

添加壳聚糖的藻酸盐印模材料抗菌性能研究

赵红梅, 孙桂兰

(青岛大学医学院附属医院口腔修复科, 山东青岛 266003)

摘要: 目的: 对添加壳聚糖的藻酸盐印模材料的抗菌性进行测试, 为口腔抗菌印模材料的研究奠定基础。方法: 分别以不同的添加比将不同分子量和脱乙酰度的壳聚糖加入藻酸盐印模材料中, 采用薄膜密着法, 分别测试添加抗菌成分后印模材料对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抗菌活性。结果: 壳聚糖分别以1%和1.4%的添加比添加到藻酸盐印模材料中, 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有最好的抗菌性。随着脱乙酰度的提高, 抑菌率均可达到100%。结论: 添加壳聚糖的藻酸盐印模材料具有良好的抗菌效果。

关键词: 口腔修复学; 壳聚糖; 抗菌性能; 藻酸盐; 口腔印模材料

中图分类号: R780.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-2850(2008)06-0358-5

Antibacterial activities of dental alginate impression materials impregnated with chitosan

ZHAO Hongmei, SUN Guilan

(Department of Prosthodontics, The Affiliated Hospital of Medical College, Qingdao University, Qingdao Shandong 266003)

Abstract: Objective: To measure the antibacterial activities of the alginate impression materials impregnated with chitosan, make a basic knowledge of antibacterial dental impression materials. Methods: Chitosan with different molecular weight and deacetyl degree was added into dental alginate impression materials respectively in different ratio. Their antibacterial activities were tested using a method according to the Chinese and Japanese standards for testing antibacterial efficacy of antibacterial materials. *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 are used in this research. Results: Chitosan added into the alginate impression materials has the best antimicrobial ability for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in the ratios of 1% and 1.4%. Its inhibitory bacteria rate can reach 100% along with the increase of deacetyl degree. Conclusion: The alginate impression materials impregnated with chitosan have a favorable antimicrobial ability.

Key words: prosthetic dentistry; chitosan; antibacterial ability; alginates; dental impression materials

0 引言

口腔印模材料会被病人唾液和血液中的微生物所污染, 从而造成所翻制石膏模型的交叉感染。因此, 近年来对于印模材料的消毒成为口腔医务工作者面临的重要问题^[1]。POWELL等^[2]对4个城市的口腔印模样本进行检测发现, 67%的口腔印模有存在致病菌的条件。有研究表明, 藻酸盐印模有滞留、吸附病毒的作用^[3]。在口腔修复的治疗过程中, 除牙体预备的涡轮机头以外, 口腔印模也可以成为上述病菌传播的媒介。污染的印模是感染由患者向口腔工作人员传播的主要潜在感染途径。国内外对于机头消毒已经予以了很大的重视, 但对于印模的消毒, 还没有形成一个可以被口腔专业界公认并能满足口腔修复临床需要的常规消毒方法^[4]。目前常用的印模消毒方法是消毒液浸泡或喷射消毒。有研究表明, 这两种消毒方法对材料的尺寸稳定性和表面清晰度都有一定的影响, 并且印模消毒增加了临床步骤, 需添加特殊设备, 这些都不利于推广口腔无菌操作的规范化。

作者简介: 赵红梅 (1983—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向: 口腔修复印模材料及新型口腔修复材料的研究和应用
通信联系人: 孙桂兰, 副教授, 主要研究方向: 口腔修复材料的研究和应用, E-mail: chinescmdg@163.com

壳聚糖是甲壳素脱乙酰基后的产物，是目前自然界中唯一发现带正电荷的天然多糖，在自然界的含量极为丰富，化学名称为(1,4)-2-氨基-2-脱氧- β -D-葡聚糖。具有生物可相容性、生物可降解性、无毒性及良好的抗菌性能，并有促进伤口愈合、引导骨形成、增强机体免疫力、降血脂及降血糖等^[5]功能。在体内可被溶菌酶降解为葡萄糖胺，后者可被人体吸收利用。由于其独特的功能，壳聚糖近年来已在医学领域广泛应用。壳聚糖对口腔细菌的抑制作用已有研究报道^[6]。本研究在藻酸盐水粉印模材料中添加壳聚糖粉体，研制出具有自我消毒功能的抗菌型口腔印模材料。实验中分别选取不同分子量和脱乙酰度的壳聚糖加入藻酸盐印模材料中，初步测试其抗菌性能，为研制这种新型抗菌印模材料提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

壳聚糖：分子量为0.82万、5.48万、7.57万、9.18万、13.36万的脱乙酰度均为69%的壳聚糖；分子量均为50万，脱乙酰度分别为69%、75.83%、82.59%、92.38%的壳聚糖（济南海大生物工程有限公司）。藻酸盐印模材料（贺利氏）。

1.1.2 标准菌株

金黄色葡萄球菌 ATCC 6538，大肠埃希氏菌 ATCC 25922（广东环凯生物科技有限公司）。

1.1.3 覆盖膜

采用POF热收缩膜（青岛海之川包装材料有限公司），裁剪成大小为3.0 cm×3.0 cm方形薄片。实验前用75%的乙醇溶液浸泡消毒1 min，无菌水漂洗，自然晾干备用。

1.1.4 微生物培养基

牛肉膏（北京奥博星生物技术有限责任公司），蛋白胨（中国天津市巴斯夫化工有限公司），琼脂（青岛水产品加工厂生产公司）。

1.1.5 样品制备

阴性对照样品（A）：直径90 mm灭菌平皿的内平板；空白对照样品（B）：未添加抗菌成分的藻酸盐印模材料，按说明书方法进行调拌，水粉比控制在23 mL：10 g，灌入模具中制备成4.0 cm×4.0 cm，厚度3.0 mm的正方形试样；抗菌印模材料样品（C）：添加抗菌成分的藻酸盐印模材料，按说明书方法进行调拌，水粉比控制在23 mL：10 g，灌入模具中制备成4.0 cm×4.0 cm，厚度3.0 mm的正方形试样。用C₁~C_n分别表示加入不同壳聚糖的抗菌试样。以上样品用无菌水冲洗，自然晾干备用。

1.2 方法

培养基和试剂制备以及操作步骤均参考《抗菌塑料——抗菌性能试验方法和抗菌效果》（QB/T 2591—2003），采用薄膜密着法测试添加抗菌剂的藻酸盐印模材料的抗菌性能^[7]。

分别取0.2 mL试验用菌液滴加在阴性对照样品（A）、空白对照样品（B）和抗菌塑料样品（C）上。每个样品做5个平行。

用灭菌镊子夹起灭菌覆盖膜分别覆盖在样品（A）、样品（B）和样品（C）上，铺平，使菌均匀接触样品，置于灭菌平皿中，在(37±1)°C、相对湿度RH>90%条件下培养24 h。取出培养24 h的样品，分别加入20 mL洗脱液，反复洗样品（A）、样品（B）、样品（C）及覆盖膜（最好用镊子夹起薄膜冲洗），充分摇匀后，取一定量接种于营养琼脂培养基中，在(37±1)°C下培养24~48 h后活菌计数，测定活菌数。以上试验重复2次。

1.3 结果统计

抗细菌率计算公式为： $R(\%) = (B - C) / B \times 100$ ，式中，R为抗细菌率（%）；B为空白对照

样品平均回收菌数 (cfu/片); C 为抗菌塑料样品平均回收菌数 (cfu/片)。将计算所得的添加不同类型壳聚糖抗菌成分的藻酸盐印模材料对大肠杆菌及金黄色葡萄球菌的抗菌率分别用 SPSS 进行统计学分析, 检验添加不同类型壳聚糖的藻酸盐印模材料对两种菌株的抗菌率是否分别存在显著差异。

2 结果与讨论

2.1 壳聚糖的添加浓度对抑菌率的影响

取分子量为 50 万, 脱乙酰度分别为 92.38% 的壳聚糖, 分别以 0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.2%、1.4%、1.6% 的添加比加入到藻酸盐印模材料中, 测定其抑菌率, 所得结果如表 1 所示。

表 1 含不同量壳聚糖藻酸盐印模材料的抑菌率

Tab.1 The inhibitory bacteria rate of alginate impression materials impregnated with different-content chitosan

	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1.0%	1.2%	1.4%
大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>)	77.25	82.13	93.54	99.26	100	100	100
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	32.14	47.76	9.48	85.68	94.22	98.71	100

从表 1 可以看出, 抗菌性随着壳聚糖含量的增加而提高, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。壳聚糖的含量在 1.0% 左右时对大肠杆菌的抑菌率达到最高值, 而对金黄色葡萄球菌的抑菌率在 1.4% 左右达到最高值, 这说明壳聚糖对不同细菌具有不同的抑制作用。

2.2 壳聚糖分子量对抑菌率的影响

由上述实验可分别得出大肠杆菌与金黄色葡萄球菌的最佳添加量。在藻酸盐印模材料中分别加入分子量为 0.82 万、5.48 万、7.57 万、9.18 万、13.36 万的脱乙酰度均为 69% 的壳聚糖, 测定其抑菌率。对大肠杆菌壳聚糖的添加量为 1%, 对金黄色葡萄球菌添加量为 1.4%。所得结果如表 2 所示。

表 2 含不同分子量壳聚糖藻酸盐印模材料的抑菌率

Tab.2 The inhibitory bacteria rate of alginate impression materials impregnated with different-molecular-weight chitosan

	0.82	5.48	7.57	9.18	13.36
大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>)	11.21	50.46	62.24	63.97	70.45
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	2.67	21.45	25.91	30.91	38.67

由表 2 可以看出随着壳聚糖分子量的升高, 抑菌率都略有提高, 不同分子量壳聚糖对大肠杆菌的抑制作用有显著性差异 ($P < 0.05$), 但对金黄色葡萄球菌的抑制作用无显著性差异 ($P > 0.05$)。低分子量的壳聚糖基本上没有抗菌性, 因此必须使用分子量高的壳聚糖。

2.3 脱乙酰度对抑菌率的影响

选用相同分子量 50 万左右, 脱乙酰度分别为 69%、75.83%、82.59%、92.38% 的壳聚糖添加到藻酸盐印模材料中, 测定其抑菌率。对大肠杆菌壳聚糖的添加量为 1%, 对金黄色葡萄球菌添加量为 1.4%。所得结果如表 3 所示。添加脱乙酰度为 92.38% 的壳聚糖, 菌落计数的典型结果如图 1~图 5 所示。

表 3 含不同脱乙酰度壳聚糖藻酸盐印模材料的抑菌率

Tab.3 The inhibitory bacteria rate of alginate impression materials impregnated with different-deacetyl-degree chitosan

	69%	75.83%	82.59%	92.38%
大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>)	80.12	89.23	97.67	100
金黄色葡萄球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	40.63	67.76	91.43	100

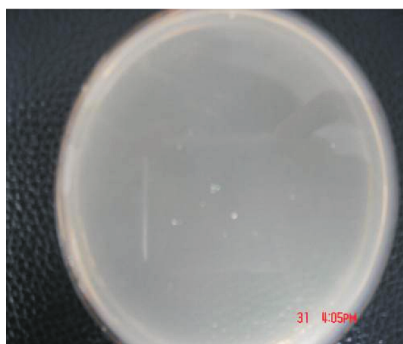


图1 对大肠杆菌样品 C₁ 的计数结果
Fig.1 The count result for *Escherichia coli* C₁



图2 对大肠杆菌样品 C₂ 的计数结果
Fig.2 The count result for *Escherichia coli* C₂

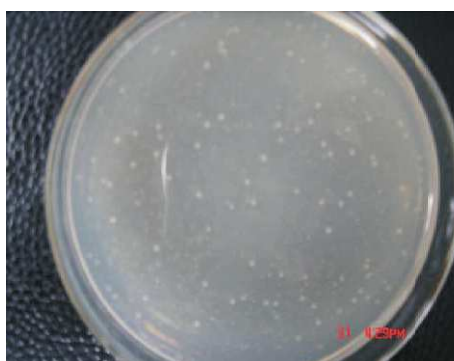


图3 对大肠杆菌样品 B 的计数结果
Fig.3 The count result for *Escherichia coli* B

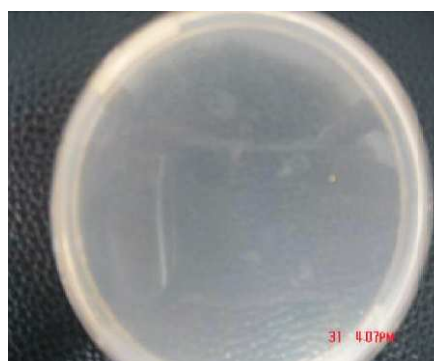


图4 对金黄色葡萄球菌样品 C 的计数结果
Fig.4 The count result for *Staphylococcus aureus* C

从表3可以看出,随着脱乙酰度的提高,抑菌率有较大提高,差异有显著性($P < 0.05$)。尤其对金黄色葡萄球菌来说,抑菌率受壳聚糖脱乙酰度影响更大,脱乙酰度的提高使其抗菌性有较大提高。壳聚糖的抗菌机理一般认为是分子中带正电的氨基可与细菌所带的负电大分子基团作用从而抑制细菌代谢,使细菌失去生存条件而死亡^[8]。壳聚糖脱乙酰度的提高,使大分子链中的氨基数量明显增多,这就增加了氨基与细菌的接触机会从而使抗菌性明显提高。

3 结论

本实验分别测试了不同加入量、分子量和脱乙酰度的壳聚糖作为抗菌成分的藻酸盐印模材料对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌性能。试验结果表明:对大肠杆菌以1%添加比添加较高脱乙酰度的壳聚糖可赋予藻酸盐印模材料强抗菌性能。对金黄色葡萄球菌以1.4%添加比添加也可赋予藻酸盐印模材料强抗菌性能。

本实验用一种简单的方法来解决口腔印模材料的消毒问题,并为以后的研究提供理论依据。由于添加量较小,对材料的物理机械性能影响不大,但还需通过进一步的研究来完善论证。

[参考文献] (References)

[1] CHAU V B, SAUNDERS T R, PIMSLER M, et al. In-depth disinfection of acrylic resins[J]. J. Prosthet. Dent. ,



图5 对金黄色葡萄球菌样品 B 的计数结果
Fig.5 The count result for *Staphylococcus aureus* B

- 1995(74): 309~313.
- [2] POWELL G L, RUNNELLS R D, SAXON B A, et al. The presence and identification of organisms transmitted to dental laboratories[J]. *J. Prosthet. Dent.*, 1990, 64(2): 235~237.
- [3] GERHARDE D E, SYDISKIS R J. Impression materials and virus[J]. *J. Am. Dent. Assoc.*, 1991, 122(5): 51~54.
- [4] 邓宏燕, 张振庭. 印模的消毒[J]. *中华老年口腔医学杂志*, 2003, 1 (4): 228~231.
DENG H Y, ZHANG Z T. The antiseptics of dental impression materials[J]. *Chinese Journal of Geriatric Dentistry*, 2003, 1(4): 228~231. (in Chinese)
- [5] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
JIANG T D. Chitosan[M]. Beijing: *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2001. (in Chinese)
- [6] 邓婧, 符大勇. 壳聚糖对几种口腔常见致病菌的体外抑制作用[J]. *上海口腔医学*, 2005, 14 (1): 74~76.
DENG Q, FU D Y. The antimicrobial effects of chitosan on oral pathogenic microbes in vitro[J]. *Shanghai Journal of Stomatology*, 2005, 14(1): 74~76. (in Chinese)
- [7] 刘奕, 陈吉华. 添加抗菌剂的藻酸盐印模材料抗菌性能的实验研究[J]. *口腔医学研究*, 2005, 21 (6): 652~654.
LIU Y, CHEN J H. Anti bacterial activities of dental alginate impression mterials impregnated with antimicrobial agents[J]. *Journal of Oral Science Research*, 2005, 21(6): 652~654. (in Chinese)
- [8] 郑连英, 朱江峰. 壳聚糖的抗菌性能研究[J]. *材料科学与工程*, 2000, 18 (2): 22~24.
ZHENG L Y, ZHU J F. Antimicrobial Activity of Chitosan[J]. *Materials Science and Engineering*, 2000, 18(2): 22~24. (in Chinese)