

文章编号: 1674-2869(2019)05-0424-05

# Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>微球对变异链球菌生物膜形成的影响

黄乔木, 吕 中\*

武汉工程大学环境生态与生物工程学院, 湖北 武汉 430205

**摘 要:**生物膜状变异链球菌(*Streptococcus mutans*)是导致龋齿的主要细菌,为抑制该细菌,采用沉积沉淀法制备 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>复合物,并以 X 射线衍射、电感耦合等离子体质谱和透射电镜对所合样品的组成和形貌进行表征。通过抑菌圈和最低抑菌浓度(MIC)法测定 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对 *Streptococcus mutans* 的抗菌活性,此外 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对 *Streptococcus mutans* 生物膜形成、产酸和胞外多糖(EPS)的影响进行测定。结果显示所合成的 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>复合物为直径 2~3 mm 的微球,其中 Ag<sub>2</sub>O 在 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>中所占质量分数为 24.80%。Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对浮游状 *Streptococcus mutans* 的 MIC 值为 64 mg/L,且能显著抑制 *Streptococcus mutans* 产酸。125 mg/L Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>能减少 61.9%生物膜形成,水可溶性的 EPS 和水不可溶性的 EPS 的产生分别减少 56.1%和 69.5%。结果表明 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>可能是一种有效的预防龋齿材料。

**关键词:** Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>; *Streptococcus mutans*; 生物膜形成; 抑制; 胞外多糖

**中图分类号:** R780.1      **文献标识码:** A      **doi:** 10.3969/j.issn.1674-2869.2019.05.003

## Effects of Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> Microsphere on Biofilm Formation of *Streptococcus Mutans*

HUANG Qiaomu, LÜ Zhong\*

School of Environmental Ecology and Biological Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China

**Abstract:** Biofilm of *Streptococcus mutans* is the main bacteria causing dental caries. To inhibit the bacteria, Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> compound was synthesized by a deposition precipitation, and characterized by X-ray diffraction, inductively coupled plasma mass spectrometry and transmission electron microscopy. The antibacterial activity of Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> on *Streptococcus mutans* was determined with the measurement of inhibition zone and minimum inhibitory concentration (MIC). And the effects of Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> on the biofilm formation, acid production and extracellular polysaccharides (EPS) of *Streptococcus mutans* were also studied. Results show that the Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> compound is microsphere with a diameter of 2–3 mm, and the mass fraction of Ag<sub>2</sub>O in Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> is 24.8%. The MIC value of Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> against planktonic *Streptococcus mutans* is 64 mg/L, and significantly inhibiting the acid production of *S. mutans*. The Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> with 125 mg/L decreases the biofilm formation of *Streptococcus mutans* by 61.9%, and reduces the production of water-soluble and water-insoluble EPS of *Streptococcus mutans* by 56.1% and 69.5% respectively. Therefore, Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> may be an effective dental caries prevention material.

**Keywords:** Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>; *Streptococcus mutans*; biofilm formation; inhibition; extracellular polysaccharides

龋齿是世界上最普遍的慢性传染病之一,它是引起口腔疼痛和牙齿脱落的主要原因<sup>[1]</sup>。据报道,世界上 90% 以上的人口一生中至少会患一次

此病<sup>[2]</sup>。变异链球菌(*Streptococcus mutans*, *S. mutans*)被认为是主要的致龋细菌。*S. mutans* 重要的毒力因子包括在牙齿表面形成生物膜、产胞外

收稿日期: 2019-04-08

基金项目: 国家自然科学基金(21371139); 武汉工程大学研究生教育创新基金(CX201725)

作者简介: 黄乔木, 硕士研究生。E-mail: 357013855@qq.com

\*通讯作者: 吕 中, 博士, 教授。E-mail: zhonglu@wit.edu.cn

引文格式: 黄乔木, 吕中. Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>微球对变异链球菌生物膜形成的影响[J]. 武汉工程大学学报, 2019, 41(5): 424–428.

多糖(EPS)和酸<sup>[3]</sup>。生物膜中的 *S. mutans* 被大量 EPS 包裹,使药物很难接触到细菌,使其对抗生素等药物的耐受性比浮游态提高 1 000 倍<sup>[4]</sup>。*S. mutans* 可通过糖酵解途径产生乳酸等有机酸造成牙齿脱矿化<sup>[5]</sup>。因此,能够抑制浮游细菌生长、生物膜形成和产酸的材料将是一种理想的治龋药物。

在抗生素疗法使细菌对传统抗生素产生抗药性后,具有结构稳定、能够长时间抗菌的无机金属氧化物为龋齿的预防和治疗提供新的策略<sup>[6]</sup>。同已被广泛应用于牙科临床的 ZnO 一样,近年 TiO<sub>2</sub> 也被嵌入玻璃离子水门汀或树脂中用于探究对口腔细菌的抗菌效果和对牙科材料的改性<sup>[7-8]</sup>。TiO<sub>2</sub> 对人体的毒性很低,但是 TiO<sub>2</sub> 对许多口腔细菌生物膜形成的抑制效果不好<sup>[9]</sup>。当高浓度的 TiO<sub>2</sub> 嵌入牙科材料时,复合牙科材料的机械性能可能会受到影响。Ag<sub>2</sub>O 对许多细菌具有良好的抗菌活性,包括 *S. mutans*<sup>[10-12]</sup>。Ag<sub>2</sub>O 通过释放 Ag<sup>+</sup> 抗菌,但是过多的 Ag<sup>+</sup> 对人体细胞具有毒性<sup>[13]</sup>。此外,单独的 Ag<sub>2</sub>O 易发生团聚而使粒径过大,而无机材料的抗菌活性与其尺寸有关,粒径越小,抗菌效果越好<sup>[14]</sup>。将 Ag<sub>2</sub>O 负载在 TiO<sub>2</sub> 上,可以有效地减少 Ag<sub>2</sub>O 的用量和 TiO<sub>2</sub> 的用量,并且在 TiO<sub>2</sub> 的影响下,可得到均匀分布在 TiO<sub>2</sub> 上的小尺寸 Ag<sub>2</sub>O 颗粒<sup>[15]</sup>。其中 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> 已被证实对金黄色葡萄球菌具有显著的抗菌活性<sup>[16]</sup>。然而,Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> 对 *S. mutans* 的抗菌作用未见报道。本研究采用沉积沉淀法合成 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> 微球,测定其对 *S. mutans* 的抗菌作用及对生物膜形成和产酸的影响,以期在牙科临床上的应用提供理论基础。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

变异链球菌 *S. mutans* UA 159(武汉大学口腔医学院);钛酸四丁酯(TBT)(天津百世有限公司);硝酸银(AgNO<sub>3</sub>)(阿拉丁试剂有限公司);脑心浸液肉汤培养基(BHI)(Oxoid 有限公司);琼脂粉(Biofrox 有限公司),厌氧产气袋(三菱瓦斯化学株式会社);2.5 L 圆底立式厌氧培养袋(青岛海博生物技术有限公司);结晶紫(天津市天力化学试剂有限公司);其他试剂均为分析纯。

D8 ADVANCE 型 X-射线衍射仪(X-ray diffraction, XRD), (德国 Bruker 公司);JEM-2100 透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM), (日本电子株式会社);AGILENT 7700 电感耦合等离子质谱仪(inductively coupled plasma

mass spectrometry, ICP-MS)(安捷伦科技股份有限公司);722 N 紫外可见分光光度计(上海仪电分析仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>微球的制备和表征 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>微球参考文献<sup>[15]</sup>的合成法。首先合成 TiO<sub>2</sub> 微球:取 2 mL 的 TBT 溶液逐滴加进 60 mL 的 CH<sub>3</sub>COOH 溶液中,超声分散 15 min,将溶液转移到聚四氟乙烯反应釜中,150 ℃ 反应 5 h 后,用无水乙醇洗涤 3 次,70 ℃ 烘干,研磨得到 TiO<sub>2</sub> 微球。Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> 微米复合物(Ag<sub>2</sub>O 与 TiO<sub>2</sub> 理论摩尔比为 1:10)制备过程如下:称取 0.2 g TiO<sub>2</sub> 微球超声分散在 25 mL 去离子水中,与 25 mL 20 mmol/L 的 AgNO<sub>3</sub> 溶液混合搅拌 30 min 混匀,逐滴加入 25 mL 0.5 mol/L 的 NaOH 溶液,搅拌 30 min,用去离子水洗涤 5 次,室温干燥研磨收集样品。在不添加 TiO<sub>2</sub> 微球的情况下,用相同的方法合成 Ag<sub>2</sub>O。

所制得的 TiO<sub>2</sub>, Ag<sub>2</sub>O 和 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> 采用 XRD 表征,扫描范围为 10~80°;利用 TEM 对 TiO<sub>2</sub> 和 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> 微球材料的形貌及粒径进行表征。Ag<sub>2</sub>O 在 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> 中的占比通过 ICP-MS 确定。

1.2.2 抑菌圈测定 实验方法参见文献<sup>[17]</sup>。在 BHI 固体培养基上均匀涂布 10<sup>8</sup> CFU/mL *S. mutans* 菌液,贴上无菌滤纸片,分别滴加 10 mL 1 g/L 的 TiO<sub>2</sub>、Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> 以及 10 mL 248 mg/L Ag<sub>2</sub>O 的磷酸缓冲溶液(PBS)分散溶液,培养皿放入放有厌氧产气袋的厌氧培养袋后,置于 37 ℃ 恒温培养 24 h。滴加 10 mL 磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)的滤纸片设为对照。实验重复 3 次。

1.2.3 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对浮游状*S. mutans*的最低抑菌浓度(MIC)测定 实验方法参见文献<sup>[18]</sup>。离心管中分别加入质量浓度为 16、32、64、125、256、512 和 1 000 mg/L 的 TiO<sub>2</sub> 或 16、32 和 64 mg/L Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> 以及 8、16 和 32 mg/L 的 Ag<sub>2</sub>O 分散液,与 5×10<sup>5</sup> CFU/mL 的菌液混合均匀后在 37 ℃ 的恒温摇床中培养 24 h。观察每管的浑浊度,培养液透明的试管所对应的最低样品浓度为最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。仅含菌液的试管设为对照。实验重复做 3 次。

1.2.4 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对浮游状*S. mutans*形成生物膜的抑制作用 在 24 孔板中分别加入 31.25、62.5 和 125 mg/L 的 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> [分散在含质量体积比 1% 蔗糖的脑心浸液肉汤培养基(brain heart infusion, BHI 培养基)],与 2×10<sup>8</sup> CFU/mL 的菌液混合均匀后在 37 ℃ 培养 24 h。移除上层的悬浮培养液,然

后向形成的生物膜孔中加入 1 mL 甲醇,固定生物膜 15 min 后弃去,然后加入质量体积比 0.1% 结晶紫染色 5 min,清洗多余染料后加入二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)将生物膜溶解,最后用分光光度计检测 570 nm 处的吸光度。仅含菌液的孔道设为对照。实验重复 3 次。

1.2.5  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  对浮游状 *S. mutans* 形成生物膜过程中产酸的检测 参照实验方法 1.2.4 作用和培养 *S. mutans*。在培养过程中,用 pH 计每隔 2 h 测定培养液的 pH 值。仅含菌液的孔道设为对照。实验重复 3 次。

1.2.6  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  对浮游状 *S. mutans* 形成生物膜过程中产 EPS 的检测 参照实验方法 1.2.4 作用和培养 *S. mutans*。培养作用完成后,参照文献<sup>[19]</sup>提取 EPS:刮取形成的生物膜在 4 ℃、12 000 r/m 条件下离心 10 min。所得上清液包含可溶性 EPS。沉淀重旋在 1 mol/L NaOH 中,离心,此时的上清液包含不可溶性 EPS。使用体积分数 95% 乙醇沉淀 EPS,最后用苯酚-硫酸显色反应对提取的 EPS 进行定量。仅含菌液的孔道设为对照。实验重复 3 次。

1.2.7 数据统计分析 采用 SPSS 19.0 软件对  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  生物膜形成的结晶紫定量、EPS 的产量数据进行单因素方差(One-Way ANOVA)分析,选择 Tukey 进行事后检验分析。所有试验的显著性水平为 0.05。

2 结果与讨论

2.1  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  微球的表征

图 1 是所合成  $\text{TiO}_2$ 、 $\text{Ag}_2\text{O}$  及  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  样品的 XRD 图。其中  $\text{TiO}_2$  样品的衍射峰与锐钛矿型  $\text{TiO}_2$  的标准卡片图谱(JCPDS 4-477)相一致。合成的  $\text{Ag}_2\text{O}$  样品的衍射峰也与  $\text{Ag}_2\text{O}$  标准卡片图谱(JCPDS 1-1041)的衍射峰相一致,说明成功合成了纯净的  $\text{Ag}_2\text{O}$ 。 $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  的衍射峰除了能观察到

$\text{TiO}_2$  的衍射峰之外,还能观察到与  $\text{Ag}_2\text{O}$  标准卡片图谱(JCPDS 1-1041)相一致的衍射峰,衍射峰没有杂峰,且衍射峰均有较高强度,说明合成的样品为结晶度较高的  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$ 。

图 2 分别是样品  $\text{TiO}_2$  及  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  的 TEM 图。由图 2(a)可知,纯的  $\text{TiO}_2$  是由一维纳米棒组成的直径为 2~3 nm 的微球。从图 2(d)中可以看到,在  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  中, $\text{TiO}_2$  表面变得粗糙,粒径为 5~10 nm 的  $\text{Ag}_2\text{O}$  纳米颗粒沿着微球上的纳米棒均匀负载。由 ICP-MS 数据可知, $\text{Ag}_2\text{O}$  在  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  中所占质量分数为 24.80%。

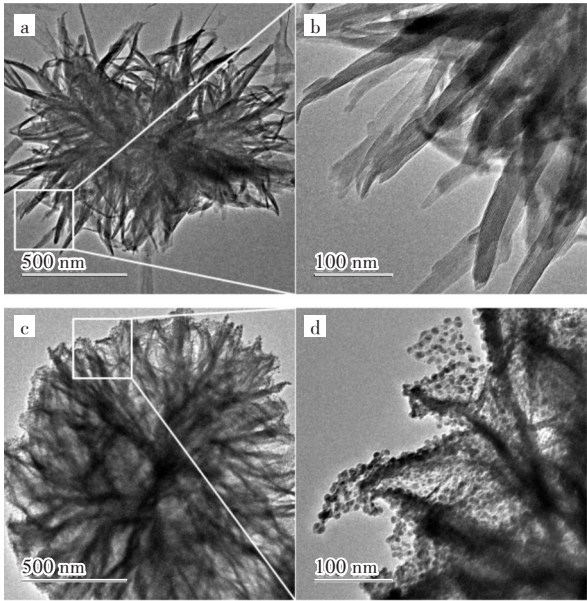


图 2 TEM 图:(a) $\text{TiO}_2$ 、(c) $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$ 、(b)和(d)分别为(a)和(c)中矩形的放大图片

Fig. 2 TEM images: (a)  $\text{TiO}_2$ , (c)  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$ , (b) and (d) are magnified images of rectangles in (a) and (c) respectively

2.2  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  对 *S. mutans* 的抗菌活性

图 3(a)显示, $\text{TiO}_2$  和空白组的滤纸片周围没有看到抑菌圈,而  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  和与  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  相当量的  $\text{Ag}_2\text{O}$  的滤纸片周围有明显的抑菌圈,说明  $\text{Ag}_2\text{O}$  和  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  对 *S. mutans* 有抑菌效果,而  $\text{TiO}_2$  对 *S. mutans* 没有明显抑菌效果。其中  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  的抑菌圈大于  $\text{Ag}_2\text{O}$  的抑菌圈,说明  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  的抑菌效果强于  $\text{Ag}_2\text{O}$ 。由图 3(b)可见, $\text{TiO}_2$  作用的每根离心管培养液浑浊度基本与空白组一致,说明  $\text{TiO}_2$  在质量浓度为 1 000 mg/L 及以下时对 *S. mutans* 没有明显抑菌活性; $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  作用的离心管培养液在质量浓度为 64 mg/L 时,试管中培养液呈澄清状态,说明  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  对 *S. mutans* 的 MIC 为 64 mg/L。 $\text{Ag}_2\text{O}$  对 *S. mutans* 的 MIC 为 32 mg/L。根据 ICP-MS 结果可计算,64 mg/L  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  中的  $\text{Ag}_2\text{O}$  质量浓

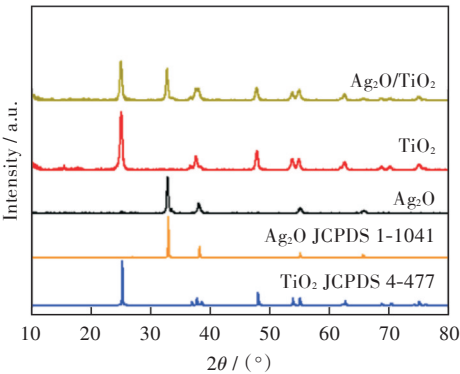


图 1  $\text{TiO}_2$ 、 $\text{Ag}_2\text{O}$  和  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  的 XRD 图

Fig. 1 XRD patterns of  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Ag}_2\text{O}$  and  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$



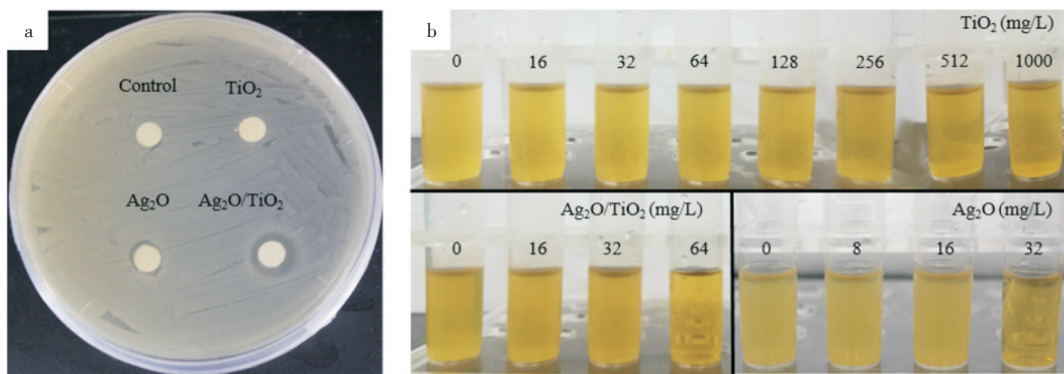


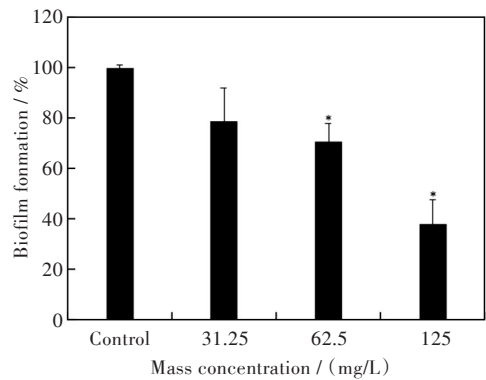
图3 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对浮游状 *S. mutans* 的抗菌活性:(a)抑菌圈,(b)MIC图

Fig. 3 Antibacterial activity of Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> against planktonic *S. mutans*: (a)inhibition zone, (b) MIC images

度为15.87 mg/L,而Ag<sub>2</sub>O的MIC大于这个浓度,说明Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对*S. mutans*的抗菌作用强于相同浓度下的Ag<sub>2</sub>O。

2.3 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对*S. mutans*生物膜形成的抑制

图4显示,随着Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>浓度的升高,生物膜形成量越少。当Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>质量浓度为125 mg/L时,相比于空白组,生物膜形成量下降61.8%,结果表明Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>能显著抑制*S. mutans*生物膜的形成。



注:数据以 Mean ±SD, \**P*<0.05

图4 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对*S. mutans*生物膜形成的抑制

Fig. 4 Inhibition of Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> on biofilm formation of *S. mutans*

2.4 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对*S. mutans*生物膜形成过程产酸的抑制

图5显示,*S. mutans*在不受药物作用情况下,培养8 h后培养液的pH值会降到4.5;而在Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>的作用下,培养液中的pH值几乎没有变化,说明Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>能够显著抑制细菌在生物膜形成过程中的产酸。

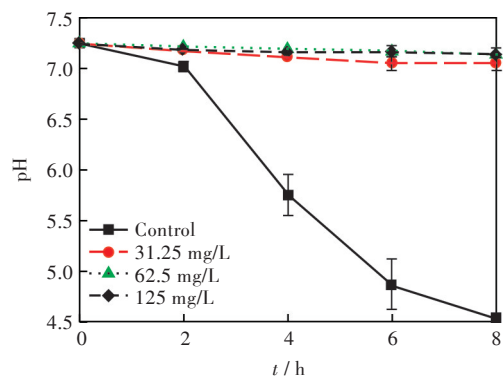
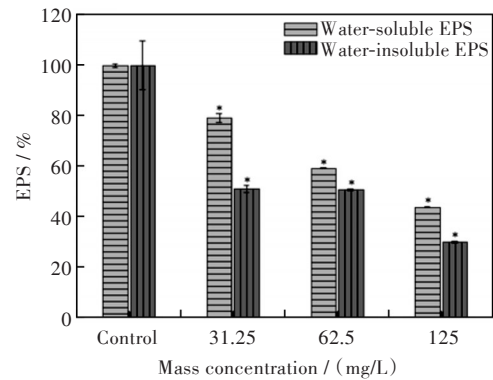


图5 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对*S. mutans*产酸影响

Fig. 5 Effects of Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> on acid production of *S. mutans*

2.5 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对*S. mutans*生物膜形成过程产EPS的抑制

图6显示,在Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>作用下,水可溶性和水不可溶性EPS的产量都显著下降。当Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>质量浓度为125 mg/L时,水可溶性和水不可溶性EPS产量相比于空白组分别下降了56.14%和69.95%,结果表明Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>能显著地抑制细菌EPS的产生。



注:数据为平均值±标准差, \**P*<0.05

图6 Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>对*S. mutans*生物膜形成过程产EPS影响

Fig. 6 Effects of Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub> on production of EPS during the biofilm formation of *S. mutans*

### 3 结 语

通过沉积沉淀法合成的  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  微球对口腔致龋细菌 *S. mutans* 有显著的抗菌活性, 并能够抑制其生物膜的形成及该过程中的产酸和 EPS。由于  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  具有较好稳定性, 未来可将  $\text{Ag}_2\text{O}/\text{TiO}_2$  掺杂进牙科材料中探索其在牙科临床实际应用可行性。

#### 参考文献

- [1] SELWITZ R H, ISMAIL A I, PITTS N B. Dental caries [J]. Lancet, 2007, 369(9555): 51–59.
- [2] MARCHISIO O, ESPOSITO M R, GENOVESI A. Salivary pH level and bacterial plaque evaluation in orthodontic patients treated with recalcitrant (R) products [J]. International Journal of Dental Hygiene, 2010, 8 (3): 232–236.
- [3] HASAN S, DANISHUDDIN M, ADIL M, et al. Efficacy of *E. officinalis* on the cariogenic properties of *Streptococcus mutans*: a novel and alternative approach to suppress quorum-sensing mechanism [J]. Plos One, 2012, 7(7): e40319.
- [4] KOUIDHI B, AL QURASHI Y M, CHAIEB K. Drug resistance of bacterial dental biofilm and the potential use of natural compounds as alternative for prevention and treatment [J]. Microbial Pathogenesis, 2015, 80: 39–49.
- [5] WANG Y F, WANG X Q, JIANG W T, et al. Antimicrobial peptide GH12 suppresses cariogenic virulence factors of *Streptococcus mutans* [J]. Journal of Oral Microbiology, 2018, 10 (1): 1442089 (1) – 1442089(11).
- [6] KHAN S T, AL-KHEDHAIRY A A, MUSARRAT J. ZnO and  $\text{TiO}_2$  nanoparticles as novel antimicrobial agents for oral hygiene: a review [J]. Journal of Nanoparticle Research, 2015, 17(6): 276–292.
- [7] LAITEERAPONG A, REICHL F X, YANG Y, et al. Induction of DNA double-strand breaks in human gingival fibroblasts by eluates from titanium dioxide modified glass ionomer cements [J]. Dental Materials, 2018, 34(2): 282–287.
- [8] ESTEBAN FLOREZ F L, HIERS R D, LARSON P, et al. Antibacterial dental adhesive resins containing nitrogen-doped titanium dioxide nanoparticles [J]. Mater Science & Engineering C-Materials for Biological Applications, 2018, 93: 931–943.
- [9] VARGAS-REUS M A, MEMARZADEH K, HUANG J, et al. Antimicrobial activity of nanoparticulate metal oxides against peri-implantitis pathogens [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2012, 40 (2): 135–139.
- [10] PAN Y, NEUSS S, LEIFERT A, et al. Size-dependent cytotoxicity of gold nanoparticles [J]. Small, 2007, 3 (11): 1941–1949.
- [11] MANIKANDAN V, VELMURUGAN P, PARK J H, et al. Green synthesis of silver oxide nanoparticles and its antibacterial activity against dental pathogens [J]. 3 Biotech, 2017, 7: 72.
- [12] KARUNAKARAN G, JAGATHAMBAL M, GUSEV A, et al. Nitrobacter sp. extract mediated biosynthesis of  $\text{Ag}_2\text{O}$  NPs with excellent antioxidant and antibacterial potential for biomedical application [J]. IET Nanobiotechnology, 2016, 10(6): 425–430.
- [13] GAO A, HANG R Q, HUANG X B, et al. The effects of titania nanotubes with embedded silver oxide nanoparticles on bacteria and osteoblasts [J]. Biomaterials, 2014, 35(13): 4223–4235.
- [14] LU Z, RONG K F, LI J, et al. Size-dependent antibacterial activities of silver nanoparticles against oral anaerobic pathogenic bacteria [J]. Journal of Materials Science-Materials in Medicine, 2013, 24 (6): 1465–1471.
- [15] LIU B K, MU L L, HAN B, et al. Fabrication of  $\text{TiO}_2/\text{Ag}_2\text{O}$  heterostructure with enhanced photocatalytic and antibacterial activities under visible light irradiation [J]. Applied Surface Science, 2017, 396: 1596–1603.
- [16] ZENG Z P, HE X, TAN B Q, et al. Titanium oxide nanotubes embedded with silver dioxide nanoparticles for staphylococcus aureus infections after prosthetic joint replacement in animal models [J]. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2018, 11(7): 7392–7399.
- [17] 马璐璐, 吴杰, 吕中. 纳米氧化铜与庆大霉素协同抗 MRSA 作用的研究 [J]. 武汉工程大学学报, 2016, 38 (3): 226–230.
- [18] 牛卉, 何欣雨, 王睿, 等. 螯合剂联合美罗培南对耐碳青霉烯铜绿假单胞菌和肺炎克雷伯菌的体外抗菌活性研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(10): 971–974.
- [19] LIU Y C, XU Y J, SONG Q H, et al. Anti-biofilm activities from *bergenia crassifolia* leaves against *Streptococcus mutans* [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1738.

本文编辑: 张 瑞