维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2008)05-0592-04

镀银医用聚丙烯网片的制备及其抗菌性检测

王 刚[1],赵 渝[1],刘明方[2]

(1. 重庆医科大学附属第一医院普外科 重庆市普外科重点实验室;2. 重庆医科大学病原微生物学教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:制备镀银的医用聚丙烯网片(Polypropylene mesh,PP),并检测其抗菌性。方法:采用银作为抗菌剂,通过酒石酸钾钠作为还原剂的化学液相还原法,制成镀银 PP。并分别用纸片扩散法和浸泡法对镀银组(n=10)和对照组(n=10)网片的抗菌性进行定性和定量的对比检测。结果:纸片扩散法(定性):在 1d、3d、7d 对照组(8mm×8mm×0.65mm)抑菌圈均不明显,网眼内还可见有金葡菌菌落附着生长。镀银组(8mm×8mm×0.65mm)抑菌圈则较为明显。两组比较有显著性差异(P<0.05)。不同时间段两两相比,差异无显著性(P>0.05)。浸泡法(定量):60min 和 120min 时,对照组和镀银组比较有显著性差异(P<0.05)。240min 时对照组和镀银组比较无显著性差异(P>0.05)。不同时间段两两相比,差异无显著性(P>0.05)。结论:镀银 PP 具有较为肯定的抗菌性,抗菌性随时间推移无明显变化。

【关键词】银;抗菌性;聚丙烯

【中国图书分类法分类号】R657.8 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-09-25

Preparation of argentation medical polypropylene mesh and detection of its antibiosis-nature

WANG Gang, et al

(*Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】 *Objective*: To prepare the argentation medical polypropylene mesh and detect it's antibiosis-nature. *Methods*: Argentum was used as antibacterial agent to prepare the argentation medical polypropylene mesh with chemistry liquid phase the meshes with Rochelle salt as reducing agent. Antibiosis-nature of the meshes of argentation group(n=10) and control group (n=10)was quantitatively and qualitatively analyzed with slip diffusion method and soaking method. *Results*: For slip diffusion method(qualitation), bacteriostasis -collares were not manifested and Staphylococcus aureuses apposition grew in meshwork of the control group(8mm×8mm×0.65mm)at 1d、3d and 7d; while that of the argentation group(8mm×8mm×0.65mm)were manifested at 1d、3d and 7d.The antibiosis-natures were significantly different between the two groups(P<0.05). The difference of different time points was not significant(P>0.05). For soaking method(quantitation), the antibiosis-natures were significantly different between the two groups at 60min and 120min(P<0.05); the antibiosis-natures were not significantly different between the two groups at 240min(P>0.05).The difference of different time points was not significant(P>0.05). *Conclusion*: Argentation medical polypropylene mesh has antibiosis-nature, and the antibiosis-nature dose not change markedly with time as lapsed.

【Key words】 Argentum; Antibiosis-nature; Polypropylene

PP 由单丝聚丙烯编织成网片样结构,加工成定型的平坦的形状,有很强的张力强度、很小的异物反应、良好的组织相容性,是目前首选的腹壁缺损修补材料。但网片的感染是目前临床医生最棘手的问题之一[1]。据统计,腹股沟疝修补术后伤口感染率为 0.5%~9%不等,而腹壁疝修补术较腹股沟疝修补术后伤口感染率更高,且大多数外科医生认为网片会增加伤口的感染率[2]。为能降低无张力疝修补术后网片的感染率,本研究将银作为抗菌剂,探索银化学镀于医用聚丙烯网片的可能性,对其抗菌性进行检测,为下一步动物实验做好准备,最终为其应用于临床奠定理论和实验基础。

1 材料和方法

作者介绍:王 刚(1977-),男,主治医师,硕士,研究方向:疝修补材料。

通讯作者:赵 渝,男,教授,E-mail:zhaoyu@cta.cq.cn。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.1 材料

1.1.1 主要原料及试剂 PP(美国强生公司);硝酸银、酒石酸钾钠、无水乙醇、氯化亚锡、浓盐酸、氨水(重庆化学试剂厂);金黄色葡萄球菌标准菌株(ATCC 25923)、蛋白胨、营养琼脂、牛肉浸膏、氯化钠(重庆医科大学病原微生物学教研室提供)。

1.1.2 主要仪器 扫描电镜、分析天平、真空干燥箱、恒温器、恒温培养箱、高压蒸汽灭菌锅、培养皿。

1.2 方法

1.2.1 镀银 PP 的制备 将 PP 制成 50mm × 50mm 的平片,放入无水醇溶液中除油 5min;然后用蒸馏水将其冲洗干净,放入氯化亚锡与浓盐酸的混合液中敏化 2min;再将敏化后的 PP 用蒸馏水冲洗干净,放入按 1∶1 比例配制的银氨溶液与酒石酸钾钠溶液的混合液中镀银 20min。最后将镀银 PP 行高温高压蒸气灭菌处理后,置于真空干燥箱中保存备用。实验条件:硝酸银 20g/L,氯化亚锡 10~20g/L,浓盐酸 10~20ml/L,酒石酸钾钠 100g/L,温度为 10℃,pH 值控制在 11~13 之间。

1.2.2 镀银 PP 载银量的测定 用分析天平分别测出 10 张 PP(50mm × 50mm × 0.65mm)镀银前后的质量,取其前后质量差值的均数。

1.2.3 镀银 PP 的抗菌性检测 ①纸片扩散法(定性):用棉签蘸取适量 1.5×10^8CFU/ml 菌液,将其均匀涂布于 60mm 的固体培养基上,然后将高温高压蒸气灭菌后的镀银和普通网片(8mm × 8mm × 0.65mm)各 10 张分别放在 10 个固体培养基平板的两边。放入 37℃恒温箱中培养 1d、3d、7d 后对比网片周围抑菌圈的大小;②浸泡法(定量):从制备好的菌数为 1.5×10^9CFU/ml 的浓菌中取一接种环的量(2μl),加入到 2ml 生理盐水中,使其菌数稀释至 1.5×10^6 CFU/ml,再从中取 1.3ml 菌液加入 11.7ml 生理盐水中,使其菌数稀释至 1.5×10^5CFU/ml,备用。将制备好的镀银和普通网片(50mm × 50mm × 0.65mm)各 10 张,分别放入 60mm 的培养皿中。分别向培养皿中滴入 1.5×10^5CFU/ml 的菌液各 1ml,完全浸泡网片。观察的时间点设为 60min、120min、240min。于 60min 时在镀银组和对照组中各取 0.1ml 菌液,平行倾皿 2 个,将制备好的 MH 培养基倒入培养皿中。以将皿底恰好覆盖为宜,摇匀,待其冷却凝固后倒置放入 37℃恒温箱中培养。以后各个时间点操作同上。

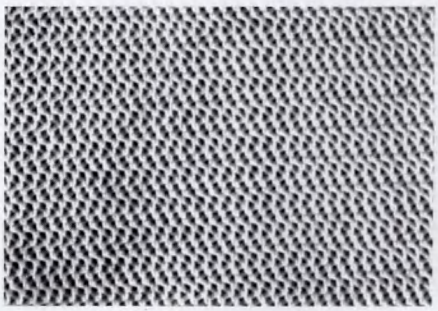
1.3 统计方法

所有数据采用 SPSS10.0 软件处理系统包进行统计学分析。计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示;两组间比较采用配对样本均数的 t 检验;多组间比较采用方差分析(SNK 法或 LSD 法)。$P<0.05$ 为差异有显著性。

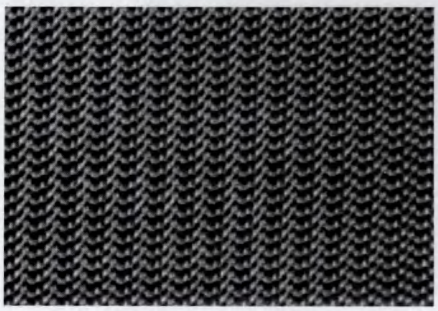
2 结 果

2.1 镀银和普通网片的大体结构比较

2.2 镀银和普通网片的超微结构比较

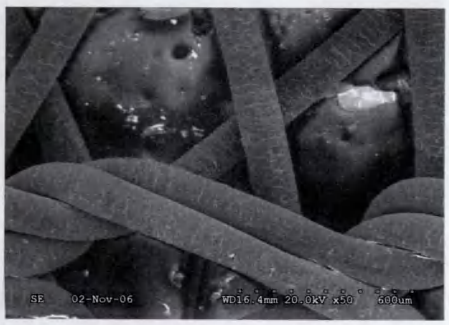


镀银医用聚丙烯网片

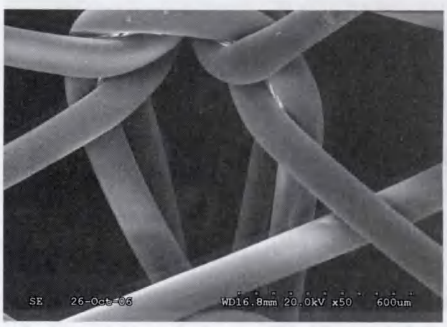


普通医用聚丙烯网片

图 1 可见镀银后的网片具有银的金属光泽,而普通网片则为常规的白色



镀银医用聚丙烯网片(SEM 50 倍)



普通医用聚丙烯网片(SEM 50 倍)

图 2 可见镀银后的网片每根单丝表面均满布银粒子,分布大致均匀,而普通网片每根单丝表面则非常光滑

维普资讯 http://www.cqvip.com

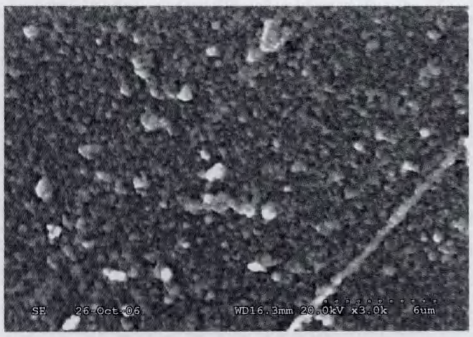


图 3 镀银抗菌医用聚丙烯网片(SEM 3 000 倍)。可见白色的银粒子在聚丙烯单丝表面分布大致均匀,银粒子直径大部分在 0.5~1μm 之间

2.3 镀银医用聚丙烯网片的载银量

镀银 PP(50mm × 50mm × 0.65mm)载银量 = (4.7 ± 0.675)mg

2.4 纸片扩散法(定性)测试结果

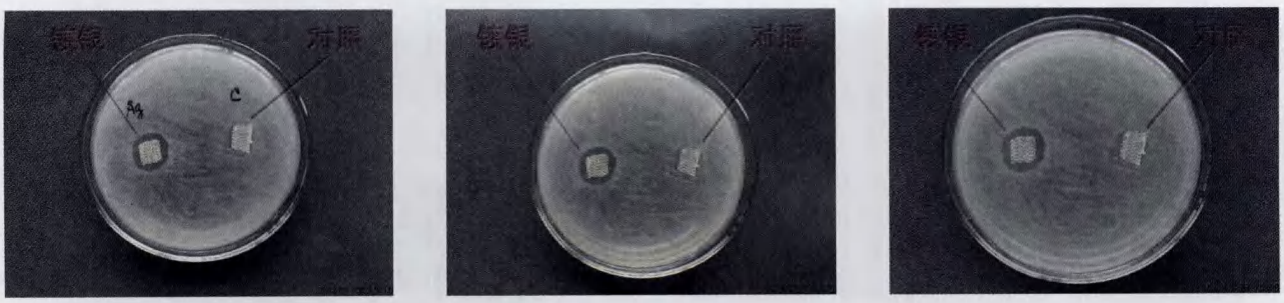
不同时间段两两相比,差异无显著性(P>0.05)。见表 1。

2.5 浸泡法(定量)测试结果

不同时间段两两相比,差异无显著性(P>0.05)。见表 2。

3 讨 论

腹外疝是临床上常见病和多发病,近年来,国内外医生应用 PP 进行疝的无张力修补术越来越普遍,而由网片所带来的问题日益受到人们的关注。网片的感染就是目前令临床医生感到最棘手的问题之一[1]。与传统的疝缝合修补术感染不同,应用网片所进行的无张力疝修补术后感染,按临床表现分为浅层感染和迟发性深部感染 2 种。浅层感染一般发生在术后 1 月以内,呈慢性经过,可长达数周



a b c

a. 第 1d,镀银网片抑菌环直径为(13.56 ± 1.07)mm,而普通网片周围抑菌圈不明显,网眼内还可见有金葡菌附着生长(P<0.05);
b. 第 3d,镀银网片抑菌环直径为(13.79 ± 0.89)mm,普通网片周围抑菌圈仍不明显,网眼内还可见有金葡菌附着生长(P<0.05);
c. 第 7d,镀银网片抑菌环直径为(13.71 ± 0.88)mm,普通网片周围抑菌圈仍不明显,网眼内还可见有金葡菌附着生长(P<0.05)。

图 4 纸片扩散法(定性)测试结果



a b c

a. 60min,对照组培养皿内菌落数的均值为 572 ± 21,镀银组培养皿内菌落数的均值为 117 ± 9,抑菌率为 96.73%(P<0.05);
b. 120min,对照组培养皿内菌落数的均值为 368 ± 17,镀银组培养皿内菌落数的均值为 66 ± 5,抑菌率为 97.45%(P<0.05);
c. 240min,对照组培养皿内菌落数的均值为 7 ± 2,镀银组培养皿内无菌落生长(P>0.05)。

图 5 浸泡法(定量)测试结果

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 纸片扩散法(定性)测试结果(单位:mm)

抑菌圈直径	1d	3d	7d
对照组	0	0	0
镀银组	13.56 ± 1.07	13.79 ± 0.89	13.71 ± 0.88

表 2 浸泡法(定量)测试结果(单位:个)

菌落数	60min	120min	240min
对照组	572 ± 21	368 ± 17	7 ± 2
镀银组	117 ± 9	66 ± 5	0

至数月,涉及层面仅包括皮肤和皮下组织;而迟发性深部感染表现为术后几周或数月才出现急性炎症反应或类似于切口的脂肪液化,窦道形成,涉及深达筋膜和肌肉层[3]。病理检查发现细菌可以渗透进入组织纤维与补片反应形成的联合体中,在这种情况下根治感染的唯一方法就是祛除补片[4]。因此其处理上较传统手术更加困难与棘手。

伤口皮下组织局部感染,可以简单的的局部引流,不会有长期的麻烦问题。然而更常见的是伤口感染常常会累及到补片。疝补片感染时常常需要取出整个补片。如仅仅行伤口开放性引流,可能使伤口大部分潜在性愈合,但会出现窦道或导致伤口内留有残腔;而仅祛除部分补片,虽然也有可能根治感染,但引起疝的复发几率增高;如不祛除补片,单纯的抗生素治疗也是无效。而在嵌顿性疝、绞窄性疝有感染可能者,也均是行二期无张力疝修补。由此可见,目前临床上对于处置疝补片的感染问题办法少,且效果不好。并且无张力疝修补术的应用范围也有限。

因此,如何解决疝修补网片的感染问题,是当前临床面临的一个重要课题。为解决这一问题,本研究旨在从"降低疝补片的感染率"这一目标着手,将银与 PP 结合起来,使其具有良好的抗菌性能,不仅能降低疝修补网片的感染率,而且进一步可将其应用于可能污染和已经污染的伤口中,扩大无张力疝修补术的应用范围。

研究表明,在大多数疝补片感染中主要病原体是金黄色葡萄球菌,偶尔也可见大肠杆菌的感染(腹股沟疝修补中)。而在腹壁疝修补中如发生肠道的污染,则会存在多种细菌感染[2]。由于无机抗菌剂具有抗菌谱广、长效、不产生耐药性、耐热强等优点,因而在抗菌领域倍受关注[5]。以银系为代表的无机抗菌剂属接触反应抗菌机理,由于银粒子激活空气或水中的氧,产生羟基自由基(·OH)及活性氧离子(O_2^-),它们能够破坏微生物细胞的增殖能力,抑制或杀灭细菌[6]。如今,在临床上人们已广泛使用磺胺嘧啶银、氟哌酸银、锌银乳膏、磺胺嘧啶银胶原蛋白膜等来治疗烧伤烫伤以防止绿脓杆菌等细菌的繁衍,用硝酸银水溶液作为眼科消炎,用银汞合金作为牙科材料,用含银水溶液治疗牙痛,用胶态银用于妇科洗剂,用载银活性炭或银丝编织过滤器净化饮用水等。由此可见,银不仅可用于局部,也可用于全身,将其作为抗菌剂与普通 PP 相结合是可行的。银虽在文献报道中已证实可用于人体[7,8],但其在体内长期存在有无副作用,尚需进一步实验对其使用安全性进行评价。

目前临床上无张力疝修补术应用最广泛的疝修补材料[9,10],由单丝聚丙烯编织成补片样结构,加工成定型的平坦的形状,具有很强的抗张力强度、很小的异物反应和良好的组织相容性,植入人体后能迅速被纤维组织所侵润。而其化学性质相当稳定,具有很强的耐酸耐碱性,吸湿性几乎为零。由于聚丙烯稳定的化学性质,我们将银作为抗菌剂,通过酒石酸钾钠作为还原剂的化学液相还原法,制成镀银抗菌 PP。化学液相还原法是用还原剂在水溶液或者有机体系内将银离子或银的配离子溶液还原,得到银镀层的方法。从实质上说,它是一个电化学、热力学、动力学以及流体力学等的综合过程。这个过程决定了粉末的粒径分布、纯度和团聚状况等物理和化学性质[11]。因此,正确合理的选择还原剂是提高镀层质量的关键,使银粒子粒径尽量达到纳米级,且尽可能均匀一致;在网片上的分布也尽可能均匀一致,这样才能使同等质量的银接触面积达到最大,从而最大限度的发挥其抗菌性能。

本研究结果表明,镀银医用聚丙烯网片的抗菌

(下转第 599 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

变,临床应用受到限制[4]。重组质粒的一个显著的优点是 LMP-3 与 EGFP 基因同时表达,从而获得 pEGFP-N1-LMP-3 融合蛋白,可长期表达。pEGFP-N1 是野生型绿色荧光蛋白(Green fluorescent protein, GFP)的突变体,适于在哺乳动物细胞内表达,其 64 位和 65 位氨基酸分别由野生型 GFP 的 Phe 和 Ser 突变成 Leu 和 Thr,结果荧光表达明显增强[5]。pEGFP-N1 载体具有以下几方面特点:(1)从结构上看,该质粒具有很强的复制能力,可以满足随宿主细胞分裂时跟随胞质遗传给新生的子细胞,这是保证目的基因稳定表达的因素之一;(2)含有高效的功能强大的启动子 SV40 和 PCMV,可以使目的基因在增殖的细胞中稳定表达;(3)具有多克隆位点,便于目的基因的插入;(4)该载体具有 neo 基因,可以采用 G418 来筛选已成功转染了该载体的靶细胞。这些特殊的结构可以实现目的基因在靶细胞内的稳定表达。GFP 基因片段长度较小(约 717bp),同时本试验的目的基因序列也较小(约 600bp),较其全长序列更易于构建融合蛋白。EGFP 发出的绿色荧光不仅可以作为细胞标记,同时它还避免了一般荧光染料所存在的标记时间短、可能存在污染等问题[6,7]。另一优点是可以通过对绿色荧光的观察,了解目的基因转录发生的时间、组织分布并评价其表达。

pEGFP-N1- LMP-3 重组质粒的成功构建,为研究 pEGFP-N1-LMP-3 融合蛋白的生物学功能打下了实验基础,也为进一步研究其用于骨缺损的治疗创造了条件。

参 考 文 献

[1] Schmeichel KL,Beckerle MC. LIM domains of cysteine rich protein 1(CRP1) are essential for its zyxin-binding function[J]. Biochem J,1998;331(Pt 3):885-892.

[2] Liu Y,Hair GA,Boden SD,et al. Overexpressed LIM mineralization proteins do not require LIM domains to induce bone[J]. J Bone Miner Res,2002;17(3):406-414.

[3] Boden SD,Liu Y,Hair GA,et al. LMP-1,a LIM-domain protein,mediates BMP-6 effects on bone formation[J]. Endocrinology,1998;139(12):5125-5134.

[4] E-Aneed A. An overview of current delivery systems in cancer therapy[J]. J Control Release,2004;94(1):1-14.

[5] Cormack BP,Valdivia RH,Falkow S. FACS-optimized mutants of the green fluorescent protein(GFP)[J]. Gene,1996;173(1 Spec No):33-38.

[6] Misteli T,Spector DL. Applications of the green fluorescent protein in cell biology and biotechnology[J]. Nat Biotechnol,1997;15(10):961-964.

[7] Prasher DC,Eckenrode VK,Ward WW,et al. Primary structure of the aequorea victoria green fluorescent protein[J]. Gene,1992;111(2):229-231.

(责任编辑:关蕴良)

(上接第 595 页)

性能是肯定的,在银粒子作用时间达到 60min 后,其抑菌率为 96.73%($P<0.05$)。但随着时间的推移,其抑菌率无明显变化。且随着时间的推移,金葡菌的自然死亡率也逐渐增加,故导致 240min 时数据无明显统计学差异。在目前研究结果的基础上,我们已获得专利 1 项。我们将进一步研究影响化学液相还原法在医用聚丙烯网片化学镀银效果的各种实验条件,如还原剂的选择,银盐溶液的浓度,化学镀银时的镀速控制等,从而提高其抗菌性能。并进一步研究、测试其在动物体内的抗菌性能,镀银后各种生物力学性能的变化及对其安全性做出评价,为其应用于临床奠定理论和实验基础。

参 考 文 献

[1] Deysine M. Pathophysiology,prevention,and management of prosthetic infections in hernia surgery[J]. Surg Clin North Am,1998;78(6):1105-1115.

[2] 马颂章主译.疝外科学[M].北京:人民卫生出版社,2003.259-269.

[3] 许 军,刘 昶,麻 勇. 腹股沟疝修补术人工材料感染的防治对策[J]. 中国实用外科杂志,2006;26(11):828-830.

[4] 陈 双,曾德强. 疝修补术后人工补片感染的防治[J].中国实用外科杂志,2004;24(6):343-344.

[5] 余国文,张高科,胡 波. 金属系无机抗菌材料研究进展[J]. 工业安全与环保,2004;30(4):34-36.

[6] 赵娣芳,周' 杰,刘 宁. 含银无机抗菌材料的开发及应用[J]. 矿产保护与利用,2005;(3):12-15.

[7] 郭清泉,涂伟萍,陈焕钦. 抗菌涂料用抗菌剂及应用情况[J]. 广东化工,2002;29(1):39-42.

[8] 吉向飞,李玉平,杨柳青,等. 抗菌剂及抗菌材料的发展和应用[J]. 太原理工大学学报,2003;34(1):11-15.

[9] 郭仁宣,苏东明,主译. 腹外疝外科治疗[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社.2003.242-247.

[10] 王绍山. 腹股沟疝修补材料研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志,2005;14(15):2066-2069.

[11] 楚 广,杨天足,刘伟锋,等. 纳米银粉的制备及其应用研究进展[J]. 贵金属,2006;27(1):57-63.

(责任编辑:冉明会)