

抗菌生物材料的抗细菌黏附能力

许亚夫

文章亮点: 随着生物材料和人工器官的广泛应用, 在置入到人体的过程中容易引起细菌感染的发生, 这种现象越来越被学者们所重视, 通过对生物材料表面进行改性处理, 可以抑制生物膜在材料表面的形成以及增加材料表面的抗菌能力。在抗菌生物材料的制备中, 抑制生物材料表面黏附的同时还要考虑到生物材料表面的物理化学结构以及表面性能对细菌黏附的影响, 在杀菌生物材料的设计时还要考虑到生物材料的杀菌性能和血液相容性。

关键词: 生物材料; 细菌; 感染; 细菌黏附; 抗生素; 生物膜; 人工器官; 材料表面改性; 杀菌剂; 血液相容性

摘要

背景: 由于生物材料和人工器官在临床应用逐渐增多, 给临床患者进行治疗疾病的同时还存在着一些问题, 最为常见的是生物材料植入人体后引起的细菌感染。

目的: 探讨生物材料在抗细菌黏附中的作用, 抗菌生物材料的分类及特点。

方法: 生物材料在机体引起各种感染的原因是由于细菌生物膜的形成, 防止生物材料置入后感染的关键是抑制细菌在生物材料表面的黏附以及防止细菌在生物材料表面形成细菌生物膜。细菌表面黏附重点是改变细菌自身的特性和材料表面的物理化学性质, 通过改变材料的物理化学性质来减小材料和细菌之间的相互作用力, 主要采用化学接枝法、等离子体法、气相沉淀法等。预防细菌黏附首先要增强机体的免疫防御能力, 其次要使界面快速的被组织覆盖, 形成严密的连结界面。

结果与结论: 抗菌生物材料分为无机抗菌生物材料、天然抗菌生物材料和合成抗菌生物材料, 无机抗菌材料以银系材料为主, 天然抗菌生物材料以壳聚糖研究为较多, 合成抗菌生物材料以季铵盐类材料为代表, 各种材料都具有各自的优缺点, 需要进一步的体内外基础实验和临床研究来验证和推动抗菌生物材料的发展。

赣南医学院资产管理处, 江西省赣南市 341000

许亚夫, 男, 1958年生, 广东省汕头市人, 2006年江西广播电视大学毕业, 实验师, 主要从事生物膜材料和支架材料的研究。

xuyafu@gmail.com

中图分类号:R318

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2012)51-09671-08

收稿日期: 2011-12-22

修回日期: 2012-11-30

(20120424008/LYL)

Anti-bacterial and adhesion ability of antibacterial biomaterials

Xu Ya-fu

Abstract

BACKGROUND: Due to the gradually increasing clinical application of biomaterials and artificial organs, there are still some problems during the treatment of diseases. The most common problem is the bacterial infection after biomaterials are implanted into the human body.

OBJECTIVE: To explore the effect of biomaterials on the anti-bacterial adhesion as well as the classification and characteristics of antibacterial biomaterials.

METHODS: The reason of a variety of infections caused by the biomaterials in the body is the formation of bacterial biofilms, therefore, the key to prevent infection after the biomaterials implantation is to inhibit bacterial adhesion on the surface of biomaterial as well as to prevent the formation of bacterial biofilms of bacteria on the surface of the biological material. The key of bacterial surface adhesion is to change the characteristics of the bacteria and the physical and chemical property of material surface, and the chemical grafting method, plasma method and gas phase precipitation method are mainly used to reduce the interaction forces between the material and bacteria. To prevent bacterial adhesion, it is firstly to enhance the body's immune defense ability, and secondly to make the interface covered with tissue rapidly and form a tight link interface.

RESULTS AND CONCLUSION: Antibacterial biomaterials can be divided into inorganic antimicrobial biomaterials, natural antimicrobial biomaterials and synthetic antibacterial biomaterials. These three kinds of biomaterials mainly focus on silver-based materials, the chitosan, and the synthetic antibacterial biomaterials, and the quaternary ammonium salts materials, respectively. Each kind of material has its own advantages and disadvantages. Further *in vitro* and *in vivo* basic experiments and clinical studies are needed to verify and promote the development of antibacterial biomaterials.

Xu YF. Anti-bacterial and adhesion ability of antibacterial biomaterials. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(51): 9671-9678.

Department of Asset Management, Gannan Medical University, Gannan 341000, Jiangxi Province, China

Xu Ya-fu, Lab technician, Department of Asset Management, Gannan Medical University, Gannan 341000, Jiangxi Province, China

Received: 2011-12-22
Accepted: 2012-11-30

0 引言

人们发现生物材料在置入到人体时常会引起各种细菌的感染^[1-4], 这是由于材料与人的血液和组织中含有的纤维黏结蛋白等物质会吸附在材料的表面, 同时细菌也会吸附在材料的表面生长和繁殖, 并分泌细胞外基质, 与细菌逐渐形成顽固的水合多聚糖性质的生物活性膜, 即细菌生物膜(Biofilm)^[5]。

细菌生物膜可以使游离的细菌黏附在生物膜的表面, 使细菌不受环境的影响, 避免细菌在抗生素和机体免疫系统作用下被杀灭和吞噬。生物膜内部的细菌自身同时还可以降低代谢率, 在能量供给不足的情况下还能够长期存活, 同时增强细菌的抗药性和自身的毒力, 从生物膜内游离或释放出来的细胞进入组织和血液中, 使生物膜内的细菌成为慢性感染源。因此, 防止生物材料置入后感染的关键是抑制细菌在生物材料表面的黏附以及防止细菌在生物材料表面形成细菌生物膜。

影响细菌表面黏附的因素主要有细菌自身的特性和生物材料表面的物理化学性质。由于细菌的自身特性难以改变, 通过改变生物材料表面的物理化学性质, 可以减小材料和细菌之间的相互作用力, 进而防止细菌在生物材料表面黏附, 达到防止细菌生物膜的形成目的。主要采用化学接枝法^[6]、等离子体法^[7]、气相沉淀法等对生物材料进行表面改性以减少细菌在材料表面的黏附^[8]。

1 生物材料表面的细菌黏附

研究发现生物材料表面的化学性质、临界表面张力、临界表面性能、亲水疏水性、表面电荷作用等对表面细菌黏附影响较大。生物材料表面特性是决定血浆蛋白吸附种类的关键, 血浆蛋白在生物材料表面吸附主要集中在纤维蛋白原、球黏结蛋白、纤维黏结蛋白和黏结白蛋白。这些蛋白也是决定生物膜成份的重要因素。如吸附的是纤维蛋白原、纤维黏结蛋白, 就有利于表面细菌黏

附, 还与血小板形成了复合体, 在生物材料表面形成含有细菌的血栓, 即赘生物的重要成分。如吸附的是白蛋白, 就很少与血小板形成复合体, 抑制表面细菌的黏附。生物材料表面有许多能与细菌细胞分子和元素发生作用的结合位点, 通常黏附到有趋向浓缩营养物质和表面产生刺激增生的自由能所在部位。

生物材料的置入过程增加了细菌侵入的途径, 而且感染的细菌种类多样化。如血管内的导管应用时污染率有所增加, 体外循环时血中的细菌培养阳性率也有很大增加, 即使在无菌的环境中操作, 使用空气净化装置, 术中严格无菌操作, 这些都很难避免造成细菌感染。生物材料作为异物植入到机体后, 会导致异物的排斥反应。生物膜还能防止机体的免疫吞噬作用, 降低机体正常的防御功能。

生物材料表面吸附的蛋白不同, 同时使黏附的细菌也不同。纤维粘连蛋白能够促进葡萄球菌的相互连结和聚集, 增加细菌在生物材料表面的附着。纤维粘连蛋白在细菌黏附中作用的研究有很多, 由于纤维粘连蛋白是一种可溶性的大分子物质, 在生物材料表面生物膜形成中以一种不溶解的形式存在着。

葡萄球菌就分别在其氨基末端和碳端发生结合, 结合的位点同时处于暴露状态, 使细菌与生物材料表面的黏附加快速度。纤维蛋白原可以直接促进金黄色葡萄球菌对生物材料表面的黏附, 对凝固酶阴性的葡萄球菌作用较弱。有学者还从金黄色葡萄球菌的表面分离与纤维蛋白原有密切关系的蛋白质, 作为受体调节葡萄球菌与纤维蛋白原之间的凝集反应。

在预防细菌黏附的研究中, 由于作用机制非常复杂, 防治细菌黏附的方法也较多。首先, 增强宿主的免疫防御能力, 争取在细菌黏附前将细菌杀灭, 这也是目前提出的手术预防性应用抗生素的关键。大多数学者不是赞同在治疗早期足量应用抗生素的方法, 由于时间抗生素应用时间早, 生物膜形成不完全, 可以杀灭许多游离的细菌。对生物在

大剂量和长时间应用抗生素防治细菌黏附的观点上存在着不同的看法。其次，防止细菌黏附在生物材料表面的方法是使界面快速的被组织覆盖，形成严密的连结界面，细菌很难在活的、完整的细胞上黏附，再加上机体的防御能力，可以有效的保护生物材料，避免感染的发生，这也是生物材料改性后抗菌黏附的正确方向。

2 抗菌生物材料的分类

抗菌生物材料的分类、作用机制以及特点^[9]，见表1。

表1 抗菌生物材料的分类、作用机制以及特点

分类	主要品种	作用机制	优点	缺点
无机抗菌材料	银-活性炭、银-沸石、银-磷酸锆、银-硅胶、银-二氧化钛、银、锌、铜等金属离子及其氧化物	金属可与细菌或霉菌细胞中物质反应，破坏蛋白质的代谢而抑制细菌繁殖	安全性高，耐热性好，持续性好，抗菌范围广，有效期长	价格高，金属银存在变色问题
天然抗菌材料	壳聚糖、山梨酸、鱼精蛋白、桂皮油、罗汉柏油	使细胞壁破坏、阻碍细胞自由活动 DNA 的合成受阻	安全性高、抗菌率高	寿命短，耐热性差
合成抗菌材料	酚醚类、苯酚类、季铵盐类、双胍类、异噻唑类、有机卤素化合物、嘧啶类、咪唑类、噻唑类、砒类	破坏细胞膜、蛋白质变性，代谢受阻	抗菌范围广，杀菌速度快	毒性大，易水解，使用寿命短

3 抗菌生物材料的相关研究

3.1 资料来源 检索数据库有关抗菌生物材料研究和临床应用的文献^[10]，检索时间范围2003至2012年，检索词为“细菌黏附；抗菌；生物材料”，检索相关文献116篇，纳入结果分析文献19篇^[11-25, 28-29, 31-32]。

3.2 纳入标准 ①与生物材料表面细菌黏附研究相关的文献。②与抗菌生物材料相关的基础和临床研究文献。

3.3 排除标准 重复研究、普通综述或Meta分析类文章。

3.4 分析指标 ①无机抗菌生物材料的相关研究。②天然抗菌生物材料的相关研究。③合成抗菌生物

材料的相关研究。

4 无机抗菌生物材料的研究

4.1 银系无机抗菌生物材料研究 银系无机抗菌生物材料是金属离子抗菌材料中研究最多的，银系无机抗菌生物材料的杀菌能力相对较强，金属离子杀菌和抑制病原体活性能力顺序是 $Ag^+ > Hg^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Cr^{3+} > Pd^{2+} > Co^{4+} > Zn^{2+} > Fe^{3+}$ ，由于银离子具有破坏细菌和病毒的细胞分裂和呼吸功能的作用，因此，具有成为抗菌生物材料的潜在特点。

银系无机抗菌材料是通过离子间交换和物理吸附等作用使银离子沉淀在生物材料表面或介孔中，常用的载体有沸石、膨润土、蒙脱石、硅胶、羟基磷灰石等材料。银系无机抗菌生物材料研究的相关文献，见表2。

表2 银系无机抗菌生物材料研究的相关文献

载体	改性方法	相关研究
沸石	酸处理改性	应用7%的稀硫酸溶液浸渍水洗天然沸石2 h，再用蒸馏水清洗，在氢氧化钠中调至pH值到7，烘干，冷却至室温，制作样品，酸处理后的沸石有一些氧化铁等物质会溶解，除磷率明显提高，氢离子参与置换后能明显提高沸石的吸附能力 ^[11]
	碱处理改性	将天然沸石放入氢氧化钠溶液中浸泡1 d，冲洗后烘干，碱处理后的沸石对氨氮的去除率提高10%，碱处理的关键是控制处理液的浓度，浓度过高会降低沸石的性能 ^[12]
	盐处理改性	用0.3 mol/L的氯化钠溶液在100℃下对沸石表面进行改性，氨氮转换沸石中的钙离子和镁离子，去除率可提高到87.9% ^[13]
	热处理改性	在300℃的热处理下，银离子的溶出量最大，适宜的温度处理可以提高载银沸石银离子的溶出量，温度过高时，会破坏沸石的晶体结构，温度过低溶出量也会降低 ^[14]
磷酸盐	晶体结构改性	研究锆磷比为1:2和2:3两种晶体类型的磷酸锆对银离子的交换量，发现2:3的晶体，即六面体的磷酸锆对银离子的交换容量最高 ^[15]
	表面改性	用硅烷、硼酸酯、铝酸酯对载银磷酸锆粉体进行表面改性，可以提高其疏水性和分散性，用硼酸酯改性的粉体疏水性和分散性最好 ^[16]
纳米载银	二氧化钛	用工业级普通二氧化钛和硝酸银为原料制成纳米载银二氧化钛抗菌材料，测试在无光照时的抗菌性能，在≥40 min振荡接触时间后，无光照和有光照的抗菌效率相同 ^[17]
	分散剂	在纳米银/聚合物中加入反絮凝剂和表面活性剂使纳米银均匀分布 ^[18]
	复合抗菌剂	以银、钛、锡为组成的新型纳米无机复合抗菌剂，对杀灭真菌效果明显，不易变色和团聚 ^[19]

4.2 铜系无机抗菌生物材料研究 陶梅等^[20]对铜型无机抗菌材料进行研究，添加电解质、表面活性剂和有

机溶剂对铜型抗菌白炭黑性能的影响。采用溶胶-凝胶法制备出白炭黑载体, 选用铜离子作为抗菌离子, 亚硝酸钠(电解质)、十二烷基苯磺酸钠(表面活性剂)和乙醇(有机溶剂)作为添加剂。运用粒度分布仪等对改性后的抗菌白炭黑进行表征, 采用菌落计数法(菌种选用大肠杆菌)对改性后样品的抗菌性能进行研究。通过改性铜型抗菌白炭黑的抗菌离子含量和杀菌率均有所提高, 粒径均一, 粒度分布窄, 热稳定性较好。

4.3 锌系无机抗菌生物材料研究 邱凡珠等^[21]以铝酸酯、硅烷、硼酸酯偶联剂为改性剂, 分别对载锌抗菌剂粉体进行表面改性, 并用吸水性测定法、粘度法、红外光谱法评价抗菌粉体表面改性效果。用扫描电镜观察了抗菌粉体在乙烯/醋酸乙烯共聚物基材中的分散性, 以及对发泡材料泡孔的影响, 同时检测乙烯/醋酸乙烯共聚物/抗菌粉体复合发泡材料的力学性能和抗菌性能。

铝酸酯、硅烷、硼酸酯这 3 种偶联剂中, 硼酸酯偶联剂的表面改性效果是最好的, 抗菌粉体表面与硼酸酯能够产生明显的化学键合, 加入 2% 抗菌粉体的乙烯/醋酸乙烯共聚物发泡材料, 撕裂强度和断裂伸长率都有所提高, 密度有所降低, 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌都有很好的抗菌作用和抑菌效果。

4.4 钛系无机抗菌生物材料研究 钛系无机抗菌生物材料相关研究文献, 见表 3。

表 3 钛系无机抗菌生物材料研究的相关文献

第一作者	改性方法	实验步骤	实验结果
邓嘉胤 ^[22]	研究实验室电解法对纯钛样板放电对其表面化学结构的改变	容器中放入不同的电解质溶液, 浸入相同规格纯钛样板, 连接直流电源的正极, 再浸入 1 片阴极板, 向钛样板放电, 从而改变标本表面成分。培养口腔常见细菌, 观察处理后的样本对细菌生长繁殖的影响	不同电解质处理的纯钛样板的抗菌性能不同, 与未经处理的纯钛样板比较, 含氯的样本具有较强的抗菌活性, 对口腔常见细菌有较弱的抗菌活性
赵宝红 ^[23]	应用微弧氧化法对纯钛进行表面改性, 形成含不同浓度钙离子、锌离子的涂层以及对变形链球菌黏附和形态的影响	用微弧氧化法在钛表面制备含不同浓度钙离子、锌离子涂层的 5 组样品, 即低钙组、高钙组、低锌组、中锌组和高锌组, 以未涂层机械抛光组作为对照组, 用贴膜法评价 6 组钛样品对变形链球菌抗菌性能的影响, 以扫描电镜观察细菌在样品表面黏附数量和菌体形态的变化	与未涂层机械抛光组相比, 低钙组、高钙组抗菌性能无显著差异, 含锌组抗菌效果显著, 高锌组抗菌性显著高于低锌组。扫描电镜观察含锌组可影响细菌的黏附数量和菌体形态, 且与锌的含量有关, 微弧氧化法制备的含锌离子涂层可有效抑制变形链球菌的黏附, 并影响其菌体形态, 其具有的抗菌性能随锌含量的升高而增强

4 种无机抗菌材料特性的对比, 见表 4。

表 4 银、铜、锌、钛系列无机抗菌材料特性的对比

材料分类	优点	缺点
银系列	抗菌效果好, 安全性高, 无毒, 耐热性好	价格贵
铜系列	安全性好, 可以混制于其他金属中	有颜色, 效果稍差, 有残留体内的可能性
锌系列	安全性较好, 有一定的抗菌性质	对皮肤有刺激
钛系列	效果持久, 安全性好	加工难, 无光照无效果, 效果评价难, 效果再现性差

5 天然抗菌生物材料

天然抗菌生物材料大多数提取于天然物质, 按材料的来源可以分为植物源抗菌生物材料、动物源抗菌生物材料和微生物源抗菌生物材料, 其中, 植物源抗菌生物材料包括黄连素、鱼腥草素等, 动物源抗菌生物材料主要有氨基酸类、天然肽类、高分子糖类材料, 微生物源抗菌生物材料主要是微生物自身, 由于微生物可以分泌抗菌素, 参与营养和生存空间的竞争, 诱导宿主产生抗病性, 对病原菌可以直接作用。

天然抗菌生物材料按其化学组成可以分为低分子抗菌生物材料和高分子抗菌生物材料。低分子抗菌生物材料主要有生物碱、有机酸、酚类和挥发油等, 高分子抗菌生物材料主要是鞣质、多糖和蛋白等。

壳聚糖在天然抗菌生物材料中研究最多的, 甲壳素是惟一存在的氨基多糖, 可以从甲壳类动物的外壳中提取, 脱乙酰化处理后可以得到壳聚糖产物, 壳聚糖是一种天然生物多糖高分子生物材料, 也是惟一的天然碱性多糖, 仅次于纤维素的产量。

壳聚糖对细菌和真菌的生长有抑制作用^[24-26], 多数学者认为壳聚糖分子链的吡喃糖环上的因子具有抗菌作用, 在酸性条件下, 壳聚糖中的质子化铵吸附在细胞表面形成的高分子膜, 阻碍了营养物质的传输, 使细胞壁和细胞膜的负电荷在细胞表面分布不均匀, 从而容易破裂, 使细菌溶解死亡, 起到抵抗细菌的作用。此外, 通过渗透进入细胞在吸附体内阴离子的细胞质, 发生絮凝作用, 从而起到杀菌的作用。对于革兰阳性细菌细胞壁较厚, 壳聚糖主要作用于细胞表面, 使细菌溶解, 从而杀菌。

对于革兰阴性细菌细胞壁较薄,小分子壳聚糖进入到细胞内发生絮凝作用,干扰细胞的生理活动,起到杀菌作用。此外,壳聚糖的杀菌作用还与脱乙酰度、相对分子质量、溶解用酸、溶液pH值有关^[27]。

侯莹等^[28]采用氧化降解方法对壳聚糖进行水溶性改性,提高溶解性,用壳聚糖作为原料,过氧化氢作为氧化剂,制备低分子量的壳聚糖,并进行纳米化的处理。另一种方法是用壳聚糖和异丙醇介质通过氯乙酸修饰,在碱性的环境中制备O-羧甲基壳聚糖。

结果发现低分子量的壳聚糖制备过程中 $m(\text{过氧化氢}) : m(\text{壳聚糖}) = 3 : 10$, 5 g过氧化氢在4 h内滴加完毕为宜,反应的最佳温度为60℃,最佳反应时间为5 h。制备的低分子量壳聚糖环结构保持完整,氧化断键发生在 β -(1,4)-糖苷键上。形貌为分散的、均匀的球状或类球状小颗粒,平均粒径为0.5 μm 。纳米化处理后平均粒径为20 nm。降解后结晶度明显下降,水溶性提高。对大肠杆菌的抑菌率为94.1%,具有持续且良好的抗菌和抑菌效果。O-羧甲基壳聚糖制备反应的最佳温度为30℃。在滴加氯乙酸的过程中搅拌,产物结构疏松分散,大部分呈颗粒状。结晶度会有一定的下降,水溶性得到了改善。对大肠杆菌的抑菌率为91.3%,具有持续且较好的抗菌和抑菌效果。使用以上两种方法制备的改性壳聚糖作为抗菌剂,采用物理共混法使其与天然胶乳均匀混合,分别得到低分子量壳聚糖抗菌胶乳和O-羧甲基壳聚糖抗菌胶乳。通过抑菌环抗菌性能测试,研究抗菌胶乳对大肠杆菌的抗菌抑菌能力。结果发现最佳的反应条件为pH值8.0,胶乳与低分子量壳聚糖混合后结合紧密,两者之间的结合界面没有明显的变化,与O-羧甲基壳聚糖混合后有细小的裂纹产生。抑菌环检测显示,低分子量壳聚糖抗菌胶乳形成抑菌环的直径为13.5 mm,O-羧甲基壳聚糖抗菌胶乳形成的抑菌环直径为12.5 mm,大于抗菌性能认定标准,对性能更好的低分子量壳聚糖抗菌胶乳进行动物体内相容性实验,表明其在动物体内相容性良好,无细胞毒性。

刘常盛等^[29]通过碱性条件下用氯乙酸对壳聚糖醚化,制备O-羧甲基壳聚糖,改善其溶解性。通过加入硝酸银溶液,采用硼氢化钠进行液相还原,以构筑O-羧甲基壳聚糖-纳米银复合抗菌剂。添加到天然胶乳中,通过共混法制得抗菌天然胶乳。O-羧甲基壳聚糖制备的最佳反应条件在30℃时, $n(\text{壳聚糖}) : n(\text{氯乙酸}) = 1 : 1.5$,氯乙酸在0.5 h内加完;其结构疏松分散,呈大小均匀的球状小颗粒;羧甲基化后结晶度降低,水溶性改善。液相还原法制备出O-羧甲基壳聚糖-纳米银复合抗菌剂;紫外-可见光谱在400 nm左右出现吸收峰。纳米银直径大小为30-40 nm,粒径分布较为集中;O-羧甲基壳聚糖-纳米银复合抗菌剂均匀的混合在胶乳中,复合抗菌剂和胶乳之间结合紧密,复合抗菌剂没有出现团聚现象;复合抗菌剂与天然胶乳混合的最佳混合比例为1 : 1;复合抗菌剂的加入不仅使生物材料具有抗菌性,而且使生物材料的热氧稳定性能得到提高。抗菌胶乳和抗菌导管对金黄色葡萄球的抑菌环直径分别为11.0 mm和10.5 mm;对大肠杆菌的抑菌环直径分别为9.5 mm和8.7 mm,均大于标准所规定的7 mm,说明实验所制备的抗菌胶乳和抗菌胶管均具有抗菌能力。动物实验的结果表明两组的抗菌性存在差异,涂覆抗菌胶乳的抗菌导尿管具有明显的抗菌性。

糖): $n(\text{氯乙酸}) = 1 : 1.5$,氯乙酸在0.5 h内加完;其结构疏松分散,呈大小均匀的球状小颗粒;羧甲基化后结晶度降低,水溶性改善。液相还原法制备出O-羧甲基壳聚糖-纳米银复合抗菌剂;紫外-可见光谱在400 nm左右出现吸收峰。纳米银直径大小为30-40 nm,粒径分布较为集中;O-羧甲基壳聚糖-纳米银复合抗菌剂均匀的混合在胶乳中,复合抗菌剂和胶乳之间结合紧密,复合抗菌剂没有出现团聚现象;复合抗菌剂与天然胶乳混合的最佳混合比例为1 : 1;复合抗菌剂的加入不仅使生物材料具有抗菌性,而且使生物材料的热氧稳定性能得到提高。抗菌胶乳和抗菌导管对金黄色葡萄球的抑菌环直径分别为11.0 mm和10.5 mm;对大肠杆菌的抑菌环直径分别为9.5 mm和8.7 mm,均大于标准所规定的7 mm,说明实验所制备的抗菌胶乳和抗菌胶管均具有抗菌能力。动物实验的结果表明两组的抗菌性存在差异,涂覆抗菌胶乳的抗菌导尿管具有明显的抗菌性。

6 合成的抗菌生物材料

6.1 季铵盐类抗菌生物材料 季铵盐类生物材料的抗菌力和毒性与其结构和分子量相关^[30]。季铵盐化合物能够吸附带负电荷的细菌,具有良好的杀菌作用,应用广泛。普通的季铵盐化学活性较低,游离态存在的季铵盐毒性较大,而且刺激性比较强,溶出型的季铵盐主要在纺织品上应用,容易洗脱,在与机体表面逐渐富集,若使用时间较长容易产生病变。有机硅季铵盐有更好的抗菌作用,在应用于织物时不需要高温的烘焙,烘干后就可以产生持久的抗菌作用。在具有优良抗菌性能的同时,还具有良好的吸水吸汗性、柔软性、平滑性、回弹性、防静电性和抗污染性。有机硅季铵盐表面活性剂对人体无刺激和致癌作用,符合国内外对抗菌纺织材料的要求。有机硅季铵盐对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念珠球菌的抑菌率都很高,具有广谱的抗菌作用和较高抗菌率,安全有效,无毒和致酶反应。

6.2 有机硅季铵盐的合成方法

6.2.1 卤烷基硅烷的季铵化 不同结构的长碳链叔胺与 γ -氯丙基硅烷反应可以制成系列的季铵化硅烷,利用卤烷基硅烷和长碳链叔胺制备的方法最简单。彭忠利等^[31]制备的线性聚硅氧烷季铵盐高分子,以3-氯丙基甲基二乙氧基硅烷和叔胺反应合成

的单体甲基二乙氧基硅烷季铵盐。以异丙醇为溶剂，-氯丙基甲基二乙氧基硅烷和癸基二甲基叔胺为反应原料时，以异丙醇为溶剂，3-氯丙基甲基二乙氧基硅烷和癸基二甲基叔胺为反应原料时，产物的正模式ESI-MS谱图中，m/Z:374.5、388.5、755.5、769.5、783.5和797.5处出现准分子离子峰，表明异丙醇在反应过程中与乙氧基硅烷发生了酯交换反应。实验发现在N₂氛围中的反应条件较优，用乙醇回流反应40 h。所得到的产品色泽好，季铵盐质量分数可高于80%。

6.2.2 氨基硅油的季铵化 氨基硅油中的氨基与不同季铵化反应可以得到不同的季铵基团硅油，周建华等^[32]用 α, ω -二羟基聚二甲基硅氧烷、N- β -氯乙基- γ -氯丙基三甲氧基硅烷和3-氯-2-羟丙基三甲基氯化铵反应合成聚硅氧烷季铵盐抗菌柔软整理剂，经过有机硅季铵盐整理后，织物具有较好的抗菌性和耐洗性，可以使织物手感柔软，白度较高。

6.2.3 含氢硅油的硅氢化加成反应 应用聚硅氧烷与亲水性物质聚合后再进行季铵化反应可以得到聚硅氧烷季铵盐。如以含氢硅油与缩水甘油烯丙醚反应，可以生成带环氧基团的硅油，与二甲胺反应生成有机硅叔胺，在压力下再与一氯甲烷反应可合成有机硅季铵盐。

6.2.4 甲基硅油与季铵盐反应 通过平衡反应和缩聚反应可以把季铵基团引入聚硅氧烷中，使用的甲基硅油是三甲基封端的聚二甲基硅氧烷、羟基封端的聚二甲基硅氧烷、硅烷醇封端的聚二甲基硅氧烷或直接用D4代替甲基硅油。

6.3 双胍类抗菌生物材料 双胍类抗菌生物材料具有毒性低、刺激性小的特点，无耐药性，无毒副作用，如聚六亚甲基双胍盐酸盐，对革兰阳性和阴性菌有很强的抗菌作用，对霉菌效果较差，见表5。

表5 聚六亚甲基双胍盐的杀菌作用^[33]

微生物分类	杀菌浓度条件	
	浓度(%)	时间(min)
枯草芽胞杆菌芽胞	0.050	>1.0
金黄色葡萄球菌	0.025	>1.0
绿脓杆菌	0.200	>3.0
大肠杆菌	0.200	>1.0
酿酒酵母	1.000	>3.0
黑曲霉	2.000	>60.0
枯草芽胞杆菌芽胞	0.040	>2.5
蜡状芽胞杆菌芽胞	0.080	>60.0
巨大芽胞杆菌芽胞	0.040	>2.5

此外，如十六烷基吡啶氯化铵，对革兰阳性菌和革兰氏阴性菌有很强的杀菌能力，对葡萄球菌也具有杀菌作用，见表6。

表6 十六烷基吡啶氯化铵的杀菌作用^[33]

微生物分类	37 °C 杀菌浓度 (mg/kg)	
	不添加血清	添加 10% 的牛血清
金黄色葡萄球菌	10	80
白色葡萄球菌	10	80
绿色链球菌	20	80
酿链球菌	10	60
粘膜炎布兰汉氏球菌	10	80
绿脓杆菌	170	>1 000
白喉棒杆菌	20	70
大肠杆菌	20	>1 000

7 抗菌生物材料产品的加工过程

抗菌生物材料产品的加工制作过程^[9]，见图1-3。

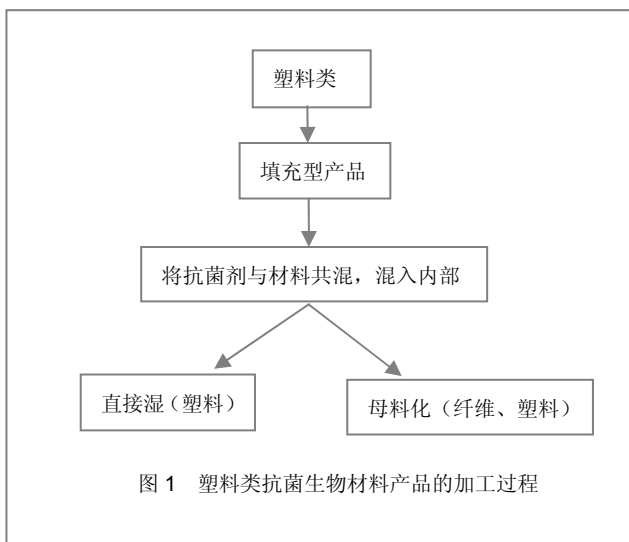


图1 塑料类抗菌生物材料产品的加工过程

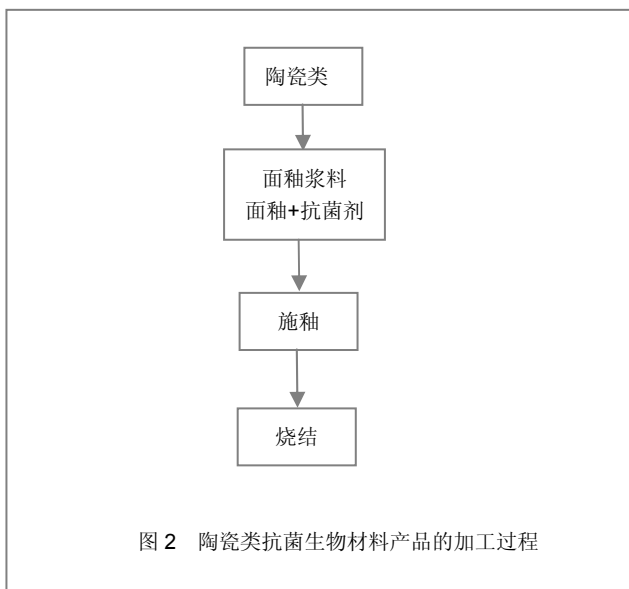


图2 陶瓷类抗菌生物材料产品的加工过程

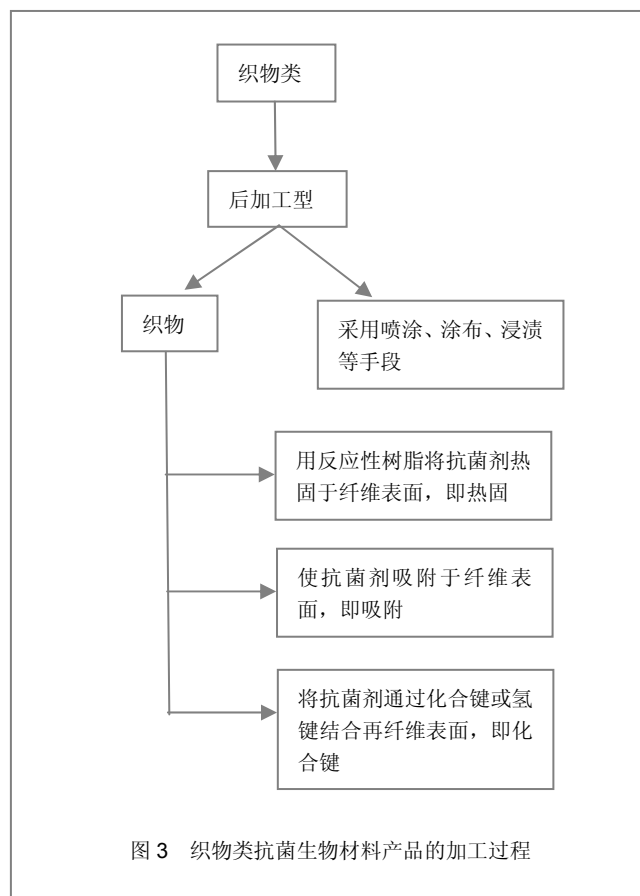


图3 织物类抗菌生物材料产品的加工过程

国外塑料和涂料抗菌生物材料的产品特性^[9], 见表7。

材料	基体材料	添加量 (质量分数)	抗菌率(%)	
			大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
塑料	聚碳酸酯/聚丙烯腈	1.5%	>99%	>99%
	聚丙烯腈	1.0%	>99%	>94%
	聚碳酸酯	1.0%	>99%	>99%
涂料	软接触	0.4%	>99%	>99%
	软接触	0.5%	>99%	>99%
	软接触	1.0%	>99%	>99%

8 结论

良好的抗菌生物材料要求对致病微生物具有明显的抗菌作用和抑菌效果, 能在较长的时间里保持抗菌的性能, 具有优良的物理化学性质, 在人体组织中有一定的强度和柔韧性, 具有良好的生物相容性, 对生命体无毒无伤害, 血液相容性良好, 生物材料自身清洁环保, 取材方便, 并能具有一定的可降解性能。

在抗菌生物材料的制备中, 抑制生物材料表面

黏附的同时还要考虑到生物材料表面的物理化学结构以及表面性能对细菌黏附的影响, 在杀菌生物材料的设计时还要考虑到生物材料的杀菌性能和血液相容性。无论是无机抗菌生物材料、天然抗菌生物材料还是合成抗菌生物材料, 每种生物材料都具有各自的优缺点, 需要进一步的体内外基础实验和临床研究来验证和推动抗菌生物材料的发展。

9 参考文献

- [1] Dunkirk SG, Gregg SL, Duran LW, et al. Photochemical coatings for the prevention of bacterial colonization. *J Biomater Appl.* 1991;6(2):131-156.
- [2] Gristina AG. Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. *Science.* 1987; 237(4822): 1588-1595.
- [3] Hendriks JG, van Horn JR, van der Mei HC, et al. Backgrounds of antibiotic-loaded bone cement and prosthesis-related infection. *Biomaterials.* 2004;25(3):545-556.
- [4] Schierholz JM, Yücel N, Rump AF, et al. Antiinfective and encrustation-inhibiting materials--myth and facts. *Int J Antimicrob Agents.* 2002;19(6):511-516.
- [5] Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999;284(5418): 1318-1322.
- [6] 张慧茹, 李荣先, 代大庆, 等. 复合整理法和化学接枝法制备吸湿快干抗菌织物的特点[J]. *纺织科学研究*, 2008, 19(3):7-11.
- [7] 张敏. 利用低温等离子体技术改善珍珠纤维混纺纱抗菌性能的研究[D]. 上海: 东华大学, 2009:19-35.
- [8] 余国文, 张高科, 胡波. 金属系无机抗菌材料研究进展[J]. *工业安全与环保*, 2004, 30(4):34-36.
- [9] 田江波, 钟健, 汪洁, 等. 塑料抗菌剂国内外开发现状及市场分析[J]. *塑料助剂*, 2005, 9(2):1-6.
- [10] 中国知网. 中国学术期刊总库[DB/OL]. 2012-08-10. <https://www.cnki.net>
- [11] 唐启祥. 天然沸石的改性及除磷性能的实验研究[J]. *陕西师范大学学报*, 2007, 35(2):82-85.
- [12] 安红梅, 吴立波, 岳尚超, 等. 斜发沸石对城市污水处理厂二级出水中氨氮的处理效果研究[J]. *环境工程学报*, 2010, 4(5): 1111-1115.
- [13] 丁仕琼, 王东田, 黄梦琼, 等. 沸石的改性及其去除水中氨氮的研究[J]. *苏州科技学院学报*, 2010, 27(2):33-36.
- [14] 李殿超, 蒋引珊, 姚爱华, 等. 载银沸石的抗菌性能及热稳定性研究[J]. *非金属矿*, 2003, 26(3):8-9.
- [15] 瞿介明, 陶志清, 顾海斌, 等. 对两种不同晶型磷酸锆载银工艺探索[J]. *化工新型材料*, 2010, 38(2):59-97.
- [16] 邱凡珠, 张华集, 张雯, 等. 含载银磷酸锆的抗菌EVA发泡材料的研究[J]. *合成树脂及材料*, 2007, 24(6):18-22.
- [17] 陶振华, 赵华, 张海丽, 等. 纳米二氧化钛载银无机抗菌剂的研究进展[J]. *化工中间体*, 2007, 7(4):22-25.
- [18] 黄岳元, 米钰, 郭人民, 等. TiO₂/Ag纳米抗菌材料[J]. *西北大学学报*, 2003, 33(5):566-571.
- [19] 安静, 王德松, 罗青枝, 等. 银/聚合物纳米复合材料[J]. *化学进展*, 2008, 20(6):859-868.
- [20] 陶梅, 张彬, 唐晓宁, 等. 铜型无机抗菌材料的改性研究[J]. *化工新型材料*, 2012, 40(11): 59-61.

[21] 邱凡珠, 张华集, 张雯, 等. 载锌抗菌剂在发泡EVA中的应用研究[J]. 塑料助剂, 2007, (3):23-29.

[22] 邓嘉胤, 片冈有, 柴田阳, 等. 电解纯钛样板抗菌活性的实验研究[J]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2009, 3(3):25-27.

[23] 赵宝红, 封伟, 尚德浩, 等. 纯钛表面微弧氧化法制备含钙锌涂层的抗菌性能研究[J]. 上海口腔医学, 2012, 21(3):266-269.

[24] 李明春, 许涛, 辛梅华, 等. 壳聚糖及其衍生物的抗菌活性研究进展[J]. 化工进展, 2011, 30(1):203-209.

[25] 滕丽菊, 张子勇, 唐书泽, 等. 壳聚糖的抗菌活性研究[J]. 中国调味品, 2008, 33(10):48-51.

[26] Moussa S, Ibrahim A, Okba A, et al. Antibacterial action of acetic acid soluble material isolated from *Mucor rouxii* and its application onto textile. *Int J Biol Macromol.* 2011 ;48(5): 736-741.

[27] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 2版. 北京: 化学工业出版社, 2006:1-35.

[28] 侯莹. 壳聚糖/天然胶乳复合抗菌材料的研究[D]. 山西: 太原理工大学, 2010:22-25.

[29] 刘常盛. O-羧甲基壳聚糖-纳米银/天然胶乳复合抗菌材料的研究[D]. 山西: 太原理工大学, 2011:27-48.

[30] Lin J, Qiu S, Lewis K, et al. Mechanism of bactericidal and fungicidal activities of textiles covalently modified with alkylated polyethylenimine. *Biotechnol Bioeng.* 2003;83(2): 168-172.

[31] 彭忠利, 吴小娟. 甲基二乙氧基硅烷季铵盐的合成[J]. 精细化工, 2006, 23(9):873-877.

[32] 周建华, 于涛. 聚硅氧烷季铵盐的合成与应用性能研究[J]. 陕西科技大学学报, 2006, 24(5):36-40.

[33] 陈仪本, 欧阳友生, 黄小荣, 等. 工业杀菌剂[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001:129, 113.

来自本文课题的更多信息一

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

本期专题: 脱细胞基质材料

- 1 构建缓慢释放碱性成纤维细胞生长因子的脱细胞羊膜人工活性真皮, 见2012年8期1425-1429页。
- 2 脱细胞异体真皮基质与人脂肪干细胞的生物相容性, 见2012年8期1435-1438页。
- 3 异体脱细胞真皮基质作为组织工程皮肤真皮支架的可行性, 见2012年21期3864-3868页。
- 4 脱细胞真皮基质补片修复滇南小耳猪胆管损伤, 见2012年12期2141-2144页。
- 5 即刻种植中异体脱细胞真皮基质引导的骨组织再生, 见2012年16期2856-2860页。
- 6 去细胞坐骨神经天然支架的成分分析, 见2012年8期1367-1370页。
- 7 羧基丁酸-羧基辛酸共聚物/脱细胞软骨基质复合支架的制备与体外降解, 见2012年21期3811-3814页。
- 8 罗格列酮对CD34修饰脱细胞血管支架体内生长的影响, 见2012年3期438-442页。

体外构建组织工程化皮肤替代品是治疗皮肤缺损的最佳方案。但是将这种皮肤替代品移植于皮肤缺损处后缓慢的细胞长入以及血管化的不充分可能造成移植成活不佳, 这将直接导致移植失败, 并可能进一步诱发感染等并发症。因此, 目前很多研究都集中在解决这两个问题上。实验采用脱细胞羊膜为支架材料, 明胶-壳聚糖缓释微球来实现碱性成纤维细胞生长因子的控释, 将二者复合后再种植入成纤维细胞。拟通过这种方法探讨构建一种可以缓慢释放碱性成纤维细胞生长因子的新型人工活性真皮的可行性。见2012年8期1425-1429页。

2 脱细胞异体真皮基质与人脂肪干细胞的生物相容性
罗志军(中山大学附属中山医院整形美容外科, 广东省中山市 528403)
推荐理由: 理想的组织工程载体材料应与细胞外基质类似, 与活体细胞有良好的生物相容性。脱细胞异体真皮是一种细胞外基质, 它具有细胞外基质的共性, 是细胞赖以生存和维持细胞功能及生物学特征的基础。从理论上讲, 脱细胞异体真皮基质移植后不会发生排斥反应。另一方面, 脱细胞真皮基质独有的三维结构为组织细胞提供了一个生长代谢的立体框架, 细胞外基质蛋白可促进表皮细胞的附着和增生, 从而完成了组织的生理性修复。有作者在动物实验及临床上观察到, 术后移植数月的脱细胞异体真皮基质已完全呈粉红色, 与周围组织很难区分, 表明其具有优良的生物相容性和组织细胞诱导功能。近年来研究表明, 脂肪干细胞具有来源广泛、取材方便和多向分化潜能等特点, 被认为是一种理想的种子细胞。实验选择人脂肪干细胞与脱细胞异体真皮基质进行体外复合培养, 以检测其生物相容性, 探讨它作为脂肪组织工程载体材料的可行性。见2012年8期1435-1438页。

3 异体脱细胞真皮基质作为组织工程真皮支架的可行性
刘 坡(东莞市塘厦医院外一科, 广东省东莞市 523721)

4 脱细胞真皮基质补片修复滇南小耳猪胆管损伤
陈 刚(昆明医学院附属甘美医院肝胆外科, 云南省昆明市 650034)

5 即刻种植中异体脱细胞真皮基质引导的骨组织再生
葛 菲(新疆医科大学第一附属医院口腔修复科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054)

6 去细胞坐骨神经天然支架的成分分析
曹荣龙(哈尔滨医科大学附属第一临床医学院神经外科, 黑龙江省哈尔滨市 150001)

7 羧基丁酸-羧基辛酸共聚物/脱细胞软骨基质复合支架的制备与体外降解
张 鹏(山西医科大学附属第二医院骨科, 山西省太原市 030001)

8 罗格列酮对CD34修饰脱细胞血管支架体内生长的影响
刘 玉(中国医科大学附属第一医院心脏外科, 辽宁省沈阳市 110001)

详见: www.CRTER.org