

Antimicrobial Effect of Poly (amidoamine)-G2 and G4 Dendrimers on Some Bacteria in water resources

Afshin Maleki¹,
Mohammad Ahmadi Jebelli²,
Bagher Hayati²,
Hiua Daraei³,
Fardin Gharibi⁴

¹ Professor, Department of Environmental Health, School of Health, Environmental Health Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

² PhD Student in Environmental Health, Faculty of Health, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

³ Lecturer, Department of Environmental Health, School of Health, Environmental Health Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

⁴ MSc in Management, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

(Received April 4, 2015 ; Accepted May 5, 2015)

Abstract

Background and purpose: There is growing application of dendrimers in the world, therefore, this study was conducted to evaluate the effect of antibacterial properties of generation-2 and 4 poly (amidoamine) dendrimer (PAMAM) on some bacteria isolated from water resources.

Materials and methods: Water samples were collected from drinking water resources. Bacteria were isolated and identified using differential biochemical tests. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) against gram-positive and gram-negative bacteria were calculated. Standard discs were prepared by different concentrations of dendrimer (0.5, 5, 50 and 500 µg/ml) and evaluated through disc agar diffusion method on Muller-Hinton agar plates. Finally, the inhibition zone diameter was measured and the effect of temperature and pH was investigated on antimicrobial activity of dendrimers.

Results: The main isolated bacteria from water resource were *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *klebsiella oxytoca*, *Bacillus subtilis*, and *staphylococcus aureus*. The results showed completely similar MIC and MBC for each isolated bacteria in both generations which were as follows: *Escherichia coli* 1250 and 2500 µg/ml, *klebsiella oxytoca* 500 and 1250 µg/ml, *staphylococcus aureus* 1 and 5 µg/ml, and *Bacillus subtilis* 2.5 and 5 µg/ml, respectively. No MIC and MBC were observed on *Pseudomonas aeruginosa*. Also, it was found that PAMAM dendrimer was more potent towards the gram positive bacteria than the gram negative bacteria. Although amino terminated G4 PAMAM dendrimer has more functional groups, but no significant difference was observed in its antimicrobial activity compared to that of the G2 PAMAM dendrimer.

Conclusion: Amino-terminated generation 2 poly(amidoamine) dendrimer exhibited a positive impact on the removal of main isolated strains. Therefore, it might be used as a safe and effective material for water disinfection in future.

Keywords: PAMAM, dendrimer, bacteria, antimicrobial activity, water resources

اثر ضدباکتریایی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل دوم و چهارم بر برخی از باکتری‌های موجود در منابع آبی

افشین ملکی^۱
محمد احمدی جبلی^۲
باقر حیاتی^۲
هیوا دارایی^۳
فردین غریبی^۴

چکیده

سابقه و هدف: با توجه به رشد روزافزون استفاده از دندریمرها در دنیا، این مطالعه به منظور ارزیابی اثر ضد باکتریایی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۲ و ۴ بر روی تعدادی از باکتری‌های جدا شده از منابع آب اجرا شد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های آب از منابع آب آشامیدنی جمع‌آوری شدند. با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی افتراقی، باکتری‌ها جدا و شناسایی گردیدند. حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) بر علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی محاسبه شد. دیسک‌های استاندارد با غلظت‌های مختلف دندریمر (۵، ۵۰، ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) آماده و به روش انتشار دیسک در آگار در محیط کشت مولر هیتون آگار ارزیابی شدند. قطر هاله مهارى اندازه‌گیری و نهایتاً تأثیر دما و pH نیز بر فعالیت ضد میکروبی دندریمرها بررسی گردید.

یافته‌ها: مهم‌ترین باکتری‌های جدا شده از منابع آب اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، کلسیلاکسی توکا، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس بودند. نتایج نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی برای هر دو نسل دندریمر یکسان بوده و به ترتیب برای باکتری‌های اشریشیاکلی ۱۲۵۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، کلسیلاکسی توسکا ۵۰۰ و ۱۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، استافیلوکوکوس اورئوس ۱ و ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و باسیلوس سوبتیلیس ۲/۵ و ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. بر روی باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا هیچ‌گونه تأثیر بازدارندگی و کشندگی مشاهده نشد. علاوه بر این، مشاهده شد که فعالیت ضد میکروبی دندریمرهای مورد بررسی بر روی گونه‌های گرم مثبت بیش‌تر از گونه‌های گرم منفی است. هم‌چنین از آن‌جا که دندریمر نسل ۴ واجد تعداد بیش‌تری گروه آمین انتهایی است اما تفاوت قابل توجهی در خاصیت ضد میکروبی آن نسبت به دندریمر نسل ۲ مشاهده نشد.

استنتاج: با توجه به این که دندریمر پلی پروپیلین‌ایمین نسل ۲ با انتهای آمین تأثیر مثبتی بر حذف از گونه‌های غالب جدا شده به نمایش گذاشته است، در آینده ممکن است به عنوان یک ماده بی‌خطر و موثر برای گندزدایی آب مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پلی آمیدوآمین، دندریمر، باکتری، فعالیت ضد میکروبی، منابع آب

مقدمه

نقاط جهان پیامدهای اجتماعی و زیست محیطی گسترده‌ای را سبب شده است. در بین انواع آلاینده‌ها،

آلودگی منابع آب به انواع آلاینده‌ها از مهم‌ترین معضلات بهداشتی به حساب می‌آید که امروزه در اکثر

E-mail: maleki43@yahoo.com

مؤلف مسئول: افشین ملکی - سنج، بلوار پاسداران، مرکز تحقیقات بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی کردستان

۱. استاد، گروه بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنج، ایران

۲. دانشجوی دکتری تخصصی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنج، ایران

۳. مربی، گروه بهداشت محیط، دانشجوی مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنج، ایران

۴. کارشناس ارشد مدیریت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱/۱۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۱/۱۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۲/۱۵

عوامل بیولوژیکی به دلیل انتشار سریع در منابع آب و شیوع بیماری‌های مختلف و نهایتاً نرخ مرگ و میر بالا همواره مد نظر محافل عمومی و سازمان‌های ذیربط بوده و می‌باشند. در این میان بیماری‌های باکتریایی مانند حبسه، هپاتیت، وبا، اسهال میکروبی و خونی همواره به عنوان یک خطر جدی سلامت مصرف‌کنندگان را تهدید می‌کند. طبق گزارشات موجود سالانه در حدود یک میلیارد نفر از طریق آلودگی آب به انواع بیماری‌ها مبتلا می‌شوند که از این تعداد حدود ده میلیون نفر جان خود را از دست می‌دهند (۳-۱). براساس گزارش سازمان جهانی بهداشت در هر هشت ثانیه یک کودک و سالیانه در حدود پنج میلیون نفر (به ویژه کودکان) در اثر مصرف آب آلوده به عوامل بیماری‌زا جان خود را از دست می‌دهند (۴). بنابراین کنترل منابع آب، تصفیه آب شرب و گندزدایی آن به عنوان تنها روش‌های موجود حداقل تمهیدات ضروری جهت تامین سلامت مصرف‌کنندگان به حساب می‌آیند (۵). با این حال، به دلیل تنوع گسترده عوامل آلاینده و حساسیت آن‌ها در مقابل روش‌های تصفیه از یک سو و تحقق استانداردهای آب شرب از سوی دیگر، تحقیق و توسعه روش‌های کارآمد همواره مد نظر محققین این رشته می‌باشد. معمولاً استفاده از کلر و ترکیبات آن مانند هیپوکلریدها، کلرامین‌ها و دی‌اکسید کلر، برم، ید، نقره ازن، اشعه فرابنفش و فرایندهای غشایی از رایجترین مواد و روش‌های گندزدایی آب و پساب به حساب می‌آیند و می‌توانند تا حد قابل قبول عوامل میکروبی را کنترل نمایند (۸-۵). با این حال، مشخص گردیده است که تعدادی از روش‌های مورد اشاره سبب تشکیل ترکیبات مضر و خطرناکی تحت عنوان محصولات بعد از گندزدایی از جمله تری‌هالومتان‌ها می‌گردند که منجر به محدودیت کاربرد آن‌ها می‌شود (۷، ۹، ۱۰). کاربرد تعداد دیگری از ترکیبات فوق به دلیل کارایی کم و یا هزینه بالا محدود است (۱۱۸). بنابراین، تحقیق در خصوص مواد و روش‌های گندزدایی آب و فاضلاب که در عین کارآمدی،

کم هزینه و سالم نیز باشند، بسیار ضروری است. به همین دلیل استفاده از ترکیبات پلیمری جدیدی تحت عنوان دندریمر جهت گندزدایی آب مورد توجه قرار گرفته است.

دندریمر یک کلمه یونانی است که از دو بخش دندروس به مفهوم شاخه و مروس به معنی جز تشکیل شده است. بنابراین، دندریمرها مجموعه‌ای از ساختارهای شاخه‌ای هستند که واجد نظم ساختاری در ترکیب خود می‌باشند و به‌طور عمده دارای یک هسته مرکزی با عوامل فعال متعدد هستند. معمولاً این ساختار سبب ایجاد فضاهای خالی شده و می‌تواند در به دام انداختن مولکول‌ها و کپسوله کردن آن‌ها موثر باشد. این ویژگی‌های خاص سبب شده است که در سال‌های اخیر استفاده از دندریمرها در علوم مختلف از جمله پزشکی، بهداشت و محیط زیست مد نظر باشد (۱۲، ۱۳). در حال حاضر دندریمرها به دلیل ساختار منحصر به فردشان برای مقاصد متفاوتی از جمله در انتقال ترکیبات دارویی، شیمی درمانی، ترکیبات ضد میکروبی و به عنوان جاذب در جذب آلاینده‌ها در محیط‌های آبی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در کنار این مزایا، معایبی نیز بر دندریمرها وارد است. به عنوان مثال، طبق اظهار وانگ و همکاران بعضی از انواع دندریمرها در نسل‌های بالا واجد سمیت هستند (۱۴). معمولاً فعالیت ضد میکروبی دندریمرها از لحاظ کمی و کیفی در مواجهه با یکسری از ارگانسیم‌های مدل به صورت حداقل غلظت ممانعت‌کننده رشد، حداقل غلظت کشندگی، روش مهار رشد، روش انتشار دیسک، روش شمارش کلنی، روش انتشار چاهک، روش تریقیق و سنجش کدورت ارزیابی می‌گردد (۲۰-۱۵). البته خاصیت ضد میکروبی دندریمر به فاکتورهای کلیدی چون نوع هسته دندریمر، شارژ سطحی و گروه‌های عاملی آن، ساختار سه بعدی دندریمر و اندازه آن وابسته است (۲۱). به هر حال، مشخص شده است که عوامل ضد حیات تثبیت شده بر روی دندریمرها در صورتی که محل اثر آن‌ها دیواره

استفاده از ظروف شیشه‌ای ۲۵۰ میلی‌لیتری درب‌دار استریل همراه با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول تیوسولفات سدیم ۱۰ درصد به منظور حذف کلر باقی‌مانده انجام شد. نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایش‌های بعدی به آزمایشگاه منتقل شدند. تمامی مراحل نمونه‌برداری مطابق با دستورالعمل‌های موجود در کتاب آزمایش‌های استاندارد آب و فاضلاب انجام شد (۲۶). جداسازی باکتری‌ها از نمونه‌های آب به روش فیلتر غشایی انجام گرفت. با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی افتراقی، باکتری‌ها جدا و شناسایی شدند. پس از جداسازی باکتری‌ها، سوسپانسیون باکتریایی برابر با استاندارد ۰/۵ مک فارلند (کدورت معادل $10^8 \times 1/5$ باکتری در هر میلی‌لیتر) تهیه شده و به نسبت‌های مورد نیاز رقیق‌سازی انجام گرفت.

روش سنتز دندریمر

جهت سنتز دندریمر پلی‌آمیدوآمین مقدار ۱۰ گرم اتیلن دی‌آمین در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول با نسبت ۱ به ۱ در یک ظرف در بسته حل شد. سپس مقدار ۹۴/۶ گرم متیل‌اکریلات در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به آن اضافه و سیستم به مدت ۲۴ ساعت تحت گاز نیتروژن هم زده شد. متعاقباً متیل‌اکریلات مازاد تحت شرایط خلا در دمای اتاق جدا گردید. در این شرایط واکنش افزایشی بین آمین و اکریلات منجر به محصولی با گروه‌های انتهایی استر می‌گردد و سبب تولید دندریمر پلی‌آمیدوآمین معروف به نسل نیم می‌شود. در ادامه مقدار ۱۲۰ گرم اتیلن دی‌آمین در متانول حل شده و به نسل نیم دندریمر پلی‌آمیدوآمین اضافه گردید و بعد از ۴۸ ساعت هم خوردن تحت نیتروژن و حذف واکنشگرهای اضافی با تقطیر خلا محصول نهایی با گروه انتهایی آمین حاصل شد که نسل اول دندریمر پلی‌آمیدوآمین نامیده می‌شود. با تکرار سیکل بالا، نسل‌های بالاتر دندریمر پلی‌آمیدوآمین تا نسل ۴ سنتز گردید (۲۷). برخی از ویژگی‌های دندریمر پلی‌آمیدوآمین

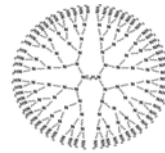
سلولی یا غشاء سلولی باشد موثرتر عمل می‌کنند (۲۲). در این گونه مطالعات سلول هدف برای ماده ضد میکروبی باید به دقت انتخاب شود زیرا دندریمرهای پر حجم نمی‌توانند به درون سد غشاء سلولی نفوذ کرده و برای فعالیت ضد میکروبی از پیش تعیین شده، به محل اثر برسند (۲۳). به عنوان مثال، لوپز و همکارانش در سال ۲۰۰۹ میلادی اعلام نمودند که خاصیت ضد میکروبی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل سوم در مقایسه با دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل پنجم بسیار بیشتر است (۲۴). ضمناً ارزیابی فعالیت‌های ضد میکروبی معمولاً بر روی نماینده‌ای از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مانند اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، لیستریا مونوسیتوژنوزا و واسترپتوکوکوس موتانس که مسئول عفونت‌های مختلف در انسان بوده و تهدیدی عمده برای سلامت عمومی به حساب می‌آیند، انجام می‌شود (۲۵). بنابراین، با توجه به خواص ضد میکروبی دندریمرها، هدف این مطالعه ارزیابی خواص ضد میکروبی دو نوع دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل ۲ و ۴ (از جمله گسترده‌ترین خانواده دندریمری مورد بررسی در مطالعات پزشکی) با استفاده از روش انتشار دیسک، روش انتشار چاهک، حداقل غلظت بازدارندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی و نهایتاً ارزیابی اثر دما و pH محیط مایبی در کارایی آن‌ها بر مهمترین باکتری‌های جدا شده از منابع آب شامل اشریشیاکلی، پروتئوس میرابیلیس، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس است.

مواد و روش‌ها

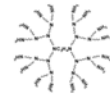
نوع مطالعه و روش جمع‌آوری نمونه‌های باکتریایی

این پژوهش یک مطالعه کاربردی است که طی آن تاثیر ضد باکتریایی دندریمرهای پلی‌آمیدوآمین نسل ۲ و ۴ بر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت جدا شده از آب آشامیدنی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری جهت دستیابی به باکتری‌های مورد نظر از منابع آب، با

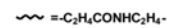
نسل دوم و چهارم مطابق جدول شماره ۱ و تصویر شماره ۱ است. جهت انجام آزمایشات، غلظت‌های مختلفی (۰/۵ تا ۵۰۰ میکروگرم در لیتر) از هر یک از دندریمرهای پلی آمیدوآمین نسل دوم و چهارم تهیه شد.



Generation 4



Generation 2



Generation	4	2
Molecular weight	14215	3256
Molecular size (nm)	4.5	2.9
Primary amino acid group	64	16

تصویر شماره ۱: ساختار شیمیایی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۲ و ۴ مورد استفاده (۳۱).

که رشد در آن‌ها مشاهده نشد، بر سطح محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد تا حداقل غلظت کشندگی دندریمر تعیین گردد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماگذاری شدند و پلیت مربوط به لوله‌ای که حاوی کم‌ترین غلظت دندریمر بود و در آن رشد باکتری مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد. تمامی آزمایش‌ها برابر با دستورالعمل‌های موسسه استاندارد و آزمایشگاه پزشکی^۳ انجام گرفت (۲۹). در نهایت قدرت میکروب‌کشی دندریمرها با اندازه‌گیری قطر هاله مهارى در روش انتشار دیسک در محیط کشت مولر هینتون آگار ارزیابی شد. هم‌چنین اثر دما و pH محیط نیز بر کارایی ضد میکروبی دندریمرها در محیط آبی به دست آمد.

یافته‌ها

باکتری‌های مورد بررسی در این تحقیق از منابع آب خام مورد استفاده برای مقاصد شرب تهیه و جدا گردید و مطابق آن‌چه که در بخش روش مطالعه بیان شد از بین باکترهای جدا و شناسایی شده، باکتری‌های واجد بیش‌ترین فراوانی، شامل اشرشیاکلی، کلبسیلا اکسی‌توکا، سودوموناس آنروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس، انتخاب و ارزیابی کارایی ضد میکروبی دندریمرهای پلی آمیدوآمین نسل ۲ و ۴ بر روی آن‌ها انجام گرفت. نتایج مربوط به فعالیت‌های ضد میکروبی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل دوم و چهارم بر اساس هاله عدم رشد به روش انتشار دیسک در جدول شماره ۲ ذکر شده است. همان‌طور که در جدول مذکور مشاهده می‌شود دندریمر پلی آمیدوآمین نسل دوم و چهارم در برابر همه باکتری‌ها از فعالیت ضد میکروبی تقریباً یکسانی برخوردارند به‌طوری که قطر هاله عدم رشد برای غلظت‌های مختلف دندریمر پلی آمیدوآمین نسل دوم و چهارم (۰/۵ تا ۵۰۰

روش تعیین کارایی ضد میکروبی

برای تعیین قطر هاله عدم رشد از روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. در این روش، باکتری‌ها از رقت باکتریایی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شدند و دیسک‌های آغشته به غلظت‌های مختلف دندریمر بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار قرار گرفتند و بعد از ۲۴ ساعت گرماگذاری در ۳۷ درجه سانتیگراد قطرهای هاله عدم رشد با خط کش مدرج اندازه‌گیری شدند (۲۸). برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC^۱) و حداقل غلظت کشندگی (MBC^۲) از روش رقت لوله‌ای استفاده شد. در روش رقت لوله‌ای ۹ سی‌سی از محیط کشت نوترینت برات به لوله‌های آزمایش وارد و به هر لوله آزمایش ۰/۵ سی‌سی از رقت باکتریایی و ۰/۵ سی‌سی از هر کدام از غلظت دندریمرهای مورد مطالعه اضافه شد. لوله‌ها پس از گرماگذاری بررسی شدند. لوله‌ای با کم‌ترین غلظت از دندریمری که رشد باکتری در آن مشاهده نشود، حداقل غلظت بازدارندگی را نشان می‌دهد. از لوله‌هایی

3. Clinical Laboratory and Standards Institute

1. Minimum Inhibitory Concentration
2. Minimum Bactericidal Concentration

جدول شماره ۱: ویژگی‌های شیمیایی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل دوم و نسل چهارم مورد مطالعه (۳۰)

نوع دندریمر	وزن مولکولی (گرم در مول)	چگالی (گرم بر سانتی متر مکعب)	تعداد گروه‌های آمین انتهایی	تعداد کل گروه‌های آمین	فرمول مولکولی
پلی آمیدوآمین نسل دوم	۳۲۵۶	۰/۸۶	۱۶	۶۰	C ₁₆₆ H ₆₀ N ₅₄ O ₂₈
پلی آمیدوآمین نسل چهارم	۱۴۲۱۵	۰/۸۱۳	۶۴	۲۵۰	C ₆₂₂ H ₁₂₄₈ N ₂₅₀ O ₁₂₄

یکسان بوده و برای باکتری اش‌ریشیاکلی ۲۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، باکتری‌های کلبسیلا ۱۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. در عین حال، بر روی باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا هیچ گونه تاثیر بازدارندگی و کشندگی در غلظت‌های دندریمر مورد بررسی مشاهده نشد. هم‌چنین مشاهده شد که فعالیت ضد میکروبی دندریمرهای مورد بررسی بر روی گونه‌های گرم مثبت بیش تر از گونه‌های گرم منفی است.

جدول شماره ۳: حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۲ و ۴ بر باکتری‌های گرم منفی و مثبت مورد مطالعه

نام باکتری	دندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۲ (µg/ml)		دندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۴ (µg/ml)	
	MBC	MIC	MBC	MIC
اش‌ریشیاکلی	۱۲۵۰	۲۵۰	۱۲۵۰	۲۵۰
سودوموناس آئروژینوزا	-	-	-	-
کلبسیلاکسی‌توکا	۵۰	۱۲۵۰	۱۲۵۰	۵۰
استافیلوکوکوس اورئوس	۱	۵	۵	۱
باسیلوس سوبتیلیس	۲/۵	۵	۵	۲/۵

جدول شماره ۴ و ۵ اثر دمای محیط آبی را بر اثرگذاری دندریمرهای پلی آمیدوآمین نسل ۲ و ۴ در محیط آبی (۲۵۰ میلی لیتر آب اتوکلاو شده) بر روی جدایه‌ها پس از زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه نمایش می‌دهند. به همین ترتیب جداول شماره ۶ و ۷ اثر pH محیط آبی را بر اثرگذاری دندریمرهای پلی آمیدوآمین نسل ۲ و ۴ در محیط آبی (۲۵۰ میلی لیتر آب اتوکلاو شده) بر روی جدایه‌ها پس از زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه نمایش می‌دهند.

میکروگرم در میلی‌لیتر) به ترتیب برای اش‌ریشیاکلی ۱۸، ۰، ۰، ۰ (میلی متر) و ۰، ۰، ۰، ۰ (میلی متر)، برای سودوموناس در خصوص هر دو نوع دندریمر ۰، ۰، ۰، ۰ (میلی متر)، برای کلبسیلا ۲۱، ۱۰، ۰، ۰ (میلی متر) و ۲۱، ۱۲، ۰، ۰ (میلی متر)، برای استافیلوکوکوس اورئوس ۳۴، ۲۲، ۱۸، ۱۰ (میلی متر) و ۳۵، ۲۲، ۱۸، ۱۱ (میلی متر) و نهایتاً برای باسیلوس سوبتیلیس به ترتیب برابر ۲۴، ۱۹، ۱۷، ۷ (میلی متر) و ۲۵، ۲۱، ۱۷، ۸ (میلی متر) است.

جدول شماره ۲: میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر) در روش انتشار دیسک در برابر غلظت‌های مختلف دندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۲ و ۴ بر باکتری‌های گرم منفی و مثبت مورد مطالعه

نوع باکتری	دندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۲ (µg/ml)				دندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۴ (µg/ml)			
	۵۰	۵۰	۵	۰/۵	۵۰	۵۰	۵	۰/۵
اش‌ریشیاکلی	۰	۰	۰	۰	۱۸	۰	۰	۰
سودوموناس آئروژینوزا	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کلبسیلاکسی‌توکا	۰	۰	۰	۰	۲۱	۱۰	۰	۰
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۰	۱۸	۲۲	۳۴	۱۱	۱۸	۲۲	۳۵
باسیلوس سوبتیلیس	۷	۱۷	۱۹	۲۴	۸	۱۷	۱۹	۲۵

جدول شماره ۳ نتایج حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل دوم و چهارم را بر روی باکتری‌های مورد مطالعه نمایش می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود حداقل غلظت بازدارندگی رشد برای هر دو نسل دندریمر یکسان بوده و برای باکتری اش‌ریشیاکلی ۱۲۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، باکتری‌های کلبسیلا ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس ۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد. به همین ترتیب ملاحظه می‌گردد حداقل غلظت کشندگی دندریمر پلی آمیدوآمین برای هر دو نسل دندریمر

جدول شماره ۴: تاثیر دمای محیط در کارایی ضد میکروبی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل ۲ بر باکتری های گرم منفی و گرم مثبت مورد مطالعه

نوع باکتری	تعداد اولیه باکتری	CFU در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد پس از				CFU در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد پس از				CFU در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد پس از			
		زمان‌های مختلف مواجهه				از زمان‌های مختلف مواجهه				زمان‌های مختلف مواجهه			
		۱۵	۳۰	۴۵	۶۰	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰
اشریشیا کلی	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶
سودوموناس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶
کلپسیلا آکسی توکا	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶
استافیلوکوکوس اورئوس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵
باسیلوس سوبتیلیس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶

جدول شماره ۵: تاثیر دمای محیط در کارایی ضد میکروبی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل ۴ بر باکتری های گرم منفی و گرم مثبت مورد مطالعه

نوع باکتری	تعداد اولیه باکتری	CFU در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد پس از				CFU در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد پس از				CFU در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد پس از			
		زمان‌های مختلف مواجهه				زمان‌های مختلف مواجهه				زمان‌های مختلف مواجهه			
		۱۵	۳۰	۴۵	۶۰	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰
اشریشیا کلی	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶
سودوموناس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶
کلپسیلا آکسی توکا	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶
استافیلوکوکوس اورئوس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵
باسیلوس سوبتیلیس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶

جدول شماره ۶: تاثیر pH در کارایی ضد میکروبی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل ۲ بر باکتری های گرم منفی و گرم مثبت مورد مطالعه

نوع باکتری	تعداد اولیه باکتری	CFU در pH=۵/۵ پس از				CFU در pH=۷ پس از				CFU در pH=۹ پس از			
		زمان‌های مختلف مواجهه				زمان‌های مختلف مواجهه				زمان‌های مختلف مواجهه			
		۱۵	۳۰	۴۵	۶۰	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰
اشریشیا کلی	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶
سودوموناس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵
کلپسیلا آکسی توکا	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵
استافیلوکوکوس اورئوس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵
باسیلوس سوبتیلیس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵

جدول شماره ۷: تاثیر pH در کارایی ضد میکروبی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل ۴ بر باکتری های گرم منفی و گرم مثبت

نوع باکتری	تعداد اولیه باکتری	CFU در pH=۵/۵ پس از زمان‌های مختلف مواجهه				CFU در pH=۷ پس از زمان‌های مختلف مواجهه				CFU در pH=۹ پس از زمان‌های مختلف مواجهه			
		مختلف مواجهه				مختلف مواجهه				مختلف مواجهه			
		۱۵	۳۰	۴۵	۶۰	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰	۱۵	۳۰	۴۵	۶۰
اشریشیا کلی	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶	۱۰ ^۶
سودوموناس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵
کلپسیلا آکسی توکا	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵
استافیلوکوکوس اورئوس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵
باسیلوس سوبتیلیس	1/5×10 ^۸	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵	۱۰ ^۵

موجب افزایش سطح مخصوص دندریمر و در نتیجه جذب میکروب ها در سطح خود می شود و همچنین بین شاخه‌ها نانو حفره‌هایی ایجاد می گردد که عوامل میکروبی را گیر انداخته و باعث نابودی آن‌ها می شود. جدول شماره ۲ نتایج فعالیت ضد میکروبی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل دوم و چهارم را بر اساس هاله عدم رشد به روش

بحث

با توجه به تصویر شماره ۱ مشخص است که ساختار دندریمر به طرز فوق العاده‌ای شاخه شاخه است. این ساختارهای دندریک که به ساختارهای درختان با ساختار تصاعدی معروف هستند در این تصویر کاملاً نمایان است. شاخه‌های بسیار زیاد این درختان‌ها

انتشار دیسک نمایش می‌دهد. با توجه به بررسی طول هاله عدم رشد به وضوح مشخص است که اولاً دندریمرهای مورد استفاده واجد فعالیت ضد میکروبی هستند و ضمناً با افزایش غلظت ماده ضد میکروبی، هاله بزرگتری در اطراف دیسک‌ها ایجاد می‌شود. این وضعیت نشان‌دهنده قدرت ماده ضد میکروبی در غلظت‌های بالاتر است. نتایج حداقل غلظت دندریمر که مانع رشد باکتری‌ها و همچنین باعث کشته شدن باکتری‌ها می‌گردد (جدول شماره ۳) حاکی از آن است که هر دو نسل دندریمر پلی‌آمید و آمین واجد خاصیت ضد میکروبی بوده و قادرند به عنوان ماده ضد میکروبی به کار گرفته شوند. نتایج مشابهی توسط رمضانزاده و همکاران (۲۰۱۴) در خصوص فعالیت ضد میکروبی دندریمر پلی‌آمید و آمین نسل ۲ تا ۵ ارائه شده است (۳۲). تحقیقات پیشین نشان داده است که عموماً تخریب باکتری‌ها به وسیله مواد ضد میکروبی بر اثر یکی از روش‌های تخریب غشای باکتری، تغییر شکل فضایی، تخریب آنزیم‌های باکتری، آسیب به کروموزوم و تخریب دیواره باکتری انجام می‌شود (۱۲). این نتیجه را می‌توان به حضور گروه‌های آمین انتهایی موجود در ساختار دندریمر نسبت داد که در واکنش با بار منفی غشاء یا سیتوپلاسم میکرواورگانیزم‌ها منجر به آسیب دیواره سلولی باکتری‌ها شده و بدین ترتیب از فعالیت باکتری جلوگیری می‌نمایند (۱۲، ۱۵). به‌طور عمده فعالیت ضد میکروبی دندریمرها محدود به اثر آن‌ها بر نفوذپذیری غشاء باکتری است. با این حال، هنوز اطلاعات تجربی برای حمایت از این پیشنهاد ارائه نشده است. به نظر می‌رسد که هر دندریمر با روش متفاوتی بر روی دیواره سلولی باکتری تأثیر بگذارد. مکانیسم‌های ممکن در مورد دندریمر G4-PAMAM-NH2 شامل اتصال پلی‌کاتیونی به لیپوپلی ساکارید پلی‌آنیونی است. آزمون نفوذپذیری غشاء درونی و بیرونی باکتری‌ها نشان داده است که G4-PAMAM-OH موجب تغییرات ساختاری عمده در غشای خارجی می‌شود، در حالی که G4-PAMAM-NH2 موجب تغییرات ساختاری عمده

و تخریب هم در غشای خارجی و هم در غشای درونی باکتری می‌شود (۲۱). وانگ و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که دندریمر G4-PAMAM-NH2 بر روی اشرشیاکلی باعث اختلال قابل توجه در دیواره سلولی و تحلیل غشای سلولی باکتری می‌گردد (۲۱). در خصوص دندریمرهای پلی‌آمید و آمین با گروه‌های انتهایی آمین بیان شده است که گروه‌های آمین باعث تشکیل نانوحفره‌هایی در لایه چربی محافظ غشاء باکتری می‌شوند و این باعث پارگی و زوال سلول می‌گردد (۲۱، ۳۳). دندریمر G4-PAMAM-NH2 یک پلیمر پلی‌کاتیونی است و احتمالاً جایگزین یون‌های دو ظرفیتی متصل به آنیون‌های موجود در غشای سلولی می‌شود. این شرایط باعث تشکیل کمپلکس نامحلول پلی‌آنیون پلی‌کاتیون و انتشار و خروج کلسیم از سلول می‌شود و به تغییرات عمده ساختاری در لایه خارجی غشا سلولی کمک نموده و به مرگ سلول باکتری منتهی خواهد شد (۲۱). با نگاهی به نتایج می‌توان دریافت که دندریمر پلی‌آمید و آمین به عنوان یک عامل ضد باکتریایی در برابر هر دو گروه باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت کارآمد است. در تایید تأثیر ضد میکروبی گروه‌های آمین، چن و همکاران (۲۰۰۰) تأثیر ضد میکروبی دندریمر پلی‌پروپیلن ایمین واجد گروه آمونیم چهار ظرفیتی را بر روی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت نشان دادند (۳۴). همچنین لوپز و همکاران (۲۰۰۹) نیز فعالیت ضد میکروبی دندریمر پلی‌آمید و آمین را بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی بررسی نمودند و نتایج مطالعات آن‌ها حاکی از وجود فعالیت ضد میکروبی بر باکتری‌های اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس بود (۲۴). اما آنچه که مشخص است باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی در برابر خاصیت ضد میکروبی دندریمر مورد استفاده حساسیت بیش‌تری از خود نشان نشان دادند. برای مثال، با توجه به جدول شماره ۳، کم‌ترین غلظت بازدارندگی دندریمر

پلی آمیدو آمین هر دو نسل مورد بررسی مربوط به باکتری های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس) به میزان ۱ و ۲/۵ میکرو گرم در میلی لیتر و بیش ترین غلظت مهار کنندگی مربوط به باکتری های گرم منفی (کلسیلاکسی توکا و اشیشیاکلی) به میزان ۵۰۰ و ۱۲۵۰ میکرو گرم در میلی لیتر می باشد. ضمناً غلظت های مورد بررسی از دندریمر مورد نظر بر روی باکتری های سودوموناس آئروژینوزا که در مقابل اکثر آنتی بیوتیک ها و مواد ضد عفونی کننده از مقاومت بالایی برخوردار است، هیچ گونه تاثیر بازدارندگی و کشندگی نشان نداد که حاکی از مقاومت بسیار بالای این گونه از باکتری های گرم منفی می باشد.

تفاوت اصلی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در دیواره سلولی و مقدار ماده سازنده غشاء پپتیدو گلکان آن ها است. از آنجایی که ضخامت غشاء پپتیدو گلکان در باکتری های گرم مثبت بیشتر از باکتری های گرم منفی است، انتظار می رود که باکتری های گرم مثبت مقاومت بیش تری در مقابل عوامل ضد میکروبی از خود نشان دهند (۳۵، ۱۲). با این وجود، با نگاهی به نتایج مشاهده می شود که باکتری های گرم مثبت مورد بررسی حساس تر هستند. عمدتاً نوع هسته دندریمر، بار سطحی و عاملیت، ساختار سه بعدی و اندازه دندریمر از عوامل کلیدی هستند که فعالیت ضد میکروبی آن را تحت تاثیر قرار می دهند. دندریمر پلی آمیدو آمین با گروه انتهایی آمین واجد فعالیت ضد میکروبی در برابر باکتری های گرم منفی و گرم مثبت است (۳۳، ۲۴).

اورتگا و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که دندریمرهای کاتیونی با گروه انتهایی آمین و آمونیم نسبت به باکتری های گرم مثبت از فعالیت ضد میکروبی قوی تری در مقایسه با باکتری های گرم منفی برخوردار هستند (۳۶). این تفاوت در فعالیت ضد میکروبی دندریمرها به دلیل ساختار ویژه دیواره سلولی باکتری ها می باشد. دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت شامل یک لایه ضخیم (۲۰ تا ۵۰ نانومتر) از پپتیدو گلکان

کراس لینک است که تعامل بین غشاء سلولی و گروه های عاملی دندریمر را محدود نموده و باعث اختلال در نفوذ دندریمر می شود. بنابراین، انتظار می رود که باکتری های گرم مثبت مقاومت بیش تری در مقابل عوامل ضد میکروبی از خود نشان دهند. در عین حال، دیواره سلولی باکتری های گرم منفی شامل یک لایه نازک (۱۰ نانومتر) از پپتیدو گلکان است و انتظار می رود که مقاومت کم تری در مقابل عوامل ضد میکروبی از خود نشان دهند. با این وجود، این نوع باکتری ها واجد یک غشاء خارجی اضافی هستند که باکتری را در مقابل بسیاری از عوامل خارجی مقاوم می نماید. این ساختار واجد یک جزء منحصر به فرد به نام لیوپلی ساکراید است که سبب افزایش شارژ منفی غشاء سلولی شده و برای تمامیت ساختاری و بقای باکتری ها ضروری است. بنابراین، مولکول دندریمر پلی آمیدو آمین احتمالاً قادر نیست که به طور موثر با این لایه فعل و انفعال داشته و باعث بی ثباتی و تخریب آن شود (۱۴). در واقع این غشای خارجی در باکتری های گرم منفی به عنوان یک مانع قوی در مقابل مواد خارجی عمل می کند (۲۱). در این رابطه سلیم پور و همکاران (۲۰۱۲) اعلام نمودند که دندریمر پلی پروپیلن ایمین فعالیت ضد میکروبی خوبی در برابر میکروارگانیزم هایی که دارای چربی خارج سلولی نیستند از خود نشان می دهد (۱۲). در مطالعه ای که توسط سلاهایتین و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد حساسیت بالاتر باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی گزارش گردید که دلیل آن را به تفاوت در ساختمان دیواره سلولی، فیزیولوژی و متابولیسم سلول نسبت دادند (۳۷). نشو عنوان نمود که فعالیت ضد میکروبی دندریمرها به دلیل توانایی آن ها در افزایش نفوذ پذیری غشاء باکتری ها بوده که در نهایت غلظت های بالاتر دندریمر منجر به تجزیه کامل غشاء باکتری و مرگ آن می شود. ضمناً اتصال نانو ساختار دندریمر و سلول باکتری از طریق پیوندهای الکترواستاتیک ناشی از شارژ

سطحی منفی باکتری و شارژ مثبت دندریمر صورت می‌گیرد (۳۸).

نکته قابل توجه دیگر در فعالیت ضد میکروبی دندریمرها، تعداد گروه‌های عامل در ساختار آنها است بنابراین، انتظار می‌رود که دندریمر نسل چهارم به دلیل فراوانی گروه‌های آمین انتهایی (۶۴ گروه آمین) نسبت به دندریمر نسل دوم (دارای ۱۶ گروه آمین انتهایی) از فعالیت ضد میکروبی بیش تری در برابر میکرواورگانیزم‌ها برخوردار باشد. با این وجود، نتایج حاصل (جداول شماره ۲ و ۳) تفاوت فاحش و قابل توجهی را در قطر هاله عدم رشد، حداقل غلظت مانع رشد و یا حداقل غلظت کشندگی دندریمر نشان نمی‌دهند. در واقع چنین استنباط می‌گردد که هر چند گروه‌های عامل انتهایی نقش مهمی را در فعالیت ضد میکروبی دندریمر به عهده دارند اما عوامل دیگری نیز وجود دارند که در تعامل دندریمر با غشاء باکتری و تاثیر گروه‌های عامل آن موثر بوده و نهایتاً فعالیت ضد میکروبی آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند. اندازه دندریمر از جمله فاکتورهای مهم و تاثیرگذار بر فعالیت ضد میکروبی آن به شمار می‌آید زیرا بر روی توانایی دندریمر در نفوذ به درون دیواره باکتری موثر است. همان‌طور که در تصویر شماره ۱ نیز مشاهده می‌شود با افزایش نسل دندریمر پلی‌آمیدو آمین از دو به چهار تعداد گروه‌های آمین انتهایی از ۱۶ به ۶۴ افزایش یافته است و انتظار افزایش فعالیت ضد میکروبی منطقی به نظر می‌رسد، اما همان‌طور که مشخص است در کنار افزایش تعداد عامل‌های آمین ابعاد مولکولی دندریمر نیز افزایش یافته و از ۲/۹ نانومتر در دندریمر پلی‌آمیدو آمین نسل ۲ به ۴/۵ نانومتر در دندریمر پلی‌آمیدو آمین نسل ۴ رسیده است. لذا این افزایش تقریباً دو برابری در ابعاد مولکولی نقش مهمی در نفوذ دندریمر به درون غشاء باکتری و تاثیر بر حیات آن خواهد داشت. در این خصوص لوپز و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش نمودند که دندریمر پلی‌آمیدو آمین نسل ۳ در مقایسه با دندریمر پلی‌آمیدو آمین نسل ۵ از فعالیت

ضدمیکروبی خیلی بیش تری برخوردار است (۲۴). در مطالعه مشابه دیگری اورتگا و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که فعالیت ضد میکروبی نسل‌های پایین تر دندریمر کربوسیلین بسیار بیش تر از نسل‌های بالاتر آن است (۳۶). جداول شماره ۴ و ۵ اثر دما را بر فعالیت دندریمرهای نسل ۲ و ۴ در محیط آبی (۲۵۰ میلی لیتر آب) بر روی جدایه‌ها پس از زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه نشان می‌دهند. همان‌طور که از نتایج مشخص است در دماهای ۲۲ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد تاثیر ماده آنتی‌باکتریال بهتر است و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد دمای بهینه در تاثیر ماده آنتی‌باکتریال می‌باشد. با این وجود، با افزایش دما به ۴۵ درجه سانتی‌گراد تعداد باکتری‌ها به ظاهر کاهش پیدا می‌کنند لیکن انتقال محیط‌های کشت به دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و از سرگیری رشد باکتری‌ها نشان می‌دهد کاهش رشد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به خاطر خاصیت آنتی‌باکتریال دندریمر نبوده بلکه به دلیل عدم مقاومت باکتری‌ها در دمای بالاتر از ۳۷ درجه سانتی‌گراد است. ضمناً نتایج حاصل نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در مقابل تغییرات دما حساس تر هستند. جداول شماره ۶ و ۷ اثر pH را بر فعالیت دندریمرهای نسل ۲ و ۴ در محیط آبی (۲۵۰ میلی لیتر آب) بر روی جدایه‌ها پس از زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه نشان می‌دهد. همان‌گونه که در نتایج زیر نشان داده می‌شود، pH بهینه رشد برای باکتری‌های زیر pH خنثی است. با توجه به این که دامنه تحمل pH توسط باکتری اشیریشیا کلی ۶-۷، باکتری سودوموناس آئروژینوزا ۶-۸، کلبسیلا اکسی توسکا ۵-۹، استافیلوکوکوس اورئوس ۶-۷، و باسیلوس سوبتیلیس ۷-۸ می‌باشد، لذا عدم رشد میکروبی می‌تواند ناشی از pH پایین تر یا بالاتر از pH بهینه باشد.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این پژوهش به منظور بررسی تاثیر ضد باکتریایی دندریمرهای پلی‌آمیدو آمین نسل ۲ و ۴ بر باکتری‌های اشیریشیا کلی،

استفاده از آن برای گندزدایی آب شرب نیازمند بررسی‌های جامع تر به ویژه در خصوص سمیت احتمالی آن‌ها خواهد بود.

سپاسگزاری

مقاله حاصل بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب مرکز تحقیقات بهداشت محیط کردستان است که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی کردستان انجام شده است (شماره طرح ۹۱/۶۸). لذا نویسنده‌گان مراتب تقدیر و تشکر خود را از تمامی همکارانی که انجام این تحقیق را ممکن و میسر نمودند اعلام می‌دارند.

سودوموناس آئروژینوزا، کلبسیلا اکسی توکا، باسیلوس سوبتیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس انجام شد و مشخص گردید که حداقل غلظت بازدارندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی برای هر دو نسل دندریمر یکسان می‌باشد. هم‌چنین مشاهده شد که فعالیت ضد میکروبی دندریمرهای مورد بررسی بر روی گونه‌های گرم مثبت بیش‌تر از گونه‌های گرم منفی است. علاوه بر این، از آن‌جایی که دندریمر نسل ۴ واجد تعداد بیش‌تری گروه آمین انتهایی است اما تفاوت قابل توجهی در خاصیت ضد میکروبی آن نسبت به دندریمر نسل ۲ مشاهده نشد. در مجموع هر چند این نوع از دندریمر واجد خاصیت ضد میکروبی است، اما

References

1. Mc Cullagh C, Robertson JM, Bahnemann DW, Robertson PK. The application of TiO₂ photocatalysis for disinfection of water contaminated with pathogenic microorganisms: a review. Res Chem Intermed Mater 2007; 33(1-5): 359-375.
2. Nadtochenko VA, Rincon AG, Stanca SE, Kiwi J. Dynamics of E. coli membrane cell peroxidation during TiO₂ photocatalysis studied by ATR-FTIR spectroscopy and AFM microscopy. J Photochem Photobiol A: Chem 2005; 169(2): 131-137.
3. Zazouli MA, Safarpour Ghadi M, Veisi A, Habibkhani P. Bacterial contamination in bottled water and drinking water distribution network in Semnan, 2012. J Mazandaran Univ Med Sci 2013; 22(1): 151-159 (Persian).
4. Hashemi Karouei SM, Eslamifar M, Zazouli MA. Determination of Fecal Coliform Contamination of Water Supplies in Some Rural Areas of Sari, Iran with Most Probable Number Test. J Mazandaran Univ Med Sci. 2013; 23 (104) :89-95 (Persian).
5. Noroozi R, Mehdinezhad MH, Zafarzadeh A. Photocatalytic removal of *Escherichia coli* by ZnO activated by ultraviolet-C light from aqueous solution. Med Lab J 2011; 5(2): 52-61 (Persian).
6. Salvatore J, Nemerow N, Agardy FJ. Environmental engineering. 5th ed. New Jersey: John Wiley & Sons Inc; 2003.
7. Bitton G. Wastewater Microbiology. 3rd ed. New York: Wiley-Liss Pub; 2005.
8. 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.
9. Zazouli M, Ahanjan M, Kor Y, Eslamifar M, Hosseini M, Yousefi M. Water Disinfection Using Photocatalytic Process with Titanium Dioxide Nanoparticles. J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 24(122): 227-238 (Persian).
10. Niven R. Investigation of silver electrochemistry water disinfection applications. (Ms Thesis). McGill University, Environmental Engineering, Montreal, Canada. 2005.

11. Salimpour Abkenar S, Malek R, Taher S. Effect of poly (propylene imine) dendrimer nano structure on antimicrobial property of cotton fabric. *Pejouhesh* 2012; 36(1): 11-18.
12. Izanloo H, Ahmadi Jebelli M, Nazari S, Safavi N, Tashayoe HR, Majidi G, et al. Studying the antibacterial effect of Polyamidoamine-G4 Dendrimer on some of the gram-negative and gram-positive bacteria. *Arak Uni Med Sci J* 2014; 17(9): 1-10.
13. Winnicka K, Wroblewska M, Wieczorek P, Tomasz Sacha P, Trynieszewska EA. The effect of PAMAM dendrimers on the antibacterial activity of antibiotics with different water solubility. *Molecules* 2013; 18(7): 8607-8617.
14. Wang XF, Zhang SL, Zhu LY, Xie SY, Dong Z, Wang Y, et al. Enhancement of antibacterial activity of tilmicosin against *Staphylococcus aureus* by solid lipid nanoparticles in vitro and in vivo. *Vet J* 2012; 191(1): 115-120.
15. 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. *Ultrason Sonochem* 2012; 19(4): 846-852.
16. Tayel AA, El-Tras WF, Moussa S, El-Baz AF, Mahrous H, Salem MF, et al. Antibacterial action of zinc oxide nanoparticles against food borne pathogens. *J Food Safety* 2011; 31(2): 211-218.
17. Nair MG, Nirmala M, Rekha K, Anukaliani A. Structural, optical, photo catalytic and antibacterial activity of ZnO and Co doped ZnO nanoparticles. *Mater Lett* 2011; 65(12): 1797-1800.
18. Pinto RJ, Fernandes SC, Freire CS, Sadocco P, Causio J, Neto CP, et al. Antibacterial activity of optically transparent nanocomposite films based on chitosan or its derivatives and silver nanoparticles. *Carbohydr Res* 2012; 348(1): 77-83.
19. Raghupathi KR, Koodali RT, Manna AC. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir* 2011; 27(7): 4020-4028.
20. 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. *Int J Pharm* 2010; 395(1-2): 298-308.
21. Ghosh M, Synthetic macromolecules as potential chemotherapeutic agents. *Polym News* 1988; 13(1): 71-77.
22. Chen CZ, Cooper SL. Recent advances in antimicrobial dendrimers. *Adv Mater* 2000; 12(11): 843-846.
23. Lopez AI, Reins RY, McDermott AM, Trautner BW, Cai C. Antibacterial activity and cytotoxicity of PEGylated poly (amidoamine) dendrimers. *Mol Biosyst* 2009; 5(10): 1148-1156.
24. Moritz M, Geszke-Moritz M. The newest achievements in synthesis, immobilization and practical applications of antibacterial nanoparticles. *Chem Eng J* 2013; 228: 596-613.
25. Eaton AD, Franson MAH. Standard methods for the examination of water & wastewater. 21th ed. American Public Health Association; 2005.
26. Tomalia DA, Frechet JM. Dendrimers and other dendritic polymers. New York: Wiley; 2001
27. Izanloo H, Ahmadi Jebelli M, Mjidi G, Khazaei M, Tashayoe HR, Vazirirad V, et al. The Antibacterial Effect of Polypropylenimine-

-
- G2 Dendrimer on *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus*. *Uni Med Sci J* 2014; 8(4): 34-43.
28. CLSI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 9th ed. M07-A9, 2012.
29. Bosman AW, Janssen HM, Meijer EW. About dendrimers: structure, physical properties, and applications. *Chem Rev* 1999; 99(7): 1665-1688.
30. Arima H, Motoyama K. Recent Findings Concerning PAMAM dendrimer Conjugates with cyclodextrins as carriers of DNA and RNA. *Sensors (Basel)* 2009; 9(8): 6346-6361.
31. Shahbazi B, Rezaei MJ, Rouhi S, Shakib P, Ramazanzadeh R. Mutagenicity survey and antibacterial activity of various generations of poly (amid amine) (PAMAM) dendrimers and alginate acid poly (amid amine) (PAMAM) dendrimer nano composite G2 on some enteric pathogenic bacteria. *Int J Enteric Pathog* 2014; 2(4): e20012.
32. Calabretta M.K, Kumar A, McDermott AM, Cai C. Antibacterial activities of poly (amidoamine) dendrimers terminated with amino and poly(ethylene glycol) groups. *Biomacromolecules* 2007; 8(6): 1807-1811.
33. Chen CZ, Beck-Tan NC, Dhurjati P, Van Dyk TK, LaRossa RA, Cooper SL. Quaternary ammonium functionalized poly (propylene imine) dendrimers as effective antimicrobials: structure-activity studies. *Biomacromolecules* 2000; 1(3): 473-480.
34. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 6th ed. New York: Mosby; 2009.
35. Ortega P, Copa-Patiño JL, Munoz-Fernandez MA, Soliveri J, Gomez R, de la Mata FJ. Amine and ammonium functionalization of chloromethylsilane-ended dendrimers. Antimicrobial activity studies. *Org Biomol Chem* 2008; 6(18): 3264-3269.
36. Selahattin A, Kadri G, Ramazan C. Effect of zinc on microbial growth. *Tr J Med Sci* 1998; 28(6): 595-598.
37. Neu HC, The crisis in antibiotic resistance. *Science* 1992; 257(5073): 1064-1073.