



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104815328 A

(43) 申请公布日 2015. 08. 05

(21) 申请号 201510116539. 8

A61P 11/04(2006. 01)

(22) 申请日 2007. 05. 08

A61P 27/16(2006. 01)

(30) 优先权数据

11/431, 495 2006. 05. 10 US

11/739, 508 2007. 04. 24 US

(62) 分案原申请数据

200780016794. 9 2007. 05. 08

(71) 申请人 麦德托尼克艾克斯欧麦德股份有限公司

地址 美国佛罗里达州

(72) 发明人 M·F·米恩笛 D·A·奥利弗
C·O·刘易斯

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100

代理人 余颖

(51) Int. Cl.

A61K 45/06(2006. 01)

A61P 31/04(2006. 01)

A61P 11/02(2006. 01)

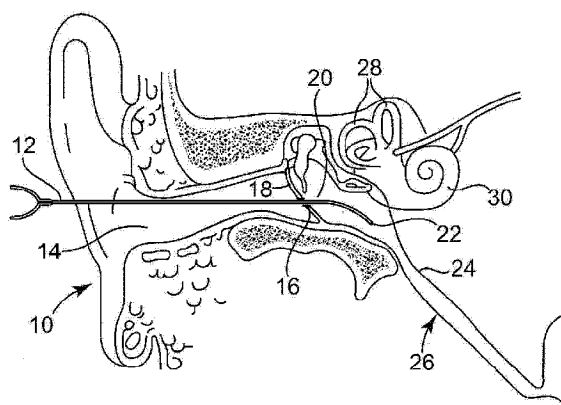
权利要求书2页 说明书11页 附图1页

(54) 发明名称

抗菌的细胞外多糖溶剂化体系

(57) 摘要

慢性中耳炎伴积液 (COME)、复发性急性中耳炎 (RAOM)、胆脂瘤、慢性鼻窦炎和其他细菌性耳、鼻或喉疾病可通过将溶剂化体系施加到附着或粘附在治疗部位的细菌生物被膜上进行治疗。溶剂化体系可破坏生物被膜,有助于清除。



1. 金属离子螯合剂、缓冲剂和超过 0.2wt% 的表面活性剂在制备细菌性耳、鼻或喉部疾病治疗药物中的用途,所述金属离子螯合剂包含弱酸,该弱酸的酸性足以螯合细菌性生物被膜中细胞外多糖基质内的一种或多种金属离子,所述缓冲剂包含所述弱酸的盐,该盐含量足以维持 pH 大于 5,所述表面活性剂能分离、清除或以其他方式破坏附着或粘附到中耳或内耳的至少一部分上、鼻腔或鼻窦腔内表面上、或者口腔或咽部组织上的生物被膜中至少部分细胞外多糖基质。

2. (a) 金属离子螯合剂、(b) 两性离子表面活性剂以及 (c) 缓冲剂在制备细菌性耳、鼻或喉部疾病治疗药物中的用途,所述金属离子螯合剂包含弱酸,该弱酸的酸性足以螯合细菌性生物被膜中细胞外多糖基质内的一种或多种金属离子,所述两性离子表面活性剂能分离、清除或以其他方式破坏附着或粘附到中耳或内耳的至少一部分上、鼻腔或鼻窦腔内表面上、或者口腔或咽部组织上的生物被膜中至少部分细胞外多糖基质,所述缓冲剂包含所述弱酸的盐,该盐含量足以维持 pH 大于 5。

3. 权利要求 1 或 2 所述的用途,其特征在于,所述弱酸的酸性不会损害中耳或内耳。

4. 权利要求 1 或 2 所述的用途,其特征在于,所述金属离子螯合剂包括钠、钙或铁的螯合剂。

5. 权利要求 1 或 2 所述的用途,其特征在于,所述金属离子螯合剂包括羧酸、二元酸、三元酸或上述酸的混合物。

6. 权利要求 1 或 2 所述的用途,其特征在于,所述金属离子螯合剂包括:甲酸、乙酸、氯乙酸、二氯乙酸、草酸、草氨酸、乙醇酸、乳酸、丙酮酸、天冬氨酸、富马酸、马来酸、琥珀酸、亚氨基二乙酸、戊二酸、2-酮戊二酸、谷氨酸、己二酸、葡萄糖醛酸、粘酸、次氨基三乙酸、水杨酸、酮庚二酸、苯甲酸、扁桃酸、氯扁桃酸、苯乙酸、邻苯二甲酸、硼酸、或上述酸的混合物。

7. 权利要求 1 或 2 所述的用途,其特征在于,所述金属离子螯合剂包括柠檬酸。

8. 权利要求 1 或 2 所述的用途,其特征在于,所述金属离子螯合剂存在的浓度约为 0.01 到 0.5M。

9. 权利要求 1 或 2 所述的用途,其特征在于,所述缓冲剂包含氯化钾、甘氨酸、邻苯二甲酸氢钾、醋酸钠、邻苯二甲酸氢钾、巴比妥钠或柠檬酸钠。

10. 权利要求 1 或 2 所述的用途,其特征在于,所述药物或溶剂化体系的 pH 小于 8.5。

11. 权利要求 1 或 2 所述的用途,其特征在于,所述药物或溶剂化体系还包含抗微生物剂。

12. 权利要求 1 或 2 所述的用途,其特征在于,所述药物或溶剂化体系不包含抗微生物剂。

13. 一种用于破坏组织上的细菌性生物被膜中细胞外多糖基质的溶剂化体系,其组成包含金属离子螯合剂、缓冲剂、超过 0.2wt% 的阳离子表面活性剂或两性离子表面活性剂和抗微生物剂,所述金属离子螯合剂包含弱酸,该弱酸的酸性足以螯合细菌性生物被膜中细胞外多糖基质内的一种或多种金属离子,所述缓冲剂包含所述弱酸的盐,该盐含量足以维持 pH 大于 5。

14. 一种用于破坏人组织上的细菌性生物被膜中细胞外多糖基质的溶剂化体系,其组成包含金属离子螯合剂、两性离子表面活性剂和缓冲剂,所述金属离子螯合剂包含弱酸,该弱酸的酸性足以螯合细菌性生物被膜中细胞外多糖基质内的一种或多种金属离子,所述缓

冲剂包含所述弱酸的盐,该盐含量足以维持 pH 大于 5。

15. 权利要求 13 或 14 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述弱酸的酸性不会损害中耳或内耳。

16. 权利要求 15 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述金属离子螯合剂包括钠、钙或铁的螯合剂。

17. 权利要求 15 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述金属离子螯合剂包括羧酸、二元酸、三元酸或上述酸的混合物。

18. 权利要求 15 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述金属离子螯合剂包括:甲酸、乙酸、氯乙酸、二氯乙酸、草酸、草氨酸、乙醇酸、乳酸、丙酮酸、天冬氨酸、富马酸、马来酸、琥珀酸、亚氨基二乙酸、戊二酸、2-酮戊二酸、谷氨酸、己二酸、葡萄糖醛酸、粘酸、次氨基三乙酸、水杨酸、酮庚二酸、苯甲酸、扁桃酸、氯扁桃酸、苯乙酸、邻苯二甲酸、硼酸,或上述酸的混合物。

19. 权利要求 17 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述金属离子螯合剂包括柠檬酸,所述缓冲剂包含柠檬酸钠。

20. 权利要求 13 或 14 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述缓冲剂包含氯化钾、甘氨酸、邻苯二甲酸氢钾、醋酸钠、邻苯二甲酸氢钾、巴比妥钠或柠檬酸钠。

21. 权利要求 13 或 14 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述抗微生物剂包括:壳聚糖盐、立方相脂质、含镓化合物、羧酸酯、磺酸、活性卤素化合物、活性氧化合物、有机过氧化物、臭氧、单线态氧发生剂、酚衍生物或季铵化合物。

22. 权利要求 21 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述抗微生物剂包括:乙酰丙酮镓、溴化镓、氯化镓、氟化镓、碘化镓、麦芽酚酸镓、硝酸镓、氮化镓、渗滤镓、亚磷酸镓、硫酸镓,或上述物质的混合物。

23. 权利要求 13 或 14 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述金属离子螯合剂存在的浓度约为 0.01 到 0.5M。

24. 权利要求 13 或 14 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述表面活性剂占溶剂化体系的约 0.5%到 25%。

25. 权利要求 13 或 14 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述溶剂化体系的 pH 小于 8.5。

26. 权利要求 13 或 14 所述的溶剂化体系,其特征在于,所述金属离子螯合剂含柠檬酸,所述溶剂化体系包含抗微生物剂,所述抗微生物剂包含含镓化合物。

抗菌的细胞外多糖溶剂化体系

[0001] 本申请是国际申请 PCT/US2007/068477, 国际申请日 2007 年 5 月 8 日, 中国国家阶段申请号 200780016794.9 的发明专利申请的分案申请。

发明领域

[0002] 本发明涉及细菌性耳、鼻或喉疾病的治疗, 其中包括慢性中耳炎伴积液 (COME)、复发性急性中耳炎 (RAOM)、胆脂瘤和慢性鼻窦炎。

[0003] 发明背景

[0004] COME 和 RAOM 是中耳的炎症性疾病。生物被膜形成可能是 COME 致病机理中的一个因素, 参见 Post, J. C. “中耳炎中细菌性生物被膜的直接证据” (Direct evidence of bacterial biofilms in otitis), *Laryngoscope* 111(12):2083-94 (2001), Ehrlich 等, “中耳炎灰鼠模型的中耳粘膜上粘膜生物被膜的形成” (Mucosal Biofilm Formation on Middle-Ear Mucosa in the Chinchilla Model of Otitis Media), *JAMA* 287(13):1710-15 (2002) 以及 Fergie, N 等, “中耳炎伴积液是生物被膜感染吗?” (Is otitis media with effusion a biofilm infection?), *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 29(1):38-46 (2004)。当细菌与表面相互作用形成覆盖表面并为细菌进一步繁殖提供一种活克隆的多聚被膜 (有时被称为表多糖或细胞外多糖聚合物) 时, 生物被膜就形成了。定居在生物被膜内的细菌比处于浮游 (planktonic) (悬浮的) 状态的细菌更加难以清除, 对许多抗生素和杀虫剂极端耐受。实验表明, 大量不同细菌所产生的细胞外多糖 (EPS) 基质和毒素可导致宿主产生炎症。有迹象表明与 COME 和 RAOM 相关的慢性炎症是宿主对细菌生物被膜产生的反应。

[0005] 一般情况下首先利用口服抗生素治疗 COME 和 RAOM, 如果需要再通过放置鼓膜造孔插管进行更激进的治疗。偶尔在中耳发生严重感染或内含粘液很多的情况下, 可以冲洗中耳 (例如, 用盐水)。虽然大多数患者的鼓膜造孔插管都能发挥作用, 但是约有 20% 的最初放置鼓膜造孔插管的患者需要做其他手术 (增殖腺切除术, 第二组鼓膜造孔插管, 通常是既进行增殖腺切除术又放置鼓膜造孔插管) 以治疗持续性的 COME 或持续性的 RAOM。

[0006] 胆脂瘤是本发明涉及的另一种耳疾病。虽然一般都认为胆脂瘤大多是由真皮细胞组成的囊肿, 但是这种疾病也有细菌生物被膜的参与, 参见 Chole 等, “胆脂瘤中生物被膜形成的证据” (Evidence for Biofilm Formation in Cholesteatomas), *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 128, 1129-1133 页 (2002 年 10 月)。在胆脂瘤中, 细菌生物被膜形成, 诱导炎症发生, 引起良性肿瘤产生, 其中良性肿瘤主要由位于其核心的细菌和真皮细胞组成。肿瘤可腐蚀听骨链 (听骨) 和颞骨乳突部, 对听力造成损害。手术暴露和切除是去除胆脂瘤最常用的治疗方法。但是这些方法的失败率高达 25%, 主要是因为胆脂瘤会复发, 因此需要再次手术或进行其他治疗。

[0007] 慢性鼻窦炎 (CRS) 是副鼻窦的炎症, 症状有前部或后部流鼻涕、鼻塞或面部压力、疼痛或肿胀至少持续约 12 周。在美国估计有 10% 或以上的人患有 CRS。大多数 CRS 患者开始时采用药物治疗, 但是每年有成千上万的难治性 CRS 患者需要进行功能性的内窥镜鼻

窦手术 (FESS)。CRS 患者的生活质量通常都有下降,每年需要花费的医疗费用和损失的工作时间价值数十亿美元。CRS 是对多种机制产生的 Th1 和 Th2 炎症反应,其中包括而但不限于细菌毒素、细菌分泌的和细菌生物被膜内所包含的细胞外多糖基质、真菌、对细菌和真菌产生的变态反应以及自身免疫失调。与 CRS 及其伴随炎症相关的细菌包括金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌以及粘膜炎莫拉菌。包含一种或多种这些微生物以及可能还包含真菌的生物被膜是 CRS 发病机理中的一种因素,参见,例如, Ramadan 等,“慢性鼻窦炎和生物被膜”(Chronic rhinosinusitis and biofilm), *Otolaryngol Head Neck Surg.* 132:414-417 (2005) 以及 Ferguson 等,“人细菌性慢性鼻窦炎中存在生物被膜的证据”(Demonstration of Biofilm in Human Bacterial Chronic Rhinosinusitis), *Am J Rhinol*, 5:19, 452-457 页, (2005)。细菌生物被膜所包含的细菌菌落和真菌所分泌的细胞外多糖 (EPS) 基质和毒素都能激发宿主的炎症反应。

[0008] COME、RAOM、胆脂瘤和 CRS 的病因学及慢性特征可能与细菌生物被膜的存在及其术后的顽固性有关。

[0009] 发明概述

[0010] 盐水和抗生素可用于处理耳鼻或喉部的细菌生物被膜,但是在难以治疗的病例中可能无法使慢性状况得到足够的缓解。有许多技术和产品已被用于清除或杀死牙科水线和医疗设备或其他体表上所发现的生物被膜内的细菌,但是这些可能都不适于治疗人体组织。比较理想的是去除或杀死耳、鼻或喉部中的生物被膜内寄生的细菌,如果可能要充分清除或破坏生物被膜本身以阻止细菌再生和生物被膜重新形成。我们还希望在达到此目的的同时还能够满足与人体组织接触时生物相容性的要求,以及使用较小剂量的物质和较短的给药周期。现在已经发现包含金属离子螯合剂和表面活性剂的溶剂化体系在破坏耳、鼻或喉部细菌生物被膜方面有令人吃惊的疗效,同时该溶剂化体系相当温和,足以满足直接应用于精细或敏感组织的要求。

[0011] 本发明在一个方面提供了金属离子螯合剂和重量百分比超过 0.2% 的表面活性剂在制备细菌性耳、鼻或喉部疾病治疗药物中的用途,其中表面活性剂能分离、清除或破坏附着或粘附到中耳或内耳的至少一部分上、鼻腔或鼻窦腔的内表面上的、或者口腔或咽部组织上的至少一部分生物被膜。

[0012] 本发明的另一方面提供了 (a) 金属离子螯合剂、(b) 能分离、清除或破坏附着或粘附到中耳或内耳的至少一部分上的、鼻腔或鼻窦腔的内表面上的、或者口腔或咽部组织上的至少一部分生物被膜的表面活性剂、以及 (c) 足以使 pH 大于 5 的缓冲剂在制备细菌性耳、鼻或喉部疾病治疗药物中的用途。

[0013] 本发明另一方面提供了治疗细菌性耳、鼻或喉部疾病的方法,该方法包括:a) 将包含金属离子螯合剂和重量百分比大于 0.2% 的表面活性剂的溶剂化体系应用到附着或粘附于中耳或内耳的至少一部分上的、鼻腔或鼻窦腔内表面上的、或者口腔或咽部组织上的生物被膜上,以及 b) 分离、清除或以其他方式破坏至少一部分生物被膜。

[0014] 本发明另一方面提供了治疗细菌性耳、鼻或喉部疾病的方法,该方法包括:a) 将包含金属离子螯合剂、两性离子表面活性剂和足以使溶剂化体系的 pH 大于 5 的缓冲剂的溶剂化体系应用到附着或粘附于中耳或内耳至少的一部分上的、鼻腔或鼻窦腔内表面上的、或者口腔或咽部组织上的细菌生物被膜上,以及 b) 分离、清除或以其他方式破坏至少一部

分生物被膜。

[0015] 本发明另一方面提供了用于破坏组织上的细菌生物被膜的溶剂化体系,其组成包含金属离子螯合剂、重量百分比大于 0.2% 的表面活性剂和抗微生物剂。

[0016] 本发明另一方面提供了用于破坏组织上的细菌生物被膜的溶剂化体系,其组成包含金属离子螯合剂、两性离子表面活性剂和足以使溶剂化体系的 pH 大于 5 的缓冲剂。

[0017] 本文公开的用途、方法和系统可用于中耳或内耳的治疗或术后护理以及鼻、口腔或咽部的治疗或术后护理。本文公开的方法和系统还可用于治疗疾病或慢性疾病如慢性中耳炎伴积液、复发性急性中耳炎、胆脂瘤、慢性鼻窦炎以及其他细菌性耳、鼻、口腔或咽部疾病。

[0018] 附图的简要描述

[0019] 图 1 是正在利用本文公开的方法进行治疗的中耳的横断面示意图。

[0020] 图 2 是图 1 的局部放大图,显示的是本文公开的溶剂化体系用于处理咽鼓管峡附近的细菌生物被膜。

[0021] 各个图中类似的附图标记代表类似的元件。图中各元件不是按比例绘制的。

[0022] 优选实施方式的详细描述

[0023] 下面的详细说明描述了一些实施方式,但并不代表对本发明的限制。本文所有的重量、数量和比例都以重量单位计,除非特别指明。下面所显示的术语有如下意思:

[0024] 术语“抗微生物剂”是指采用下文实施例中描述的细菌平板计数方法,能够使一种或多种金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌或粘膜炎莫拉菌菌群中的细菌数量下降 90% 以上(即,至少下降一个对数级)的物质。

[0025] 术语“附着的”和“粘附的”用于指细菌生物被膜和表面时意味着生物被膜已在表面建立并且至少部分地包被或覆盖了表面,能够在一定程度上对抗从表面的清除。由于这种关系的性质非常复杂且了解不多,因此这种用法并不意味着任何特定的附着或粘附机制。

[0026] 术语“细菌生物被膜”是指粘附到表面上的细菌群落,群落内的生物体包含在细菌产生的细胞外聚合物(EPS)基质内。

[0027] 术语“生物相容性的”用于指物质时意味着该物质在接触机体时不会产生明显的毒性或不良反应。

[0028] 术语“生物可降解的”用于指物质时意味着该物质到达体内时会被降解或腐蚀形成更小的化学物质。这种降解过程可能是酶催化的、化学的或生理的过程。

[0029] 术语“生物可吸收的”用于指物质时意味着该物质能够被机体吸收。

[0030] 术语“分离”、“清除”和“破坏”用于指附着或粘附到表面的细菌生物被膜时意味着原来存在于表面上的生物被膜至少有一定数量的生物被膜不再附着或粘附于表面上。这种用法并不意味着任何特定的分离、清除或破坏机制。

[0031] 术语“螯合剂”是指能与其他材料特别是金属离子结合进而抑制或阻止材料从溶液中跑出的化合物。术语“金属离子螯合剂”是指能与一种或多种金属离子如碱金属、碱土金属、铁离子等结合进而抑制或阻止金属离子从溶液中析出的螯合剂。按原子序数逐渐升高排序,碱金属有锂、钠、钾、铷、铯和钫,碱土金属有铍、镁、钙、锶、钡和镭。

[0032] 术语“溶剂化”是指形成包含溶剂或其他载体的溶液或分散液,溶质溶解或悬浮于

溶液或分散液中。

[0033] 按照图 1 的描述,提供了一种将溶剂化体系应用于治疗部位如耳 10 内的方法,该方法包括:将插管 12 插过耳道 14 和鼓膜 18 内的耳管 16(例如,通过鼓膜切开术放置),然后插到中耳 20 内。插管 12 也可通过其他方式插入而不需要进行鼓膜切开术,例如通过针头或其他导引装置介导通过耳、咽鼓管或鼻,摸索着操作,或者利用其他导引技术如显微内窥镜、虚像导引内窥镜插入,或利用可弯曲的尖头追踪装置进行影像导引手术。如图 1 所示,插管 12 的远端 22 被放置在咽鼓管 26 的峡部 24 之上。插管 12 可以被放置,如果需要还可以修改其形状和大小以治疗中耳 20 的其他部分(为了这种讨论的目的,这部分被认为至少包括鼓膜、中耳内层、内部结构如听骨链和边缘结构如乳突),治疗内耳部分(为了这种讨论的目的,这部分被认为至少包括半规管 28 和耳蜗 30),或者治疗鼻腔、口腔或咽部的其他部位。例如,如果希望治疗内耳,可以制备其他通路开口(例如,在圆窗或卵圆窗附近的膜上)。

[0034] 图 2 是一部分图 1 的放大图。溶剂化体系可通过侧壁 36 上的开口 34 分散,滴加、喷雾或以其他方式应用到细菌生物被膜上,例如位于咽鼓管 26 的上部 40 上的生物被膜 38。

[0035] 本文公开的方法可用于其他的耳、鼻或喉部治疗。例如,本文的方法可用于患者的鼻腔或鼻窦腔。本文的方法还可通过将溶剂化体系应用于扁桃体、增殖腺或附近组织来实现。当扁桃体和增殖腺是完整的时候可以进行这种治疗,或者在摘除扁桃体、增殖腺或者两者都摘除时作为术后护理来进行,例如,将溶剂化体系应用于咽部,如扁桃体窝。有关这种方法的进一步详细描述参见与本发明同日提交的共同待批的申请(代理人案号 151-P-28168W001),该申请的完整说明书已纳入本文作为参考。

[0036] 溶剂化体系可用于破坏耳、鼻或咽部组织上的细菌生物被膜,从而有助于其分离、清除或破坏。优选的溶剂化体系是与中耳或内耳精细组织和结构生物相容的,最好不包含可能会对这种组织或结构造成潜在损伤或者对长期听力造成损害的成分。理想的溶剂化体系具有足够低的粘度以便于通过粉末喷雾或其他喷雾方式、灌洗、喷雾、擦抹、芯吸或滴加转移到细菌生物被膜上。理想的溶剂化体系还应该易于通过随后的冲洗、漂洗、引流或吸收而从治疗部位清除。虽然不希望受理论的束缚,但是金属离子螯合剂可复合、结合或束缚金属离子,其中金属离子可交联、桥接表多糖或细胞外多糖基质内的聚合物链或有助于使其结合在一起。然后溶剂化体系包围未结合的聚合物链或片段,分解基质,溶剂化未结合的聚合物链或片段,将它们带到溶液或分散液内,这样它们就很容易被冲洗或清除出治疗的中耳或内耳组织或结构,例如,另外采用溶剂化体系或单独的漂洗液。

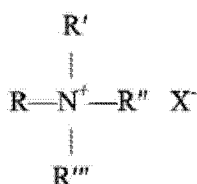
[0037] 理想的金属离子螯合剂是弱酸,其酸性足以螯合表多糖或细胞外多糖基质内的一种或多种金属离子,但是其酸性又不会损伤被治疗的组织。特别感兴趣的金属离子(因为它们可能参与靶细菌生物被膜)包括钠、钙和铁。理想的金属离子螯合剂是水溶性无毒的,如果用于耳内不会加剧长期听力丧失。代表性的酸包括而不限于:羧酸、二元酸、或三元酸,如甲酸、乙酸、氯乙酸、二氯乙酸、草酸、草氨酸、乙醇酸、乳酸、丙酮酸、天冬氨酸、富马酸、马来酸、琥珀酸、亚氨基二乙酸、戊二酸、2-酮戊二酸、谷氨酸、己二酸、柠檬酸、葡萄糖醛酸、粘酸、次氨基三乙酸、水杨酸、酮庚二酸、苯甲酸、扁桃酸、氯扁桃酸、苯乙酸、邻苯二甲酸和硼酸;矿物酸,如盐酸、正磷酸和磷酸,及上述酸的混合物。柠檬酸是一种优选的酸。例如,金属离子螯合剂的浓度可以是至少约 0.01M、至少约 0.05M 或至少约 0.1M,例如约 0.01 到 0.5M、

约 0.05 到 0.4M, 或者 0.1 到约 0.3M。增加金属离子螯合剂的量可促使生物被膜更快地被破坏。

[0038] 溶剂化体系还包含表面活性剂。理想的表面活性剂是水溶性且无毒的。典型的表面活性剂包括阴离子表面活性剂、非离子表面活性剂、阳离子表面活性剂和两性离子表面活性剂。典型的阴离子表面活性剂包括而不限于： C_6-C_{24} 烷基苯磺酸盐； C_6-C_{24} 烯属磺酸盐； C_6-C_{24} 石蜡磺酸盐；枯烯磺酸盐；二甲苯磺酸盐； C_6-C_{24} 烷基萘磺酸盐； C_6-C_{24} 烷基或二烷基二苯醚磺酸盐或二磺酸盐， C_4-C_{24} 单烷基或二烷基磺基琥珀酸盐；磺化的或硫酸化的脂肪酸； C_6-C_{24} 醇硫酸盐（例如 C_6-C_{12} 醇硫酸盐）；带有 1 到约 20 个环氧乙烷基团的 C_6-C_{24} 醇醚硫酸盐； C_4-C_{24} 烷基、芳基或烷芳基磷酸酯或其带有 1 到约 40 个环氧乙烷、环氧丙烷或环氧丁烷单元的烷氧基化的类似物；以及上述物质的混合物。例如，阴离子表面活性剂可以是鹅去氧胆酸钠、十二烷基肌氨酸钠盐、十二烷基硫酸锂、1-辛烷磺酸钠盐、水合胆酸钠、去氧胆酸钠、十二烷基硫酸钠（也称为月桂基硫酸钠）或甘氨酸脱氧胆酸钠。

[0039] 典型的阳离子表面活性剂包括而不限于具有下式的季胺化合物：

[0040]

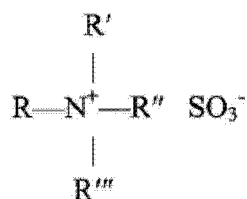


[0041] 其中 R、R'、R'' 和 R''' 各自是可选地包含一个或多个 P、O、S 或 N 杂原子的 C_1-C_{24} 烷基、芳基或芳烷基，X 是 F、Cl、Br、I 或烷基硫酸根。例如，阳离子表面活性剂可以是一水合氯化十六烷基吡啶鎓或溴化十六烷基三甲基铵。

[0042] 典型的非离子表面活性剂包括而不限于带有 1 到约 20 个环氧乙烷基团（例如，约 9 到 20 个环氧乙烷基团）的 C_6-C_{24} 醇乙氧基化物（例如， C_6-C_{14} 醇乙氧基化物）；带有 1 到约 100 个环氧乙烷基团（例如，约 12 到 20 个环氧乙烷基团）的 C_6-C_{24} 烷基酚乙氧基化物（例如， C_8-C_{10} 烷基酚乙氧基化物）；带有 1 到约 20 个糖苷基团（例如，约 9 到 20 个糖苷基团）的 C_6-C_{24} 烷基糖苷（例如， C_6-C_{20} 烷基糖苷）； C_6-C_{24} 脂肪酸酯乙氧基化物、丙氧基化物或甘油酯； C_4-C_{24} 单或二链烷醇酰胺；及其混合物。例如，非离子表面活性剂可以是聚氧乙烯二醇十二烷基醚、N-癸酰-N-甲基葡萄糖胺、洋地黄皂甙、n-十二烷基 B-D-麦芽苷、辛基 B-D-吡喃葡萄糖苷、辛基苯酚乙氧基化物、异辛基苯基聚氧乙烯(8)醚、聚氧乙烯去水山梨糖醇单月桂酸酯或聚氧乙烯(20)去水山梨糖醇单油酸酯。

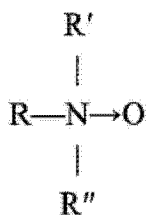
[0043] 典型的两性离子表面活性剂包括而不限于：具有下式的氨基烷基磺酸盐化合物：

[0044]



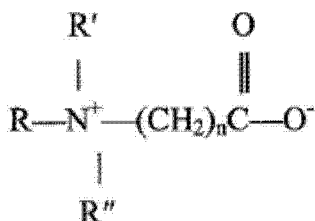
[0045] 其中 R、R'、R'' 和 R''' 各自是可选地包含一个或多个 P、O、S 或 N 杂原子的 C_1-C_{24} 烷基、芳基或芳烷基；具有下式的氧化胺化合物：

[0046]



[0047] 其中 R、R'、R'' 和 R''' 各自是可选地包含一个或多个 P、O、S 或 N 杂原子的 C₁-C₂₄ 烷基、芳基或芳烷基；或具有下式的甜菜碱化合物：

[0048]



[0049] 其中 R、R'、R'' 和 R''' 各自是可选地包含一个或多个 P、O、S 或 N 杂原子的 C₁-C₂₄ 烷基、芳基或芳烷基，n 约为 1-10。例如，两性离子表面活性剂可以是 3-[(3-胆酰胺丙基)二甲基铵基]-2-羟基-1-丙烷磺酸盐、3-[(3-胆酰胺丙基)二甲基铵基]-1-丙烷磺酸盐（有时被称为 CHAPS）、3-(癸基二甲基铵基)丙烷磺酸内盐（有时被称为辛酰基磺基甜菜碱）或 N-十二烷基-N,N-二甲基-3-铵基-1-丙烷磺酸盐。

[0050] 优选的表面活性剂包括烷基硫酸盐、烷基磺酸盐、芳基磺酸盐和两性离子表面活性剂。理想的表面活性剂可以作为纯的化合物制备，或者在某些情况下利用产品如液体橄榄油皂制备。例如，表面活性剂的浓度至少约为 0.002M、至少约 0.005M 或至少约 0.01M，例如约 0.002 到 1M、约 0.005 到 0.7M，或约 0.01 到 0.5M。如果以重量计，表面活性剂优选占溶剂化体系的 0.2 重量%以上，例如，占溶剂化体系的约 0.3%到 30%、约 0.5%到 25%，或者约 1%到 20%。增加表面活性剂的量可促使生物被膜更快地被破坏。

[0051] 溶剂化体系还可任选地包含许多其他组分，其中包括水和其他溶剂（例如醇）、缓冲剂、抗微生物剂以及各种辅助试剂。优选的溶剂化体系包含水和一种或多种缓冲剂。缓冲剂优选能使溶剂化体系维持在合适的 pH 以便于接触人体组织，理想的 pH 大于 5。例如，将溶剂化体系缓冲至接近中性 pH，例如，pH 大于 5 而小于 8.5。例如，缓冲剂占溶剂化体系一直到约 25%。示例性的缓冲剂包括而限于氯化钾、甘氨酸、邻苯二甲酸氢钾、醋酸钠、邻苯二甲酸氢钾、巴比妥钠和柠檬酸钠。当金属离子螯合剂是弱酸时，理想的缓冲剂是该酸的盐。

[0052] 包含一种或多种抗微生物剂的溶剂化体系也是优选的。EPS 基质使生物被膜粘附于下面的表面，还可保护其包被的微生物；因此，生物被膜内的细菌对抗生素作用的耐药性比浮游细菌高约 100 到 1000 倍。生物被膜被破坏成未结合的聚合物或片段并被溶剂化体系溶剂化或分解后，抗微生物剂能够更有效地攻击留下的细菌。典型的抗微生物剂包括：活性氧化合物如过氧化氢、分离的或平衡衍生或分离的过酸如氯过氧苯甲酸、过氧乙酸、过氧庚酸、过氧辛酸、过氧癸酸、过氧甲酸、过氧柠檬酸、过氧乙醇酸、过氧乳酸、过氧苯甲酸，以及衍生自二酸或二酯如己二酸、琥珀酸、戊二酸或丙二酸的单酯过酸；氨基糖苷类；氯霉素类；氨基糖苷类；安沙霉素类；β-内酰胺类如碳头孢烯、碳青霉烯、头孢菌素、头孢霉

素、单环 β -内酰胺类、氧头孢烯类、青霉素及其所有衍生物；羧酸酯如对羟基烷基苯甲酸酯和烷基肉桂酸酯；壳聚糖盐；立方相 (cubic-phase) 脂质；含镓的抗微生物剂如乙酰丙酮镓、溴化镓、氯化镓、氟化镓、碘化镓、麦芽酚酸镓 (gallium maltolate)、硝酸镓、氮化镓、渗滤镓 (gallium percolate)、亚磷酸镓和硫酸镓；碘化合物和其他活性卤素化合物如碘、卤间化合物、多聚卤化物、金属次氯酸盐、次氯酸、金属次溴酸盐、次溴酸、氯和溴代乙内酰胺类、二氧化氯和亚氯酸钠；林可酰胺类；大环内酯类；硝基呋喃类；有机过氧化物，其中包括苯甲酰过氧化物和烷基苯甲酰过氧化物；臭氧；酚醛衍生物，其中包括邻苯基苯酚、邻苄基对氯苯酚、叔戊苯酚和 C_1 - C_6 烷基羟基苯甲酸盐；季胺化合物如氯化烷基二甲基苄基铵和氯化二烷基二甲基铵；喹啉；单线态氧发生剂；磺胺类；砒；磺酸如十二烷基苯磺酸；四环素类抗生素如四环素、金霉素、土霉素、去甲四环素、强力霉素、赖甲环素、甲氯环素、美他环素、美索环素 (methocycline)、米诺环素等；万古霉素；它们的衍生物及其混合物。本文引用的许多试剂代表包含有用的特定物质的类别，本领域技术人员熟知这些物质各自的用途。例如，青霉素示例包括而不限于：阿姆地诺西林 (amdinocillin)、阿姆地诺西林双酯 (amdinocillin pivoxil)、阿莫西林、氨苄西林、阿帕西林、阿扑西林、阿度西林、阿洛西林、阿坎西林 (acampicillin)、巴氨西林、苄基青霉素、苄基青霉素钠、羧苄青霉素、卡印西林、氯甲西林、邻氯青霉素、环青霉素、双氯青霉素、依匹西林、芬贝西林、氟氯西林、海他西林、利南西林、美坦西林、青霉素钠、美洛西林、奈夫西林钠、苯唑西林、培那西林、氢碘酸喷沙西林、苯乙苄胺青霉素 G、苄星青霉素 G、青霉素 G 二苄甲胺、青霉素 G 钙、哈胺青霉素 G、青霉素 G 钾、普鲁卡因青霉素 G、青霉素 N、青霉素 O、青霉素 V、苄星青霉素 V、哈胺青霉素 V、青派四环素、非奈西林钾、哌拉西林、匹氨西林、丙匹西林、喹那西林、卡达西林、舒他西林、酞氨西林、替莫西林、替卡西林及上述物质的混合物或其他物质（例如，结合克拉维酸的青霉素，例如葛兰素史克公司 (GlaxoSmithKline) 商品名为 AUGMENTINTM 销售的阿莫西林和克拉维酸的组合物）。

[0053] 采用下文实施例中描述的细菌平板计数方法，优选的抗微生物剂可使一种或多种金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌或粘膜莫拉菌菌群中的细菌数量下降 99% 以上（即，至少下降 2 个对数级）、下降 99.9% 以上（即，至少下降 3 个对数级）、下降 99.99% 以上（即，至少下降 4 个对数级）、下降 99.999% 以上（即，至少下降 5 个对数级）。

[0054] 溶剂化体系可包含其他治疗药物。典型的治疗药物包括适用于耳鼻喉科的任何药物，其中包括镇痛药、抗胆碱能药、抗真菌药、抗组胺药、血液制品、甾体或非甾体类抗炎药、抗寄生虫药、抗病毒药、生物静力组合物、化疗药 / 抗肿瘤药、细胞因子、减充血剂、免疫抑制剂、粘多糖、核酸、肽、蛋白质、类固醇、血管收缩药、维生素、及上述药物的混合物，以及本领域技术人员熟知的其他治疗药物。可包含在溶剂化体系中的其他辅助试剂包括染料、色素或其他着色剂（例如，FD&C 3 号红、FD&C 20 号红、FD&C 6 号黄、FD&C 2 号蓝、D&C 5 号绿、D&C 4 号橙、D&C 8 号红、焦糖、二氧化钛、水果或蔬菜着色剂如甜菜粉或 β -胡萝卜素、姜黄酸、辣椒以及本领域技术人员熟知的其他物质）；指示剂；调味剂或甜味剂，其中包括而不限于八角油、樱桃、肉桂油、柠檬油（例如，柠檬油、白柠檬油或橙皮油）、可可、桉树、草药芳烃（如丁香油、鼠尾草油或肉桂油）、乳糖、麦芽糖、薄荷脑、薄荷油、糖精、环己氨磺酸钠、薄荷原油、山梨醇、蔗糖、香草醛、冬青油、木糖醇以及上述物质的混合物；抗氧化剂；消

泡剂；以及流变改性剂，其中包括增稠剂和触变胶。

[0055] 优选的是，溶剂化体系的使用量和使用厚度至少应该足以覆盖期望的生物被膜部分。例如，在治疗部位附近确定或制造一个合适的开口（例如，在中耳进行某种治疗时做鼓膜切开术），这样就可以方便地将导管、插管、注射器、导引管或其他导管经该开口推入以递送溶剂化体系。如果治疗部位是内耳，那么可以按照上述方法制造进一步的通路开口。溶剂化体系可应用于靶组织及其所包含的或其上所粘附的靶生物被膜，从而破坏、溶剂化并随后清除生物被膜和其中的微生物。治疗包括化学稀释或机械破碎。例如，可以适当小心地将溶剂化体系以加压喷雾的方式施用以去除治疗部位上形成的细菌生物被膜、细菌和其他外源有机体。这可以通过如下过程来实现：金属离子螯合剂通过螯合钙离子破坏生物被膜 EPS 基质，所得破坏的片段（例如，甘露糖醛酸和古洛糖醛酸）被溶解成水性溶液，这样再通过鼓膜切开术或咽鼓管、鼻或口腔抽吸、灌洗或其他清除技术进行彻底的清除。优选的是，将足够量的溶剂化体系注入到治疗部位以取代脓液或可能存在的其他物质，使过多的物质从治疗部位流出，直到过多的物质的颜色不再发生变化。溶剂化体系可以留在原处直到其自然流出，或者被清除掉或被吸收，或者使溶剂化体系保留一段时间（例如，数分钟、数小时或更长时间）然后用盐水或其他合适的液体冲洗掉。溶剂化体系优选直接施加到治疗部位，因为直接施加可促使生物被膜更快被破坏。例如，对于在中耳或内耳中进行的过程，溶剂化体系优选直接施加到中耳或内耳区，而不是仅仅加到耳道使其转运穿过鼓膜。需要时溶剂化体系的施加以及被移除或破坏的生物被膜和细菌的去除可以重复进行，从而确保完全清除令人讨厌的微生物。

[0056] 比较理想的是，溶剂化体系作为破坏生物被膜和抑制其再生的多步骤治疗方案的一部分使用。例如，可以进行一系列被广泛地分类为清洗 / 破坏、杀伤、保护 / 包被、换气和愈合的步骤。通过给予上述溶剂化体系完成清洗 / 破坏步骤。通过将合适的抗微生物剂施加到治疗部位来执行杀伤步骤。例如，这个步骤可通过在溶剂化体系内添加抗微生物剂来完成，或者通过在术中或术后单独给予这种抗微生物剂来完成（例如，局部给药、口服或全身给药）。通过用保护性封闭剂包被至少一部分被处理组织来执行保护 / 包被步骤。封闭剂可提供多种益处，例如抑制或阻止组织表面再生细菌菌落和新生物被膜形成菌落；降低炎症反应；促进伤口愈合或者促使机体的内在免疫系统恢复。封闭剂可包含一种或多种抗微生物剂以进一步攻击经过上述清洗 / 破坏步骤后剩余的所有细菌生物被膜、生物被膜片段或细菌。有关优选封闭剂的进一步详细描述参见上述共同待批的申请（代理人案号 no. 151-P-28168W001）。换气步骤是指保留或者形成适当的开口（例如，鼓膜上的裂缝，或者闭塞的或部分闭塞的鼻道、鼻窦或鼻窦口内的开口）并使其保持开放一段时间，从而保证治疗部位能够正常换气。开口保留时间要因开口的性质以及是否安置鼓膜造孔插管来治疗而定。例如，如果鼓膜上已经形成裂缝并且未在开口处放置插管，那么可以让裂缝保持开放数天并愈合，从而使耳道自然闭合。愈合步骤是指使经过清洗的、保护的和封闭的部位重新回到正常状态，例如，通过一种或多种愈合机制如调节炎症反应、吞噬作用、粘膜重塑、纤毛重生、或者全部或部分恢复正常听力或平衡。

[0057] 下面的非限制性实施例进行进一步阐述本发明。

[0058] 实施例 1

[0059] 金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌菌株是从鼻窦疾病患者的鼻窦内分离的。患有囊性纤

维化或免疫抑制疾病（HIV 感染、胰岛素依赖的糖尿病或肾病）的患者以及在前一个月内使用过抗生素或口服过泼尼松的患者被排除在外。所有患者都患有顽固性鼻窦炎，也就是说，尽管成功地进行了功能性的内窥镜鼻窦手术（FESS）来治疗伴随或不伴随鼻息肉的顽固性慢性鼻窦炎（CRS），但是依然具有对抗治疗措施的持续性症状。CRS 的发生按照 2003 年美国耳鼻喉科－头颈外科协会（AAO-HNS）规定的标准进行诊断，参见 Benninger 等，“成人慢性鼻窦炎：定义、诊断、流行病学和病理生理学”（“Adult chronic rhinosinusitis: Definitions, diagnosis, epidemiology, and pathophysiology”），*Otolaryngol Head Neck Surg* 129(3 增补):S1-S32(2003)。所选择的患者在样本采集前超过 12 个月对治疗措施顽固，并且 FESS 的失效被诊断为与技术因素如阻塞性粘连、额窦阻塞或钩突残留无关。利用直接内窥镜导引和 Nadel 等，“慢性鼻窦炎的内窥镜导引培养物”（“Endoscopically guided cultures in chronic sinusitis”），*Am J Rhinol* 12:233-241(1998) 所描述的方法连续收集样品，直到分别获得 10 个金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌的标本。简言之，给予局麻药，使鼻翼收缩，利用内窥镜观察鼻道中部和鼻腔。将一个薄而柔软的藻酸钙拭子（STARSWAB II™ 收集与转运系统，安大略省艾托比克斯塔莱公司（Collection and Transport System, Starplex Scientific, Etobicoke, Ontario））插入并引导到最多脓液的部位。如果没有看到脓液，那么擦拭上颌窦 15 秒。采样过程中小心避免与侧鼻腔壁或鼻前庭接触。利用标准方法接种和培养样品。细菌用 VITEK 2™ 系统（北卡罗来纳州达拉谟的生物系统公司（Biomérieux, Durham, NC））鉴定。按照 Stepanovic 等，“定量测定葡萄球菌生物被膜形成的经修改的微滴定板试验”（“A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation”），*J Microbiol Methods* 40:175-179(2000) 所描述的方法进行结晶紫染色以确定生物被膜的存在。为了孵育和培养，将上述冷冻保存的菌株接种到含 0.5% 羊血的胰酶解大豆酪蛋白胨琼脂（TSA）上。24 小时后，每个菌株挑选 1 到 4 个克隆在 TSA 上培养。培养物在 37℃ 培养 24 小时以使其适应胰酶解大豆酪蛋白胨肉汤（TSB）-TSA 培养基并确保无污染。按照 Gotz，“葡萄球菌和生物被膜”（“Staphylococcus and Biofilm”），*Mol Microbiol* 43:1367-1378(2002) 描述的方法，TSA 固体培养基上生长的克隆在 5mL 添加 0.5% 葡萄糖的 TSB 培养基中扩增，37℃ 至少孵育 24 小时。

[0060] 采用滴流反应器（DFR）来确定递送至金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌生物被膜的各种试验溶液利用或不利用流体动力清除羟磷灰石（HA）包被的载玻片上的这些细菌生物被膜的有效性。DFR 上的载玻片从水平倾斜 10°，模拟一种低剪切环境。DFR 被放置在 37℃ 需氧条件下的孵育箱内。在细菌接种前约 20 分钟，将无菌培养基（金黄色葡萄球菌用 10% TSB；绿脓杆菌用 1% TSB）滴加到 DFR 的载玻片上，使其覆盖载玻片形成条件培养层。然后用 1mL 金黄色葡萄球菌或绿脓杆菌培养物接种载玻片。倾斜 DFR 使载玻片处于水平位置，孵育 4 小时以使细菌附着到基板上。随后设定 DFR 使载玻片再次倾斜 10° 角，以每小时 10mL 的速度将无菌培养基滴加到载玻片上。3 天以后，进行生物被膜清除试验。两种方法可用于处理每种细菌所形成的生物被膜。第一应用方法包括 DFR 内的静态处理，将溶剂化试剂（被称为 CAZS）滴加到生物被膜上。CAZS 溶剂化试剂包含去离子水、25g/L（相当于 0.13M）柠檬酸、5.35g/L（相当于 0.02M）辛酰基磺基甜菜碱两性离子表面活性剂（ $(CH_3(CH_2)_9N^+(CH_3)_2CH_2CH_2CH_2SO_3^-)$ ，CAS 15163-36-7）和充足的柠檬酸钠（约 240g/L），其中柠檬酸钠的作用是将系统缓冲到 pH 5.4。第二应用方法包括将盐水或 CAZS 递送至 DFR 外侧，

通过加压喷射灌洗将流体动态剪切力施加到生物被膜上。所有处理都要进行预试验以确保各载玻片之间的变化在可接受的限度内。另外,两种细菌都准备多个平板以确定批内及批间差异。每个 DFR 批次都设定一个对照载玻片。每种细菌进行的每种处理都要进行三批试验。

[0061] 对于静态处理来说,流向 DFR 的液体是静止的,DFR 处于水平位置,盖子被去掉。一个载玻片上滴加 25mL CAZS。对照载玻片不用 CAZS 处理。10 分钟后,载玻片用盐水 (25mL) 漂洗。然后从内流管上断开 DFR,在层流通风厨内取出载玻片,放置到 50mL 无菌管内。再次用盐水漂洗 (2mL) 后,反复刮擦载玻片表面,将刮擦下来的物质和盐水收集到试管内。将试管涡旋 10 秒,超声破碎 2 分钟,再次涡旋 10 秒,使细菌分散成悬液,然后对悬液进行系列稀释,将悬液加到三个含 TSA 的平板内,每板 100 μ L, 37℃ 孵育 24 小时。人工计数克隆形成单位 (CFU), 计算 CFU 数 / cm^2 。所得到的平板计数转化成 $\log(10)$, 以每批三个载玻片的两批 DFR 所得到的平板计数的平均值 ($\pm$ SD) 表示。

[0062] 对于流体动态处理来说,从 DFR 取出载玻片,放置到手套箱内。载玻片用支架固定,利用能进行加压喷射灌洗的装置用约 150mL 盐水或 CAZS 喷射洗涤约 20 秒。喷射洗涤既要进行边到边扫描动作,又要进行上下扫描动作,从而使所有区域都被喷射洗涤两次,每个轴向洗涤一次。然后将载玻片放到 50-mL 无菌管内,按照上述方法漂洗、刮擦、分散、孵育和评价。

[0063] 计算每一种处理后金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌数目 (即,每个平板上的 CFU 数) 与对照相比的平均下降百分比 ($\pm$ SD), 所得到的结果利用双样本 / 试验 (MINITAB™14 版, Minitab, State College, PA) 进行评价。P 值小于 0.05 被认为与对照相比有显著性差异。结果显示在下面的表 1 中,以三个平板评价两次的克隆形成单元数的平均值 ($\log$) ($\pm$ SD) / 厘米表示:

[0064] 表 1 根据处理类型得到的细菌平板计数 ($\log$)

[0065]

处理类型	金黄色葡萄球菌	绿脓杆菌
无处理 (对照)	8.7 $\pm$ 0.4	9.2 $\pm$ 0.2
静态 CAZS 递送	6.2 $\pm$ 0.3	6.3 $\pm$ 1.3
流体动态盐水递送	6.4 $\pm$ 0.2	6.9 $\pm$ 0.1
流体动态 CAZS 递送	4.8 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.5

[0066] 表 1 的结果说明细菌的生物被膜可以被明显清除。在处理前,金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌都在 DFR 上形成大量生物被膜,其对照的 CFU 计数为 7.8 到 9.5 $\log/\text{cm}^2$ 。静态 CAZS 处理可使金黄色葡萄球菌 CFU 数下降 2.5 个 $\log$ (从 5.11 $\times 10^8$ 到 1.65 $\times 10^6$; $P = 0.001$), 绿脓杆菌 CFU 数下降 2.9 个 $\log$ (从 1.69 $\times 10^9$ 到 1.91 $\times 10^6$; $P = 0.002$)。单独递送流体动态盐水进行机械破坏可使金黄色葡萄球菌 CFU 数下降 2.3 个 $\log$ (从 5.11 $\times 10^8$ 到 2.38 $\times 10^6$; $P = 0.001$), 绿脓杆菌 CFU 数下降 2.4 个 $\log$ (从 1.69 $\times 10^9$ 到 7.31 $\times 10^6$; $P = 0.001$)。但是,用流体动态 CAZS 进行机械破坏可使金黄色葡萄球菌 CFU 数下降 3.9 个 $\log$ (从 5.11 $\times$

10^8 到 6.37×10^4 ; $P = 0.001$), 绿脓杆菌 CFU 数下降 5.2 个 $\log$ (从 1.69×10^9 到 1.04×10^4 ; $P = 0.001$)。

[0067] 共聚焦扫描激光显微镜 (CSLM) 用于检测三个未进行平板计数的载玻片 (每种处理及每种细菌三个载玻片) 以观察对照样品和处理样品的生物被膜结构。利用含两种核酸染料 (SYTO9, 检测发绿色荧光的活细胞, 碘化丙啶, 检测发红色荧光的死细胞) 的 BACLIGHT™Live/Dead 试剂盒 (加利福尼亚州卡斯百英吉分子探针公司 (Molecular Probes, Invitrogen, Carlsbad, CA)) 对载玻片进行染色以便于 CSLM。染色以后, 载玻片通过 CSLM 检测, 放大倍数 630X, 使用带 2-光子 MAI TAI™附件的 LEICA™SP2 声-光射束分离器 (伊利诺斯州拜诺布的雷萨微系统公司 (Leica Microsystems, Bannockburn, IL)) 进行荧光激发, 在绿色及红色光谱处检测。每个载玻片分成 10 个大小相等的区域。从生物被膜的顶层到基板每隔 $1-\mu\text{m}$ 拍摄一个影像, 从而获得每个部位的影像堆叠。CSLM 分析表明对照载玻片上覆盖了较厚的生物被膜。用盐水流体动态处理和用 CAZS 静态处理可使覆盖的生物被膜的量明显减少, 残余的生物被膜的组织结构明显简化。用 CAZS 进行流体动态处理可使覆盖的生物被膜的量及生物被膜的组织结构明显减少。对于每种处理所达到的生物被膜量的减少来说, 这些结果与平板计数分析得到的结果基本一致。

[0068] 在探究的三种处理方法中, 用 CAZS 进行电动冲洗和加压喷射灌洗是最有效的破坏细菌生物被膜的方法。利用盐水进行电动冲洗也可以获得明显的生物被膜减少效果。但是, 冲洗溶液内存在表面活性剂和柠檬酸可明显加大金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌生物被膜内 CFU 计数的下降幅度。发生大的有统计学意义的下降, 金黄色葡萄球菌和绿脓杆菌生物被膜的细菌平板计数平均分别下降 3.9 和 5.2 个 $\log$ (下降 10,000 到 100,000 倍)。在体外能够达到这种幅度的下降说明在中耳或内耳、鼻腔或鼻窦腔、或者口腔或咽部组织内进行适当的治疗也应该能够有效破坏这些部位的细菌生物被膜。残留的低水平的顽固性细菌感染可以被宿主的防御机制处理, 或者通过局部给予或口服抗微生物剂, 以及通过使用上述封闭剂来处理。

[0069] 实施例 2

[0070] 通过用硝酸镓替代一部分水来调整实施例 1 所使用的 CAZS 溶剂化体系, 经过这样调整的系统包含 25% 硝酸镓。另外用去离子水制备含 25% 硝酸镓的对照溶液。当使用实施例 1 的静态处理技术进行评价时, 给予硝酸镓对照溶液可使金黄色葡萄球菌 CFU 数下降 3.4 个 $\log$ (4 批的平均值), 绿脓杆菌 CFU 数下降 4.1 个 $\log$ (3 批的平均值)。给予包含 CAZS 和硝酸镓的溶液进行静态处理可使金黄色葡萄球菌 CFU 数下降 5.2 个 $\log$ (2 批的平均值), 绿脓杆菌 CFU 数下降 5.5 个 $\log$ (2 批的平均值)。

[0071] 虽然本文为了说明优选实施方式而对具体实施方式进行了说明和描述, 但是本领域的技术人员应当理解, 只要不脱离本发明的范围, 可以为了达到相同目的进行各种替代的或等价的实施。本发明意在涵盖本文所讨论的优选实施方式的所有改变或变体。因此, 可以很明确地说, 本发明仅由权利要求及其等价形式所限定。

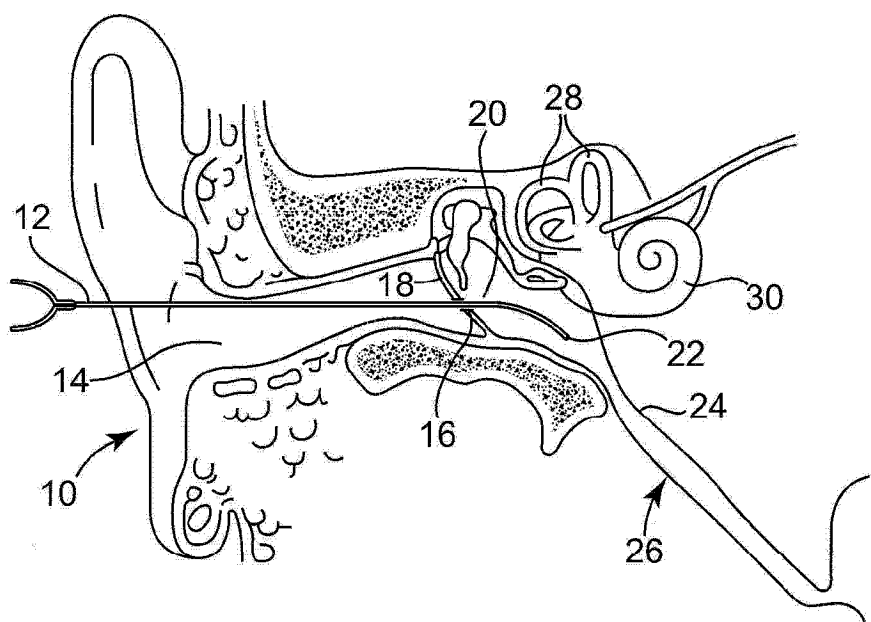


图 1

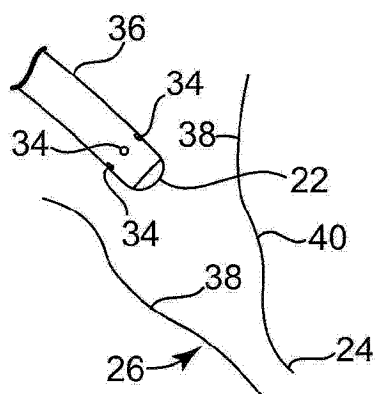


图 2