

文章编号: 1004-7220(2025)05-1281-07

基于超声耦合的钛酸铜钡压电材料体外抗菌效应

陈泓宇¹, 汪毅², 陶钰顺¹, 黄彪宏³, 胡卫进^{3,4}, 李述军³, 吴强^{1*}, 矫义来^{3*}, 王燎^{1*}

(1. 上海交通大学医学院附属第九人民医院 骨科, 上海市骨科内植物重点实验室, 上海 200021;

2. 南京医科大学第一附属医院 骨科, 南京 210029; 3. 中国科学院金属研究所 沈阳材料科学国家实验室, 沈阳 110016;

4. 中国科学技术大学 材料科学与工程学院, 沈阳 110016)

摘要:目的 探讨钛酸铜钡($BaCuTiO_4$)压电涂层结合低强度脉冲超声激活其压电-催化协同效应在治疗植入体感染中的应用。方法 使用水热合成法在Ti-6Al-4V材料基体表面制备 $BaCuTiO_4$ 涂层,利用扫描电镜检测涂层表面形貌;通过压电力显微镜表征其压电性能。采用耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)生物膜体外模型,并以 $BaTiO_3$ 涂层为对照组,在施加低强度脉冲超声(1.0 W/cm^2 , 1 MHz, 10 min)干预后,通过平板计数法评估细菌存活率;通过共聚焦显微镜观察生物膜情况,评估 $BaCuTiO_4$ 涂层的生物膜清除能力;通过罗丹明b检测活性氧的生成情况,评估 $BaCuTiO_4$ 涂层催化生成活性氧的效率。结果 铜掺杂显著降低了涂层的压电系数(从 17.7 pm/V 降至 7.8 pm/V),使其压电性能更接近天然骨组织要求。在低强度脉冲超声激活下, $BaCuTiO_4$ 涂层使活性氧的生成效率提高了67.5%,同时能够有效破坏并清除MRSA形成的生物膜,其抗菌率达到90.5%。结论 $BaCuTiO_4$ 涂层通过压电-催化协同机制,实现了高效抗菌和生物膜清除功能,同时其压电性能与天然骨组织匹配,有助于植入体的骨整合。

关键词: 内植物感染; 压电材料; 铜; 声动力疗法; 抗菌效应; 活性氧

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2025.05.026

Antibacterial Effect of Barium Copper Titanate Piezoelectric Material Coupled with Ultrasound *in vitro*

CHEN Hongyu¹, WANG Yi², TAO Yushun¹, HUANG Biaohong³, HU Weijin^{3,4}, LI Shujun³, WU Qiang^{1*}, JIAO Yilai^{3*}, WANG Liao^{1*}

(1. Shanghai Key Laboratory of Orthopedic Implants, Department of Orthopedic Surgery, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200021, China; 2. Department of Orthopaedics, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China; 3. Shenyang National Laboratory for Materials Science, Institute of Metal Research, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; 4. School of Materials Science and Engineering, University of Science and Technology of China, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effects of copper-doped barium titanate ($BaCuTiO_4$) piezoelectric materials combined with low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) to activate their piezoelectric-catalytic synergistic effect for treating implant-associated infections. **Methods** $BaCuTiO_4$ coatings were

收稿日期: 2025-02-19; 修回日期: 2025-03-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(81772425, 82202660), 上海九院研究型医师项目(2022xyjxys-wl)

通信作者: 王燎, 主任医师, E-mail: wang821127@163.com; 矫义来, 教授, E-mail: yljiao@imr.ac.cn; 吴强, E-mail: cherishhopewuqiang@hotmail.com

* 为共同通信作者

synthesized on the surface of Ti-6Al-4V substrates using a hydrothermal method, and their surface morphology was characterized by scanning electron microscopy. The piezoelectric characteristics of the coatings were analyzed using a piezoresponse force microscope. An *in vitro* biofilm model of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) was used, with barium titanate (BaTiO_3) coatings serving as the control group. Under LIPUS intervention (1.0 W/cm^2 , 1 MHz, 10 min), the bacterial viability was assessed using colony counting to evaluate the antibacterial performance of the BaCuTiO_4 coatings. Confocal microscopy was used to observe biofilm viability in different groups, assessing the biofilm removal capability of the coatings. Reactive oxygen species (ROS) generation in each group was detected using Rhodamine b as a probe to evaluate the catalytic efficiency of the coatings in generating ROS. **Results** Copper doping significantly reduced the piezoelectric coefficient of the coating (from 17.7 pm/V to 7.8 pm/V), bringing its piezoelectric performance closer to the requirements of natural bone tissues. Under LIPUS activation, the BaCuTiO_4 coatings increased the generation efficiency of reactive oxygen species by 67.5% and effectively disrupted and removed biofilms formed by MRSA, achieving an antibacterial rate of 90.5%. **Conclusions** The BaCuTiO_4 coatings achieve efficient antibacterial and biofilm-clearing functions through a piezoelectric-catalytic synergistic mechanism. Their piezoelectric properties are well-matched with natural bone tissues, promoting implant osseointegration.

Key words: implant-associated infection; piezoelectric materials; copper; sonodynamic therapy; antibacterial effect; reactive oxygen species

骨科内植物感染是临床诊疗中的重大难题,其治疗失败率居高不下,不仅导致植入物功能丧失,更引发二次手术率升高及医疗成本激增^[1]。现行治疗策略以清创联合全身抗生素治疗为主,但对于耐药菌引起的内植物感染,因其形成的生物膜导致抗生素无法直接作用于细菌,从而显著降低治疗效果,常导致治疗失效^[2-3]。究其机制,致病菌通过表面黏附素介导的锚定作用,在植入物界面形成具有胞外聚合物基质保护的生物膜微环境,使抗生素渗透效率降低2~3个数量级,同时诱导免疫逃逸效应^[2]。

近年来,压电抗菌疗法因其非抗生素依赖性和物理杀菌特性,在植入物感染防治领域展现出独特优势^[4-5]。其作用机制包含双重路径:①压电材料通过机械应力诱导的压电势改变细菌膜电位,引发电穿孔效应导致胞质泄漏^[6];②低强度脉冲超声(low-intensity pulsed ultrasound, LIPUS)激活声敏剂产生细胞毒性活性氧(reactive oxygen species, ROS),通过氧化应激途径破坏细菌DNA及酶系统^[7-8]。钛酸钡(BaTiO_3)作为经典压电陶瓷,虽具有良好生物相容性,但其压电系数和骨组织($d_{33} \approx 8 \text{ pm/V}$)相差较大,同时自身电子-空穴结合牢固使得压电抗菌疗法的效果大大降低^[9-12]。而铜离子(Cu^{2+})可通过芬顿样反应增强ROS生成,并干扰细菌代谢关键酶活性,对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌

(MRSA)等常见骨科病原体展现广谱抑菌效果^[13-14]。以往研究发现, BaTiO_3 具有钙钛矿结构,氧离子形成“氧八面体”结构,Ti离子位于氧八面体的中央,Ba离子则处于8个氧离子构成的八面体的间隙里;用Cu、Ca、Zr等离子将处于八面体中的钛进行部分替代,是改良其压电活性的有效方法。通过铜掺杂 BaTiO_3 的晶体结构,使铜的生物活性和 BaTiO_3 的压电性能结合,从而提升涂层材料的功能水平^[15]。

基于此,本文创新性地采用离子掺杂策略构建铜改性 BaTiO_3 功能涂层,通过水热合成法在Ti-6Al-4V基体表面实现梯度化修饰。借助压电力显微镜(piezoresponse force microscope, PFM)系统表征涂层的结构演变及压电响应特性,并采用LIPUS辐照激活其压电-催化协同效应。通过构建MRSA生物膜体外模型,定量评估涂层的抗菌效率及生物膜清除能力,为开发兼具骨整合与抗感染功能的植入物提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

氢氧化钡(廊坊金诺生物科技发展有限公司);氢氧化钾、氢氧化铜(南京国晨化工有限公司);耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA, ATCC 43300, 宁波明舟生物科技有限公司);胰蛋白胍大豆肉汤

(TSB 培养基, 青岛海博生物技术有限公司); 细菌活死染色试剂盒 (LIVE/DEAD BacLight, Thermo 公司, 美国); ROS 检测试剂 (MedChemexpress 公司, 美国)。

1.2 主要仪器

超声波清洗仪 (深圳市方奥微电子有限公司); 水热反应釜 (聚四氟乙烯内衬, 上海 YHCHEM 公司); 保温炉 (大连新翔工业材料有限公司); 场发射扫描电镜 (HITACHI 公司, 日本); X 射线光电子能谱分析仪 (Kratos 公司, 英国); 激光共聚焦扫描显微镜 (Olympus 公司, 日本); 原子力显微镜 (Bruker 公司, 德国)。

1.3 涂层制备

采用水热合成法在 Ti-6Al-4V 合金表面制备 BaTiO₃ 及钛酸铜钡 (BaCuTiO₄) 涂层。具体步骤如下: 将适量氢氧化钡与氢氧化钾溶于一定量去离子水中, 使两者浓度都为 0.1 mol/L, 溶液 pH 为 13。磁力搅拌 30 min 后, 转移至聚四氟乙烯内衬反应釜中。室温下, Ti-6Al-4V 基底依次经丙酮、去离子水超声清洗 (40 kHz, 15 min), 干燥后垂直置于反应釜中。反应釜密封后置于 190 °C 保温炉中恒温反应 6 h, 自然冷却至室温。取出样品, 转移入盛有蒸馏水的烧杯中, 蒸馏水浸没材料, 冲洗 3 次, 随后利用氮气 60 °C 干燥 12 h, 获得 BaTiO₃ 涂层。在上述前驱体溶液中加入 2 g 氢氧化铜, 其余步骤同上, 获得 BaCuTiO₄ 涂层。

1.4 表面形貌表征及压电性能测试

采用场发射扫描电镜 (field emission scanning electron microscope, FE-SEM) 观察涂层表面形貌。利用原子力显微镜 (atomic force microscope, AFM) 的 PFM 模块检测涂层压电响应特性。测试在垂直 PFM 模式下进行, 使用铂/铱涂层硅悬臂探针 (Pt/Ir-coated Si cantilever tips, SCM-PIT)。PFM 成像过程中, 在探针尖端施加 2 V 交流驱动电压, 工作频率为接触共振频率。此外, 通过分析接触共振峰附近的压电响应振幅, 并结合 0.1 ~ 2 V 范围内的驱动电压梯度实验, 计算得到压电系数 d_{33} 。

1.5 抗菌性能评估

将 MRSA 接种于 TSB 培养基中, 37 °C 振荡培养 24 h, 调整菌液浓度至 1×10^6 CFU/mL。涂层样品经 75% 乙醇灭菌 24 h 后, 置于 24 孔板中, 每孔加入

1 mL 菌液, 37 °C 静置培养 24 h。实验组施加超声处理 (1.0 W/cm^2 , 1 MHz, 10 min), 对照组静置处理。样品经 PBS 冲洗 3 次后, 置于 1 mL TSB 中超声震荡 (50 Hz, 30 min) 以分离黏附细菌。梯度稀释后取 100 μL 涂布于 TSA 平板, 37 °C 培养 24 h。计数菌落形成单位 (CFU)。

1.6 生物膜染色观察

采用 LIVE/DEAD BacLight 试剂盒对涂层表面生物膜进行染色。样品经 PBS 冲洗后, 室温避光染色 30 min, 激光共聚焦显微镜下观察。

1.7 ROS 生成检测

将各组样品浸置于 2 mL 模拟体液环境 (pH 6.5 缓冲液, 含 1 mg/mL 罗丹明 b 溶液) 中, 分别施加超声处理 (强度 1 W/cm^2 , 占空比 100%, 频率 1 MHz) 与静置处理。通过紫外-可见分光光度计于 400~700 nm 波长范围内检测上清液光密度值 (OD 值), 并基于吸光度差异定量评估材料的 ROS 生成效能。

1.8 统计分析

实验数据以 (平均值 \pm 标准差) 表示。多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 两组间比较采用双尾 t 检验。显著性水平设定为 $P < 0.05$ 。数据分析使用 SPSS 26.0 软件完成。

2 结果

2.1 材料物理特性表征

扫描电镜分析表明, BaCuTiO₄ 涂层表面均匀分布直径约 200 nm 的纳米颗粒, 其形貌特征与 BaTiO₃ 对照组无显著差异。能谱分析显示, 掺铜组表面铜元素原子百分比 (atomic percentage of elements, At%) 为 0.62%, 证实铜元素成功进入 BaTiO₃ 晶体结构。两组涂层均与钛基体形成稳定结合界面, 未观察到分层或裂纹 (见图 1)。

PFM 表征显示, BaTiO₃ 对照组表现出典型的铁电畴结构, 其有效压电系数 d_{33} 为 17.7 pm/V, 显著高于 BaCuTiO₄ 组的 7.8 pm/V。通过驱动电压梯度实验得到压电材料典型的振幅曲线。BaTiO₃ 组在 325~330 kHz 频段呈现最大振幅 (0.52 V), 而 BaCuTiO₄ 组响应频段向高频偏移至 355~360 kHz, 峰值振幅降低至 0.32 V, 与 d_{33} 下降趋势一致 (见图 2)。

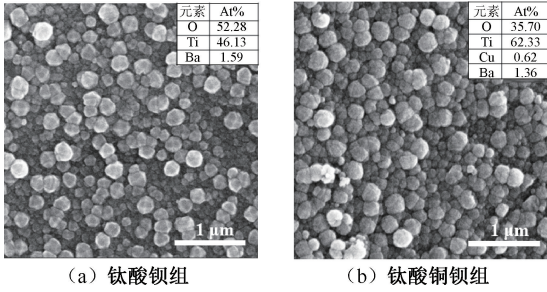


图1 不同涂层组表面扫描电镜观察图

Fig. 1 Scanning electron microscopy images of the surface of different coating groups (a) BaTiO₃ group, (b) BaCuTiO₄ group

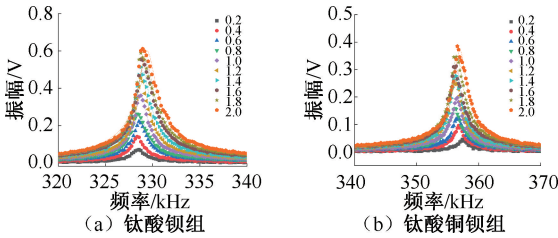


图2 不同涂层组频率响应特性

Fig. 2 Frequency response characteristics of different coating groups (a) BaTiO₃ group, (b) BaCuTiO₄ group

2.2 ROS 生成效能

声动力治疗可以通过 ROS 的产生和作用规避了抗生素耐药性带来的挑战。采用罗丹明 b 作为 ROS 特异性探针,其在 552 nm 处的特征吸收峰强度与 ROS 浓度呈负相关。在没有超声处理的情况下, BaTiO₃ 和 BaCuTiO₄ 都显示出难以区分的吸光度。而当接受超声处理时,与其他组相比, BaCuTiO₄ 组显示着最低的吸光度,从而表明其产生 ROS 的能力显著增强(见图 3)。

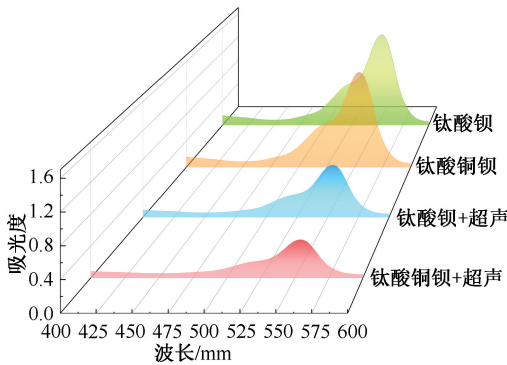


图3 各组产生活性氧能力比较

Fig. 3 Comparison of reactive oxygen species (ROS) generation capacity in each group

2.3 抗菌性能

为了研究掺铜 BaTiO₃ 压电涂层对耐药金黄色葡萄球菌的抑制作用,不同涂层在与细菌共培养 2 d 后,根据分组暴露于超声作用进行压电抗菌。结果显示,无论超声与否, BaCuTiO₄ 组都比 BaTiO₃ 组的抗菌效果更强。与空白对照组相比, BaCuTiO₄ 组在超声条件下杀死了 90.5% 的细菌(见图 4)。

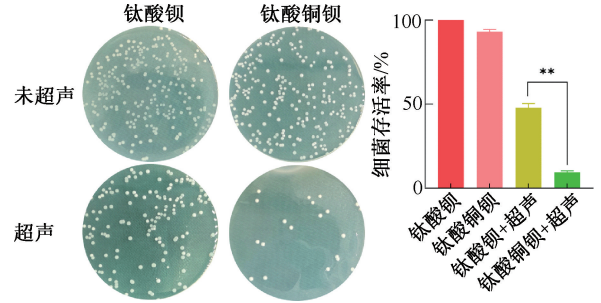


图4 各组涂层表面细菌存活情况比较

Fig. 4 Comparison of bacterial survival on the coating surface in each group

注: ** $P < 0.01$ 。

细菌活死染色的结果与上述结果一致。在未超声作用下,对照组活细菌较多,基本无死亡细菌,而 BaCuTiO₄ 组有部分菌膜受损的细菌;在超声作用下,对照组活细菌数量仍较多,部分细菌受到损伤,而 BaCuTiO₄ 组出现大量死亡细菌,几乎没有活细菌(见图 5)。

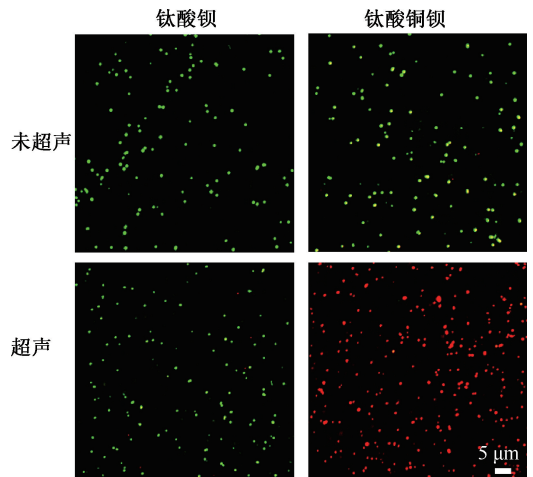


图5 各组涂层表面细菌活死染色情况比较

Fig. 5 Comparison of live/dead staining of bacteria on the coating surface in each group

为了进一步评估 BaCuTiO₄ 对植入物生物膜的作用效果,通过在营养丰富的培养基中再孵育 24 h 以允许生物膜形成,再进行超声作用进行分组评估。通过共聚焦激光扫描显微镜的生物膜成像显示,未经超声作用的 BaTiO₃ 组生物膜厚实,有大量存活的细菌, BaCuTiO₄ 组生物膜厚度减少,但仍有较多活细菌;在超声作用下, BaTiO₃ 组生物膜厚度明显减少,但是存活的细菌仍然有较强的活力,而 BaCuTiO₄ 涂层上的生物膜几乎消失,细菌活力显著减弱。BaCuTiO₄ 结合超声作用的抗生物膜结果和抗菌涂板实验的结果一致(见图 6)。

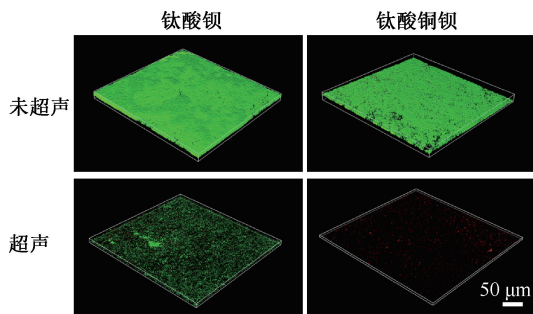


图 6 各组涂层表面细菌生物膜活死染色情况比较

Fig. 6 Comparison of live/dead staining of bacterial biofilms on the coating surface in each group

3 讨论

细菌感染是导致骨科内植物失效的重要原因,传统的骨科内植物因缺乏抗菌特性,一旦发生细菌感染,会导致内植物失效。针对内植物感染,目前临床上采用清创后移植骨替代材料与抗生素结合起来治疗。然而,抗生素不仅难以处理耐药性强的细菌(例如 MRSA),而且还会抑制内植物周围的正常骨组织长入^[6]。因此,需要新的抗菌思路来解决这一难题。前期已有研究证实,自然骨骼具有内源性的电活性界面,可诱导骨细胞的增殖与分化并抑制细菌黏附^[16]。本文通过模拟人体天然骨组织的压电特性设计内植物界面涂层,利用铜元素增强 ROS 生成能力,耦合外部超声作用下的材料压电效应,共同抑制耐药菌的定植和增殖,提高了骨科内植物的抗菌潜力。

本文发现,铜掺杂显著降低了 BaTiO₃ 的压电系数(d_{33} 从 17.7 pm/V 降至 7.8 pm/V),但这一数值与骨组织天然压电系数($d_{33} \approx 8$ pm/V)高度接近。

尽管压电性能的减弱可能影响机械-电信号转导效率,但研究证实强压电效应可能抑制细胞活性,不利于细胞的成骨分化^[17]。BaCuTiO₄ 涂层因其与天然骨组织电性能的匹配性,能模拟天然骨的压电微环境,通过电刺激调节细胞活性和增强组织修复^[18]。此外,铜掺杂通过芬顿样反应显著提升了涂层的 ROS 生成能力,结合超声激活的压电效应,形成了“压电-催化”协同抗菌机制。该结果表明,铜掺杂不仅未削弱涂层的功能性,反而通过引入化学抗菌途径弥补了压电性能的损失,实现了性能的优化平衡。

声动力抗菌疗法因其深层穿透能力和生物安全性而广受关注。Guan 等^[19]研究发现,超声可以穿透皮下组织 5 cm 以上,并利用连续超声(1.0 W/cm², 1 MHz, 25 min)结合红磷金属涂层治疗 MRSA 感染。Li 等^[20]通过改性电子空穴结构的 BaTiO₃ 结合超声(1.0 W/cm², 1 MHz, 5 min)治疗内植物金黄色葡萄球菌感染。本文在结合上述研究的超声参数和预实验结果后,选择采用 1.0 W/cm²、1 MHz、10 min 超声参数,保证超声的组织穿透度和生物安全性。通过后续实验发现, BaCuTiO₄ 涂层在超声作用下的高效抗菌性能源于多重机制的协同效应:① 压电材料在超声机械应力下产生的局域电场可破坏细菌膜电位,诱导电穿孔效应^[21];② 铜离子通过芬顿反应催化 H₂O₂ 生成羟基自由基($\cdot\text{OH}$),进一步增强 ROS 的氧化杀伤能力^[22-23];③ ROS 可穿透生物膜基质,破坏细菌 DNA 及代谢酶系统,克服传统抗生素的渗透屏障限制^[24-25]。这一协同机制在生物膜清除实验中尤为显著,表明该涂层不仅能直接杀菌,还能有效瓦解生物膜的三维结构,为治疗耐药菌感染提供了新思路。

既往研究多聚焦于单一压电材料或金属离子的抗菌效应,如纯 BaTiO₃ 依赖高 d_{33} 值实现机械抗菌,但其缺乏化学抗菌活性^[26];而铜涂层虽具有广谱抑菌性,却可能因过量离子释放引发细胞毒性^[14]。本研究通过梯度化掺杂策略,将铜离子引入 BaTiO₃ 晶格,既避免了铜的快速释放,又通过压电效应实现 ROS 的按需释放。

尽管本研究取得了积极成果,仍需关注以下问题:① 降低压电系数可能影响内植物长期力学-电信号转导,需通过动物实验验证其骨整合效能;

② 体外模型未完全模拟体内复杂的免疫微环境^[27-28] (如巨噬细胞响应、蛋白质吸附), 未来仍需构建感染动物模型以评估临床适用性; ③ 超声参数 (1.0 W/cm², 1 MHz) 的体内安全性及组织穿透深度需进一步优化^[29]。此外, 探索其他过渡金属 (如锌、银) 的掺杂效应^[17,30], 可能为涂层性能的迭代提供新方向。

4 结论

本文通过铜元素掺杂 BaTiO₃ 涂层, 成功构建了一种兼具压电效应与化学抗菌功能的新型骨科植入体界面材料。实验表明, 铜掺杂使涂层压电系数从 17.7 pm/V 降至 7.8 pm/V, 与天然骨组织电性能更为匹配, 同时通过芬顿反应显著提升 ROS 生成能力。在低强度脉冲超声激活下, BaCuTiO₄ 涂层通过压电-催化协同机制, 可显著清除耐甲氧西林金黄色葡萄球菌生物膜。本研究结果为开发兼具骨整合与抗感染功能的骨科内植物提供了理论依据及后续实验支持。

利益冲突声明: 无。

作者贡献声明: 陈泓宇负责研究设计、实验操作、数据分析和论文撰写; 汪毅、陶钰顺、黄彪宏和胡卫进协助实验实施; 李述军和矫义来负责数据整理; 吴强、矫义来和王燎进行整体研究设计、指导及论文修改。

参考文献:

[1] MASTERS EA, RICCIARDI BF, BENTLEY KLM, *et al.* Skeletal infections: Microbial pathogenesis, immunity and clinical management [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20 (7): 385-400.

[2] DUDAREVA M, HOTCHEN AJ, FERGUSON J, *et al.* The microbiology of chronic osteomyelitis: Changes over ten years [J]. *J Infect*, 2019, 79(3): 189-198.

[3] 王伟, 李文波, 张亚强, 等. 感染性骨缺损的诊断与临床治疗进展 [J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2022, 37(3): 331-334.

[4] HUO J, JIA Q, HUANG H, *et al.* Emerging photothermal-derived multimodal synergistic therapy in combating bacterial infections [J]. *Chem Soc Rev*, 2021, 50(15): 8762-8789.

[5] CHEN C, CHU G, HE W, *et al.* A janus au-polymersome heterostructure with near-field enhancement effect for

implant-associated infection phototherapy [J]. *Adv Mater*, 2023, 35(3): e2207950.

[6] HUANG Y, WAN X, SU Q, *et al.* Ultrasound-activated piezo-hot carriers trigger tandem catalysis coordinating cuproptosis-like bacterial death against implant infections [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 1643.

[7] XU W, YU Y, LI K, *et al.* Surface-confined piezocatalysis inspired by ROS generation of mitochondria respiratory chain for ultrasound-driven noninvasive elimination of implant infection [J]. *ACS Nano*, 2023, 17(10): 9415-9428.

[8] ZHAO Y, LIU Y, LIAO R, *et al.* Biofilm microenvironment-sensitive piezoelectric nanomotors for enhanced penetration and ROS/NO synergistic bacterial elimination [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2024, 16(3): 3147-3161.

[9] CHEN J, LI S, JIAO Y, *et al.* *In vitro* study on the piezodynamic therapy with a BaTiO₃-coating titanium scaffold under low-intensity pulsed ultrasound stimulation [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13(41): 49542-49555.

[10] LI X, LIU J, HUANG J, *et al.* Epitaxial strain enhanced ferroelectric polarization toward a giant tunneling electroresistance [J]. *ACS Nano*, 2024, 18(11): 7989-8001.

[11] 徐莲云, 侯振德, 富东慧, 等. 湿骨内压电电压的测试技术 [J]. *医用生物力学*, 2013, 28(5): 533-537.

XU LY, HOU ZD, FU DH, *et al.* Technique for measuring piezo-voltages of wet bone [J]. *J Med Biomech*, 2013, 28(5): 533-537.

[12] GONG S, ZHANG W, LIANG Z, *et al.* Construction of a BaTiO₃/tubular g-C₃N₄ dual piezoelectric photocatalyst with enhanced carrier separation for efficient degradation of tetracycline [J]. *Chem Eng J*, 2023(461): 141947.

[13] MEI J, XU D, WANG L, *et al.* Biofilm microenvironment-responsive self-assembly nanoreactors for all-stage biofilm associated infection through bacterial cuproptosis-like death and macrophage re-rousing [J]. *Adv Mater*, 2023, 35(36): e2303432.

[14] DUPONT CL, GRASS G, RENSING C. Copper toxicity and the origin of bacterial resistance—New insights and applications [J]. *Metallomics*, 2011, 3(11): 1109-18.

[15] LANGHAMMER H, MULLER T, BOTTCHE R, *et al.* Crystal structure and related properties of copper-doped barium titanate ceramics [J]. *Solid State Sciences*, 2003, 5(7): 965-971.

[16] KHARE D, BASU B, DUBEY AK. Electrical stimulation and piezoelectric biomaterials for bone tissue engineering applications [J]. *Biomaterials*, 2020(258): 120280.

[17] LI Z, HE D, GUO B, *et al.* Self-promoted electroactive

- biomimetic mineralized scaffolds for bacteria-infected bone regeneration [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6963.
- [18] WANG T, OUYANG H, LUO Y, *et al.* Rehabilitation exercise-driven symbiotic electrical stimulation system accelerating bone regeneration [J]. *Sci Adv*, 2024, 10(1): eadi6799.
- [19] GUAN W, TAN L, LIU X, *et al.* Ultrasonic interfacial engineering of red phosphorous-metal for eradicating MRSA infection effectively [J]. *Adv Mater*, 2021, 33(5): 2006047.
- [20] LI K, XU W, CHEN Y, *et al.* Piezoelectric nanostructured surface for ultrasound-driven immunoregulation to rescue titanium implant infection [J]. *Adv Funct Mater*, 2023, 33(28): 2214522.
- [21] LI S, YUE Y, WANG W, *et al.* Ultrasound-activated probiotics vesicles coating for titanium implant infections through bacterial cuproptosis-like death and immunoregulation [J]. *Adv Mater*, 2024, 36(44): e2405953.
- [22] JIANG Y, HUO Z, QI X, *et al.* Copper-induced tumor cell death mechanisms and antitumor theragnostic applications of copper complexes [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2022, 17(5): 303-324.
- [23] JIA C, GUO Y, WU FG. Chemodynamic therapy via fenton and fenton-like nanomaterials: strategies and recent advances [J]. *Small*, 2022, 18(6): e2103868.
- [24] ZHAO Y, WU Y, XU Q, *et al.* H₂O₂ self-supplying and GSH-depleting nanosystem for amplified NIR mediated-chemodynamic therapy of MRSA biofilm-associated infections [J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 117.
- [25] GUO Y, DING S, SHANG C, *et al.* Multifunctional PtCuTe nanosheets with strong ROS scavenging and ROS-independent antibacterial properties promote diabetic wound healing [J]. *Adv Mater*, 2024, 36(8): e2306292.
- [26] SUN M, WANG J, HUANG X, *et al.* Ultrasound-driven radical chain reaction and immunoregulation of piezoelectric-based hybrid coating for treating implant infection [J]. *Biomaterials*, 2024(307): 122532.
- [27] AMIN YAVARI S, CASTENMILLER S M, VAN STRIJP J A G, *et al.* Combating implant infections: shifting focus from bacteria to host [J]. *Adv Mater*, 2020, 32(43): e2002962.
- [28] MCCULLOCH TR, WELLS TJ, SOUZA-FONSECA-GUIMARAES F. Towards efficient immunotherapy for bacterial infection [J]. *Trends Microbiol*, 2022, 30(2): 158-69.
- [29] 王磊, 张先龙, 曾炳芳. 低强度脉冲超声对实验性骨质疏松性骨折愈合骨痂力学性能的影响 [J]. *医用生物力学*, 2005, 20(4): 235-258.
- WANG L, ZHANG XL, ZENG BF. Biomechanical evaluation of the treatment for osteoporotic fracture in rats by low-intensity pulsed ultrasound [J]. *J Med Biomech*, 2005, 20(4): 235-258.
- [30] GUO Y, MAO C, WU S, *et al.* Ultrasound-triggered piezoelectric catalysis of zinc oxide @ glucose derived carbon spheres for the treatment of mrsa infected osteomyelitis [J]. *Small*, 2024, 20(38): e2400732.