

pH 依赖的卡波姆成膜敷料对创面愈合的影响

储云高¹ 朱世辉²

(1 上海市医疗器械化妆品审评核查中心医疗器械审评二部; 2 中国人民解放军海军军医大学第一附属烧伤科)

摘要: 目的: 依据正常皮肤-清洁创面-感染创面的 pH 差异, 设计 pH 依赖的卡波姆成膜敷料, 观察期对创面愈合的影响。

方法: 配置不同浓度卡波姆液体成膜敷料, 通过在不同 pH 琼脂板上涂抹, 观察成膜率及成膜时间, 比较成膜能力, 筛选 pH 敏感的卡波姆液体成膜敷料配方。检测 SD 大鼠正常皮肤、清洁创面、金黄色葡萄球菌感染创面的 pH, 并在正常皮肤、清洁创面、金黄色葡萄球菌感染创面上使用前述筛选的卡波姆液体成膜敷料, 观察是否成膜。并针对筛选配方开展生物相容性检测。

结果: 0.25% 的卡波姆液体成膜敷料在 pH 分别为 5、6、7、8 的琼脂平板上成膜率分别为 $12.91 \pm 3.47\%$ 、 $19.26 \pm 3.59\%$ 、 $36.49 \pm 7.81\%$ 、 $54.34 \pm 6.51\%$, 成膜时间分别为 205.40 ± 13.16 、 179.80 ± 12.97 、 148.60 ± 17.07 、 121.80 ± 10.33 分钟, 具有显著差异, $p < 0.05$, 筛选为目标配方。SD 大鼠正常皮肤、清洁创面、金黄色葡萄球菌感染创面的 pH 分别为 6.02 ± 0.48 、 6.82 ± 0.31 、 7.59 ± 0.33 , 3 者间具有显著差异, $p < 0.05$ 。0.25% 的卡波姆液体成膜敷料在正常皮肤上使用后难以成膜, 在清洁创面和感染创面上形成肉眼可见的物理薄膜。0.25% 的卡波姆液体成膜敷料细胞毒性 1 级、皮下埋植无刺激、无致敏性。

结论: 0.25% 的卡波姆液体成膜敷料具有较好的 pH 敏感性, 在正常皮肤上不易成膜, 在感染创面上具有较好的成膜性, 起到物理屏障作用, 且生物相容性良好, 是创面治疗的良好选择。

前言

创面是日常生活中的常见疾病, 尤其是随着老龄化的进展, 诸如静脉性溃疡、褥疮等慢性创面的发病率逐年增长, 给医疗卫生体系带来了巨大的挑战。^[1, 2] 创面形成导致局部屏障功能缺失, 创面组织直接与外界环境接触, 会导致活性因子流失、失活, 以及外部的病原微生物侵袭还将导致创面感染, 而局部细菌入血形成脓毒血症更将威胁患者生命。^[3, 4] 为了避免外界环境对创面组织的干扰以及减少病原微生物的侵袭, 依托于各类敷料的换药是创面治疗的基础措施。

液体敷料是创面换药常用的敷料之一, 其通过所含的成膜成分, 喷洒或涂抹于创面后形成物理屏障, 维持创面微环境、保护创面免于病原微生物侵袭。^[5] 其使用方便、随形性好等优势使之在临床广泛使用。但使用过程中难免会累及创面周围正常皮肤, 形成的物理薄膜会影响创面使用的舒适度, 导致患者依从性降低。另外, 对于清洁创面, 物理屏障主要起预防作用, 但对于感染创面, 对物理屏障的阻菌性要求要显著高于清洁创面, 故在正常皮肤-清洁创面-感染创面上具有不一样的成膜性能改善液体敷料的有效性和舒适度。

本研究针对正常皮肤-清洁创面-感染创面的 pH 差异^[6], 依赖于卡波姆在不同 pH 的条件下具有不同成膜性的特征, 探索适宜的卡波姆浓度, 开发具有 pH 敏感性的卡波姆液体成膜敷料。

方法

1. 卡波姆液体敷料 pH 敏感浓度探索

配置 0.1%、0.25%、0.5%、0.75% 的卡波姆液体敷料 (同时加入 2% 甘油作为辐照保护剂), 20K Gy 辐照灭菌。取 1 mL 均匀涂抹于预配置的具有不同 pH 的琼脂凝胶上, 琼脂凝胶的 pH 分别为 5、6、7、8, 20℃、40% 湿度的环境中观察其成膜性, 记录完全成膜的时间, 并计算成膜率。成膜率计算公式为: 成膜率 (%) = 成膜面积/涂抹面积 * 100%。根据成膜时间和成膜率, 评估不同浓度卡波姆液体敷料在不同 pH 环境中的成膜能力, 筛选在低 pH 环境成膜能力较差但在高 pH 环境成膜能力较好的浓度, 作为后续配方。

2. 正常皮肤-清洁创面-感染创面 pH 检测

以 SD 大鼠作为研究对象, 常规备皮, 检测正常皮肤的 pH。在 SD 大鼠背部制备 3 cm 直径的创面, 常规换药 7 天, 待肉芽组织增生良好, 检测肉芽组织 pH。在 SD 大鼠背部制备 3 cm 直径的创面,

使用 10^6 cfu/mL 金黄色葡萄球菌菌悬液局部注射, 连续注射 3 天, 制备感染创面, 继续常规换药 4 天, 检测创面组织 pH。均采用皮肤 pH 检测仪检测, 每组重复 5 次。

3. 卡波姆液体成膜敷料在正常皮肤-清洁创面-感染创面成膜性检测

根据前述正常皮肤、清洁创面、感染创面制备方法制备正常皮肤、清洁创面、感染创面。取 1 mL 卡波姆液体成膜敷料涂抹, 观察是否在局部形成物理屏障。

4. 生物相容检测

卡波姆液体成膜敷料根据 GB/T 16886 开展生物相容检测, 检测项目包括细胞毒性、皮内埋植、致敏性, 评估其生物相容性, 重复 3 次。

结果

1. 不同浓度卡波姆液体敷料成膜的 pH 敏感性

不同浓度卡波姆液体敷料均具有一定成膜性, 在显微镜下可观察到明显的膜结构, 见图 1。其中, 0.1% 浓度卡波姆液体敷料在各 pH 琼脂平板上成膜性均较弱, 成膜时间需要较久; 0.25% 浓度卡波姆液体敷料在 pH=5 或 6 的琼脂平板上成膜性较弱, 成膜时间较长, 但在 pH=5 或 6 的琼脂平板上成膜性较强, 成膜时间明显缩短, 具有较好的 pH 敏感性; 0.5% 和 0.75% 在各 pH 琼脂平板上成膜性均较强, 成膜时间均较短, 但受 pH 影响较小。具体见表 1。选择 0.25% 浓度卡波姆液体敷料作为后续实验使用卡波姆液体成膜敷料。

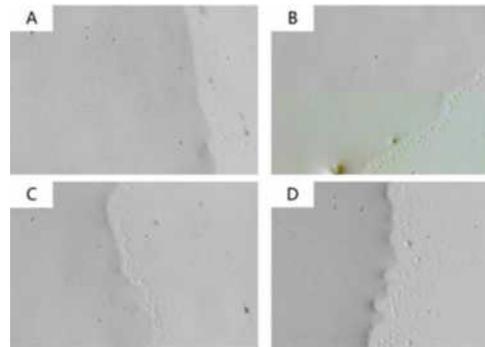


图 1. 卡波姆液体敷料成膜性。A~D 分别为 pH 5、6、7、8 条件下的成膜照片, 放大倍数 20 倍, 可以观察到均能成膜, 但随着 pH 的增长, 成膜性增强, 所成物理薄膜增厚。

表 1-1.成膜率(%, n=5)

	pH=5	pH=6	pH=7	pH=8
0.1%	5.20 ± 1.38	9.25 ± 1.61*	14.92 ± 2.90*	19.62 ± 1.86*
0.25%	12.91 ± 3.47	19.26 ± 3.59*	36.49 ± 7.81*	54.34 ± 6.51*
0.5%	21.60 ± 2.37	25.09 ± 3.15	40.95 ± 2.80*	60.35 ± 5.57*
0.75%	27.56 ± 3.40	33.40 ± 4.89	40.74 ± 5.56	61.16 ± 5.99*

*与前一 pH 值的检测数据有显著差异, p < 0.05

表 1-2.成膜时间(分钟, n=5)

	pH=5	pH=6	pH=7	pH=8
0.1%	279.80 ± 26.79	255.00 ± 36.74	228.60 ± 28.54	195.60 ± 10.29
	205.40 ± 13.16	179.80 ± 12.97*	148.60 ± 17.07*	121.80 ± 10.33*
0.25%	190.00 ± 18.36	155.00 ± 20.31*	146.80 ± 23.69	136.4 ± 25.28
	179.40 ± 11.01	164.60 ± 16.88	132.60 ± 21.43*	121.20 ± 20.19

*与前一 pH 值的检测数据有显著差异, p < 0.05

2.正常皮肤-清洁创面-感染创面 pH

SD 大鼠正常皮肤、清洁创面、金黄色葡萄球菌感染创面的 pH 分别为 6.02 ± 0.48、6.82 ± 0.31、7.59 ± 0.33, 3 者间具有显著差异, p < 0.05。

3.正常皮肤-清洁创面-感染创面成膜

卡波姆液体成膜敷料未能在正常皮肤上成膜,在清洁创面和感染创面上均形成物理屏障。

4.生物相容性

卡波姆液体成膜敷料细胞毒性采用 L929 细胞作为检测对象,采用直接接触法通过 MTT 检测细胞活性,细胞毒性为 1 级,无潜在细胞毒性。皮内埋植评分均为 0,为无刺激性。致敏实验评分均为 0,无致敏性。

讨论

创面治疗的关键在于局部形成临时屏障,保护创面免于外界环境的感染以及病原微生物的侵袭。^[3-4]基于此,临床上开发了诸如液体敷料、凝胶敷料、海绵敷料等一系列针对不同应用场景的敷料,以期在创面形成临时屏障。^[7,8]其中液体敷料和凝胶敷料以其良好的随形性和简单的使用方法,适用于基底不平整或性状不规则的创面使用,并基于其内含成膜剂,如海藻酸钠、卡波姆等,在使用部位通过局部交联成膜,其临时屏障作用。^[9]但在实际使用过程中,液体敷料涂抹或喷洒过程中难免累及创面周围的正常皮肤,一旦成膜后,将会导致患者体感较差,有局部牵拉感,甚至会因此影响早期的功能锻炼。

本研究基于卡波姆的成膜特性,通过调节浓度,并基于正常皮肤-清洁创面-感染创面的 pH 差异,开发了具有 pH 敏感的液体成膜敷料。在浓度选择上,虽然不同浓度卡波姆均表现出在不同 pH 条件下具有不同成膜性,成膜时间也有差异,但当浓度较低时(0.1%),即使 pH 较高,也无法形成良好的物理屏障。而当浓度较

高时(≥0.5%),即使 pH 较低,也会显著成膜。故最终选择 0.25% 浓度,在正常皮肤的 pH 条件下(5~6)成膜性较弱,但在创面 pH 条件下(7~8)可显著成膜,符合开发的要求。^[6]

本研究进一步验证了正常皮肤和创面的 pH,提示正常皮肤 pH 较低,创面形成后因渗液渗出等原因,导致局部 pH 趋近于中性(pH=7),但当感染时,创面 pH 进一步增高,甚至达到 8。该结果进一步证实 pH 敏感的液体成膜敷料具有良好的临床应用前景。另外,本研究所开发的卡波姆液体成膜敷料生物相容良好,亦满足临床需求。

综上所述,本研究开发了 pH 敏感的卡波姆液体成膜敷料,有效改善了液体敷料的使用体感,并满足临床生物相容性需求,是创面治疗的良好选择。

参考文献:

[1]Jin J, Chen ZL, Xiang Y, et al. Development of a PHMB hydrogel - modified wound scaffold dressing with antibacterial activity[J]. Wound Repair and Regeneration, 2020, 28(4):480-492.

[2]Hu XY, Wang XX, Hong XD, et al. Modification and utility of a rat burn wound model [J]. Wound Repair and Regeneration, 2020, 28(6):797-811.

[3]Jin J, Zheng XF, He F, et al. Therapeutic efficacy of early photobiomodulation therapy on the zones of stasis in burns: an experimental rat model study [J]. Wound Repair and Regeneration, 2018, 26(6):426-436.

[4]Jin J, Peng Y, Chen ZL, et al. Epidemiological retrospective analysis in major burn patients: single centre medical records from 2009 to 2019[J]. Updates in Surgery, 2022, 74(4):1453-1459.

[5]唐正东李祥. 优复止液体敷料治疗跖疣 62 例临床疗效观察[J]. 中国中西医结合皮肤性病杂志, 2022, 21(5):428-430.

[6]陈旭林, 汪幸福, 王永杰. 碱性成纤维细胞生长因子促进烧伤创面愈合作用与创面 pH 值之间的关系[J]. 安徽医科大学学报, 2001, 36(4):2.

[7]葛小静, 章宏伟, 史京萍, 等. 藻酸盐银联合水凝胶敷料对慢性创面愈合的作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2012, 16(3):4.

[8]任锴, 何金林, 张明祖, 等. 酸敏感型嵌段共聚物 mPEG-acetal-PIB 的合成、表征及用于构筑水凝胶敷料[J]. 化学学报, 2015, 73(10):1038-1046.

[9]余海洋, 游德淑, 顾晓诚, 等. 基于生物 3D 打印技术的芍药苷-海藻酸钠-明胶皮肤支架体外生物相容性研究[J]. 介入放射学杂志, 2022, 31(6):5.

基金支持:

上海市“科技创新行动计划”宝山转型发展科技专项(21SQBS00400);上海市环上大科技园专项政策科技创新专项资金(2021-HSD-8-1-004)。