# 单组分粘接剂聚合后表面抗菌性能研究：Ⅱ

Antibacterial surface propertiyes of polymerized single-bottle bonding agents: Part II
Hagy Slutzky, Shlomo Matatom, Ervin I. Weiss
原载 Quintessence Int 2004;35:275~279(英文).

刘颖熠 译　王嘉德 校

**摘要**　**目的**　单组分粘接剂越来越广泛地在树脂及银汞合金充填时用作粘接剂和封闭剂，具备抗菌性能对其更为重要。本文采用直接接触法(DCT)和琼脂扩散法(ADT)对单组分粘接剂聚合后的抗菌性能进行了研究。

**材料和方法**　对6种单组分粘接剂（Bond-1、OptiBond Solo，One-Step、Gluma、Prime&Bond NT和Synergy）的各4个样本用上述两种方法进行检测。DCT法中，材料放置在96孔板侧壁上固化。涂布10μl变形链球菌悬液后在37℃放置1小时。加入培养基，放入可控温酶标仪内。ADT法：将样本放入琼脂平皿上打好的小孔内，培育72小时后测量抑菌环直径。

**结果**　DCT法中所有粘接剂均显示出抗菌性，所有样本表明均无活菌生存。样本在磷酸缓冲液内放置24小时后仍然具有抗菌性。放置7天后，则失去抗菌能力。ADT法中所有样本均没有形成抑菌环。

**结论**　在DCT法体外实验中，单组分粘接剂聚合后至少24小时内具有抗菌特性。

微生物与龋源性牙釉质、牙本质及牙髓病损直接相关。继发龋是导致充填体失败的常见原因，它的发生被认为与残留细菌及微渗漏有关。随着粘接剂发展到能与牙本质形成微机械粘接，提供了新的粘接方式。一项体外实验显示这些粘接剂形成的修复体牙体界面不能消除微渗漏和细渗漏。因此人们希望通过充填材料的抗菌性能来弥补这一缺陷。

本研究的第一部分用直接接触法(DCT)和琼脂扩散法(ADT)对聚合后的可填压复合树脂材料抗菌性能做了研究。结果显示，这些材料不仅没有抗菌性能，在聚合完成时还可促进细菌生长。本研究对6种单组分粘接剂的抗菌性能也采用DCT法和ADT法进行评估。

译者　北京大学口腔医学院
北京海淀区中关村南大街22号　100081

第五代粘接剂具有将表面处理和粘接剂涂布合而为一的特性，在临床上应用广泛。以往曾有研究对第四代粘接剂各组分，如处理剂或独特组分的抗菌性用ADT法进行检测。

DCT法对受试材料的融解性和扩散率没有要求，本研究的目的是用DCT法观察新鲜聚合及聚合一段时间后的粘接剂对变形链球菌生长的影响作用，并与ADT法结果进行比较。

## 材料和方法

### 受试材料

6种市售单组分粘接剂：Bond-1（Jeneric-Pentron）、

OptiBond Solo (Kerr)、One-Step (Bisco)、Gluma (Heraeus-Kulzer)、Prime & Bond NT (Dentsply/Caulk)和 Synergy (Coltene/Whaledent)。

变形链球菌是主要致龋菌，在充填材料抗菌性能研究中有广泛应用。本研究选用具有杆菌肽耐药性的变形链球菌 27351M 冰冻保存株（Difco 实验室），在含有 8μl 杆菌肽的脑心浸出液(BHI)培养基中 37℃培养 48 小时后待用。

### 试验设计

用 ADT 和 DCT 两种方法进行抗菌性检测。ADT 法：采用轻唾琼脂培养基(变形链球菌选择性培养基)。每块培养基接种 200μl 变链菌(OD650=0.6)后，打 6 个直径为 4mm 的孔，放满受试粘接剂并立即固化。培养 72 小时后观察抑菌环直径。

DCT 法检测受试粘接剂在固化后 3 个不同时刻的抗菌性：固化即刻(新鲜样本)、在磷酸缓冲液(PBS)中放置 24 小时及 7 天。DCT 法的原理是利用浊度的变化来反映细菌在 96 孔板内的生长情况。详情参见研究第一部份。

在 96 孔板侧壁上涂布 25μl 粘接剂样本，每种粘接剂涂布 4 个孔，根据厂家说明书用 VIP 固化灯(Bisco)固化。

取 10μl 刚培养的变链菌($\times10^6$)悬液涂布到受试粘接剂表面，37℃放置 1 小时。加入 200μl 含杆菌肽的 BHI 液体培养基。37℃下在酶标仪(THERMOmax)中连续监测细菌生长动态 16 小时，每 30 分钟读数一次。酶标仪的自动振荡功能使每次光密度(OD)读数时细菌悬液的均一性得以保证。每块 96 孔板都有 4 个没有粘接剂而直接涂布细菌悬液的阳性对照孔和 4 个仅有粘接剂而没有涂布细菌悬液的阴性对照孔。绘制每块板中不同起始细菌浓度的生长曲线并以此定量衡量细菌生长情况。绘制方法简述如下：在 3 个孔的侧壁上涂布 10μl 浓度为 $10^6/M^2$ 的细菌悬液，加入 250μl 培养液，转移 50μl 至下一行含有 200μl 培养液的 3 个孔内，如此 5 倍系列稀释 6 次。

记录 OD 值，减去作为基线值的阴性对照读数。分析每孔的生长曲线，对线性上升部分做线性回归。对特定部分的斜率做单因素方差分析(ANOVA)及 Tukey 多重比较。

## 结果

6 个聚合粘接剂样本各做了 4 个 ADT 法样本，均没有发现抑菌环。

图 1 所示为 DCT 法的标准曲线。每条曲线反映的是 5 倍系列稀释后不同浓度孔内细菌生长情况，曲线上每点代表该时刻 3 个样本的 OD 均值。例如第一行 3 个孔含有$\times10^6$ 个活菌，稀释后活菌数分别为 200 000、40 000、8 000、1 600、320、64 和 12.8。推论可知，在 0 时刻不显示生长的孔不含有活菌。随着起始浓度降低，孔内细菌的指数生长期延缓。

DCT 法中，所有固化即刻的粘接剂材料表面均没有细菌生长。与之类似，在 PBS 液中放置 24 小时的样本也没有观察到光密度值的增加(图 2)。而在 PBS 中放置 7 天后，粘接剂孔内光密度值的变化与对照组没有显著性差异(图 3)。对斜率进行单因素方差分析不同材料间差异没有显著性($P$=0.558；$R^2$=0.99~0.96)(表 1)。

## 讨论

所有单组分粘接剂固化后 24 小时内均具有抗菌性。涂布在固化即刻和固化 24 小时后粘接剂表面的细菌都没有再生长。ADT 法中却没有观察到样本周围有抑菌环；这提示聚合后粘接剂的抗菌性是其表面特性，而与能被液体环境洗去的组分无关。

ADT 常规用于检验临床分离所得细菌的药敏性，也是许多体外研究的标准方法。这些实验中抑菌环的宽度被认为是材料抗菌特性的表现，并与第一个小时内材料的溶解性及抗菌物质释放量有关。牙科材料固化后含有可溶物质或可分解成分会影响其临床使用。聚合后转化为不可溶固体的材料，也许不能有效向周围环境释放抗菌物质，ADT 法就无法检测到。DCT 法是量化表面抗菌特性的方法之一，它能保证细菌与被测材料间的直接接触。

由于方法学的差异，很难对许多研究的结果进行比较。

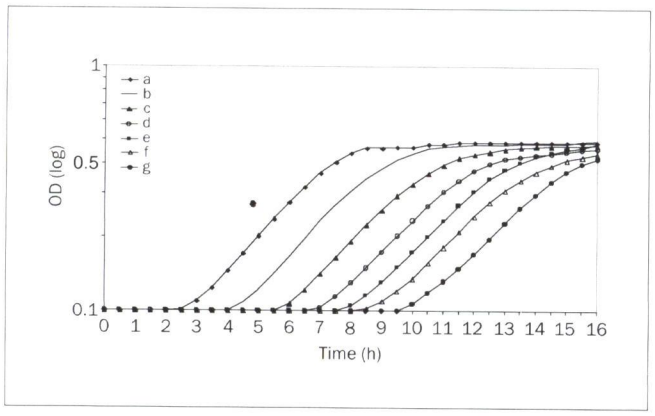


**图 1** 不同起始细菌浓度下变链菌生长曲线。每点代表该时刻 3 个样本的平均光密度($OD_{650}$)。系列稀释形成的起始浓度梯度不影响细菌生长速率和终末细菌密度($a=1\times10^{-6}$, $b=0.2\times10^{-6}$, $c=0.4\times10^{-7}$, $d=0.8\times10^{-8}$, $e=0.16\times10^{-8}$, $f=0.32\times10^{-9}$, $g=0.64\times10^{-10}$)

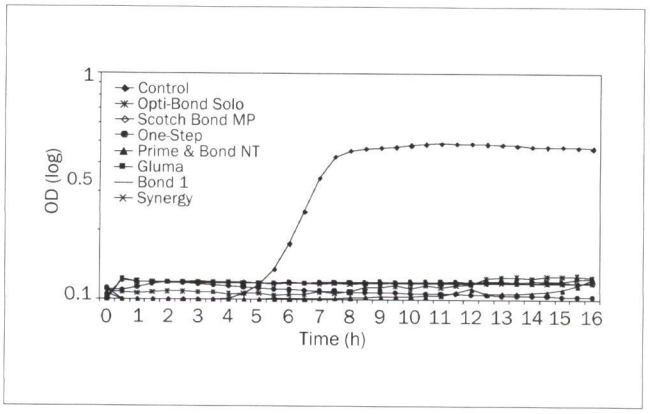


**图 2** 聚合 24 小时粘接剂对变链菌生长的影响。每点数值为该时刻 4 个样本的光密度($OD_{650}$)均值

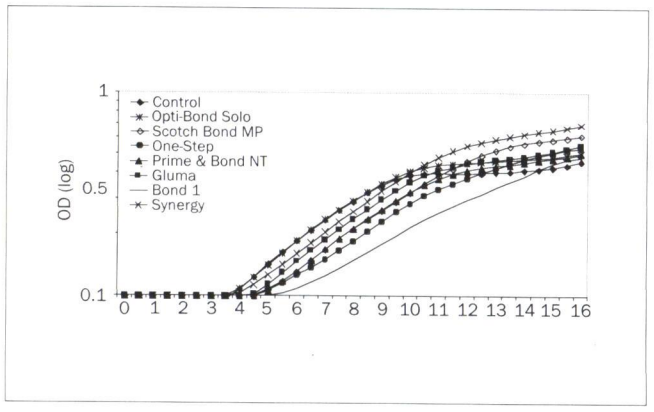


**图 3** 聚合 7 天粘接剂对变链菌生长的影响。每点数值为该时刻 4 个样本的光密度($OD_{650}$)均值。所有材料表面细菌生长均与对照组相似

**表 1** 聚合 7 天单组分粘接剂表面变链菌生长曲线线性部分斜率

| 材料 | 斜率* |
|---|---|
| Scotch Bond MP | 5.06±0.42 |
| Bond 1 | 5.81±0.55 |
| One-Step | 5.37±0.14 |
| Prime & Bond NT | 5.31±0.23 |
| Synergy | 5.93±0.23 |
| Gluma | 5.56±0.23 |
| Opti-Bond Solo | 5.75±0.40 |
| Control | 5.73±0.33 |

*各斜率间差异无显著性(单因素方差分析；$P=0.558$)

然而本研究的结果与以往针对第四代粘接剂聚合前组分的抗菌实验结果一致。

随着粘接修复在现代牙科学中的应用越来越多，这类材料表面的长期抗菌性就更受关注。本研究观察到的抗菌性在 24 小时到一周内消退，无法长期保持。还无法确定是由于抗菌物质缓慢释放到周围液体内，还是持续的化学反应改变了材料的表面特性导致这一结果。粘接剂的长期表面抗菌性能有待改进发展。这些粘接剂可用于前后牙树脂充填，也用在银汞合金充填前封闭牙本质小管。树脂粘接剂及粘接美学修复的发展也增加了这类粘接剂的需求。

研究第一部份发现可填压复合树脂既不抗菌也不促进细菌生长。因此可以推测，在新鲜固化的树脂表面涂布粘接剂至少在 24 小时内可以获得抗菌效果。磨光后的树脂修复体表面很快就会有获得性膜生成，这也许会提供保护性微环境，推迟抗菌性消失的时间。这些假设还需要更多的体外和体内实验来进一步检验。

## 结论

单组分粘接剂具有短效抗菌特性。