



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118846182 A

(43) 申请公布日 2024. 10. 29

(21) 申请号 202410854968.4

A61L 15/44 (2006.01)

(22) 申请日 2016.01.27

A61L 15/46 (2006.01)

(30) 优先权数据

1501330.3 2015.01.27 GB

(62) 分案原申请数据

201680012118.3 2016.01.27

(71) 申请人 医疗行业产品有限公司

地址 英国柴郡

(72) 发明人 安德鲁·霍加思 C·哈迪

(74) 专利代理机构 北京派特恩知识产权代理有限公司 11270

专利代理师 张铮铮 李雪

(51) Int. Cl.

A61L 15/28 (2006.01)

A61L 15/20 (2006.01)

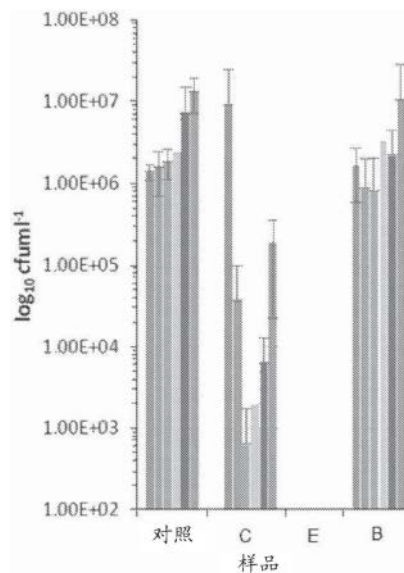
权利要求书2页 说明书15页 附图8页

(54) 发明名称

用于伤口敷料的组合物

(57) 摘要

本发明涉及一种能够用作或部分用作伤口敷料的组合物,并涉及包括所述组合物的伤口敷料。更具体地,本发明涉及一种破坏并杀死生物膜内的细菌且还防止生物膜形成的组合物。所述固体组合物包括选自由壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的组合所组成的组的第一组分;至少一种三元酸。



1. 一种固体组合物,所述组合物包括选自由壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的任意组合所组成的组的第一组分;以及至少一种三元酸,其中,所述三元酸以所述第一组分的至少10%的量存在,其中,所述至少一种三元酸涂覆至所述第一组分的至少一部分上和/或吸附至所述第一组分的至少一部分。

2. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述组合物在生理流体中是不可溶的。

3. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述第一组分是非抗微生物的。

4. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述第一组分与所述至少一种三元酸的比例为至少2:1。

5. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述第一组分是壳聚糖。

6. 根据权利要求5所述的组合物,其中,所述壳聚糖具有至少70%的脱乙酰化程度。

7. 根据权利要求5或6所述的组合物,其中,在1%乙酸溶液中,所述第一组分具有大于150cps的粘度。

8. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述三元酸是柠檬酸。

9. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述第一组分可以是纤维、颗粒、片状物、粉末或它们的任意组合的形式。

10. 根据权利要求9所述的组合物,其中,所述第一组分是纤维的形式。

11. 根据权利要求10所述的组合物,其中,所述纤维是无纺的。

12. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述三元酸以所述第一组分的约25%~60%的量存在。

13. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述组合物是颗粒、片状物、纤维、粉末、不织物或针织物的形式。

14. 根据权利要求13所述的组合物,其中,所述组合物是无纺纤维的形式。

15. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中,所述三元酸被涂覆在载体材料上。

16. 根据权利要求15所述的组合物,其中,所述载体材料是粘胶纤维。

17. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,进一步包括额外的组分,所述额外的组分选自由抗微生物剂;药剂;螯合剂;润湿剂;生长因子;细胞因子;延缓愈合的试剂如MMP(基质金属蛋白酶)和弹性蛋白酶的吸收剂;钙;维生素K;纤维蛋白原;凝血酶;因子VII;因子VIII;粘土;氧化再生纤维素;明胶;和胶原所组成的组。

18. 根据权利要求17所述的组合物,其中,所述抗微生物剂选自由银、聚六亚甲基双胍(PHMB)、碘、奥替尼啶、铜、氯己定葡萄糖酸盐(CHG)、咪康唑、甲硝唑以及它们的一种或更多种组合所组成的组。

19. 一种伤口辅料,所述伤口辅料包括前述权利要求中任一项所述的组合物。

20. 根据权利要求1至18中任一项所述的组合物,其用于制备治疗剂。

21. 根据权利要求1至18中任一项所述的组合物,其用于制备处理伤口的产品。

22. 根据权利要求1至18中任一项所述的组合物,其用于制备在生物膜内破坏和杀死细菌的产品。

23. 根据权利要求1至18中任一项所述的组合物,其用于制备防止生物膜形成的产品。

24. 一种制造组合物的方法,所述组合物包括选自由壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的组合所组成的组的第一组分;以及至少一种三元酸,其中,所述三元酸以所述第一组分的至少10%的量存在;所述方法包括以下步骤:

- a、用所述至少一种三元酸涂覆所述第一组分的至少一部分;和/或
- b、将所述至少一种三元酸吸收至所述第一组分的至少一部分。

用于伤口敷料的组合物

[0001] 本申请是申请号为201680012118.3,申请日为2016年01月27日,发明名称为“用于伤口敷料的组合物”的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及一种能够用作或部分用作伤口敷料的组合物,并涉及包括所述组合物的伤口敷料。更具体地,本发明涉及一种破坏并杀死生物膜内的细菌且还防止生物膜形成的组合物。

背景技术

[0003] Philips PL, et al., Biofilms Made Easy, Wounds International 2010, 1(3) 提供了生物膜的有用解释,并总结于此。生物膜是细胞有效相互粘附在表面上任何微生物群体。生物膜典型地是含细菌和真菌的复合微生物群落。微生物经常嵌入在自产的胞外聚合物(EPS)的基质中。生物膜EPS,也称为粘液(虽然会意识到并非所谓的粘液都是生物膜),是通常由胞外DNA、蛋白质和多糖组成的聚合物聚集物。EPS基质能够将生物膜牢固地附着在活体或非活体表面上。

[0004] 已知生物膜形成在诸如导尿管、植入物和缝合线的医疗器材的表面上。由于生物膜是对以潜在细菌感染和慢性炎症为特征的疾病的贡献者,所以它们是有问题的。

[0005] 本发明的领域主要是伤口护理。生物膜通常存在于伤口中,但最近才被认识到它们引起伤口愈合的延迟。甚至暗示了几乎所有的慢性伤口在伤口床的至少一部分上都有生物膜群落。

[0006] 生物膜可以形成于活体或非活体表面,并且能够普遍存在于自然、工业和医院环境中。在自然条件下,微生物,如细菌,可附着于表面并形成生物膜。随着细菌繁殖,它们更牢固地附着在表面上。一旦附着,细菌分泌EPS以形成保护性基质。这继而导致形成初始生物膜的小细菌菌落。随着时间的推移,生物膜能够分散并附着到伤口床的其他部分,形成新的生物膜菌落。

[0007] 生物膜的形成能够发生得相当快,能在不到24小时内形成。

[0008] 据认为,生物膜刺激慢性炎症反应,试图除去伤口的生物膜。这种反应引起生物膜周围存在大量中性粒细胞和巨噬细胞。这些炎症细胞分泌高水平的活性氧(ROS)和蛋白酶(基质金属蛋白酶(MMP)和弹性蛋白酶)。上述蛋白酶能够帮助分解生物膜和组织之间的附着物,从伤口将生物膜逐出。然而,ROS和蛋白酶同样会损害正常和愈合的组织、蛋白质和免疫细胞。慢性炎症反应并不总是成功地去除生物膜,且已假设该反应是为了生物膜的利益。通过诱导无效的炎症反应,生物膜保护了其含有的微生物并增加了渗出物的产生,这提供了营养来源并且有助于生物膜永久存在。

[0009] 目前,减轻生物膜不良反应最有效的方法之一是物理地清除生物膜,称为清创。清创涉及从伤口清除死亡组织和受污染组织。然而,这种方法有其局限性,因为任何形式的清创都不能清除所有的生物膜。因此,生物膜有可能在短时间内重新形成。所以患者必须频繁

进行清创。

[0010] 也已经研究了防止生物膜重新形成的尝试。这些方法主要使用抗微生物剂杀死微生物。然而,抗微生物剂能够以不同的方式使用并且需要考虑患者的敏感性和过敏性,在这种意义上,该方法存在若干限制。

[0011] 因此,需要开发杀死生物膜内的细菌并且还防止生物膜重新形成的改进方法。

发明内容

[0012] 本发明是考虑到前述限制和问题而做出的。

[0013] 根据本发明的第一方面,提供一种固体组合物,所述固体组合物包括选自壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的任意组合所组成的组的第一组分;至少一种三元酸。

[0014] 已经令人惊奇地发现,包括第一组分以及至少一种三元酸的固体组合物能够破坏并防止生物膜的形成并对生物膜内的微生物具有抗微生物作用。

[0015] 本文所指的生物膜优选为基于微生物的生物膜,尽管本发明不限于此。

[0016] 本文所使用的术语“三元酸”(其在本文中也称为“三价酸”)是指在酸碱反应中有三个氢离子以供给碱的酸。换句话说,三元分子具有三个可替换的氢原子。

[0017] 组合物可以包括一种或多种三元酸。因此,组合物可以包括两种、三种、四种或更多种三元酸。通常,组合物包括一种三元酸。

[0018] 三元酸可以选自柠檬酸、磷酸或它们的混合物所组成的组。

[0019] 优选地,三元酸是柠檬酸。

[0020] 三元酸可以是颗粒、片状物、粉末或溶液的形式。三元酸通常源自粉末的形式。

[0021] 在制备本发明的组合物时,三元酸通常是酸溶液的形式。通过将通常为粉末形式的一定量的三元酸溶解在一定体积的水和/或溶剂中来制备这种溶液。溶剂可以是水性或非水性的,但优选是非水性的。

[0022] 组合物可以包括第一组分与三元酸的混合物。三元酸可以与第一组分接触。

[0023] 典型地,所述三元酸被吸收至第一组分的至少一部分或涂覆在第一组分的至少一部分上。优选地,三元酸被涂覆在第一组分的表面的至少一部分上。更优选地,三元酸被涂覆在第一组分的绝大部分表面上。

[0024] 抗微生物剂通常指杀死微生物或抑制微生物生长的物质。在伤口愈合中普遍接受的是:对于声称抗菌功效的物质必须表现出Log₄细菌杀死率。

[0025] 本文中所使用的术语“抗微生物剂”是指能够在24小时内表现出Log₄细菌杀死率的试剂或物质。因此,本文中所使用的术语“非抗微生物剂”是指在24小时内表现出低于Log₄细菌杀死率的试剂或物质。

[0026] 第一组分可以是非抗微生物剂。

[0027] 第一组分与至少一种三元酸的比例可以为至少2:1。

[0028] 所述第一组分可以是纤维、颗粒、片状物、粉末或它们的组合的形式。

[0029] 所述第一组分可以全部或部分地涂覆有三元酸。

[0030] 典型地,所述第一组分包括纤维。所述纤维可以是纺织的或无纺的。优选的,所述纤维是无纺的。所述纤维可以全部或部分地涂覆有三元酸。

[0031] 或者,所述组合物可以包括第一组分和三元酸的单独的部分。例如,第一组分可以是纤维、颗粒、片状物、粉末、一个或多个板状物或它们的组合的形式,而三元酸可以是颗粒、片状物或粉末的形式,其中,第一组分和三元酸位于组合物的单独部分中。所述单独的部分可以例如是层的形式。或者,可以混合所述三元酸和所述第一组分。

[0032] 额外地或可替代地,所述三元酸可以与载体材料相结合。因此,所述固体组合物可以包括选自由壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的组合所组成的组的第一组分;以及至少一种三元酸,其中,所述三元酸与载体材料相结合。

[0033] 所述三元酸可以被吸收至所述载体材料中或涂覆在所述载体材料上。所述载体材料能够用作三元酸的载体。在这些实施方式中,三元酸不应与载体材料反应或与载体材料不可逆地结合。载体材料可以包括能够吸收、接受三元酸或用作三元酸的载体的任何合适的材料。典型的材料包括但不限于聚合物,如纤维素、纤维素衍生物(如乙基纤维素、甲基纤维素等);棉花;藻酸盐;粘胶纤维;聚丙烯;聚乙烯或这些材料的任意组合。优选地,所述载体材料是粘胶纤维。

[0034] 典型地,所述载体材料是纤维状的。在一些实施方式中,所述第一组分和所述载体材料可以组合在一起以制成无纺布。所述第一组分和所述载体材料可以梳理或针刺在一起。

[0035] 然而,优选地,所述组合物不包括载体材料。如上文所说明的,所述三元酸优选被涂覆在第一组分的至少一部分上。

[0036] 三元酸可以通过本领域已知的任何合适的方法涂覆在第一组分和/或载体材料上。

[0037] 通常,三元酸典型地以粉末形式溶解在水中以形成酸溶液。然后将酸溶液与溶剂混合。然后将第一组分与酸溶液/溶剂混合物混合。可以例如通过蒸发去除溶剂以及任选地去除至少一部分水,以提供本发明的固体组合物。通常,所述组合物包括涂覆在第一组分上的三元酸。

[0038] 或者,可以将三元酸与如上所述的水和/或溶剂混合并喷涂到第一组分上。

[0039] 优选地,在制备组合物期间,不将所述第一组分溶于溶剂。优选地,所述第一组分不溶于酸溶液或酸溶液/溶剂混合物。

[0040] 已经观察到,在最初不将第一组分溶解在溶剂中和/或第一组分不溶于酸溶液/溶剂混合物中的情况下制备组合物使得能够有效制备出能将更多量的第一组分递送到伤口的本发明的固体组合物。与最初溶解在溶剂中的第一组分相比这是有益的,因为可用的第一组分的总量因溶剂的存在而稀释。此外,在制备过程中第一组分溶解的情况下,最终组合物不能是纤维、颗粒或粉末的形式,这限制了组合物的潜在用途和形式。因此,第一组分可以是不可溶的。

[0041] 在第一组分包括壳聚糖纤维的情况下,所述溶剂优选为非水性溶剂,如异丙醇。

[0042] 三元酸优选以酸溶液的形式递送。酸溶液(水中的酸)可以具有约5%~80%,优选约20%~60%,且最优选约40%~50%的浓度。

[0043] 三元酸可以以大于第一组分的约2%,优选大于第一组分的约5%,更优选大于第一组分的约10%,且最优选大于第一组分的约25%的量存在于组合物中。三元酸可以以第一组分的至少约2%,优选第一组分的至少约5%,更优选第一组分的至少约10%,且最优选

第一组分的至少约25%的量存在于组合物中。

[0044] 三元酸可以以第一组分的2%~75%，优选第一组分的约10%~75%，更优选第一组分的约20%~75%，且最优选第一组分的约25%~60%的量存在。三元酸以第一组分的约60%的量存在时观察到良好的结果。所指的酸的百分数值表示组合物中相比于第一组分的总量的三元酸的相对量。例如，如果组合物中第一组分的总量为1g，则包括20%三元酸的组合物含0.2g的三元酸。

[0045] 在测试中已经观察到组合物中更高量的三元酸引起更强的抗微生物功效。因此，所述组合物酸可以包括第一组分的至少约25%，优选至少约35%，更优选至少约50%且最优选至少约60%的量三元酸。

[0046] 第一组分选自自由壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的任意组合所组成的组。

[0047] 本文中所使用的术语“衍生物”是指经一个或多个化学反应或修饰后衍生自壳聚糖或几丁质的化合物。上述一个或多个化学反应或修饰可能涉及壳聚糖或几丁质中的一个或多个氨基或羟基质子的取代；或几丁质的部分脱乙酰化。例如，几丁质衍生物可以包括部分脱乙酰化的几丁质，根据需要其可具有不同百分比的脱乙酰化。通常，适用于本发明的部分脱乙酰化的几丁质具有至少约50%，更通常地至少约75%，最通常至少约85%的脱乙酰化程度。术语“壳聚糖衍生物或几丁质衍生物”中还包括壳聚糖或几丁质与其他化合物的反应产物。这样的反应产物包括但不限于：羧甲基壳聚糖、羟基丁基几丁质、N-酰基壳聚糖、O-酰基壳聚糖、N-烷基壳聚糖、O-烷基壳聚糖、N-亚烷基壳聚糖、N-亚芳基壳聚糖、O-磺酰壳聚糖、硫酸化壳聚糖或硫酸化几丁质、磷酸化壳聚糖或磷酸化几丁质、硝化壳聚糖或硝化几丁质、脱氧卤代壳聚糖、碱性几丁质(alkalichitin)、碱性壳聚糖(alkalichitosan)或壳聚糖的金属螯合物，有机盐等。壳聚糖衍生物或壳多糖衍生物，包括本文中所述的那些，也可含有通过共价键或非共价键与其连接的官能团。

[0048] 通常，第一组分是壳聚糖衍生物或几丁质衍生物。优选地，第一组分是壳聚糖。

[0049] 壳聚糖是贝类加工固体废物的衍生物，并能够从真菌培养物中提取。它是一种不溶于水的阳离子聚合材料。壳聚糖是一种已知的用于伤口敷料的止血剂。本文中所使用的术语“止血剂”是指与来自人或动物的生理目标部位或伤口部位的血液或其他体液(如伤口渗出物)接触时，能够产生使出血停止或减少的凝块或堵头的任何试剂。

[0050] 有许多不同类型的壳聚糖可用作伤口敷料中具有不同吸收性质的材料。不同类型的壳聚糖可以具有不同的分子量，不同的脱乙酰化程度，不同排列的 β -(1-4)连接的D-葡萄糖胺和N-乙酰基-D-葡萄糖胺单体，不同的手性形式或者它们可以衍生自不同的物种或来源(和真菌)，或者可能在制造过程中经过不同的处理。壳聚糖材料的这些不同变体中的每种或全部都可用于本发明。

[0051] 壳聚糖第一组分可以具有大于70%，优选大于80%，更优选大于85%的脱乙酰化程度。

[0052] 当壳聚糖材料是盐的形式时，其能够表现出胶凝性。为了获得壳聚糖盐，通常将壳聚糖与合适的酸混合。壳聚糖盐的胶凝性使其适合成为伤口敷料的材料。

[0053] 壳聚糖和/或壳聚糖衍生物可以是任何合适的形式，例如纤维、颗粒、粉末、片状物、板状物、珠粒以及前述两种或更多种的组合。通常，壳聚糖和/或壳聚糖衍生物是纤维的

形式。优选的,所述纤维是无纺的。纤维能够是任何期望的直径或长度,并且可以形成便于使用的织物或纱布块。

[0054] 通常,本发明组合物中使用的第一组分的分子量小于约2000000,更通常小于约1000000,且甚至更通常小于约500000,且最通常小于约175000。

[0055] 在1%乙酸溶液中的第一组分可具有大于150cps的粘度。

[0056] 本发明的组合物可以是颗粒、片状物、纤维、粉末、不织物或针织物的形式。所述纤维可以是纺织的或无纺的。优选的,所述纤维是无纺的。

[0057] 组合物典型地是纤维的形式。组合物更典型是无纺纤维(nonwoven fibres)或无纺织物。

[0058] 本发明的组合物可以在生理流体中是不可溶的。本文中所使用的术语“生理流体”是指由人体或动物体排出的任流体,包括血液以及血液、唾液、汗液、尿液等的各种成分。

[0059] 所述组合物可以被施加到递送机构。

[0060] 所述递送机构可以包括聚氨酯泡沫、聚氨酯膜、纺织织物、超吸收材料、诸如导管的医疗装置、支架等。所述递送机构可以包括多于一种的每种前述部件和/或可以包括前述的一种或多种的组合。

[0061] 例如,所述递送机构可以包括一种或多种聚氨酯泡沫和聚氨酯膜。或者,所述递送机构可以包括纺织粘胶纤维织物。

[0062] 本文中所使用的术语“超吸收材料”是指水溶胀的但非水溶性的亲水材料,它能够以大于85%的流体保留率吸收流体至大于2000%。优选地,超吸收材料能够以大于90%的流体保留率吸收流体至大于2500%。

[0063] 本文中所使用的术语“水溶胀性”是指当与水或含水流体接触时,将吸收流体并膨胀,但基本上不会溶解于该流体中的材料。

[0064] 本文中所使用的术语“水溶性”是指当与水或含水流体接触时,将溶解于该流体中的材料。

[0065] 超吸收材料可以选自诸如聚(乙烯)醇(PVA)、聚(环氧乙烷)(PEO)和聚(丙烯酸)的聚合材料。超吸收材料可以被化学修饰。例如,超吸收材料可以通过将丙烯酸接枝聚合到羧甲基纤维素链上获得的聚合材料。超吸收材料可以包括选自淀粉;纤维素以及诸如聚(乙烯)醇(PVA)、聚(环氧乙烷)(PEO)和聚(丙烯酸)的聚合材料的化学修饰材料。所述聚(丙烯酸)可以是部分中和的、轻度交联的聚(丙烯酸)。

[0066] 本文中所使用的术语“交联(cross-linking)”和“交联的(cross-linked)”是指通过主键(如共价键)连接的两个或多个聚合物链。本文中所使用的术语“轻度交联”是指超吸收材料中的交联主键的数目少于有可能交联键的总数目的实施方式。

[0067] 在一些实施方式中,超吸收材料选自诸如PVA、PEO和聚(丙烯酸)的聚合材料,优选部分中和的、轻度交联的聚(丙烯酸)。典型地,超吸收材料是部分中和的、轻度交联的聚(丙烯酸)。

[0068] 超吸收材料可以是纤维的形式。典型地,超吸收材料是无纺纤维的形式。纤维的长度能够达100mm,典型地为20mm~75mm,更典型地为32mm~51mm。

[0069] 递送机构可以是本领域已知的伤口敷料。

[0070] 本发明的组合物可以通过本领域已知的任何合适的方式施加于递送机构。

[0071] 本发明的组合物可以包括选自由壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的组合所组成的组的第一组分；以及至少一种三元酸；其中，所述第一组分至少部分地涂覆有所述三元酸。

[0072] 所述组合物可以包括选自由壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的组合所组成的组的纤维状第一组分；以及至少一种三元酸；其中，所述第一组分的纤维至少部分地涂覆有所述三元酸。

[0073] 典型地，组合物包括至少部分地涂覆有三元酸的纤维状壳聚糖第一组分。优选地，组合物包括至少部分地涂覆有柠檬酸的无纺纤维状壳聚糖第一组分。仍优选地，组合物包括基本全部涂覆有柠檬酸的无纺纤维状壳聚糖第一组分。

[0074] 本发明的组合物可以进一步包括增溶酸。

[0075] 本文中所使用的术语“增溶酸”是指施加至第一组分或与第一组分相结合时，使第一组分更易溶于水性体液的酸。

[0076] 组合物可以包括一种或多种增溶酸。因此，组合物可以包括两种、三种、四种或更多种增溶酸。通常，组合物包括一种增溶酸。

[0077] 增溶酸可以选自由琥珀酸、苹果酸、硫酸、丙烯酸、乳酸、甲酸、乙酸、盐酸、硝酸及它们的任意一种或多种的混合物所组成的组。

[0078] 增溶酸可优选为一元酸。

[0079] 本文所使用的术语“一元酸”（其在本文中也称为“一价酸”）是指在酸碱反应中有一个氢离子以供给碱的酸。换句话说，一元分子具有一个可替换的氢原子。

[0080] 一元酸可以选自由乳酸、甲酸、乙酸、盐酸、硝酸及它们的任意一种或多种的混合物所组成的组。

[0081] 优选地，所述一元酸是乳酸、乙酸或它们的混合物。最优选地，所述一元酸是乳酸。

[0082] 一元酸可以是颗粒、片状物、粉末或溶液的形式。一元酸通常是溶液的形式。通过将一定量的增溶酸溶解在一定体积的水和/或溶剂中来制备这种溶液。

[0083] 所述组合物可包括第一组分、至少一种三元酸和至少一种增溶酸的混合物。

[0084] 可以将增溶酸与三元酸混合，并以如上所述的仅涉及三元酸的同样方式与第一组分接触。或者，三元酸和增溶酸可以与第一组分的不同部分接触，并随后在组合物中被放在一起。例如，当第一组分是纤维的形式时，纤维的选材可以部分或全部涂覆有三元酸，且不同的纤维的选材可以部分或全部涂覆有增溶酸。

[0085] 通常，将增溶酸与三元酸混合并与第一组分接触。

[0086] 至少一种增溶酸，或者至少一种增溶酸和至少一种元酸的混合物，可以被吸收至第一组分的至少一部分或被涂覆在第一组分的至少一部分上。优选地，至少一种增溶酸，或者至少一种增溶酸和至少一种三元酸的混合物，被涂覆在第一组分的绝大部分表面上。在一些实施方式中，三元酸可以被吸收至第一组分的至少一部分，或者被涂覆在第一组分的至少一部分上，然后增溶酸能够吸收至该至少一部分或被涂覆在该至少一部分上，或反之亦然。

[0087] 或者，组合物可以包括第一组分、至少一种三元酸和至少一种增溶酸的单独的部分。例如，第一组分可以是纤维、颗粒、片状物、粉末、板状物或它们的组合的形式，而三元酸和增溶酸可以是颗粒、片状物和/或粉末的形式，其中，第一组分和酸位于组合物的单独的

部分中。例如,所述单独的部分可以诸如是层的形式。或者,可以将第一组分、三元酸和增溶酸混合。

[0088] 在一些实施方式中,所述至少一种三元酸和所述至少一种增溶酸可以与相同或不同的载体材料相结合。因此,所述组合物可以包括选自由壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的组合所组成的组的第一组分;以及至少一种三元酸和至少一种增溶酸,其中,所述三元酸和/或所述增溶酸与相同或不同的载体材料相结合。

[0089] 增溶酸可以以如本文所述的关于三元酸的同样方式与载体材料相结合。

[0090] 所述增溶酸可以被涂覆在所述第一组分上,而所述三元酸可以被涂覆在载体材料上,反之亦然。

[0091] 所述第一组成可以包括涂覆有增溶酸的纤维并且所述载体材料可以涂覆有三元酸。载体材料可以是粘胶纤维。

[0092] 至少一种增溶酸可以通过如对三元酸所描述的同样方式涂覆在第一组分和/或载体材料上。

[0093] 所述第一组分可以部分或全部涂覆有增溶酸。

[0094] 增溶酸优选以酸溶液的形式递送。酸溶液(水中的酸)可以具有至少约40%,优选至少约60%且最优选至少约80%的浓度。

[0095] 至少一种增溶酸可以以第一组分的大于约2%,优选第一组分的大于5%,且更优选第一组分的大于约10%的量存在。

[0096] 至少一种增溶酸可以以第一组分的约2%~50%,优选第一组分的约10%~40%,或更优选第一组分的约20%~30%的量存在。优选地,至少一种增溶酸可以以第一组分的约25%的量存在。以与三元酸同样的方式,所指的上述百分数值表示相比于第一组分的总量的增溶酸的相对量。

[0097] 在研究中已经发现,增溶酸含量是第一组分的约15%~30%的组合物能够减少达到理想效果所需的三元酸的量。例如,已显示含有大于20%的三元酸含量的组合物产生与含有15%~20%的增溶酸但含有约为5%或更低的减少的三元酸含量的组合物相当的结果。

[0098] 因此,本发明的一种实施方式包括一种组合物,所述组合物包括选自由壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的组合所组成的组的第一组分;20%~75%的至少一种三元酸以及10%~40%的至少一种增溶酸。

[0099] 对于含有相对第一组分的20%~35%、尤其是25%~30%的增溶酸,以及相对第一组分的25%~45%、尤其是30%~40%的三元酸的组合物,已经观察到良好的结果。

[0100] 至少一种三元酸与至少一种增溶酸的比例为至少1:1。

[0101] 根据本发明的另一方面,提供了包括如本文所述的组合物的伤口敷料。

[0102] 伤口敷料可以是与液体,如伤口渗出物接触时形成凝胶的伤口敷料。在胶凝伤口敷料领域,其重点在于阻止来自出血的伤口的血液流动,本发明的组合物尤其令人惊奇,因为无纺伤口敷料上的三元酸倾向不凝胶化且已知会对吸收性和水保留性带来负面影响。

[0103] 伤口敷料可以包括如本文所述的组合物和如本文所述的递送机构。可以通过涂覆等方法将组合物施加于递送机构。组合物和递送机构可以形成层状的伤口敷料。

[0104] 本发明的组合物或包括该组合物的伤口敷料还可以包括额外的组分。这些额外的

组分包括但不限于抗微生物剂;药剂;螯合剂;润湿剂,如表面活性剂;生长因子;细胞因子;吸收延缓愈合试剂(如MMP(基质金属蛋白酶)和弹性蛋白酶)的试剂;和/或其它的伤口敷料组分,如钙、维生素K、纤维蛋白原、凝血酶、因子VII、因子VIII、诸如高岭土的粘土、氧化再生纤维素、明胶或胶原蛋白等。

[0105] 合适的抗微生物剂可以选自以下列表,包括银、聚六亚甲基双胍(PHMB)、碘、奥替尼啶、铜、氯己定葡萄糖酸盐(CHG)、咪康唑、甲硝唑以及它们的一种或更多种组合。

[0106] 抗微生物剂可以以如本文所述的涉及三元酸和/或增溶酸的同样方式被涂覆在第一组分和/或载体材料上或者被吸收至第一组分和/或载体材料中。

[0107] 本发明的组合物可以与对伤口护理有用的其它组合物混合。在一些实施方式中,本发明的组合物可以与一种或更多种止血剂混合或混用。止血剂可以是纤维、颗粒、片状物、粉末的形式或它们的任意组合的形式。优选地,止血剂是颗粒的形式。

[0108] 例如,如本文所述的本发明的组合物可以与止血剂(例如,市售的基于壳聚糖的止血剂Celox®颗粒)混和。

[0109] 根据本发明的另一方面,提供了如本文所述的组合物用作治疗剂。

[0110] 根据本发明的另一方面,提供了如本文所述的组合物用于处理伤口。

[0111] 根据本发明的另一方面,提供了如本文所述的组合物用于破坏和杀死生物膜内的细菌。

[0112] 根据本发明的另一方面,提供了如本文所述的组合物用于防止生物膜的形成。

[0113] 根据本发明的另一方面,提供了一种制造固体组合物的方法,所述固体组合物包括选自由壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的组合所组成的组的第一组分;至少一种三元酸;所述方法包括以下步骤:

[0114] (a) 用所述至少一种三元酸涂覆所述第一组分的至少一部分;和/或

[0115] (b) 将所述至少一种三元酸吸收至所述第一组分的至少一部分。

[0116] 根据本发明的另一方面,提供了一种制造组合物的方法,所述组合物包括选自由壳聚糖、几丁质、壳聚糖衍生物、几丁质衍生物及它们的组合所组成的组的第一组分;至少一种三元酸和可选的至少一种增溶酸;所述方法包括以下步骤:

[0117] (a) 将三元酸与水和/或溶剂混合以提供三元酸溶液;

[0118] (b) 可选地将所述三元酸溶液与增溶酸溶液混合以提供混合酸溶液,所述增溶酸溶液通过将增溶酸与水和/或溶剂混合制备;

[0119] (c) 将所述三元酸溶液或所述混合酸溶液与溶剂混合;以及

[0120] (d) 将所述第一组分添加到步骤(c)得到的溶液中。

[0121] 所述方法可进一步包括将步骤(d)中得到的混合物干燥的步骤(e)。所述干燥的步骤可以去除所述组合物的一些或全部溶剂和/或水含量。

[0122] 对于所述第一组分包括壳聚糖纤维的组合物,步骤(a)至(c)的溶剂典型地可以是非水性的。

[0123] 本发明的另外方面可以根据需要或视情况包含关于本发明的第一方面所描述的任何或全部特征。

附图说明

[0124] 现在将参照以下非限制性实施例和附图进一步描述本发明的实施方式,其中:

[0125] 图1是示出使用MBEC试验对绿脓假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) ATCC 13359 的测试结果的图;

[0126] 图2是示出使用MBEC试验对溶血葡萄球菌 (*Staphylococcus haemolyticus*) 的测试结果的图;

[0127] 图3是示出使用MBEC试验对MRSA 308的测试结果的图;

[0128] 图4是示出使用CDC反应器模型对绿脓假单胞菌ATCC 10434的测试结果的图;

[0129] 图5是示出使用CDC反应器模型对溶血葡萄球菌NCTC 11042的测试结果的图;

[0130] 图6是示出使用CDC反应器模型对耐甲氧西林 (Methicillin-resistant) 的金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 308的测试结果的图;

[0131] 图7是示出使用CDC反应器模型对绿脓假单胞菌ATCC 10434的测试结果的图;

[0132] 图8是示出使用CDC反应器模型对绿脓假单胞菌ATCC 10434的测试结果的图;

[0133] 图9是示出使用CDC反应器模型对金黄色葡萄球菌的测试结果的图;

[0134] 图10是示出使用CDC反应器模型对金黄色葡萄球菌的测试结果的图。

[0135] 图11是示出用每种试剂处理24小时后,从预形成24小时的生物膜回收的活金黄色葡萄球菌的数量的图。

[0136] 图12是示出用每种试剂处理24小时后,从预形成72小时的生物膜回收的活金黄色葡萄球菌的数量的图。

具体实施方式

[0137] 样品制备的概述方法

[0138] 概述方法1:第一组分和三元酸

[0139] 将三元酸(如柠檬酸)粉末溶解于去离子水中,然后与非水性溶剂(如IPA)混合。将典型地是无纺纤维的形式的第一组分放入三元酸溶液中并使第一组分能吸收溶液。然后使用热干燥将溶液干燥,以留下涂覆有三元酸的固体壳聚糖、几丁质或其衍生物。

[0140] 概述方法2:第一组分与三元酸和一元酸

[0141] 将三元酸(如柠檬酸)粉末溶解于去离子水中,然后与增溶酸(如乳酸)溶液混合。然后与非水性溶剂(如IPA)混合。将典型地是无纺纤维的形式的第一组分放入混合酸溶液中并使第一组分能吸收溶液。然后使用热干燥将溶液干燥,以留下涂覆有三元酸和增溶酸的混合物的固体壳聚糖、几丁质或其衍生物。

[0142] 组合物实例

[0143] 以下是根据本发明制备的组合物的实施例。

[0144] 实施例1:

[0145] 涂覆有柠檬酸(0.439g)的100%壳聚糖纤维无纺布(1.35g),以提供标称32.5%的组合物。

[0146] 实施例2:

[0147] 涂覆有柠檬酸(0.027g~0.068g)的100%壳聚糖纤维无纺布(1.35g),以提供标称2%~5%的组合物。

[0148] 实施例3:

[0149] 涂覆有柠檬酸 (0.27g ~ 0.41g) 的100%壳聚糖纤维无纺布 (1.35g), 以提供标称20% ~ 30%的组合物。

[0150] 实施例4:

[0151] 涂覆有柠檬酸 (0.81g ~ 0.94g) 的100%壳聚糖纤维无纺布 (1.35g), 以提供标称60% ~ 70%的组合物。

[0152] 实施例5:

[0153] 涂覆有柠檬酸 (0.027g ~ 0.068g) 和乳酸 (0.34g) 的100%壳聚糖纤维无纺布 (1.35g), 以提供标称2% ~ 5%三元酸和25%一元酸的组合物。

[0154] 实施例6:

[0155] 涂覆有柠檬酸 (0.27g ~ 0.41g) 和乳酸 (0.34g) 的100%壳聚糖纤维无纺布 (1.35g), 以提供标称20% ~ 30%三元酸和25%一元酸的组合物。

[0156] 实施例7:

[0157] 涂覆有柠檬酸 (0.81g ~ 0.94g) 和乳酸 (0.41g) 的100%壳聚糖纤维无纺布 (1.35g), 以提供标称60% ~ 70%三元酸和30%一元酸的组合物。

[0158] 实施例8:

[0159] 涂覆有柠檬酸 (0.04g) 和乳酸 (0.2g) 的100%壳聚糖纤维无纺布 (1.35g), 以提供标称3%三元酸和15%一元酸的组合物。

[0160] 实施例9:

[0161] 涂覆有柠檬酸 (0.34g) 和乳酸 (0.2g) 的100%壳聚糖纤维无纺布 (1.35g), 以提供标称25%三元酸和15%一元酸的组合物。

[0162] 实施例10:

[0163] 涂覆有柠檬酸 (0.81g) 和乳酸 (0.27g) 的100%壳聚糖纤维无纺布 (1.35g), 以提供标称60%三元酸和20%一元酸的组合物。

[0164] 实施例11:

[0165] 涂覆有柠檬酸 (0.41g) 和乳酸 (0.34g) 的100%壳聚糖纤维无纺布 (1.35g), 以提供标称30%三元酸和25%一元酸的组合物。

[0166] 实施例12:

[0167] 涂覆有柠檬酸 (0.54g) 和乳酸 (0.34g) 的100%壳聚糖纤维无纺布 (1.35g), 以提供标称40%三元酸和25%一元酸的组合物。

[0168] 实施例13:

[0169] 涂覆有柠檬酸 (0.54g) 和乳酸 (0.41g) 的100%壳聚糖纤维无纺布 (1.35g), 以提供标称40%三元酸和30%一元酸的组合物。

[0170] 伤口敷料实例

[0171] 实施例14:

[0172] 将标称2g的100%壳聚糖纤维无纺布放入含0.6g柠檬酸的8g去离子水中来制备本发明的组合物。将组合物覆在非网状聚氨酯泡沫体的表面上并使其干燥。然后将含有本发明的干燥组合物的所述泡沫体粘接到远离结合的聚氨酯膜层的聚氨酯泡沫体上, 以形成伤口接触层。

[0173] 实施例15:

[0174] 将标称2g的100%壳聚糖纤维无纺布放入含0.6g柠檬酸的8g去离子水中来制备本发明的组合物。将组合物覆在纺织粘胶纤维织物的表面上并使其干燥。

[0175] MBEC试验1

[0176] 为了确定抗微生物剂对各种微生物的生物膜的功效,进行MBEC(最小生物膜消除浓度)试验。

[0177] MBEC试验是用于确定抗微生物剂对各种微生物的生物膜的功效的高通量筛选试验。MBEC生物膜接种器由具有96个桩钉(pegs)的塑料盖和相应的底部件组成。有两种类型的底部件可以与MBEC盖一起使用。一类底部件包含96个独立孔。这些独立孔使得能在同一个桩钉盖上生长不同的微生物。另一类底部件是只能含有单一微生物的波纹槽基底。在批处理条件(无营养物质流入或流出独立孔)下通过轻微混合在桩钉上定植生物膜。将定植的生物膜转移到新的96孔板用于抗微生物功效测试。该试验的设计能通过重复样品同时测试多种浓度的多种灭生物剂,使该试验成为有效的筛选工具。

[0178] 测试微生物

[0179] 绿脓假单胞菌ATCC 13359

[0180] 溶血葡萄球菌

[0181] MRSA 308

[0182] 测试的样品

[0183] 对照:磷酸盐缓冲液(PBS)

[0184] 样品A:含Ag(标称1%)和乳酸的100%壳聚糖纤维无纺布,以提供标称25%的一元酸组合物(比较样品)

[0185] 样品B:含Ag(标称1%)羧甲基纤维素纤维无纺布(比较样品-Aquacel Ag®)

[0186] 样品C:含乳酸的100%壳聚糖纤维无纺布,以提供标称25%的一元酸组合物(比较样品)

[0187] 样品D:含乙酸的100%壳聚糖纤维无纺布,以提供标称25%的一元酸组合物(比较样品)

[0188] 样品E:含柠檬酸的100%壳聚糖纤维无纺布,以提供标称25%的三元酸组合物(实施例3)

[0189] 细菌接种物的制备

[0190] 从胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)平板或脑心浸液琼脂(BHIA)平板中收获每种微生物的24小时培养物,并悬浮于20ml的胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)或20ml的脑心浸液肉汤(BHIB)中。将所得细菌悬浮液稀释,以得到初始 $OD_{590}=0.10\pm 0.03$,这对应于 10^8cfu ml^{-1} 的细菌浓度。将该初始接种物进一步系列稀释6次以表示逐渐降低的细菌加载量(即 10^7 、 10^6 、 10^5 、 10^4 、 10^3cfu^{-1})。每种生物体的起始细菌浓度典型地为 $1\times 10^8\pm 5\times 10^7\text{cfu ml}^{-1}$ 。

[0191] MBEC试验

[0192] 在 37°C 、50rpm的条件下,每种微生物的生物膜在微量滴定板的栓盖(pin lid)突起上生长48小时。48小时后取下栓盖,在磷酸盐缓冲液(PBS)中短暂洗涤以去除浮游细菌,然后置于试剂挑战板中24小时。为了制备用于伤口敷料的挑战板,使用无菌剪刀剪下 1cm^2 片,并放入微量滴定板的指定孔中。通过称出 $30\text{mg}\pm 3\text{mg}$ 每种颗粒制剂到微量滴定板的

孔中,来制备用于颗粒试验试剂的挑战板。然后用150 μ l的PBS活化伤口敷料和颗粒。处理后,将栓盖突起用PBS洗涤两次,然后转移到200 μ l中和剂中并置于超声波水浴中5分钟,以回收残存的附着细菌。在所得回收肉汤上进行系列稀释,并使用滴板来定量回收的细菌。除非另有说明,所有样品一式三份进行测试。

[0193] 结果示于表1及图1至3中。图1至3中的结果涉及样品B、C和E。

[0194] 从图1至3所示的图可以清楚地看出,包括涂覆有三元酸的壳聚糖的样品E对测试的所有三种微生物均有效。包括涂覆有一元酸的壳聚糖纤维的样品C显示出对测试的所有三种微生物的微生物浓度。最后,包括含银的羧甲基纤维素的样品B显示出对溶血葡萄球菌有良好的结果,但对绿脓假单胞菌ATCC 13359和MRSA 308无效。

样品	生物体					
	绿脓假单胞菌 (菌株 1)	绿脓假单胞菌 (菌株 2)	粪肠球菌 (E.faccillis) (VRE)	MRSA	表皮葡萄球菌 (S. epidermidis)	溶血葡萄球菌 (S. haemolyticus)
A	与未处理 对照相当	与未处理 对照相当	>Log 4	介于 Log 2 和>Log 4 之间	>Log 4	>Log 4
[0195] B	\leq Log 3	与未处理 对照相当	与未处理对 照相当	介于 Log 2 和>Log 4 之间	Log 2	>Log 4
C	与未处理 对照相当	\leq Log 2	>Log 4	介于 Log 2 和>Log 4 之间	>Log 4	>Log 4
D	>Log 4	\leq Log 3	>Log 4	介于 Log 2 和>Log 4 之间	>Log 4	\leq Log 2
E	>Log 4	>Log 4	>Log 4	>Log 4	>Log 4	>Log 4

[0196] 表1:MBEC试验后的测试结果

[0197] CDC反应器模型1

[0198] 使用CDC反应器方法确定七种伤口敷料对三种细菌的生物膜去除能力。

[0199] 测试微生物

[0200] 溶血葡萄球菌NCTC 11042

[0201] 绿脓假单胞菌ATCC 10434

[0202] 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌308

[0203] 测试的样品

[0204] 对照:磷酸盐缓冲液 (PBS)

[0205] 样品F:含15%乳酸和3%柠檬酸的100%壳聚糖纤维无纺布。这等同于1.35g壳聚糖、0.2g乳酸和0.04g柠檬酸(实施例8)。

[0206] 样品G:含15%乳酸和25%柠檬酸的100%壳聚糖纤维无纺布。这等同于1.35g壳聚

糖、0.2g乳酸和0.34g柠檬酸(实施例9)。

[0207] 样品H:含20%乳酸和60%柠檬酸的100%壳聚糖纤维无纺布。这等同于1.35g壳聚糖、0.27g乳酸和0.81g柠檬酸(实施例10)。

[0208] 样品I:含3%柠檬酸的100%壳聚糖纤维无纺布。这等同于1.35g壳聚糖和0.04g柠檬酸(实施例2)。

[0209] 样品J:含25%柠檬酸的100%壳聚糖纤维无纺布。这等同于1.35g壳聚糖和0.34g柠檬酸(实施例3)。

[0210] 样品K:含60%柠檬酸的100%壳聚糖纤维无纺布。这等同于1.35g壳聚糖和0.81g柠檬酸(实施例4)。

[0211] 样品按照前述方法制备。

[0212] 敷料样品在使用前剪成约 1.5cm^2 的片。磷酸盐缓冲盐水(PBS)用作对照。

[0213] 细菌接种物的制备

[0214] 使用无菌拭子从胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)平板收获测试细菌的24小时培养物,并重悬于20ml的胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)中。将细菌悬浮液稀释,以得到 $\text{OD}_{590}=0.10\pm 0.03$,这对应于 $108\pm 5\times 10^7\text{cfu}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的细菌浓度。将其在TSB中进一步稀释并用作含有试样的CDC反应器的接种物。将CDC反应器在 37°C 下孵育48小时,以50rpm振荡以促进生物膜生长。

[0215] 生物膜处理

[0216] 48小时后,从CDC反应器中取出试样,并用无菌PBS洗涤3次以除去浮游细菌。然后将洗涤的试样夹在两个 1.5cm^2 的敷料样品之间来进行处理。在测试前,通过向每个 1.5cm^2 片中加入 $350\mu\text{l}$ PBS(75%饱和度)来活化敷料。对于绿脓假单胞菌,将对照试样浸没在2ml PBS中,(或对于溶血葡萄球菌和MRSA的情况,浸没在2ml PBS+0.1%TSB中)。所有样品均一式三份进行测试。在24小时处理后从试样中回收微生物,并通过系列稀释和滴板定量。

[0217] 结果示于图4至图6中。

[0218] 从图4至图6所示的图可以清楚地看出,样品G、样品H和样品K对测试的所有三种微生物均有效。样品G和样品H包括涂覆有三元酸和一元酸的壳聚糖纤维。样品K包括涂覆有更高量的三元性酸的壳聚糖纤维。虽然样品F、样品I和样品J对耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌308有效,但它们对溶血葡萄球菌NCTC 11042和绿脓假单胞菌ATCC 10434的不太有效。

[0219] CDC反应器模型的结果显示,相对于较低的量(约25%或更低),涂覆有增加量的三元酸(如约60%)的壳聚糖对微生物更有效。此外,结果表明包括一元酸与三元酸能够有效减少三元酸的需要量,例如,将三元酸的量减少到约25%。

[0220] CDC反应器模型2

[0221] 使用CDC反应器方法确定六种伤口敷料对两种细菌的生物膜去除能力。

[0222] 测试微生物

[0223] 溶血葡萄球菌NCTC 8325

[0224] 绿脓假单胞菌ATCC 10434

[0225] 测试的样品

[0226] 对照:磷酸盐缓冲液(PBS)

[0227] 样品L:含25%乳酸和30%柠檬酸的100%壳聚糖纤维无纺布。这等同于1.35g壳聚糖、0.34g乳酸和0.41g柠檬酸(实施例11)。

[0228] 样品M:含25%乳酸和40%柠檬酸的100%壳聚糖纤维无纺布。这等同于1.35g壳聚糖、0.34g乳酸和0.54g柠檬酸(实施例12)。

[0229] 样品N:含30%乳酸和40%柠檬酸的100%壳聚糖纤维无纺布。这等同于1.35g壳聚糖、0.41g乳酸和0.54g柠檬酸(实施例13)。

[0230] 样品O:100%壳聚糖纤维无纺布。

[0231] 样品P:含25%乳酸的55%壳聚糖纤维/45%粘胶纤维纤维无纺布。这等同于0.74g壳聚糖纤维、0.61g粘胶纤维纤维和0.34g乳酸。

[0232] 样品Q:包括含银离子的抗生物膜制剂的羧甲基纤维素无纺布。

[0233] 样品按照前述方法制备。

[0234] 敷料样品在使用前剪成约 1.5cm^2 的片。磷酸盐缓冲液(PBS)用作对照。

[0235] 细菌接种物的制备

[0236] 从胰蛋白胨大豆琼脂(TSA)平板收获每种细菌的24小时培养物,并重悬于20ml的胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)中。将所得细菌悬浮液稀释,以得到初始 $OD_{590}=0.10\pm 0.03$,这对应于 $10^8\pm 5\times 10^7\text{cfu ml}^{-1}$ 的细菌浓度。在TSB中将其进一步稀释至约 10^7cfu ml^{-1} ,并用作CDC反应器的初始接种物。将CDC反应器在 37°C 下孵育24小时和72小时,以50rpm振荡以促进生物膜生长。

[0237] 生物膜处理

[0238] 24小时和72小时后,从CDC反应器中取出试样,并用无菌磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤3次以除去浮游细菌。然后通过将每个洗涤的试样夹在伤口敷料样品材料的两片之间来进行处理。在测试前,通过加入含1% TSB的 $350\mu\text{l}$ PBS来活化敷料。将对照试样浸没在含有1% TSB的2ml PBS中。在24小时处理期后,将试样放置在2ml中和剂中并置于超声波处理15分钟以回收残存的附着细菌。在所得回收肉汤上进行系列稀释,并使用滴板来定量回收的细菌。所有样品均一式三份进行测试。

[0239] 结果示于图7至图10中。

[0240] 图7显示了用样品伤口敷料处理24小时后,从预形成24小时的生物膜回收的活绿脓假单胞菌的数量。对照用PBS+1% TSB处理。

[0241] 图8显示了用样品伤口敷料处理24小时后,从预形成72小时的生物膜回收的活绿脓假单胞菌的数量。对照用PBS+1% TSB处理。

[0242] 图9显示了用样品伤口敷料处理24小时后,从预形成24小时的生物膜回收的活金黄色葡萄球菌的数量。对照用PBS+1% TSB处理。

[0243] 图10显示了用样品伤口敷料处理24小时后,从预形成72小时的生物膜回收的活金黄色葡萄球菌的数量。对照用PBS+1% TSB处理。

[0244] 从图7至图10所示的图可以清楚地看出,本发明的样品L、样品M和样品N对测试的两种微生物均有效。虽然样品Q和样品P对金黄色葡萄球菌有效,但对绿脓假单胞菌ATCC 10434不太有效。

[0245] MBEC试验2

[0246] 测试微生物

[0247] 金黄色葡萄球菌NCTC 8325

[0248] 测试试剂

[0249]	对照	磷酸盐缓冲盐水 (PBS)+1%胰蛋白胨大豆肉汤
	1	含50%柠檬酸和25%乳酸的2.5%壳聚糖
	2	含30%柠檬酸和25%乳酸的壳聚糖
	3	含50%柠檬酸和25%乳酸的壳聚糖
	4	含15%柠檬酸和25%乳酸的壳聚糖
	5	含50%柠檬酸的壳聚糖

[0250] 通过使用非水性溶剂涂覆具有指定酸的脱乙酰化程度 >75% 的壳聚糖颗粒制备所有的测试试剂。这形成了颗粒形式的固体壳聚糖盐。然后使用去离子水将颗粒混合到凝胶制剂中,凝胶含有5%~10%的壳聚糖盐。

[0251] MBEC试验

[0252] 在37°C下,金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 生物膜在微量滴定板的栓盖突起上生长24小时和72小时。24小时和72小时后取出栓盖,在灭菌的磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中短暂洗涤以去除浮游细菌,然后置于试剂挑战板中24小时。为了制备挑战板,将一定量的每种凝胶制剂置于微量滴定板的孔中。将阳性和阴性对照栓盖突起置于PBS+1%TSB中。在处理,栓盖突起在PBS中洗涤两次,然后置于中和剂中。对平板进行超声波处理在所得回收肉汤上进行系列稀释,并使用滴板来定量回收的细菌。所有样品均一式三份进行测试。

[0253] 二十四小时生物膜

[0254] 如图11所示,在37°C下处理24小时后,所有测试试剂均成功地减少了从预形成24小时内的金黄色葡萄球菌生物膜回收的活细菌的数量。这表现为与未处理的对照相比,活细菌减少了 $5.84 \pm 0.53 \log$ 。

[0255] 七十二小时生物膜

[0256] 如图12所示,在37°C下处理24小时后,所有测试试剂均成功地减少了从预形成72小时内的金黄色葡萄球菌生物膜回收的活细菌的数量。对于每种试剂,这表现为与未处理的对照相比,活细菌减少了 $5.52 \pm 0.22 \log$ 。

[0257] 当然应当理解,本发明并不限于仅通过示例的方式描述的前述实施例。

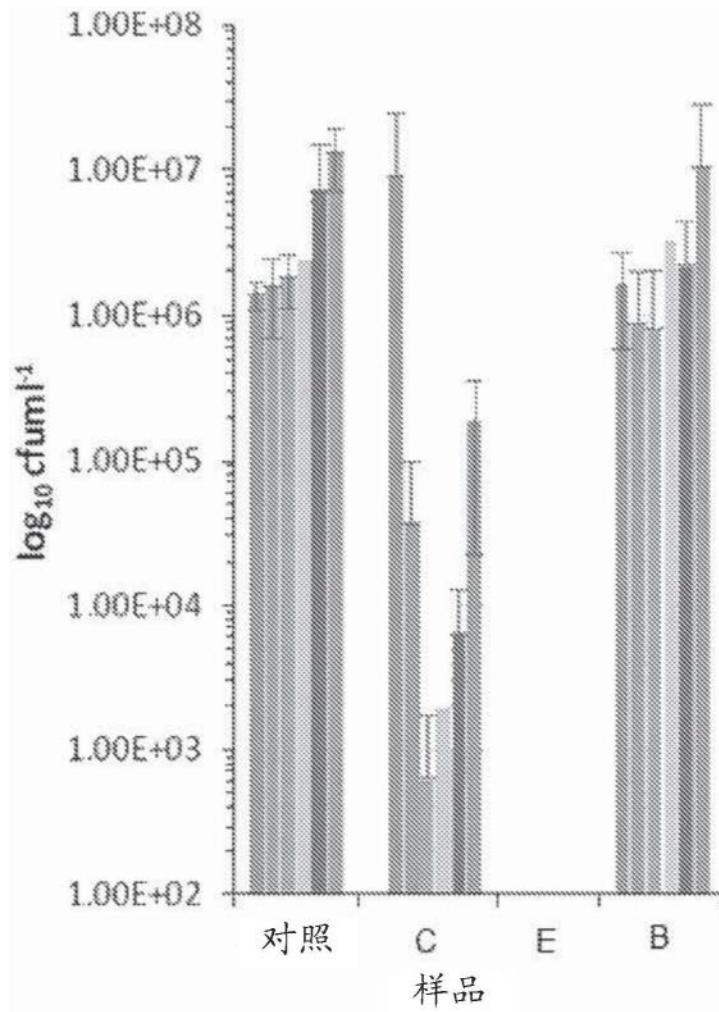


图1

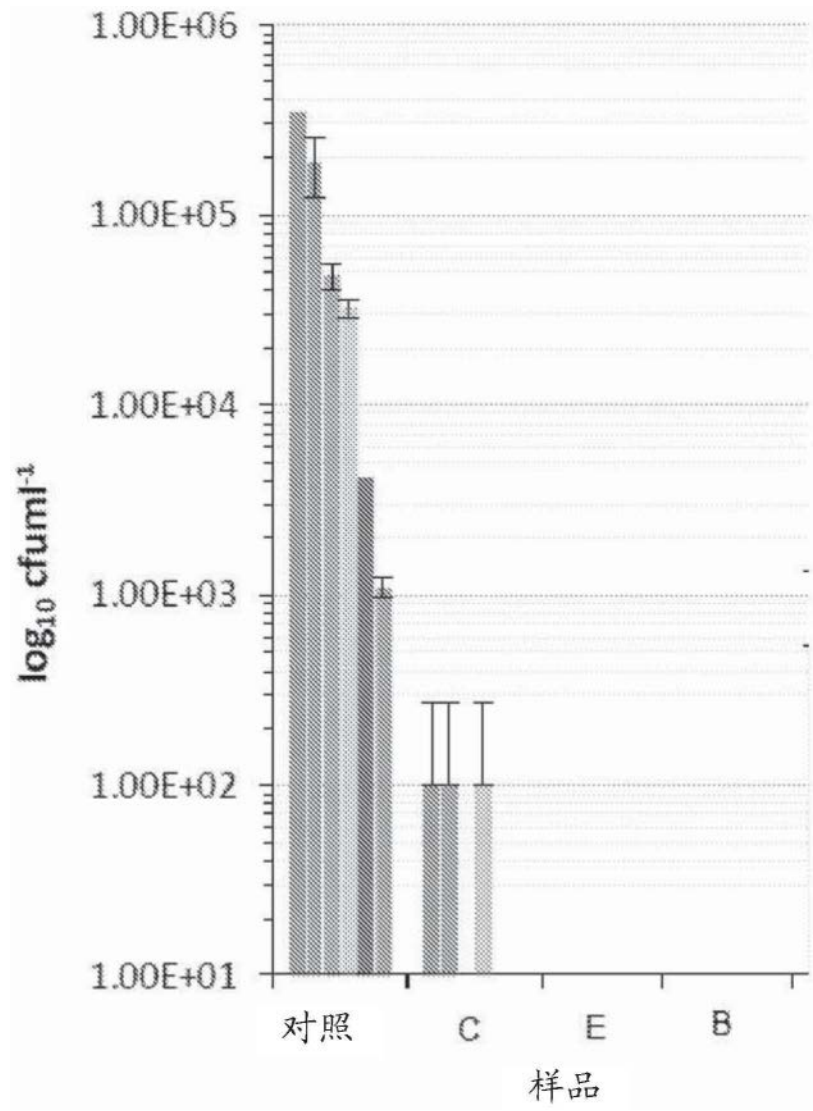


图2

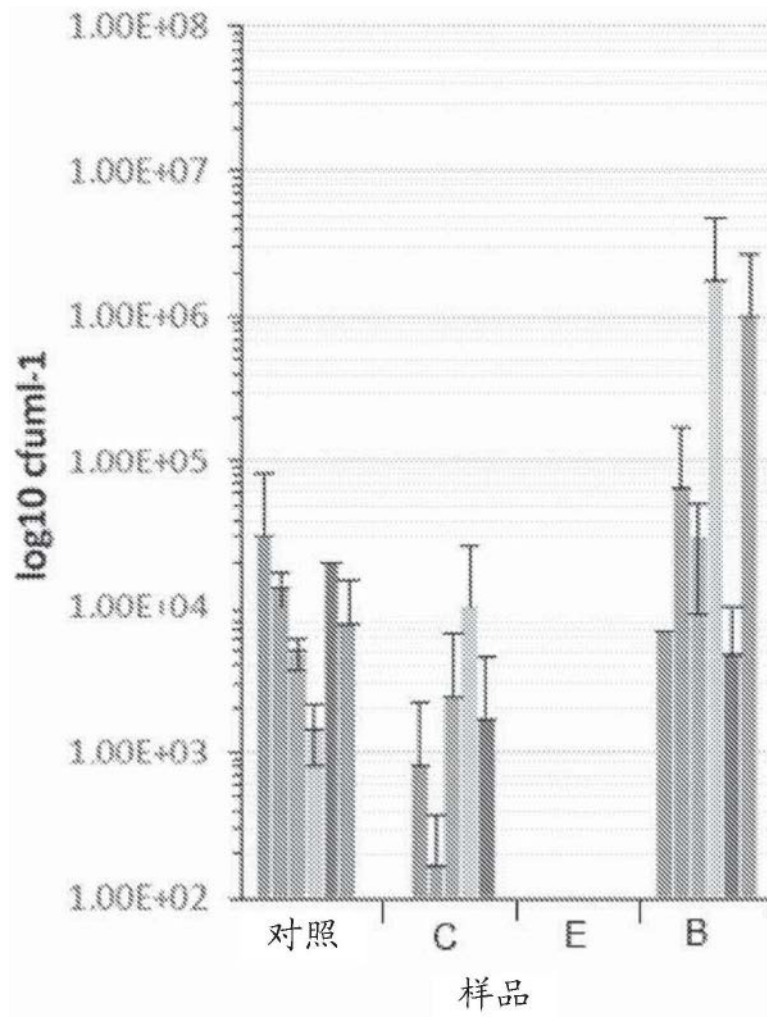


图3

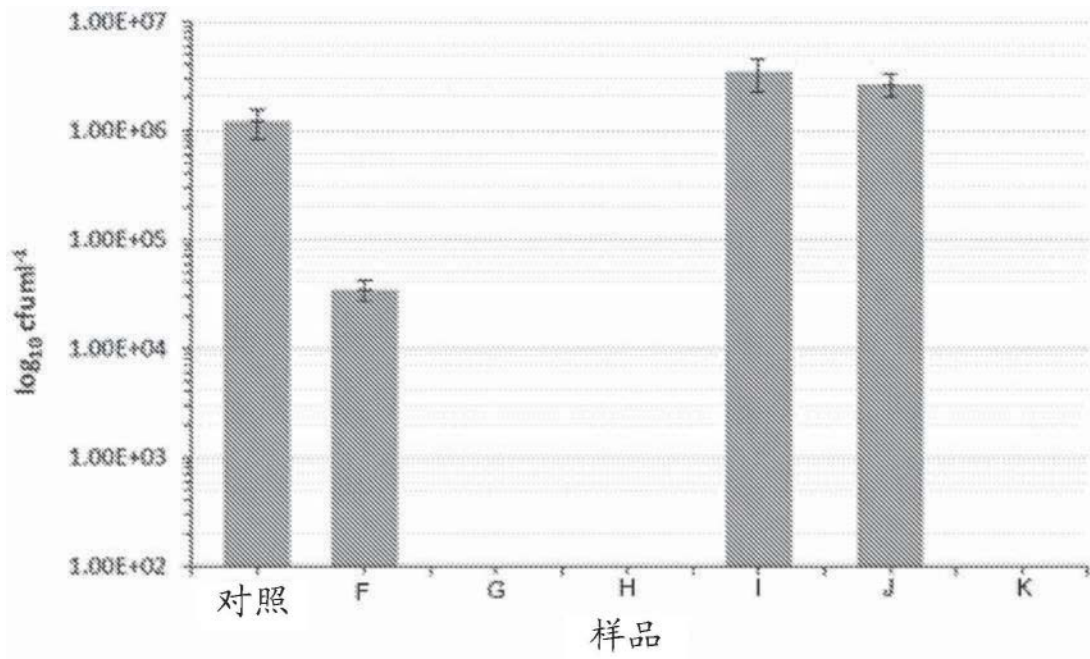


图4

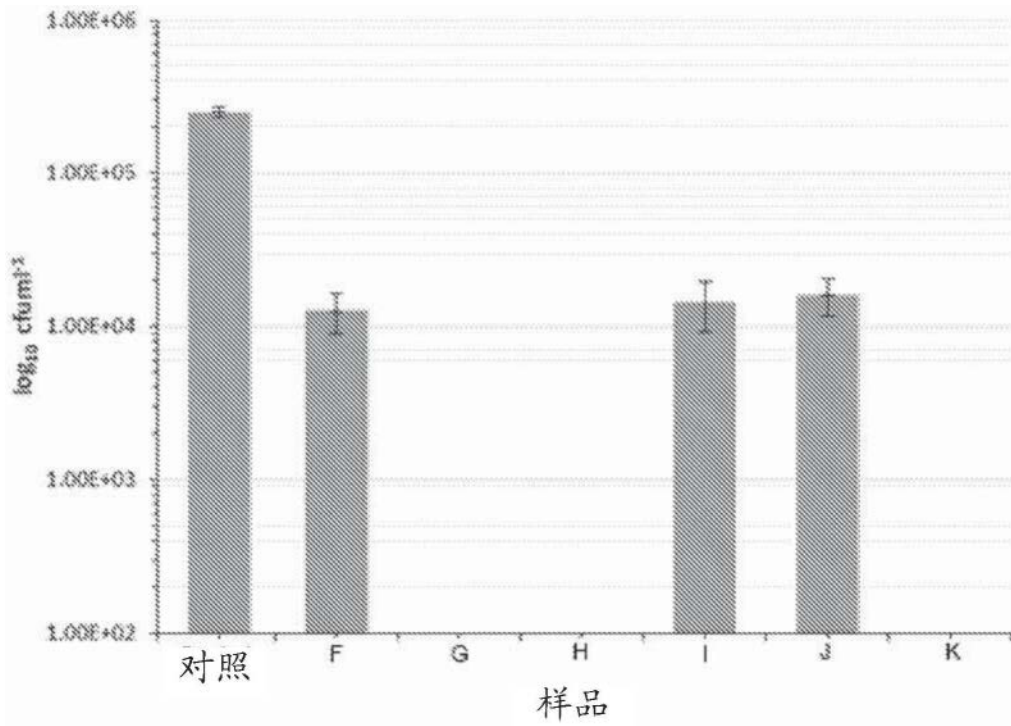


图5

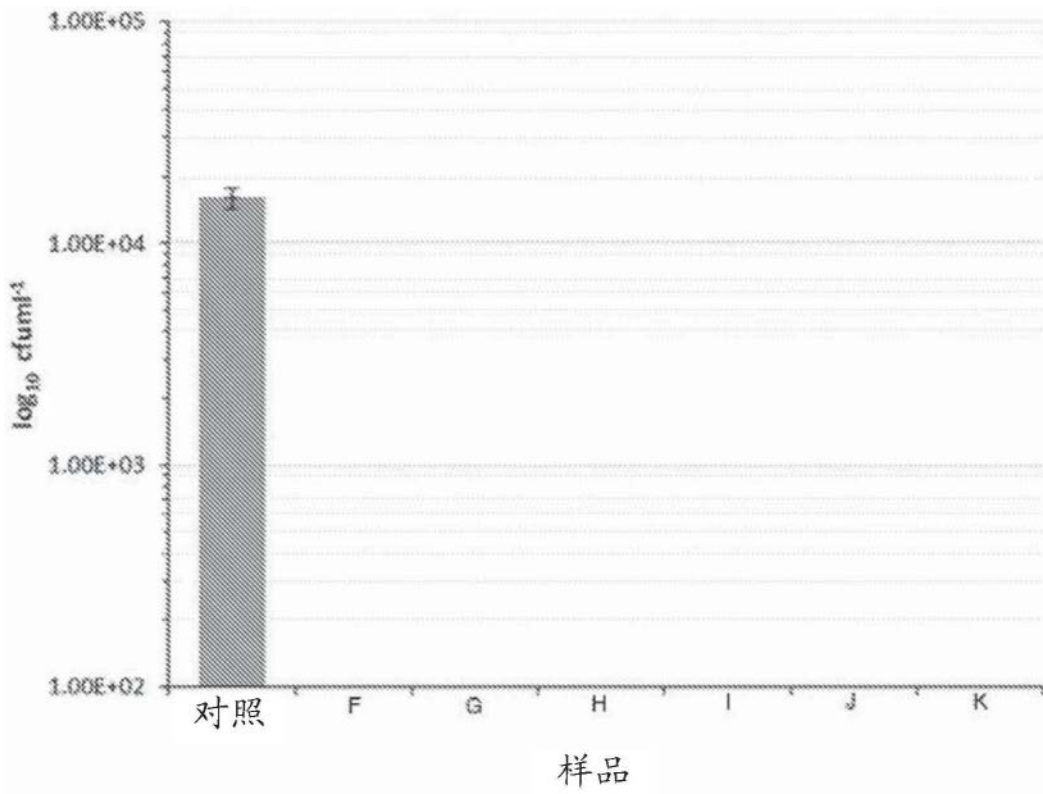


图6

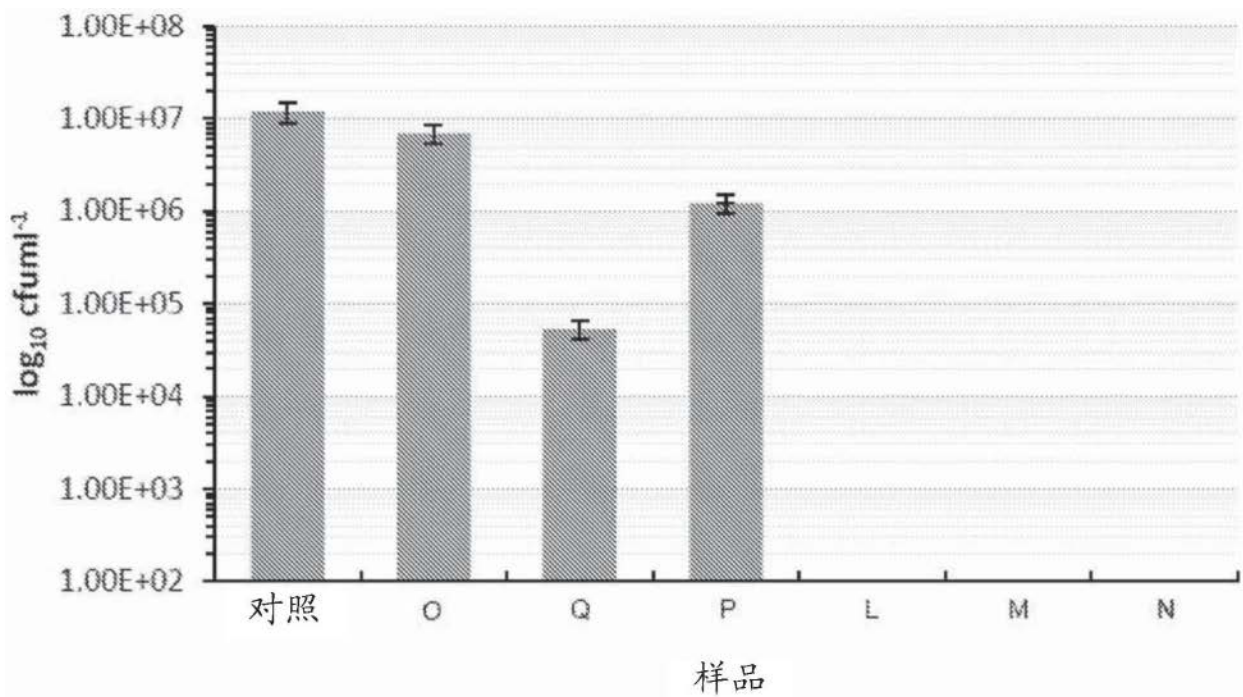


图7

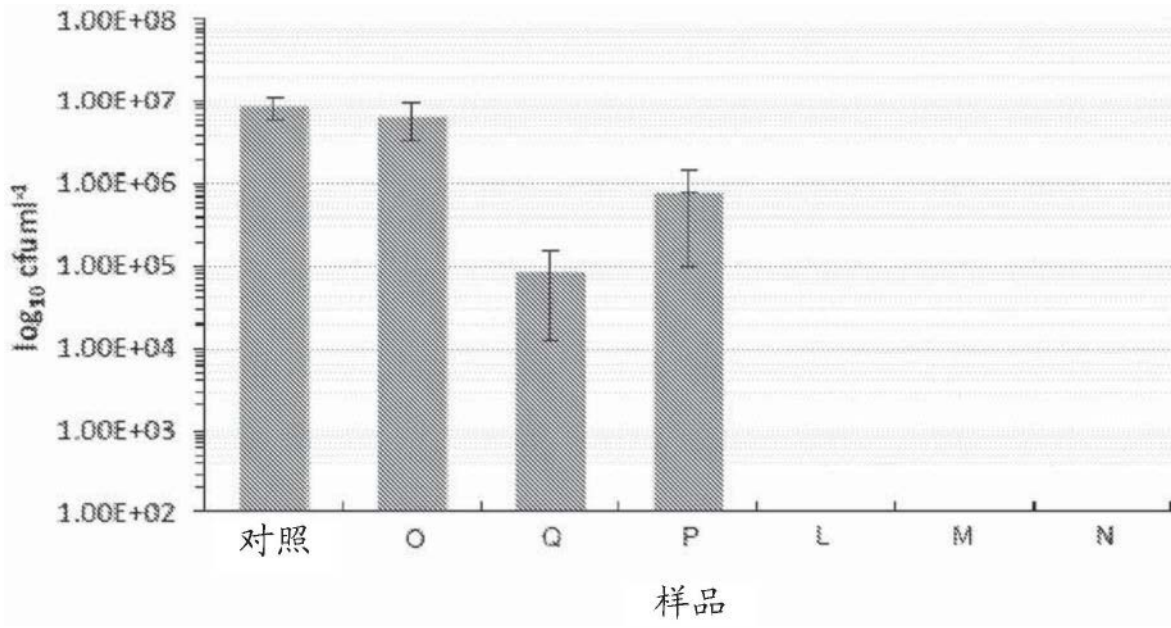


图8

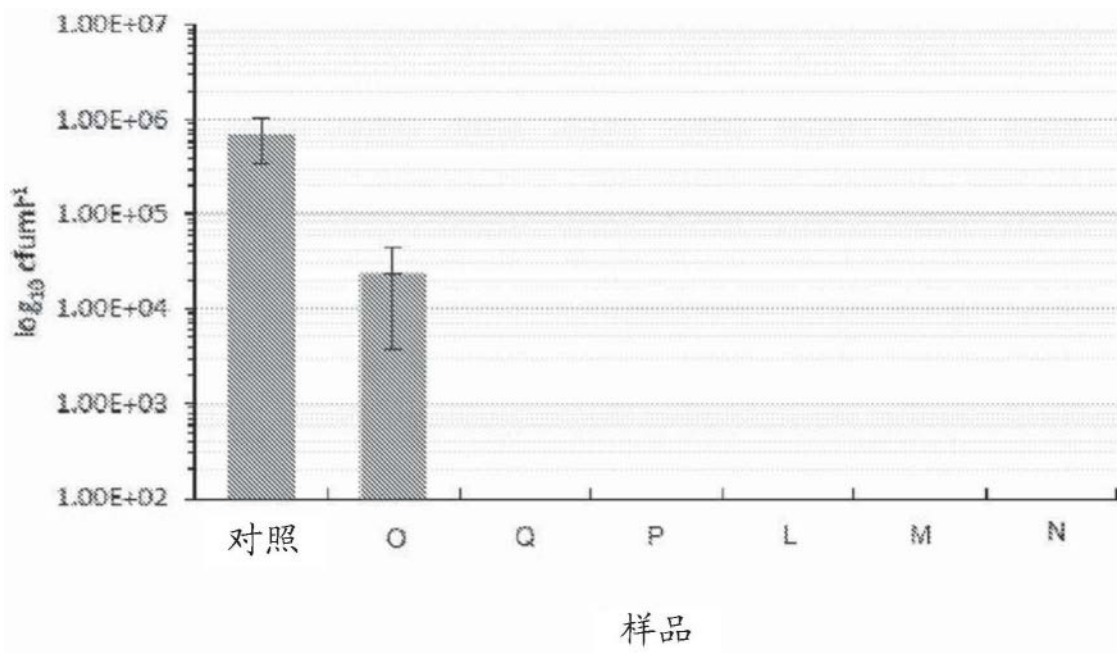


图9

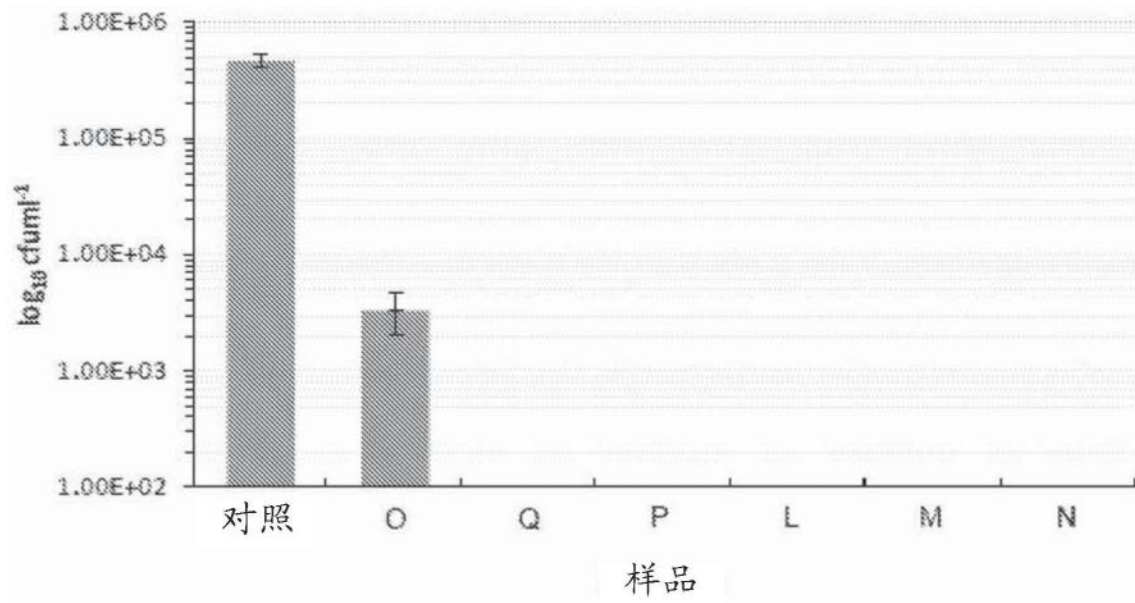


图10

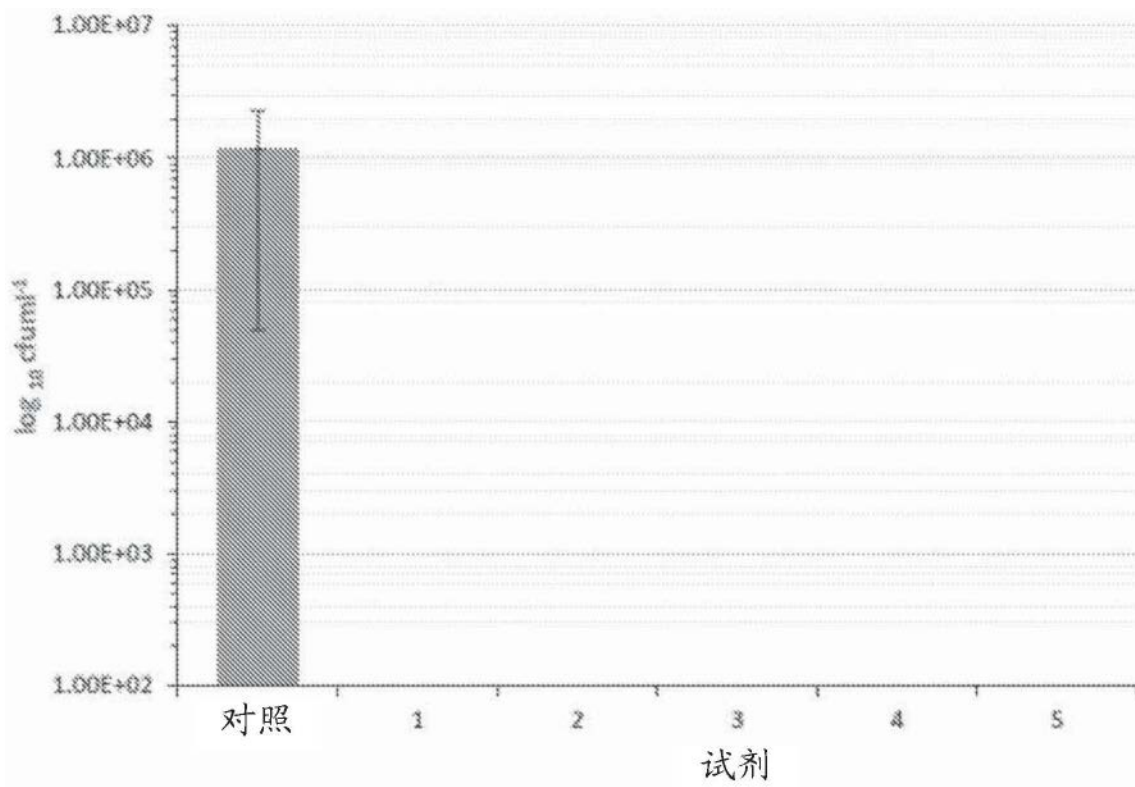


图11

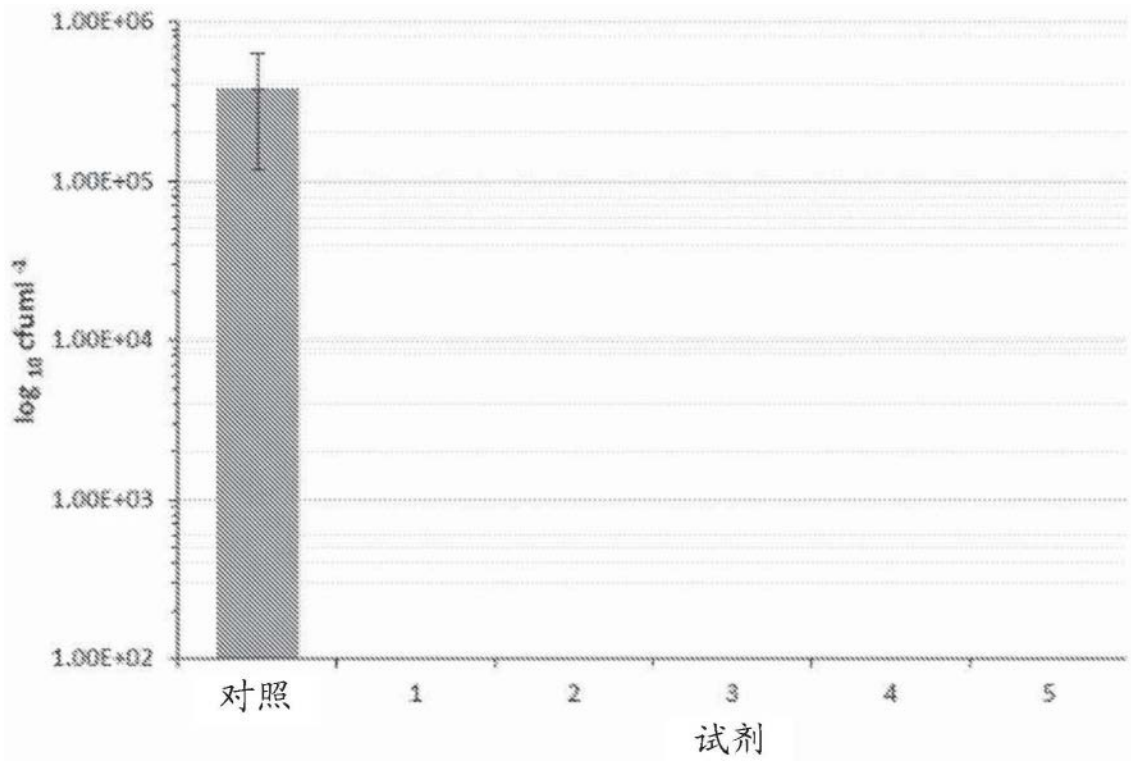


图12