مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و یکم / مرداد و شهریور ۱۳۹۵/۱۳۶-۱۲۵

ارزیابی کارآیی ضد میکروبی دندریمر نانوساختار پلی‌آمیدوآمین نسل ۴ بر باکتریهای بومی منابع آب و مقایسه آن با آنتی‌بیوتیک‌های رایج

افشین ملکی[۱]، محمد احمدی جبلی[۲]، باقر حیاتی[۳]، هیوا دارایی[۴]، ندا درویش[۵]

۱. استاد بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۲. دانشجوی دکتری مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. (مولف مسوول)، تلفن: ۰۲۵-۳۷۷۸۰۱۷۵

m.ahmadijebelli@yahoo.com

۳. دانشجوی دکتری مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۴. مربی، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۵. دانشجوی دکتری محیط زیست، دانشکده محیط زیست و انرژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به خواص ضد باکتریایی دندریمرها، یکی از برنامه‌های آینده امکان استفاده از آنها به عنوان یک ماده آنتی‌باکتریال جایگزین با کمترین اثرات جانبی در مقابله با عفونت‌های میکروبی است. لذا هدف از این مطالعه ارزیابی مقاومت باکتری‌های جدا شده از منابع آبی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج و مقایسه آن با ماکرومولکول نانوساختار دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل ۴ (PAMAM-G4) است.

روش بررسی: ۵۲۳ نمونه از ۱۰۸ منبع آبی مختلف برداشت شد و به روش فیلتر غشایی مورد آزمایش میکروبی قرار گرفت. مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین، اریترومایسین، تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین به روش اندازه‌گیری هاله عدم رشد بررسی و سپس با مقاومت همان گونه‌ها نسبت به دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل ۴ (PAMAM-G4) مقایسه شد. همچنین حداکثر غلظت بازدانده رشد(MIC) دندریمر در مواجهه با جدایه‌ها اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: ۷/۴ درصد از نمونه‌ها آلودگی باکتریایی نشان دادند. فراوانی گونه‌های میکروبی جدا شده شامل اشریشیاکلی(۲۸/۲٪)، پروتئوس(۱۲/۸٪)، کلبسیلا(۱۷/۹٪)، انتروباکتر(۱۵/۳٪)، سودوموناس(۱۷/۹٪)، باسیلوس سوبتیلیس(۱/۵٪) و استافیلوکوکوس اورئوس(۲/۵۶٪) بود. در روش اندازه‌گیری هاله عدم رشد، گونه‌های گرم منفی مقاومت بالایی نسبت به دندریمر PAMAM-G4 نشان دادند، به گونه‌ای که این دندریمر تاثیری بر بازدارندگی از رشد انتروباکتر و سودوموناس نداشت و MIC باکتری‌های اشریشیا کلی، کلبسیلا و پروتئوس نیز به ترتیب ۱۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. باکتری‌های گرم مثبت پاسخ مناسبی به دندریمر PAMAM-G4 نشان دادند به گونه‌ای که MIC برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس به ترتیب ۱ و ۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد.

نتیجه‌گیری: با افزایش گونه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، می‌توان از این نوع دندریمر به عنوان یک ماده آنتی‌باکتریال قوی در مقابله با گونه‌های گرم مثبت باکتری‌ها استفاده نمود.

کلید واژه ها: دندریمر پلی‌آمیدوآمین ، آنتی‌بیوتیک، عوامل ضد باکتری، مقاومت دارویی، منابع آب

وصول مقاله:۹۴/۱۰/۵ اصلاحیه نهایی:۹۴/۱/۲۴ پذیرش:۹۵/۱/۱۸

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

مقدمه

پایداری باکتری‌های بیماری‌زای روده‌ای در آب به رغم تعداد زیادی از باکتری‌های رقیب، نشان داده شده است (۱). این پاتوژن‌ها عامل ایجاد اسهال و اختلالات گوارشی و در نتیجه ناخوشی و مرگ و میر در گروه‌های سنی مختلف در سراسر جهان هستند (۲). آب آشامیدنی برای مصرف انسان باید عاری از آلودگی، ایمن و قابل قبول برای مصرف کننده باشد. در واقع کیفیت آب آشامیدنی نباید از رهنمودهای کیفی آب تجاوز کند (۳). جداسازی عوامل بیماری‌زا از منابع آبی، نشانه خطر جدی برای بهداشت عمومی مصرف کنندگان است. اگر باکتری‌های بیماری‌زا توسعه پیدا کرده و نسبت به یک آنتی‌بیوتیک مقاوم شوند، لذا این آنتی‌بیوتیک در درمان بیماری‌های عفونی حاصل از این باکتری‌ها ناتوان خواهد بود (۵و۴). این خطر در مواردی همراه با مقاومت باکتری‌های پاتوژن روده‌ای نسبت به چند آنتی‌بیوتیک گزارش شده است (۶). استفاده بیش از حد و یا سوء مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در طب انسانی و دامپزشکی، عامل اصلی توسعه و گسترش باکتری‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک در سراسر جهان است (۸و۷). استفاده از کودهای حیوانی و انسانی نیز به انتشار باکتری‌های روده‌ای مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط منجر می‌شود (۹).

از آنجاکه مقاومت پاتوژن‌ها به عوامل ضد میکروبی به سرعت رو به افزایش است، لذا تحقیق و کشف مواد ضد باکتریایی جدید که دارای خواص ویژه‌ای بوده و مکانیسم تاثیر آنها موجب مقاومت سریع باکتری‌ها نشود، مورد انتظار است. دندریمرها پلیمرهایی منظم، پُرشاخه، دارای گروه‌های سطحی بسیار فعال چندکاره و فضاهای خالی مابین شاخه‌ها هستند (۱۲-۱۰). این فضاهای خالی قابلیت پذیرش مولکول‌های میهمان و کپسوله کردن ذرات در اندازه‌های مختلف را فراهم می‌آورند به همین دلیل، در سال‌های اخیر محققین از ساختارهای دندریتیکی و به ویژه دندریمرها در علوم پزشکی، داروسازی، بیولوژی و غیره بهره برده‌اند (۱۳). دندریمرهای پلی‌پروپیلن ایمین از قدیمی‌ترین دندریمرهای شناخته شده هستند که اولین بار توسط شخصی بنام وگتل (vogtle) سنتز و معرفی شد. این دندریمرها دارای یک هسته مرکزی با عوامل فعال متعدد هستند (۱۴). اگر گروه های انتهایی دندریمرها با گروه‌های ضد میکروبی عامل دار شوند، توانایی بالای آنها در حذف میکروب ها را می توان انتظار داشت. در این رابطه لوپز و همکاران و همچنین کالابرتا و همکاران نشان دادند که دندریمر پلی‌آمیدوامین [Polyamidoamine Dendrimers (PAMAM)] با گروه‌های انتهایی آمین واجد فعالیت ضد باکتری علیه باکتری اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس هستند (۱۶و۱۵). همچنین تاثیر ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی در تخریب و تجزیه دیواره سلولی باکتری‌ها نشان داده شده است (۱۸و ۱۷). بیشتر عوامل ضدمیکروبی دندریمری از سنتز گروه‌های فعال انتهایی با نمک های آمونیوم چهار ظرفیتی حاصل می‌شوند (۱۹). لذا وجود گروه‌های آمین انتهایی در ساختار آنها سبب خاصیت میکروب‌کشی شده است (۲۰و ۱۴). البته این خاصیت ضدمیکروبی 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 سلولی یا غشاء سلولی باشد موثرتر عمل می‌کنند (۱۷).

با اضافه کردن گروه‌های انتهایی محلول در آب به دندریمرها، دندریمرهای محلول در آب به دست می‌آیند. هنگامی که این دندریمرها با آنتی‌بیوتیک‌های باکتریواستاتیک ضعیف محلول یا غیر محلول در آب واکنش می‌دهند، خواص ضدباکتریایی آنها بهبود یافته به گونه‌ای که کاربردهای کلنیکی آنها در مطالعات تجربی مشاهده شده است (۲۲). از سولفونامیدها، به دلیل سهولت مصرف و طیف وسیع فعالیت ضد باکتریایی، به گونه‌ای

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

گسترده استفاده می‌شود. با این حال، استفاده کلنیکی از سولفونامیدها به دلیل حلالیت بسیار پایین در آب، حذف سریع از سیستم گردش خون، سطح پایین پیوستگی به پروتئین‌های پلاسما و عوارض جانبی متعدد، محدود شده است (۲۲). مطالعات میکروبیولوژیک نشان می‌دهند که دندریمرهای PAMAM می‌توانند حلالیت در آب و فعالیت ضد باکتریایی نوعی از سولفونامید به نام سولفامتوکسازول را در مقایسه با نوع خالص آن به مقدار ۴ تا ۸ برابر افزایش دهند (۲۳). همچنین کینولون‌ها که از نظر کلنیکی آنتی‌بیوتیک‌های قوی به شمار می‌آیند، به شکل آزاد در آب محلول نمی‌باشند. مطالعات میکروبیولوژیک بر روی کینولون‌ها نشان می‌دهد که فعالیت ضد میکروبی و حلالیت آنها در آب، در حضور دندریمرها به طور قابل توجه‌ای افزایش می‌یابد (۲۴).

در این گونه مطالعات سلول هدف برای ماده ضدمیکروبی باید به دقت انتخاب شود زیرا دندریمرهای پرحجم نمی‌توانند به درون سد غشاء سلولی نفوذ کرده و برای فعالیت ضد میکروبی از پیش تعیین شده، به محل اثر برسند (۲۵). به عنوان مثال لوپز و همکاران در سال ۲۰۰۹ میلادی اعلام نمودند که خاصیت ضدمیکروبی دندریمر پلی-آمیدوامین نسل سوم در مقایسه با دندریمر پلی‌آمیدوامین نسل پنجم بسیار بیشتر است (۱۶). بنابراین با توجه به خواص ضدمیکروبی دندریمرها، هدف این مطالعه ارزیابی خواص ضدمیکروبی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل ۴ با استفاده از روش انتشار دیسک، حداقل غلظت بازدارندگی رشد و حداقل غلظت کشندگی و مقایسه آن با آنتی بیوتیک های رایج است.

روش بررسی

نوع مطالعه، نمونه‌برداری و جداسازی باکتری‌ها از منابع آب آشامیدنی:

این پژوهش یک مطالعه مداخله‌ای- آزمایشگاهی است که طی آن تاثیر دندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۴ بر روی باکتری های بومی جدا شده از منابع آبی و مقایسه آن با آنتی بیوتیک های رایج، مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تهیه باکتری‌های مورد نظر برای مطالعه، نمونه‌برداری از منابع آبی مختلف انجام شد. بدین منظور ۵۲۳ نمونه از ۱۰۸ منبع آب واقع در روستاهای استان قم از ابتدای اردیبهشت لغایت پایان شهریور سال ۱۳۹۳ برداشت شد. نمونه‌برداری طبق روش استاندارد با استفاده از ظروف شیشه‌ای درب‌دار استریل همراه با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول تیوسولفات سدیم ۱۰ درصد به منظور حذف کلر باقیمانده انجام گرفت (۳). نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سیلیسیوس برای انجام آزمایش‌های بعدی به آزمایشگاه منتقل شدند. بر روی تمام نمونه‌ها به روش فیلتر غشایی آزمون میکروبی انجام شد. از پرگنه‌های رشد کرده کشت خالص تهیه شد و باکتری‌های جدا شده با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی (مانند کاتالاز، اکسیداز، کوآگولاز، لیستیناز، سیترات، تخمیر مانیتول و تولید اسید، تخمیر گلوکز، سوکروز و گالاکتوز، احیا نیترات، اوره‌آز، هیدرولیز اسکولین، تولید ایندول) شناسایی شدند (۳).

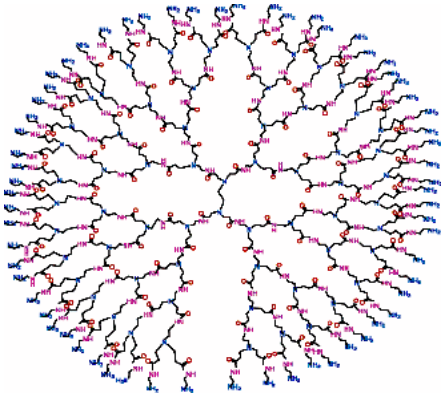
آماده سازی ماده ضدمیکروبی و باکتری‌های هدف:

ماده ضد میکروبی مورد استفاده، گونه‌ای دندریمر نسل ۴ به نام پلی‌آمیدوآمین (PAMAM) است. دندریمر به روش دایورژن و با تکرار تصاعدی گروه‌های آمینی همراه با متیل آکریلات سنتز شد. سپس واکنش با استری شدن گروه‌های آمین و الکل ادامه یافت و در نهایت بعد از دو تکرار به گروه‌های آمین منتهی شد. در انتها محصول خام برای تخلیص و حذف محصولات جانبی غیر ضروری به یک کیسه دیالیز (MWCO5000) (Sigma-Aldrich, France) حاوی آب مقطر برای ۴۸ ساعت منتقل شد (جدول ۱ و شکل ۱)(۲۶).

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

جدول ۱- ویژگی‌های دندریمر پلی آمیدوآمین G4

دندریمر	فرمول مولکولی	چگالی (g/cm^3)	وزن مولکولی (g/mol)	تعداد کل گروه‌های آمینی	تعداد گروه‌های آمینی انتهایی
پلی آمیدو آمین G4	$C_{622}H_{1248}N_{250}O_{124}$	۰/۹۸	۱۴۲۱۵	۲۵۰	۶۴



شکل ۱: ساختار شیمیایی دندریمر پلی آمیدوآمین نسل ۴

تمام باکتری‌ها قبل از استفاده، در شرایط هوازی و در محیط کشت نوترینت براث برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرماگذاری شدند. غلظت بهینه باکتری‌ها برای انجام آزمایش‌های بعدی، مطابق استاندارد ۰/۵ مک فارلند تهیه شد.

آنتی‌بیوگرام با استفاده از دیسک‌های آنتی‌بیوتیک تجاری:

به منظور سنجش مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، از دیسک‌های آنتی‌بیوگرام رایج شامل اریترومایسن، آموکسی‌سیلین، سیپروفلوکساسین و تتراسایکلین استفاده شد. کلیه دیسک‌ها از شرکت پادتن طب خریداری شد. از جدایه‌های مختلف رقت معادل ۰/۵ مک‌فارلند تهیه و سپس با استفاده از سوآب استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. دیسک‌ها با استفاده از پنس استریل روی محیط کشت قرار داده شدند. کلیه محیط‌های کشت به مدت یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سیلیسیوس گرماگذاری شدند.

سنجش فعالیت ماده ضدمیکروبی:

به منظور سنجش فعالیت آنتی باکتریایی دندریمر مورد آزمایش، رقت‌های متوالی µg/ml ۵۰۰، ۵۰، ۵، ۵/. و ۰/۰۵ از ماده ضدمیکروبی در آب مقطر استریل تهیه شد. برای ارزیابی سمیت دندریمر در برابر باکتری‌های هدف، از روش‌های تعیین هاله عدم رشد، تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و تعیین حداقل غلظت کشندگی استفاده شد.

تعیین هاله عدم رشد:

این آزمایش به روش انتشار دیسک انجام شد. در این روش ۲۵ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف ماده آنتی‌باکتریال به بلانک دیسک‌های استاندارد به قطر ۰/۶ میلی‌متر اضافه شد. دیسک‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سیلیسیوس خشک شدند. از جدایه‌های مختلف رقت معادل ۰/۵ مک-فارلند تهیه و سپس با استفاده از سوآب استریل بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. دیسک‌ها با استفاده از پنس استریل روی محیط کشت قرار داده شدند. کلیه محیط‌های کشت به مدت یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سیلسیوس گرماگذاری شدند.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی:
حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی با استفاده از روش پیشنهاد شده توسط کمیته ملی برای استانداردهای آزمایشگاه تشخیص طبی (NCCLS) همراه با کمی تغییرات اندازه‌گیری شد (۲۷). در این روش، لوله‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محیط نوترینت براث که حاوی 10^8 cfu سلول باکتری و رقت‌های صفر (کنترل مثبت)، ۵۰۰، ۵۰، ۵، ۰,۵ و ۰,۰۵ µg/ml از دندریمر بودند آماده و برای یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سیلیسیوس گرماگذاری شدند. لوله‌ای با کمترین غلظت از ماده ضدمیکروبی که رشد سلول باکتری در آن دیده نشد، به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی گزارش شد. برای ارزیابی حداقل غلظت کشندگی، با استفاده از فیلدوپلاتین، یک لوپ از هر کدام از لوله‌هایی که رشد در آنها دیده نشد، به پلیت‌های حاوی نوترینت آگار منتقل شد. پلیت‌ها به مدت یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس گرماگذاری شدند. لوله‌ای با کمترین غلظت از ماده ضدمیکروبی که پس از انتقال به محیط نوترینت آگار، رشد باکتری در آن مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد. همه آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند.

تحلیل آماری داده ها:
به منظور تحلیل و مقایسه اثرات نه گروه ضد میکروبی شامل چهار آنتی بیوتیک رایج و پنج غلظت از دندریمر نسل چهار که هرکدام در آزمایشات مشابه بر روی یک دسته هفت تایی از باکتری های یکسان اثر داده شده اند، از روش آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. در این روش نوع آنتی بیوتیک، متغیر مستقل بوده که در این مطالعه شامل نه سطح است. همچنین هاله عدم رشد هر باکتری در محیط کشت به عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شد. از نرم افزار SPSS ورژن ۱۸ جهت نمایش آمار توصیفی گروه ها و از MINITAB ورژن ۱۶ و نوار ابزار ANOVA و قسمت آنالیز یکطرفه جهت مقایسه میانگین گروه ها استفاده شد. در نهایت از روش های Tukey نیز برای مقایسه گروه ها با مقدار p کمتر از ۰/۰۵ استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج مربوط به نوع و فراوانی باکتری‌های جدا شده در جدول ۲ ارایه شده است. از مجموع ۵۲۳ نمونه مورد آزمایش، ۴۸۴ نمونه فاقد آلودگی و ۳۹ نمونه واجد آلودگی کلیفرمی و سایر باکتری‌های هتروتروف بودند. گونه‌های جدا شده شامل اشریشیا کلی، کلبسیلا اکسی‌توکا، پروتئوس میرابیلیس، انتروباکتر آئروژنز، سودوموناس، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس بودند.

جدول ۲- درصد فراوانی گونه‌های جدا شده از منابع آبی مختلف

نام جدایه	*B.subtilis*	*S.aureus*	*Pseudomonas*	*Entrobacter*	*Proteus*	*Klebsiella*	*E.coli*
فرآوانی گونه‌ها	۲	۱	۷	۶	۵	۷	۱۱
درصد فرآوانی	۵/۱	۲/۵۶	۱۷/۹	۱۵/۳	۱۲/۸	۱۷/۹	۲۸/۲

نتایج مربوط به فعالیت‌های ضد میکروبی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل۴ بر اساس هاله عدم رشد به روش انتشار دیسک در جدول ۳ ذکر شده است. همانگونه که در جدول دیده می‌شود دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل چهارم بهترین پاسخ را در مواجهه با باکتری‌های گرم مثبت نشان می‌دهد و بر باکتری‌های گرم منفی تاثیر چندانی ندارد که این وضعیت از لحاظ کیفی نیز در شکل ۲ نمایش داده شده است.

جدول ۳- میانگین قطر هاله عدم رشد در روش انتشار دیسک در برابر غلظت‌های مختلف دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل ۴

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

غلظت دندریمر (µg/ml)	هاله عدم رشد (میلیمتر)						
	E. coli	*E. aerogenes*	*K. oxytoca*	*P. mirabilis*	*P. aeruginosa*	*S. aureus*	*B. subtilis*
۵۰۰	۱۷	۰	۲۱	۱۸	۰	۳۵	۲۵
۵۰	۰	۰	۱۲	۹	۰	۲۲	۲۱
۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱۸	۱۷
۰,۵	۰	۰	۰	۰	۰	۱۱	۸
۰,۰۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

شکل ۲: تاثیر غلظت‌های مختلف دندریمر PAMAM-G4 بر تشکیل هاله عدم رشد در باکتری‌های گرم مثبت

جدول ۴ نتایج حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل ۴ را بر روی باکتری‌های مورد مطالعه نمایش می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌شود حداقل غلظت دندریمر که مانع رشد باکتری‌ها می‌شود برای باکتری‌های گرم منفی بسیار بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت است.

جدول ۴- حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل ۴

	E. coli	*E. aerogenes*	*K. oxytoca*	*P. mirabilis*	*P. aeruginosa*	*S. aureus*	*B. subtilis*
MIC (µg/ml)	۱۲۵۰	–	۵۰۰	۱۲۵۰	–	۱	۲,۵
MBC (µg/ml)	۲۵۰۰	–	۱۲۵۰	۲۵۰۰	–	۵	۵

نتایج مربوط به فعالیت ضد میکروبی آنتی‌بیوتیک‌های آموکسی‌سیلین (AMX)، تتراسایکلین (Te)، اریترومایسین (E) و سیپروفلوکساسین (Cp) بر روی جدایه‌ها بر اساس هاله عدم رشد به روش انتشار دیسک در جدول ۵ نشان داده شده است. همانگونه که در جدول دیده می‌شود باکتری *E.coli* فقط به آنتی‌بیوتیک Cp حساس بوده و نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است. باکتری‌های *E.aerogenes*، *K.oxytoca*، *P.aeruginosa* نسبت به Cp حساس به Te متوسط و به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است. واکنش باکتری *P.mirabilis* نسبت به Cp متوسط و به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است. باکتری *S.aureus* نسبت به Cp و AMX حساس، به E متوسط و به Te مقاوم است و باکتری *B.subtilis* نسبت به کل آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده حساس است.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

جدول ۵: میانگین قطر هاله عدم رشد در روش انتشار دیسک در برابر آنتی‌بیوتیک‌های Cp, E, Te, AMX

آنتی بیوگرام	هاله عدم رشد (میلیمتر)						
	E. coli	*E. aerogenes*	*K.oxytoca*	*P.mirabilis*	*P.aeruginosa*	*S.aureus*	*B.subtilis*
آموکسی‌سیلین	۰	۰	۰	۰	۰	۲۱	۲۵
تتراسایکلین	۰	۱۵	۱۵	۰	۱۲	۱۲	۲۰
اریترومایسین	۰	۰	۰	۰	۰	۱۶	۱۸
سیپروفلوکساسین	۲۹	۲۶	۲۵	۱۲	۳۰	۱۸	۲۵

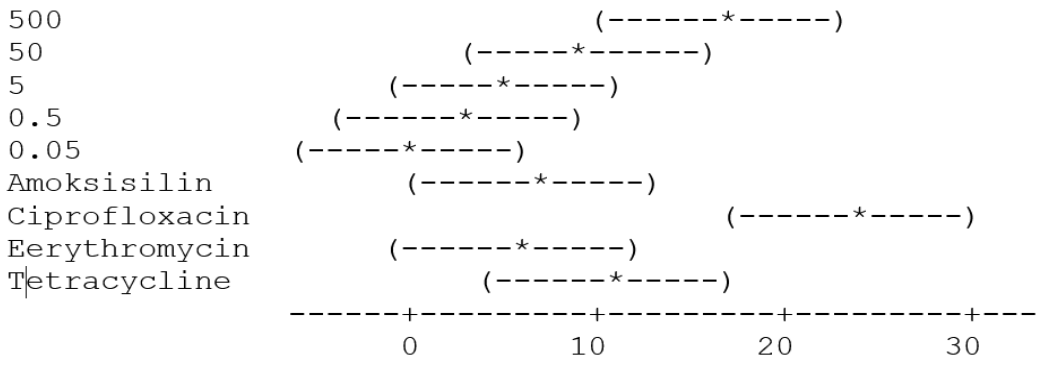
نتایج مقایسه آماری هاله عدم رشد در غلظت های مختلف دندریمر و آنتی بیوتیک های رایج:

نتایج مربوط به آمار تحلیلی گروه ها در جدول ۶ ارایه شده است. نتایج آزمون آنالیز واریانس یک طرفه در سطح معناداری ۰/۰۵ با F= ۵/۲۳ و p =۰/۰۰۰ نشان از وجود اختلاف معنادار در گروه های مورد مطالعه داشت که به صورت شماتیک در شکل ۳ نمایش داده شده است. در این شکل ستاره مشخص کننده میانگین هر گروه و دنباله های آن انحراف استاندارد پیش بینی شده توسط آنالیز ANOVA برای گروه ها است. همانطور که از نتایج بالا دیده میشود میانگین کارایی دندریمرها با غلظت های مختلف و آنتی بیوتیک های مختلف همپوشانی بالایی دارند که نشان از توانایی آنتی باکتریالی دندریمرها دارد. ضمنا از آزمون Tukey نیز جهت بررسی ارتباط بین گروه ها استفاده شد و نتایج آن ها در قالب جدول ۷ نمایش داده شده است. در این جدول، اختلاف معناداری در سطح معناداری ۰/۰۵ مابین آنتی بیوتیک هایی که حروف مشترک کسب کرده اند وجود ندارد.

جدول ۶: آمار توصیفی گروه های مورد مطالعه

گروه	تعداد آزمایشات گروه	انحراف معیار گروه	میانگین گروه
آموکسی‌سیلین	۷	۱۱/۲۸۲۱۰	۶/۵۷۱۴
تتراسایکلین	۷	۷/۶۹۹۷۲	۱۰/۵۷۱۴
اریترومایسین	۷	۸/۳۱۵۲۲	۴/۸۵۷۱
سیپروفلوکساسین	۷	۶/۳۹۹۴۰	۲۳/۵۷۱۴
دندریمر با غلظت ۵۰۰ میلیگرم بر لیتر	۷	۱۲/۷۹۱۳۷	۱۶/۵۷۱۴
دندریمر با غلظت ۵۰ میلیگرم بر لیتر	۷	۹/۷۰۲۷۲	۹/۱۴۲۹
دندریمر با غلظت ۵ میلیگرم بر لیتر	۷	۸/۵۴۴۰۰	۵/۰۰۰۰
دندریمر با غلظت ۰,۵ میلیگرم بر لیتر	۷	۴/۷۱۵۷۳	۲/۷۱۴۳
دندریمر با غلظت ۰,۰۵ میلیگرم بر لیتر	۷	۰/۰۰۰۰۰	۰/۰۰۰۰

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]



شکل ۳: شماتیک نتایج آنالیز واریانس در گروه های مختلف آنتی بیوتیک و غلظت های مختلف از دندریمر

جدول ۷: اطلاعات دسته بندی بر اساس روش Tukey (در سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵)

گروه	میانگین گروه ها	گروه بندی		
سیپروفلوکساسین	۲۳/۵۷	A		
دندریمر با غلظت ۵۰۰ میلیگرم بر لیتر	۱۶/۵۷	A	B	
تتراسایکلین	۱۰/۵۷	A	B	C
دندریمر با غلظت ۵۰ میلیگرم بر لیتر	۹/۱۴	A	B	C
آموکسی‌سیلین	۶/۵۷		B	C
دندریمر با غلظت ۵ میلیگرم بر لیتر	۵/۰۰		B	C
اریترومایسین	۴/۸۶		B	C
دندریمر با غلظت ۰/۵ میلیگرم بر لیتر	۲/۷۱		B	C
دندریمر با غلظت ۰/۰۵ میلیگرم بر لیتر	۰			C

بحث

همانطوریکه بیان شد از مجموع ۵۲۳ نمونه مورد آزمایش، ۴۸۴ نمونه معادل ۹۲٫۵ درصد از نمونه‌ها فاقد آلودگی و ۳۹ نمونه دیگر معادل ۷/۴ درصد از نمونه‌ها واجد آلودگی باکتریایی بودند. همچنین در آزمون کلیفرم گرماپای، تنها ۱۱ نمونه معادل ۲۸/۲٪ کل نمونه‌ها به این آزمون پاسخ مثبت دادند و سایر نمونه‌ها فاقد آلودگی با باکتری‌های گروه کلیفرم گرماپای بودند. بای و همکاران نیز در مطالعه کیفیت میکروبی آب شرب گرگان نتایج تقریبا مشابهی را بدست آوردند. بطوریکه از تعداد ۵۹۸ نمونه مورد بررسی ۹۲/۲ درصد فاقد آلودگی، ۷/۸ درصد واجد آلودگی کلیفرمی و ۲/۷ درصد واجد کلیفرم گرماپای بودند (۲۸). فراوانی باکتری اشریشیاکلی در بین جدایه‌ها با توجه به منشاء روده‌ای آن، نشانه وسعت پراکندگی این باکتری در محیط می‌باشد. همچنین سایر باکتری‌ها از خانواده انتروباکتریاسه که به طور طبیعی ساکن روده انسان و حیوانات می‌باشند و همچنین باسیلوس سوبتیلیس که به فراوانی در خاک وجود دارد و سایر باکتری‌های هتروتروف ساپروفیت در بین جدایه‌ها نشان دهنده احتمال آلودگی آب به منابع مختلف می‌باشد.

نتایج به وضوح نشان می‌دهد که با افزایش غلظت ماده ضدمیکروبی، هاله بزرگتری در اطراف دیسک‌ها ایجاد می‌شود. این وضعیت نشان‌دهنده قدرت ماده ضدمیکروبی در غلظت‌های بالاتر است . ضمنا با توجه به نتایج حاصل تفاوت در اندازه هاله‌های عدم رشد در مواجهه غلظت‌های مختلف ماده ضدمیکروبی برای باکتری‌های مورد بررسی نیز

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

دیده می‌شود. نتایج حداقل غلظت دندریمر که مانع رشد باکتری‌ها و همچنین باعث کشته شدن باکتری‌ها میگردد حاکی از آن است که دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل۴ واجد خاصیت ضدمیکروبی بوده و قادر است به عنوان ماده ضدمیکروبی به کار گرفته شود (۲۶). تحقیقات پیشین نشان داده است که عموما تخریب باکتریها به وسیله مواد ضد باکتری بر اثر یکی از روش‌های تخریب غشای سیتوپلاسمی باکتری، تغییر شکل فضایی، تخریب آنزیم‌های باکتری، آسیب به کروموزوم و تخریب دیواره سلولی باکتری انجام می‌شود (۲۹). مشخص شده است که دندریمرها از طریق تخریب دیواره سلولی باکتری منجر به مرگ سلولی می‌شوند (۳۰). این نتیجه را می‌توان به حضور گروه‌های آمین انتهایی موجود در ساختار دندریمر نسبت داد که در واکنش با بار منفی غشاء سطحی میکرواورگانیسم‌ها، منجر به آسیب دیواره سلولی باکتری شده و بدین ترتیب از فعالیت آن جلوگیری می‌نماید (۲۱). نئو عنوان نمود فعالیت ضدمیکروبی دندریمرها به دلیل توانایی آنها در افزایش نفوذ پذیری غشاء باکتری‌ها بوده که در نهایت غلظت‌های بالاتر دندریمر منجر به تجزیه کامل غشاء باکتری و مرگ آن می‌شود. ضمنا اتصال دندریمر و سلول باکتری از طریق پیوندهای الکترواستاتیک ناشی از شارژ منفی سطح باکتری و شارژ مثبت دندریمر صورت می‌گیرد (۳۱). همانگونه که نتایج نشان می‌دهند، دندریمر پلی‌آمیدوآمین نسل۴ به عنوان یک عامل ضد باکتری در برابر باکتری‌های گرم مثبت کارآمدتر است. تفاوت اصلی باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی در دیواره سلولی و مقدار ماده سازنده غشاء پپتیدوگلیکان آنها است به گونه‌ای که لایه پپتیدوگلیکان در باکتری‌های گرم مثبت چند برابر ضخیم‌تر از باکتری‌های گرم منفی است . در مطالعه‌ای که توسط سلاهاتین و همکاران انجام شد حساسیت بالاتر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی گزارش شد و دلیل آن را به تفاوت در ساختمان دیواره سلولی، فیزیولوژی و متابولیسم سلول نسبت دادند (۳۲). همانگونه که نتایج مربوط به تاثیر چهار نمونه از آنتی‌بیوتیک‌های رایج بر جدایه‌ها نشان می‌دهد ، آنتی‌بیوتیک‌های نمونه نیز بیشترین تاثیر را بر باکتری‌های گرم مثبت دارند. البته با تنوع چشمگیری که در این صنعت وجود دارد، فرآوانی آنتی‌بیوتیک‌های موثر بر باکتری‌های گرم منفی نیز قابل توجه است. نکته قابل ذکر در این مطالعه هزینه اثر بخشی مقرون به صرفه دندریمرها، عدم القاء مقاومت و یا مقاومت ارگانیسم‌ها نسبت به آنها و حداقل عوارض جانبی دندریمرها در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها است که آنها را از آنتی‌بیوتیک‌ها متمایز می‌نماید (۳۵-۳۳).

در نهایت تحلیل آماری داده ها نشان میدهد که دندریمر با غلظت های مطالعه شده کارایی بالای آنتی باکتریالی مشابه آنچه در آنتی بیوتیک های رایج مشاهده میشود، از خود نشان میدهد. به طوریکه دندریمر با غلظت های ۵۰۰ و ۵۰ توانسته است با آنتی بیوتیک هایی مانند تتراسایکلین و سیپروفلوکساسین در یک گروه قرار بگیرند که قدرت ضد باکتریالی آنها را نشان میدهد. همچنین گروه های دیگری نیز وجود دارند که تایید کننده قدرت آنتی باکتریالی غلظت های پایینتر از دندریمر میباشد. این نتایج میتواند امیدواری بالایی جهت کاربرد چنین دندریمرهایی را به عنوان جایگزین روش های رایج در کنترل آلودگی های میکروبی در آب و فاضلاب که دارای معایب تایید شده هستند را ایجاد کند، هر چند که مطالعات کمی تر و با حجم داده های بیشتر میتواند جهت تایید این مدعا بسیار سودمند باشد.

نتیجه گیری

دندریمرها گونه‌ای از مواد نانوساختار هستند که به دلیل شباهت ساختاری خود با انواع ماکرومولکول‌های حیاتی مانند پروتئین‌ها، می‌توانند به عنوان مواد ضد میکروبی ایمن و موثر مطرح شوند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که دندریمر پلی آمیدو آمین نسل چهار به گونه‌ای موثر قادر

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

به مقابله با برخی گونه‌های میکروبی است. لذا توسعه پژوهش‌ها بر روی نسل‌های مختلف این گونه از دندریمر همراه با گروه‌های عاملی مختلف می‌تواند ایده مناسبی در دستیابی به مواد آنتی باکتریال جدید همراه با اثر بخشی بیشتر و عوارض جانبی کمتر باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله مستخرج از بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی به شماره ۹۱/۶۸ مصوب مرکز تحقیقات بهداشت محیط کردستان و معاونت پژوهش و فناوری است که با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی کردستان انجام شده است. لذا نویسندگان این مقاله از حامیان مالی طرح و همکاران اجرایی تشکر می‌نمایند.

Reference

1.Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, Finlay BB. Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. Clinical Microbiology Reviews 2013;26:822-80.

2.BLACK RE. Persistent diarrhea in children of developing countries .The Pediatric infectious disease journal. 1993;12:751-61.

3.Federation WE, Association APH. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association (APHA): Washington, DC, USA. 2005.

4.Furushita M, Shiba T, Maeda T, Yahata M, Kaneoka A, Takahashi Y, et al. Similarity of tetracycline resistance genes isolated from fish farm bacteria to those from clinical isolates. Applied and Environmental Microbiology 2003;69:5336-42.

5.Toroglu S, Dincer S, Korkmaz H. Antibiotic resistance in Gram negative bacteria isolated from Aksu River in (Kahramanmaras) Turkey. Annals of Microbiology 2005;55:229.

6.Baquero F, Martínez J-L, Cantón R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. Current Opinion in Biotechnology 2008;19:260-265.

7.Woodford N, Livermore DM. Infections caused by Gram-positive bacteria: a review of the global challenge. Journal of Infection 2009;59:S4-S16.

8.Gootz TD. The global problem of antibiotic resistance. Critical Reviews™ in Immunology. 2010;30: 79-93

9.Reinthaler F, Posch J, Feierl G, Wüst G, Haas D, Ruckenbauer G, et al. Antibiotic resistance of E. coli in sewage and sludge. Water Research 2003;37:1685-90.

10.de Brabander-van den Berg E, Meijer E. Poly (propylene imine) dendrimers: large-scale synthesis by hetereogeneously catalyzed hydrogenations. Angewandte Chemie International Edition in English. 1993;32:1308-11.

11.Baars MW, Meijer E. Host-guest chemistry of dendritic molecules. Dendrimers Ii: Springer; 2000. p. 131-82.

12.Moritz M, Geszke-Moritz M. The newest achievements in synthesis, immobilization and practical applications of antibacterial nanoparticles. Chemical Engineering Journal 2013;228:596-613.

13.Caminade A-M, Turrin C-O. Dendrimers for drug delivery. Journal of Materials Chemistry B 2014;2:4055-66.

14.Salimpour Abkenar S, Malek RMA, Taher S. Effect of poly (propylene imine) dendrimer nano structure on antimicrobial property of cotton fabric. Pejouhesh 2012;36:11-8.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

15.Calabretta MK, Kumar A, McDermott AM, Cai C. Antibacterial activities of poly (amidoamine) dendrimers terminated with amino and poly (ethylene glycol) groups. Biomacromolecules 2007;8:1807-11.
16.Lopez AI, Reins RY, McDermott AM, Trautner BW, Cai C. Antibacterial activity and cytotoxicity of PEGylated poly (amidoamine) dendrimers. Molecular BioSystems. 2009;5:1148-56.
17.Ghosh M. Synthetic macromolecules as potential chemotherapeutic agents. Polym News 1988;13:71-7.
18.Kourai H, Horie T, Takeichi K, Shibasaki I. The antimicrobial characteristics of quaternary ammonium salts and their alkyl chain length. J Antibact Antifung Agents 1980;8:9-17.
19.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;1:473-80.
20.Jebelli MA, Kalantar E, Maleki A, Izanloo H, Gharibi F, Daraei H, et al. Antimicrobial activities of the polypropylene imine dendrimer aginst bacteria isolated from rural water resources. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products 2015;10:11-17
21.Wang B, Navath RS, Menjoge AR, Balakrishnan B, Bellair R, Dai H, et al. Inhibition of bacterial growth and intramniotic infection in a guinea pig model of chorioamnionitis using PAMAM dendrimers. International Journal of Pharmaceutics 2010;395:298-308.
22.Meyers SR, Juhn FS, Griset AP, Luman NR, Grinstaff MW. Anionic amphiphilic dendrimers as antibacterial agents. Journal of the American Chemical Society. 2008;130:14444-5.
23.Ma M, Cheng Y, Xu Z, Xu P, Qu H, Fang Y, et al. Evaluation of polyamidoamine (PAMAM) dendrimers as drug carriers of anti-bacterial drugs using sulfamethoxazole (SMZ) as a model drug. European Journal of Medicinal Chemistry 2007;42:93-8.
24.Cheng Y, Qu H, Ma M, Xu Z, Xu P, Fang Y, et al. Polyamidoamine (PAMAM) dendrimers as biocompatible carriers of quinolone antimicrobials: an in vitro study. European Journal of Medicinal Chemistry 2007;42:1032-8.
25.Chen CZ, Cooper SL. Recent advances in antimicrobial dendrimers. Advanced Materials 2000;12:843-6.
26.Maleki A, Jebelli MA, Hayati B, Daraei H, Gharibi F. Antimicrobial effect of Poly (amidoamine)-G2 and G4 dendrimers on some bacteria in water resources. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences (JMUMS) 2015;25:56-68
27.Jorgensen JH, Hindler JF, Reller LB, Weinstein MP. New consensus guidelines from the Clinical and Laboratory Standards Institute for antimicrobial susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. Clinical infectious diseases. 2007;44:280-6.
28.Bay A, Poorshamsian K, Karimi K, Hashemi M, Maghsodlo B. Determination of bacteriological and physiochemical parameters of drinking water of Gorgan city, Iran (2010). Medical Laboratory Journal 2011;5:13-7.
29.Hebeish A, Hashem M, Abdel-Rahman A, El-Hilw Z. Improving easy care nonformaldehyde finishing performance using polycarboxylic acids via precationization of cotton fabric. Journal of Applied Polymer Science 2006;100:2697-704.
30.Good L. Antisense antibacterials. Expert Opinion on Therapeutic Patents. 2002;12:1173-9.
31.Neu HC. The crisis in antibiotic resistance. Science 1992;257:1064-73.
32.Selahattin A, Kadri G, Ramazan C. Effect of zinc on microbial growth. Tr J Med Sciences 1998;28:595-7.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]

33.Pankhurst Q, Thanh N, Jones S, Dobson J. Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. Journal of Physics D: Applied Physics 2009;42:68-75.
34.Cohen H, Levy R, Gao J, Fishbein I, Kousaev V, Sosnowski S, et al. Sustained delivery and expression of DNA encapsulated in polymeric nanoparticles. Gene Therapy 2000;7:1896-905
35.Tian J, Wong KK, Ho CM, Lok CN, Yu WY, Che CM, et al. Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. Chem Med Chem 2007;2:129-36.

[Downloaded from sjku.muk.ac.ir on 2026-11-12]