Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 4:18 +0330 on Saturday November 18th 2017

Arak Medical University Journal (AMUJ)
2014; 17(90): 1-10

Original Article

Studying the antibacterial effect of Polyamidoamine-G4 Dendrimer on some of the gram-negative and gram-positive bacteria

Izanloo H[1], Ahmadi Jebelli M[2], Nazari Sh[3] , Safavi N[4], Tashauoei HR[5], Majidi Gh [6*], Khazae M[7], Vaziri Rad V[8], Vakili B[9], Aghababaei H[10]

1- Research Center for Environmental Pollutants, School of Public Health, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.
2- Research Center for Environmental Health, School of Public Health, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
3- School of Public Health, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
4- School of Public Health, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
5- Department of Environmental Health Engineering, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
6- School of Public Health, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.
7- Research Center for Environmental Pollutants, School of Public Health, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.
8- Department of Accounting, Islamic Azad University, Qom, Iran.
9- National Water & Wastewater Engineering Company, Tehran, Iran.
10- Department of Environmental Engineering, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 30 Jun 2014, Accepted: 10 Sep 2014

Abstract

Background: This study aimed to examine the antibacterial effect of Polyamidoamine-G4 dendrimer on *Escherichia coli, Enterobacter cloacae, Bacillus subtilis and Staphylococcus aureus*.

Materials and Methods: In this experimental study, the antibacterial effects of Polyamidoamine-G4 dendrimer were studied by disc diffusion and micro-dilution method. Different concentrations of Polyamidoamine-G4 inoculated onto blank disks and were placed in Mueller-Hinton agar media. Zone of inhibition was investigated by bacterial inoculation according to the McFarland standard 0.5. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of Polyamidoamine-G4 dendrimer were determined by micro-dilution method in nutrient broth culture.

Results: Zone of inhibition in concentration 500 µg/ml of Polyamidoamine-G4 dendrimers for *Escherichia coli, Enterobacter cloacae, Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* were 14, 0, 35 and 29mm, respectively. Concerning the Zone of inhibition in gram negative bacteria with gram positive ones was p<0/05 and had significant difference. The minimum inhibitory concentration of Polyamidoamine-G4 dendrimer for *Escherichia coli, Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* were 1250, 2.5, and 1 µg/ml, respectively. The minimum bactericidal concentration of Polyamidoamine-G4 dendrimer belonged to *Escherichia coli, Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* were 2500, 5 and 5 µg/ml, respectively. Polyamidoamine-G4 dendrimer had not bacteriostatic and bactericidal effects on *Enterobacter cloacae*.

Conclusion: According to the results, Polyamidoamine-G4 dendrimer can eliminate *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* effectively. It is suggested in the rest of this study that the probable toxicity of nanostructured compounds examined in drinking water and, economic studies is done for synthesis and their applications in case of prevention of using.

Keywords: Poly(amidoamine), Anti-bacterial Agents, Minimum Bactericidal Concentration, Minimum Bactericidal Concentration, Zone of Inhibition

*Corresponding Author:
Address: Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran
Email: gharibmajidi@gmail.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 4:18 +0330 on Saturday November 18th 2017

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۷، شماره ۹ (شماره پیاپی ۹۰)، آذر ۱۳۹۳، ۱۰-۱

بررسی اثر ضد باکتریایی دندریمر پلی‌آمیدوآمین-G4 بر برخی از باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت

حسن ایزانلو[۱]، محمد احمدی‌جبلی[۲]، شهرام نظری[۳]، نوید صفوی[۴]، حمیدرضا تشیعی[۵]، غریب مجیدی[۶*]، محمد خزائی[۷]، وحید وزیری‌راد[۸]، بهنام وکیلی[۹]، حسین آقابابایی[۱۰]

۱- استادیار گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات آلاینده‌های محیطی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

۲- دانشجوی دکتری مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۳- کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۵- استادیار مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۶-کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

۷- کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات آلاینده‌های محیطی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

۸- کارشناس ارشد مدیریت استراتژیک، گروه حسابداری، دانشگاه آزاد اسلامی قم، قم، ایران

۹- کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، شرکت مهندسی آب و فاضلاب، تهران، ایران

۱۰-کارشناس ارشد مهندسی محیط زیست، گرایش مهندسی منابع آب، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد باکتریایی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 بر باکتری‌های اشرشیاکلی، آنتروباکتر کلواکه، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی اثرات ضد باکتریایی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 به روش انتشار دیسک و رقت لوله‌ای بررسی شد. غلظت‌های مختلفی از دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 بر روی دیسک‌های بلانک تلقیح شده و در محیط کشت مولر هینتون آگار قرار داده شدند. با تلقیح باکتری‌ها مطابق با غلظت استاندارد ۰/۵ مک فارلند، هاله‌های عدم رشد بررسی گردید. حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4، به روش رقت لوله‌ای در محیط کشت نوترینت براث تعیین گردید.

یافته‌ها: قطر هاله عدم رشد در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای اشرشیاکلی، آنتروباکتر کلواکه، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر ۱۴، ۰، ۳۵ و ۲۹ میلی‌متر بود. درمورد قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم منفی با باکتری‌های گرم مثبت اختلاف معنی‌داری مشاهده شد($p<۰/۰۵$). حداقل غلظت بازدارندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر۱۲۵۰، ۲/۵ و ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر ۲۵۰۰، ۵ و ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 بر آنتروباکتر کلواکه اثر بازدارندگی و کشندگی نداشت.

نتیجه‌گیری: دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای حذف اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس موثر است. در ادامه این تحقیقات پیشنهاد می‌شود که سمیت احتمالی ترکیبات نانوساختار در آب شرب بررسی شده و در صورت عدم ممنوعیت استفاده، بررسی‌های اقتصادی برای سنتز و استعمال آنها به عمل آید.

واژگان کلیدی: دندریمر پلی‌آمیدوآمین، عامل ضد باکتریایی، حداقل غلظت بازدارندگی، حداقل غلظت کشندگی، قطر هاله عدم رشد

***نویسنده مسئول:** قم، دانشگاه علوم پزشکی قم، دانشکده بهداشت

Email:gharibmajidi@gmail.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 4:18 +0330 on Saturday November 18th 2017

مقدمه

در حدود ۱/۱ بیلیون نفر در جهان به منبع آب آشامیدنی با کیفیت بالا دسترسی ندارند(۱). بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO) در سال ۲۰۰۸ میزان مرگ و میر مرتبط با بیماری‌های منتقله آب بیش از ۵ میلیون نفر در سال بوده است(۲). بنابراین گندزدایی آب برای از بین بردن میکروب‌های بیماریزا ضروری می‌باشد. یک گندزدای ایده آل بایستی ویژگی‌هایی از قبیل خاصیت ضد باکتریایی گسترده در دمای محیط و در زمان کوتاه، عدم تولید محصولات جانبی گندزدایی مضر برای سلامتی در طی استفاده و بعد از استفاده، قیمت ارزان، ذخیره‌سازی و استفاده آسان، حلالیت بالا در آب و عدم خورندگی داشته باشد(۳).

کلر متداولترین گندزدای استفاده شده برای تصفیه آب می‌باشد(۴). در طی فرایند گندزدایی واکنش بین کلر و ترکیبات آلی طبیعی منجر به تولید انواع مختلفی از محصولات جانبی گندزدایی از قبیل تری‌هالومتان‌ها، هالواستیک اسیدها، هالواستونیتریل‌ها، هالوکتون‌ها و نیتروزودی متیل آمین‌ها می‌شود. وجود محصولات جانبی گندزدایی در آب آشامیدنی، احتمال ابتلا به سرطان را در انسان افزایش می‌دهد. تماس پوستی با محصولات جانبی گندزدایی نیز ممکن است موجب سرطانزایی شود (۵, ۶). دیگر روش‌های گندزدایی جایگزین شامل کلرآمین، ازن و دی اکسید کلر می‌باشند. کلرآمین نسبت به کلر یک گندزدای ضعیف‌تر می‌باشد و منجر به تشکیل محصولات جانبی گندزدایی سمی‌تر می‌شود(۷, ۸). ازن در حضور یون‌های بروماید موجب تشکیل برومات می‌شود. دی اکسید کلر می‌تواند منجر به تشکیل کلریت شود. استفاده از کلرآمین، ازن و دی اکسید کلر پر هزینه تر از کلر می‌باشند. ممکن است ازن و دی اکسید کلر نتوانند شبکه توزیع آب را به اندازه کافی در برابر میکروب‌های بیماریزا محافظت نمایند(۹, ۱۰).

نانوذرات می‌توانند نقش مهمی در فرایندهای گندزدایی ایفا نمایند. بسیاری از نانوذرات از قبیل فتوکاتالیست دی اکسید تیتانیوم، منیزیم اکسید، کلسیم اکسید، اکسید روی، چیتوزان، نانوذرات نقره، نانو لوله‌های کربنی، دندریمر، اکسید آلومینیوم و نانوذرات آهن صفر ظرفیتی برای غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌های موجود در آب آشامیدنی، فاضلاب، آبهای سطحی و دیگر منابع پیشنهاد شده‌اند(۱۱). نانو ذرات دندریمر (Dendrimer) می‌توانند به باکتری‌ها و ویروس‌ها متصل شوند و آنها را غیرفعال نمایند(۱۲).

دندریمرها از یک هسته مرکزی، واحدهای منشعب شده به صورت شاخه درخت و گروه‌های سطحی تشکیل شده‌اند(۱۳). از ویژگی‌های منحصر به فرد ساختارهای دندریمری می‌توان به ساختار منظم و پرشاخه، گروه‌های فعال انتهایی چند کاره و فضاهای خالی مابین شاخه‌ها اشاره نمود. ویژگی‌های دندریمر بسته به ماهیت گروه عاملی انتهایی روی سطح آن‌ها تغییر می‌کند(۱۴). دندریمرها در شناسایی سلول‌های سرطانی، دارورسانی، درمان تومورها و به عنوان عوامل ضدویروسی و ضدباکتریایی کاربرد دارند(۱۵). دندریمرهای پلی‌آمیدوآمین با گروه انتهایی آمینی اثر ضد میکروبی بالایی دارند(۱۶). دندریمرهای پلی‌آمیدوآمین دارای گروه انتهایی آمینی بر روی سطوح سلول باکتریایی جذب شده و از طریق دیوار سلولی نفوذ می‌نمایند. سپس به غشاء سیتوپلاسمی متصل شده و غشاء سیتوپلاسمی را متلاشی می‌کنند. در این هنگام الکترولیت‌هایی از قبیل یون‌های پتاسیم و فسفات و مواد هسته‌ای از قبیل DNA و RNA از سلول آزاد می‌شوند که در نتیجه به مرگ سلول باکتریایی می‌انجامند. دندریمرها خاصیت ضد میکروبی‌شان را بواسطه اختلال در غشاء داخلی و خارجی باکتری نشان می‌دهند(۱۷).

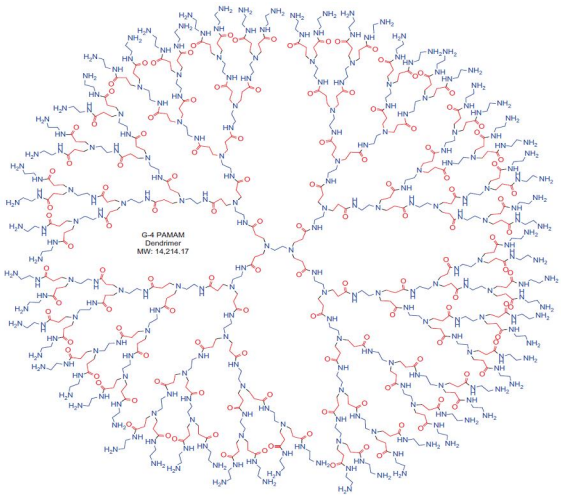
دندریمرها به دلیل شباهتی که با برخی از پروتئین‌های بدن دارند، حداقل سمیت را برای سلول‌های یوکاریوتیک دارند(۱۸). لذا ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی دندریمرها و امکان استفاده از آنها به عنوان گندزدا، می‌تواند مورد پژوهش قرار گیرد. این مطالعه با هدف تعیین اثرات ضدباکتریایی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 4:18 +0330 on Saturday November 18th 2017

(Polyamidoamine-G4- PAMAM-G4) بر باکتری‌های اشرشیاکلی، آنتروباکتر کلواکه، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس به روش انتشار دیسک برای تعیین هاله عدم رشد (Zone of Inhibition-ZON) و رقت لوله‌ای برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibitory Concentration-MIC) و حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration-MBC) انجام شد. همچنین مقایسه اثرپذیری باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در مقابل دندریمرها از اهداف دیگر مطالعه می‌باشد. با استفاده از نتایج این مطالعه می‌توان به قابلیت کاربرد دندریمرها در صنعت تصفیه پرداخت و شرایط فرصت‌های موجود را بررسی کرد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی و در مقیاس آزمایشگاهی انجام شد. گونه‌های باکتری استفاده شده در این مطالعه شامل باکتری‌های گرم منفی اشرشیاکلی، آنتروباکتر کلواکه و باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس بودند که به روش صافی غشایی از آب آشامیدنی روستاهای استان قم جداسازی شدند. صافی غشایی دارای ضخامت ۱۵۰ میکرومتر و سوراخ‌هایی به قطر ۰/۴۵ میکرون بود. همه این باکتری‌ها قبل از استفاده، در شرایط هوازی و در محیط نوترینت براث برای مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. کلیه محیط کشت‌های مصرفی، ساخت شرکت مرک آلمان بود. ماده ضد باکتریایی مورد استفاده، دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم می‌باشد (شکل ۱). دندریمرهای PAMAM-G4 توسط پژوهشکده رنگ تهران تهیه و در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته‌اند.



شکل ۱. دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4

کشت ۲۴ ساعته باکتری، جهت تهیه غلظت معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند به کار برده شد و سپس توسط سواپ استریل با روش کشت خطی بر روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت یکنواخت انجام شد. غلظت نیم مک فارلند معادل $۱/۵\times۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر است. غلظت محلول مادر دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4، ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. غلظت‌های مورد نظر از دندریمر به وسیله آب مقطر و به روش رقیق‌سازی سریالی تهیه شدند. سپس در شرایط کاملا استریل، ۵۰ میکرولیتر از دندریمر پلی‌آمیدوآمین در غلظت‌های ۰/۵، ۵، ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به هر دیسک خالی (Blank disk) تلقیح شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد تا خشک شود. سپس بر روی پلیت حاوی باکتری، دو عدد دیسک آغشته به دندریمر در فواصل مناسب از هم قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شد.

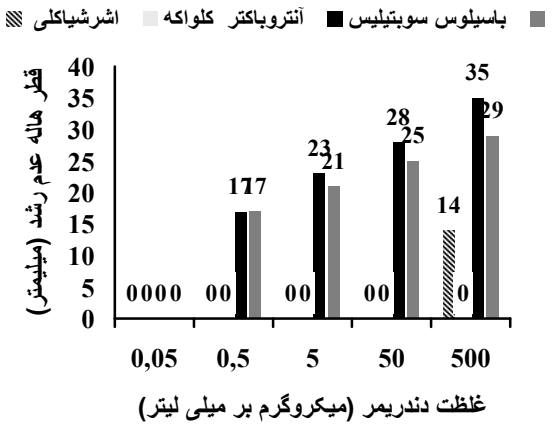
حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از روش رقت لوله‌ای، تعیین گردید. در این روش، پنج لوله برای آزمایش غلظت‌های مختلف دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4، یک لوله شاهد به عنوان کنترل مثبت و یک لوله شاهد دیگر به عنوان کنترل منفی به کار رفت. ابتدا ۹ میلی‌لیتر از محیط کشت

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 4:18 +0330 on Saturday November 18th 2017

نوترینت براث به لوله‌های آزمایش افزوده شد. سپس به هر لوله آزمایش ۰/۵ میلی‌لیتر از رقت باکتریایی معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند و ۰/۵ میلی‌لیتر از هر کدام از غلظت‌های دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 (غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۵، ۵، ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) وارد گردید. لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شده و سپس از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی گردیدند. لوله‌ای با کمترین غلظت از دندریمر که رشد باکتری در آن مشاهده نشود، حداقل غلظت بازدارندگی است. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی دندریمر، از لوله‌هایی که رشد در آنها مشاهده نگردید، بر روی سطح محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند و پلیت مربوط به لوله‌ای که حاوی کمترین غلظت از دندریمر بود و رشد باکتری در آن مشاهده نشد، به عنوان MBC در نظر گرفته شد. تمامی آزمایش‌ها برابر با دستورالعمل‌های موسسه استاندارد و آزمایشگاه پزشکی Clinical Laboratory (and Standards Institute- CLSI) انجام شد(۱۹). برای سنجش آماری داده‌ها از نرم افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید. از آزمون من‌ویتنی (Man Withney) برای تعیین اختلاف قطر هاله در باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت استفاده گردید..

یافته ها

نتایج حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 به روش انتشار دیسک در نمودار ۱ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 از رشد باکتری‌های اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس جلوگیری نموده است اما تاثیری بر آنتروباکتر کلواکه نداشته است. در باکتری‌های گرم مثبت، با افزایش غلظت دندریمر قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت در جدول ۱ آمده است.



نمودار ۱. قطر هاله‌های عدم رشد باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4

جدول ۱. حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت

غلظت دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	تاثیر بر رشد باکتری‌ها			
	اشرشیاکلی	آنتروباکتر کلواکه	باسیلوس سوبتیلیس	استافیلوکوکوس اورئوس
۰/۰۵	رشد	رشد	رشد	رشد
۰/۵	رشد	رشد	رشد	رشد
۵	رشد	رشد	MIC	MIC
۵۰	رشد	رشد	MBC	MBC
۵۰۰	رشد	رشد	B.C	B.C
شاهد (کنترل منفی)	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد
شاهد (کنترل مثبت)	رشد	رشد	رشد	رشد

B.C: Bactericidal

با توجه به این که در غلظت‌های بررسی شده، دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 تاثیری بر باکتری‌های گرم منفی نداشت، به منظور کسب نتایج دقیق‌تر، برای باکتری‌های گرم منفی غلظت‌های بالاتری از دندریمر و برای باکتری‌های گرم مثبت غلظت‌های پایین‌تری از

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 4:18 +0330 on Saturday November 18th 2017

دندریمر مورد بررسی قرار گرفت. علت استفاده از غلظت‌های بالاتر برای باکتری‌های گرم منفی به این دلیل است که غلظت‌های بررسی شده (۰/۰۵، ۰/۵، ۵، ۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اثرات بازدارندگی و کشندگی بر باکتری‌های گرم منفی نداشتند و علت استفاده از غلظت‌های پایین‌تر برای باکتری‌های گرم مثبت به این دلیل است که می‌خواهیم ببینیم که آیا غلظت‌های پایین‌تر بر باکتری‌ها گرم مثبت اثر بازدارندگی و کشندگی دارد یا خیر؟ در جدول ۲ حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت (تست دوم با غلظت‌های دقیق‌تر) آمده است. همانطور که مشاهده می‌شود غلظت‌های بالاتر دندریمر بر باکتری اشرشیاکلی دارای اثر بازدارندگی و کشندگی بود. همچنین غلظت‌های پایین‌تر دندریمر بر باکتری‌های گرم مثبت اثرات بازدارندگی و کشندگی داشت.

جدول ۲.حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت (تست دوم با غلظت‌های دقیق‌تر)

غلظت دندریمر پلی‌آمیدوآمین –G4 (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	تاثیر بر رشد باکتری‌های گرم منفی		غلظت دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	تاثیر بر رشد باکتری‌های گرم مثبت	
	اشرشیاکلی	آنتروباکتر کلواکه		باسیلوس سوبتیلیس	استافیلوکوکوس اورئوس
۵۰	رشد	رشد	۰/۵	رشد	رشد
۱۲۵	رشد	رشد	۱	رشد	MIC
۲۵۰	رشد	رشد	۲/۵	MIC	B.S
۵۰۰	رشد	رشد	۵	MBC	MBC
۱۲۵۰	MIC	رشد	۱۵	B.C	B.C
۲۵۰۰	MBC	رشد	۲۵	B.C	B.C
۵۰۰۰	B.C	رشد	۵۰	B.C	B.C
شاهد (کنترل منفی)	عدم رشد	عدم رشد	شاهد (کنترل منفی)	عدم رشد	عدم رشد
شاهد (کنترل مثبت)	رشد	رشد	شاهد (کنترل مثبت)	رشد	رشد

B.S: Bacteriostatic
B.C: Bactericidal

بحث

آنتروباکتر کلواکه در غلظت‌های مختلف دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 هاله عدم رشدی نداشت. باکتری اشرشیاکلی تنها در غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هاله عدم رشد داشت. در باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس در تمامی غلظت‌ها قطر هاله عدم رشد مشاهده شد و با افزایش غلظت دندریمر به نحو چشم‌گیری افزایش یافت. قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) داشت. حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی برای باکتری اشرشیاکلی به ترتیب برابر ۱۲۵۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت بازدارندگی برای باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر ۲/۵ و ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی برای باکتری باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس برابر ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. نتایج حاصل از قطر هاله عدم رشد و حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی آشکار نمود که اثر ضد باکتریایی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی است.

فلزاک و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین–G4 بیشترین تاثیر ضدباکتریایی را بر علیه باکتری‌های گرم مثبت دارد(۲۰). در مطالعه‌ای دیگر آدامز و همکاران در بررسی اثر ضد

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 4:18 +0330 on Saturday November 18th 2017

باکتریایی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم، دی اکسید سیلیکون و اکسید روی بر باکتری‌های اشرشیاکلی و باسیلوس سوبتیلیس دریافتند که بیشترین حساسیت نسبت به نانو ذرات مربوط به باکتری باسیلوس سوبتیلیس می‌باشد(۲۱). در مطالعه‌ای که توسط آبکناری و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام شد، خاصیت ضد میکروبی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین–G2 بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی بررسی شد. از محلول اولیه نانوذرات پلی‌پروپیلن‌ایمین–G2 غلظت اولیه محلول ۱ درصد، رقت‌های ۱/۲، ۱/۴ و ۱/۸ ساخته شد. حداقل غلظت بازدارندگی برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی به ترتیب برابر ۱/۴ و ۱/۸ بود(۲۲). همچنین جنسزوسکا و همکاران خاصیت ضد باکتریایی ۱۴ دندریمر پپتیدی با وزن مولکولی پایین را بر علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطالعه نشان داد که در اکثر دندریمرهای پپتیدی مورد بررسی، حداقل غلظت بازدارندگی باکتری اشرشیاکلی بالاتر از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد(۱۵). در مطالعه حاضر حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای باکتری‌های گرم مثبت کمتر از باکتری‌های گرم منفی بود که نشان‌دهنده‌ی حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد. نتایج این مطالعه با مطالعات بالا مطابقت دارد. حساسیت بالاتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی می‌تواند به دلیل مکانیسم فعل و انفعال بین غشاء باکتری و دندریمر و همچنین تفاوت در ساختار دیواره‌های سلولی باکتریایی باشد(۲۰, ۲۳). باکتری‌های گرم منفی دارای غشای خارجی می‌باشند که همچون سدی از عبور مولکول‌های بزرگ و آب گریز جلوگیری می‌کند(۲۴).

خاصیت ضد باکتریایی دندریمرهای پلی‌آمیدوآمین–G3 بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشرشیاکلی توسط کارلس و همکاران در سال ۲۰۱۲ بررسی شد. ۵ میکرولیتر از محلول دندریمر با غلظت ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به محیط کشت تزریق شد. هاله عدم رشد برای باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب ۱۴ و ۱۱ میلی‌متر بود. هنگامی که ۱۰ میکرولیتر از محلول دندریمر به محیط کشت تزریق شد قطر هاله عدم رشد به ترتیب به ۱۸ و ۱۶ میلیمتر افزایش یافت. نتایج این مطالعه آشکار نمود که باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس مقاوم‌تر از باکتری گرم منفی اشرشیاکلی می‌باشد(۱۴). نتایج این مطالعه با مطالعه حاضر و سایر مطالعاتی که در مورد اثر ضد باکتریایی دندریمر می‌باشد متفاوت است. احتمالا تاثیر ضد باکتریایی نانوذرات منحصرا به دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت یا گرم منفی وابسته نیست(۲۵).

ژوو و همکاران در مطالعه‌ای دیگر خاصیت ضد باکتریایی دندریمرهای پلی‌آمیدوآمین–G2 را بر باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، سالمونلا انتریکا، سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه و شیگلا فلکسنری مورد بررسی قرار دادند. حداقل غلظت بازدارندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G2 به ترتیب برابر ۶/۲۵، ۶/۲۵، ۰/۷۸، ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۶/۲۵، و ۶/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود(۲۶). حداقل غلظت بازدارندگی دندریمر پلی آمیدوآمین–G4 در مقایسه با دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G2، برای باکتری اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب بیشتر و کمتر می‌باشد. ممکن است علت تفاوت نتایج مطالعه حاضر با مطالعه بالا تفاوت در سویه‌های باکتری‌ها و نسل دندریمرها باشد.

لی و همکاران در سال ۲۰۱۰ به بررسی تاثیر ضد باکتریایی نانوذرات نقره بر باکتری اشرشیاکلی پرداختند. حداقل غلظت بازدارندگی برای باکتری‌های اشرشیاکلی برابر ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود(۲۷). حداقل غلظت بازدارندگی نانوذرات نقره برای اشرشیاکلی با نتایج مطالعه حاضر مطابقت ندارد. تاثیر ضد باکتریایی نانوذرات نقره بر باکتری اشرشیاکلی بهتر از دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 می‌باشد.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 4:18 +0330 on Saturday November 18th 2017

در مطالعه‌ای که توسط سیریماهاچیا و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد، خاصیت ضدباکتریایی فتوکاتالیست‌های دی اکسید تیتانیوم (آناتاز-Anatase، روتیل-Rutile و دگوسا Degussa P25-P25 که به صورت تجاری موجود می‌باشند) بر باکتری‌های اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد. روتیل هیچ‌گونه خاصیت ضد باکتریایی نداشت. همچنین آناتاز بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اثری نداشت. حداقل غلظت بازدارندگی نانوذره آناتاز برای باکتری‌های اشرشیاکلی و باسیلوس سوبتیلیس به ترتیب برابر ۱۲۵۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت بازدارندگی نانوذره دگوسا P25 بر باکتری‌های اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر ۱۰۰۰۰۰، ۲۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود(۲۸). با توجه به اینکه دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 در غلظت‌های بسیار پایین‌تری نسبت به دی اکسید تیتانیوم از رشد باکتری‌ها جلوگیری نموده است پس می‌توان گفت خاصیت ضد باکتریایی فتوکاتالیست‌های دی اکسید تیتانیوم بسیار کمتر از دندریمر پلی آمیدوآمین–G4 می‌باشد.

حسین‌زاده و همکاران در سال ۲۰۱۳ تاثیر ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی را بر باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی کردند. حداقل غلظت بازدارندگی به ترتیب برابر ۱۲۵۰ و ۱۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی به ترتیب برابر ۱۲۵۰ و ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود(۲۹). در مقایسه با مطالعه حاضر خاصیت ضدباکتریایی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 بر اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بهتر از نانوذرات اکسید روی می‌باشد.

خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات چیتوزان بر باکتری‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس توسط دوو و همکاران در سال ۲۰۰۹ بررسی شد. حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی برای اشرشیاکلی برابر ۱۱۷ و ۱۸۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی برای استافیلوکوکوس اورئوس برابر ۲۳۴ و ۲۸۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود(۳۰). تاثیر ضدباکتریایی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 بر باکتری اشرشیاکلی ضعیف‌تر از نانوذرات چیتوزان است در حالی که تاثیر دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس قوی‌تر از نانوذرات چیتوزان می‌باشد.

در مطالعه‌ای که توسط روپارلیا و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام شد، خاصیت ضد باکتریایی نانوذرات مس بر باکتری‌های اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد. غلظت نانوذرات مس تلقیح شده بر روی دیسک خالی، ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. قطر هاله عدم رشد نانوذرات مس برای باکتری‌های اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر ۹، ۲۰ و ۱۴ میلیمتر بود. حداقل غلظت بازدارندگی برای باکتری‌های اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر ۲۲۰، ۲۰ و ۱۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت کشندگی برای باکتری‌های اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب ۲۶۰، ۴۰ و ۱۶۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. بیشترین حساسیت نسبت به نانوذرات مس در باسیلوس سوبتیلیس مشاهده شد(۲۵). در مقایسه با مطالعه حاضر حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس کمتر از نانوذرات مس می‌باشد. حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای باکتری اشرشیاکلی بسیار بیشتر از نانوذرات مس می‌باشد.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج این مطالعه دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 برای حذف اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس موثر است اما بر آنتروباکتر کلواکه اثر ضدباکتریایی نداشت. قطر هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت تفاوت معنی‌داری داشت. نتایج حاصل از قطر هاله عدم رشد و حداقل غلظت بازدارندگی و

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 4:18 +0330 on Saturday November 18th 2017

حداقل غلظت کشندگی آشکار نمود که اثر ضد باکتریایی دندریمر پلی‌آمیدوآمین–G4 بر علیه باکتری‌های گرم مثبت قوی‌تر از باکتری‌های گرم منفی است. در نهایت استفاده از دندریمرهای مورد بررسی در این مطالعه در صنعت تصفیه آب و موارد مشابه سودمند به نظر رسیده است که در ادامه این تحقیقات پیشنهاد می‌شود سمیت احتمالی این گونه ترکیبات نانوساختار در آب شرب بررسی شده و در صورت عدم ممنوعیت استفاده، بررسی‌های اقتصادی برای سنتز و استعمال آنها به عمل آید.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی شرکت مهندسی آب و فاضلاب کشور انجام گردیده است که به این وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسئولین آن شرکت مادر تخصصی و کلیه‌ی پرسنل محترم آزمایشگاه شرکت آب و فاضلاب روستایی استان قم ابراز می‌کند.

منابع

1. Montgomery MA, Elimelech M. Water and sanitation in developing countries: including health in the equation. Environmental science & technology. 2007;41(1):17-24.
2. WHO. Our planet, our health: Report of the WHO Commission on Health and Environment. 1992.
3. Rutala WA, Weber DJ, Control CfD. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008. Centers for Disease Control (US); 2008.
4. Gopal K, Tripathy SS, Bersillon JL, Dubey SP. Chlorination byproducts, their toxicodynamics and removal from drinking water. Journal of hazardous materials. 2007; 140(1): 1-6.
5. Richardson SD, Plewa MJ, Wagner ED, Schoeny R, DeMarini DM. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research. Mutation Research/Reviews in Mutation Research. 2007;636(1):178-242.
6. Karagas MR, Villanueva CM, Nieuwenhuijsen M, Weisel CP, Cantor KP, Kogevinas M. Disinfection byproducts in drinking water and skin cancer? A hypothesis. Cancer Causes and Control. 2008;19(5):547-8.
7. Richardson S. New disinfection by-product issues: emerging DBPs and alternative routes of exposure. Global Nest J. 2005;7(1):43-60.
8. Mitch WA, Sedlak DL. Formation of N-nitrosodimethylamine (NDMA) from dimethylamine during chlorination. Environmental science & technology. 2002; 36(4): 588-95.
9. Chowdhury S, Champagne P, Husain T. Fuzzy risk-based decision-making approach for selection of drinking water disinfectants. Journal of Water Supply: Research and Technology-AQUA. 2007;56(2):75-93.
10. Lykins Jr BW, Koffskey WE, Patterson KS. Alternative disinfectants for drinking water treatment. Journal of Environmental Engineering. 1994;120(4):745-58.
11. Hossain F, Perales-Perez OJ, Hwang S, Román F. Antimicrobial nanomaterials as water disinfectant: Applications, limitations and future perspectives. Science of the Total Environment. 2014;466:1047-59.
12. Diallo M. Water Treatment by Dendrimer-Enhanced Filtration: Principles and Applications. Nanotechnology Applications for Clean Water. USA: William Andrew; 2009. p. 143-55.
13. Gombotz WR. Dendrimers. Applications of Biomaterials. USA.2010.
14. Charles S, Vasanthan N, Kwon D, Sekosan G, Ghosh S. Surface modification of poly (amidoamine)(PAMAM) dendrimer as antimicrobial agents. Tetrahedron letters. 2012; 53(49):6670-5.
15. Strydom SJ, Rose WE, Otto DP, Liebenberg W, de Villiers MM. Poly (amidoamine) dendrimer-mediated synthesis and stabilization of silver sulfonamide nanoparticles with increased antibacterial activity. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2013; 9(1):85-93.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 4:18 +0330 on Saturday November 18th 2017

16. Wang B, Navath RS, Menjoge AR, Balakrishnan B, Bellair R, Dai H, et al. Inhibition of bacterial growth and intramniotic infection in a guinea pig model of chorioamnionitis using PAMAM dendrimers. International journal of pharmaceutics. 2010;395(1):298-308.
17. Ferraro MJ. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 2000.
18. Felczak A, Wrońska N, Janaszewska A, Klajnert B, Bryszewska M, Appelhans D, et al. Antimicrobial activity of poly (propylene imine) dendrimers. New Journal of Chemistry. 2012; 36(11):2215-22.
19. Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJ. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO 2, SiO 2, and ZnO water suspensions. Water Research. 2006;40(19):3527-32.
20. Abkenar SS, Malek RMA. Preparation, characterization, and antimicrobial property of cotton cellulose fabric grafted with poly (propylene imine) dendrimer. Cellulose. 2012; 19(5):1701-14.
21. Janiszewska J, Swieton J, Lipkowski AW, Urbanczyk-Lipkowska Z. Low molecular mass peptide dendrimers that express antimicrobial properties. Bioorganic & medicinal chemistry letters. 2003;13(21):3711-3.
22. Atmaca S. The effect of zinc on microbial growth. Turkish Journal of Medical Sciences. 1998; 28(6):595-8.
23. Mohammadi-Sichani M, Amjad L, Mohammadi-Kamalabadi M. Antibacterial activity of methanol extract and essential oil of Achillea wilhelmsii against pathogenic bacteria. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. 2011;13(3):14-9.
24. Ruparelia JP, Chatterjee AK, Duttagupta SP, Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. Acta Biomaterialia. 2008; 4(3): 707-16.
25. Xue X, Chen X, Mao X, Hou Z, Zhou Y, Bai H, et al. Amino-terminated generation 2 poly (amidoamine) dendrimer as a potential broad-spectrum, nonresistance-inducing antibacterial agent. The AAPS journal. 2013; 15(1):132-42.
26. Li W-R, Xie X-B, Shi Q-S, Zeng H-Y, You-Sheng O-Y, Chen Y-B. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on Escherichia coli. Applied microbiology and biotechnology. 2010;85(4):1115-22.
27. Sirimahachai U, Phongpaichit S, Wongnawa S. Evaluation of bactericidal activity of TiO 2 photocatalysts: a comparative study of laboratory-made and commercial TiO 2 samples. Songklanakarin Journal of Science & Technology. 2009;31(5): 517-25.
28. Hoseinzadeh E, Alikhani M-Y, Samarghandi M-R, Shirzad-Siboni M. Antimicrobial potential of synthesized zinc oxide nanoparticles against gram positive and gram negative bacteria. Desalination and Water Treatment. 2013:1-8.
29. Du W-L, Niu S-S, Xu Y-L, Xu Z-R, Fan C-L. Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions. Carbohydrate Polymers. 2009; 75(3):385-9.