

[文章编号] 1671-587X(2012)05-0899-05

添加纳米载银无机抗菌剂的室温固化PMMA材料体外抗菌效果评价

贾春丽，王晓容，张赐童，孙世群，杨芸
(吉林大学口腔医院修复科，吉林长春130021)

[摘要] 目的：研究添加纳米载银无机抗菌剂的室温固化聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)材料在体外对变形链球菌和白色念珠菌的抗菌效果，并检测纳米载银无机抗菌剂对室温固化PMMA材料机械性能的影响。方法：采用球磨法将纳米载银无机抗菌剂按0%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%和3.0%添加到室温固化PMMA材料中，并制成抗菌试件，应用贴膜法测定这些抗菌试件在体外对变形链球菌和白色念珠菌的抗菌率。并在电子万能材料试验机、冲击试验机和摩擦磨损试验机上对这7种添加比例的抗菌试件进行弯曲强度、冲击强度和磨损性能的测试。结果：抗菌剂含量为1.0%时，对变形链球菌和白色念珠菌的抗菌率均达到50%以上；抗菌剂的含量为2.5%时，对变形链球菌和白色念珠菌的抗菌率均达到90%以上。抗菌剂含量在1.0%~1.5%范围内3种机械性能较对照组均有所提高，随着抗菌剂含量的增加，3种机械性能逐渐降低。当抗菌剂含量超过2.0%时，磨损性能与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)；当抗菌剂含量超过2.5%时，弯曲强度和冲击强度与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论：添加纳米载银无机抗菌剂的室温固化PMMA材料显示了良好的抗菌效果，随抗菌剂含量增加，抗菌率逐渐提高。抗菌剂含量为2.0%时，既可以达到临床对抗菌的要求，又不会对室温固化PMMA材料的机械性能产生显著的影响。

[关键词] 纳米载银无机抗菌剂；室温固化；聚甲基丙烯酸甲酯；抗菌率；球磨法

[中图分类号] R781 **[文献标志码]** A

Evaluation on *in vitro* antibacterial effect of room curing polymethylmethacrylate material adding nano-silver base inorganic antibacterial agents

JIA Chun-li, WANG Xiao-rong, ZHANG Ci-tong, SUN Shi-qun, YANG Yun

(Department of Prosthodontics, Stomatology Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China)

Abstract: Objective To investigate the antibacterial effect of room curing polymethylmethacrylate (PMMA) material adding nano-silver base inorganic antibacterial agent and to detect the changes of its mechanical property. Methods Nano-silver base inorganic antibacterial agent was added to the room curing PMMA material in the range of 0.5%—3.0% at an interval of 0.5% by ball milling to make specimen. Antibacterial rates of the specimens were detected by film method. Bending strength, impact strength, and wear resistance of the specimens were respectively detected on electronic universal testing machine, impact test machine and friction and wear test machine. Results The antibacterial rates of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* were more than 50% when antibiotics content was 1.0%. The antibacterial rates of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* were more than 90% when the antibiotics content was 2.5%. The three mechanical properties were increased compared with control group when the antibacterial agents were in the range of 1.0%—1.5%. Then the three mechanical

[收稿日期] 2012-05-21

[基金项目] 吉林省科技厅科技发展计划项目资助课题(20090462)

[作者简介] 贾春丽(1984—)，女，吉林省白城市人，医师，医学硕士，主要从事全口义齿、附着体义齿及口腔材料的基础与临床研究。

[通信作者] 王晓容(Tel: 0431-88796018, E-mail: wangxr135@hotmail.com)

properties were decreased with the increasing of antimicrobial concentration. When the antibiotics content was 2.0%, the wear resistance had significant difference compared with control group ($P<0.05$); when the antibiotics content was 2.5%, the bending strength and impact strength had significant difference compared with control group ($P<0.05$). Conclusion The antibacterial effect of room curing PMMA adding nano-silver base inorganic antibacterial agent is ideal. The antibacterial rate is increased gradually with the increasing content of antibacterial agents. There is no significant effect on the mechanical properties of room curing PMMA material, but the antibacterial effects are satisfied when the content of antibacterial agents is 2.0%.

Key words: nano-silver base inorganic antibacterial agent; room temperature curing; polymethylmethacrylate; antibacterial rate; ball milling method

室温固化聚甲基丙烯酸甲酯(polymethylmethacrylate, PMMA)是在室温条件下通过氧化还原反应引发聚合快速固化而成的一种高分子材料，因其操作简便，固化时间快，在口腔修复中广泛应用。口腔是有菌环境，室温固化PMMA材料由于其特殊组分、结构、表面性能而易被细菌或真菌定殖且难以彻底清除，从而引起龋病和义齿性口炎等口腔常见疾病^[1-2]。由于一些传统的消毒方法并不能有效地清除细菌或真菌，近年来国内外一些学者一直致力于提高材料自身抗菌性能的研究^[3]，其中纳米载银无机抗菌剂因其独特的小尺寸效应和表面效应等理化性能受到了国内外学者的普遍认可。但国内外将载银抗菌剂应用于口腔材料的研究刚刚开始，尚未普及。有学者^[4]尝试将其添加到口腔材料中(例如热固化基托材料、复合树脂、藻酸盐印模材料、义齿软衬材料等)来赋予其抗菌性能，并取得了较理想的效果。但至今未有将其加入室温固化PMMA材料中的报道。本研究以龋病和义齿性口炎的主要致病菌变形链球菌和白色念珠菌为代表，研究添加纳米载银无机抗菌剂的室温固化PMMA材料的体外抗菌效果，并检测其对室温固化PMMA材料的机械性能的影响，为研制开发新型抗菌室温固化PMMA材料提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料及主要设备 室温固化PMMA材料(日本齿科材料有限公司)，白色念珠菌(ATCC10231)(中国科学院微生物研究所)，变形链球菌(吉林大学口腔医院微生物实验室)，RHA-1型纳米载银无机抗菌剂(上海润河纳米材料科技有限公司)，UV-4802H型紫外可见分光光度计、WMZK-02型电热恒温培养箱和SW-CJ-1F型超净化工作台(吉林大学口腔医院微生物实验室)，CSS-44100电子万能材料试验机(长春试验机研究所)，MG-2000

摩擦磨损试验机(河北宣化北伦平衡机厂)，简支梁冲击试验机。

1.2 抗菌母料及抗菌试件的制备 采用球磨法将含10%的载银无机抗菌剂添加到牙托粉中并置于球磨机中研磨8 h制成抗菌母料，再将母料内加入不同质量的牙托粉重新研磨稀释成实验需要的浓度。实验所需抗菌剂的含量分别为0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%和3.0%。在室温20℃情况下，按厂商提供的粉液比例将以上各组抗菌牙托粉分别与单体混合搅拌，加盖放置至面团期早期，加压填入模具，固化后取出。所用试件的标准尺寸为(50±2)mm×(50±2)mm、厚度(2.0±0.5)mm，用800目水砂纸打磨抛光，以上所有试件均在实验前用75%的乙醇溶液擦拭其表面，1 min后用无菌水冲洗，自然干燥备用。

1.3 抗菌率的测定 将变形链球菌和白色念珠菌传代培养，实验选择连续转接2次后的新鲜细菌培养物，取少量(1~2环)放入培养液中配制成浓度为 $1\times10^8\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准菌液[分光光度计测吸光度(A)值]，并用培养液做10倍系列稀释，选择菌液浓度为 $(1\sim3)\times10^5\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的稀释液作为菌悬液备用。将各组抗菌试件放入90 mm的培养皿中，用微量加样器分别取200 μL的菌悬液滴加在各试件表面，每个样品做3个平行样。用灭菌镊子夹起聚乙烯薄膜覆盖在各试件的表面，铺平，使菌液均匀接触试件表面，避免产生气泡。在37℃、相对湿度大于90%的条件下培养24 h。取出培养24 h后的试件，分别加入20 mL的生理盐水洗脱液，反复清洗3次试件及覆盖膜，充分摇匀，倍比稀释后取100 μL接种在琼脂平板培养基上，白色念珠菌需养培养24 h，活菌计数；变形链球菌兼性厌氧培养48 h，活菌计数。最后按稀释倍数计算空白样品及抗菌样品的回收菌数。以上实验重复3次，取平均值。将测定的菌落数按以下公式测算抗菌率(r)： $r(\%)=(b-c)/b\times100\%$ ，b为空白对

照样品平均回收菌数($\text{cfu}/\text{片}$), c 为添加抗菌剂的印模材料样品平均回收菌数($\text{cfu}/\text{片}$)。

1.4 弯曲强度测试 试件尺寸为 $60 \text{ mm} \times 20 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$, 每组制作 10 个试件。在 CSS-44100 电子万能材料试验机上进行测试, 跨度为 $(4.00 \pm 0.05) \text{ cm}$, 压头半径为 $(0.25 \pm 0.01) \text{ cm}$, 压头速度为 $5 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ 。按以下公式计算弯曲强度, $\delta = 1.5PL/bd^2$, 式中: δ 为弯曲强度, P 为最大载荷, L 为跨度, b 为试样宽度, d 为厚度。

1.5 冲击强度测试 试件尺寸为 $60 \text{ mm} \times 5 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$, 每组制作试件 10 个。在简支梁冲击试验机上进行测试, 以下公式计算冲击强度, $\alpha = A_n/bd$, 式中: α 为冲击强度, A_n 为试样断裂所消耗的功, b 为试样宽度, d 为试样厚度。

1.6 磨损性能测试 试件规格为直径 6 mm 、高 12 mm 的圆柱体, 每组制作试件 5 个。在 MG-2000 摩擦磨损试验机上进行测试。选择硬度为 HRC 70 的硬质合金圆盘作为对磨件, 试件垂直负荷 50 N , 实验的转速为 $80 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 相对滑动速度为 $0.25 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$, 试件与摩擦副接触方式为平面

式接触。磨损量用尺寸变化法测定, 按下公式计算磨损量, $\Delta V = \pi R^2 (H - h)$, 式中: ΔV 为磨损量, H 为实验前的高度, h 为磨损后的高度。

1.7 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件包进行统计学处理, 各组抗菌率、机械性能等指标以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间样本均数比较采用 One-Way ANOVA 检验。

2 结 果

2.1 抗菌试件的抗菌率 随着抗菌剂含量的增加, 抗菌试件对白色念珠菌和变形链球菌的抗菌率均显著增加。当抗菌剂含量达到 1.0% 时, 对白色念珠菌的抗菌率已经超过 90% , 对变形链球菌的抗菌率超过 50% ; 当抗菌剂含量达到 2.5% 时, 对白色念珠菌和变形链球菌的抗菌率均达到 90% 以上, 显示了较强的抗菌效果。见表 1 和 2。

2.2 机械性能实验结果 弯曲强度测试中, 当抗菌剂含量为 1.0% 时弯曲强度最大, 为 $(88.37 \pm 10.37) \text{ MPa}$, 随抗菌剂含量继续增加, 弯曲强度逐渐降低, 当抗菌剂含量达到 2.5% 时, 与对照组

表 1 不同含量的纳米载银抗菌试件对白色念珠菌的抗菌率

Tab. 1 The antibacterial rates of nano-silver base antibacterial testpiece at different concentrations against *Candida albicans*

Group	Bacterial count inoculated ($1 \times 10^6 \text{ CFU/piece}$)	Bacterial count recovered ($1 \times 10^5 \text{ CFU/piece}$)	Antibacterial rate($\eta/\%$)
Control	2	134.00 ± 12.84	0
Nano-silver			
0.5%	2	33.00 ± 5.21	75.4
1.0%	2	12.00 ± 2.25	91.0
1.5%	2	4.00 ± 0.86	97.0
2.0%	2	2.00 ± 0.19	98.5
2.5%	2	0	100.0
3.0%	2	0	100.0

表 2 不同含量的纳米载银抗菌试件对变形链球菌的抗菌率

Tab. 2 The antibacterial rates of nano-silver base antibacterial testpiece at different concentrations against *Streptococcus mutans*

Group	Bacterial count inoculated ($1 \times 10^6 \text{ CFU/piece}$)	Bacterial count recovered ($1 \times 10^5 \text{ CFU/piece}$)	Antibacterial rate($\eta/\%$)
Control	2	94.00 ± 9.34	0
Nano-silver			
0.5%	2	55.00 ± 4.46	41.5
1.0%	2	43.00 ± 3.27	54.3
1.5%	2	27.00 ± 3.02	71.3
2.0%	2	12.00 ± 1.19	87.2
2.5%	2	6.00 ± 0.91	93.6
3.0%	2	3.00 ± 0.35	96.8

比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)；冲击强度测试中，当抗菌剂含量为 1.0% 时冲击强度最大，为 (6.41 ± 0.49) kJ · m⁻²，随抗菌剂含量继续增加，冲击强度逐渐降低，当抗菌剂含量达到 2.5% 时，与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)；

磨损性能测试中，当抗菌剂含量为 1.5% 时磨损性能最大，为 (5.04 ± 0.43) mm³，随抗菌剂含量继续增加，磨损性能逐渐降低，当抗菌剂含量达到 2.0% 时，与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 3。

表 3 不同含量的纳米载银无机抗菌剂对室温固化 PMMA 材料机械性能的影响

Tab. 3 Influence of nano-silver base inorganic antibacterial agents on mechanical property of room curing PMMA material
 $(\bar{x}\pm s)$

Group	Bending strength(P/MPa)(n=10)	Impact strength(kJ · m ⁻²)(n=10)	Wear resistance(V/mm ³)(n=5)
Control	87.80±14.82	6.32±0.96	5.20±0.19
Nano-silver			
0.5%	85.97±6.09	6.39±0.85	5.23±0.29
1.0%	88.37±10.37	6.41±0.49	5.17±0.33
1.5%	81.74±8.38	6.21±1.15	5.04±0.43
2.0%	80.09±9.38	6.00±0.75	5.69±0.41*
2.5%	73.04±7.34*	5.43±0.57*	5.89±0.36*
3.0%	70.60±5.89*	5.21±0.72*	6.04±0.14*

* $P<0.05$ compared with control group.

3 讨 论

口腔是一个有菌环境，正常情况下微生物共生并处于相对平衡状态。任何修复体的存在都可能打破这种平衡状态，造成致病菌的滋生并引起相应的口腔疾病。室温固化 PMMA 材料因其聚合不完全会残留一定孔隙，这就更增加了细菌黏附的机率。载银无机抗菌剂属于广谱抗菌剂，其抗菌机制主要是银离子 (Ag^+) 接触反应， Ag^+ 缓慢释放与微生物接触，造成微生物细胞膜共有成被破坏或产生阻碍。 Ag^+ 的游走可以深入材料空隙内部更有效地杀灭致病菌^[5-6]。纳米载银无机抗菌剂是银与纳米无机载体的复合体，是利用纳米载体粒子较高的表面活性和较大的比表面积，采用物理吸附、离子交换等方式将银离子固定在纳米载体上而获得的。普通银的抑菌效果微弱，与之相比纳米银的原子排列表现为介于固体和分子间的“介态”，这种活性极强的纳米银微粒具备超强抗菌能力，可以杀灭细菌、真菌、支原体和衣原体等致病微生物^[7-8]。此外，纳米银又是非抗生素类抗菌剂，细菌对银离子不产生耐药性^[9]，是一种长效的抗菌剂^[10-11]。

本研究所选用的 RHA-1 型无机抗菌剂是一种在无机磷酸盐离子交换体上负载银粒子的高效、安全和耐热的广谱性抗菌剂。银含量为 3.0%，平均粒径 $\leqslant 1.5 \mu\text{m}$ 。本研究参照 BG/T21510-2008 (纳米无机材料抗菌性能检测方法)，采用贴膜法对含有不同含量 RHA-1 型纳米载银无机抗菌剂的抗

试件进行抗菌性能的测试。贴膜法反映的是微生物在材料表面的生存情况，符合载银抗菌树脂表面接触抗菌原理。本研究结果显示：抗菌试件对白色念珠菌和变形链球菌均表现了一定的抗菌效果，随着抗菌剂含量的增加，抗菌率逐渐提高。虽然相同含量的 RHA-1 型纳米载银无机抗菌剂对白色念珠菌的抗菌性高于对变形链球菌的抗菌性，但抗菌剂含量达到 2.5% 时，对白色念珠菌和变形链球菌的抗菌率均达到了 90% 以上，显示了较强的抗菌效果。余日月等^[12]测定含纳米载银无机抗菌剂的基托树脂在体外对白色念珠菌和变形链球菌的抗菌率，结果显示：抗菌剂含量为 $2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对变形链球菌和白色念珠菌的抗菌率均达到 90% 以上，此抗菌剂含量小于本实验所得结果。其原因可能为：①选用的抗菌剂不同，不同的纳米载银无机抗菌剂的含银量不同；②不同的纳米载银无机抗菌剂其粒度大小不同，粒径越小，比表面积越大，与细菌或真菌接触的面积越大，抗菌性能越强；③所选材料理化性能不同，与加热固化型 PMMA 材料比较，室温固化 PMMA 材料常常因聚合不完全而残留一定孔隙，这样会大大增加细菌或真菌的黏附量。

室温固化 PMMA 经常受到各种复合力的作用，例如在口腔咀嚼过程中牙与牙、牙与修复体、修复体与修复体以及其与食物间不可避免的产生摩擦磨损，或是材料反复长期处于咀嚼应力下产生的弯曲形变，甚至是义齿意外落地所产生的冲击破坏。因此室温固化 PMMA 材料必须具备一定的强

度来抵抗各种力的变化。虽然添加抗菌剂的室温固化 PMMA 材料显示了良好的抗菌效果, 但考虑到抗菌剂的加入或多或少都会对材料的机械性能产生影响。因此本实验对添加不同含量抗菌剂的试件进行了弯曲强度、冲击强度和磨损性能 3 项机械性能的测试, 结果显示: 抗菌剂含量在 1.0%~1.5% 的范围内抗菌试件的 3 种机械性能与对照组比较均有所提高, 抗菌剂含量在 1.5%~2.0% 的范围内抗菌试件的 3 种机械性能较对照组虽有所降低, 但差异并无统计学意义。综合抗菌实验的结果: 抗菌剂含量在 2.0% 时既不会对室温固化 PMMA 材料的机械性能产生显著影响, 又可以达到较理想的抗菌效果。

综上所述, 本研究证实了纳米载银无机抗菌剂在室温固化 PMMA 材料中添加的可行性, 为进一步研究具有抗菌性的新型室温固化 PMMA 材料在口腔中的应用提供了一定的理论依据。

[参考文献]

- [1] 董 聪, 张富强. 可摘局部义齿对口腔微生态系的影响 [J]. 国际口腔医学杂志, 2008, 35 (1): 71-73.
- [2] Hoshi N, Mori H. Management of oral candidiasis in denture wearers [J]. Prothod Res, 2011, 55 (1): 48-52.
- [3] 赵明哲, 汲 平. 纳米技术在口腔修复领域的应用前景及进展 [J]. 口腔颌面修复学杂志, 2008, 9 (1): 76-78.
- [4] 杨 准, 杜 莉. 银系无机抗菌剂在口腔材料中的应用及研究进展 [J]. 中华老年口腔医学杂志, 2007, 10 (5): 233-235.
- [5] 韩秀秀, 何 文. 银系无机抗菌材料抗菌机理及应用 [J]. 山东轻工业学院学报, 2010, 24 (1): 25-27.
- [6] Baker C, Pradhan A, Pakstis L, et al. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles [J]. Nanosci Nanotechnol, 2005, 5: 244-229.
- [7] 林爱红, 秦彦珉, 饶 健, 等. 纳米抗菌剂抑菌杀菌性能研究 [J]. 实用预防医学, 2003, 10 (2): 168-170.
- [8] 杨玉旺, 刘敬利. 纳米银研究和应用新进展 [J]. 工业催化, 2003, 11 (12): 7-12.
- [9] 魏秋华, 张文福, 王长德, 等. 皮肤纳米乳液杀菌规律的研究 [J]. 中国消毒学杂志, 2004, 21 (4): 279-281.
- [10] Alt V, Bechert T, Steinrucke P, et al. An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement [J]. Biomaterials, 2004, 25 (18): 4383-4391.
- [11] Jeon HJ, Yi SC, Oh SG. Preparation and antibacterial effects of Ag-SiO₂ thin films by sol-gel method [J]. Biomaterials, 2003, 24 (27): 4921-4928.
- [12] 余日月, 周永胜, 冯海兰. 纳米载银树脂基托的体外抗菌效果 [J]. 实用口腔医学杂志, 2005, 21 (5): 670-672.

175 例糖尿病患者心脏搭桥术的临床效果分析

新疆维吾尔自治区中医院心胸外科 (新疆 乌鲁木齐 830000) 顾国军, 李 峰

1 临床资料

1.1 一般资料 选取 2006 年 3 月—2011 年 3 月本院收治的需进行心脏搭桥手术的糖尿病患者共 175 例, 作为糖尿病组。患者年龄 45~77 岁, 其中男性 99 例, 女性 76 例。入选患者均符合糖尿病的诊断标准, 患者的空腹血糖均高于 $6.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。其中 140 例患者口服降糖药控制血糖, 35 例患者需胰岛素控制血糖。选择同期的 75 例进行心脏搭桥手术的非糖尿病患者作为对照组。2 组患者在年龄、性别和心功能方面比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性。

1.2 治疗方法 2 组患者在手术前均要将血糖控制在正常范围后方开展手术。2 组患者均在非体外循环下进行冠状动脉搭桥手术。比较 2 组患者手术情况、并发症及预后情况。

1.3 结 果 所有患者均成功开展手术。其中糖尿病组远端吻合口数、手术时间和住院天数均多于非糖尿病组 [(3.4±0.6) vs (2.7±0.3); (280±39) min vs (210±32) min; (29.1±2.1) d vs (19.4±3.5) d, 均 $P<0.01$], 而 2 组间气管插管时间差异无统计学意义 [(17.0±2.4) min vs (16.9±1.8) min, $P>0.05$]。糖尿病组患者术后死亡 11 例, 呼吸道感染 18 例, 切口感染 70 例, 脑梗阻病灶 (5.9±2.6) 个, 术后肾透析 10 例; 而非糖尿病组术后死亡 5 例, 呼吸道感染 10 例, 切口感染 23 例, 脑梗阻病灶 (9.1±3.6) 个, 术后肾透析 2 例。2 组患者术后的并发症发生率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。在患者出院后 6 个月进行随访。糖尿病组出现 4 例心肌梗死; 非糖尿病患者出现 1 例心肌梗死和 1 例心脏衰竭。2 组患者均无心源性死亡。

2 讨 论

本研究结果显示: 糖尿病组患者远端吻合口数、手术时间和住院天数均多于非糖尿病组, 差异有统计学意义, 而手术后的并发症发生率组间比较差异无统计学意义。这是由于糖尿病患者的血液系统有一定的功能障碍, 因此对于手术切口愈合较非糖尿病组患者要差。采用非体外循环心脏搭桥手术的优点在于: 手术切口相对较小, 患者手术后的恢复情况较迅速。另外, 从 2 组患者术后 6 个月的随访结果可以看出: 2 组患者的术后恢复情况和手术治疗情况较为理想, 心源性疾病的再次发生率低。对于需要进行心脏搭桥术的糖尿病患者, 糖尿病对手术的临床治疗效果以及术后的预后情况影响不大, 只要手术前控制好血糖水平并将其维持在稳定的范围内, 对其进行心脏搭桥手术效果还是较为满意的。