

[DOI] 10.12016/j.issn.2096-1456.2022.10.004

· 基础研究 ·

载 Cu-ZnO 牙科饰面瓷的制备及抗菌性能

程名扬¹, 乔琴², 李群¹, 廖岚¹

1. 南昌大学附属口腔医院 江西省口腔生物医学重点实验室 江西省口腔疾病临床医学研究中心, 江西 南昌 (330006); 2. 南昌市第三医院, 江西 南昌 (330006)

【摘要】 目的 探讨载 Cu-ZnO 牙科饰面瓷的抗菌性能、生物相容性及机械性能, 为研发新型牙科饰面瓷提供实验基础。方法 通过球磨法将纳米 Cu-ZnO 按照质量百分比 0 wt%、1 wt%、2 wt%、3 wt%、4 wt%、5 wt%、6 wt% 掺杂到用于修复体饰面瓷的 IPS E.max Ceram 瓷粉中, 经高温烧结制备出直径 20 mm、厚度 2 mm 的圆柱形试件。使用扫描电镜观察纳米 Cu-ZnO 及试件进行表征, 观察其表面形貌。采用平板菌落计数法对大肠杆菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) 的抗菌效果进行定量研究。使用 CCK-8 法评价试件对小鼠成纤维细胞 (L929) 的体外细胞毒性, 并使用荧光显微镜进行细胞活死染色观察。将试件进行三点弯曲强度实验, 检测改性后的 IPS E.max Ceram 饰面瓷的机械性能。结果 扫描电镜下可见块状样结构的 Cu-ZnO 嵌合于饰面瓷之中。当载纳米 Cu-ZnO 为 1 wt% ~ 4 wt% 时试件的抗菌率分别对应为 24.85%、67.94%、96.92%、99.99%, 0 wt% 组与其他浓度组间的差异有统计学意义 ($F = 23.308, P = 0.001$)。各组与小鼠成纤维细胞 (L929) 共培养 1、3 d 后细胞相对增殖率均大于 80%, 各组间差异无统计学意义, 共培养 24 h 后 L929 细胞形态正常。试件弯曲强度随 Cu-ZnO 浓度增加表现为先上升后下降的趋势, 载 3 wt% 纳米 Cu-ZnO 试件弯曲强度达到最大值 (84.72 ± 6.82) MPa, 各组间差异无统计学意义 ($F = 0.633, P = 0.702$)。结论 掺杂 3 wt% 纳米 Cu-ZnO 的 IPS E.max Ceram 饰面瓷经 750 °C 的高温烧结后, 对 *E.coli* 的抗菌率大于 96%, 弯曲强度达到最大值 (84.728 ± 6.82) MPa, 且无明显细胞毒性。

【关键词】 纳米铜; 纳米氧化锌; 纳米材料; 纳米铜锌复合抗菌剂; 抗菌性能; 生物相容性; 弯曲强度; 热膨胀系数; IPS E.max Ceram 饰面瓷; 饰面瓷

【中图分类号】 R783.1 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2022)10-0705-07

【引用著录格式】 程名扬, 乔琴, 李群, 等. 载 Cu-ZnO 牙科饰面瓷的制备及抗菌性能[J]. 口腔疾病防治, 2022, 30(10): 705-711. doi:10.12016/j.issn.2096-1456.2022.10.004.

Preparation and antibacterial properties of Cu-ZnO-loaded dental veneering porcelain CHENG Mingyang¹, QIAO Qin², LI Qun¹, LIAO Lan¹. 1. The Affiliated Stomatology Hospital of Nanchang University, the Key Laboratory of Oral Biomedicine, Jiangxi Province Clinical Research Center for Oral Diseases, Nanchang 330006, China; 2. The Third Hospital of Nanchang, Nanchang 330006, China

Corresponding author: LIAO Lan, Email: liaolan5106@163.com, Tel: 86-791-86350706

【Abstract】 Objective To investigate the antibacterial properties, biocompatibility and mechanical properties of Cu-ZnO-loaded dental veneering porcelain to provide an experimental basis for the development of new dental veneering porcelain. **Methods** Cu-ZnO nanoparticles were added to IPS E.max Ceram for restorative veneer porcelain at different mass percentages of 0 wt%, 1 wt%, 2 wt%, 3 wt%, 4 wt%, 5 wt%, and 6 wt% using ball milling in ceramic powder. A cylindrical specimen with a diameter of 20 mm and a thickness of 2 mm was prepared by high-temperature sintering. Scanning electron microscopy was used to observe the surface morphologies of nano-Cu-ZnO and the specimens. The antibacterial effect of *Escherichia coli* (*E. coli*) was quantitatively studied by the plate colony counting method. The CCK-8 method was used to evaluate in vitro the cytotoxicity of the tested piece to mouse fibroblasts (L929). Live and

【收稿日期】 2022-03-31; **【修回日期】** 2022-05-03

【基金项目】 国家自然科学基金项目 (82160194); 江西省自然科学基金项目 (20181ACB20022)

【作者简介】 程名扬, 住院医师, 硕士, Email: 709847192@qq.com

【通信作者】 廖岚, 主任医师, 博士, Email: liaolan5106@163.com, Tel: 86-791-86350706



微信公众号

dead cells were observed by fluorescence microscopy. The mechanical properties of modified IPS E. Max Ceram veneering porcelain were tested by a three-point bending strength test. **Results** Under the scanning electron microscope, Cu-ZnO appears with a block-like structure and can be seen dispersed in the veneering porcelain. When the nano Cu-ZnO loading was 1 wt%, 2 wt%, 3 wt%, and 4 wt%, the antibacterial rates of the specimens were 24.85%, 67.94%, 96.92%, and 99.99%, respectively, and the difference between the experimental groups and the control group was statistically significant ($F = 23.308, P = 0.001$). The relative growth rate of each group was greater than 80% after coculture with mouse fibroblast cells (L929) for 1 day and 3 days, and there was no significant difference between the groups. The morphology of L929 cells was normal after coculture for 24 hours. With the increase in the Cu-ZnO concentration, the flexural strength of the specimen exhibited an increasing trend followed by a decreasing trend. The bending strength of the specimen loaded with 3 wt% nano Cu-ZnO reached the maximum value (84.728 ± 6.82) MPa, and there was no statistically significant difference between groups ($F = 0.633, P = 0.702$). **Conclusion** The antibacterial rate of IPS E. max Ceram veneering porcelain loaded with 3 wt% nano Cu-ZnO was more than 96% against *E. coli* after high-temperature sintering at 750 °C. The bending strength reached the maximum (84.728 ± 6.82) MPa, and there was no obvious cytotoxicity.

【Key Words】 nano copper; nano zinc oxide; nanometer material; nano copper-zinc composite antibacterial agent; antibacterial properties; biocompatibility; bending strength; thermal expansion coefficient; IPS E.max Ceram veneering porcelain; veneering porcelain

J Prev Treat Stomatol Dis, 2022, 30(10): 705-711.

【Competing interests】 The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from National Natural Science Foundation of China(No.82160194) and Natural Science Foundation of Jiangxi Province(No.20181ACB20022).

随着口腔修复材料的发展与修复体制作工艺的进步,全瓷材料已成为口腔临床中最常用的修复材料之一^[1]。全瓷材料具有优异的机械性能及良好的生物相容性,使口腔临床修复的成功率大大提高。但固定修复体边缘细菌聚集的能力明显高于其他部位,修复后基牙自洁作用减弱,易形成菌斑滞留区,研究表明固定义齿的5年失败率为10%以上^[2]。

无机金属抗菌剂具有安全性较高、耐热性较好、抗菌范围广等优势^[3]。无机金属抗菌材料近几年已被广泛应用于口腔领域。Zhu等^[4]加入ZnO与Ag₂O后使二硅酸锂玻璃陶瓷具有一定的抗菌性能,二硅酸锂玻璃陶瓷的抗菌性能随着ZnO含量的增加而增强。研究表明,与其他无机纳米金属抗菌剂相比,因Cu²⁺与Zn²⁺的离子半径相近,Cu²⁺能显著改变ZnO纳米颗粒的形态、结构及光学性质^[5-6],杂化后的Cu-ZnO纳米粒子相较于纯ZnO纳米颗粒具有更好的抗菌特性、抗氧化性,且无明显细胞毒性。Jan等^[7]发现与单一的ZnO相比,纳米CuO-ZnO复合材料表面缺陷密度更大。而活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生量与纳米结构表面缺陷密度相关,表面缺陷密度越大,ROS的产生量越大,抗菌活性越强^[8]。

IPS E.max Ceram陶瓷因其具有优异的美学性

能和良好的力学性能,广泛应用于全冠、嵌体等修复体饰面瓷的制作。本课题组在前期的研究中制备出了一种纳米铜锌复合抗菌剂,Cu与ZnO添加的质量百分比为1:99,该抗菌剂已申请专利(专利号CN201910537967.6)。本实验拟将不同质量百分比的纳米Cu-ZnO通过球磨法添加到IPS E.max Ceram饰面瓷中,经750 °C高温烧结后制备出抗菌牙科饰面瓷,并评价改性后的IPS E.max Ceram饰面瓷的抗菌性能、机械性能以及其体外细胞毒性。

1 材料和方法

1.1 材料、试剂和仪器

大肠杆菌(ATCC25922,由南昌大学第二附属医院提供);CCK-8试剂盒(Apexbio公司,美国);IPS E.max Ceram瓷粉(义获嘉伟瓦登特(上海)有限公司,中国);纳米铜锌复合抗菌剂(南昌大学材料学院);扫描电子显微镜SEM(ZEISS Sigma 300,德国);恒温培养箱(FYL-YS-230,中国);电子天平(Sartorius BT25S,中国);电子拉力试验机(CMT-2502,中国)。

1.2 试件制备

①将IPS E.max Ceram瓷粉中掺杂不同质量百分比的Cu-ZnO纳米颗粒(0 wt%, 1 wt%, 2 wt%, 3 wt%, 4 wt%, 5 wt%, 6 wt%),通过球磨法混合均

匀,通过磨具将混合均匀的瓷粉压缩成直径20 mm、高2 mm圆柱形,然后于VITA烤瓷炉中经750 ℃高温烧结8 min,冷却后使用去离子水冲洗、烘干抛光轮抛光,制得IPS E.max Ceram抗菌瓷试件。②依照同样的方法制作检测弯曲强度试件,试件尺寸按照《牙科学·陶瓷材料》中的物件建议的标准设定为22 mm×4 mm×3 mm。按照添加不同的Cu-ZnO质量百分比将饰面瓷试件分为7组。

1.3 晶相分析与形貌表征

因前期预实验显示载5 wt%Cu-ZnO的饰面瓷对革兰氏阳性菌及革兰氏阴性菌均具有良好的抑制作用,所以将制备好的5 wt%Cu-ZnO的饰面瓷试件打磨抛光,试件表面使用3%的氢氟酸溶液酸蚀1 min,去离子水冲洗3 min后烘干,表面喷金。使用扫描电子显微镜对纳米Cu-ZnO及含5 wt% Cu-ZnO的饰面瓷试件进行观察,分析样品表面形貌。

1.4 平板菌落计数实验

将各组试件放入培养皿中,取50 μL大肠杆菌(*E.coli*)细菌悬液滴在试件表面,聚乙烯薄膜覆盖试件表面,菌液与试件均匀接触,将培养皿放置于37 ℃恒温培养箱中培养24 h,各用10 mL磷酸缓冲盐溶液(PBS)冲洗试件接种菌液表面及聚乙烯薄膜覆盖面,反复冲洗15次,将各组的洗脱液稀释 1.0×10^4 倍,然后取50 μL样液涂板,最后放置于37 ℃恒温培养箱中,需氧条件下培养24 h,行平板菌落计数,不同时间重复3组。计算抗菌率(R)公式为: $R = \frac{A-B}{A} \times 100\%$; (R: 抗菌率,%; A: 空白对照组回收菌落数; B: 实验组回收菌落数)。

1.5 体外细胞毒性实验

将只加入10%胎牛血清的培养基设置为空白对照组,其余各组依次随机抽取3个试件,向小鼠成纤维细胞(L929)中加入2.0 mL 0.5%胰蛋白酶消化收集,再加入10%胎牛血清DMEM配成细胞悬液,离心机离心5 min,取3块96孔培养板,将细胞悬液依次接种于96孔培养板中,然后放入37 ℃、5% CO₂恒温培养箱中培养1、3 d。

将前期制备好的7组样品,每组样品依次加入16 mL浸提介质,即含有10%胎牛血清的培养基,将其放置于培养箱中。吸弃前期在96孔培养板中预培养的100 μL培养液,依次加入分别对应每组实验试件的浸提液于相应的96孔培养板中,各组别中加入100 μL细胞培养液,分别于培养箱中培养1、3 d后吸弃液体,每孔中加入100 μL细胞培养

液并加入含10% CCK-8培养基,将其混匀后继续培养3 h。使用酶联免疫检测仪在450 nm波长下检测各孔的吸光度值(optical density, OD),根据公式计算细胞相对增殖率(relative growth rate, RGR): $RGR = \frac{\text{实验组OD值}}{\text{空白对照组OD值}} \times 100\%$ 。通过OD值计算出RGR后根据细胞毒性评级标准^[9](表1)来判断抗菌IPS E.max Ceram饰面瓷是否满足生物安全性的要求。

表1 细胞毒性评级标准

Table 1 Rating criteria for cytotoxicity

Relative growth rate	Cytotoxicity grade	Biological security
≥100%	0	Qualified
80% ~ 99%	1	Qualified
50% ~ 79%	2	Cell morphology analysis
30% ~ 49%	3	Unqualified
0% ~ 29%	4	Unqualified
0%	5	Unqualified

1.6 机械性能实验

弯曲强度指材料受到应力时,可抵抗弯曲断裂的最大应力值。根据《牙科学·陶瓷材料》ISO 6872: 2008为参考,采用三点弯曲法,每组3个试件,压头直径为3.0 mm,加载速率为1.0 mm/min,跨距为14.0 mm,试件厚度约为(3.0 ± 0.2) mm,试件宽度约为(4.0 ± 0.2) mm,计算公式如下: $\sigma = \frac{3PL}{2Wb^2}$ (σ ——试件的断裂强度,MPa; P: 最大载荷, N; L: 跨距, mm; W: 试件宽度, mm; b: 试件厚度, mm)。

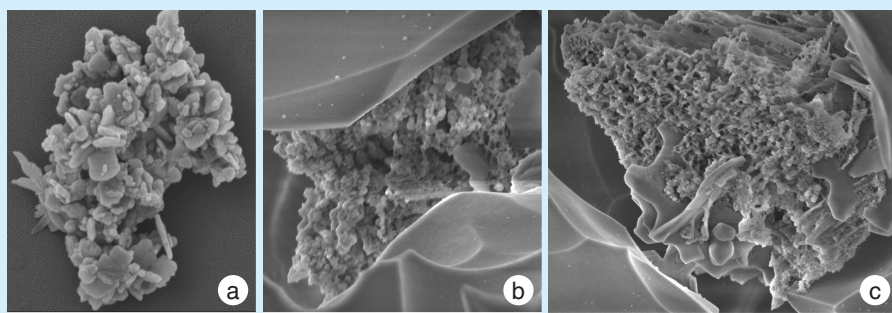
1.7 统计学分析

使用SPSS 26.0对数据进行统计分析,回收菌落数、光密度值及弯曲强度结果用均数±标准差表示,抗菌率与细胞增殖率结果用均数表示,分析数据是否符合正态分布,若数据不符合正态分布,可采用多独立样本秩和检验;若数据符合正态分布且满足方差齐性,使用单因素方差分析,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 试件制备及表面形貌观察

图1a为纳米Cu-ZnO扫描电镜图,微观下氧化锌表现为块状样和花瓣样结构,其上附着颗粒状结构为纳米铜;由图1b含5 wt% Cu-ZnO饰面瓷试件的表面形貌及图1c含5 wt% Cu-ZnO饰面瓷切割后内部形貌,可见块状样结构的Cu-ZnO掺杂嵌合于饰面瓷之中。



a: the SEM image of nano Cu-ZnO ($\times 40\ 550$), at the microscopic level, zinc oxide shows block-like and petal-like structure, and the attached granular structure is nano-copper; b: the SEM image of veneering porcelain specimens loaded with 5 wt% nano Cu-ZnO ($\times 18\ 020$); c: the SEM image of 5 wt% nano Cu-ZnO veneering porcelain after cutting ($\times 10\ 170$). It can be seen that Cu-ZnO dop-

ing with block-like structure is embedded in the veneering porcelain. SEM: scanning electron microscope

Figure 1 Micro surface morphology of antibacterial agent nano Cu-ZnO and antibacterial veneering porcelain(SEM)

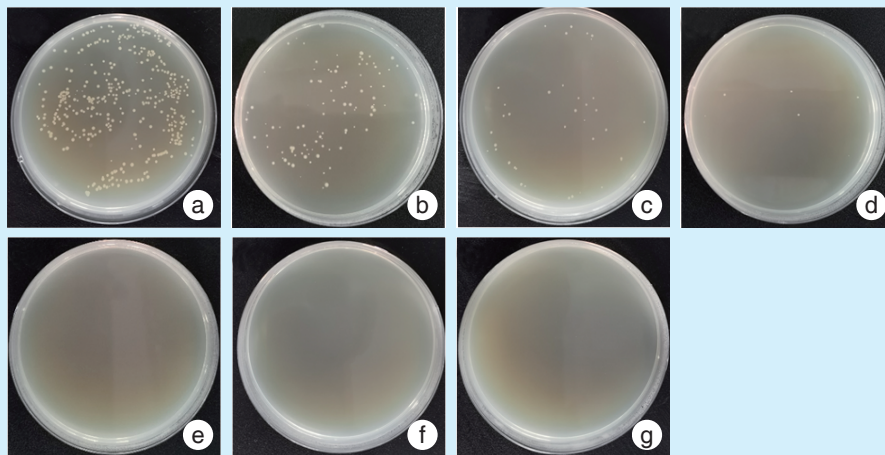
图1 抗菌剂纳米Cu-ZnO及抗菌饰面瓷微观表面形貌(SEM)

2.2 抗菌实验结果

将0 wt%~3 wt% Cu-ZnO组各组的回收菌落数导入SPSS 26.0软件中显示数据符合正态分布且符合方差齐性。1 wt% Cu-ZnO组、2 wt% Cu-ZnO组、3 wt% Cu-ZnO组与0 wt% Cu-ZnO组均存在显著性差异($F = 23.308, P = 0.001$)。由表2、图2可知,随着纳米Cu-ZnO添加浓度的增加,对大肠杆菌(*Escherichia coli, E.coli*)的抑制效果逐渐提高。当纳米Cu-ZnO添加比例依次为1 wt%~6 wt%时,抗菌瓷对*E.coli*抗菌率分别为24.85%、67.94%、96.92%、99.99%、99.99%、99.99%。

表2 载不同浓度纳米Cu-ZnO饰面瓷对*E.coli*的抗菌效果
Table 2 Antibacterial effect of different concentration of nano Cu-ZnO loaded in the veneering porcelain on *E.coli*

Nano Cu-ZnO content(wt%)	Number of recovered colonies/(CFU/mL)	Antibacterial rate (%)	F	P
0	165.53 ± 46.92	-	23.308	0.001
1	124.40 ± 30.15	24.85		
2	53.07 ± 18.42	67.94		
3	5.10 ± 2.67	96.92		
4	0.00 ± 0.00	99.99		
5	0.00 ± 0.00	99.99		
6	0.00 ± 0.00	99.99		



a: 0 wt% Cu-ZnO; b: 1 wt% Cu-ZnO; c: 2 wt% Cu-ZnO; d: 3 wt% Cu-ZnO; e: 4 wt% Cu-ZnO; f: 5 wt% Cu-ZnO; g: 6 wt% Cu-ZnO

Figure 2 The results of the co-culture of *E.coli* with different concentrations of nano Cu-ZnO loaded in the veneering porcelain

图2 载不同浓度纳米Cu-ZnO饰面瓷与*E.coli*共培养后涂板的结果

2.3 体外细胞毒性分析

将空白对照组(只加入10%胎牛血清培养基)与各浓度组抗菌瓷浸提液培养小鼠L929细胞,培养1、3 d的光密度值符合正态分布且方差齐性,采用单因素方差分析,共培养第1天除了0 wt%组,其余实验组光密度值与空白对照组之间均存在统计学差异($F = 4.128, P = 0.009$),共培养第3天4 wt%、5 wt%、6 wt%组光密度值与空白对照组之间存在

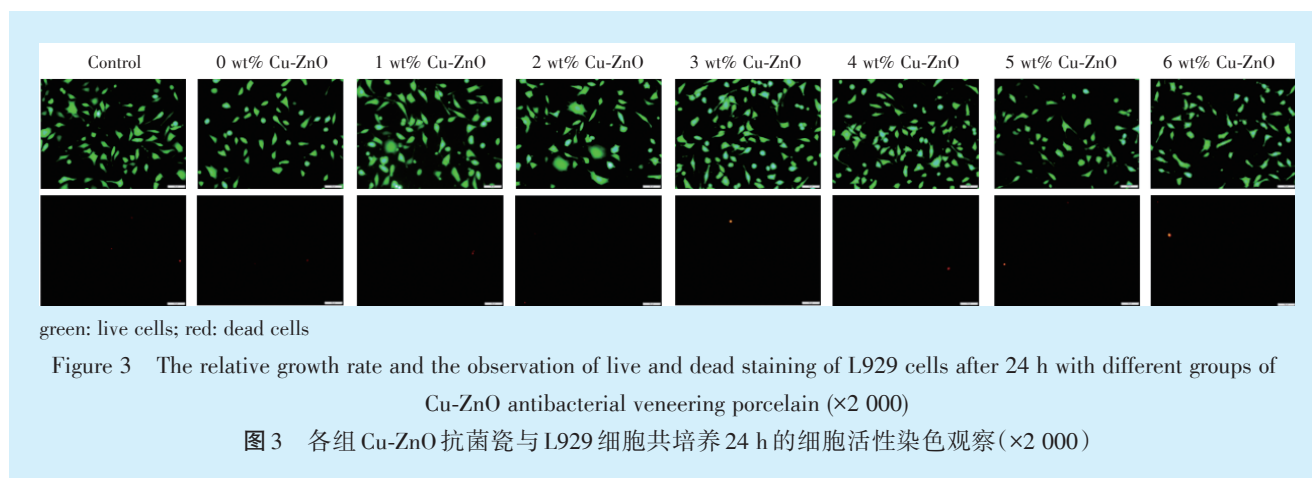
统计学差异($F = 6.144, P = 0.001$),其余实验组与空白对照组之间均无统计学差异。共培养第1天及第3天后,各实验组与空白对照组的细胞相对增殖率无显著性差异($P > 0.05$),且各组别细胞增殖率均 $> 80%$,毒性分级均 ≤ 1 级(表3)。抗菌IPS E. max Ceram饰面瓷浸提液与小鼠成纤维细胞L929共培养24 h后,使用荧光显微镜观察L929活死细胞染色结果可见:与空白对照组相比,各实验组细

表3 各组Cu-ZnO抗菌瓷对L929细胞培养1、3 d的光密度值、细胞增殖率及细胞毒性分级

Table 3 The optical density, relative growth rate and cytotoxicity grade of L929 cells cultured for 1 day and 3 days by different groups of Cu-ZnO antibacterial veneering porcelain

Nano Cu-ZnO content(wt%)	Day 1			Day 3		
	Optical density	Relative growth rate (%)	Cytotoxicity grade	Optical density	Relative growth rate (%)	Cytotoxicity grade
Blank control group	0.279 ± 0.021	100	0	0.454 ± 0.011	100	0
0	0.272 ± 0.010	97.49	1	0.482 ± 0.009	100.06	0
1	0.253 ± 0.010	90.68	1	0.455 ± 0.033	100	0
2	0.254 ± 0.007	91.04	1	0.456 ± 0.282	100	0
3	0.259 ± 0.004	92.83	1	0.467 ± 0.002	100.02	0
4	0.257 ± 0.125	92.11	1	0.422 ± 0.028	92.95	1
5	0.239 ± 0.004	85.66	1	0.415 ± 0.012	91.41	1
6	0.246 ± 0.009	88.17	1	0.399 ± 0.032	87.89	1
F	4.128 ^a	11.698		6.144 ^b	16.638	
P	0.009 ^a	0.067		0.001 ^b	0.072	

a: compared in 1 wt%-6w% group and blank control group; b: compared in 4 wt%, 5wt%, 6W% group and blank control group



胞形态正常,无明显死细胞(图3)。

2.4 机械性能

将对照组及各浓度Cu-ZnO组试件的弯曲强度数据用SPSS软件26.0计算,显示数据符合正态分布且方差齐性,采用单因素方差分析,各实验组与对照组的弯曲强度比较,均无显著差异($F = 0.633$, $P = 0.702$)。IPS E.max Ceram饰面瓷随着抗菌剂添加量的提升,其弯曲强度呈现先升高,后降低的趋势。当抗菌剂添加量为3 wt%时弯曲强度达到最大值(84.72 ± 6.82)MPa,当添加量大于3 wt%时抗菌饰面瓷的弯曲强度随着抗菌剂的增加而降低,当抗菌剂添加量为6 wt%时弯曲强度下降到(70.85 ± 6.14)MPa(表4)。

3 讨论

口腔中的菌斑生物膜在形成和聚集过程中对口腔疾病的发展起到了至关重要的作用。赋予修复体全瓷材料抗菌性能,可以减少修复体表面菌斑生物膜的聚集,延长修复体的使用时间。修复

表4 纳米Cu-ZnO添加量对饰面瓷弯曲强度的影响

Table 4 Effect of nano Cu-ZnO addition on bending strength of veneering porcelain

Nano Cu-ZnO content(wt%)	Bending Strength/MPa	F	P
0	71.40 ± 10.15	0.633	0.702
1	73.04 ± 10.67		
2	75.97 ± 7.68		
3	84.72 ± 6.82		
4	72.76 ± 16.35		
5	72.30 ± 12.00		
6	70.85 ± 6.14		

体表面改性制备抗菌涂层是赋予修复体抗菌性能的常用方法之一。与其他抗菌剂相比,无机抗菌剂具有良好的稳定性及安全性。金属纳米抗菌材料近些年已广泛应用于医疗领域,其中具有广谱抗菌性的金属离子包括 Ag^+ 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 三种^[10]。有学者^[11]采用溶胶凝胶法制备La-TiO₂溶胶,在3Y-TZP(摩尔分数3%氧化钇稳定四方多晶氧化锆陶瓷)表面制备出均匀涂覆的La-TiO₂薄膜,对E.coli

显示出了良好的抑菌效果。但是在陶瓷表面涂覆的 La-TiO₂ 薄膜同时存在着硬度差、与釉面结合度低等缺点。在咀嚼过程中,与对颌天然牙和食物的摩擦容易造成陶瓷表面抗菌薄膜的破损,难以维持抗菌的长效性。有学者采用氧化还原法将 Ag NPs 加入到含氧化钇稳定的氧化锆中^[12],对大肠杆菌(革兰氏阴性菌)、链球菌(革兰氏阳性菌)及白色念珠菌(真菌)进行微量液体稀释法,对这三种细菌均有良好的抗菌效果。但 Ag⁺对光非常敏感,容易氧化变色^[13],在水中还易与 Cl⁻、SO₄²⁻ 等阴离子形成难溶物从而丧失抗菌活性。相比较而言,Cu、Zn 的成本更低廉,抗菌性能也非常优异。Rashid 等^[14]在 ZnO 中掺杂 Cu²⁺后,相较于纯 ZnO,杂化后的纳米 Cu-ZnO 有助于提高 ZnO 的光催化活性,且能增强 ZnO 对革兰氏阳性菌的抗菌效率。与纯 ZnO 相比,ZnO-CuO 纳米复合材料对临床分离的多重耐药金黄色葡萄球菌具有更好的抗菌活性^[5]。Liu 等^[15]使用分子探针法评价纳米 Cu-ZnO 的光催化性能,结果显示杂化后的 Cu-ZnO 纳米粒子相较于 Ag-ZnO 纳米粒子及 Au-ZnO 纳米粒子具有更高的光催化活性和稳定性。有研究表明^[4]通过控制 ZnO 的添加量,可以有效调节载 Ag₂O 抗菌二硅酸锂玻璃陶瓷的透明度。本实验中使用的纳米 Cu-ZnO 具有 Cu 和 ZnO 两种无机纳米抗菌剂,两种抗菌剂在发挥抗菌作用的同时,ZnO 能否有效调节 Cu 对饰面瓷带来的着色问题有待进一步研究。

本实验根据现行的 GB/T 21510《纳米无机材料抗菌性能检测方法》,对抗菌饰面瓷试件采用贴膜法进行检测。在饰面瓷中添加抗菌剂含量为 3 wt% 时,对 *E.coli* 抗菌率达到 96.92%。依据中华人民共和国国家标准 JC/T897-2014《抗菌陶瓷制品抗菌性能》,当抑菌率大于 90% 即可认为该样品有较强的抑制作用。Khalid 等^[16]采用水热法合成了由 CuO 和 Zn 掺杂的纳米抗菌剂(CuO NSs),相较于单一的 CuO,杂化的 CuO NSs 对铜绿假单胞菌有着更强的抑制作用,极大地提高了抗菌性能。本实验使用 Cu-ZnO 纳米复合材料对牙科饰面瓷进行功能性修饰,Cu 与 ZnO 杂化后在瓷面上发挥协同抗菌作用。

CCK-8 法常用于评价材料的生物相容性,CCK-8 法相较于传统的 MTT 法操作更为简便,且试剂的灵敏度更高^[17]。其原理是在正常的培养条件下,L929 细胞呈倍数增长,当有外界刺激因素的干扰下会影响其正常生长,导致 L929 细胞活性及细胞

增殖率的降低。共培养第 1 天及第 3 天各组别细胞增殖率均 > 80%,毒性分级 ≤ 1 级,荧光显微镜观察 L929 活/死细胞染色结果可知,与空白对照组相比,各实验组 L929 细胞形态正常,无明显死细胞。由 CCK-8 法结果可知纳米 Cu-ZnO 添加量为 1 wt% ~ 6 wt% 的 IPS E.max Ceram 饰面瓷对小鼠 L929 细胞增殖影响较小,生物安全性较高。随着纳米 Cu-ZnO 浓度的提升,抗菌饰面瓷的弯曲强度呈现先升高,后降低的趋势。其原因之一可能是无机纳米粒子拥有较高的表面能,当添加量较低时,受到外力作用的能量被无机纳米粒子吸收。随着添加量的增高,纳米颗粒之间发生团聚形成应力集中区,导致饰面瓷机械性能的下降。另有研究表明^[18-19]将银纳米粒子加入牙科饰面瓷中混合烧结后,发现增强了饰面瓷的机械性能。其原因是 Ag 纳米粒子与饰面瓷之间产生了离子交换反应,且两者间存在不同的热膨胀系数,共同导致混合烧结后在饰面瓷中产生了一定的残余压应力,由此增强了饰面瓷的机械性能。在全瓷修复体中,基底瓷与饰面瓷热膨胀系数的差异决定着两者在高温烧结后的结合强度。在临床中应尽量保持基底瓷与饰面瓷热膨胀系数的匹配性,以减少基底瓷与饰面瓷界面的残余应力,降低全瓷修复体破坏的可能性。Fujieda 等^[19]发现银纳米粒子相较于饰面瓷有着更高的热膨胀系数。但将无机纳米粒子加入牙科饰面瓷中混合烧结后,是否会改变原有饰面瓷的热膨胀系数,目前还没有相关文献报道。

本研究将 3 wt% 纳米 Cu-ZnO 掺杂至 IPS E.max Ceram 饰面瓷,经 750 °C 的高温烧结后,制得一种抗菌性能良好的牙科饰面瓷。该饰面瓷对 *E.coli* 的抗菌率为 96.92%,弯曲强度达到最大值(84.728 ± 6.82) MPa,且无明显细胞毒性,为口腔全瓷修复体提出了一种抗菌无毒的策略,具有广阔的应用价值。但载 Cu-ZnO 浓度较高时,饰面瓷的颜色亮度会增加。由于口腔环境较为复杂,菌群与宿主保持“动态平衡”,抗菌饰面瓷是否具有抗菌长效性,以及其应用是否会对口腔微生态环境产生影响,尚需进一步的实验研究。

[Author contributions] Cheng MY performed the experiments and wrote the article. Liao L, Qiao Q and Li Q designed the study and reviewed the article. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

参考文献

- [1] Zhang Y, Kelly JR. Dental ceramics for restoration and metal ve-

- neering[J]. Dent Clin North Am, 2017, 61(4): 797-819. doi: 10.1016/j.cden.2017.06.005.
- [2] Toman M, Toksavul S. Clinical evaluation of 121 Lithium disilicate all-ceramic crowns up to 9 years[J]. Quintessence Int, 2015, 46(3): 189-197. doi: 10.3290/j.qi.a33267.
- [3] Saidin S, Jumat MA, Mohd Amin NAA, et al. Organic and inorganic antibacterial approaches in combating bacterial infection for biomedical application[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2021, 118: 111382. doi: 10.1016/j.msec.2020.111382.
- [4] Zhu J, Zheng T, Xin Y, et al. Influence of ZnO on the crystal phase and properties of lithium disilicate glass-ceramic doped with Ag₂O[J]. J Non-Cryst Solids, 2017, 474: 43-49. doi:10.1016/j.noncrystal.2017.08.020.
- [5] Khalid A, Ahmad P, Alharthi AI, et al. Synergistic effects of Cu-doped ZnO nanoantibiotic against Gram-positive bacterial strains [J]. PLoS One, 2021, 16(5): e0251082. doi: 10.1371/journal.pone.0251082.
- [6] Bhuyan T, Khanuja M, Sharma R, et al. A comparative study of pure and copper (Cu)-doped ZnO nanorods for antibacterial and photocatalytic applications with their mechanism of action[J]. J Nanopart Res, 2015, 17(7): 288. doi: 10.1007/s11051-015-3093-3.
- [7] Jan T, Azmat S, Mansoor Q, et al. Superior antibacterial activity of ZnO-CuO nanocomposite synthesized by a chemical co-precipitation approach[J]. Microb Pathog, 2019, 134: 103579. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103579.
- [8] Mahamuni-Badiger PP, Patil PM, Badiger MV, et al. Biofilm formation to inhibition: role of zinc oxide-based nanoparticles[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2020, 108: 110319. doi: 10.1016/j.msec.2019.110319.
- [9] Jiang RD, Lin H, Zheng G, et al. *In vitro* dentin barrier cytotoxicity testing of some dental restorative materials[J]. J Dent, 2017, 58: 28-33. doi: 10.1016/j.jdent.2017.01.003.
- [10] Ning C, Wang X, Li L, et al. Concentration ranges of antibacterial cations for showing the highest antibacterial efficacy but the least cytotoxicity against mammalian cells: implications for a new antibacterial mechanism[J]. Chem Res Toxicol, 2015, 28(9): 1815-1822. doi: 10.1021/acs.chemrestox.5b00258.
- [11] 曾永发, 付玉林, 戴群, 等. 3Y-TZP陶瓷表面钨掺杂TiO₂薄膜的制备和抗菌性能研究[J]. 口腔疾病防治, 2019, 27(3): 153-158. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2019.03.003.
- Zeng YF, Fu YL, Dai Q, et al. Preparation and antibacterial properties of lanthanum-doped TiO₂ films on 3Y-TZP ceramic surfaces [J]. J Prev Treat Stomatol Dis, 2019, 27(3): 153-158. doi:10.12016/j.issn.2096-1456.2019.03.003.
- [12] Xu K, Liu Y, Liu S, et al. Microorganism adhesion inhibited by silver doped Ytria-stabilized zirconia ceramics[J]. Ceram Int, 2011, 37(7): 2109-2115. doi:10.1016/j.ceramint.2011.02.023.
- [13] Corrêa JM, Mori M, Sanches HL, et al. Silver nanoparticles in dental biomaterials[J]. Int J Biomater, 2015 : 485275. doi: 10.1155/2015/485275.
- [14] Rashid M, Ikram M, Haider A, et al. Photocatalytic, dye degradation, and bactericidal behavior of Cu-doped ZnO nanorods and their molecular docking analysis[J]. Dalton Trans, 2020, 49(24): 8314-8330. doi: 10.1039/d0dt01397h.
- [15] Liu X, Liu H, Zhang W, et al. Facile synthesis and photocatalytic activity of bi-phase dispersible Cu-ZnO hybrid nanoparticles[J]. Nanoscale Res Lett, 2015, 10: 195. doi: 10.1186/s11671-015-0895-2.
- [16] Khalid A, Ahmad P, Alharthi AI, et al. Structural, optical and antibacterial efficacy of pure and zinc-doped copper oxide against pathogenic bacteria[J]. Nanomaterials (Basel), 2021, 11(2): 451. doi: 10.3390/nano11020451.
- [17] Failli A, Legitimo A, Orsini G, et al. Antiproliferative effects of 5-fluorouracil and oxaliplatin in colon cancer cell lines: comparison of three different cytotoxicity assays[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2013, 27(1): 275-284.
- [18] Uno M, Kurachi M, Wakamatsu N, et al. Effects of adding Silver nanoparticles on the toughening of dental porcelain[J]. J Prosthet Dent, 2013, 109(4): 241-247. doi: 10.1016/S0022-3913(13)60052-9.
- [19] Fujieda T, Uno M, Ishigami H, et al. Addition of Platinum and Silver nanoparticles to toughen dental porcelain[J]. Dent Mater J, 2012, 31(5): 711-716. doi: 10.4012/dmj.2012-044.

(编辑 周春华, 邵龙泉)



官网