

## • 论著 •

# 载银二氧化钛对金黄色葡萄球菌生物被膜抑制作用的研究

丁阳阳<sup>1</sup> 陈益<sup>1</sup> 庄鸣阳<sup>1</sup> 许江燕<sup>2</sup> 蒋旭宏<sup>3</sup>

<sup>1</sup>浙江中医药大学第一临床医学院,杭州 310053; <sup>2</sup>浙江中医药大学附属第一医院微生物实验室,杭州 310016; <sup>3</sup>浙江中医药大学附属第一医院急诊科,杭州 310006

通信作者:蒋旭宏,Email:anhong2225@163.com

**【摘要】目的** 观察载银二氧化钛( $\text{Ag-TiO}_2$ )和 $\text{Ag-TiO}_2$ 抗菌涂层气管导管(ETT)对金黄色葡萄球菌生物被膜(BF)的抑制作用。**方法** 采用二甲氧唑黄(XTT)比色法检测 $\text{Ag-TiO}_2$ 抗金黄色葡萄球菌BF的最低抑菌浓度(MIC);制备 $\text{Ag-TiO}_2$ 涂层ETT,按浓度梯度分为 $\text{Ag-TiO}_2$  11 mg/L组、8 mg/L组、5 mg/L组、2 mg/L组和空白组,分别浸渍于 $1.0 \times 10^9$  cfu/L浓度的金黄色葡萄球菌悬液,通过检测ETT上细菌菌落数及BF的含量,确定抗菌涂层ETT对金黄色葡萄球菌BF形成的影响。**结果**  $\text{Ag-TiO}_2$ 对金黄色葡萄球菌BF具有明显的抑制作用,且呈剂量依赖性,其MIC为10 mg/L; $\text{Ag-TiO}_2$ 涂层ETT具有明显的抗金黄色葡萄球菌BF作用,且浓度越高作用越强,5 mg/L、8 mg/L、11 mg/L组吸光度(A)值均明显低于空白组( $0.176 \pm 0.004$ 、 $0.147 \pm 0.002$ 、 $0.094 \pm 0.002$ 比 $0.267 \pm 0.045$ ,均 $P < 0.05$ ), $\text{Ag-TiO}_2$ 涂层浓度为2、5、8、11 mg/L的 $\text{Ag-TiO}_2$ 涂层ETT对金黄色葡萄球菌的抑制率逐渐升高,且11 mg/L的ETT抗BF效果最好,抑制率分别为6.4%、34.1%、44.9%、64.8%。**结论**  $\text{Ag-TiO}_2$ 和 $\text{Ag-TiO}_2$ 涂层ETT对金黄色葡萄球菌BF均有显著的抑制作用。

**【关键词】**载银二氧化钛; 金黄色葡萄球菌; 细菌生物被膜

**基金项目:**浙江省医药卫生科技计划项目(2018KY551,2018KY552);浙江省自然科学基金(LY14H150004)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200518-00390

## Study on inhibitory effect of $\text{Ag}^+$ -loaded $\text{TiO}_2$ on the biofilm of *Staphylococcus aureus*

Ding Yangyang<sup>1</sup>, Chen Yi<sup>1</sup>, Zhuang Mingyang<sup>1</sup>, Xu Jiangyan<sup>2</sup>, Jiang Xuhong<sup>3</sup>

<sup>1</sup>The First Clinical Medical College of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China;

<sup>2</sup>Microbiology Laboratory, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310016, Zhejiang, China; <sup>3</sup>Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang, China

Corresponding author: Jiang Xuhong, Email: anhong2225@163.com

**【Abstract】Objective** To observe the antibacterial effect of  $\text{Ag}^+$ -loaded  $\text{TiO}_2$  ( $\text{Ag-TiO}_2$ ) and  $\text{Ag-TiO}_2$  coated endotracheal tube (ETT) on the bacterial biofilm (BF) of *Staphylococcus aureus*. **Methods** 2, 3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide (XTT) colorimetric method was used to detect minimal inhibitory concentration (MIC) of  $\text{Ag-TiO}_2$  for inhibition of BF of *Staphylococcus aureus*. The  $\text{Ag-TiO}_2$  coated ETT were prepared, and divided into 11 mg/L, 8 mg/L, 5 mg/L, 2 mg/L and 0 mg/L ETT group, according to the concentration gradient, then impregnated in the liquid with *Staphylococcus aureus* at a concentration of  $1.0 \times 10^9$  cfu/L. The influence of antibacterial coated ETT on the formation of *Staphylococcus aureus* BF was determined by detecting the colonies of bacteria and BF on the ETT. **Results**  $\text{Ag-TiO}_2$  had a significant inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* BF in a concentration-dependent manner, and its MIC was 10 mg/L.  $\text{Ag-TiO}_2$  coated ETT has significant anti-*Staphylococcus aureus* BF effect, and the higher the concentration, the stronger the effect. The absorbance (A) values of  $\text{Ag-TiO}_2$  5 mg/L, 8 mg/L, 11 mg/L ETT groups were significantly lower than that in control group ( $0.176 \pm 0.004$ ,  $0.147 \pm 0.002$ ,  $0.094 \pm 0.002$  vs.  $0.267 \pm 0.045$ , all  $P < 0.05$ ). The inhibitory rates of  $\text{Ag-TiO}_2$  2 mg/L, 5 mg/L, 8 mg/L ETT groups were increased gradually, and 11 mg/L  $\text{Ag-TiO}_2$  coated ETT group had the highest inhibitory rate for BF, the inhibitory rates were 6.4%, 34.1%, 44.9% and 64.8%, respectively. **Conclusion** Both  $\text{Ag-TiO}_2$  and  $\text{Ag-TiO}_2$  coated ETT have significant inhibitory effects on *Staphylococcus aureus* BF.

**【Key words】**  $\text{Ag-TiO}_2$ ; *Staphylococcus aureus*; Bacterial biofilm

**Fund program:** Zhejiang Provincial Medical and Health Science and Technology Planning Project of China (2018KY551, 2018KY552); Natural Science Foundation of Zhejiang Province of China (LY14H150004)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200518-00390

危重患者机械通气48 h后发生的肺炎称呼吸机相关性肺炎(ventilator-associated pneumonia, VAP),VAP是一类严重的医院感染性疾病<sup>[1]</sup>。VAP发生的主要原因是在导管表面寄生并产生细菌生物被膜

(bacterial biofilm, BF),为细菌提供了很好的保护,从而表现出多重耐药甚至泛耐药,导致治疗失败<sup>[2]</sup>。肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌和金黄色葡萄球菌等是常见的与VAP发生有关的病原菌<sup>[3]</sup>。

VAP 可增加机械通气患者抗菌药物的使用和重症患者的病死率,给家庭和社会造成沉重的负担。

为了减少气管插管 VAP 等并发症的发生,有研究者使用载银二氧化钛( $\text{Ag}^+$ -loaded  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{Ag}-\text{TiO}_2$ )作为抗菌剂,以临床常用聚氯乙烯(polyvinyl chloride, PVC)气管导管(endotracheal tube, ETT)作为基材,用溶胶凝胶法制备了  $\text{Ag}-\text{TiO}_2$  抗菌涂层 ETT<sup>[4]</sup>。有研究显示,纳米银和  $\text{TiO}_2$  主要通过改变金黄色葡萄球菌细胞膜的通透性抑制核酸的合成,减少蛋白生成来抑制细菌的生长<sup>[5]</sup>。为进一步明确抗菌剂及涂层导管的抗 BF 作用,本研究以金黄色葡萄球菌为试验菌株,检测  $\text{Ag}-\text{TiO}_2$  抗菌剂及  $\text{Ag}-\text{TiO}_2$  涂层 ETT 的抗 BF 性能,以期为临床提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 试验菌株、仪器与试剂:** 金黄色葡萄球菌(ATCC25923)购于美国模式培养物研究所(American Type Culture Collection, ATCC); TECAN Sunrise 酶标仪(瑞士帝肯公司); Thermo Scientific Nunc 聚苯乙烯 96 孔板(美国赛默飞世尔科技公司)、康宁 1.8 cm 细胞刮刀(美国康宁公司)、艾本德(Eppendorf)移液枪(德国艾本德公司);  $\text{Ag}-\text{TiO}_2$  抗菌涂层 ETT(由本课题组研究人员制备); 二甲氧唑黄[2, 3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide, XTT]比色法试剂(批号: MA0015904D, 由浙江中医药大学附属第一医院微生物中心提供);  $\text{Ag}-\text{TiO}_2$  原液(1 000 mg/L, 批号: 201803046, 杭州博创纳米材料有限公司)。

**1.2 伦理学:** 本试验为浙江省医药卫生科技计划项目的研究内容,实验过程中使用的金黄色葡萄球菌菌株来源于 ATCC,试验经浙江中医药大学伦理委员会审核,其过程不涉及伦理问题。

## 1.3 研究方法

**1.3.1 XTT 比色法检测  $\text{Ag}-\text{TiO}_2$  抗金黄色葡萄球菌 BF 的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC):** 将金黄色葡萄球菌单菌落接种至培养液中,于 30 ℃、200 r/min 振荡培养,活化 16 h。用培养液调整细菌悬液浓度至  $1.0 \times 10^9$  cfu/L。于 96 孔板接种 100  $\mu\text{L}$  细菌悬液,在 37 ℃恒温箱中静置培养 2 h。取出 BF 板,用磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)洗涤 3 次,于 1~10 号孔分别加入 100  $\mu\text{L}$   $\text{Ag}-\text{TiO}_2$  溶液(浓度为 20、16、14、12、10、8、6、4、2、1 mg/L), 11 号孔为阳性对照(纯培养液), 12 号孔为阴性对照(生理盐水)。于 37 ℃培养 24 h 后取出

96 孔板,再用 PBS 洗涤 3 次,加入 100  $\mu\text{L}$  培养液,随后避光条件下加入 25  $\mu\text{L}$  XTT 复合物溶液,37 ℃孵育 3 h,用酶标仪于 490 nm 处检测各孔吸光度(absorbance, A)值,计算不同浓度  $\text{Ag}-\text{TiO}_2$  各孔的抑制率(抑制率 =  $|A_n - A_{11}| / A_{11} \times 100\%$ )。与阳性对照孔比较,以 A 值下降 80% 以上最低浓度孔中的抗菌剂浓度为 MIC。试验重复 2 次,取平均值。

### 1.3.2 $\text{Ag}-\text{TiO}_2$ 抗菌涂层 ETT 对金黄色葡萄球菌 BF 的影响

**1.3.2.1 导管 BF 的制备:** 将研究分为空白组及 2、5、8、11 mg/L  $\text{Ag}-\text{TiO}_2$  涂层 ETT 组 5 组。各组导管截取长度均为 1 cm,每组截取 3 段 ETT 进行试验,将金黄色葡萄球菌悬液用培养液稀释至浓度为  $1.0 \times 10^9$  cfu/L,加入无菌杯中,完全浸没导管,于 36 ℃培养,第 3 天更换液体,培养 3 d 得到早期 BF,培养 7 d 得到成熟的 BF。培养 7 d 后将导管外壁和内壁用生理盐水反复冲洗去除未黏附细菌后备用。

**1.3.2.2 导管 BF 内细菌菌落数测定:** 将各组试验导管剪成小块,放入盛有 1 mL 胰酶的无菌试管中,置于 36 ℃温箱 2 h,用涡旋振荡器振荡 10 min,作为原液,倍比稀释 5 次。取原液和每份稀释溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,分别接种于血培养皿中,36 ℃培养 24 h,计数细菌菌落总数。以上操作在生物安全柜中进行,每管计数 2 次,取平均值。

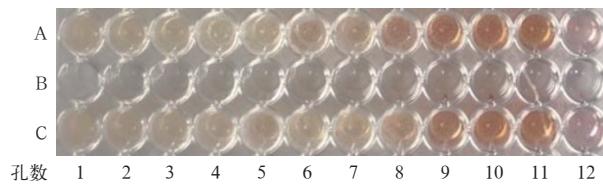
**1.3.2.3 导管对金黄色葡萄球菌抑制率的测定:** 金黄色葡萄球菌在接触物表面黏附后繁殖生长可形成 BF,BF 由多层细菌及其分泌的胞外多聚物构成,染色时结晶紫附着后不易被乙醇脱色而呈现紫色,以此为原理可测定 BF 的含量。本研究将已生成 BF 的各组导管分别置于 1% 结晶紫溶液中染色 30 min,用生理盐水缓慢冲洗导管去除未结合的染料,再放入 2 mL 含 33% 乙酸溶液中解附 BF 上的染料,于涡旋振荡器上振荡 2 min,所得有色溶液用可见光分光光度计测定 620 nm 处 A 值( $A_{620}$ ),每管计数 6 次,取平均值。与空白组的 A 值( $A_0$ )比较,计算各组抑制率(抑制率 =  $|A_n - A_0| / A_0 \times 100\%$ )。

**1.4 统计学方法:** 用 SPSS 25.0 统计软件分析数据。符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

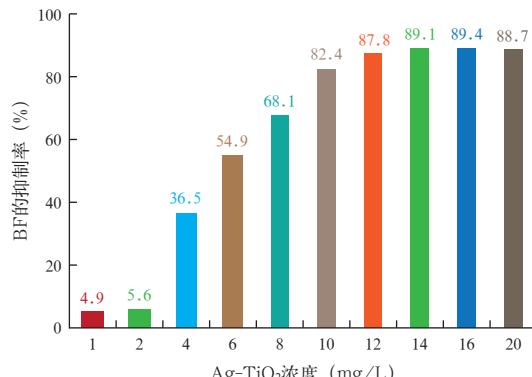
**2.1 用 XTT 比色法检测  $\text{Ag}-\text{TiO}_2$  抗金黄色葡萄球菌 BF 的 MIC(图 1~2):**  $\text{Ag}-\text{TiO}_2$  对金黄色葡萄球菌

BF有明显的抑制作用,且呈剂量依赖性。当Ag-TiO<sub>2</sub>浓度达到10 mg/L时,对BF的抑制率>80%,即Ag-TiO<sub>2</sub>对金黄色葡萄球菌BF的MIC为10 mg/L。



注:XTT为二甲氧唑黄,Ag-TiO<sub>2</sub>为载银二氧化钛,BF为生物被膜;A和B是两组平行试验,C为空白,第1~10孔分别为20、16、14、12、10、8、6、4、2、1 mg/L Ag-TiO<sub>2</sub>作用孔,11孔为阳性对照(纯培养液),12孔为阴性对照(生理盐水)

图1 XTT法检测Ag-TiO<sub>2</sub>对金黄色葡萄球菌BF的抑制作用



注:Ag-TiO<sub>2</sub>为载银二氧化钛,XTT为二甲氧唑黄,BF为生物被膜

图2 不同浓度Ag-TiO<sub>2</sub>涂层ETT对金黄色葡萄球菌BF的抑制率

## 2.2 Ag-TiO<sub>2</sub>抗菌涂层ETT的抗BF性能检测

**2.2.1 导管BF内的细菌菌落数比较(表1):**Ag-TiO<sub>2</sub>涂层ETT具有明显的抗金黄色葡萄球菌BF作用,且浓度越高,作用越强。Ag-TiO<sub>2</sub>涂层浓度为11 mg/L的ETT抗BF效果最好,附着于导管上的细菌最少。

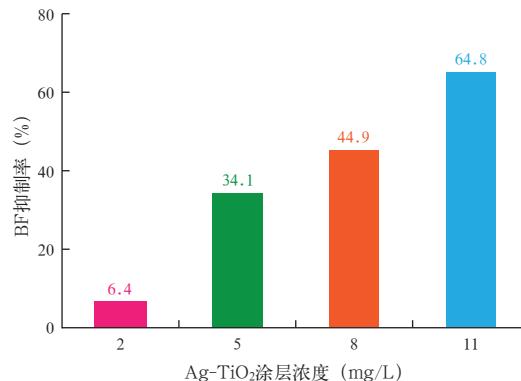
表1 不同浓度Ag-TiO<sub>2</sub>涂层ETT细菌菌落计数及吸光度(A)值比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	菌落数(个)	$A_{620}$ 值
空白组	123.0±15.6(2)	0.267±0.045(6)
Ag-TiO <sub>2</sub> 2 mg/L组	64.5±30.4(2) <sup>a</sup>	0.250±0.003(6)
Ag-TiO <sub>2</sub> 5 mg/L组	78.5±2.1(2) <sup>a</sup>	0.176±0.004(6) <sup>a</sup>
Ag-TiO <sub>2</sub> 8 mg/L组	35.0±12.7(2) <sup>ac</sup>	0.147±0.002(6) <sup>abc</sup>
Ag-TiO <sub>2</sub> 11 mg/L组	11.5±7.8(2) <sup>abc</sup>	0.094±0.002(6) <sup>abcd</sup>
F值	13.056	75.314
P值	0.007	0.001

注:Ag-TiO<sub>2</sub>为载银二氧化钛,ETT为气管导管;括号内为样本量;与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与Ag-TiO<sub>2</sub>2 mg/L比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与Ag-TiO<sub>2</sub>5 mg/L组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与Ag-TiO<sub>2</sub>8 mg/L组比较,<sup>d</sup> $P<0.05$

**2.2.2 导管对金黄色葡萄球菌的抑制率(表1;图3):**随着涂层表面Ag-TiO<sub>2</sub>抗菌剂浓度的升高,A值呈逐渐降低的趋势,表明导管抗菌剂涂层浓度越高,细

菌越不容易在上面形成BF。随着Ag-TiO<sub>2</sub>涂层浓度的增高,抑制率呈上升趋势,当浓度为11 mg/L时抑制率最高,表明导管抗菌剂涂层浓度越高,细菌在导管表面越难形成BF。



注:Ag-TiO<sub>2</sub>为载银二氧化钛,ETT为气管导管,BF为生物被膜

图3 不同浓度Ag-TiO<sub>2</sub>涂层ETT对金黄色葡萄球菌BF的抑制率

## 3 讨论

VAP是重症监护病房(intensive care unit, ICU)获得性感染中最常见的一种疾病,其发生率为5%~40%,病死率约为10%<sup>[6]</sup>。气管内插管可能是导致VAP最重要的因素<sup>[7]</sup>。因为ETT通常由PVC制成,插管后不久其内表面易被一层由糖萼基质和不同微生物组成的BF覆盖<sup>[8]</sup>,BF一旦形成,细菌不仅可逃避宿主免疫作用,而且可阻止抗菌药物进入BF内部,使BF内细菌比浮游细菌的耐药性增加100~1000倍以上<sup>[9]</sup>。集束化预防措施有助于降低VAP的发生率<sup>[10]</sup>。此外,也有研究通过调整导管来预防和减少VAP的发生,如设计声门下分泌物引流系统、改进导管表面、改变袖口形状或材料等。

目前已有体外研究设计了不同类型的抗菌涂层,使用最多的是银抗菌剂<sup>[11]</sup>。Raad等<sup>[12]</sup>使用银化合物研制涂层ETT,并观察其抗菌效果,结果表明,银化合物涂层ETT可以减少VAP发生的风险,但导管表面成膜性不稳定,容易脱落。Kollef等<sup>[13]</sup>通过一项大型随机、单盲、前瞻性对照研究发现,银离子(Ag<sup>+</sup>)涂层ETT能减少并延迟VAP的发生,相比于无涂层的导管,使用Ag<sup>+</sup>涂层导管可使VAP的发生风险降低35.9%。Berra等<sup>[14]</sup>针对磺胺嘧啶银(silver sulfadiazine, SSD)涂层ETT的临床试验表明,SSD涂层可防止ETT被细菌定植和管道变窄。虽然银抗菌剂有良好的抗菌效果,但由银制成的材料可能会因为Ag<sup>+</sup>浓度过高而导致部分Ag<sup>+</sup>析出,从

而出现不良反应。而且  $\text{Ag}^+$  在紫外线的照射下生成黑色银单质和氧化银,会影响制品的色泽及抑菌性能。

为了降低  $\text{Ag}^+$  浓度,提高导管的生物安全性及成膜稳定性,本研究采用  $\text{Ag-TiO}_2$  作为抗菌剂,以临床常用 PVC ETT 作为基材,采用溶胶凝胶法制备了  $\text{Ag-TiO}_2$  抗菌涂层 ETT。 $\text{TiO}_2$  比表面积大、表面介孔多,能将纳米银均匀地结合到  $\text{TiO}_2$  表面的介孔中,形成高效、持久、耐高温的广谱抗菌剂  $\text{Ag-TiO}_2$ ,它能有效去除金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、白色念珠菌等病原菌,抑制肠病毒、流行性感冒病毒等病原体<sup>[15]</sup>。经检测  $\text{Ag-TiO}_2$  抗菌涂层 ETT 具有良好的涂层结合力、成膜稳定性、平整性、增透性和极低的银析出率;经口腔黏膜试验、热源试验、溶血试验、细胞毒性试验等,证明具有良好的生物相容性和安全性<sup>[16-17]</sup>。

本研究以 XTT 法检测  $\text{Ag-TiO}_2$  对金黄色葡萄球菌 BF 活性的影响,结果显示  $\text{Ag-TiO}_2$  对金黄色葡萄球菌 BF 具有明显的抑制作用,且呈剂量依赖性, MIC 为 10 mg/L,高于抑制其菌体生长所需要的浓度,可能是因为菌体初步形成 BF 后疏水性增加,抗菌剂较难进入发挥抑制作用。本研究制备了浓度分别为 11、8、5 和 2 mg/L 的  $\text{Ag-TiO}_2$  涂层 ETT,以未涂层的导管为空白组,通过培养导管表面 BF,检测导管上金黄色葡萄球菌及 BF 的含量,确定抗菌涂层导管的抗菌性能。结果显示,随着涂层表面抗菌剂浓度的降低,导管表面细菌菌落及 BF 含量均呈增加的趋势,说明  $\text{Ag-TiO}_2$  涂层 ETT 有良好的抗 BF 效能,可以抑制金黄色葡萄球菌 BF 的形成,且  $\text{Ag-TiO}_2$  浓度越高,抗菌性能越好。但本研究中最高浓度 ETT 为  $\text{Ag-TiO}_2$  11 mg/L,其抑菌率为 64.8%,尚未达到 80%,在后续研究中可进一步增加抗菌剂的浓度,以期获得更好的抗 BF 效果。

综上所述,  $\text{Ag-TiO}_2$  和  $\text{Ag-TiO}_2$  涂层 ETT 对金黄色葡萄球菌 BF 均有显著的抑制作用,其作用机制尚不清楚,需要通过进一步的研究为临床开发应用提供依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 张晓慧,宁波,张洁,等.呼吸机相关性肺炎的原因分析及综合护理对策[J].中华危重病急救医学,2014,26(11):841-842. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.11.016.
- Zhang XH, Ning B, Zhang J, et al. Analysis of causes of ventilator-associated pneumonia and comprehensive nursing countermeasures [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (11): 841-842. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4351.2014.11.016.
- [2] 江梅,刘冬冬,黎毅敏.呼吸机相关性肺炎诊疗指南循证解读[J].中国循证医学杂志,2016,16(1):33-35. DOI: 10.7507/1672-2531.20160008.
- Jiang M, Liu DD, Li YM. The interpretation of diagnosis and treatment guidelines of ventilator associated pneumonia [J]. Chin J Evidence-Based Med, 2016, 16 (1): 33-35. DOI: 10.7507/1672-2531.20160008.
- [3] 童琰伟,徐旭华.呼吸机相关性肺炎病原菌分布及耐药性分析[J].临床合理用药杂志,2019,12(36):154-156. DOI: 10.15887/j.cnki.13-1389/r.2019.36.075.
- Tong YW, Xu XH. Analysis of the distribution and drug resistance of pathogens associated with ventilator-associated pneumonia [J]. Chin J Clinical Rational Drug Use, 2019, 12 (36): 154-156. DOI: 10.15887/j.cnki.13-1389/r.2019.36.075.
- [4] 江翔,吕斌,申勤海,等.制备含硅聚丙烯酰胺改性抗菌聚丙烯气管导管[J].J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2017, 105 (1): 91-98. DOI: 10.1002/jbm.b.33530.
- [5] Jiang XH, Lyu B, Wang Y, et al. Bactericidal mechanisms and effector targets of  $\text{TiO}_2$  and  $\text{Ag-TiO}_2$  against *Staphylococcus aureus* [J]. J Med Microbiol, 2017, 66 (4): 440-446. DOI: 10.1099/jmm.0.000457.
- [6] Papazian L, Klompas M, Luyt CE. Ventilator-associated pneumonia in adults: a narrative review [J]. Intensive Care Med, 2020, 46 (5): 888-906. DOI: 10.1007/s00134-020-05980-0.
- [7] Coppadoro A, Bellani G, Foti G. Non-pharmacological interventions to prevent ventilator-associated pneumonia: a literature review [J]. Respir Care, 2019, 64 (12): 1586-1595. DOI: 10.4187/respcare.07127.
- [8] Sottile FD, Marrie TJ, Prough DS, et al. Nosocomial pulmonary infection: possible etiologic significance of bacterial adhesion to endotracheal tubes [J]. Crit Care Med, 1986, 14 (4): 265-270.
- [9] Rosenberger LH, Hranjec T, McLeod MD, et al. Improvements in pulmonary and general critical care reduces mortality following ventilator-associated pneumonia [J]. J Trauma Acute Care Surg, 2013, 74 (2): 568-574. DOI: 10.1097/TA.0b013e3182789312.
- [10] 赵莉莉,刘立丽,陈菁,等. JCI 理念指导下实践集束化预防措施可有效降低 VAP 发生率 [J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29 (7): 624-628. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.07.010. Zhao LL, Liu LL, Chen J, et al. Ventilator bundle guided by context of JCI settings can effectively reduce the morbidity of ventilator-associated pneumonia [J]. Chin Crit Care Med, 2017, 29 (7): 624-628. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.07.010.
- [11] Berra L, Curto F, Li Bassi G, et al. Antimicrobial-coated endotracheal tubes: an experimental study [J]. Intensive Care Med, 2008, 34 (6): 1020-1029. DOI: 10.1007/s00134-008-1099-3.
- [12] Raad II, Mohamed JA, Reitzel RA, et al. The prevention of biofilm colonization by multidrug-resistant pathogens that cause ventilator-associated pneumonia with antimicrobial-coated endotracheal tubes [J]. Biomaterials, 2011, 32 (11): 2689-2694. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.12.015.
- [13] Kollef MH, Afessa B, Anzueto A, et al. Silver-coated endotracheal tubes and incidence of ventilator-associated pneumonia: the NASCENT randomized trial [J]. JAMA, 2008, 300 (7): 805-813. DOI: 10.1001/jama.300.7.805.
- [14] Berra L, Kolobow T, Laquerriere P, et al. Internally coated endotracheal tubes with silver sulfadiazine in polyurethane to prevent bacterial colonization: a clinical trial [J]. Intensive Care Med, 2008, 34 (6): 1030-1037. DOI: 10.1007/s00134-008-1100-1.
- [15] Pablos C, van Grieken R, Marugán J, et al. Simultaneous photocatalytic oxidation of pharmaceuticals and inactivation of *Escherichia coli* in wastewater treatment plant effluents with suspended and immobilised  $\text{TiO}_2$  [J]. Water Sci Technol, 2012, 65 (11): 2016-2023. DOI: 10.2166/wst.2012.868.
- [16] 王原,许江燕,曹俊敏,等.载银二氧化钛抗菌涂层气管导管的体外细胞毒性试验 [J].中国中西医结合急救杂志,2016,23(2):147-150. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.02.010. Wang Y, Xu JY, Cao JM, et al. A experiment on cytotoxicity test in vitro of antibacterial coating endotracheal tube with silver loaded titanium dioxide [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2016, 23 (2): 147-150. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.02.010.
- [17] 许江燕,曹俊敏,王原,等.载银二氧化钛抗菌涂层气管导管的口腔黏膜刺激试验 [J].中华危重病急救医学,2014,26(12):920-922. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.12.016. Xu JY, Cao JM, Wang Y, et al. Oral mucosal irritation test of silver-loaded titanium dioxide antibacterial coating endotracheal tube [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (12): 920-922. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.12.016.

(收稿日期:2020-05-18)