

纳米载银磷酸锆抗菌聚氨酯的抗菌性能****

邹兆伟, 史福军, 黄宗海, 贺艳, 李强, 陈飞, 崔春晖

Antibacterial performance of nano-silver-zirconium phosphate antibacterial polyurethane

Zou Zhao-wei, Shi Fu-jun, Huang Zong-hai, He Yan, Li Qiang, Chen Fei, Cui Chun-hui

Abstract

BACKGROUND: Polyurethane material has excellent physical and chemical performances, good biocompatibility and anti-clotting properties, and is easy to shape. However, artificial organs manufactured using the polyurethane are vulnerable to the invasion of bacteria and other microorganisms.

OBJECTIVE: To explore the effects of nano-silver base inorganic antimicrobial agent on the antibacterial performance of polyurethane.

METHODS: The nano-silver base inorganic antimicrobial agent RHA-2 was added to polyurethane by the mass fractions of 0% (blank control), 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5% and 5%, respectively. Antimicrobial properties of the polyurethane materials against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were assayed using the pellicle sticking method.

RESULTS AND CONCLUSION: The polyurethane added with nano-silver base inorganic antimicrobial agents had a good antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The inhibitory rate against *Staphylococcus aureus* in the groups containing 0.5%–5% antimicrobial agents were 80.23%, 91.32%, 95.23%, 99.19%, 99.87% and 99.93%, respectively; the inhibitory rate against *Escherichia coli* in the corresponding groups were 76.70%, 86.96%, 92.92%, 95.43%, 99.34% and 99.87%, respectively. The antimicrobial properties of polyurethane increased significantly with the increasing proportions of the antibacterial agents. These results indicate that nano-silver base inorganic antimicrobial agents can endow the polyurethanes an excellent antibacterial property. From the antimicrobial perspective, the recommended adding proportion of the nano-silver base inorganic antimicrobial agents in the polyurethane is no less than 1.5%.

Zou ZW, Shi FJ, Huang ZH, He Y, Li Q, Chen F, Cui CH. Antibacterial performance of nano-silver-zirconium phosphate antibacterial polyurethane. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2012;16(3): 405-408.
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 聚氨酯材料具有优异的物理和化学性能, 良好的生物相容性和抗凝血性能, 且易加工成形, 但聚氨酯制造的人工器官容易受到细菌等微生物的入侵。

目的: 观察纳米载银无机抗菌剂对聚氨酯抗菌性能的影响。

方法: 将纳米载银无机抗菌剂 RHA-2, 按 0%(空白对照组), 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 5% 比例添加到聚氨酯中。采用薄膜密着法检测抗菌聚氨酯对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的抑菌作用, 并分析比较抗菌剂添加比例与聚氨酯抗菌性能的相关性。

结果与结论: 添加纳米载银无机抗菌剂的聚氨酯对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌具有良好的抑菌作用。抗菌剂添加比例 0.5%~5% 组对金黄色葡萄球菌的抑菌率分别为 80.23%, 91.32%, 95.23%, 99.19%, 99.87%, 99.93%, 对大肠杆菌的抑菌率分别为 76.70%, 86.96%, 92.92%, 95.43%, 99.34%, 99.87%, 显示抗菌性能随抗菌剂添加比例的上升而明显提高。表明纳米载银无机抗菌剂的添加赋予了聚氨酯优异的抗菌性能, 且从抗菌角度出发, 推荐纳米载银无机抗菌剂在聚氨酯中的添加比例不应低于 1.5%。

关键词: 纳米载银无机抗菌剂; 聚氨酯; 抗菌性能; 金黄色葡萄球菌; 大肠杆菌

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.03.005

邹兆伟, 史福军, 黄宗海, 贺艳, 李强, 陈飞, 崔春晖. 纳米载银磷酸锆抗菌聚氨酯的抗菌性能[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(3):405-408. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

Department of General Surgery, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China

Zou Zhao-wei★, Studying for master's degree, Department of General Surgery, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China 360094442@qq.com

Correspondence to: Huang Zong-hai, Professor, Doctoral supervisor, Department of General Surgery, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China drhuangzh@yahoo.com.cn

Supported by: the Science and Technology Project of Haizhu District in 2009, No. 2009-Y-017*; the Science and Technology Project of Guangzhou in 2009, No. 2009Z1-E251*; the Science and Technology Project of Guangdong Province in 2009, No. 2009A030200014*; the Produce Study Grinds Unifies Project of Guangdong Province in 2010, No. 2010B090400423*

Received: 2011-11-23 Accepted: 2011-12-09

0 引言

随着生物材料被广泛应用于临床, 以生物材料为中心的感染 (biomaterial centered infection, BCI) 成为棘手的常见医院内感染^[1-2]。BCI 及其他组织反应是临床置入手术的重大问题, 经常导致再次手术和医疗事故, 并给患者带来经济上的负担。纳米载银磷酸锆抗菌谱广, 抗菌效力持久, 生物安全性好, 目前已得到国内外学者的充分认可^[3-6]。聚氨酯材料具有优异

的物理和化学性能, 良好的生物相容性和抗凝血性能, 且易加工成形, 被称为“理想的生物材料”, 在许多医疗装置和人工器官中得到了广泛应用, 是一种很重要的生物医用材料^[7-8]。但聚氨酯制造的人工器官受到细菌等微生物的入侵, 从而带来医疗事故和巨大的经济损失。因此, 开发抗菌聚氨酯材料, 对于保护人民的身体健康, 防止细菌的传播, 乃至预防局部或世界流行疾病的爆发都具有十分重要的意义^[9]。本实验将不同浓度的纳米载银无机抗菌剂应用到聚氨酯中, 探讨其对聚氨酯抗菌性能的影响。

南方医科大学附
属珠江医院普外
科, 广东省广州市
510282

邹兆伟★, 男,
1985年生, 江西
省瑞金市人, 汉
族, 南方医科大学
在读硕士, 主要从
事人工肛门括约
肌生物材料的研究。
360094442@
qq.com

通讯作者: 黄宗
海, 教授, 博士生
导师, 南方医科大
学珠江医院普外
科, 广东省广州市
510282
druangzh@
yahoo.com.cn

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225
(2012)03-00405-04

收稿日期: 2011-11-23
修回日期: 2011-12-09
(20110810007/GW ·
LX)

1 材料和方法

设计: 抗菌性能对比观察实验。

时间及地点: 实验于 2010-08/12 在南方医科大学附属珠江医院中心实验室完成。

材料:

实验试剂及菌种:

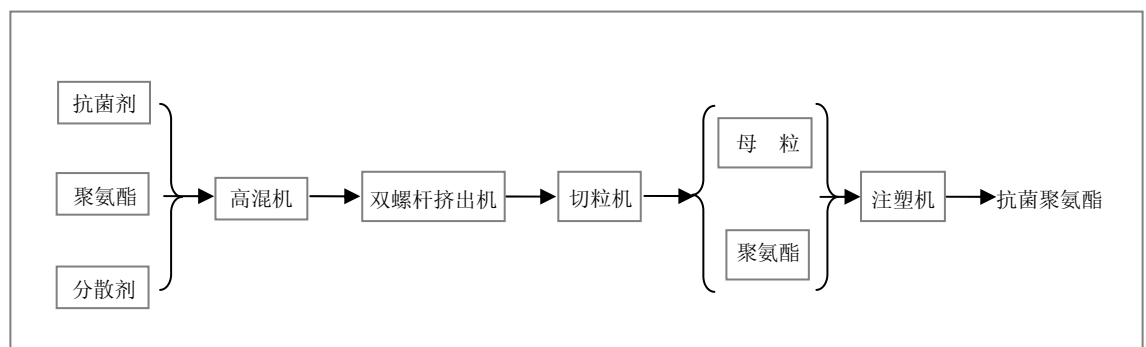
试剂及菌种	来源
纳米载银无机抗菌剂 RHA-2, 载体为磷酸铝, 载银量 6.0%	上海润河纳米材料科技有限公司
热塑性聚氨酯 EG100A-B20	美国陆博润市售
EBS 分散剂、TSB 培养液	市售
TSA 平板	Genmed
细菌培养皿	Corning
国际标准菌株金黄色葡萄球菌 (ATCC 25923)、大肠杆菌 (ATCC25922)	南方医科大学珠江医院检验科微生物研究所

实验器材: CO₂ 培养箱(BB5060 型, Heraeus),

超净工作台(YJ-875DA 型, 苏净集团安泰公司), 微量加样器(Gilson), 旋涡振荡器(德国 BS14-VORTEX3000), 平行同向双螺杆挤出机 XSD-35(南京新时代电工贸易有限公司), 立式注塑机 FT-400(丰铁机械有限公司)。

实验方法:

抗菌试件的制作: 采取目前普遍使用的母粒法制备抗菌聚氨酯。其方法为: 首先将抗菌剂 RHA-2、聚氨酯 EG100A-B20 和分散剂按一定比例在高速混合机中混合均匀, 以提高抗菌剂在聚氨酯中的分散和附着能力, 然后将混合均匀的物料经双螺杆挤出机、切粒机制成抗菌母粒, 最后将抗菌母粒同空白聚氨酯按一定比例混合, 制备出抗菌剂质量分数分别为 0%(空白对照组), 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 5% 的抗菌聚氨酯, 经注塑机注塑成型为 5.0 cm×5.0 cm×0.5 cm 标准样板, 蒸馏水中浸泡 24 h, 消毒备用。抗菌聚氨酯样板的生产流程如下所示。



抗菌效能检测: 参照中华人民共和国轻工行业标准 QB/T 2591-2003, ISO 22196-2007 塑料制品表面抗菌性能评价方法(英文)及日本抗菌制品技术协会(Society of Industrial for Antimicrobia Articles, SIAA)标准规定, 用贴膜法进行检测, 考察样品 24 h 的抑菌率, 菌落总数的测定参照 GB 4789.2-2010 标准进行计数。将标准菌株金黄色葡萄球菌、大肠杆菌传代培养, 混悬于 TSB 培养液中, 采用麦氏比浊法配置成浓度为 1.5×10^8 CFU/mL 的菌液, 并依次做 4 次 10 倍递增稀释。分别吸取 100 μ L 菌液接种在各组抗菌试件表面, 盖上消毒 PE 膜, 在 37 $^{\circ}$ C、相对湿度>90%的条件下培养 24 h。然后将试件放置在含 9.99 mL TSB 培养液灭菌试管中, 旋涡振荡 1 min。分别取 1 mL 接种于 TSA 平板上, 培养 24 h 后, 计数菌落数 CFU。实验重复 5 次, 结果取平均值。

抗菌效能评定: 参照中华人民共和国轻工行

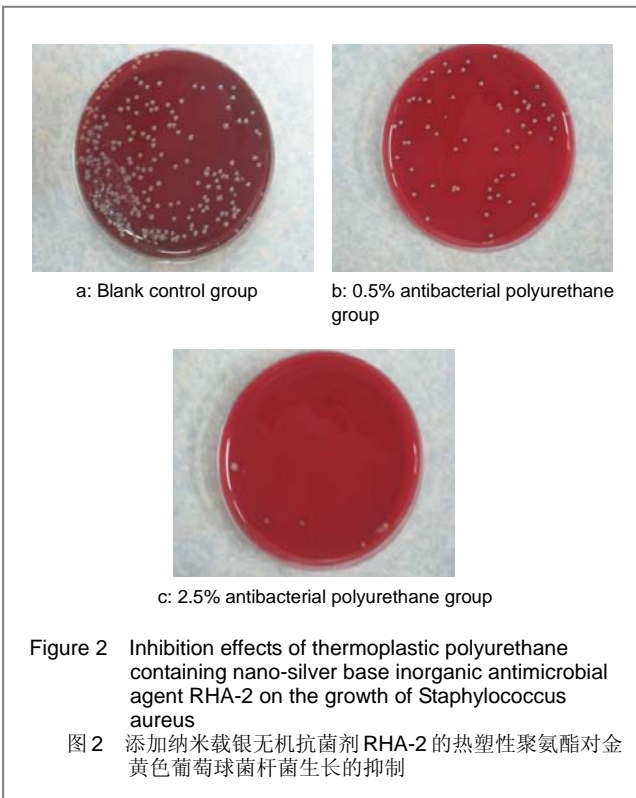
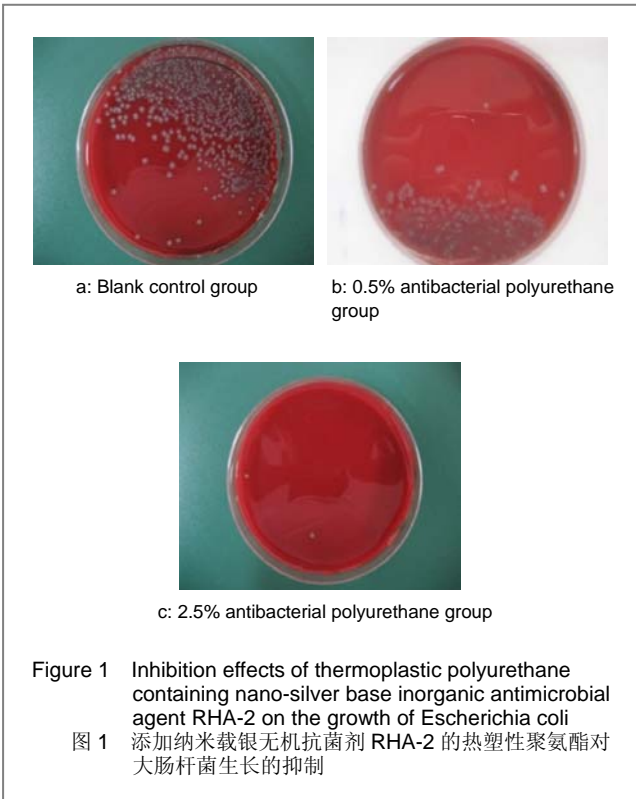
业标准 QB/T 2591-2003 产品抑菌和杀菌性能与稳定性实验方法评定抗菌效能, 计算公式: 抑菌率(%)=(A-B)/A×100%; 其中 A 为对照样品平均回收菌数, B 为实验样品平均回收菌数。若抑菌率为 50%~90%, 表示实验样品有抑菌作用, 若抑菌率>90%则表示实验样品有抗菌作用, 若抑菌率>99%表示实验样品有强抗菌作用。

主要观察指标: 各组试件抗菌效能检测结果。

统计学分析: 实验数据 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 13.0 软件进行方差分析。

2 结果

经过 24 h 培养, 添加纳米载银无机抗菌剂 RHA-2 的热塑性聚氨酯能有效抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长, 见图 1, 2。



抗菌剂添加比例0.5%~5% 组对金黄色葡萄球菌的抑菌率分别为80.23%, 91.32%, 95.23%, 99.19%, 99.87%, 99.93%, 对大肠杆菌的抑菌率分别为76.70%, 86.96%, 92.92%, 95.43%, 99.34%, 99.87%, 与空白对照组比较差异均有显著性意义($P < 0.05$), 且抗菌效能随抗菌剂添加比例的上升而显著提高, 见表1。

表 1 添加不同比例纳米载银无机抗菌剂聚氨酯的抗菌效能
Table 1 Antimicrobial property of polyurethanes containing different proportions of nano-silver base inorganic antimicrobial agents ($n=5$)

Group	Staphylococcus aureus		Escherichia coli	
	Average number of recovered colonies ($\bar{x}\pm s$, $\times 10^6$ CFU/mL)	Inhibitory rate (%)	Average number of recovered colonies ($\bar{x}\pm s$, $\times 10^6$ CFU/mL)	Inhibitory rate (%)
0%	297.4 \pm 21.04	-	302.2 \pm 22.7	-
0.5%	58.8 \pm 10.96	80.23	70.4 \pm 16.3	76.70
1%	25.8 \pm 10.16	91.32	39.4 \pm 14.8	86.96
1.5%	14.2 \pm 6.16	95.23	21.4 \pm 6.8	92.92
2%	2.4 \pm 1.04	99.19	13.8 \pm 5.2	95.43
2.5%	0.4 \pm 0.24	99.87	2.0 \pm 0.5	99.34
5%	0.2 \pm 0.16	99.93	0.4 \pm 0.3	99.87

3 讨论

无机抗菌剂是利用银、铜、锌、钛金属及其离子的杀菌或抑菌能力制得的一类抗菌剂, 通常是通过离子交换、物理吸附等方法, 将银、钛、锌等金属离子或其化合物固定在硅酸盐、磷酸盐、沸石、硅胶、活性炭、磷灰石、麦饭石等多孔材料中获得的, 具有广谱抗菌、耐高温、不易分解、安全卫生、功能持久、不产生耐药性等优点^[10-13]。由于超细纳米级粉体颗粒的特殊效应, 使其吸附细菌、病毒等的的能力明显提高, 催化反应及其他化学反应活性也显著增强^[12]。如纳米 Ag 粒从 100 nm 减小到 1 nm 时, 其比表面积和比表面能均增加 100 倍, 理论上抗菌活性也增强 100 倍, 与普通抗菌颗粒比较, 其抗菌活性更显著提高^[14], 使其在纤维、塑料、生物材料等方面具有广阔的应用前景。本课题选用的纳米载银磷酸锆抗菌剂, 吸湿性少、粒径均一, 抗菌性能优越, 效果持久, 安全无毒, 耐高温, 而且与高分子材料混配时几乎不变色^[15-16], 为纳米载银无机抗菌剂在生物材料领域的应用提供了理论依据。

大便失禁是指肛门括约肌不同程度上失去对粪便及气体排出的控制能力, 给患者带来巨大的生活不便和身心痛苦, 甚至造成人格变化^[17]。肛门失禁的治疗分为非手术和手术治疗, 非手术治疗包括改变饮食习惯, 抗腹泻药物治疗, 生物反馈治疗等, 手术治疗包括臀大肌瓣重建肛门外括约肌术、内、外括约肌共建手术、动静脉薄肌成形术、人工肛门括约肌置入^[18]。人工肛门括约肌通常以硅橡胶或聚氨酯为主要材料, 治疗效果显著, 通常可以完全控制排便功能^[19]。但是, 由于术后并发症导致总体失败率较高, 常见的并发症有感染、溃疡及括约肌破裂等, 限制了其在临床的广泛使用。Wexner 等^[20]回顾性收集从 1998/2007 因肛门失禁而置入人工肛门括约肌的 51 例患者, 23 例(41.2%)发生括约肌感染,

其中 18 例(35.3%)是早期感染, 而 5(5.9%)例属于晚期感染。所以, 对聚氨酯材料进行人工改性, 使其具有抗菌生物活性很有必要。

本实验选用纳米载银无机抗菌剂 RHA-2 通过熔融共混法添加在加热塑性聚醚型聚氨酯中, 采用薄膜密着法检测纳米抗菌聚氨酯的抗菌性能。由于薄膜密着法反映的是微生物在材料表面的生存情况, 较符合纳米抗菌聚氨酯表面接触抗菌原理。该法通过检测细菌在实验样品和对照样品上生存菌数的差异, 定量反映材料的抗菌能力, 检测结果真实可靠^[21]。本实验结果表明, 添加纳米载银无机抗菌剂后, 聚氨酯具有抑制金黄色葡萄球菌、大肠杆菌在其表面生长的作用, 其对金黄色葡萄球菌抑菌作用大于大肠杆菌。其抗菌机制为, 抗菌剂加入热塑性聚氨酯后位于材料表面的银离子接触细菌, 破坏其细胞膜及原生质酶、干扰 DNA 复制而达到抗菌作用^[11, 22]。

本实验结果显示, 随着纳米载银无机抗菌剂添加比例的上升, 聚氨酯的抗菌性能明显提高。当添加比例达到 1.5%时, 纳米抗菌聚氨酯对金黄色葡萄球菌抑菌率达到 95.23%, 对大肠杆菌的抑菌率达到 92.92%。由于 QB/T 2591-2003 规定材料对微生物的抑菌率>90%才能被称为抗菌材料, 所以从抗菌角度出发, 推荐纳米载银无机抗菌剂在聚氨酯中的添加比例不应低于 1.5%。

致谢: 实验在南方医科大学附属珠江医院中心实验室完成, 期间得到黄宗海教授、李强教授、史福军师兄、陈飞师兄、崔春晖师兄的宝贵指导, 以及贺艳的无声鼓励和支持, 在此表示衷心感谢。

4 参考文献

[1] Benedetti P, Pellizzer G, Furlan F, et al. Staphylococcus caprae meningitis following intraspinal device infection. J Med Microbiol. 2008;57(Pt 7): 904-9016.

[2] Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science. 1999;284(5418): 1318-1322.

[3] Opasanon S, Muangman P, Namviriyachote N. Clinical effectiveness of alginate silver dressing in outpatient management of partial-thickness burns. Int Wound J. 2010;7(6):467-471.

[4] Caruso DM, Foster KN, Blome-Eberwein SA, et al. Randomized clinical study of Hydrofiber dressing with silver or silver sulfadiazine in the management of partial-thickness burns. J Burn Care Res. 2006;27(3):298-309.

[5] Srinivasan A, Karchmer T, Richards A, et al. A prospective trial of a novel, silicone-based, silver-coated foley catheter for the prevention of nosocomial urinary tract infections. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006;27(1):38-43.

[6] Zhang Y, Yin QS, Zhang Y, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(42):8295-8298.

[7] Liu YT, Yan HX, Yin DW. Juanzhi Gongye. 2010;25(1):28-31.

[8] Wen ZG, Dong SX, Li CY. Huagong Xinxing Cailiao. 2010;38(11): 24-26.

温志国, 董声雄, 李春艳. 聚氨酯抗菌生物材料的研究进展[J]. 化工新型材料, 2010, 38(11): 24-26.

[9] He YL, Huang KL, Li KX, et al. Qiye Keji yu Fazhan. 2009;18(9): 24-27.

何耀良, 黄科林, 李克贤, 等. 国内抗菌聚氨酯的研究进展[J]. 企业科技与发展, 2009, 18(9): 24-27.

[10] Liao HW, Mu L, Tong Y, Youse Jinshu. 2010;62(1): 44-47, 68.

廖辉伟, 穆兰, 童云. 载银纳米铁酸铜抗菌剂的制备及抗菌性能[J]. 有色金属, 2010, 62(1): 44-47, 68.

[11] Jiang QL, Tian YG, Yin GH, et al. Pige yu Huagong. 2010;27(3): 13-17.

蒋庆连, 田一光, 银德海, 等. 载银羟基磷灰石抗菌剂的研究和应用[J]. 皮革与化工, 2010, 27(3): 13-17.

[12] Da XY, Xu X, Chen SB, et al. Xiandai Yufang Yixue. 2008;35(13): 2513-2515.

代小英, 许欣, 陈昭斌, 等. 纳米抗菌剂的概况[J]. 现代预防医学, 2008, 35(13): 2513-2515.

[13] Febf DD, Ji P. Kouqiang Hemian Xiufuxue Zazhi. 2009;10(5): 315-317.

冯丹丹, 汲平. 两种纳米无机抗菌剂在基托树脂中的抗菌应用研究[J]. 口腔颌面修复学杂志, 2009, 10(5): 315-317.

[14] Zhang WZ, Wang GW. Huagong Xinxing Cailiao. 2003;31(2): 42-44.

张文钰, 王广文. 纳米银抗菌材料研究现状[J]. 化工新型材料, 2003, 31(2): 42-44.

[15] Liu Q, Sui L, Li CY. Kouqiang Hemian Xiufuxue Zazhi. 2009;10(5): 301-305.

刘倩, 隋磊, 李长义. 载银磷酸锆在软衬材料中的分散及改性作用[J]. 口腔颌面修复学杂志, 2009, 10(5): 301-305.

[16] Liu Q. Tianjin Yike Daxue. 2010.

刘倩. 载银磷酸锆/硅橡胶复合软衬材料的制备及性能研究[D]. 天津医科大学, 2010.

[17] Lin HC, Su D, Kang L, et al. Jiezhichang Gangmen Waik. 2009; 15(4):290-292.

林宏城, 苏丹, 康亮, 等. 人工肛门括约肌的研究进展[J]. 结直肠肛门外科, 2009, 15(4): 290-292.

[18] Gurusamy KS, Marzouk D, Benziger H. A review of contemporary surgical alternatives to permanent colostomy. Int J Surg. 2005;3(3): 193-205.

[19] Luo Y, Higa M, Amae S, et al. Preclinical development of SMA artificial anal sphincters. Minim Invasive Ther Allied Technol. 2006; 15(4):241-245.

[20] Wexner SD, Jin HY, Weiss EG, et al. Factors associated with failure of the artificial bowel sphincter: a study of over 50 cases from Cleveland Clinic Florida. Dis Colon Rectum. 2009;52(9): 1550-1557.

[21] She WJ, Hu B, Zhang FQ. Shanghai Jiaotong Daxue Xuebao. 2006; 26(10):1096.

余文娟, 胡滨, 张富强. 纳米载银无机抗菌剂对义齿基托树脂抗菌性能的影响[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2006, 26(10): 1096.

[22] Liu YB, Li YF, Bai YX. Huaxue Tongbao. 2010;73(2): 118-125.

刘耀斌, 李彦锋, 拜永孝. 抗菌聚合物合成及其抑菌性能的研究进展[J]. 化学通报, 2010, 73(2): 118-125.

来自本文课题的更多信息—

基金资助: 2009 年海珠区科技计划项目(2009-Y-017), 课题名称: 智能型原位人工肛门的研制; 2009 年广州市科技计划项目(2009Z1-E251), 课题名称: 智能型原位人工肛门的研制; 2009 年广东省科技计划项目(2009A030200014), 课题名称: 智能型纳米复合材料原位人工肛门的研制; 2010 年广东省产学研结合项目(2010B090400423), 课题名称: 抗菌型有机硅橡胶人工肛门封堵器的研制与开发。

作者贡献: 实验设计、实验实施、资料收集及成文均由第一作者完成, 第二、三作者对文章进行审校, 第一作者对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

本文创新性: 以“纳米载银磷酸锆, 聚氨酯, 抗菌性能”为检索词, 在 CNKI, 维普及万方数据库中进行检索, 未发现相同的研究报告。实验观察了纳米磷酸锆抗菌聚氨酯的抗菌性能, 发现纳米载银无机抗菌剂的添加赋予了聚氨酯优异的抗菌性能。