مقاله پژوهشی

تأثیر ضدباکتریایی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم بر باکتری‌های کلبسیلا اوکسی‌توکا، سودوموناس آئروژینوزا و پروتئوس میرابیلیس در محیط آزمایشگاهی

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

[۱] استادیار مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات آلاینده‌های محیطی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

[۲] دانشجوی دکتری مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج،ایران.

[۳] استادیار مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

[۴] کارشناس ارشد مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات آلاینده‌های محیطی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

[۵] دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

[۶] دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

[۷] کارشناس ارشد مدیریت استراتژیک، گروه حسابداری، دانشگاه آزاد اسلامی قم، قم، ایران.

[۸] کارشناس ارشد مهندسی محیط زیست، گرایش مهندسی منابع آب، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

[۹] 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 ضدّباکتریایی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم (PPI-G2) و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم (PAMAM-G4) بر کلبسیلا اوکسی‌توکا، 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 هینتون آگار قرار داده شدند. با تلقیح باکتری‌ها مطابق با غلظت استاندارد ۰/۵ مک فارلند، هاله‌های عدم رشد بررسی گردید. حدّاقل غلظت بازدارندگی و حدّاقل غلظت کشندگی دندریمر PPI-G2 و PAMAM-G4 به روش رقت لوله‌ای در محیط کشت نوترینت براث تعیین شد.

یافته‌ها: هاله عدم رشد در غلظت ۵۰۰µg/ml از دندریمر PPI-G2 برای کلبسیلا اوکسی‌توکا، پروتئوس میرابیلیس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر ۲۵mm، ۱۵mm و ۲۰mm بود. هاله عدم رشد در غلظت ۵۰۰µg/ml از دندریمر PAMAM-G4 برای کلبسیلا اوکسی‌توکا، پروتئوس میرابیلیس و سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر ۲۰mm، ۱۸mm و ۰mm بود. MIC دندریمر PPI-G2 برای کلبسیلا اوکسی‌توکا و سودوموناس آئروژینوزا برابر ۵µg/ml و برای پروتئوس میرابیلیس برابر ۵۰µg/ml بود. MBC دندریمر PPI-G2 برای کلبسیلا اوکسی‌توکا برابر ۵۰µg/ml و برای پروتئوس میرابیلیس و سودوموناس آئروژینوزا برابر ۵۰۰µg/ml بود. MIC دندریمر PAMAM-G4 برای کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس به ترتیب برابر ۵۰۰µg/ml و ۱۲۵۰µg/ml بود. MBC دندریمر PAMAM-G4 برای کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس به ترتیب برابر ۱۲۵۰µg/ml و ۲۵۰۰µg/ml بود.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این مطالعه، دندریمر PPI-G2 برای حذف سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس مؤثّر است اما PAMAM-G4 تنها بر کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس اثر ضدباکتریایی دارد. همچنین خاصیّت ضدّباکتریایی 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: *خاصیّت ضدّباکتریایی، حدّاقل غلظت کشندگی، حدّاقل 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 ٤٥۰۰ مرگ در میان کودکان زیر ١٤ سال به علّت بیماری‌های ناشی از آب رخ می‌دهد (۲). در کشورهای در حال توسعه، سالانه ۳/٤ میلیون نفر در اثر بیماری‌های ناشی از آب می‌میرند (۳). بنابراین، گندزدایی آب آشامیدنی برای پیشگیری از بیماری‌های ناشی از آب ضروری است. گندزداهای متداول شامل کلر آزاد، کلرآمین‌ها و ازن هستند. این گندزداها اکثر میکروب‌های بیماری زا را حذف می‌نمایند؛ ولی، می‌توانند با موادّ آلی طبیعی واکنش دهند و محصولات جانبی گندزدایی (DBPs) تشکیل دهند (٥،٤). تا کنون، بیش از ٦۰۰ DBPs شناسایی شده‌اند (٦). تری‌هالومتان‌ها و هالواستیک اسیدها از شایع‌ترین محصولات جانبی گندزدایی به شمار می‌روند (٥). برخی از محصولات جانبی گندزدایی احتمالاً با ایجاد سرطان هایی 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 (۸،۷).یافتن روش‌های جایگزینی ضروری است که بتوانند، بدون تولید محصولات جانبی گندزدایی، کارآیی بالایی در حذف میکروب‌های بیماری زا داشته باشند. نانوذرات موجب تشکیل محصولات جانبی گندزدایی نمی‌شوند (٦). نانوذرات علیه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت خاصیّت ضدّباکتریایی بسیار خوبی دارند (۹). فلزات (۱۰)، اکسیدهای فلزی (۱۱)، نمک‌های فلزی (۱۳،۱۲)، هیدروکسیدهای فلزی (۱۳)، نانوحامل‌های آلی اصلاح شده با عوامل ضدّمیکروبی (١٤)، موادّ هیبریدی (١٤) و پلیمرها (١٥) نمونه‌هایی از نانوذرات دارای خاصیّت ضدمیکروبی هستند.

دندریمرها پلیمرهایی منظم، پُرشاخه و دارای گروه‌های سطحی بسیار فعّال هستند (١٦، ١٧). دو دسته از پرکاربردترین دندریمرها پلی‌آمیدوآمین و پلی‌پروپیلن‌ایمین می‌باشد که به صورت تجاری هم وجود دارند (۱۸). اگر گروه‌های انتهایی دندریمرها با عوامل ضدّمیکروبی عامل‌دار شوند، توانایی‌شان در حذف میکروب‌ها بالا خواهد رفت (۱۹،١٦). دندریمرهای دارای گروه‌های انتهایی آمینی ویژگی ضدّمیکروبی 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 ضدّباکتریایی 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 فعّالیّت ضدّمیکروبی 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 ضدّباکتریایی 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 رقّت لوله‌ای (برای تعیین حدّاقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حدّاقل غلظت کشندگی (MBC)

انجام شد.

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 مدّت ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم موادّ ضدّباکتریایی بودند. در شکل ١ و ٢ فرمول ساختاری دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم نشان داده شده است.

در آزمایشگاه از کشت ٢٤ ساعته باکتری، غلظت معادل استاندارد ٠/٥ مک فارلند تهیه شد و توسّط سواپ استریل با روش کشت خطی بر روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون 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، ٥٠ میکرولیتر از دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم در غلظت‌های ٠/٥µg/ml، ٥µg/ml، ٥٠µg/ml و ٥٠٠µg/ml به هر دیسک بلانک تلقیح شده و به مدّت ٣٠ دقیقه در دمای ٣٥ 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 ٢٤ ساعت گرماگذاری در ٣٧ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله‌های عدم رشد اندازه‌گیری شد.

حدّاقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حدّاقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از روش رقت لوله‌ای تعیین شد. در این روش ٥ لوله برای آزمایش غلظت‌های گوناگون دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم، یک لوله به عنوان کنترل مثبت و یک لوله به عنوان کنترل منفی به کار رفت. ابتدا ٩cc از محیط کشت نوترینت براث به لوله‌های آزمایش وارد شد. سپس به هر لوله آزمایش ٠/٥cc از رقّت باکتریایی معادل استاندارد ٠/٥ مک فارلند و ٠/٥cc از هر کدام از غلظت‌های دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم (غلظت‌های ٠/٠٥µg/ml، ٠/٥µg/ml، ٥µg/ml، ٥٠µg/ml و ٥٠٠µg/ml) وارد شد. لوله‌ها به مدّت ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند. پس از طی زمان گرماگذاری، لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی شدند. لوله‌ای با کم ترین غلظت از دندریمر که رشد باکتری در آن مشاهده نشود، حدّاقل غلظت بازدارندگی است. برای تعیین حدّاقل غلظت کشندگی دندریمر، از لوله‌هایی بر سطح محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد که رشد در آنها مشاهده نشده بود. سپس، پلیت‌ها به مدّت ٢٤ ساعت در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند و پلیت مربوط به لوله‌ای که حاوی کم ترین غلظت از دندریمر بود و رشد باکتری در آن مشاهده نشد به عنوان MBC در نظر گرفته شد (٢٤).

یافته‌ها

نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم به روش انتشار دیسک در شکل ٣ و ٤ 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 حدّاقل غلظت بازدارندگی و حدّاقل غلظت کشندگی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم بر علیه باکتری‌های کلبسیلا اوکسی‌توکا، سودوموناس آئروژینوزا و پروتئوس

جدول ۱: حدّاقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم برای باکتری‌ها

غلظت دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین	تأثیر بر رشد باکتری‌ها		
نسل دوم (µg/ml)	کلبسیلا اوکسی‌توکا	پروتئوس میرابیلیس	سودوموناس آئروژینوزا
شاهد (کنترل منفی)	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد
شاهد (کنترل مثبت)	رشد	رشد	رشد
۰/۰۵µg/ml	رشد	رشد	رشد
۰/۵µg/ml	رشد	رشد	رشد
۵µg/ml	MIC	رشد	MIC
۵۰µg/ml	MBC	MIC	B.S
۵۰۰µg/ml	B.C	MBC	MBC

جدول ۲: حدّاقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم برای باکتری‌ها

غلظت دندریمر پلی‌آمیدوآمین	تأثیر بر رشد باکتری‌ها		
نسل چهارم (µg/ml)	کلبسیلا اوکسی‌توکا	پروتئوس میرابیلیس	سودوموناس آئروژینوزا
شاهد (کنترل منفی)	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد
شاهد (کنترل مثبت)	رشد	رشد	رشد
۰/۰۵µg/ml	رشد	رشد	رشد
۰/۵µg/ml	رشد	رشد	رشد
۵µg/ml	رشد	رشد	رشد
۵۰µg/ml	رشد	رشد	رشد
۵۰۰µg/ml	MIC	رشد	رشد

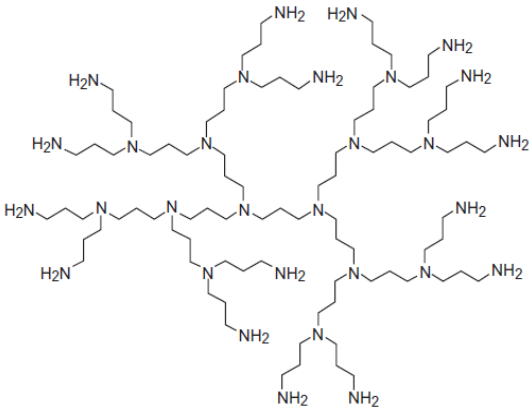
جدول ۳: حدّاقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم برای باکتری‌ها (آزمون دوم با غلظت‌های دقیق‌تر)

غلظت دندریمر پلی‌آمیدوآمین	تأثیر بر رشد باکتری‌ها		
نسل چهارم (µg/ml)	کلبسیلا اوکسی‌توکا	پروتئوس میرابیلیس	سودوموناس آئروژینوزا
شاهد (کنترل منفی)	عدم رشد	عدم رشد	عدم رشد
شاهد (کنترل مثبت)	رشد	رشد	رشد
۵۰µg/ml	رشد	رشد	رشد
۱۲۵µg/ml	رشد	رشد	رشد
۲۵۰µg/ml	رشد	رشد	رشد
۵۰۰µg/ml	MIC	رشد	رشد
۱۲۵۰µg/ml	MBC	MIC	رشد
۲۵۰۰µg/ml	B.C	MBC	رشد
۵۰۰۰µg/ml	B.C	B.C	رشد

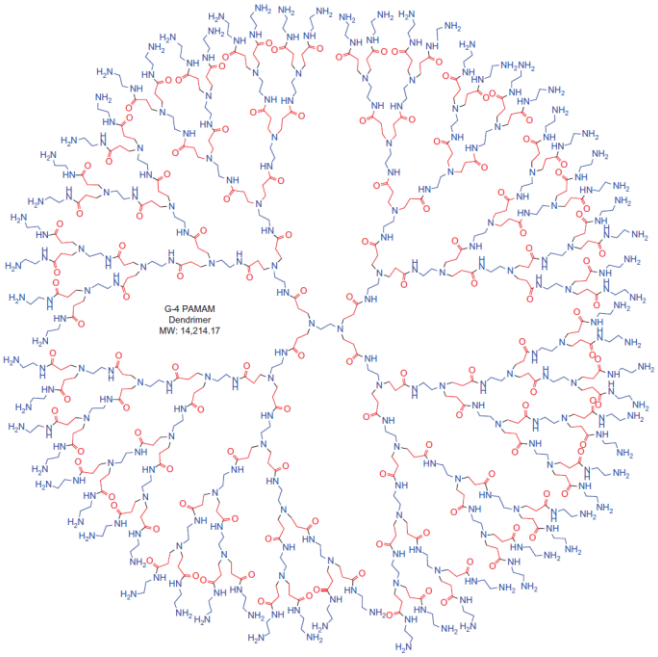
میرابیلیس در جدول ۱ و ۲ آمده است. چون دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم در غلظت‌های بررسی شده تأثیر چندانی بر باکتری‌ها نداشت، غلظت‌های بالاتری از دندریمر بررسی شد تا نتایج دقیق‌تری به دست آورده شود. در جدول ۳ حدّاقل غلظت بازدارندگی و کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم (آزمون دوم با غلظت‌های دقیق‌تر)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

بحث

در مطالعه حاضر با افزایش غلظت دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم، هاله عدم رشد در کلبسیلا اوکسی‌توکا، سودوموناس آئروژینوزا و پروتئوس میرابیلیس افزایش یافت. سودوموناس آئروژینوزا در غلظت‌های مختلف دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم هاله عدم رشدی نداشت و باکتری‌های کلبسیلا



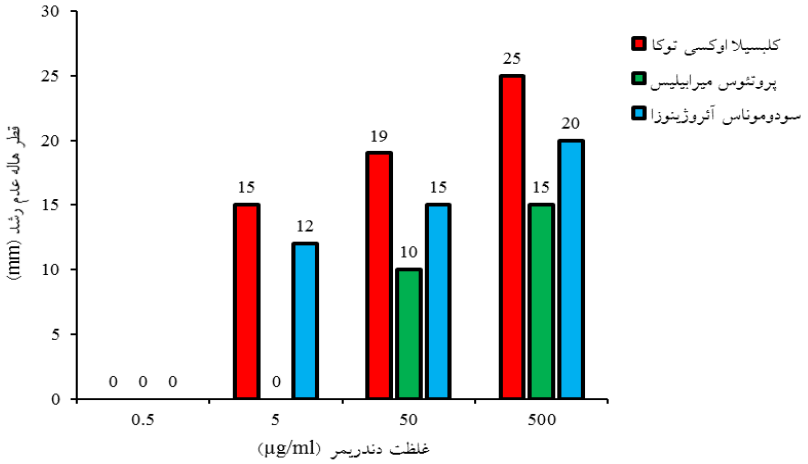
شکل ۱: فرمول ساختاری دندریمر پلی‌پروپیلن ایمین نسل دوم



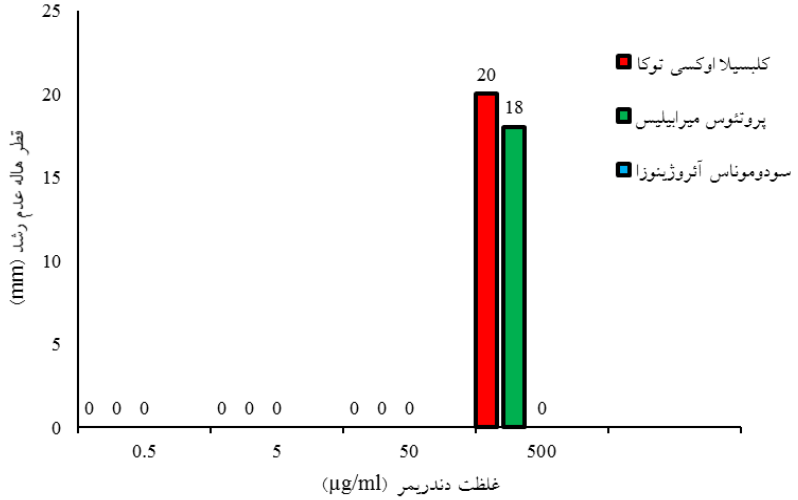
شکل ۲: فرمول ساختاری دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم

اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس تنها در غلظت ۵۰۰µg/ml هاله عدم رشد داشتند. حدّاقل غلظت بازدارندگی دندریمر PPI-G2 برای کلبسیلا اوکسی‌توکا و سودوموناس آئروژینوزا برابر ۵µg/ml و برای پروتئوس میرابیلیس برابر ۵۰µg/ml بود. حدّاقل غلظت کشندگی دندریمر PPI-G2 برای کلبسیلا اوکسی‌توکا برابر ۵۰µg/ml و برای پروتئوس میرابیلیس و سودوموناس آئروژینوزا برابر ۵۰۰µg/ml بود. حدّاقل غلظت بازدارندگی دندریمر PAMAM-G4 برای کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس به ترتیب برابر ۵۰۰µg/ml و ۱۲۵۰µg/ml بود. حدّاقل غلظت کشندگی دندریمر PAMAM-G4 برای کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس به ترتیب برابر ۱۲۵۰µg/ml و ۲۵۰۰µg/ml بود. بر اساس نتایج مطالعه حاضر کارآیی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم بهتر از دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم می‌باشد. علّت متفاوت بودن عملکرد دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم نسبت به دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم را می‌توان به تفاوت در ساختار دندریمرها، روش سنتز و سایت هدف آنها نسبت داد (۲۶،۲۵،۱۹).

ژوو و همکاران (۲۰۱۲) ویژگی ضدّباکتریایی دندریمرهای پلی‌آمیدوآمین نسل دوم بر باکتری‌های اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، سالمونلا انتریکا، سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا پنومونیه و شیگلا فلکسنری را بررسی کردند. حدّاقل غلظت بازدارندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل دوم به ترتیب برابر ۶/۲۵µg/ml، ۶/۲۵µg/ml، ۰/۷۸µg/ml، ۳/۱۲µg/ml، ۶/۲۵µg/ml، ۶/۲۵µg/ml و ۶/۲۵µg/ml بود (۲۳). حدّاقل غلظت بازدارندگی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم برای کلبسیلا و سودوموناس آئروژینوزا کم تر از دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل دوم است. حدّاقل غلظت بازدارندگی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل چهارم برای کلبسیلا بسیار بیشتر از دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل دوم است. در مطالعه حاضر دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا تأثیری نداشت؛ در حالی که در مطالعه ژوو برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا حدّاقل غلظت بازدارندگی ۶/۲۵µg/ml به دست آمد. ممکن است علّت تفاوت نتایج مطالعه حاضر با مطالعه بالا تفاوت در سویه های باکتری‌ها باشد.



شکل ۳: قطر هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های مختلف دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم



شکل ٤: قطر هاله‌های عدم رشد در غلظت‌های مختلف دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم

در مطالعه‌ای که توسّط سیریماهاچیا و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد، خاصیّت ضدّباکتریایی فتوکاتالیست‌های دی اکسید تیتانیوم (آناتاز و دگوسا P25 که به صورت تجاری موجود است) بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد. حدّاقل غلظت بازدارندگی نانوذرات آناتاز و دگوسا P25 به ترتیب برابر ۱۲/۵µg/ml و ۱۰۰µg/ml بود (۲۷). حدّاقل 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 توسّط کدزیورا و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد، خاصیّت ضدّباکتریایی نانوذرّات دی اکسید تیتانیوم پوشیده شده با نقره (TiO_2:Ag) بر باکتری کلبسیلا بررسی شد. حدّاقل غلظت کشندگی برابر ۱۲/۸µg/ml بود (۲۸). نانوذرّات دی اکسید تیتانیوم پوشیده شده با نقره در مقایسه با دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم مطالعه حاضر اثر ضدّباکتریایی بهتری بر کلبسیلا دارد.

در مطالعه‌ای که توسّط میرزایی و همکاران انجام شد، ویژگی ضدّباکتریایی نانوذرّات نقره بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا بررسی شد. حدّاقل غلظت بازدارندگی و کشندگی برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا به ترتیب برابر ۳/۱۲µg/ml و ٦/۲۵µg/ml بود (۲۹). در مقایسه با مطالعه حاضر، تأثیر ضدّباکتریایی نانوذرّات نقره بر سودوموناس آئروژینوزا بهتر از دندریمر

پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم بوده است. در مطالعه حاضر، دندریمر پلی‌آمیدوآمین 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) ؛ امّا، سایت هدف دندریمرها عمدتا دیواره سلولی باکتری‌ها است (۲۲،۱۹).

در مطالعه‌ای که توسّط راوی کومار انجام شد، تأثیر ضدّباکتریایی نانوذرّات Al_2O_3، Fe_3O_4، CeO_2، ZrO_2 و MgO بر باکتری کلبسیلا بررسی شد. قطر هاله عدم رشد در غلظت ۵۰ µg/ml از نانوذرّات Al_2O_3، Fe_3O_4، CeO_2، ZrO_2 و MgO به ترتیب برابر ٦mm، ٨mm، ٨mm، ٩mm و ٦mm بود. حدّاقل غلظت بازدارندگی به ترتیب برابر ۲۰µg/ml، ۱۵µg/ml، ۱۵µg/ml، ۱۵µg/ml و ۲۰µg/ml بود (۳۱). در مطالعه حاضر، قطر هاله عدم رشد برای باکتری کلبسیلا در غلظت ۵۰µg/ml از دندریمرهای پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم به ترتیب برابر ۱۹mm و ۰mm بود. در این مطالعه، حدّاقل غلظت بازدارندگی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم و پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم برای باکتری کلبسیلا به ترتیب برابر ۵µg/ml و ۵۰۰µg/ml بود. بنابراین، تأثیر دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم بر باکتری کلبسیلا نسبت به نانوذرّات فوق بهتر بوده است، در حالی که دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم اثر ضعیف‌تری داشته است.

بر پایه نتایج این مطالعه، دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم برای حذف سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس مؤثّر است اما PAMAM-G4 تنها بر کلبسیلا اوکسی‌توکا و پروتئوس میرابیلیس اثر ضدباکتریایی دارد. همچنین خاصیّت ضدّباکتریایی دندریمر پلی‌پروپیلن‌ایمین نسل دوم بسیار بهتر از پلی‌آمیدوآمین 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 سمیّت احتمالی این گونه ترکیبات نانوساختار در آب آشامیدنی و مصرفی ارزیابی شود و در صورت عدم ممنوعیّت 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 تخصّصی 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.

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-< i> Helicobacter pylori</i> 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, Strek 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*