

[文章编号] 1000-1182(2007)01-0026-03

纳米羟磷灰石/聚酰胺66作为盖髓材料的体外抗菌作用

苏勤¹, 叶玲¹, 周学东¹, 肖晓蓉², 朱殊²

(1.四川大学华西口腔医院 牙体牙髓科; 2.口腔生物医学工程教育部重点实验室, 四川大学, 四川 成都 610041)

[摘要] 目的 研究新型纳米羟磷灰石/聚酰胺66(nHA-PA66)对龋性牙本质中常见致病菌的体外抗菌作用。方法 采用变形链球菌、粘性放线菌和干酪乳杆菌的标准株,通过琼脂扩散法比较nHA-PA66固化膜片、nHA-PA66糊剂、nHA-PA66碘仿糊剂、羟磷灰石糊剂及氢氧化钙糊剂对3种实验菌的抑菌环直径大小。结果 nHA-PA66固化膜片与nHA-PA66糊剂对变形链球菌无抗菌作用,对粘性放线菌和干酪乳杆菌有极轻微抗菌作用,nHA-PA66固化膜片与nHA-PA66糊剂之间抑菌环直径差异无统计学意义($P>0.05$);nHA-PA66碘仿糊剂的抗菌能力增强,但与氢氧化钙糊剂相比,二者间差异无统计学意义($P>0.05$);羟磷灰石糊剂对3种实验菌均无抗菌作用。结论 nHA-PA66作为一种新型纳米生物材料,单独使用时对变形链球菌、粘性放线菌和干酪乳杆菌几乎不具有抗菌性能,但可通过与碘仿的联合应用来提高nHA-PA66用作盖髓材料时的抗菌能力。

[关键词] 纳米羟磷灰石/聚酰胺66; 氢氧化钙; 碘仿; 抗菌作用

[中图分类号] R780.2 [文献标识码] A

Antimicrobial Activity of Nano-hydroxyapatite/polyamide 66 as a Pulp Capping Agent in vitro SU Qin¹, YE Ling¹, ZHOU Xue-dong¹, XIAO Xiao-rong², ZHU Zhu². (1. Dept. of Conservative Dentistry, West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] Objective To investigate the in vitro antimicrobial activity of nano-hydroxyapatite/polyamide 66 composites (nHA-PA66) as a pulp capping agent. Methods The micro-organisms used in this study included *Streptococcus mutans*(S.mutans), *Lactobacillus casei*(L.casei) and *Actinomyces viscosus*(A.viscosus), three standard bacterial strains predominant in deep carious lesions. Agar diffusion test was used to determine the diameter of bacterial inhibition zones of nHA-PA66 compared with hydroxyapatite paste, calcium hydroxide paste and nHA-PA66 mixed with iodoform paste. Results It showed that the polymerized films and fresh paste of nHA-PA66 had no antimicrobial activity to S.mutans and very little to L.casei and A.viscosus. The antimicrobial activity of nHA-PA66 mixed with iodoform paste obviously increased, but no significant difference compared with calcium hydroxide paste. There was no antimicrobial activity of hydroxyapatite paste to the three test bacterial strains. Conclusion These findings suggest nHA-PA66 used as pulp capping agent alone almost has no antimicrobial effect to the three test bacteria, but the antimicrobial activity can be increased by combining with iodoform.

[Key words] nano-hydroxyapatite/polyamide 66; calcium hydroxide; iodoform; antimicrobial activity

研究表明穿髓孔处牙髓与材料界面间可存在隧道样间隙,充填材料与洞壁间也常发生微渗漏,这些微间隙可为口腔或残留于洞壁内的细菌提供入侵牙髓的通道。在有细菌存在的牙髓创面上,因持续的外界刺激而发生慢性炎症,最终导致盖髓治疗的

失败^[1-2]。因此,理想的盖髓材料应具备一定的抗菌能力,这样有助于防止细菌入侵或残留细菌对牙髓组织的进一步损伤,使穿髓孔处受激惹的牙髓在无外界刺激的环境中能够发挥自身的修复潜能,恢复健康,形成修复性牙本质以封闭穿髓孔。

新型纳米羟磷灰石/聚酰胺66复合生物材料(nHA-PA66)由纳米级羟磷灰石微晶体和聚酰胺66复合而成,nHA-PA66作为一种有应用前途的人体硬组织替代材料被试用作一种新型的盖髓材料。本

[收稿日期] 2006-09-12; [修回日期] 2006-11-27

[基金项目] 四川省科委重点资助项目(02SG022-001)

[作者简介] 苏勤(1970-),女,重庆人,副教授,博士

[通讯作者] 苏勤, Tel: 028-85501439

实验采用琼脂扩散法对nHA- PA66固化膜片、nHA- PA66糊剂、nHA- PA66碘仿糊剂、羟磷灰石糊剂及氢氧化钙糊剂的体外抗菌性能进行比较,为nHA- PA66用作盖髓剂提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料和实验细菌

nHA- PA66由四川大学纳米材料研制中心提供。变形链球菌ATCC25175、粘性放线菌ATCC19246、干酪乳杆菌ATCC7469由口腔生物医学工程教育部重点实验室提供。

1.2 方法

将nHA- PA66粉、液按W/V比2:1混合固化24 h,制成0.5 mm厚的薄膜片,并由打孔器打成直径为5 mm的nHA- PA66固化膜片。将蒸馏水分别与nHA- PA66粉、含10%碘仿的nHA- PA66粉、羟磷灰石和氢氧化钙配制成nHA- PA66糊剂、nHA- PA66碘仿糊剂、羟磷灰石糊剂和氢氧化钙糊剂,备用。

在BHI琼脂培养皿中将变形链球菌、粘性放线菌、干酪乳杆菌3种细菌按浓度为 9×10^5 CFU/mL分别等量均匀接种于培养基表面,用孔直径为5 mm的打孔器打孔,将调拌好的4种糊剂分别充填于孔内,将nHA- PA66固化膜片贴附在培养皿中的琼脂培养基表面。阴性对照为浸有蒸馏水的相同直径大小的

滤纸片。每一样本重复作7例。在37℃微需氧环境中孵育48 h后,观察各组材料的抑菌情况。采用游标卡尺分别测量抑菌范围的直径大小,其减去孔直径即为抑菌环直径,计算均值。

1.3 统计学分析

采用SPSS 10.0软件对数据进行方差分析, $\alpha=0.05$ 为检验标准。

2 结果

nHA- PA66固化膜片、nHA- PA66糊剂、nHA- PA66碘仿糊剂、羟磷灰石糊剂及氢氧化钙糊剂的抑菌环直径见表1。由表1可见,nHA- PA66固化膜片与nHA- PA66糊剂对粘性放线菌和干酪乳杆菌有极轻微的抑菌效果,对变形链球菌无抑菌作用,nHA- PA66固化膜片与糊剂间抑菌环直径差异无统计学意义($P>0.05$);nHA- PA66碘仿糊剂抑菌能力较强,对3种细菌均有抑菌作用,与nHA- PA66糊剂相比,其抑菌环直径差异有统计学意义($P<0.05$);氢氧化钙糊剂对3种细菌均有抑菌环产生,其抑菌环直径与nHA- PA66碘仿糊剂相比,其差异无统计学意义($P>0.05$),二者对变形链球菌产生的抑菌环相对较小,但3种细菌间在统计学上无显著性差异($P>0.05$)。羟磷灰石糊剂没有产生抑菌环,对3种细菌均无抑菌作用。

表 1 各种材料抑菌环直径的比较 mm, $\bar{x} \pm s$, n=7

Tab 1 Comparison of the diameter of bacterial inhibition zones of the material $\bar{x} \pm s$, n=7

| 细菌种类 | 材料 | | | | | |
|-------|-------------------|-----------------|-------------------|------------|-----------------|------|
| | nHA- PA66 固化膜片 | nHA- PA66 糊剂 | nHA- PA66 碘仿糊剂 | 羟磷灰石 糊剂 | 氢氧化钙 糊剂 | 蒸馏水 |
| 变形链球菌 | 0.00 | 0.00 | 3.67 \pm 0.35 | 0.00 | 3.73 \pm 0.86 | 0.00 |
| 粘性放线菌 | 0.79 \pm 0.14 | 0.86 \pm 0.15 | 3.85 \pm 0.53 | 0.00 | 3.97 \pm 1.12 | 0.00 |
| 干酪乳杆菌 | 0.82 \pm 0.10 | 0.91 \pm 0.18 | 3.82 \pm 0.47 | 0.00 | 4.01 \pm 0.95 | 0.00 |

3 讨论

充填材料与洞壁或盖髓材料与牙髓间存在微渗漏,可引起牙髓再感染,穿髓孔处不能完全形成修复性牙本质桥,导致牙齿处于持续炎症、敏感状态,导致盖髓治疗的失败。近年来尽管粘接材料和复合树脂在粘接性能上都有很大提高,但即使是目前最好的粘接材料,其修复体周围仍然存在微渗漏^[1-2]。因此,理想盖髓材料应具备一定的抗菌能力,从而在一定程度上预防细菌感染所引起的牙髓慢性炎症。本实验选用的变形链球菌、粘性放线菌和干酪乳杆菌均是龋性牙本质中的常见致病菌,用作盖髓材料抗菌性能的研究具有一定的代表性

氢氧化钙是目前临床使用得最广泛的盖髓剂,其强碱性环境不利于细菌生长。在大量的盖髓实验研究中,氢氧化钙已被证实对各种实验菌均具有较强的抑菌、杀菌能力,常作为盖髓研究的阳性对照^[3-6]。本实验结果也表明氢氧化钙对3种实验菌有较强的抑菌效果,能产生明显的抑菌环。尽管氢氧化钙具有较强的抗菌能力,但有研究报道,一些氢氧化钙制剂不具有长久的封闭能力,盖髓后逐渐发生完全降解,充填材料与牙髓之间形成隧道样间隙,可提供细菌及其毒性产物入侵通道,造成牙髓慢性炎症,导致牙髓钙化变性、内吸收^[7]。

羟磷灰石是一种磷酸钙类材料,它是牙齿硬组织及骨组织的固有无机成分,具有良好的生物相容

性和骨传导性,常与胶原等复合作为骨组织修复的人工骨材料^[7]。将羟磷灰石用作盖髓材料可促进骨样牙本质形成^[8]。但因其不具有抗菌能力,常需加入一定的抗菌药物联合使用。本实验也证实羟磷灰石对3种实验菌均无抗菌能力。

nHA-PA66是由聚酰胺类有机物和纳米羟磷灰石微晶体按3:7的比例复合而成的纳米仿生材料,其有机物和无机物的组成比例及力学性能与牙本质相似^[9],其组成成分聚酰胺为使用较广的医用惰性有机材料,在机体内仅发生极轻微降解,其降解产物有一定抗菌效果。在本实验中,由于nHA-PA66固化的液剂成分中含乙醇^[10],在预实验中发现后者对培养基成分有非特异性的溶解作用,影响对抑菌环的判读,因此实验采用蒸馏水新鲜调和制成的糊剂。通过对该材料的体外抑菌实验研究表明,无论新鲜调制的粉剂或已固化的nHA-PA66对3种实验菌几乎无明显的抗菌作用,但与口腔常用消毒药物碘仿联合使用后,通过碘仿与有机物接触后缓慢释放碘直接卤化细菌蛋白质,可大大增强抗菌能力。将碘仿加入nHA-PA66中制成的糊剂,既保持了纳米羟磷灰石复合材料的生物相容性和生物活性,又利用了后者强抗菌作用,因此通过对该材料组成的改进可使该材料更好地满足盖髓剂抗菌性能的要求,从而具有较好的应用前景。

[参考文献]

- [1] Costa CA, Mesas AN, Hebling J. Pulp response to direct capping with an adhesive system[J]. Am J Dent, 2000, 13(2): 81-87.
- [2] Schuurs AH, Gruythuysen RJ, Wesselink PR. Pulp capping with adhesive resin-based composite vs. calcium hydroxide: A review[J]. Endod Dent Traumatol, 2000, 16(6): 240-250.
- [3] Cox CF, Subay RK, Suzuki S, et al. Biocompatibility of various dental materials: Pulp healing with a surface seal[J]. Int J Periodontics Restorative Dent, 1996, 16(3): 240-251.
- [4] Kouassi M, Michailenco P, Lacoste-Armyndt A, et al. Antibacterial effect of a hydraulic calcium phosphate cement for dental applications[J]. J Endod, 2003, 29(2): 100-103.
- [5] Kitasako Y, Murray PE, Tagami J, et al. Histomorphometric analysis of dentinal bridge formation and pulpal inflammation[J]. Quintessence Int, 2002, 33(8): 600-608.
- [6] Faraco IM Jr, Holland R. Response of the pulp of dogs to capping with mineral trioxide aggregate or a calcium hydroxide cement[J]. Dent Traumatol, 2001, 17(4): 163-166.
- [7] Itoh S, Kikuchi M, Takakuda K, et al. Implantation study of a novel hydroxyapatite/collagen(HAp/coll) composite into weight-bearing sites of dogs[J]. J Biomed Mater Res, 2002, 63(5): 507-515.
- [8] Hayashi Y, Imai M, Yanagiguchi K, et al. Hydroxyapatite applied as direct pulp capping medicine substitutes for osteodentin[J]. J Endod, 1999, 25(4): 225-229.
- [9] 王学江,汪建新,李玉宝,等.常压下纳米级羟基磷灰石针状晶体的合成[J].高技术通讯,2000,11(6): 92-94.
(WANG Xue-jiang, WANG Jian-xin, LI Yu-bao, et al. Preparation of nanograde hydroxyapatite needle-like crystals under normal atmospheric pressure[J]. High Technology Letters, 2000, 11(6): 92-94.)
- [10] 严永刚,李玉宝,汪建新,等.聚酰胺66/羟磷灰石复合材料的制备和性能研究[J].塑料工业,2000,28(3): 38-40.
(YAN Yong-gang, LI Yu-bao, WANG Jian-xin, et al. Study on preparation and properties of Polyamide 66/nano apatite composites [J]. China Plastics Industry, 2000, 28(3): 38-40.)

(本文编辑 王 晴)

(上接第25页)

- [3] Wright WE, Platyszek MA, Rainey WE, et al. Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells[J]. Dev Genet, 1996, 18(2): 173-179.
- [4] Prasad R, Beard WA, Chyan JY, et al. Functional analysis of the amino-terminal 8-kDa domain of DNA polymerase beta as revealed by site-directed mutagenesis. DNA binding and 5'-deoxyribose phosphate lyase activities[J]. J Biol Chem, 1998, 273(18): 11121-11126.
- [5] Parikh SS, Mol CD, Tainer JA. Base excision repair enzyme family portrait: Integrating the structure and chemistry of an entire DNA repair pathway[J]. Structure, 1997, 5(12): 1543-1550.
- [6] Jonason AS, Baker SM, Sweasy JB. Interaction of DNA polymerase

beta with GRIP1 during meiosis[J]. Chromosoma, 2001, 110(6): 402-410.

- [7] Broccoli D, Young JW, de Lange T. Telomerase activity in normal and malignant hematopoietic cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(20): 9082-9086.
- [8] Kim NW, Platyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer[J]. Science, 1994, 266(5193): 2011-2015.
- [9] Ko LJ, Prives C. p53 puzzle and paradigm[J]. Genes Dev, 1996, 10(9): 1054-1072.
- [10] Oren M. p53 in growth control and neoplasia[J]. Biochim Biophys Acta, 1996, 1287(2/3): 77-102.

(本文编辑 吴爱华)