

# تأثیر ضدباکتریایی دندریمر پلی پروپیلن ایمین نسل دوم و پلی آمیدوآمین نسل چهارم بر باکتری‌های کلبسیلا اوکسی توکا، سودوموناس آئروژینوزا و پروتئوس میرابیلیس در محیط آزمایشگاهی

حسن ایزانلو<sup>۱</sup>، محمد احمدی جلیلی<sup>۲</sup>، حمیدرضا تشیعی<sup>۳</sup>، محمد خزائی<sup>۴</sup>، شهرام نظری<sup>۵</sup>، غریب مجیدی<sup>۶\*</sup>، وحید وزیریراد<sup>۷</sup>، حسین آقابابایی<sup>۸</sup>، بهنام وکیلی<sup>۹</sup>

<sup>۱</sup> استادیار مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات آلاینده‌های محیطی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

<sup>۲</sup> دانشجوی دکتری مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران.

<sup>۳</sup> استادیار مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

<sup>۴</sup> کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات آلاینده‌های محیطی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

<sup>۵</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

<sup>۶</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

<sup>۷</sup> کارشناس ارشد مدیریت استراتژیک، گروه حسابداری، دانشگاه آزاد اسلامی قم، قم، ایران.

<sup>۸</sup> کارشناس ارشد مهندسی محیط زیست، گرایش مهندسی منابع آب، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

<sup>۹</sup> کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، شرکت مهندسی آب و فاضلاب، تهران، ایران.

نشانی نویسنده مسئول: غریب مجیدی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

E-mail: gharibmajidi@gmail.com

وصول: ۹۲/۱۲/۲۳، اصلاح: ۹۳/۳/۵، پذیرش: ۹۳/۴/۲۹

## چکیده

**زمینه و هدف:** هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضدباکتریایی دندریمر پلی پروپیلن ایمین نسل دوم (PPI-G2) و پلی آمیدوآمین نسل چهارم (PAMAM-G4) بر کلبسیلا اوکسی توکا، سودوموناس آئروژینوزا و پروتئوس میرابیلیس در محیط آزمایشگاهی بود.

**مواد و روش‌ها:** غلظت‌های مختلفی از دندریمر PPI-G2 و PAMAM-G4 بر روی دیسک‌های بلانک تلقیح شد و در محیط کشت مولر هیتون آگار قرار داده شدند. با تلقیح باکتری‌ها مطابق با غلظت استاندارد ۰/۵ مک فارلند، هاله‌های عدم رشد بررسی گردید. حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی دندریمر PPI-G2 و PAMAM-G4 به روش رقت لوله‌ای در محیط کشت نوترینت برات تعیین شد.

**یافته‌ها:** هاله عدم رشد در غلظت ۵۰۰ μg/ml از دندریمر PPI-G2 برای کلبسیلا اوکسی توکا، پروتئوس میرابیلیس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر ۱۵mm، ۲۰mm و ۲۰mm بود. هاله عدم رشد در غلظت ۵۰۰ μg/ml از دندریمر PAMAM-G4 برای کلبسیلا اوکسی توکا، پروتئوس میرابیلیس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر ۲۰mm، ۱۸mm و ۰mm بود. MIC دندریمر PPI-G2 برای کلبسیلا اوکسی توکا و سودوموناس آئروژینوزا برابر ۵ μg/ml و برای پروتئوس میرابیلیس برابر ۵۰ μg/ml بود. MIC دندریمر PPI-G2 برای کلبسیلا اوکسی توکا برابر ۵۰ μg/ml و برای پروتئوس میرابیلیس و سودوموناس آئروژینوزا برابر ۵۰۰ μg/ml بود. MIC دندریمر PAMAM-G4 برای کلبسیلا اوکسی توکا و پروتئوس میرابیلیس به ترتیب برابر ۵۰۰ μg/ml و ۱۲۵۰ μg/ml بود. MIC دندریمر PAMAM-G4 برای کلبسیلا اوکسی توکا و پروتئوس میرابیلیس به ترتیب برابر ۱۲۵۰ μg/ml و ۲۵۰۰ μg/ml بود.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج این مطالعه، دندریمر PPI-G2 برای حذف سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا اوکسی توکا و پروتئوس میرابیلیس مؤثر است اما PAMAM-G4 تنها بر کلبسیلا اوکسی توکا و پروتئوس میرابیلیس اثر ضدباکتریایی دارد. همچنین خاصیت ضدباکتریایی دندریمر PPI-G2 بسیار بهتر از PAMAM-G4 است. با این حال، استفاده از دندریمر برای گندزدایی آب آشامیدنی نیازمند مطالعات بیشتر و وسیع‌تر است.

**واژگان کلیدی:** خاصیت ضدباکتریایی، حداقل غلظت کشندگی، حداقل غلظت بازدارندگی، هاله عدم رشد.

## مقدمه

گزارش سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۱۲ نشان می‌دهد که تقریباً ۷۸۰ میلیون نفر به منابع آب آشامیدنی سالم دسترسی نداشته‌اند (۱). در سرتاسر جهان روزانه بیش از ۴۵۰۰ مرگ در میان کودکان زیر ۱۴ سال به علت بیماری‌های ناشی از آب رخ می‌دهد (۲). در کشورهای در حال توسعه، سالانه ۳/۴ میلیون نفر در اثر بیماری‌های ناشی از آب می‌میرند (۳). بنابراین، گندزدایی آب آشامیدنی برای پیشگیری از بیماری‌های ناشی از آب ضروری است. گندزدهای متداول شامل کلر آزاد، کلرآمین‌ها و ازن هستند. این گندزدها اکثر میکروب‌های بیماری‌زا را حذف می‌نمایند؛ ولی، می‌توانند با مواد آلی طبیعی واکنش دهند و محصولات جانبی گندزدایی (DBPs) تشکیل دهند (۴، ۵). تا کنون، بیش از ۶۰۰ DBPs شناسایی شده‌اند (۶). تری‌هالومتان‌ها و هالواستیک اسیدها از شایع‌ترین محصولات جانبی گندزدایی به شمار می‌روند (۵). برخی از محصولات جانبی گندزدایی احتمالاً با ایجاد سرطان‌هایی از قبیل مثانه و کولورکتال در انسان مرتبط هستند (۳). همچنین، تماس پوستی با محصولات جانبی گندزدایی هنگام شنا و استحمام ممکن است موجب سرطان‌زایی شود (۷، ۸). یافتن روش‌های جایگزینی ضروری است که بتوانند، بدون تولید محصولات جانبی گندزدایی، کارایی بالایی در حذف میکروب‌های بیماری‌زا داشته باشند. نانوذرات موجب تشکیل محصولات جانبی گندزدایی نمی‌شوند (۶). نانوذرات علیه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت خاصیت ضدباکتریایی بسیار خوبی دارند (۹). فلزات (۱۰)، اکسیدهای فلزی (۱۱)، نمک‌های فلزی (۱۲، ۱۳)، هیدروکسیدهای فلزی (۱۳)، نانوحامل‌های آلی اصلاح شده با عوامل ضد میکروبی (۱۴)، مواد هیبریدی (۱۴) و پلیمرها (۱۵) نمونه‌هایی از نانوذرات دارای خاصیت ضد میکروبی هستند.

دندریمرها پلیمرهایی منظم، پُرشاخه و دارای

گروه‌های سطحی بسیار فعال هستند (۱۶، ۱۷). دو دسته از پرکاربردترین دندریمرها پلی‌آمیدوآمین و پلی‌پروپیلن‌ایمین می‌باشد که به صورت تجاری هم وجود دارند (۱۸). اگر گروه‌های انتهایی دندریمرها با عوامل ضد میکروبی عامل‌دار شوند، توانایی‌شان در حذف میکروب‌ها بالا خواهد رفت (۱۶، ۱۹). دندریمرهای دارای گروه‌های انتهایی آمینی ویژگی ضد میکروبی دارند (۲۰). فعل و انفعال الکترواستاتیکی میان بخش کاتیونی دندریمر و بخش آنیونی سطح سلول باکتری موجب می‌شود تا به سرعت با یکدیگر در تماس قرار گیرند. بسته به غلظت دندریمر، نفوذپذیری غشای میکروارگانیسم تغییر پیدا می‌کند و سرانجام می‌تواند به اختلال در دیواره سلولی و مرگ باکتری بیانجامد (۱۹، ۲۱، ۲۲).

تا کنون مطالعاتی در زمینه ویژگی ضدباکتریایی دندریمرها انجام شده است. مطالعه الکساندرا و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل چهارم از رشد استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا جلوگیری می‌نماید (۲۰). آبکناری و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند که دندریمرهای پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پنجم در برابر استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا، از فعالیت ضد میکروبی خوبی برخوردار هستند (۱۸). در مطالعه ژوو و همکاران (۲۰۱۳) هم روشن شد که دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل دوم از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌نماید (۲۳).

این مطالعه با هدف تعیین اثرات ضدباکتریایی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم (PPI-G2) و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم (PAMAM-G4) بر باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس به روش انتشار دیسک (برای تعیین هاله عدم رشد) و رقت لوله‌ای (برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

انجام شد.

و یک لوله به عنوان کنترل منفی به کار رفت. ابتدا ۹cc از محیط کشت نوترینت براث به لوله‌های آزمایش وارد شد. سپس به هر لوله آزمایش ۰/۵cc از رقت باکتریایی معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند و ۰/۵cc از هر کدام از غلظت‌های دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم (غلظت‌های ۰/۰۵µg/ml، ۰/۵µg/ml، ۵µg/ml، ۵۰µg/ml و ۵۰۰µg/ml) وارد شد. لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. پس از طی زمان گرماگذاری، لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی شدند. 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 بر سطح محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد که رشد در آنها مشاهده نشده بود. 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 (۲۴).

## یافته‌ها

نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم به روش انتشار دیسک در شکل ۳ و ۴ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم از رشد باکتری‌های کلبسیلا اوکسی‌توکا، سودوموناس آئروژینوزا و پروتئوس میرابیلیس جلوگیری نموده است. سودوموناس آئروژینوزا در غلظت‌های مختلف دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم هاله عدم رشدی نداشت. مقادیر مربوط به حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم بر علیه باکتری‌های کلبسیلا اوکسی‌توکا، سودوموناس آئروژینوزا و پروتئوس

## مواد و روش‌ها

گونه‌های باکتری استفاده شده در این مطالعه شامل باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس 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. دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم مواد ضدباکتریایی بودند. در شکل ۱ و ۲ فرمول ساختاری دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم نشان داده شده است.

در آزمایشگاه از کشت ۲۴ ساعته باکتری، غلظت معادل استاندارد ۰/۵ مک فارلند تهیه شد و توسط سواب استریل با روش کشت خطی بر روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار کشت یکنواخت انجام شد. غلظت‌های مورد نظر از دندریمر به وسیله آب مقطر و به روش سری تهیه شد. سپس در شرایط کاملاً استریل، ۵۰ میکرولیتر از دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم در غلظت‌های ۰/۰۵µg/ml، ۰/۵µg/ml، ۵µg/ml، ۵۰µg/ml و ۵۰۰µg/ml به هر دیسک بلانک تلقیح شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور گذاشته شد تا خشک شود. سپس بر روی پلیت حاوی باکتری، دیسک آغشته به دندریمر در فواصل مناسب از هم قرار داده شد. 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 شد. در این روش ۵ لوله برای آزمایش غلظت‌های گوناگون دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم، یک لوله به عنوان کنترل مثبت

جدول ۱: حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی پروپیلن ایمین نسل دوم برای باکتری‌ها

تأثیر بر رشد باکتری‌ها		غلظت دندریمر پلی پروپیلن ایمین	
سودوموناس آئروژینوزا	پروتئوس میرابیلیس	کلبسیلا اوکسی توکا	نسل دوم ( $\mu\text{g/ml}$ )
عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	شاهد (کنترل منفی)
رشد	رشد	رشد	شاهد (کنترل مثبت)
رشد	رشد	رشد	$0.5 \mu\text{g/ml}$
رشد	رشد	رشد	$5 \mu\text{g/ml}$
MIC	رشد	MIC	$5 \mu\text{g/ml}$
B.S	MIC	MBC	$50 \mu\text{g/ml}$
MBC	MBC	B.C	$500 \mu\text{g/ml}$

جدول ۲: حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل چهارم برای باکتری‌ها

تأثیر بر رشد باکتری‌ها		غلظت دندریمر پلی آمیدوآمین	
سودوموناس آئروژینوزا	پروتئوس میرابیلیس	کلبسیلا اوکسی توکا	نسل چهارم ( $\mu\text{g/ml}$ )
عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	شاهد (کنترل منفی)
رشد	رشد	رشد	شاهد (کنترل مثبت)
رشد	رشد	رشد	$0.5 \mu\text{g/ml}$
رشد	رشد	رشد	$5 \mu\text{g/ml}$
رشد	رشد	رشد	$5 \mu\text{g/ml}$
رشد	رشد	رشد	$50 \mu\text{g/ml}$
رشد	رشد	MIC	$500 \mu\text{g/ml}$

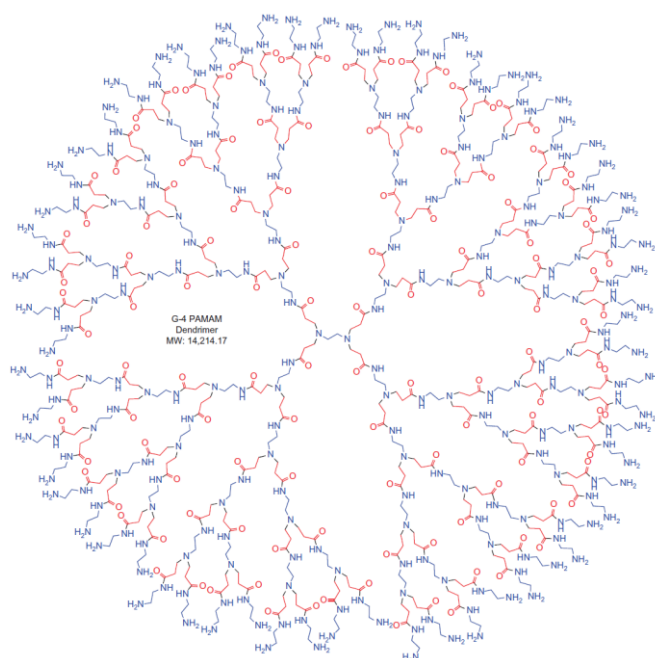
جدول ۳: حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل چهارم برای باکتری‌ها (آزمون دوم با غلظت‌های دقیق تر)

تأثیر بر رشد باکتری‌ها		غلظت دندریمر پلی آمیدوآمین	
سودوموناس آئروژینوزا	پروتئوس میرابیلیس	کلبسیلا اوکسی توکا	نسل چهارم ( $\mu\text{g/ml}$ )
عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد	شاهد (کنترل منفی)
رشد	رشد	رشد	شاهد (کنترل مثبت)
رشد	رشد	رشد	$50 \mu\text{g/ml}$
رشد	رشد	رشد	$125 \mu\text{g/ml}$
رشد	رشد	رشد	$250 \mu\text{g/ml}$
رشد	رشد	MIC	$500 \mu\text{g/ml}$
رشد	MIC	MBC	$1250 \mu\text{g/ml}$
رشد	MBC	B.C	$2500 \mu\text{g/ml}$
رشد	B.C	B.C	$5000 \mu\text{g/ml}$

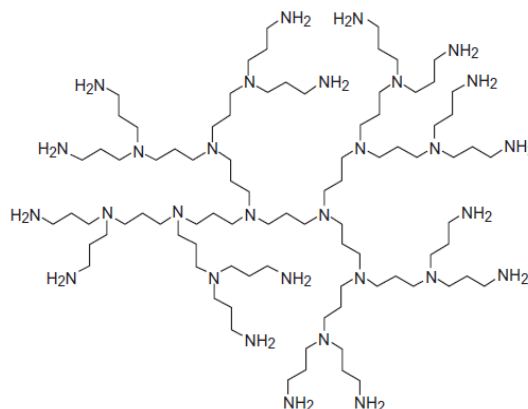
## بحث

در مطالعه حاضر با افزایش غلظت دندریمر پلی پروپیلن ایمین نسل دوم، هاله عدم رشد در کلبسیلا اوکسی توکا، سودوموناس آئروژینوزا و پروتئوس میرابیلیس افزایش یافت. سودوموناس آئروژینوزا در غلظت‌های مختلف دندریمر پلی آمیدوآمین نسل چهارم هاله عدم رشدی نداشت و باکتری‌های کلبسیلا

میرابیلیس در جدول ۱ و ۲ آمده است. چون دندریمر پلی آمیدوآمین نسل چهارم در غلظت‌های بررسی شده تأثیر چندانی بر باکتری‌ها نداشت، غلظت‌های بالاتری از دندریمر بررسی شد تا نتایج دقیق‌تری به دست آورده شود. در جدول ۳ حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل چهارم (آزمون دوم با غلظت‌های دقیق‌تر) آمده است.



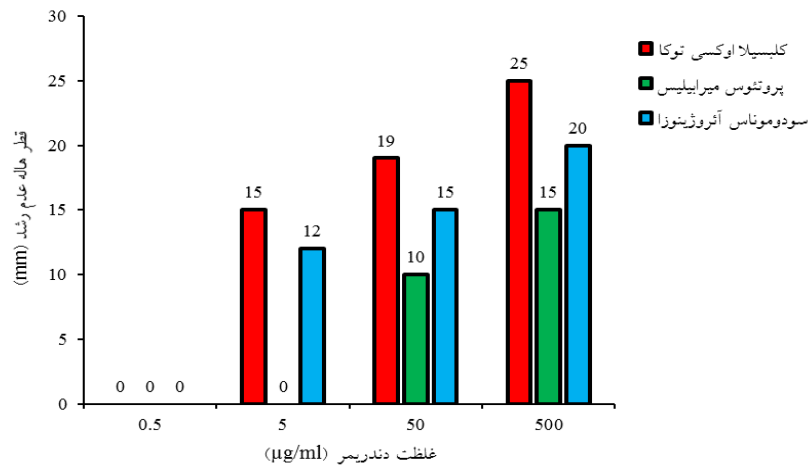
شکل ۲: فرمول ساختاری دندریمر پلی آمیدوآمین نسل چهارم



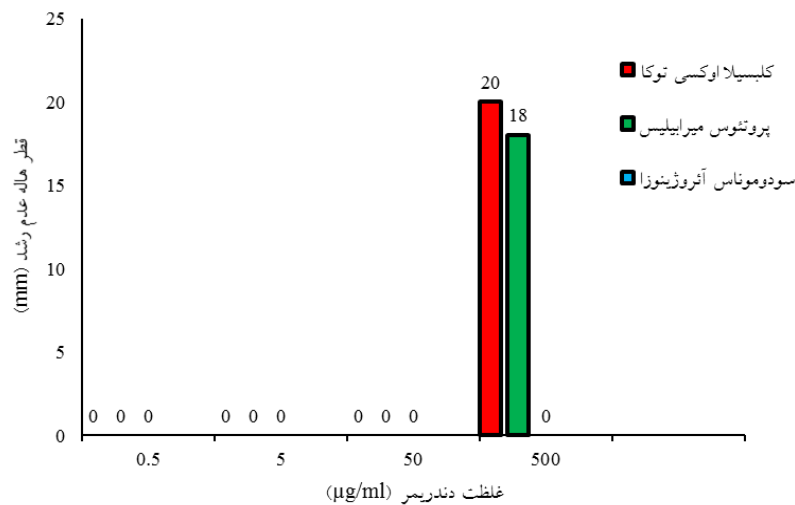
شکل ۱: فرمول ساختاری دندریمر پلی پروپیلن ایمین نسل دوم

ژوو و همکاران (۲۰۱۲) ویژگی ضدباکتریایی دندریمرهای پلی آمیدوآمین نسل دوم بر باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، سالمونلا اتتریکا، سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه و شینگلا فلکسنری را بررسی کردند. حداقل غلظت بازدارندگی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل دوم به ترتیب برابر  $6/25 \mu\text{g/ml}$ ،  $6/25 \mu\text{g/ml}$ ،  $0/78 \mu\text{g/ml}$ ،  $3/12 \mu\text{g/ml}$ ،  $6/25 \mu\text{g/ml}$  و  $6/25 \mu\text{g/ml}$  بود (۲۳). حداقل غلظت بازدارندگی دندریمر پلی پروپیلن ایمین نسل دوم برای کلبسیلا و سودوموناس آئروژینوزا کم تر از دندریمر پلی آمیدوآمین نسل دوم است. حداقل غلظت بازدارندگی دندریمر پلی پروپیلن ایمین نسل چهارم برای کلبسیلا بسیار بیشتر از دندریمر پلی آمیدوآمین نسل دوم است. در مطالعه حاضر دندریمر پلی آمیدوآمین نسل چهارم بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا تأثیری نداشت؛ در حالی که در مطالعه ژوو برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا حداقل غلظت بازدارندگی  $6/25 \mu\text{g/ml}$  به دست آمد. ممکن است علت تفاوت نتایج مطالعه حاضر با مطالعه بالا تفاوت در سویه های باکتری‌ها باشد.

اوکسی توکا و پروتئوس میرابیلیس تنها در غلظت  $500 \mu\text{g/ml}$  هاله عدم رشد داشتند. حداقل غلظت بازدارندگی دندریمر PPI-G2 برای کلبسیلا اوکسی توکا و سودوموناس آئروژینوزا برابر  $5 \mu\text{g/ml}$  و برای پروتئوس میرابیلیس برابر  $500 \mu\text{g/ml}$  بود. حداقل غلظت کشندگی دندریمر PPI-G2 برای کلبسیلا اوکسی توکا برابر  $50 \mu\text{g/ml}$  و برای پروتئوس میرابیلیس و سودوموناس آئروژینوزا برابر  $500 \mu\text{g/ml}$  بود. حداقل غلظت بازدارندگی دندریمر PAMAM-G4 برای کلبسیلا اوکسی توکا و پروتئوس میرابیلیس به ترتیب برابر  $1250 \mu\text{g/ml}$  و  $500 \mu\text{g/ml}$  بود. حداقل غلظت کشندگی دندریمر PAMAM-G4 برای کلبسیلا اوکسی توکا و پروتئوس میرابیلیس به ترتیب برابر  $1250 \mu\text{g/ml}$  و  $2500 \mu\text{g/ml}$  بود. بر اساس نتایج مطالعه حاضر کارایی دندریمر پلی پروپیلن ایمین نسل دوم بهتر از دندریمر پلی آمیدوآمین نسل چهارم می باشد. علت متفاوت بودن عملکرد دندریمر پلی پروپیلن ایمین نسل دوم نسبت به دندریمر پلی آمیدوآمین نسل چهارم را می توان به تفاوت در ساختار دندریمرها، روش سنتز و سایت هدف آنها نسبت داد (۲۶، ۲۵، ۱۹).



شکل ۳: قطر هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های مختلف دندریمر پلی پروپیلن ایمین نسل دوم



شکل ۴: قطر هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های مختلف دندریمر پلی آمیدوآمین نسل چهارم

(۲۰۱۲) انجام شد، خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات دی اکسید تیتانیوم پوشیده شده با نقره ( $\text{TiO}_2:\text{Ag}$ ) بر باکتری کلبسیلا بررسی شد. حداقل غلظت کشندگی برابر  $12/8 \mu\text{g/ml}$  بود (۲۸). نانوذرات دی اکسید تیتانیوم پوشیده شده با نقره در مقایسه با دندریمر پلی پروپیلن ایمین نسل دوم و پلی آمیدوآمین نسل چهارم مطالعه حاضر اثر ضدباکتریایی بهتری بر کلبسیلا دارد.

در مطالعه‌ای که توسط میرزایی و همکاران انجام شد، ویژگی ضدباکتریایی نانوذرات نقره بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد. حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر  $3/12 \mu\text{g/ml}$  و  $6/25 \mu\text{g/ml}$  بود (۲۹). در مقایسه با مطالعه حاضر، تأثیر ضدباکتریایی نانوذرات نقره بر سودوموناس آئروژینوزا بهتر از دندریمر

در مطالعه‌ای که توسط سیریم‌هاجیا و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد، خاصیت ضدباکتریایی فتوکاتالیست‌های دی اکسید تیتانیوم (آناتاز و دگوسا P25 که به صورت تجاری موجود است) بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد. حداقل غلظت بازدارندگی نانوذرات آناتاز و دگوسا P25 به ترتیب برابر  $12/5 \mu\text{g/ml}$  و  $100 \mu\text{g/ml}$  بود (۲۷). حداقل غلظت بازدارندگی دندریمر PPI-G2 حاصل از مطالعه حاضر برای سودوموناس آئروژینوزا در مقایسه با فتوکاتالیست‌های دی اکسید تیتانیوم کم تر است. یعنی، دندریمر PPI-G2 در غلظت پایین‌تری از رشد سودوموناس آئروژینوزا جلوگیری نموده است. دندریمر PAMAM-G4 تأثیری بر سودوموناس آئروژینوزا نداشت. در مطالعه‌ی دیگری که توسط کدزیورا و همکاران

پلی پروپیلن‌ایمین نسل چهارم اثر ضعیف‌تری داشته است. بر پایه نتایج این مطالعه، دندریمر پلی پروپیلن‌ایمین نسل دوم برای حذف سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس مؤثر است اما PAMAM-G4 تنها بر کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس اثر ضدباکتریایی دارد. همچنین خاصیت ضدباکتریایی دندریمر پلی پروپیلن‌ایمین نسل دوم بسیار بهتر از پلی آمیدوآمین نسل چهارم است. با این حال، استفاده از دندریمر برای گندزدایی آب آشامیدنی نیازمند مطالعات بیشتر و وسیع‌تر است. در ادامه این تحقیقات پیشنهاد می‌شود که سمیت احتمالی این گونه ترکیبات نانوساختار در آب آشامیدنی و مصرفی ارزیابی شود و در صورت عدم ممنوعیت استفاده بررسی‌های اقتصادی برای سنتز و کاربرد آنها انجام شود.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با پشتیبانی مالی شرکت مهندسی آب و فاضلاب کشور انجام شده است که به این وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مدیران آن شرکت مادر تخصصی و همه پرسنل گرامی آزمایشگاه شرکت آب و فاضلاب روستایی استان قم ابراز می‌دارد.

### References

1. WHO. Progress on sanitation and drinking-water-2013 update. 2013.
2. Misra A, Singh V. A delay mathematical model for the spread and control of water borne diseases. *J Theoretical Biology*. 2012;301:49-56.
3. Chowdhury S, Rodriguez MJ, Sadiq R. Disinfection byproducts in Canadian provinces: associated cancer risks and medical expenses. *J Haz Mat*. 2011;187(1):574-84.
4. Gopal K, Tripathy SS, Bersillon JL, Dubey SP. Chlorination byproducts, their toxicodynamics and removal from drinking water. *J Haz Mat*. 2007;140(1):1-6.
5. Hua G, Reckhow DA. Comparison of disinfection byproduct formation from chlorine and alternative disinfectants. *Water Res*. 2007;41(8):1667-78.
6. Li Q, Mahendra S, Lyon DY, Brunet L, Liga MV, Li D, et al. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications. *Water Res*. 2008;42(18):4591-602.
7. 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 Res*. 2007;636:178-242.
8. Karagas MR, Villanueva CM, Nieuwenhuijsen M, Weisel CP, Cantor KP, Kogevinas M. Disinfection byproducts in drinking water and skin cancer? A hypothesis. *Cancer Causes Control*. 2008;19:547-8.

پلی پروپیلن‌ایمین نسل دوم بوده است. در مطالعه حاضر، دندریمر پلی آمیدوآمین نسل چهارم هیچ تأثیری بر سودوموناس آئروژینوزا نداشت. یکی از دلایل این می‌تواند باشد که نانوذرات نقره چند سایت هدف دارند. یعنی، هم بر روی دیواره سلولی و هم بر روی ماده ژنتیکی باکتری‌ها اثر می‌گذارند (۳۰)؛ اما، سایت هدف دندریمرها عمدتاً دیواره سلولی باکتری‌ها است (۲۲، ۱۹). در مطالعه‌ای که توسط راوی کومار انجام شد، تأثیر ضدباکتریایی نانوذرات  $ZrO_2$ ،  $CeO_2$ ،  $Fe_3O_4$ ،  $Al_2O_3$  و  $MgO$  بر باکتری کلبسیلا بررسی شد. قطر هاله عدم رشد در غلظت  $50 \mu g/ml$  از نانوذرات  $ZrO_2$ ،  $CeO_2$ ،  $Fe_3O_4$ ،  $Al_2O_3$  و  $MgO$  به ترتیب برابر  $6mm$ ،  $8mm$ ،  $9mm$  و  $9mm$  بود. حداقل غلظت بازدارندگی به ترتیب برابر  $20 \mu g/ml$ ،  $15 \mu g/ml$ ،  $15 \mu g/ml$  و  $15 \mu g/ml$  بود (۳۱). در مطالعه حاضر، قطر هاله عدم رشد برای باکتری کلبسیلا در غلظت  $50 \mu g/ml$  از دندریمرهای پلی پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی آمیدوآمین نسل چهارم به ترتیب برابر  $19mm$  و  $10mm$  بود. در این مطالعه، حداقل غلظت بازدارندگی دندریمر پلی پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی آمیدوآمین نسل چهارم برای باکتری کلبسیلا به ترتیب برابر  $50 \mu g/ml$  و  $50 \mu g/ml$  بود. بنابراین، تأثیر دندریمر پلی پروپیلن‌ایمین نسل دوم بر باکتری کلبسیلا نسبت به نانوذرات فوق بهتر بوده است، در حالی که دندریمر

9. Li W-R, Xie X-B, Shi Q-S, Duan S-S, Ouyang Y-S, Chen Y-B. Antibacterial effect of silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus*. *Biometals*. 2011;24(1):135-41.
10. Kaegi R, Sinnet B, Zuleeg S, Hagendorfer H, Mueller E, Vonbank R, et al. Release of silver nanoparticles from outdoor facades. *Environ pollut*. 2010;158(9):2900-5.
11. Jadhav S, Gaikwad S, Nimse M, Rajbhoj A. Copper oxide nanoparticles: synthesis, characterization and their antibacterial activity. *J Cluster Sci*. 2011;22(2):121-9.
12. Chen R, Cheng G, So MH, Wu J, Lu Z, Che C-M, et al. Bismuth subcarbonate nanoparticles fabricated by water-in-oil microemulsion-assisted hydrothermal process exhibit anti-*Helicobacter pylori* properties. *Mat Res Bullet*. 2010;45(5):654-8.
13. Buckley JJ, Lee AF, Olivi L, Wilson K. Hydroxyapatite supported antibacterial  $Ag_3PO_4$  nanoparticles. *Mat Chem*. 2010;20(37):8056-63.
14. Abbasi AR, Akhbari K, Morsali A. Dense coating of surface mounted CuBTC Metal–Organic Framework nanostructures on silk fibers, prepared by layer-by-layer method under ultrasound irradiation with antibacterial activity. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2012;19(4):846-52. (Persian)
15. Yudovin-Farber I, Beyth N, Weiss EI, Domb AJ. Antibacterial effect of composite resins containing quaternary ammonium polyethyleneimine nanoparticles. *J Nanopart Res*. 2010;12(2):591-603.
16. 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.
17. Balogh L, Swanson DR, Tomalia DA, Hagnauer GL, McManus AT. Dendrimer-silver complexes and nanocomposites as antimicrobial agents. *Nano Letters*. 2001;1(1):18-21.
18. Abkenar SS, Mohammad Ali Malek R. Preparation, characterization, and antimicrobial property of cotton cellulose fabric grafted with poly (propylene imine) dendrimer. *Cellulose*. 2012;19:1701–14.
19. Chen C, Cooper S. Interactions between dendrimer biocides and bacterial membranes. *Biomaterials*. 2002;23(16):3359-68.
20. Felczak A, Wrońska N, Janaszewska A, Klajnert B, Bryszewska M, Appelhans D, et al. Antimicrobial activity of poly (propylene imine) dendrimers. *New J Chem*. 2012;36(11):2215-22.
21. Leroueil PR, Berry SA, Duthie K, Han G, Rotello VM, McNerny DQ, et al. Wide varieties of cationic nanoparticles induce defects in supported lipid bilayers. *Nano letters*. 2008;8(2):420-4.
22. 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.
23. 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.
24. Wikler M. Performance for Antimicrobial Susceptibility Testing. 20 ed. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
25. Dendrimers and Dendrons. *Bioconjugate Techniques*: Elsevier; 2013. p. 351-86.
26. Wang B, Navath R, Menjoge A, Balakrishnan B, Bellair R, Dai H. Inhibition of Bacterial Growth and Intramniotic Infection in a Guinea Pig Model of Chorioamnionitis Using PAMAM Dendrimers. *Inte J Pharm*. 2010;395(1-2):298–308.
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. *J Sci and Technol*. 2009;31(5):517-25. (Persian)
28. Kedziora A, Streck W, Kepinski L, Bugla-Ploskonska G, Doroszkiewicz W. Synthesis and antibacterial activity of novel titanium dioxide doped with silver. *J Sol-Gel Sci and Technol*. 2012;62:79–86.
29. Mirzaei F, Salouti M, Shapouri R, Heidari Z. Antimicrobial effect of plant peptide MBP-1 and silver nanoparticles, along with their synergistic effect on skin infection due to *Pseudomonas aeruginosa*: in vitro and animal model. *Pejouhandeh* 2013;18(2):64-8. (Persian)
30. Qilin L, Shaily M, Delina L, Lena B, Michael L, Dong L. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. *Water Res*. 2008 (42):4591-602.
31. Ravikumar S, Gokulakrishnan R. The Inhibitory Effect of Metal Oxide Nanoparticles against Poultry Pathogens. *Int J Pharm Sci and Drug Res* 2012;4(2):157-9.



# The antimicrobial effects of Polypropylenimine-G2 and Polyamidoamine-G4 Dendrimers on *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*, in vitro experiment

**Hassan Izanloo,**

Assistant Professor of Environmental Health Engineering, Research Center for Environmental Pollutants, School of Public Health, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

**Mohammad Ahmadi Jebelli,**

Ph.D Student in Environmental Health Engineering, Research Center for Environmental Health, School of Public Health, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

**Hamid Reza Tashauoei,**

Assistant Professor of Environmental Health Engineering, School of Public Health, Islamic Azad University, Tehran Medical Branch, Tehran, Iran.

**Mohammad Khazae,**

M.Sc in Environmental Health Engineering, Research Center for Environmental Pollutants, School of Public Health, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

**Shahram Nazari,**

M.Sc Student in Environmental Health Engineering, School of Public Health, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

**Gharib Mjidi,**

M.Sc Student in Environmental Health Engineering, School of Public Health, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.

**Vahid Vaziri Rad,**

M.Sc in Strategic Management, Department of Accounting, Islamic Azad University, Qom, Iran.

**Hussein Aghababaei,**

M.Sc in Environmental Engineering, Attitude of Water Resources Engineering, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

**Behnam Vakili,**

M.Sc in Environmental Health Engineering, Water & Wastewater Engineering Company, Tehran, Iran.

Received:14/03/2014, Revised:26/05/2014, Accepted:20/07/2014

## Corresponding author:

Gharib Majidi, School of Public Health, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran.  
E-mail: gharibmajidi@gmail.com

## Abstract

**Background:** This laboratory experiment was aimed of to investigate the antibacterial effect of Polypropylenimine-G2 (PPI-G2) and Polyamidoamine-G4 (PAMAM-G4) dendrimers on *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*.

**Materials and Methods:** Different concentrations of PPI-G2 and PAMAM-G4 dendrimers were 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 (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of PPI-G2 and PAMAM-G4 dendrimers were determined by Micro-dilution method in nutrient broth culture.

**Results:** Zone of inhibition in concentration 500 µg/ml of PPI-G2 dendrimers for *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* and *Pseudomonas aeruginosa* were 25, 15 and 20mm, respectively. Zone of inhibition in concentration 500 µg/ml of PAMAM-G4 dendrimers for *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis* and *Pseudomonas aeruginosa* were 20, 18 and 0mm, respectively. The MIC of PPI-G2 dendrimer for *Klebsiella oxytoca* and for *Pseudomonas aeruginosa* were 5 µg/ml. Also, the MIC of PPI-G2 dendrimer for *Proteus mirabilis* was 50 µg/ml. The MBC of PPI-G2 dendrimer for *Klebsiella oxytoca* was 50 µg/ml and it was 500 µg/ml for *Proteus mirabilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. The MIC of PAMAM-G4 dendrimer attributed to *Klebsiella oxytoca* and *Proteus mirabilis* were reported 500 and 1250 µg/ml, respectively. The MBC of PAMAM-G4 dendrimer belonged to *Klebsiella oxytoca* and *Proteus mirabilis* were 1250 and 2500 µg/ml, respectively.

**Conclusion:** According to the results, PPI-G2 dendrimers can eliminate *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca* and *Proteus mirabilis* effectively but PAMAM-G4 only has antibacterial effect against *Klebsiella oxytoca* and *Proteus mirabilis*. Also the antibacterial activity of PPI-G2 dendrimer is obviously better than those of PAMAM-G4. However, using dendrimers can be considered as a new approach for drinking water disinfection but it requires further wide range studies.

**Keywords:** *Antibacterial Activity, Minimum Inhibitory Concentration, Minimum Bactericidal Concentration, Zone of Inhibition*