

口腔抗菌领域中壳聚糖及其衍生物的作用

刘卓冉¹, 李玉梅², 刘俊彦², 尹彤¹, 姜明³, 李友瑞¹<https://doi.org/10.12307/2023.136>

投稿日期: 2022-04-18

采用日期: 2022-05-18

修回日期: 2022-06-13

在线日期: 2022-06-29

中图分类号:

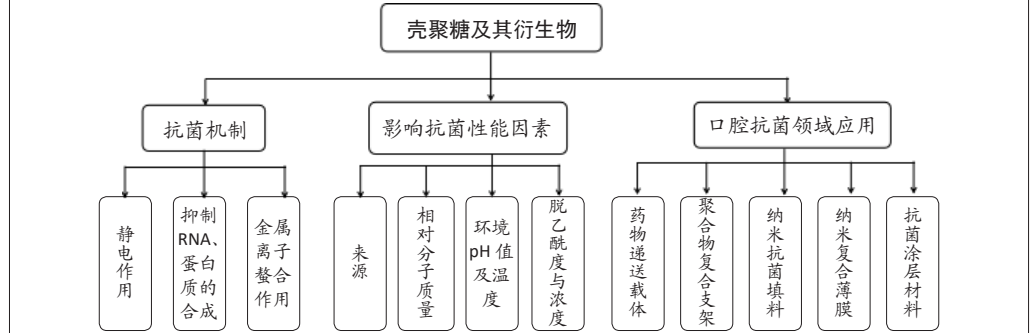
R459.9; R363; R364

文章编号:

2095-4344(2023)21-03361-07

文献标识码: A

文章快速阅读: 口腔抗菌领域壳聚糖及其衍生物的应用



文题释义:

壳聚糖及其衍生物: 壳聚糖是甲壳素脱乙酰基后的初级衍生物, 壳聚糖及其功能性衍生物具有优良的抗菌性和生物相容性, 无毒性, 目前已作为新型抗菌剂广泛应用于抗菌领域。

口腔抗菌领域: 口腔是一个复杂的微生物环境, 这些微生物相互作用导致菌群失调会引发一系列的口腔疾病。口腔抗菌领域的研究也是治疗相关疾病、维持口腔微生物环境稳态的重要环节。

摘要

背景: 口腔中微生物种类繁多, 形成一个复杂的微环境, 菌群失调会引发一系列口腔疾病。目前, 抗菌药物的使用主要是口服或局部使用, 但由于抗生素的迅速分解与释放, 病原微生物对抗生素的抗药性不断增强, 常导致临床疗效不佳。近年来研究发现, 壳聚糖及其衍生物具有良好的抗菌活性, 同时随着纳米技术的发展, 壳聚糖及其衍生物以不同的形式在抗菌领域的研究较为广泛。

目的: 针对壳聚糖及其衍生物的主要抗菌机制及其以不同形式在口腔抗菌领域的应用作一综述。

方法: 应用计算机在PubMed、Web of Science和中国知网数据库检索涉及壳聚糖及其衍生物在口腔抗菌领域中的相关研究, 中英文检索词分别为“Chitosan, chitosan derivative, Antibacterial activity, Antibacterial Mechanism, Oral”和“壳聚糖、壳聚糖衍生物、抗菌活性、抗菌机制、口腔”, 检索时限为各数据库至2022年4月。

结果与结论: ①壳聚糖又称脱乙酰甲壳素, 是甲壳素脱乙酰基后的初级衍生物, 是目前发现的唯一的阳离子碱性多糖。壳聚糖及其衍生物作为纳米抗菌剂在口腔抗菌领域得到广泛研究。②壳聚糖及其衍生物目前最公认的抗菌机制是静电作用, 即壳聚糖分子中所带的正电荷和微生物细胞膜所带的负电荷相互作用, 改变了细胞的通透性, 从而达到抗菌目的。③壳聚糖抗菌性能与多种因素相关, 如生物来源及壳聚糖的内在因素(包括脱乙酰度及浓度、分子量及聚合度等), 不同来源的壳聚糖和不固定的特定环境因素(如温度和pH值等)在很大程度上也会影响壳聚糖的抗菌能力。④壳聚糖及其衍生物一方面可以作为抗菌药物的载体来促进口腔溃疡的愈合; 另一方面也能形成聚合物复合支架作为更为绿色的口腔抗菌制剂, 以纳米抗菌填料的形式增强口腔材料的抗菌性能; 除此之外, 其还能够作为纳米复合薄膜和涂层抑制口腔常见菌种生物被膜的产生。⑤另外, 壳聚糖及其衍生物的抗菌应用仍处于实验阶段, 其抗菌机制尚不完全清楚, 因此需要进一步的研究来证实壳聚糖及其衍生物在未来的生物安全性。

关键词: 壳聚糖; 壳聚糖衍生物; 抗菌机制; 抗菌活性; 口腔疾病; 支架材料; 复合材料; 纳米填料

Role of chitosan and its derivatives in the field of oral antibacterial

Liu Zhuoran¹, Li Yumei², Liu Junyan², Yin Tong¹, Jiang Ming³, Li Yourui¹

¹Department of Prosthodontics, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256600, Shandong Province, China; ²Binzhou Medical College, Yantai 264000, Shandong Province, China; ³First Department of Endodontic Disease, Jinan Stomatological Hospital, Jinan 250000, Shandong Province, China

Liu Zhuoran, Master candidate, Department of Prosthodontics, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256600, Shandong Province, China

Corresponding author: Li Yourui, MD, Associate chief physician, Department of Prosthodontics, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou 256600, Shandong Province, China

Co-corresponding author: Jiang Ming, MD, Associate chief physician, First Department of Endodontic Disease, Jinan Stomatological Hospital, Jinan 250000, Shandong Province, China

¹滨州医学院附属医院口腔修复科, 山东省滨州市 256600; ²滨州医学院, 山东省烟台市 264000; ³济南市口腔医院牙体牙髓病1科, 山东省济南市 250000

第一作者: 刘卓冉, 女, 1997年生, 湖北省十堰市人, 汉族, 滨州医学院在读硕士, 主要从事口腔修复学研究。

通讯作者: 李友瑞, 博士, 副主任医师, 滨州医学院附属医院口腔修复科, 山东省滨州市 256600

并列通讯作者: 姜明, 博士, 副主任医师, 济南市口腔医院牙体牙髓病1科, 山东省济南市 250000

<https://orcid.org/0000-0002-8121-6828> (刘卓冉); <https://orcid.org/0000-0003-2765-1041> (李友瑞); <https://orcid.org/0000-0002-5752-7511> (姜明)

基金资助: 山东省医药卫生科技发展计划项目(2017WS753), 项目负责人: 李友瑞; 滨州医学院科研计划与科研启动基金项目

(BY2016KJ06), 项目负责人: 李友瑞

引用本文: 刘卓冉, 李玉梅, 刘俊彦, 尹彤, 姜明, 李友瑞. 口腔抗菌领域中壳聚糖及其衍生物的作用 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(21):3361-3367.



Abstract

BACKGROUND: There are many kinds of microorganisms in the mouth, forming a complex microenvironment, and microflora disorders can cause a series of oral diseases. At present, the use of antibacterial drugs is mainly oral or topical, but due to the rapid decomposition and release of antibiotics, the resistance of pathogenic microorganisms to antibiotics continues to increase, often resulting in poor clinical efficacy. In recent years, studies have found that chitosan and its derivatives have good antibacterial activity. With the development of nanotechnology, chitosan and its derivatives in different forms are widely studied in the field of antibacterial.

OBJECTIVE: To review the main antibacterial mechanisms of chitosan and its derivatives and their application in the field of oral antimicrobials in different forms.

METHODS: The computer was applied to search articles related to chitosan and its derivatives in the field of oral antimicrobials on PubMed, Web of Science and CNKI databases. The search terms were "chitosan, chitosan derivative, antibacterial activity, antibacterial mechanism, oral" in Chinese and English. The retrieval time was from the establishment of the database to April 2022.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Chitosan, also known as deacetylacetyl chitin, is the primary derivative of chitin after deacetyl group, and is the only cationic alkaline polysaccharide found so far. Chitosan and its derivatives have been widely studied in the field of oral antibacterial as nano-antibacterial agents. (2) The antibacterial mechanism most recognized by chitosan and its derivatives at present is electrostatic action, that is, the interaction between the positive charge carried by the chitosan molecule and the negative charge carried by the microbial cell membrane, which changes the permeability of the cell and thus achieves the antibacterial purpose. (3) The antibacterial properties of chitosan are related to a variety of factors. These factors mainly include: microbial origin, chitosan intrinsic factors (including: deacetyly and concentration, molecular weight, and polymerization degree). Different sources of chitosan and irregular specific environmental factors (such as temperature and pH value) will also greatly affect the antibacterial ability of chitosan. (4) Chitosan and its derivatives can be used as carriers of antibacterial drugs on the one hand to promote the healing of mouth ulcers; on the other hand, polymer composite scaffolds can be formed as greener oral antibacterial preparations, enhancing the antibacterial properties of oral materials in the form of nano-antibacterial fillers. In addition, it can also be used as nano-composite films and coatings to inhibit the production of biofilms of common oral strains. (5) In addition, the antibacterial application of chitosan and its derivatives is still in the experimental stage, and its antibacterial mechanism is not yet fully understood, so further research is needed to confirm the biosafety of chitosan and its derivatives.

Key words: chitosan; chitosan derivative; antibacterial mechanism; antibacterial activity; oral disease; stent material; composite material; nanofill

Funding: Shandong Medical and Health Science and Technology Development Plan Project, No. 2017WS753 (to LYR); Scientific Research Program and Research Start-up Fund Project of Binzhou Medical College, No. BY2016KJ06 (to LYR)

How to cite this article: LIU ZR, LI YM, LIU JY, YIN T, JIANG M, LI YR. Role of chitosan and its derivatives in the field of oral antibacterial. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2023;27(21):3361-3367.

0 引言 Introduction

口腔是一个极其复杂的微生态系统，含有 25 000 多种微生物，这些微生物可通过基质互相附着在牙齿表面形成了一层生物薄膜，而这些口腔生物膜会导致龋齿、牙周炎和种植体周围炎等口腔疾病^[1]。目前，抗菌药物的使用主要是口服或局部使用，但由于抗生素的迅速分解与释放，病原微生物对抗生素的抗药性不断增强，常导致临床疗效不佳^[2]。

壳聚糖是一种可再生的天然碱性多糖，具有良好的抗菌性能与生物相容性^[3]，但壳聚糖不溶于水及多种有机溶剂，从而限制它的广泛应用。近年来，国内外研究表明，通过对壳聚糖改性产生的壳聚糖衍生物不仅可改善壳聚糖的物理化学性质^[4]，还可保留壳聚糖的抗菌性质，但其抗菌机制仍不明确。文章对壳聚糖及其衍生物目前可能的抗菌机制进行了总结，从不同方面阐述了影响其抗菌性能的因素，并且以不同的生物材料状态(如药物递送载体、聚合物复合支架、纳米抗菌填料、纳米复合薄膜和抗菌涂层材料)角度，综述了壳聚糖及其衍生物作为纳米生物材料在口腔抗菌领域的应用进展及不足之处，为壳聚糖及其衍生物抗菌机制的研究和口腔疾病的抗菌疗法提供更广泛的思路。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

- 1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在 2022 年 4 月进行检索。
- 1.1.2 检索文献时限 各数据库建库至 2022 年 4 月发表的文献。
- 1.1.3 检索数据库 中国知网、Web of Science 和 PubMed 数据库。
- 1.1.4 检索词 英文检索词：“Chitosan, Chitosan derivative, Antibacterial Mechanism, Antibacterial activity, Oral”；中文检索词：“壳聚糖、壳聚糖衍生物、抗菌机制、抗菌活性、口腔”。
- 1.1.5 检索文献类型 综述性论文、研究性论文及著作。
- 1.1.6 手工检索情况 无。
- 1.1.7 检索策略 中英文数据库检索策略见图 1。
- 1.1.8 检索文献量 初步检索到 98 篇文献。

PubMed 数据库检索策略	中国知网数据库检索策略
#1 Chitosan [Title/Abstract]	#1 壳聚糖 [标题 / 摘要 / 关键词]
#2 Chitosan derivative [Title/Abstract]	#2 壳聚糖衍生物 [标题 / 摘要 / 关键词]
#3 Oral [Title/Abstract]	#3 口腔 [标题 / 摘要 / 关键词]
#4 #1 OR #2	#4 #1 OR #2
#5 #3 AND #4	#5 #3 AND #4
#6 Antibacterial Mechanism [Title/Abstract]	#6 抗菌机制 [标题 / 摘要 / 关键词]
#7 Antibacterial activity [Title/Abstract]	#7 抗菌性能 [标题 / 摘要 / 关键词]
#8 #6 OR #7	#8 #6 OR #7
#9 #4 AND #8	#9 #4 AND #8
#10 #5 AND #8	#10 #5 AND #8

图 1 | 中英文数据库检索策略图

1.2 入组标准

- 1.2.1 纳入标准 壳聚糖及其衍生物与口腔抗菌相关文献。
- 1.2.2 排除标准 ①与研究目的不相关文献；②重复性文献；③观点陈旧的文献。
- 1.3 文献质量评估和数据提取 初步共检索到 98 篇文献，中文文献 16 篇，排除与研究目的不相关、重复性以及观点陈旧性文献 38 篇，最终纳入 60 篇符合标准的文献进行综述，见图 2。

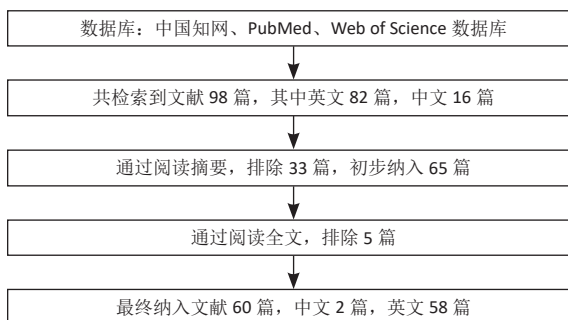


图 2 | 文献筛选流程图

2 结果 Results

2.1 壳聚糖及其衍生物 在 1859 年, 法国科学家 C. ROUGET 首次分离出壳聚糖, 将其命名为“Chitosan”, 到目前为止, 壳聚糖及其衍生物在口腔抗菌领域的应用已经取得了一些研究成果^[5-8], 见表 1。

表 1 | 壳聚糖及其衍生物在口腔抗菌领域应用的研究汇总表

研究者	发表年份	制备方法	主要结果	应用意义
C.ROUGET	1859	甲壳素浸泡在浓氢氧化钾溶液中, 煮沸一段时间, 取出洗净	发现其可溶于有机酸中	首次分离出壳聚糖, 命名为“Chitosan”
ALLAN 等 ^[5]	1979	将孢子或菌丝体碎片分散在培养基中后加入研磨成小颗粒的壳聚糖	薄状菌属、脉孢菌属、座线孢菌属等真菌生长抑制	发现壳聚糖对 32 种真菌具有抑制作用, 较甲壳素抑菌活性更强
WU 等 ^[6]	2004	以三氟乙酸作为溶剂, 制得壳聚糖和纤维素的共混薄膜	在共混膜上形成的菌落数量随着壳聚糖浓度的增加而减少	壳聚糖以薄膜形式对口腔常见菌种——大肠杆菌和金黄色葡萄杆菌有很好的抗菌性
SENTHIL KUMAR 等 ^[7]	2017	将纳米壳聚糖与玻璃离子粉末以 10% 质量分数混合, 制备纳米复合材料	复合材料具有较高抗压强度抗折强度	在口腔修复材料中添加纳米壳聚糖将改善其防龋性和机械性能
LIN 等 ^[8]	2021	由壳聚糖和氧化锌组成的生物复合涂层, 将涂层沉积在多孔的二氧化钛上	复合涂层对大肠杆菌具有双倍抑菌效能, 并有效地抑制了生物被膜的形成	具有氧化锌/壳聚糖/钛结构的种植体的耐腐蚀性得到了提高, 避免了口腔种植相关的感染

2.1.1 壳聚糖的分子结构 壳聚糖是来自虾蟹等海洋甲壳类动物的壳、昆虫的外骨骼、海洋藻类和真菌细胞壁的天然生物高分子聚合物, 是目前发现的唯一的阳离子碱性多糖^[9]。壳聚糖又称脱乙酰甲壳素, 是甲壳素脱乙酰基后的初级衍生物, 由 N-乙酰-D-葡萄糖胺重复单元, 通过 β -(1 \rightarrow 4) 糖苷键组成的不溶性线性黏多糖, 分子式为: $(C_6H_{13}NO_5)_n$, 见图 3。

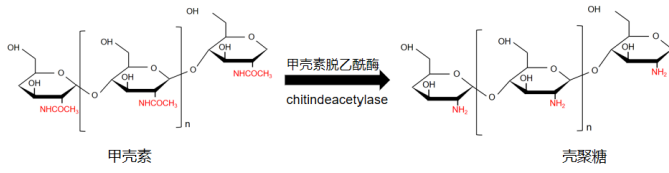


图 3 | 甲壳素脱乙酰作用生成壳聚糖

工业上通常采用浓碱煮沸加热除去甲壳素中大部分的乙酰基团来制备壳聚糖。壳聚糖的脱乙酰度是用 D-氨基与 D-氨基和 N-乙酰 D-氨基之和的比值来计算的。一般来说, 脱乙酰度达到 55% 的甲壳素被称为壳聚糖, 而脱乙酰度超过 70% 的壳聚糖是有使用价值的工业品^[10]。壳聚糖随着脱乙酰度的增加, 其溶解性得到改善, 但其分子内与分子间较强的氢键使壳聚糖溶液的黏度增加, 从而导致壳聚糖只能溶于各类有机酸和稀的无机酸, 不易溶解在中性或碱性溶剂中, 这极大限制了壳聚糖的应用^[11]。

2.1.2 壳聚糖衍生物的分类 壳聚糖具有的官能团 [氨基 (-NH₂) 和羟基 (-OH)] 具有一定的化学活性, 可对其进行改性或与其他高聚物进行共聚等方法改善其水溶性、机械强度以获得更加广泛的抗菌应用^[12]。

酰化改性是壳聚糖最常见的改性方法。酰化反应破坏了壳聚糖分子内和分子间的氢键, 使其结晶度减弱, 水溶性增强。O-酰化壳聚糖通常用于纤维或聚合材料的薄膜中, 以增强材料的疏水性和抗菌性^[13]。N-酰化壳聚糖可用作药物输送中的载体或

缓释剂, 也可用作生物支架中的材料添加剂^[14]。将烷基引入壳聚糖中, 使其具有显著减弱的分子间氢键, 从而改善其溶解性。N-烷基化壳聚糖可以由卤代烷制备, 烷基化壳聚糖因其凝结和抗菌性能可用于制备医用材料^[15]。羧化壳聚糖具有良好的水溶性, 还具有比壳聚糖更好的增稠、成膜等性能。因此羧化壳聚糖在生物医学和制药领域非常活跃, 具有促进伤口愈合的抗菌作用, 以及抗病毒、抗肿瘤和抗凝血等作用^[16]。季铵盐基是亲水基团, 带正电荷, 该基团的引入不仅改善了溶解性, 还使季铵盐壳聚糖具有良好的抗菌性、生物相容性和无毒性, 以及天然的黏附性和穿透黏液层并与上皮表面结合的能力, 因此其可用于抗炎药物或用作伤口敷料材料的填充纤维^[17]。

2.2 壳聚糖及其衍生物的抗菌机制 壳聚糖及其衍生物具有较好的抗菌活性, 可抑制真菌、细菌、病毒等微生物的繁殖, 其抗菌性能和抗菌机制一直是研究热点, 但到目前为止具体的抗菌机制尚不清楚。文章对近几年来国内外壳聚糖抗菌机制研究方面的文章进行梳理, 归纳了 3 种可能的抗菌机制^[18-27], 见表 2。

表 2 | 壳聚糖及其衍生物的抗菌机制

抗菌机制名称	应用意义	作用形式
静电作用 ^[18-20]	壳聚糖上的正电荷与细菌表面的负电荷相互作用, 发生静电作用	(1) 在细胞周围形成一层膜, 阻断细菌与外界进行物质交换的通道, 抑制菌体生长; (2) 增加病原体外膜和质膜的通透性, 导致膜破裂和内容物的流失, 导致细菌细胞死亡
抑制 RNA 和蛋白质的合成 ^[21-23]	壳聚糖进入细胞内或与病原体的 DNA 或 RNA 结合, 影响 DNA 向细菌的转化过程	(1) 低分子量壳聚糖分子在穿透细胞核的同时可以与 DNA 结合, 阻碍其转录; (2) 壳聚糖分子抑制细菌相关转运蛋白基因的表达, 阻碍蛋白质的合成, 降低细胞表面的防御作用, 达到抑菌目的
金属离子螯合作用 ^[24-27]	壳聚糖及其衍生物对金属离子具有螯合作用, 能够借此干扰细菌生长代谢	壳聚糖分子可以与病原体细胞中的金属离子对金属离子具有螯合作用, 能够借此抑制细胞的生长繁殖

2.2.1 静电作用 目前最认同的抗菌模型是壳聚糖 C-2 位上的氨基, 在 pH < 6 时带正电荷, 而细菌的细胞表面带负电荷, 正负电荷的相互作用, 发生静电作用, 改变了细胞的通透性, 使壳聚糖在细菌细胞表面形成一层复合物屏障膜, 从而阻碍细菌生长所必需的营养物质的吸收^[18]。

一些研究表明, 增加壳聚糖上 -NH₃⁺ 的正电荷数量会使其更强烈地结合到细菌的细胞壁上, 从而显示出更高的活性。这种相互作用可能会在细胞周围形成一层致密膜, 封闭了菌体表面的营养物质或代谢废物交换的通道, 进而抑制了菌体生长^[19]。SAITO 等^[20]研究了壳聚糖偶联物对铜绿假单胞菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌等菌体的抑菌活性, 结果表明分子量较低的壳聚糖可以通过静电作用穿过细胞膜, 进入病原体细胞的内部增加细菌外膜和质膜的通透性, 导致膜破裂和细胞内内容物的释放, 从而导致细菌细胞死亡。

2.2.2 抑制 RNA 和蛋白质的合成 有研究表明, 低分子质量的壳聚糖可以进入病原体细胞内部, 可能与病原体细胞内部的 DNA 或 RNA 结合, 从而起到抑制病原体生长或杀死病原菌的作用^[21]。

AMIDI 等^[22]总结了壳聚糖蛋白质治疗以及抗原输送系统的机制, 发现高分子质量壳聚糖分子解离后的溶液可以与细胞膜结合, 改变其通透性, 低分子量壳聚糖分子的解离溶液在穿透细胞核的同时可以与 DNA 结合, 可能会阻碍其转录, 从而影响 DNA 向大肠杆菌的转化过程。SHIH 等^[23]通过筛选突变库来揭示壳聚糖对于白色念珠菌的抗真菌机制, 结果表明壳聚糖分子能够穿过由多层胞壁质组成的细胞壁到达质膜, 抑制细胞壁相关基因表达 (如 ALS2, PGA45 和 ACE2) 以及转运蛋白基因的

表达, 阻碍蛋白质的合成, 从而降低细胞表面对于壳聚糖的防御作用, 起到一定的抑菌作用。

2.2.3 金属离子螯合作用 壳聚糖及其衍生物分子中有 -OH 和 -NH₂, 从构象上看, 它们都是平伏键, 但在一定的 pH 值条件下, 这种特殊结构使它们对一定离子半径的金属离子具有螯合作用^[24]。Ca²⁺, Mg²⁺ 和 Zn²⁺ 等金属离子是细胞代谢所需的重要部分, 壳聚糖及其衍生物能够借此干扰细胞代谢 (如毒素的合成), 从而达到抑菌的目的^[25]。

WEIPFLOG 等^[26] 研究了脱乙酰度在 80% 的壳聚糖对于重金属离子的螯合作用, 结果发现壳聚糖对于微量金属元素 (包括: Cu²⁺, Fe²⁺, Zn²⁺, Mg²⁺ 等) 有均匀的吸附作用, 分析壳聚糖可以与病原体细胞中的金属离子以及营养物质中的微量元素螯合, 从而抑制细胞的生长繁殖。壳聚糖结合金属离子的能力主要与分子结构中未质子化的氨基有关, 羧酸甲基化增强了壳聚糖对金属离子的吸附能力。同时, 一些研究成果表明, 当壳聚糖溶解于酸性溶液中时, 绝大部分氨基都发生质子化, 壳聚糖的抑菌效果是降低的, 此时螯合作用不再是抑菌的主导机制^[27]。

2.3 影响壳聚糖抗菌性能的主要因素 ARDEAN 等^[28] 认为壳聚糖的抗菌活性和作用模式的差异与多种因素相关, 这些因素主要包括: 微生物来源和壳聚糖的内在因素 (如: 脱乙酰度及浓度、分子质量和聚合度等); 此外, 不同来源的壳聚糖和不固定的特定环境因素 (如温度和 pH 值等) 在很大程度上也会影响壳聚糖的抗菌能力。因此, 下文将重点讨论各种因素对壳聚糖抗菌活性的影响。

2.3.1 壳聚糖的来源 壳聚糖由甲壳素脱乙酰化得到, 广泛存在于甲壳素类动物、昆虫、真菌和藻类等物质中, 是地球上仅次于纤维素的最丰富的多糖类。BYUN 等^[29] 研究表明, 蟹腿壳与蟹全壳制备的壳聚糖在理化和功能特性上存在较大差异, 与蟹腿制备的壳聚糖相比, 蟹壳制备的壳聚糖氮含量、脱乙酰度显著提高, 抗菌活性提高。昆虫 (六足类) 也是甲壳素的一个很有前途的来源。由于昆虫的繁殖率、繁殖的简便性以及对其生态系统变化的抵抗力使得来自昆虫的壳聚糖材料的产量也高于甲壳类动物。通过比较美洲大蠊为原料制备的壳聚糖膜和虾壳聚糖膜发现其具有更好的抗菌和抗氧化性能并显示出优异的物理性能^[30]。

2.3.2 壳聚糖的相对分子质量 壳聚糖的抗菌活性随其相对分子质量的不同而对细菌的抑制活性机制不同^[31]。在一些研究中提出, 杀菌效果需要最小相对分子质量为 10 000 的壳聚糖, 低分子质量 (相对分子质量 < 50 000) 壳聚糖分子的解离溶液在穿透细胞核的同时可以与 DNA 结合, 抑制 mRNA 的合成^[32]。LI 等^[33] 研究了壳聚糖纤维对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的抑菌活性, 结果表明, 壳聚糖纤维对金黄色葡萄球菌的抑制率随分子质量的增加先升高后降低, 在脱乙酰度相近的条件下, 对大肠杆菌的杀菌活性随分子质量的增加而降低。这归因于壳聚糖颗粒的大小和构象, 低分子质量壳聚糖小链的迁移率、引力和离子相互作用比大链的更容易^[34]。

2.3.3 壳聚糖的脱乙酰度与浓度 随着壳聚糖溶液浓度的提高, 溶液中游离氨基的含量也增加, 其抗菌效果也增大。通常壳聚糖抑制细菌生长所需的浓度与壳聚糖的乙酰化程度有关; 乙酰化度为 7.5% 的溶液比乙酰化度为 15% 的溶液更有效^[35]。在较低的浓度下, 壳聚糖才能结合到带负电荷的细胞表面, 特别是革兰阴性菌, 因此它会干扰细胞膜的渗透性; 然而在较高的浓度下, 由于氨基而带正电荷的壳聚糖可能覆盖在细胞表面, 而细胞内的成分被堵塞在细胞内^[36]。随着脱乙酰度的提高, 壳聚糖对金黄色葡萄球菌 (*S.aureus*) 的抑制效果不断提高。BYUN 等^[29]

研究发现脱乙酰度为 81.56% 的壳聚糖对金黄色葡萄球菌 (*S.aureus*) 的抑菌效果远远优于脱乙酰度为 62.71% 的壳聚糖。

2.3.4 环境 pH 值及温度 许多研究表明壳聚糖的抗菌活性随溶液酸性的增加而增强^[37]。壳聚糖在 pH < 6 时具有聚阳离子性质, 随着 pH 的降低, 壳聚糖在细菌表面的吸附量增加, 而当溶液 pH 6.5-7.0 时, 由于壳聚糖的氨基质子化程度极低因而几乎没有抑菌活性^[38]。NO 等^[39] 研究了不同 pH 值下壳聚糖对大肠杆菌 (*Escherichia Coli*)、芽孢杆菌 (*Bacillus megaterium*) 和金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 的抑菌作用, 结果发现: 壳聚糖的抗菌活性受 pH 值的反向影响, 随着 pH 值的降低 (pH < 6) 壳聚糖的抑菌效果逐渐提高。温度对壳聚糖的抗菌活性有很大影响, ARDILA 等^[40] 研究了在 37 °C、20 °C 和 7 °C 下壳聚糖溶液对鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 的抑菌效果, 结果为 37 °C 时抑菌效果最好, 20 °C 次之, 这主要是因为温度会影响壳聚糖与细胞的反应速率和细胞表面可结合位点数目, 较低的温度会改变细胞的表面结构、减少壳聚糖的表面结合位点。

2.3.5 其他因素 壳聚糖本身的抗菌活性全部归于氨基, 而氨基直接受到脱乙酰度的影响。由于革兰阳性和革兰阴性细胞壁的组成不同, 壳聚糖与这 2 种细菌的相互作用也不同。在一些研究中, 研究人员发现, 氨基对细胞壁中阴离子自由基的亲合力较高, 因此对革兰阴性菌的杀菌效果比对革兰阳性菌的杀菌效果更好^[41]。但在其他研究中, 由于革兰阴性外膜屏障的存在, 认为革兰阳性菌对壳聚糖的抗菌活性更为敏感。CHUNG 等^[42] 通过研究发现短碳链长度的有机酸溶剂增加壳聚糖的抗菌活性比无机酸溶剂好, 同时添加 EDTA 能增强对大肠杆菌的抗菌活性, 但降低了对金黄色葡萄球菌的抗菌活性。

2.4 壳聚糖及其衍生物在口腔抗菌领域的应用 口腔是一个复杂的微生物环境, 其中微生物生态失调会引起不同的口腔常见疾病, 如口腔溃疡、牙周炎、牙龈炎以及种植体周围炎等。在这些口腔疾病的治疗过程中, 抑制相关细菌的生长是非常重要的一个环节。

2.4.1 药物递送载体 近年来, 随着纳米技术的发展, 壳聚糖衍生物已被制备成纳米材料, 并将其广泛应用于医学材料和生物医学领域^[43]。壳聚糖及其衍生物既可作为药物的靶向给药载体, 也可作为疫苗的佐剂使用。这些研究也为解决口腔细菌引发的问题提供了新思路。

口腔黏膜给药系统由于唾液、口腔运动和非自主吞咽的不断变化阻碍了药物的牢固黏附, 因此药物在口腔黏膜上的滞留时间仍然有限。RYU 等^[44] 开发了一种黏附性多糖口腔贴片, 称为 “Chittal”, 它利用了耐湿黏附性的化学原理, 壳聚糖作为贴片药物的载体, 与唾液和嘴唇黏液层接触后立即与黏液界面的黏蛋白形成不溶的黏附层; 而后, 壳聚糖在共价交联和物理缠结的协同作用下转化为黏附性水凝胶, 其黏附性为药物提供了持久的治疗效果, 从而促进了口腔溃疡的愈合。

DUBASHYNSKAYA 等^[45] 以透明质酸和水溶性阳离子壳聚糖衍生物二乙氨基乙基壳聚糖为载体, 建立黏菌素给药系统。体外释放实验表明, 与纯黏菌素相比, 所开发的药物释放系统提供了一两小时的黏菌素缓释, 提示该给药系统可用于治疗由革兰阴性多重耐药微生物引起的感染。杨梦璐^[46] 利用壳聚糖作为载体的主要成分, 制备壳聚糖/海藻酸钠 pH 敏感型复合载体包覆防龋基因疫苗, 体外实验结果表明该载体展现了对 pH 敏感的缓释效能, 对基因疫苗在低 pH 值环境下展现了一定的保护性能, 能携带防龋基因疫苗引起免疫应答, 产生抑菌效果。

2.4.2 聚合物复合支架 口腔临床上现在常用的抗菌剂为洗必泰, 但其容易使牙或者修复体上着色。PHUANGKAEW 等^[47] 以

N-[(2-羟基-3-三甲基铵)丙基]疏水壳聚糖、十二烷基壳聚糖和邻苯二甲酰化壳聚糖为原料,与缩水甘油三甲基氯化铵反应,合成了两亲性季铵盐壳聚糖衍生物并评价了它们对变形链球菌的抗菌效果,己基取代度为30%的季铵盐壳聚糖水溶性最好,其最低抑菌浓度和最低杀菌浓度均优于未改性壳聚糖,它的抗生物被膜效果与洗必泰相当,表明它可以作为一种更绿色的口腔护理制剂的抗菌剂。PIEGAT等^[48]用微量稀释法证明了N,O-酰化壳聚糖衍生物显著减少了不同浓度的活细菌细胞(金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和幽门螺杆菌)数量,与壳聚糖相比,N,O-酰化壳聚糖衍生物具有更强的抗菌活性。衍生物的两亲性导致了该衍生物与黏蛋白之间强烈的相互作用,提示了N,O-酰化壳聚糖衍生物在抗菌应用中的巨大潜力。

LUO等^[49]研制出了一种可注射的热凝性壳聚糖接枝聚N-异丙基丙烯酸酰胺聚合物,在生理温度下可以可逆地形成半固体凝胶,便于口腔溃疡部位的注射治疗。同时实验结果证明,此类壳聚糖聚合物的质量分数为5.0%时对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制率最高可达90%;除此之外,其能够缩短大鼠口腔溃疡的愈合时间,有望成为治疗口腔黏膜溃疡的注射治疗剂。70%的慢性感染涉及病原菌生物被膜,且其对抗生素的耐药性增加。WANG等^[50]利用N-(2-羟基)丙基-3-三甲基壳聚糖氯化铵检测其对与根管感染相关的粪肠球菌的抗菌作用,结果表明,季铵盐壳聚糖在无菌双蒸水中对粪肠球菌生物被膜有显著的抑菌作用,提示其在根管消毒和根管充填方面具有潜在的应用前景。

2.4.3 纳米抗菌填料 牙髓感染是一种生物被膜疾病,目前的治疗方案很难根治,因此,持续的微生物可能导致持续或复发的疾病。使用增强型填充材料来修饰生物膜再生的潜力是一种很有前途的策略。ABUSREWIL等^[51]评价了壳聚糖改性硅酸钙生物材料的抗生物被膜效果,探讨了ProRootMTA, Biodentine和牛牙本质盘上单菌种和多菌种生物膜的形成。实验结果表明只有与壳聚糖结合的生物牙本质显示出剂量依赖性地减少多物种生物膜的再生长,在壳聚糖存在的情况下,跨界生物膜显示出增强了细菌的耐受性。这项研究证明了提高生物牙本质抗菌性能的潜力。

在临床口腔修复中,义齿性口炎是最常见的疾病之一。WALCZAK等^[52]通过壳聚糖-盐改性聚甲基丙烯酸甲酯 [poly (methacrylate), PMMA], 研制一种新型的抗真菌义齿基托材料,并对标本进行了白色念珠菌生物被膜实验。结果表明尽管在PMMA中加入壳聚糖-盐显著增加了样品的表面粗糙度,但用壳聚糖-盐对PMMA树脂进行改性并不能改善PMMA义齿基托材料的抗真菌性能。但DE MORI等^[53]用银纳米线和甲基丙烯酸壳聚糖配制新型PMMA黏结剂,结果证明能够降低聚合温度和生物膜的形成。传统的玻璃离子水门汀是目前最常用的牙科修复材料之一,但其机械强度较低,限制了其应用。IBRAHIM等^[54]用不同体积分数(5%, 10%, 25%, 50%)的壳聚糖溶液加入玻璃离子水门汀溶液中,同时对其抗菌性能进行测定。结果显示在玻璃离子水门汀的聚丙烯酸溶液中以5%-10%的体积比加入壳聚糖酸性溶液,在不影响其与牙本质表面黏附性的情况下,提高了普通玻璃离子水门汀的抗变形链球菌的抗菌性能。

2.4.4 纳米复合薄膜 慢性牙周炎是牙周斑引起的牙周支持组织的慢性炎症,也是成人失牙的主要原因之一。ZHANG等^[55]用不同尺寸的氧化锌颗粒分别加入到壳聚糖复合膜中,制备了壳聚糖复合膜。根据壳聚糖膜和壳聚糖/纳米氧化锌复合膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌实验,壳聚糖复合膜具有较好的抗菌活性,含0.3%尺寸为50 nm的氧化锌粒子的薄膜具有最好

的抑菌率,表明较小尺寸的纳米氧化锌粒子具有更好的抑菌活性,作为抗菌添加剂具有潜在的应用前景。

YIN等^[56]以季铵盐改性羧甲基壳聚糖、聚乙烯醇和五水硫酸铜为原料,通过溶液浇铸和离子吸附工艺制备了抗菌季铵化羧甲基壳聚糖/聚乙烯醇/铜共混膜。检测结果表明负载铜离子后,材料的力学性能和热性能都有所提高;通过负载Cu²⁺,共混膜表现出良好的抗菌活性,约98.3%的金黄色葡萄球菌和99.9%的大肠杆菌可在60 min内灭活;对细胞毒性进行了研究,结果表明所制备的膜具有良好的细胞活性和生物相容性。ZHANG等^[57]以羧甲基壳聚糖为载体,采用水乳液共聚法合成了一种新型的水性聚氨酯-明胶水解物水凝胶膜。一系列的测试表明该水凝胶膜具有良好的热稳定性、溶胀性和可控的生物降解性,纸片扩散试验表明,该水凝胶膜对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌具有明显的抗菌活性。

2.4.5 抗菌涂层材料 随着口腔种植技术的发展与普及,口腔种植体周围炎也时常发生。CAMACHO-ALONSO等^[58]评价了利用光动力疗法和壳聚糖对种植体周围炎常见菌(如金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌和铜绿假单胞菌)钛附着生物膜可能的协同抗菌作用,该研究通过测定钛板上细胞集落形成单位以确定抑菌效果,结果表明光动力疗法与壳聚糖联合应用对与种植体周围炎密切相关的细菌有协同抗菌作用。

LIU等^[59]制备了聚乙二醇化壳聚糖修饰的银纳米粒子(PEG-g-CS@AgNPs),研究了该银纳米粒子对革兰阴性大肠埃希菌和革兰阳性金黄色葡萄球菌的抑菌活性,其最小抑菌浓度远低于壳聚糖和聚乙二醇接枝壳聚糖。聚乙二醇接枝壳聚糖@AgNPs涂层优异的抗菌性能归功于聚乙二醇化抗菌与放菌的结合,以及壳聚糖与银离子释放的双重杀菌作用。D'ALMEIDA等^[60]以丙基丁二酸三乙氧基硅酯为偶联剂,采用共价键两步法将壳聚糖接枝到钛合金上制成涂层。微生物学试验表明,该涂层对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌有较好的抗菌活性并有效地抑制了生物被膜的形成。

文章最后总结了壳聚糖及其衍生物作为新型纳米生物材料能够以不同方式应用于口腔抗菌领域的研究,见表3。

表3 | 壳聚糖及其衍生物在口腔抗菌领域的应用

应用形式	意义
药物递送载体 ^[43-46]	壳聚糖及其衍生物作为药物递送载体,能够提供持久的药物疗效,延长药物释放时间,所携带的防龋基因能够产生免疫应答,达到抑菌防龋的效果
聚合物复合支架 ^[47-50]	壳聚糖及其衍生物形成的聚合物复合支架对口腔常见菌种(变形链球菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌)均有更强的抑菌活性,可作为更绿色的口腔护理抗菌剂以及口腔溃疡的注射治疗剂
纳米抗菌填料 ^[51-54]	壳聚糖及其衍生物作为纳米抗菌填料能够与口腔生物材料结合,提高普通玻璃离子水门汀的抗菌性能,减少多种生物膜的再生长
纳米复合薄膜 ^[55-57]	壳聚糖及其衍生物制成的纳米复合薄膜具有良好的力学性能、热稳定性和生物相容性,对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌具有明显的抗菌活性
抗菌涂层材料 ^[58-60]	壳聚糖及其衍生物接枝到钛合金上制成涂层能够有效抑制口腔种植体周围炎常见菌生物被膜的形成,与金属纳米粒子结构能够起到双重杀菌的效果

3 小结与展望 Summary and prospects

3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在的问题 壳聚糖作为一种具有优异性能的可生物降解高分子材料,在医用材料和生物医学领域有着广泛的应用。为了提高壳聚糖的水溶性并扩大其应用范围,很多研究通过化学反应合成了具有亲水性、pH敏感性和靶向性的壳聚糖衍生物。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 以往的综述通常从口腔疾病(如牙髓炎、牙周病和颌外损伤等)来阐述壳聚糖及其衍生物的抑菌和组织再生的性能,针对生物材料形式的阐述很少。文章聚焦了壳聚糖及其衍生物材料在口腔抗菌领域的应用现状以及发展前景,通过检索国内外文献,从壳聚糖及其衍生物的抗菌机制、影响其抗菌性能的因素以及其临床应用进行综述。文章从不同生物材料的方式入手,重点以壳聚糖及其衍生物以不同的生物材料状态(如药物递送载体、聚合物复合支架、纳米抗菌填料、纳米复合薄膜和抗菌涂层材料)为切入点,总结了壳聚糖及其衍生物作为生物材料在口腔抗菌领域的应用进展。壳聚糖及其衍生物一方面可以作为抗菌药物的载体来促进口腔溃疡的愈合;另一方面也能形成聚合物复合支架作为更为绿色的口腔抗菌制剂,以纳米抗菌填料的形式增强口腔材料的抗菌性能;除此之外,其还能够作为纳米复合薄膜和涂层抑制口腔常见菌种生物被膜的产生。

3.3 综述的局限性 目前对于壳聚糖以及其衍生物在疾病的防治中的研究较多,而针对口腔细菌的抗菌治疗的研究以及纳米生物材料的应用研究很少。目前壳聚糖及其衍生物的抗菌机制仍不明确,制备方法有待优化。对于壳聚糖新型衍生物的细胞毒性和未来的生物安全性仍需要更多研究。

3.4 综述的重要意义 该综述全面检索了壳聚糖及其衍生物的抗菌机制、抗菌性能影响因素及在口腔抗菌领域的研究,介绍了该领域的研究进展,首次从生物材料角度总结了壳聚糖及其衍生物在口腔抗菌领域很大的潜在价值,可为菌群失调引起的口腔疾病提供新的治疗思路,同时也为未来口腔材料修复研究提供更广阔的方向。

3.5 课题专家组对未来的建议 壳聚糖衍生物对于常见的口腔细菌性疾病如龋齿、牙周炎、口腔溃疡和种植体周围炎症等,其抑菌形式和与抗菌剂的组成也比较广泛,尤其是药物的控释和持久性。然而,以往对壳聚糖及其衍生物的大多数研究都是在体外进行的,其抗菌机制尚不完全清楚,因此未来需要进一步的研究来证实壳聚糖及其衍生物在未来的生物安全性。

致谢: 感谢李友瑞老师的课题指导以及姜明老师对文章写作的指导。

作者贡献: 文章设计者为李玉梅。资料收集者为尹彤。数据分析者为刘俊彦。刘卓冉撰写论文。姜明和李友瑞审核。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 声明)。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

[1] VALM AM. The structure of dental plaque microbial communities in the transition from health to dental caries and periodontal disease. *J Mol Biol.* 2019;431(16):2957-2969.

[2] BIHAREE A, SHARMA A, KUMAR A, et al. Antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. *Fitoterapia.* 2020;146:104720.

[3] KULKARNI N, SHINDE SD, JADHAV GS, et al. Peptide-chitosan engineered scaffolds for biomedical applications. *Bioconjug Chem.* 2021;32(3):448-465.

[4] YU D, FENG J, YOU H, et al. The microstructure, antibacterial and antitumor activities of chitosan oligosaccharides and derivatives. *Mar Drugs.* 2022;20(1):69.

[5] ALLAN C, ADNIGER LA. The fungicidal effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Exp Mycol.* 1979;3:285-287.

[6] WU YB, YU SH, MI FL, et al. Preparation and characterization on mechanical and antibacterial properties of chitsoan/cellulose blends. *Carbohydrate Polymers.* 2004;57(4):435-440.

[7] SENTHIL KUMAR R, RAVIKUMAR N, KAVITHA S, et al. Nanochitosan modified glass ionomer cement with enhanced mechanical properties and fluoride release. *Int J Biol Macromol.* 2017;104(Pt B):1860-1865.

[8] LIN MH, WANG YH, KUO CH, et al. Hybrid ZnO/chitosan antimicrobial coatings with enhanced mechanical and bioactive properties for titanium implants. *Carbohydr Polym.* 2021;257:117639.

[9] 崔升,袁美玉,付俊杰,等. 抗菌用壳聚糖及其金属粒子复合材料研究进展 [J]. *精细化工.* 2021,38(9):1757-1764, 1778.

[10] LI J, TIAN X, HUA T, et al. Chitosan natural polymer material for improving antibacterial properties of textiles. *ACS Appl Bio Mater.* 2021;4(5):4014-4038.

[11] BABU A, RAMESH R. Multifaceted applications of chitosan in cancer drug delivery and therapy. *Mar Drugs.* 2017;15(4):96.

[12] RIAZ RAJOKA MS, MEHWISH HM, WU Y, et al. Chitin/chitosan derivatives and their interactions with microorganisms: a comprehensive review and future perspectives. *Crit Rev Biotechnol.* 2020;40(3):365-379.

[13] PAVINATTO A, SOUZA A L, DELEZUK JA, et al. Interaction of O-acylated chitosans with biomembrane models: probing the effects from hydrophobic interactions and hydrogen bonding. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2014;114:53-59.

[14] ABRICA-GONZÁLEZ P, ZAMORA-JUSTO JA, SOTELO-LÓPEZ A, et al. Gold nanoparticles with chitosan, N-acylated chitosan, and chitosan oligosaccharide as DNA carriers. *Nanoscale Res Lett.* 2019;14(1):258.

[15] DU X, WU L, YAN H, et al. Microchannelled alkylated chitosan sponge to treat noncompressible hemorrhages and facilitate wound healing. *Nat Commun.* 2021;12(1):4733.

[16] SHEN J, JIN B, QI YC, et al. Carboxylated chitosan/silver-hydroxyapatite hybrid microspheres with improved antibacterial activity and cytocompatibility. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017;78:589-597.

[17] YI Y, FEI J, XU Y X, et al. Preparation and characterization of a Schiff-based chitosan-fructose quaternary ammonium salt for medical applications. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2020;31(6):804-815.

[18] ISLAM S, ARNOLD L, PADHYE R. Comparison and characterisation of regenerated chitosan from 1-butyl-3-methylimidazolium chloride and chitosan from crab shells. *Biomed Res Int.* 2015;2015:874316.

[19] KHATTAK S, WAHID F, LIU LP, et al. Applications of cellulose and chitin/chitosan derivatives and composites as antibacterial materials: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2019;103(5):1989-2006.

[20] SAITO H, SAKAKIBARA Y, SAKATA A, et al. Antibacterial activity of lysozyme-chitosan oligosaccharide conjugates (LYZOX) against pseudomonas aeruginosa, acinetobacter baumannii and methicillin-resistant staphylococcus aureus. *PLoS One.* 2019;14(5):e0217504.

[21] JAMSHIDI D, SAZEGAR MR. Antibacterial activity of a novel biocomposite chitosan/graphite based on zinc-grafted mesoporous silica nanoparticles. *Int J Nanomedicine.* 2020;15:871-883.

[22] AMIDI M, MASTROBATTISTA E, JISKOOT W, et al. Chitosan-based delivery systems for protein therapeutics and antigens. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010;62(1):59-82.

- [23] SHIH PY, LIAO YT, TSENG YK, et al. A potential antifungal effect of chitosan against candida albicans is mediated via the inhibition of SAGA complex component expression and the subsequent alteration of cell surface integrity. *Front Microbiol.* 2019;10:602.
- [24] XIAO X, YU Y, SUN Y, et al. Heavy metal removal from aqueous solutions by chitosan-based magnetic composite flocculants. *J Environ Sci (China).* 2021;108:22-32.
- [25] GRANDE-TOVAR CD, CHAVES-LOPEZ C, SERIO A, et al. Chitosan coatings enriched with essential oils: effects on fungi involved in fruit decay and mechanisms of action. *Trends Food Sci Tech.* 2018;78:61-71.
- [26] WEIßPFLOG J, GÜNDEL A, VEHLW D, et al. Solubility and selectivity effects of the anion on the adsorption of different heavy metal ions onto chitosan. *Molecules.* 2020;25(11):2482.
- [27] CHUNG YC, YEH JY, TSAI CF. Antibacterial characteristics and activity of water-soluble chitosan derivatives prepared by the Maillard reaction. *Molecules.* 2011;16(10):8504-8514.
- [28] ARDEAN C, DAVIDESCU CM, NEMEŞ NS, et al. Factors influencing the antibacterial activity of chitosan and chitosan modified by functionalization. *Int J Mol Sci.* 2021;22(14):7449.
- [29] BYUN SM, NO HK, HONG JH, et al. Comparison of physicochemical, binding, antioxidant and antibacterial properties of chitosans prepared from ground and entire crab leg shells. *Int J Food Sci Tech.* 2013;48(1):136-142.
- [30] MA J, FAQIR Y, TAN C, et al. Terrestrial insects as a promising source of chitosan and recent developments in its application for various industries. *Food Chem.* 2022;373(Pt A):131407.
- [31] SRIMANEEPONG V, THANAMEE T, WATTANASIRMKIT K, et al. Efficacy of low-molecular weight chitosan against *Candida albicans* biofilm on polymethyl methacrylate resin. *Aust Dent J.* 2021;66(3):262-269.
- [32] KAŠPAROVÁ P, ZMUDA M, VAŇKOVÁ E, et al. Low-molecular weight chitosan enhances antibacterial effect of antibiotics and permeabilizes cytoplasmic membrane of *Staphylococcus epidermidis* biofilm cells. *Folia Microbiol (Praha).* 2021;66(6):983-996.
- [33] LI J, FU J, TIAN X, et al. Characteristics of chitosan fiber and their effects towards improvement of antibacterial activity. *Carbohydr Polym.* 2022; 280:119031.
- [34] VISHU KUMAR AB, VARADARAJ MC, GOWDA LR, et al. Characterization of chito-oligosaccharides prepared by chitosan analysis with the aid of papain and Pronase, and their bactericidal action against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. *Biochem J.* 2005;391(Pt 2):167-175.
- [35] HOSSEINNEJAD M, JAFARI SM. Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan. *Int J Biol Macromol.* 2016;85:467-475.
- [36] HASSAN MI, MOHAMED AF, TAHER FA, et al. Antimicrobial activities of chitosan nanoparticles prepared from *Lucilia cuprina* maggots (diptera: calliphoridae). *J Egypt Soc Parasitol.* 2016;46(3):563-570.
- [37] RISTIC T, HRIBERNIK S, FRAS-ZEMLJIC L. Electrokinetic properties of fibres functionalised by chitosan and chitosan nanoparticles. *Cellulose.* 2015;22(6):3811-3823.
- [38] MENG X, XING R, LIU S, et al. Molecular weight and pH effects of aminoethyl modified chitosan on antibacterial activity in vitro. *Int J Biol Macromol.* 2012;50(4):918-924.
- [39] NO HK, PARK NY, LEE SH, et al. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int J Food Microbiol.* 2002;74(1-2):65-72.
- [40] ARDILA N, DAIGLE F, HEUZEY MC, et al. Effect of chitosan physical form on its antibacterial activity against pathogenic bacteria. *J Food Sci.* 2017;82(3):679-686.
- [41] CHUNG YC, SU YP, CHEN CC, et al. Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta Pharmacol Sin.* 2004;25(7):932-936.
- [42] CHUNG YC, WANG HL, CHEN YM, et al. Effect of abiotic factors on the antibacterial activity of chitosan against waterborne pathogens. *Bioresour Technol.* 2003;88(3):179-184.
- [43] CARACCILO G, VALI H, MOORE A, et al. Challenges in molecular diagnostic research in cancer nanotechnology. *Nano Today.* 2019;27: 6-10.
- [44] RYU JH, CHOI JS, PARK E, et al. Chitosan oral patches inspired by mussel adhesion. *J Control Release.* 2020;317:57-66.
- [45] DUBASHYNSKAYA NV, RAIK SV, DUBROVSKII YA, et al. Hyaluronan/diethylaminoethyl chitosan polyelectrolyte complexes as carriers for improved colistin delivery. *Int J Mol Sci.* 2021;22(16):8381.
- [46] 杨梦璐. 壳聚糖基防龋基因疫苗载体的制备及性能研究 [D]. 遵义: 遵义医科大学, 2021.
- [47] PHUANGKAEW T, BOORANABUNYAT N, KIATKAMJORNWONG S, et al. Amphiphilic quaternized chitosan: synthesis, characterization, and anti-cariogenic biofilm property. *Carbohydr Polym.* 2022;277:118882.
- [48] PIEGAT A, ŻYWICKA A, NIEMCZYK A, et al. Antibacterial activity of N,O-Acylated chitosan derivative. *Polymers (Basel).* 2020;13(1):107.
- [49] LUO Z, XUE K, ZHANG X, et al. Thermogelling chitosan-based polymers for the treatment of oral mucosa ulcers. *Biomater Sci.* 2020;8(5): 1364-1379.
- [50] WANG N, JI Y, ZHU Y, et al. Antibacterial effect of chitosan and its derivative on enterococcus faecalis associated with endodontic infection. *Exp Ther Med.* 2020;19(6):3805-3813.
- [51] ABUSREWIL S, BROWN JL, DELANEY C, et al. Chitosan enhances the anti-biofilm activity of biodentine against an interkingdom biofilm model. *Antibiotics (Basel).* 2021;10(11):1317.
- [52] WALCZAK K, SCHIERZ G, BASCHE S, et al. Antifungal and surface properties of chitosan-salts modified PMMA denture base material. *Molecules.* 2020;25(24):5899.
- [53] DE MORI A, DI GREGORIO E, KAO AP, et al. Antibacterial PMMA composite cements with tunable thermal and mechanical properties. *ACS Omega.* 2019;4(22):19664-19675.
- [54] IBRAHIM MA, NEO J, ESGUERRA RJ, et al. Characterization of antibacterial and adhesion properties of chitosan-modified glass ionomer cement. *J Biomater Appl.* 2015;30(4):409-419.
- [55] ZHANG X, ZHANG Z, WU W, et al. Preparation and characterization of chitosan/Nano-ZnO composite film with antimicrobial activity. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2021;44(6):1193-1199.
- [56] YIN M, LIN X, REN T, et al. Cytocompatible quaternized carboxymethyl chitosan/poly (vinyl alcohol) blend film loaded copper for antibacterial application. *Int J Biol Macromol.* 2018;120(Pt A):992-998.
- [57] ZHANG M, YANG M, WOO MW, et al. High-mechanical strength carboxymethyl chitosan-based hydrogel film for antibacterial wound dressing. *Carbohydr Polym.* 2021;256:117590.
- [58] CAMACHO-ALONSO F, SALINAS J, SÁNCHEZ-SILES M, et al. Synergistic antimicrobial effect of photodynamic therapy and chitosan on the titanium-adherent biofilms of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*: an in vitro study. *J Periodontol.* 2021. doi: 10.1002/JPER.21-0306.
- [59] LIU G, LI K, LUO Q, et al. PEGylated chitosan protected silver nanoparticles as water-borne coating for leather with antibacterial property. *J Colloid Interface Sci.* 2017;490:642-651.
- [60] D'ALMEIDA M, ATTIK N, AMALRIC J, et al. Chitosan coating as an antibacterial surface for biomedical applications. *PLoS One.* 2017; 12(12):e0189537.

(责任编辑: WJ, ZN, ZJP)