

# Effets des nanoparticules d'argent sur les communautés bactériennes

**Laurence VERNIS** | [laurence.vernis-beringue@curie.fr](mailto:laurence.vernis-beringue@curie.fr)

Inserm, UMR3348 CNRS/Institut Curie, Orsay

Mots clés : **Alimentation, dysbiose, flore bactérienne, nanoparticules d'argent, populations bactériennes, sol, toxicité**

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont couramment utilisées dans différents secteurs industriels, (alimentaire, habillement, cosmétique). Connues pour leurs propriétés antibactériennes, elles sont également utilisées dans le domaine médical. En conséquence, nos organismes sont exposés de façon plus ou moins intense aux AgNPs dans la vie de tous les jours. En particulier, lorsqu'elles sont ingérées, ces particules entrent en contact avec les populations bactériennes présentes dans le tube digestif, puis se retrouvent naturellement dans les effluents des stations d'épuration et s'accumulent dans les sols et les sédiments, deux autres compartiments dans lesquels les bactéries jouent un rôle majeur. Il est donc important d'évaluer la toxicité des AgNPs vis-à-vis des populations bactériennes qui assurent l'homéostasie de ces différentes niches.

Le premier article s'intéresse à l'influence des AgNPs sur la flore bactérienne du sol et tente d'évaluer l'effet des particules d'argent ionisées qui apparaissent avec le temps, ainsi que l'effet de la forme des particules, sur la toxicité induite chez une population bactérienne issue d'un échantillon de sol.

Le deuxième article analyse l'altération des populations microbiennes du tube digestif suite à une exposition aux AgNPs contenues dans l'alimentation. Les modifications observées de la flore bactérienne s'apparentent aux modifications décrites dans le cas de maladies métaboliques chroniques, comme le diabète. Cependant, les auteurs ont noté que le vieillissement des aliments s'accompagne de réactions de sulfuration des AgNPs. Ce phénomène est connu pour ralentir l'ionisation des AgNPs et donc leur toxicité (1).

## La forme et la capacité d'ionisation des nanoparticules d'argent influencent la diversité microbienne du sol : les « nanos » contrôlent les « micros ».

Zhai Y. et al. (2016) Silver Nanoparticles, Ions, and Shape Governing Soil Microbial Functional Diversity: Nano Shapes Micro. *Frontiers in microbiology*, vol. 7 : p1123.

### Résumé

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) interfèrent avec les voies métaboliques microbiennes, au niveau de la cellule mais aussi au niveau des populations. L'influence de la forme des particules, ou encore l'importance des ions argent (Ag) relargués, sur la réponse des communautés bactériennes du sol est peu connue; ces aspects ont donc été étudiés en laboratoire. L'étude présentée analyse la contribution relative des espèces d'AgNPs et des espèces d'ions sur la toxicité, ainsi que l'impact de la forme des AgNPs sur la diversité des populations bactériennes du sol. Des échantillons de sol ont été préalablement collectés sur une zone plantée d'arbres à feuilles caduques, et mis en solution dans un tampon à pH 7. Après centrifugation à faible vitesse, les bactéries restent dans le surnageant qui a servi à l'étude. Les populations naturelles présentes dans le sol ont été exposées en laboratoire à différentes concentrations d'AgNPs, sous différentes formes (0,072 à 0,708 mg/L pour les particules sphériques de 15 nm de diamètre, 0,108 à 0,814 mg/L pour les particules sphériques de 20-40 nm de diamètre, 0,070 à 0,678 mg/L pour les particules plates, et 0,141 à 1,529 mg/L pour les particules en bâtonnet de 50 nm), pendant moins de deux heures. Pour réaliser cette expérience, le surnageant de centrifugation contenant les

bactéries a simplement été mélangé à des solutions d'AgNPs. Après exposition aux particules, les bactéries ont été ensemencées sur des milieux standardisés, contenant des sources de carbone et de substrats connus. Les changements métaboliques ont été évalués par mesures optiques et divers paramètres de couleur apparus pendant la croissance des bactéries sur ces milieux, et l'indice de Shannon, qui reflète la diversité bactérienne, a été calculé. Les résultats de cette étude indiquent clairement que la concentration d'AgNPs influe sur la toxicité en plus des ions Ag<sup>+</sup> libérés, et que la forme des AgNPs modifie de façon significative la composition de la population bactérienne. Les effets toxiques des AgNPs sont essentiellement reflétés par la diversité métabolique modifiée de la population bactérienne initiale. Les sols et les sédiments aquatiques sont les compartiments terminaux dans lesquels arrivent les AgNPs via les effluents d'eaux usées. Ainsi le temps de résidence des AgNPs y est plus élevé que dans les systèmes aquatiques, et les AgNPs non- ou peu dégradables s'y accumulent progressivement, ce qui renforce l'intérêt de l'étude selon laquelle à la fois les concentrations, mais aussi la forme des AgNPs jouent un rôle dans la composition des flores bactériennes.

### Commentaire

Cette étude est intéressante car elle s'appuie sur des échantillons naturels du sol, et donc les populations analysées sont tout à fait pertinentes, ce ne sont pas des reconstitutions. Cependant, les conclusions de ce travail ne sont pas facilement utilisables, pour plusieurs raisons. Il aurait d'abord été intéressant de multiplier les échantillons de flore bactérienne, en prélevant les sols dans des sites qui présentent des caractéristiques physicochimiques

différentes, telles que le pH, la salinité, la température, la teneur en fibres diverses, etc..., afin d'en évaluer l'impact. En effet, ces conditions peuvent largement influencer l'ionisation des particules, dont on sait qu'elle est principalement responsable des propriétés bactéricides des AgNPs (3). D'autre part, les sols et les sédiments naturels contiennent des composés variés qui présentent une pertinence écologique vis-à-vis des AgNPs, dans le sens où ils peuvent par exemple accélérer ou ralentir le phénomène de dégradation, de séquestration des AgNPs et modifier leur biodisponibilité. Les résultats obtenus sont probants, mais finalement peu surprenants: l'homéostasie des niches écologiques varie dès qu'un facteur de l'environnement varie, puisque c'est une situation d'équilibre. Il serait pertinent d'évaluer si les variations trouvées parmi les populations bactériennes s'accompagnent d'une altération de la santé globale des sols et des sédiments (matière organique, activité biologique, stabilité et densité des agrégats et texture du sol...).

### L'absorption de nanoparticules d'argent par voie orale perturbe le microbiote intestinal chez la souris.

Van den Brule S. et al. (2016). Dietary silver nanoparticles can disturb the gut microbiota in mice. *Particle and fibre toxicology*, vol13: p38

#### Résumé

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) sont couramment utilisées dans l'industrie agroalimentaire, exposant nos organismes à des doses croissantes d'AgNPs par ingestion (4). A cause de leur activité antibactérienne bien connue, il est possible que ces nanoparticules interfèrent avec le microbiote intestinal. C'est cette question qui est étudiée dans cet article.

Des souris ont été alimentées avec de la nourriture contenant des doses croissantes d'AgNPs (0, 46, 460 or 4600 ppb) pendant 28 jours. La toxicité des particules sur les souris a été évaluée par l'évaluation de la prise de poids, de l'inflammation et de l'intégrité de l'intestin ; l'ADN bactérien a été estimé dans les matières fécales par séquençage de nouvelle génération (NGS). Les résultats obtenus ne montrent pas de toxicité globale chez les souris exposées; cependant les richesses spécifiques  $\alpha$  (nombre d'espèces) et  $\beta$  (nombre d'individus par espèce) ont été diminuées suite à l'exposition. Le ratio entre le phylum des *Firmicutes* (bactéries à Gram positif) et celui des *Bacteroides* (bactéries à Gram négatif anaérobies strictes) a augmenté. Cette donnée s'explique notamment par une augmentation en nombre des bactéries de la famille des *Lachnospiraceae* (*Firmicutes*) et une diminution des bactéries de la famille *S24-7* (*Bacteroides*). La production d'ions Ag issus des particules semble expliquer l'effet sur les bactéries, puisqu'avec une alimentation ne permettant pas le relargage d'ions Ag+, l'effet n'est plus observé.

#### Commentaire

Les doses de nanoparticules utilisées dans cette étude n'ont pas induit de toxicité notable chez les souris exposées, alors que plusieurs études précédentes, utilisant des doses entre 5 et 500 fois plus élevées, avaient montré une toxicité importante. Ce point est donc intéressant car il se situe à des doses subtoxiques<sup>5</sup>, qui se rapprochent de celles rencontrées par nos organismes dans la vie courante. L'analyse des perturbations de la flore indique qu'elles sont similaires à celles observées au cours de maladies métaboliques telles que le diabète (dysbiose<sup>6</sup>), et on mesure désormais les nombreuses fonctions physiologiques du microbiote intestinal, considéré comme un « organe métabolique » à part entière (5). Il serait donc important dans l'avenir de rechercher des corrélations entre exposition chronique aux AgNPs, et survenue de pathologies liées à des dysbioses, telles que l'asthme, le diabète et l'obésité, dont l'incidence augmente très rapidement dans la population, ou encore l'intestin irritable ou la maladie de Crohn.

Un point non envisagé dans cette étude est la réversibilité de l'effet observé. Il serait intéressant de constater si la perturbation observée sur les populations bactériennes est réversible à plus ou moins long terme, et si le microbiote intestinal retrouve son état d'équilibre initial après une exposition aux AgNPs, à des concentrations et sur une durée variables.

#### CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces deux études analysent l'impact d'AgNPs sur deux populations de bactéries : les bactéries du sol, et les bactéries de la flore intestinale, et les conclusions ont donc à la fois des portées écologiques et en santé. Elles utilisent des doses d'AgNPs assez faibles, qui n'induisent pas ou peu de toxicité chez les animaux, se rapprochant ainsi des doses auxquelles nos organismes peuvent se retrouver confrontés. Les deux publications concluent à un effet observable et notable sur les populations bactériennes considérées. Ainsi, ces données justifient de surveiller l'apparition d'effets chroniques, éventuellement associées à une exposition longue à de faibles doses. L'effet observé sur les sols suggère de surveiller désormais l'accumulation des particules dans ces compartiments situés en bout de chaîne (sols, sédiments aquatiques, nappes), consécutive à une utilisation massive des AgNPs dans de nombreuses industries, afin de prévenir des concentrations trop importantes. L'effet observé sur le microbiote intestinal souligne la nécessité de surveiller l'apparition de pathologies dans la population générale, connues pour être en lien avec des dysbioses (asthme, diabète, obésité...) et d'analyser d'éventuelles corrélations avec l'exposition aux AgNPs.

**GENERAL CONCLUSION**

*AgNPs' influence on two bacterial communities from soil and mouse gut has been studied. AgNPs levels used for these experiments are low and do not induce cell toxicity, and close to actual doses human organisms are exposed to. Both articles conclude that alterations in bacterial population (soil and gut) are observable and noticeable. Because ecological niches considered are different, conclusions raise health and ecological questions. Impact observed on soil suggests it might be relevant to monitor the accumulation of particles in some particular ecological compartments, such as soil, sediments from aquatic environment, ground water, that are in terminus position of the ecological chain, to prevent from reaching massive concentrations. Impact observed on gut microbiota underlines the need to surveil the development of particular diseases in the general population, known to be related to dysbiosis (asthma, diabetes, obesity...) and to analyse possible correlations with exposure to AgNPs.*

**Lexique**

**Dysbiose** : altérations de la flore intestinale ayant des conséquences négatives pour l'organisme hôte

**Homéostasie** : état d'équilibre d'un système biologique, maintenu autour d'une valeur bénéfique

**Ionisé** : atome ou molécule devenu électriquement chargé suite à l'acquisition ou à la perte de charge(s) électrique(s).

**Niche** : espace contraint caractérisé par des paramètres biologiques (espèces bactériennes ici) et physico-chimiques donnés, au sein d'un éco-système.

**Nanoparticules** : nano-objets dont les trois dimensions sont à l'échelle nanométrique, c'est-à-dire des particules dont le diamètre nominal est inférieur à 100 nm.

**Microbiote intestinal** : synonyme de flore intestinale, c'est l'ensemble des microorganismes présents dans le tube digestif d'un individu

**Subtoxique** : relatif à une dose très inférieure à la dose toxique qui entraîne la mort cellulaire.

**Sulfuration** : réaction chimique qui rajoute du soufre à un composé. Cette réaction peut se produire en particulier dans certains processus de corrosion des métaux.

**Publications de référence**

**1 Levard, C., Hotze, E. M., Colman, B. P., Dale, A. L., Truong, L., Yang, X. Y., Bone, A. J., Brown, G. E., Jr., Tanguay, R. L., Di Giulio, R. T., Bernhardt, E. S., Meyer, J. N., Wiesner, M. R., and Lowry, G. V.** (2013) Sulfidation of silver nanoparticles: natural antidote to their toxicity. *Environmental science & technology* 47, 13440-13448

**2 Garland, J. L., and Mills, A. L.** (1991) Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source

utilization. *Applied and environmental microbiology* 57, 2351-2359

**3 Volker, C., Oetken, M., and Oehlmann, J.** (2013) The biological effects and possible modes of action of nanosilver. *Rev Environ Contam Toxicol* 223, 81-106

**4 Anses.** (2015) Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'expertise concernant la mise à jour des connaissances sur « l'évaluation des risques sanitaires et environnementaux liés à l'exposition aux nanoparticules d'argent ». Saisine n° 2011-SA-0224

**5 Aitken, J. D., and Gewirtz, A. T.** (2013) Gut microbiota in 2012: Toward understanding and manipulating the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 10, 72-74

**Revue de la littérature**

**Fröhlich, E. E., and Fröhlich, E.** Cytotoxicity of Nanoparticles Contained in Food on Intestinal Cells and the Gut Microbiota. *International Journal of Molecular Sciences* 2016; 17, 509

**Williams, K. M., Gokulan, K., Cerniglia, C. E., and Khare, S.** Size and dose dependent effects of silver nanoparticle exposure on intestinal permeability in an in vitro model of the human gut epithelium. *Journal of Nanobiotechnology* 2016; 14, 62.

**Liens d'intérêts :**

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt