

	CMI des nanoparticules d'Ag
levure (ATCC19636)	N6,6 nM
E.coli (ATCC43890)	N3,3 nM
St. aureus (Mammite bovine)	N33 nM

à la même concentration de 33 nM. La N-acétylcystéine (NAC) comme antioxydant a été ajoutée dans les plaques à 10 et 50 nM [10]. Les plaques ont été incubées pendant 24 heures à 378°C.

Résultats

Caractérisation des nanoparticules d'Ag synthétisées

La solution aqueuse préparée de nanoparticules d'Ag a montré une bande d'absorption à 391 nm comme le montre la figure 1, qui est une bande d'absorption typique des nanoparticules d'Ag sphériques en raison de leur plasmon de surface [8]. La stabilité de la solution concentrée a été vérifiée en observant son spectre d'absorption après dilution 10 fois.

Le spectre d'absorption de la solution rediluée présente des caractéristiques spectrales presque identiques à celles de la solution originale de nanoparticules d'Ag (Figure 1, A). Cela confirme que les nanoparticules d'Ag ne sont pas davantage dimérisées ou agglomérées avec de nombreuses particules ensemble, en ce sens qu'une nouvelle bande d'absorption, apparaissant du côté rouge de la bande à ~ 390 nm en raison d'un plasmon de surface localisé entre deux ou plusieurs nanoparticules d'Ag en contact les unes avec les autres lors de la dimérisation ou de l'agrégation de nanoparticules d'Ag, n'est pas observée. Le spectre d'absorption de la solution restante après que les nanoparticules d'Ag ont été complètement sédimentées et éliminées en agitant la solution avec une tige de Zn a été obtenu pour confirmer qu'il n'y avait pas de nanoparticules d'Ag dans la solution. Ensuite, cette solution a été utilisée comme

Machine Translated by Google

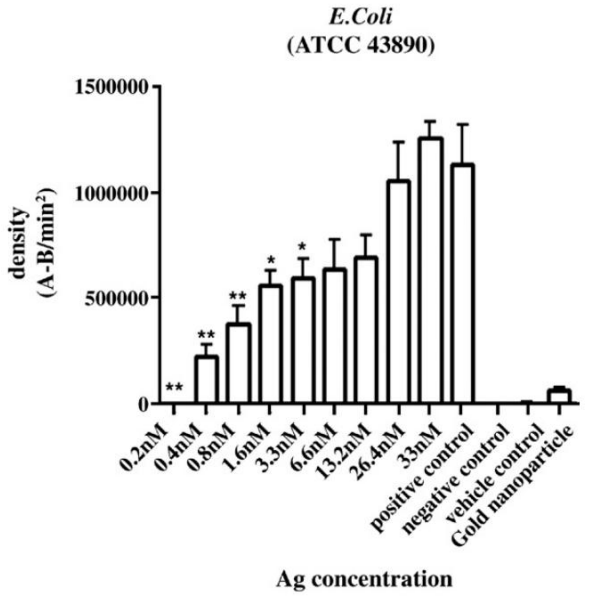

Fig 4. Inhibition de la croissance des nanoparticules d'Ag dans E. coli. La gentamycine, l'eau distillée et la solution dépourvue d'Ag représentent un contrôle positif, un contrôle négatif et un contrôle véhicule. La concentration de nanoparticules d'or est de 30 nM. Chaque point représente la moyenne F SD. * : Significativement différent du contrôle positif (P b .05). ** : Significativement différent du contrôle positif (P b .01).

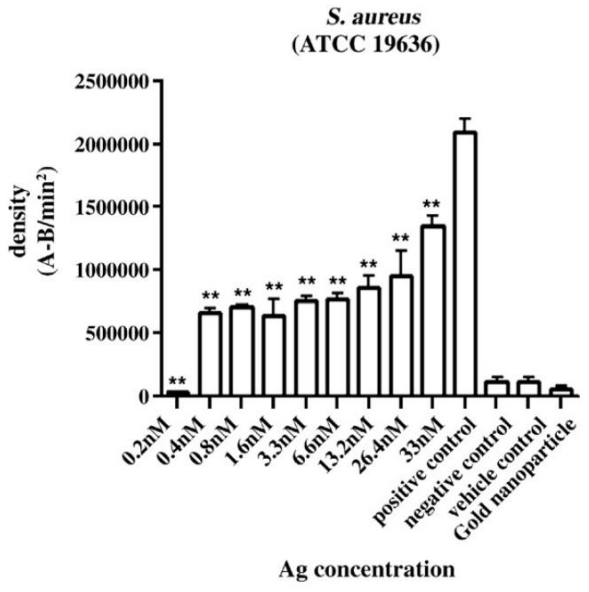

Fig 5. Inhibition de la croissance des nanoparticules d'Ag dans S. aureus. La gentamycine, l'eau distillée et la solution dépourvue d'Ag représentent un contrôle positif, un contrôle négatif et un contrôle véhicule. La concentration de nanoparticules d'or est de 30 nM. Chaque point représente la moyenne F SD. ** : Significativement différent du contrôle positif (P b .01).

Un véhicule témoin a été utilisé pour confirmer que les autres sels tels que les ions nitrate, borate et sodium inclus dans la solution de nanoparticules d'Ag pendant la préparation des nanoparticules n'ont pas affecté l'activité antimicrobienne. Le potentiel zêta de surface des nanoparticules d'Ag a été mesuré comme étant légèrement négatif (Figure 1, B). Dans la solution colloïdale, il existe des ions nitrate et borate adsorbés à la surface des nanoparticules d'Ag, ce qui fait que la charge de surface des nanoparticules d'Ag sera légèrement négative. La forme et la distribution de taille des nanoparticules d'Ag synthétisées ont été caractérisées par une étude au microscope électronique à transmission (MET). Quelques gouttes de solution de nanoparticules d'Ag ont été déposées sur une grille MET et le résidu a été éliminé par un papier filtre sous la grille MET. L'image MET présentée dans la Figure 2, A a été obtenue par MET haute résolution (JEOL, JEM-2000E7). Comme le montre la distribution de forme et de taille de la figure 2, B, les particules sont hautement monodispersées avec un diamètre moyen de 13,5 nm et un écart type de 2,6 nm.

Activité antimicrobienne des nanoparticules d'Ag contre les micro-organismes

Des tests antimicrobiens ont été réalisés contre les levures, E. coli et S. aureus sur des plaques MHA traitées avec différentes concentrations de nanoparticules d'Ag (de 0,2 à 33 nM).
La levure a été isolée à partir d'une mammite bovine. En comparaison avec le témoin positif, l'itraconazole, les nanoparticules d'Ag de 33 nM ont montré un effet d'inhibition de la croissance similaire contre la levure, et une inhibition de la croissance significative a été observée à partir de 13,2 nM (Figure 3). Ces résultats ont révélé que la CMI des nanoparticules d'Ag contre la levure peut être estimée entre 6,6 nM et 13,2 nM dans cette condition (Tableau 1).

Français Pour E. coli, nous avons utilisé E. coli O157:H7, qui est connu comme un pathogène notoire provoquant une entérite hémorragique. Dans nos résultats, les nanoparticules d'Ag étaient les plus efficaces contre E. coli (Figure 4 et Tableau 1). La CMI des nanoparticules d'Ag contre E. coli peut être estimée entre 3,3 nM et 6,6 nM, et l'effet d'inhibition de la croissance a été observé de manière dépendante de la concentration. Pour S. aureus, cependant, les nanoparticules d'Ag ont montré un léger effet inhibiteur de la croissance même à forte concentration, et il n'y a pas eu d'effet inhibiteur statistiquement significatif par rapport au témoin (gentamicine) dans cette condition (Figure 5). La CMI des nanoparticules d'Ag contre S. aureus a été estimée à plus de 33 nM (Tableau 1). De plus, il n'y a pas d'activité antimicrobienne dans une solution dépourvue de nanoparticules d'Ag utilisée comme témoin véhicule, ce qui reflète que l'activité antimicrobienne était directement liée aux nanoparticules d'Ag. Pour déterminer si l'effet inhibiteur de croissance des nanoparticules d'argent est un événement spécifique ou non, nous avons utilisé des nanoparticules d'or (Au) (~30 nM) comme autre contrôle des métaux de taille nanométrique. Les nanoparticules d'or n'ont montré aucun effet inhibiteur de croissance contre divers micro-organismes dans nos conditions expérimentales (Figures 3-5).

Etude ESR des nanoparticules d'Ag

Le mécanisme des effets inhibiteurs de croissance des nanoparticules d'Ag sur les micro-organismes n'a pas été bien compris. Une possibilité est que l'inhibition de la croissance puisse être liée à la formation de radicaux libres à partir de la surface de l'Ag. La génération incontrôlée de radicaux libres peut attaquer les lipides membranaires et entraîner une dégradation de la fonction membranaire [11]. Pour obtenir un aperçu de cette possibilité, nous avons mesuré les spectres ESR des nanoparticules d'Ag. Échantillons d'Ag

Machine Translated by Google

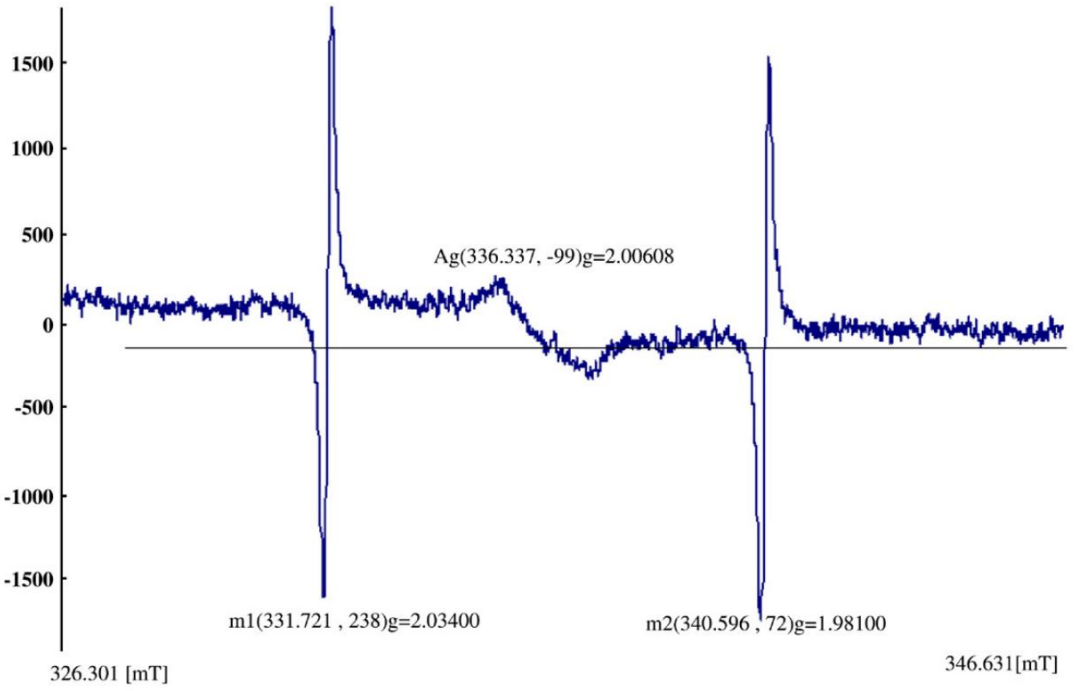

Fig 6. Spectre ESR des nanoparticules d'Ag enregistré à température ambiante. m1 et m2 indiquent le pic de contrôle du Mn et le pic (mT : 336,337) indique le radical libre libéré par les nanoparticules d'Ag. Le spectre ESR a été obtenu à température ambiante. Réglage instrumental du spectromètre JEOL JES-TE 200 : puissance micro-onde, 8,00 mW, MOD, 100 kHz et constante de temps : 0,3 s.

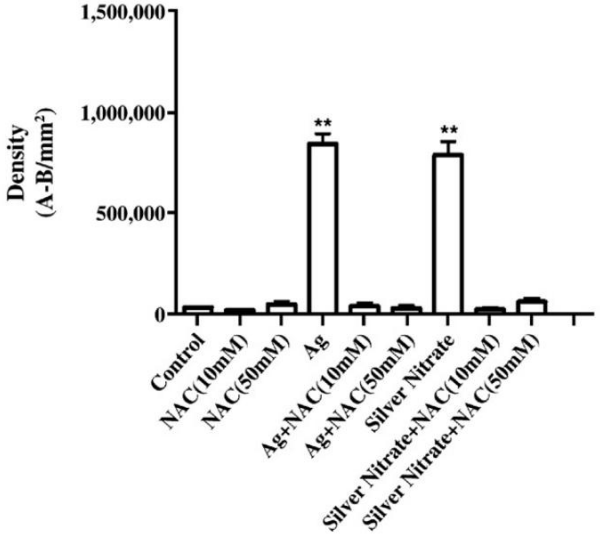

Fig 7. Étude comparative des nanoparticules d'Ag et du nitrate d'argent dans l'inhibition de la croissance avec/sans N-acétylcystéine (NAC). La solution dépourvue d'Ag sert de témoin. La concentration de nanoparticules d'Ag et de nitrate d'argent est de 33 nM. Chaque point représente la moyenne F SD. ** : Significativement différent du témoin (P b .01).

ont été préparés sous forme de poudre en agitant la solution de nanoparticules d'Ag avec une barre de Zn, provoquant l'agrégation des nanoparticules d'Ag. Dans la figure 6, les pics de m1 et m2 indiquent les pics de contrôle du manganèse standard, et le pic central (mT : 336,337) indique l'existence de radicaux libres à partir des nanoparticules d'Ag, ce qui confirme que les nanoparticules d'Ag sont libres.

la génération radicale de nanoparticules d'Ag pourrait être responsable des effets antimicrobiens.

Effet antioxydant des nanoparticules d'Ag et du nitrate d'argent dans l'activité antimicrobienne

Pour déterminer la relation entre les radicaux libres et l'activité antimicrobienne, nous avons utilisé l'antioxydant NAC pour tester si l'antioxydant pouvait influencer l'activité antimicrobienne induite par les nanoparticules d'argent. Dans la figure 7, les nanoparticules d'Ag et le nitrate d'argent ont montré un effet inhibiteur de croissance similaire contre E. coli. Cependant, cet effet inhibiteur a été aboli par l'ajout de NAC. La NAC seule n'a pas affecté l'activité antimicrobienne.

Discussion

Il est bien connu que les ions Ag et les composés à base d'Ag ont de forts effets antimicrobiens [12], et de nombreux chercheurs sont intéressés par l'utilisation d'autres nanoparticules inorganiques comme agents antibactériens [4,12-14]. Ces nanoparticules inorganiques présentent un avantage distinct par rapport aux agents antimicrobiens chimiques conventionnels. Le problème le plus important causé par les agents antimicrobiens chimiques est la résistance multidrogue. En général, le mécanisme antimicrobien des agents chimiques dépend de la liaison spécifique avec la surface et du métabolisme des agents dans le micro-organisme. Divers micro-organismes ont développé une résistance aux médicaments au fil de nombreuses générations. Jusqu'à présent, ces agents antimicrobiens à base de produits chimiques ont été

Machine Translated by Google

Les ions Ag et les sels d'Ag sont efficaces pour la thérapie ; cependant, ils ont été limités à l'utilisation pour les dispositifs médicaux et en prophylaxie dans les installations antimicrobiennes. Par conséquent, une autre façon de surmonter la résistance aux médicaments de divers micro-organismes est désespérément nécessaire, en particulier dans les dispositifs médicaux, etc. Les ions Ag et les sels d'Ag sont utilisés depuis des décennies comme agents antimicrobiens dans divers domaines en raison de leur capacité inhibitrice de croissance contre les micro-organismes. En outre, de nombreux autres chercheurs ont essayé de mesurer l'activité des ions métalliques contre les micro-organismes. Des études de Russel et Hugo sur les propriétés antimicrobiennes de l'Ag et du Cu [15], et de Marsh sur le Zn ont été rapportées [16]. Cependant, les ions ou sels d'Ag n'ont qu'une utilité limitée en tant qu'agent antimicrobien pour plusieurs raisons, notamment les effets interférents des sels et le mécanisme antimicrobien de [la libération continue d'une concentration suffisante d'ions Ag à partir de la forme métallique.] En revanche, ces types de limitations peuvent être surmontées par l'utilisation de nanoparticules d'Ag. Cependant, pour utiliser l'Ag dans divers domaines contre les micro-organismes, il est essentiel de préparer l'Ag avec des méthodes rentables et de connaître le mécanisme de l'effet antimicrobien.

En outre, il est important de renforcer l'effet antimicrobien.
Dans cette étude, nous rapportons que les nanoparticules d'Ag peuvent être préparées de manière rentable et que ces nanoparticules d'Ag sont homogènes et stables (Figures 1 et 2). La taille nanométrique a permis l'expansion de la surface de contact de l'Ag avec les micro-organismes, et cette échelle nanométrique est applicable aux dispositifs médicaux par des agents de revêtement de surface.

Dans cette étude, pour évaluer les effets antimicrobiens contre divers micro-organismes, nous avons utilisé trois micro-organismes représentatifs, la levure, E. coli et S. aureus. Il y avait des différences nettes entre eux. Lorsque les nanoparticules d'Ag ont été testées sur la levure et E. coli, elles ont efficacement inhibé la croissance bactérienne. Dans nos résultats, les nanoparticules d'Ag ont montré une activité antimicrobienne contre la levure et E. coli (Figures 3 et 4) qui était similaire à celle trouvée par Sondi et Salopek-Sondi [17].
En revanche, l'effet inhibiteur des nanoparticules d'Ag était modéré chez S. aureus par rapport à d'autres micro-organismes ; ces résultats suggèrent que les effets antimicrobiens des nanoparticules d'Ag peuvent être associés aux caractéristiques de certaines espèces bactériennes. Les bactéries Gram-positives et Gram-négatives présentent des différences dans leur structure membranaire, la plus distinctive étant l'épaisseur de la couche de peptidoglycane. Nous pensons que l'efficacité moindre des nanoparticules d'Ag contre S. aureus peut provenir de la différence en tant que point de structure membranaire. Pour confirmer cette hypothèse, une étude comparative plus approfondie entre diverses espèces bactériennes Gram-négatives et Gram-positives est nécessaire.
La couche de peptidoglycane est une caractéristique membranaire spécifique des espèces bactériennes et non des cellules de mammifères. Par conséquent, si l'effet antibactérien des nanoparticules d'Ag est associé à la couche de peptidoglycane, il sera plus facile et plus spécifique d'utiliser les nanoparticules d'Ag comme agent antibactérien.

Pour identifier la différence d'activité antimicrobienne entre les nanoparticules d'Ag et d'autres nanoparticules métalliques, nous avons effectué le test d'inhibition de la croissance avec 30 nM Au nanoparticule. Nous avons également voulu estimer les effets secondaires potentiels d'autres composants qui pourraient être inclus dans la solution de nanoparticules d'Ag. Ainsi, nous avons préparé un véhicule témoin, dans lequel les nanoparticules d'Ag ont été éliminées par sédimentation. Nos résultats n'indiquent aucune activité antimicrobienne cruciale dans les nanoparticules d'Au ou dans le véhicule témoin, ce qui suggère que l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'Ag est un événement spécifique à l'Ag dans nos conditions expérimentales (Figures 3-5).

Le mécanisme des effets inhibiteurs des ions Ag sur les micro-organismes est partiellement connu. Certaines études ont rapporté que la charge positive de l'ion Ag est cruciale pour son activité antimicrobienne via l'attraction électrostatique entre la membrane cellulaire chargée négativement du micro-organisme et les nanoparticules chargées positivement [14,18,19]. En revanche, Sondi et Salopek-Sondi [17] ont rapporté que l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'argent sur les bactéries Gram-négatives dépendait de la concentration de nanoparticules d'Ag et était étroitement associée à la formation de dpitsT dans la paroi cellulaire des bactéries.

Ensuite, les nanoparticules d'Ag accumulées dans la membrane bactérienne ont provoqué la perméabilité, entraînant la mort cellulaire. Cependant, comme ces études incluaient à la fois des ions Ag chargés positivement et des nanoparticules Ag chargées négativement, elles ne suffisent pas à expliquer le mécanisme antimicrobien des nanoparticules Ag chargées positivement. Par conséquent, nous pensons qu'il existe un autre mécanisme possible. Amro et al. ont suggéré que l'épuisement des métaux peut provoquer la formation de creux de forme irrégulière dans la membrane externe et modifier la perméabilité de la membrane, ce qui est causé par la libération progressive de molécules de lipopolysaccharides et de protéines membranaires [20]. De plus, Sondi et Salopek-Sondi spéculent qu'un mécanisme similaire peut provoquer la dégradation de la structure membranaire d'E. coli pendant le traitement avec des nanoparticules Ag [17]. Bien que leur inférence implique une sorte de mécanisme de liaison, le mécanisme de l'interaction entre les nanoparticules Ag et les composants de la membrane externe n'est toujours pas clair. Récemment, Danilczuk et ses collègues [21] ont signalé des radicaux libres générés par Ag grâce à l'étude ESR des nanoparticules Ag. Nous soupçonnons que le mécanisme antimicrobien des nanoparticules Ag est lié à la formation de radicaux libres et aux dommages membranaires induits par les radicaux libres. Pour confirmer la production de radicaux libres, nous avons analysé les nanoparticules d'Ag par ESR. Dans la figure 6, nous avons observé un spectre ESR spécifique à l'Ag. Le pic obtenu des nanoparticules d'Ag dans un test ESR correspondait à celui obtenu par Danilczuk et al [21]. Pour déterminer la relation entre les radicaux libres et l'activité antimicrobienne, nous avons utilisé l'antioxydant NAC pour tester si l'antioxydant pouvait influencer l'activité antimicrobienne induite par les nanoparticules d'Ag. La figure 7 montre qu'une activité antimicrobienne similaire a été observée entre les nanoparticules d'Ag et le nitrate d'argent contre E. coli. Cependant, l'activité antimicrobienne des nanoparticules d'Ag et du nitrate d'argent a été influencée par le NAC. Les résultats de l'ESR et de l'étude antioxydante suggèrent que les radicaux libres peuvent provenir de la surface des nanoparticules d'Ag.

Machine Translated by Google

particules et être responsables de l'activité antimicrobienne dans nos conditions expérimentales.

En conclusion, les nanoparticules d'argent préparées par la méthode de réduction économique décrite ici sont très prometteuses en tant qu'agents antimicrobiens. Les applications des nanoparticules d'argent basées sur ces résultats peuvent conduire à des découvertes précieuses dans divers domaines tels que les dispositifs médicaux et les systèmes antimicrobiens.

Remerciements

Ce travail a été soutenu par le programme NSI-NCRC du KOSEF. DHJ a été soutenu par le programme BK21. HJL a été soutenu par la subvention de la Fondation coréenne pour la recherche financée par le gouvernement coréen (MOEHRD) (R05-2004-10627-0).

Références

[1] Jones SA, Bowler PG, Walker M, Parsons D. Contrôle de la charge biologique des plaies avec un nouveau pansement Hydrofiber contenant de l'argent. Wound Repair Regen 2004;12(3):288 - 94.

[2] Silver S, Phung LT. Résistance bactérienne aux métaux lourds : de nouvelles surprises. Annuel Rev Microbiol 1996;50:753 - 89.

[3] Catauro M, Raucci MG, De Gaetano FD, Marotta A. Verre Na2O CaO 2SiO2 antibactérien et bioactif contenant de l'argent préparé par la méthode sol-gel. J Mater Sci Mater Med 2004;15(7):831 - 7.

[4] Crabtree JH, Burchette RJ, Siddiqi RA, Huen IT, Handott LL, Fishman A. L'efficacité des cathéters implantés aux ions argent dans la réduction des infections liées à la dialyse péritonéale. Perit Dial Int 2003;23(4): 368 - 74.

[5] Zhao G, Stevens Jr SE. Paramètres multiples pour l'évaluation complète de la sensibilité d'Escherichia coli à l'ion argent. Biométaux 1998;11:27 - 32.

[6] Aymonier C, Schlotterbeck U, Antonietti L, Zacharias P, Thomann R, Tiller JC, et al. Hybrides de nanoparticules d'argent avec des macromolécules hyperramifiées amphiphiles présentant des propriétés antimicrobiennes. Chem Commun (Camb) 2002;24:3018 - 9.

[7] Mirkin CA, Taton TA. Les semi-conducteurs rencontrent la biologie. Nature 2000;405:626 - 7.

[8] Creighton JA, Blatchford CG, Albrecht MG. Amélioration de la résonance plasmatique de la diffusion Raman par la pyridine adsorbée sur de l'argent ou particules de sol d'or de taille comparable à la longueur d'onde d'excitation. J Chem Soc Faraday Trans II 1979;75:790 - 8.

[9] Suh JS, DiLella DP, Moskovits M. Spectroscopie Raman exaltée en surface de systèmes métalliques colloïdaux : un équilibre de phase bidimensionnel dans l'acide p-aminobenzoïque adsorbé sur l'argent. J Phys Chem 1983;87:1540 - 4.

[10] Lee MG, Lee KT, Chi SG, Park JH. Costunolide induit l'apoptose par la transition de perméabilité mitochondriale médiée par les ROS et la libération du cytochrome c. Biol Pharm Bull 2001;24(3):303 - 6.

[11] Mendis E, Rajapakse N, Byun HG, Kim SK. Étude des effets antioxydants in vitro des peptides de gélatine de la peau de calmar géant (Dosidicus gigas). Life Sci 2005 ; 77 : 2166 - 78.

[12] Furno F, Morley KS, Wong B, Sharp BL, Arnold PL, Howdle SM, et al. Nanoparticules d'argent et dispositifs médicaux polymères : une nouvelle approche de la prévention des infections. J Antimicrob Chemother 2004 ; 54 : 1019 - 24.

[13] Abuskhuna S, Briody J, McCann M, Devereux M, Kavanagh K, Fontecha JB, et al. Synthèse, structure et activité antifongique de complexes dimériques Ag(I) contenant des ligands bis-imidasole. Polyhe-dron 2004;23:1249 - 55.

[14] Hamouda T, Myc A, Donovan B, Shih A, Reuter JD, Baker Jr JR. Une nouvelle nanoémulsion tensioactive avec une activité antimicrobienne topique non irritante unique contre les bactéries, les virus enveloppés et les champignons. Microbiol Res 2000;156:1 - 7.

[15] Russel AD, Hugo WB. Activité antimicrobienne et action de l'argent. Prog Med Chem 1994;31:351-70.

[16] Marsh PD. Aspects microbiologiques du contrôle chimique de la plaque et de la gingivite. J Dent Res 1992;71:1431 - 8.

[17] Sondi I, Salopek-Sondi B. Nanoparticules d'argent comme agent antimicrobien : une étude de cas sur E. coli comme modèle pour les bactéries Gram-négatives. J Colloid Interface Sci 2004;275:177 - 82.

[18] Dibrov P, Dzioba J, Gosink KK, H7se CC. Mécanisme chimio-osmotique de l'activité antimicrobienne de l'Ag(+) chez Vibrio cholerae. Agents antimicrobiens Chemother 2002;46:2668 - 70.

[19] Dragieva I, Stoeva S, Stoimenov P, Pavlikianov E, Klabunde K. Formation de complexes dans des solutions pour la synthèse chimique de particules nanométriques préparées par le procédé de réduction au borohydrure. Nanostruct Mater 1999;12:267 - 70.

[20] Amro NA, Kotra LP, Wadu-Mesthrige K, Bulychev A, Mobashery S, Liu G. Études par microscopie à force atomique à haute résolution de la membrane externe d'Escherichia coli : base structurelle de la perméabilité. Langmuir 2000;16:2789 - 96.

[21] Danilczuk M, Lund A, Saldo J, Yamada H, Michalik J. Résonance de spin électronique de conduction de petites particules d'argent. Spectrochimaca Acta Part A 2006;63:189 - 91.