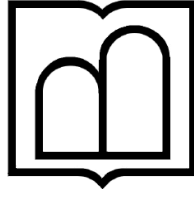


الله أكبر



دانشگاه علوم پزشکی  
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل  
دانشکده دندانپزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکترای جراحی دندانپزشکی

عنوان:

مقایسه‌ی تأثیر نانو دندریمر پلی‌اتیلن ایمین نسل چهارم با کلرگزیدین در کاهش پاتوژن‌های  
پریودنتال در محیط آزمایشگاهی

اساتید راهنما:

دکتر علیرضا فتحی آذر

دکتر شهرام نظری

استاد مشاور:

دکتر علیرضا حیاتی

نگارش:

الهه رسولی

شهریور ماه ۱۴۰۲

کد پایان نامه: ۲۵۳

تقدیم به

پدر و مادر عزیز و مهربانم

که در سختی ها و دشواری های زندگی، همواره یاری دلسوز و خداکار

و پشتیبانی محکم و مطمئن برایم بوده اند.

## تقدیر و سپاسگزاری

از استاد راهنمای گرانقدرم آقای دکتر علیرضا فتحی آذر، دکتر شهرام نظری که وجودشان همیشه قوتی برای انجام کارهایم

بوده است و بدون شک انجام این پایان نامه بدون کمک و راهنمایی های ارزنده آنها امکان پذیر نبوده است،

کمال تشکر را دارم .

از استاد فاضل و اندیشمند دکتر علیرضا حیاتی به عنوان استاد مشاور که همواره بخارنده را مورد لطف و محبت خود قرار داده اند،

کمال تشکر را دارم .

همچنین این جانب بر خود وظیفه میدانم در کسوت شاگردی از زحمات و خدمات ارزشمند اساتید گرانقدر دانشکده

دندان پزشکی اردبیل تقدیر و تشکر نمایم .

## چکیده

### مقایسه‌ی تأثیر نانو دندریمر پلی‌اتیلن ایمین نسل چهارم با کلرهگزیدین در کاهش پاتوژن‌های پریدنتال در محیط آزمایشگاهی

**مقدمه:** با توجه به اهمیتی که سلامت دهان و دندان در حفظ سلامتی عمومی بدن دارد و با علم به این موضوع که پیشگیری مقدم بر درمان می‌باشد، برای جلوگیری از ایجاد این بیماری رعایت بهداشت دهان و حذف عوامل بیماری‌زا ضرورت دارد. باکتری‌های اگریگاتی باکتر اکتینومایستم کومیتنس (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-Aa) و پورفیروموناس ژینژیوالیس (*Porphyromonas gingivalis*-Pg) جزوه باکتری‌های پاتوژن پریدنتال می‌باشند. نانو دندریمرهای پلی‌اتیلن ایمین با گروه انتهایی آمینی اثر ضدباکتریایی بالایی دارند. هدف این مطالعه مقایسه‌ی تأثیر نانو دندریمرهای پلی‌اتیلن ایمین نسل چهارم با کلرهگزیدین علیه پاتوژن‌های Aa و Pg در محیط آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: آنالیزهای FTIR، FE-SEM و TEM برای تعیین ساختار و اندازه‌ی نانو دندریمر پلی‌اتیلن ایمین نسل چهارم به کار رفت. اثر ضد باکتریایی نانو دندریمر با دو روش رقیق سازی میکرو (تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی) و دیسک آگار دیفیوژن بر روی باکتری‌های Aa و Pg انجام شد. تمامی آزمایشات بر اساس دستورکارهای موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (CLSI) انجام گردید.

**نتایج:** حداقل غلظت بازدارندگی کلرهگزیدین برای باکتری‌های Aa و Pg به ترتیب برابر ۰/۰۲ و ۰/۰۱ درصد و حداقل غلظت کشندگی برای هر دو گونه باکتری برابر ۰/۱ درصد بدست آمد. حداقل غلظت بازدارندگی نانو دندریمر برای باکتری‌های Aa و Pg به ترتیب برابر ۶۴ و ۳۲ میکروگرم بر میلی لیتر و حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های Pg و Aa به ترتیب برابر ۱۲۸ و ۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد. در غلظت ۰/۱ درصد کلرهگزیدین، میانگین هاله‌ی عدم رشد برای باکتری‌های Aa و Pg به ترتیب برابر ۲۰/۶۵ و ۲۳ میلی‌متر بدست آمد. در غلظت ۱۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر نانو دندریمر، میانگین هاله‌ی عدم رشد برای باکتری‌های Aa و Pg به ترتیب برابر ۱۲/۲۵ و ۱۶ میلی‌متر بدست آمد. آزمون آماری One-way ANOVA با سطح اطمینان ۹۵ درصد نشان داد، بین افزایش غلظت کلرهگزیدین و نانو دندریمر با قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری‌های Aa و Pg، رابطه معنی داری وجود دارد ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** در مجموع نتایج حاصل از انجام آزمایشات مشخص ساخت که نانو دندریمر پلی‌اتیلن ایمین نسل چهارم و کلرهگزیدین اثر ضدباکتریایی مناسبی بر روی باکتری‌های Aa و Pg دارند.

**کلمات کلیدی:** پلی‌اتیلن ایمین، نانو دندریمر نسل چهارم، خاصیت ضد باکتریایی، باکتری‌های Aa و Pg، کلرهگزیدین، بیماری پریدنتال.

## فهرست مطالب

| صفحه                                      | عنوان  |
|---|--|
| أ.....                                    | چکیده.....   |
| <b>فصل اول: معرفی پژوهش</b>               |  |
| ۱-۱.....                                  | ۱-۱. مقدمه، بیان مساله و ضرورت اجرای پژوهش.....                      |
| ۵.....                                    | ۱-۲. اهداف پژوهش.....  |
| ۵.....                                    | ۱-۳. هدف کلی.....  |
| ۵.....                                    | ۱-۴. اهداف اختصاصی.....  |
| ۶.....                                    | ۱-۵. اهداف کاربردی.....  |
| ۶.....                                    | ۱-۶. سؤالات پژوهش.....   |
| ۶.....                                    | ۱-۷. تعریف واژه‌ها.....  |
| <b>فصل دوم: مبانی نظری و پیشینه تحقیق</b> |  |
| ۸.....                                    | ۲-۱. مقدمه.....  |
| ۸.....                                    | ۲-۲. مبانی نظری پژوهش.....   |
| ۸.....                                    | ۲-۲-۱. بیماری‌های پریودنتال.....                                     |
| ۹.....                                    | ۲-۲-۲. فلور میکروبی دهان.....  |
| ۹.....                                    | ۲-۲-۳. فلور اندوژن.....  |
| ۹.....                                    | ۲-۲-۴. فاکتورهای اکولوژیکی مؤثر بر رشد میکروارگانیسم‌ها در دهان..... |
| ۱۱.....                                   | ۲-۲-۵. میکروارگانیسم‌های حفره‌ی دهانی.....                           |
| ۲۲.....                                   | ۲-۲-۶. دهان شویه‌ها.....   |
| ۲۶.....                                   | ۲-۲-۸. معرفی دهان شویه کلرگزیدین.....                                |
| ۲۷.....                                   | ۲-۲-۹. مزایای کلرگزیدین.....   |
| ۲۸.....                                   | ۲-۲-۱۰. سمیت و ایمنی.....  |
| ۲۸.....                                   | ۲-۲-۱۱. معایب و عوارض جانبی دارو.....                                |
| ۲۹.....                                   | ۲-۲-۱۲. دندریمر.....   |
| ۳۰.....                                   | ۲-۲-۱۳. تعریف دندریمر.....   |
| ۳۲.....                                   | ۲-۲-۱۴. منشأ تاریخی دندریمر.....                                     |
| ۳۵.....                                   | ۲-۲-۱۵. ساختار دندریمر.....  |
| ۳۶.....                                   | ۲-۲-۱۶. دندریمرها در شیمی فوق مولکولی.....                           |
| ۳۸.....                                   | ۲-۲-۱۷. شناسایی مولکولی دندریمر.....                                 |
| ۳۸.....                                   | ۲-۲-۱۸. گروه‌های متفاوت دندریمرها.....                               |
| ۳۹.....                                   | ۲-۲-۱۹. روش‌های سنتز دندریمرها.....                                  |

|    |   |
|----|---|
| ۴۰ | ..... روش واگرا ۱-۱۹-۲-۲  |
| ۴۲ | ..... روش همگرا ۲-۱۹-۲-۲  |
| ۴۵ | ..... مونومرهای اتصالی و چند هسته‌ای ۳-۱۹-۲-۲                                   |
| ۴۵ | ..... روش مخلوط و تصاعدی دوگانه ۴-۱۹-۲-۲  |
| ۴۵ | ..... بررسی خلوص دندریمرها ۲۰-۲-۲   |
| ۴۷ | ..... مشخصات فیزیکی دندریمرها ۲۱-۲-۲  |
| ۴۷ | ..... جرم، اندازه شکل ماکرومولکول‌های تشکیل شده از مونومرهای چند عاملی ۱-۲۱-۲-۲ |
| ۴۷ | ..... جرم مولکولی و اتصالات شاخه در ماکرومولکول‌ها ۲-۲۱-۲-۲                     |
| ۴۹ | ..... ساختار دندریمر پلی (آمیدو آمین) ۲۳-۲-۲                                    |
| ۵۰ | ..... قسمت‌های متفاوت یک دندریمر پلی (آمید و آمین) ۲۴-۲-۲                       |
| ۵۰ | ..... تغییرات خواص فیزیکی دندریمر PAMAM با تغییر هسته ۲۵-۲-۲                    |
| ۵۲ | ..... مروری بر پیشینه‌ی تحقیق ۳-۲   |
| ۵۲ | ..... پیشینه‌ی پژوهش در ایران ۱-۳-۲   |
| ۵۲ | ..... پیشینه‌ی پژوهش در خارج ۲-۳-۲  |
| ۵۴ | ..... جمع‌بندی پیشینه‌های پژوهش ۳-۳-۲   |

#### فصل سوم: مواد و روش‌ها

|    |  |
|----|--|
| ۵۵ | ..... نوع مطالعه و روش پژوهش ۱-۳         |
| ۵۵ | ..... جامعه‌ی آماری پژوهش ۲-۳            |
| ۵۵ | ..... حجم نمونه و روش نمونه‌گیری ۳-۳     |
| ۵۷ | ..... ابزار و روش گردآوری داده‌ها ۴-۳    |
| ۷۵ | ..... زمان و مکان انجام پژوهش ۵-۳        |
| ۷۵ | ..... متغیرهای پژوهش ۶-۳                 |
| ۷۵ | ..... روش‌ها و تجزیه و تحلیل داده‌ها ۷-۳ |
| ۷۶ | ..... ملاحظات اخلاقی ۸-۳                 |

#### فصل چهارم: یافته‌های پژوهش

|    |                            |
|----|----------------------------|
| ۷۷ | ..... یافته‌های توصیفی ۱-۴ |
| ۸۶ | ..... یافته‌های تحلیلی ۲-۴ |

#### فصل پنجم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادهای پژوهش

|     |   |
|-----|---|
| ۸۹  | ..... بحث ۱-۵                           |
| ۱۰۰ | ..... نتیجه‌گیری ۲-۵                    |
| ۱۰۱ | ..... محدودیت‌ها و پیشنهادهای پژوهش ۳-۵ |
| ۱۰۱ | ..... پیشنهادها ۱-۳-۵                   |
| ۱۰۱ | ..... محدودیت‌ها ۲-۳-۵                  |
| ۱۰۲ | ..... منابع                             |

## فهرست جدول‌ها

عنوان

صفحه

|  |    |
|--|----|
| جدول ۱-۳: مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق.....  | ۵۷ |
| جدول ۲-۳: دستگاه‌های مورد استفاده در این تحقیق.....  | ۵۸ |
| جدول ۳-۳: متغیرهای مورد بررسی.....   | ۷۵ |
| جدول ۱-۴: تأثیر غلظت‌های مختلف کلرگزیدین بر رشد باکتری.....  | ۸۰ |
| جدول ۲-۴: تأثیر غلظت‌های مختلف نانو دندریمر بر رشد باکتری.....   | ۸۰ |
| جدول ۳-۴: آنالیز واریانس بین فاکتور غلظت‌های مختلف کلرگزیدین و قطر هاله‌ی عدم رشد باکتریهای Pg و Aa..... | ۸۶ |
| جدول ۴-۴: آنالیز واریانس بین فاکتور غلظت‌های مختلف نانو دندریمر و قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری Aa.....      | ۸۷ |
| جدول ۵-۴: آنالیز T-Test بین قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری‌های Pg و Aa در غلظت‌های مختلف کلرگزیدین.....       | ۸۷ |
| جدول ۶-۴: آنالیز T-Test بین قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری‌های Pg و Aa در غلظت‌های مختلف نانو دندریمر.....    | ۸۸ |



## فهرست نمودارها

عنوان

صفحه

نمودار ۱-۴: قطر هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های مختلف کلرهگزیدین..... ۸۲

نمودار ۲-۴: قطر هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های مختلف نانو دندریمر..... ۸۲

## فهرست شکل‌ها

### عنوان

### صفحه

- شکل ۱-۲: ساختار درخت مانند دندریمرها..... ۳۱
- شکل ۲-۲: ساختار مولکولی دندریمرها..... ۳۲
- شکل ۳-۲: دندریمر پلی (آمید و آمین) نسل دو..... ۳۴
- شکل ۴-۲: نمای ساختاری دندریمرها..... ۳۵
- شکل ۵-۲: تفاوت روش واگرا و همگرا..... ۴۴
- شکل ۶-۲: شمای کلی اجزای دندریمر PAMAM..... ۵۰
- شکل ۷-۲: قسمت‌های متفاوت یک دندریمر پلی (آمید و آمین) با هسته اتیلن دی آمین و گروه انتهایی  $NH_2$ ..... ۵۰
- شکل ۱-۳: انتقال چند کلنی از کشت تازه و جوان باکتری به لوله‌ی حاوی PBS (الف)، تنظیم کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده مطابق با استاندارد ۰/۵ مک فارلند (ب)..... ۶۰
- شکل ۲-۳: میکرو چاهک‌ها برای تعیین MIC و MBC..... ۶۳
- شکل ۳-۳: مراحل انجام آزمایشات دیسک آگار دیفیوژن..... ۶۴
- شکل ۴-۳: انتقال محیط کشت آگار به پلیت‌ها..... ۶۵
- شکل ۵-۳: تنظیم کدورت باکتریایی معادل نیم مک فارلند با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV/VIS..... ۶۶
- شکل ۶-۳: انتقال باکتری‌های خریداری شده با استفاده از لوپ استریل به محیط کشت جهت فعال‌سازی..... ۶۷
- شکل ۷-۳: برداشت از محلول PBS جهت تهیه استاندارد نیممک فارلند..... ۶۸
- شکل ۸-۳: انتقال کلنی‌های باکتری‌ها برای تهیه‌ی تعداد باکتری‌ها معادل نیم مک فارلند..... ۶۹
- شکل ۹-۳: رقیق‌سازی یک به ده باکتری‌های معادل نیم مک فارلند..... ۷۰
- شکل ۱۰-۳: مطابقت استاندارد نیم مک فارلند با باکتری‌های با تعداد معادل نیم مک فارلند به روش چشمی..... ۷۱
- شکل ۱۱-۳: انتقال محیط کشت برات به پلیت ۹۶ تایی جهت آزمایشات MIC..... ۷۲
- شکل ۱۲-۳: انتقال مواد ضد باکتریایی به دیسک‌های دیفیوژن به منظور اندازه‌گیری قطر هاله‌ی عدم رشد..... ۷۳
- شکل ۱۳-۳: کشت باکتری‌ها با تعداد باکتری‌های معادل نیم مک فارلند در پلیت‌ها و انتقال دیسک‌های دیفیوژن..... ۷۴
- شکل ۱-۴: تصویر FT-IR از نانو دندریمر پلی اتیلن‌ایمین نسل چهارم..... ۷۷

- شکل ۴-۲: تصویر TEM از نانو دندریمر پلی اتیلن ایمین نسل چهارم..... ۷۸
- شکل ۴-۳: تصویر FE-SEM از نانو دندریمر پلی اتیلن ایمین نسل چهارم..... ۷۸
- شکل ۴-۴: قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری‌های پورفیروموناس زینثیوالیس..... ۸۳
- شکل ۴-۵: قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری‌های اگریگاتی باکتر اکتینومایستم کومیتنس..... ۸۴
- شکل ۴-۶: نمونه‌ی شاهد، دیسک دیفیوژن حاوی آب مقطر استریل..... ۸۵