

تهیه کننده: احمد مصدر  
واحد تحقیق و توسعه شرکت پاکشو

## تکنولوژی پوشش ضد میکربی (Antimicrobial coating technology)

از زمانیکه لویی پاستور کشف کرد که علت بیماریها به میکروارگانیسم هایی مربوط میشود که با چشم غیر مسلح قابل مشاهده نیستند ، روشهای زیادی برای مبارزه با این موجودات ذره بینی آغاز شد. تولید واکسن ها را می توان نقطه عطفی در این مبارزه دانست که باعث ریشه کنی بسیاری از بیماریهای خطرناک شده است . کشف آنتی بیوتیکها نیز مرحله شاخصی در طول این راه محسوب می شود . امروزه حتی در ساخت ترکیبات ضد میکربی که برخلاف آنتی بیوتیکها با عدم مقاومت میکربها و باکتریها در طول زمان مواجه می شود نیز پیشرفت های چشمگیری صورت گرفته است . یک تکنولوژی جدید در راه مبارزه با عوامل بیماری زا استفاده از پوشش های ضد میکربی است که امروزه اخبار زیادی در راه توسعه آن به چشم می خورد . در این روش معمولاً عوامل ضد میکربی بوسیله پوششهای پلیمری بر روی سطوح مورد نظر تثبیت می شوند . این عمل باعث آزاد شدن تدریجی عامل ضد میکربی از سطح مربوطه شده و در نتیجه بسته به نوع پلیمر انتخاب شده و محیط ، زمان استریل ماندن سطح پوشش داده شده از چند ساعت تا چندین روز ادامه می یابد . با این توضیح کوتاه به راحتی می توان حدس زد که این تکنولوژی در موارد بسیاری می تواند استفاده شود که در ذیل به چند نمونه از آنها اشاره می شود.

مسواک آنتی باکتریال : هر روز میلیونها میکرب پرزهای مسواک را لانه خویش می سازند که بطور بالقوه خطرناکند ، بویژه اگر مسواک در محیط گرم و مرطوب حمام قرار داشته باشد . یک شرکت تولید کننده ، مسواکی را با پرزهای ضد باکتری معرفی کرده است. برای اینکار از یک پوشش کلروهگزیدین استفاده شده که طبق ادعای تولید کننده ، عمل ضد باکتری را تا ۳۰ روز ادامه میدهد . ترکیب کلروهگزیدین درون پوشش پرزهای مسواک تثبیت شده و در جریان مصرف کنده نمی شود. (1)

پوشش سطوح با ضد باکتریهای پایدار : در یک گزارش منتشره از فعالیتهای علوم آکادمیک ملی ، محققانی از انستیتو ماسا چوست ادعای ساخت یک پلیمر پوششی را دارند که می تواند ۹۹٪ از باکتریهای " staphylococcus " ، " pseudomonas " و " E.Coli " را نابود کند. ایشان می گویند : پلیمر هگزیدیل - PVP بار شیمیایی مثبت پایداری دارد که باعث از بین رفتن دیواره های سلول باکتری میشود . بنابراین بر خلاف آنتی بیوتیکها ، باکتریها نمی توانند نسبت به این پلیمر مقاوم شوند ، چرا که برای مقاومت نسبت به اثرات الکتروشیمیایی باید ساختار زیر بنایی خود را کاملاً تغییر دهند .

در یک آزمایش، محققان محلول غلیظی از باکتریهای عمومی خانگی را به سوی اسلایدهای شیشه ای پوششی با هگزیل - pvp و اسلایدهای بدون پوشش اسپری کردند و دریافتند که در اسلایدهای پوشش دار ۹۹-۹۴٪ از باکتری " staphylococcus " و ۹۹٪ از باکتریهای " pseudomonas " و " E.Coli " نابود شده اند.(2)

بیوپلیمرهای حاوی ضد میکربها: یک شرکت ادعای ساخت بیوپلیمرهایی را دارد که به منظور حفاظت ضد عفونی طولانی مدت برای کاتترها<sup>(۱)</sup> (catheters) بکار میرود. عوامل دارویی مختلف از جمله ترکیبات آنتی باکتریال می توانند درون لایه های این پلیمرها تثبیت شوند و پس از تماس قرار گرفتن با سیالات بدن، به آهستگی آزاد می شوند. بدین ترتیب یک محیط موضعی حاوی غلظت بالای دارو در سطح وسیله پوشش داده شده ایجاد می شود (شکل های 1A, 1B). این پوشش ها بسته به ماتریکس پلیمر و حلالیت دارو در محیط مورد استفاده می تواند به مدت چند روز یا ماه عمل آزاد سازی دارو را انجام دهد. خواص لایه های ماتریکس پلیمر مانند سختی، سرعت نفوذ آب، انعطاف و چسبندگی با تغییر نوع و میزان نسبی اجزاء پلیمر کنترل می شود.

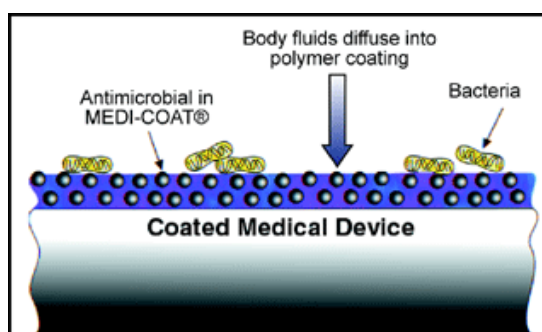


Figure 1A

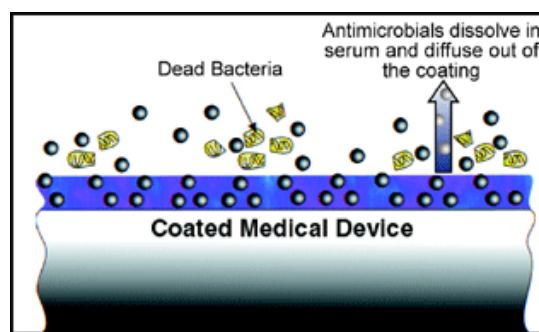


Figure 1B

(۱) لوله ای فلزی یا پلاستیکی که برای تخلیه مواد یا دیدن وارد مجاری بدن می کنند.

## روشهای تجربی:

در یک آزمایش برای نشان دادن کارایی پوشش ها، از کمپلکس رادیواکتیو هپارین - بنز آلکونیوم ( $^3\text{H-HBAK}$ ) استفاده شد<sup>(۲)</sup>. این کمپلکس از ترکیب بنز آلکونیوم کلرید با سدیم هپارین سنتز شده بود. اکتیویته ویژه ( $\text{d pm/mg}$ ) این کمپلکس با شمارش آن در محلول تعیین می شد. از پوشش های MC-3, MC-5 و MC-1 بدین منظور استفاده شد. این سه پوشش در درجات هیدروفیلی با هم متفاوتند ( $\text{MC-3} > \text{MC-1}$ ). این پلیمرها از ترکیبات گوناگون استرهای سلولزی، پلی اورتانها و پلی ونیل پیرولیدونها (pvp) تشکیل شده اند. از کاتترها برای پوشش استفاده شد. کاتترهای پوشش داده شده ( $4 \text{ cm}$ ) در سرم گوساله ( $3 \text{ ml}$ ) گذاشته شد و بوسیله یک شیکر اربیتال در  $37^\circ\text{C}$  تحت همزدن آرام قرار گرفت. هفته ای دوبار، کاتترها از هر سرم خارج شده و درون سرم جدید قرار داده می شدند. در انتهای هر مرحله، تعداد  $^3\text{H-HBAK}$  در یک شمارشگر "liquid scintillation" شمرده میشدند.

مشابه آزمایش بالا با پوشش  $\text{MC-}^{65}\text{C}$  انجام شد و از هر دو ترکیب ضد میکربی تری کلوزان  $^3\text{H-HBAK}$  (شکل 2) با هم استفاده شد<sup>(۳)</sup>. در این آزمایش علاوه بر سرم گوساله از محلول آب نمک ( $3 \text{ ml}$ ) استفاده شد. در انتهای آزمایش علاوه بر شمارش، داروی باقیمانده در پوشش کاتترها با محلولی از آب و استونیتریل استخراج شده و تحت آنالیز HPLC قرار گرفت. مشابه این آزمایش با استفاده از  $^3\text{H-HBAK}$  بدون حضور تری کلوزان نیز انجام شد.

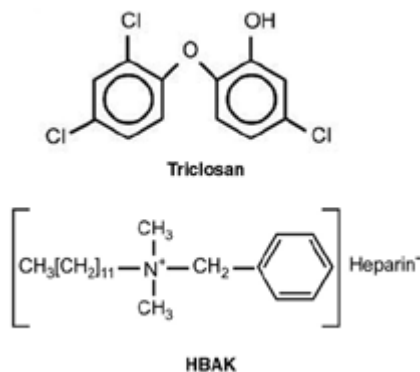


Figure 2

(۲) HBAK یک عامل اکتیو بی نظیر نامحلول در آب است.

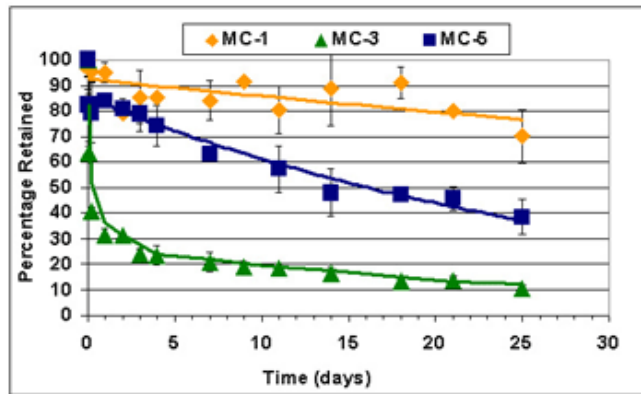
این کمپلکس در مواجهه با سیالات فیزیولوژیکال به فرمهای

اکتیو هپارین (عامل ضد لخته خون در عروق Antithrombogenic) و بنز آلکونیوم (عامل ضد میکربی) تفکیک می شود

(3) مخلوط عوامل ضد میکربی تری کلوزان و BAK در ترکیب با هپارین بعنوان یک پوشش جهانی کاتترها مطرح می باشد که با هر دو مشکل عفونت و لخته خون در عروق (thrombosis) مبارزه میکند

سرعت آزاد شدن دارو :

سرعت آزاد شدن  $^3\text{H-HBAK}$  از کاتترها به خواص فیزیکی - شیمیایی پلیمر آن بستگی دارد. MC-3 ( پوشش هیدروفیلی تر )،  $^3\text{H-HBAK}$  را سریعتر از MC-1 ( پوشش هیدروفوبیک تر ) آزاد می کند MC-5 ( با خواص هیدروفیلی متوسط ) پوششی ایجاد میکند که  $^3\text{H-HBAK}$  را بیش از چهار هفته نگه میدارد



( شکل 3).

با آنالیزهای HPLC معلوم شد که تری کلوزان در پوشش شستشوداده شده در سرم، ماندگاری بالای ۲۸ روز نشان می دهد. در آب نمک آزاد سازی قابل توجهی از تری کلوزان صورت نگرفت .

Figure 3

حضور پروتئین ها و چربیها در سرم باعث افزایش حلالیت تری کلوزان می شود. بنابراین سرم یک محیط شستشوی مناسب برای آزمایش داروهای نامحلول در آب است ( شکل 4).

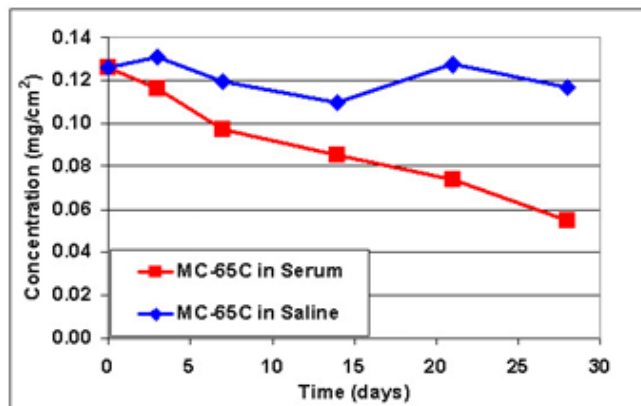


Figure 4

در نمودارهای شکل 5، میزان  $^3\text{H-HBAK}$  آزاد شده درون سرم و آب نمک به صورت درصدی از میزان کل در پلیمر نشان داده شده است . مشابه نتایج تری کلوزان ، HBAK نیز آزاد سازی آهسته ای در سرم و خیلی کمتر از آن در آب نمک رانشان می دهد .

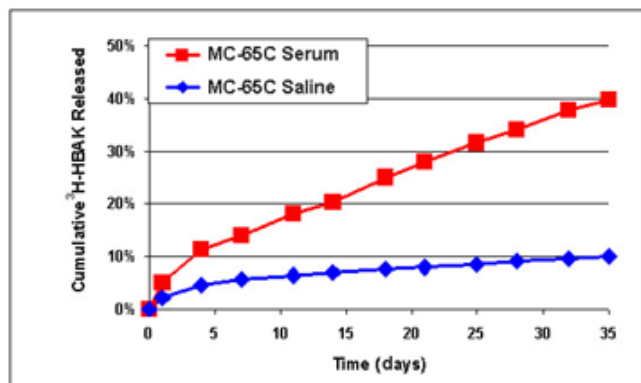
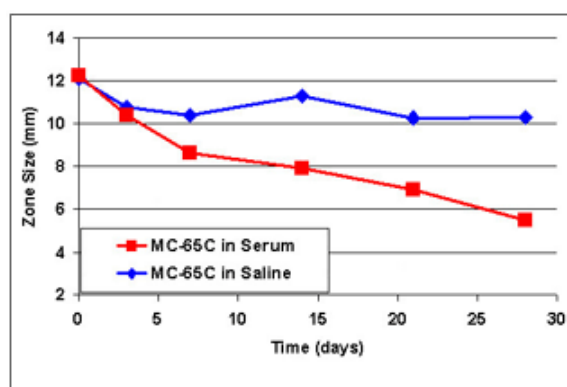


Figure 5

بیو اکتیویته :  
بیو اکتیویته در پوشش MC-65C با هر دو روش منطقه بازداری و فعالیت بیوفیلم ( بوسیله آنالیز میکروسکوپی ) اندازه گیری شد. در آزمایش منطقه بازداری ، نمونه ها در پلیت های استریل حاوی

نوترینت آگار آغشته به محیطهای کشت " Staphylococcus aureus " قرار داده شد. در آزمایش فعالیت بیو فیلم، نمونه های کاتتر پوشش داده شده به مدت ۲۴ ساعت در محیط شامل « epidermidis Staphylococcus » قرار گرفت. پس از آن نمونه ها در محیط " nutrient- rich broth " به مدت ۷ روز شستشو داده شده و بوسیله " confocal scanning laser microscopy " توأم با " viability fluorescent staining " مورد آنالیز قرار گرفت. تصویرهای برداشته شده، تغییر شکل ماتریکس بیو فیلم و توزیع بیو فیلم با کتریهای زنده و مرده را نشان می دهد. این آزمایش برای یک نمونه شاهد بدون پوشش و یک نمونه تجاری نقره ای تکرار شد.

نتایج آزمایشهای منطقه بازدارنده ثابت می کند که پوشش MC-<sup>65</sup>C، اکتیویته را بیش از ۲۸ روز پس از شستشو در آب نمک یا سرم در مقابل staphylococcus aureus نگه میدارد ( شکل 6). تصاویر



میکروسکوپی نیز نشان می دهند که پوشش MC-<sup>65</sup>C پس از ۷ روز مقاومت خیلی خوبی در مقابل تشکیل بیو فیلم دارد. نمونه شاهد و محصول نقره ای هر دو نشانگر تشکیل کلونی میکروبی می باشند. تعداد قابل توجهی از سلولهای زنده به صورت بیو فیلم ( به رنگ سبز ) سطح کاتتر بدون پوشش را

Figure 6

پس از ۷ روز اشغال کرده اند ( شکلهای 7A, 7B). در عوض پوشش MC-<sup>65</sup>C همان سطوح را نشان می دهد که شامل سلولهای مرده در سطح کاتتر هستند و بیو فیلم تشکیل نشده است ( شکل 7C). (3)

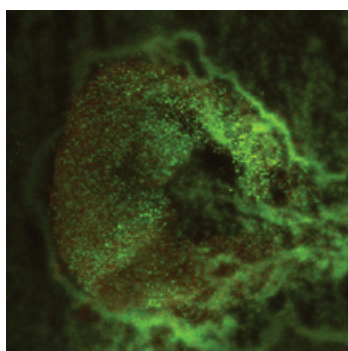


Figure 7A

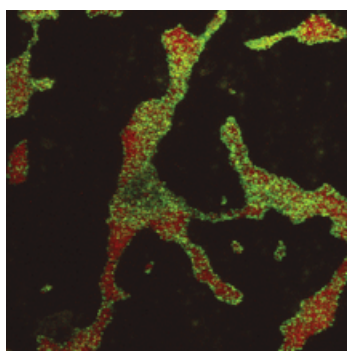


Figure 7B

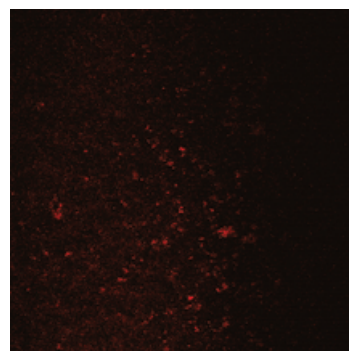


Figure 7C

صنایع بهداشتی نیز از تکنولوژی پوشش ضد باکتری بی نصیب نمانده است. یکی از شرکتهای معتبر در این زمینه ادعای ساخت خمیر دندانی را دارد که به مدت ۱۲ ساعت سطح دندانها و لثه ها رانسبت به باکتریها حفاظت می کند. این خمیر دندان، ماده ضد باکتری تری کلوزان را به دندانها و لثه ها می چسباند و محافظت آن را بمدت ۱۲ ساعت، حتی پس از خوردن و آشامیدن به عهده می گیرد. در ساخت این خمیر دندان از نوعی کوپلیمر

بنام "گانتروز" استفاده شده که باعث تثبیت طولانی مدت تری کلوزان در دهان می شود. بدون کوپلیمر، تری کلوزان به سرعت از دندان و لثه ها جدا شده و تأثیرات کلینیکی آن بسیار کم می شود، در حالیکه سیستم "تری کلوزان / کو پلیمر" سبب آزاد سازی تدریجی تری کلوزان در سطح دهان می شود و در نتیجه با بیشتر مشکلات مربوط به سلامت عمومی دهان مانند پوسیدگی دندانها، تشکیل پلاک و جرم، التهابات لثه و بوی بد مبارزه می شود. این خمیر دندان بوسیله ADA (American Dental Association) تأیید شده است. (4)

آزمایشهای کلینیکی گوناگونی بر روی این خمیردندان انجام شده است که به شرح زیر است:

- یک تحقیق ۳۰ ماهه در رابطه با اثر افزایش "تری کلوزان / کو پلیمر" به خمیر دندان حاوی فلوراید. (5)

- مقایسه کلینیکی کارایی ضد پوسیدگی یک خمیردندان حاوی سیلیکا، 1500 ppm سدیم فلوراید، تری کلوزان و یک کوپلیمر با خمیردندان حاوی سیلیکا و 1500 ppm سدیم فلوراید بدون تری کلوزان و کوپلیمر. (6)

- کاربرد خمیردندان حاوی "تری کلوزان / کوپلیمر" میتواند پیشرفت التهابات لثه را به تأخیراندازد. (7)

- اثر خمیردندان حاوی "تری کلوزان / کوپلیمر" در برخورد با اتلاف چسبندگی بافت های پیرا دندانی "periodontal attachment" در سنین بلوغ. (8)

- تأثیرات کلینیکی خمیر دندان حاوی "تری کلوزان / کو پلیمر" در کنترل طولانی مدت بوی ناخوشایند دهان. (9)

با این معرفی اجمالی تکنولوژی ضد میکروبی، چشم انداز خوبی در ذهن تداعی می شود و آن یک روش مناسب و کارا برای مبارزه با عوامل بیماری زاست.

مراجع :

- (1) Chlorhexidene-coated toothbrush filaments ,Biological Therapies in Dentistry ,  
Bc Decker inc .,10:01,2000
- (2) Pharmabiz , June 2001
- (3) In vitro Evaluation of Anti – Infective polymer coating  
Joy E.Perry , scott F. Rosebrough , Alexandra M . chamberlain  
And Richard J, whitbourne  
STS Biopolymers , Inc ., Henrietta , New york ,U.S.A
- (4) Colgate total toothpaste Information and FAQs . htm
- (5) Hawley G , Hamilton FA , Worthington HV , Davies RM , Holloway PJ ,  
Davies TGH , Blinkhorn AS .Caries Research 1995;29:163 – 167.
- (6) Mann J , Karniel C.Journal of Clinical Dentistry 1996 ; 7:90-95
- (7) Rosling B, wannfors B , volpe AR , Furuichiy , Ramberg P,  
Lindhe J. Journal of Clinical Periodontology 1997 ;24:873-880
- (8) Ellwood RP, Worthington HV, Blinkhorn ASB , Volpe AR . Davies RM.  
Journal of Clinical Periodontology 1998;25:363-367
- (9) Niles HP . vazquez J , Rustogi KN , Williams M , Gaffar A,  
Proskin HM .  
Colgate – Palmolive Technology Center . Piscataway. NJ,USA