

ارزیابی مقایسه ای اثر مواد ضد عفونی کننده تغییر یافته روی سلولهای یوکاریوتی

جلبکی و کپکی

مریم صدرنیا¹، محمد ارجمندزادگان²، ریما ژلداکوا³

1. استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران.

2. دانشیار، مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران (مؤلف مسوول)، تلفن ثابت: 086-34173505

arjomandzadegan@arakmu.ac.ir

3. استاد گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دولتی بلاروس، مینسک، بلاروس.

چکیده

زمینه و هدف: ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی می توانند جهت کنترل رشد فارچها در بیمارستانها و جلبکها در استخرها مورد استفاده قرار گیرند. هدف تحقیق انجام شده بررسی اثر ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی تولید شده بر جلبک ها و فارچها می باشد. **روش بررسی:** طی این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی، هشت نوع نمک آمونیوم چهار ظرفیتی با تفاوت در گروههای قرار گرفته در جایگاههای R1 و R2 سنتز شدند. این مواد از ترکیبات ۴،۴- آمینومتیل بی فنیل تولید شده و از نظر گروههای قرار گرفته در بخش بی فنیل و گروه آمینی با هم تفاوت دارند. جهت بررسی اثر این مواد روی کپکها، کشت آنها در محیط پوتیتود کستروز آگار محتوی ترکیبات تولیدی و نیستاتین به روش مدالیون انجام شده و قطر هاله کپک در کشتهای تست با شاهد مقایسه شد. اثر ترکیبات تولیدی بر جلبک کلورلا ولگاریس سویه 157 در محیط کشت جامد گلوکز نمکی در اتاق رشد در نور و دمای مناسب به مدت 3-5 روز بصورت هاله ممانعت از رشد جلبک مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: اثر ضد کپکی ترکیب 149 بر کپکهای مورد استفاده در تحقیق 100% بوده و مشابه اثر آنتی بیوتیک نیستاتین می باشد. این اثر برای ترکیبات 188 و 178 از 68% تا 100% بوده و برای مدت طولانی ادامه داشته و حتی پس از 7-3 روز در محیط کشت باقی بوده و رشدی مشاهده نشد. میزان افزایش اثر ممانعت کنندگی از رشد جلبکها توسط ماده 188 نسبت به مواد 149 و 178 با افزایش غلظت دارای شدت بیشتری بود. با افزایش 3 برابر غلظت ماده 188 میزان هاله ممانعت از رشد به 2/1 برابر ولی در مورد مواد 149 و 178 اندازه هاله، 1/45 و 1/38 برابر افزایش یافت.

نتیجه گیری: ترکیبات تولیدی بر سلولهای یوکاریوتیک اثر کنترلی داشته و دارای اثرات ضد کپکی و ضد جلبکی مشابه می باشند. با افزایش اثر ضد کپکی، اثرات ضد جلبکی این مواد نیز افزایش می یابد. استفاده از این مواد در صنعت توصیه می شود.

کلید واژه ها: ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی، اثر ضد میکروبی، جلبک، کپک

وصول مقاله: 94/7/11 اصلاحیه نهایی: 94/11/25 پذیرش: 94/11/25

مقدمه

کخ اولین دانشمندی بود که اثر مواد ضد عفونی کننده را بررسی نمود. بعد از آن مواد شیمیایی متفاوتی از جمله الکل اتیلیک، ایزوپروپیل الکل، تنتورید، ترکیبات کلردار مثل هیپوکلریت سدیم، مشتقات فنل مثل هگزا کلروفن، کلر هگزیدین و ترکیبات آلدهیدی مثل فرمالدهید و گلو تار آلدهید به عنوان مواد ضد عفونی کننده معرفی شدند (1). ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی که تحت عنوان (1) Quaternary Ammonium Compounds (QAC) شناخته می شوند و یک گروه از ترکیبات شیمیایی ضد عفونی کننده را تشکیل می دهند. این ترکیبات از سال 1978 از لیست ضد عفونی کننده حذف شدند ولی از سال 1990 نسل جدید این ترکیبات تولید و ارایه شدند. این ترکیبات دارای اثر باکتری کشی، ویروس کشی و قارچ کشی بوده اما توانایی از بین بردن اسپور باکتری ها را ندارند (2 و 3). ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم به دلیل ضعف در نابودسازی همه ی میکروبهای بیمارزاه، از سال 1978 جزء مواد گندزدا محسوب نشدند. ترکیبات جدید این خانواده در دهه 90 تولید شده و به عنوان مواد گندزدایی کننده قوی برای نابودسازی سویه های مختلف میکروبی مورد استفاده قرار گرفتند. پس از آن انواع پیشرفته تری از جمله هیدروژل های با پایه پلی وینیل الکل محتوی ترکیبات کاتیونی چهار ظرفیتی ساخته شدند که کارایی بسیار بیشتر داشته و باعث شکست مقاومت میکروبی می شوند (4). ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی جدید برای گندزدایی کردن سطوح و تجهیزات استفاده می شوند. این ترکیبات طی 1 الی 2 دقیقه باسیل سل را نابود کرده و همچنین اثر بالایی روی عوامل ویروسی دارند. منتهی مقاومت میکروبی نسبت به این ترکیبات در حال توسعه و گسترش است (5).

در مدارک منتشر شده از سوی مجمع علمی کمیسیون اروپا (European Commission: Scientific Committe) در سال 2002 ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی ترکیبات مناسبی برای شستشوی سطوح،

دیوارها، کابینت ها و سقف بیمارستانها و مراکز بهداشتی شناخته شده، اما پیشنهاد شده که برای گندزدایی کردن وسایل و تجهیزات پزشکی مورد استفاده قرار نگیرند. در بررسیهای Rutala و همکاران عنوان شده که این ترکیبات دارای اثر مایکوباکترسیدال می باشند (6).

بعنوان مثال بر اساس تحقیقات ایمانی فولادی در 1387، ماده گندزدای میکرو 10 که پایه ترکیبی آن دی متیل آمونیوم کلراید (یک ترکیب آمونیوم چهار ظرفیتی) می باشد، ضد عفونی کننده خوبی ارزیابی شده است زیرا در زمان پیشنهادی شرکت سازنده بر باکتریهای گرم مثبت و منفی در دو کدورت 0/5 و 1 مک فارلند موثر می باشد. میکرو 10 با پایه ترکیبات آمونیوم کلراید چهار ظرفیتی با تاثیر بر غشاء سلولی، غیر فعال کردن آنزیمها و تقلیب پروتئینهای موجود در ساختار باکتریها باعث مرگ طیف وسیعی از آنها می گردد (7). علاوه بر این صبوری و همکاران طی تحقیقی از اثر Micro 10+ و Deconex53plus که حاوی ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی هستند نتایج مطلوبی روی قارچها اخذ کردند (8).

با افزایش روزافزون استفاده از مواد گندزدا و تنوع زیاد این مواد، نیاز به تحقیق روی اثربخشی آنها بر قارچ ها بیش از پیش احساس می گردد. شناسایی و ارزیابی میکروبی گندزداها با هدف استفاده بهینه از آنها، در محیط بیمارستان، گام مؤثری در ارائه خدمات بهداشتی مناسب و کاهش عفونت های بیمارستانی خواهد بود (9). یکی از عوامل عفونتهای بیمارستانی، قارچ ها می باشند. محیط بیمارستان و فلور بدن بیماران، پرسنل و وسایل آلوده، از منابع اصلی عفونت های قارچی بیمارستانی محسوب می گردند. مخمر کاندیدا و کپک آسپرژیلوس، عامل بیش از 95 درصد از عفونت های قارچی بیمارستانی می باشند. آسپرژیلوزیس، در بخشهای ICU، پیوند اعضا و سرطان شیوع دارد.

برای کنترل عفونت های قارچی در بیمارستانها، به ویژه در بخش جراحی از مواد ضد عفونی کننده استفاده می شود. با

هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر ترکیبات چهارظرفیتی آمونیوم جدید روی جلبک کلورلا و مقایسه آن با اثر ضد کپکی این مواد بود.

روش بررسی

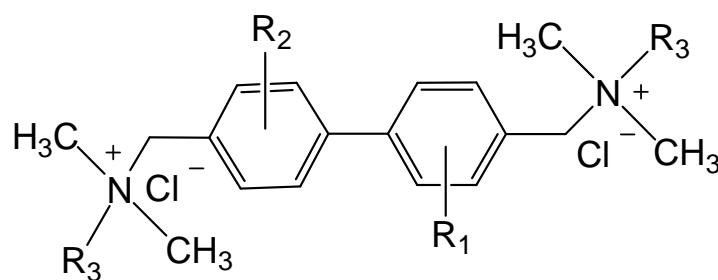
ترکیبات ضد میکروبی مورد استفاده

برای انجام این تحقیق تجربی - آزمایشگاهی، از 8 ترکیب جدید نمکی آمونیوم چهار ظرفیتی استفاده شد. این مواد از ترکیبات ۴،۴- آمینومتیل بی فنیل که از نظر گروههای قرار گرفته در بخش بی فنیل و گروه آمینی با هم تفاوت دارند تولید شدند.

همه ترکیبات مورد استفاده به شکل پودر و دارای رنگ سفید، زرد و یا کرمی بوده و در درجه حرارت 4 تا 37 درجه سانتی گراد بدون هیچ تغییری باقی می ماند. این ترکیبات تا غلظت 10mg/ml به خوبی در آب حل شده و به همین علت ترکیبات هیدروفیلی محسوب می شوند. این مواد از نظر گروههای قرار گرفته در جایگاههای R1 و R2 با هم تفاوت دارند (جدول 1). ساختار کلی این ترکیبات در شکل 1 ارائه است.

استفاده همیشگی از مواد ضد عفونی کننده، مقاومت میکروبیهای بیماری زا به ویژه قارچ ها رو به افزایش گذاشته است. ترکیبات آمونیوم چهارتایی از جمله اصلی ترین مواد گندزدای رایج مورد استفاده در بیمارستانها محسوب می شوند. هدف از کاربرد این مواد، از بین بردن میکروارگانیسم های فرصت طلب و پیشگیری از بروز عفونت می باشد (10). جلبکها مشکل اصلی استخرهای روباز بوده که بر اثر وجود نور خورشید و PH بالا در آب رشد می کنند. استفاده از ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی جهت کنترل رشد جلبکها نیز پیشنهاد شده است. جهت کنترل رشد جلبکها از روشهای مختلفی از جمله تصفیه با ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم، کلر زنی شدید، استفاده از محلول سولفات مس و گاهی ترکیبی از روشهای فوق استفاده می شود (11). گزارشهایی از دستیابی به نتایج رضایت بخش هنگام استفاده از این ترکیبات ارائه شده است.

ترکیبات چهارظرفیتی آمونیوم دارای خاصیت گندزدائی تعریف شده ای بر اساس نوع بنیانهای مورد استفاده می باشند. در این تحقیق با تغییر بنیانها، ترکیبات جدیدی بدست آمده اند که پیش از این استفاده نگردیده اند.



شکل 1- ساختار کلی ترکیبات آمونیوم چهارظرفیتی

جدول 1- خصوصیات شیمیایی ترکیبات آمونوم چهار ظرفیتی مورد استفاده

| ترکیبات | وزن مولکولی | گروه قرار گرفته در جایگاه R ₁ | گروه قرار گرفته در جایگاه R ₂ | گروه قرار گرفته در جایگاه R ₃ |
|-----------------|-------------|--|--|--|
| A ₁₆ | 846/28 | H | H | C ₁₈ H ₃₇ |
| A ₁₇ | 429/42 | H | H | CH ₂ CH ₂ OH |
| 149 | 665/90 | OC ₆ H ₁₃ | H | C ₈ H ₁₇ |
| 150 | 946/43 | OC ₆ H ₁₃ | H | C ₁₈ H ₃₇ |
| 151 | 529/58 | OC ₆ H ₁₃ | H | CH ₂ CH ₂ OH |
| 188 | 601/72 | F | F | C ₈ H ₁₇ |
| 178 | 583/73 | F | H | C ₈ H ₁₇ |
| 179 | 447/41 | F | H | CH ₂ CH ₂ OH |

سویه های یوکاریوتی

در این مطالعه از سویه های کپکی:

Aspergillus niger *Alternaria alternata*
Botrytis cinerea *Fusarium oxysporum*
Mucor sp *Penicillium lividum*
Sclerotinia sclerotiorum
Trichoderma viridae

و نیز جلبک کلورلا ولگاریس سویه 157 استفاده شد. این سویه ها از کلکسیون میکروبی گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دولتی بلاروس، مینسک، بلاروس گرفته شدند.

تعیین اثر ترکیبات تولیدی روی جلبک

اثر ترکیبات تولیدی بر جلبک کلورلا ولگاریس سویه 157 مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، مقدار 3-4 میلی لیتر از سرم فیزیولوژی حاوی جلبک کلورلا به 300 میلی لیتر محیط کشت جامد گلوکز نمکی سرد شده تا دمای 45 درجه سانتی گراد اضافه گردید. سپس به هر پتری مقدار 5، 10 و 15 میکرولیتر از غلظت 50، 75، 100 و 150

میکروگرم/میلی لیتر ترکیبات آمونوم چهار ظرفیتی قطره گذاری شد. پتریها در اتاق رشد در نور و دمای مناسب به مدت 3-5 روز انکوبه شدند. در نهایت هاله ممانعت از رشد جلبک که در اطراف نقاط قطره گذاری شده توسط ترکیبات آمونوم چهار ظرفیتی تشکیل شده بود مورد اندازه گیری قرار گرفت.

تعیین اثر ترکیبات روی کپکها

اثر ممانعت کنندگی از رشد این ترکیبات بر روی تعدادی از کپکها مورد بررسی قرار گرفته و با اثر ضد کپکی آنتی بیوتیک نیستاتین مقایسه شد.

برای این کار، ابتدا ترکیبات آمونوم چهار ظرفیتی و آنتی بیوتیک نیستاتین با غلظت 100 میکروگرم بر میلی لیتر به طور جداگانه به روش پورپلیت به محیط کشت پوتیتودکستروز آگار افزوده شدند. سپس کشت کپکها در این محیط به روش مدالیون انجام شده و پلیتها در دمای 25 درجه سانتی گراد به مدت 24-96 ساعت انکوبه و پس

گندزدهای مورد مطالعه دارای اثر بازدارندگی بر رشد جلبک کلورلا ولگاریس سویه 157 بودند. وجود و مقادیر هاله ممانعت از رشد جلبک که در اطراف نقاط قطره گذاری شده توسط ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی تشکیل شده بود در جدول 2 ارائه شده اند.

همانطور که در جدول شماره 2 مشاهده می گردد، ترکیب شماره 178 در تمام غلظتها دارای بیشترین اثر ضدجلبکی می باشد. پس از ماده 178 ترکیب شماره 188 دارای اثر ضدجلبکی بیشتری نسبت به سایر مواد بوده و ترکیبات 149، 151، 179 و A₁₇ از نظر وجود و مقدار اثر ضدجلبکی به ترتیب در جایگاههای بعدی قرار گرفته اند. در حضور دو ترکیب A₁₆ و 150 هیچگونه هاله ممانعت از رشد جلبک مشاهده نشد و این بدان معنی است که این دو ماده فاقد اثر بازدارندگی بر رشد جلبک بوده اند.

از 24، 48، 72 و 96 ساعت قطر هاله کپک اندازه گیری شده و با کپک رشد نموده در کشت شاهد مقایسه شد.

کشت شاهد شامل محیط کشت پوتیتودکستروز آگار فاقد ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم و آنتی بیوتیک بود. هر تست 4 مرتبه تکرار شده و نتایج بر اساس مقایسه میانگین تکرارها ارائه گردیدند.

برای تعیین میزان کاهش رشد از فرمول زیر استفاده شد:

$$RF = D_K - D_0 / D_K * 100$$

RF = میزان کاهش رشد بر حسب درصد در مقایسه با

کشت شاهد

D_K = دیامتر رشد میسلیم کپک در کنترل

D₀ = دیامتر رشد میسلیم کپک در نمونه

یافته ها

اثر 8 ترکیب تولیدی بر روی جلبک کلورلا ولگاریس سویه 157 مورد بررسی قرار گرفت. 6 ترکیب از

جدول 2- اثر ترکیبات تولیدی بر جلبک کلورلا ولگاریس

وجود و اندازه زون ممانعت از رشد کلورلا ولگاریس در حضور غلظتهای مختلف ترکیبات تولیدی بر حسب میکروگرم بر میلی لیتر ترکیبات مورد استفاده

| ترکیبات مورد استفاده | 50 | 75 | 100 | 150 |
|----------------------|----|----|-----|-----|
| A ₁₆ | + | + | + | + |
| A ₁₇ | + | 6 | 10 | 13 |
| N ₁₄₉ | 11 | 12 | 14 | 16 |
| N ₁₅₀ | + | + | + | + |
| N ₁₅₁ | 10 | 11 | 12 | 15 |
| N ₁₇₈ | 21 | 25 | 27 | 29 |
| N ₁₇₉ | + | 8 | 12 | 15 |
| N ₁₈₈ | 11 | 17 | 18 | 23 |

- علامت «+» به معنی رشد کامل و عدم ممانعت از رشد است
- اعداد نشاندهنده اندازه هاله ممانعت از رشد می باشد

همانطور که در جدول شماره 3 مشاهده می گردد اثر ضد کپکی ترکیب 149 بر قارچهای مورد استفاده در تحقیق

اثر ممانعت کنندگی از رشد این ترکیبات بر روی کپکها در جدول 3 ارائه شده اند.

100% بوده و مشابه اثر آنتی بیوتیک نیستاتین می باشد. این اثر برای ترکیبات 188 و 178 از 68% تا 100% بوده است. ماده 150 دارای کمترین اثر بر کپکهای مورد مطالعه بوده و تنها بر 3 سویه از آنها موثر بود. این ترکیب حتی بر کپک *Sclerotinia sclerotiorum* که تحت تاثیر همه ی ترکیبات رشدش کاملاً متوقف شده است، بی تاثیر بود. اثر این ترکیبات برای مدت طولانی ادامه داشته و حتی پس از 7-3 روز این اثر در محیط کشت باقی بوده و رشدی مشاهده نشد.

جدول 3- اثر ضد کپکی ترکیبات تولیدی

| نیستاتین | در صد ممانعت از رشد کپکها توسط ترکیبات تولیدی | | | | | | | | سویه کپک |
|----------|---|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------------------------------|
| | A ₁₆ | A ₁₇ | 149 | 150 | 151 | 178 | 179 | 188 | |
| 100 | 10 | 33 | 100 | 0 | 38 | 100 | 7 | 100 | <i>Aspergillus niger</i> |
| 100 | 100 | 42 | 100 | 32 | 100 | 100 | 100 | 100 | <i>Alternaria alternata</i> |
| 100 | 20 | 86 | 100 | 0 | 78 | 91 | 71 | 92 | <i>Botritis cinerea</i> |
| 100 | 12 | 100 | 100 | 12 | 50 | 68 | 21 | 75 | <i>Fusarium oxysporum</i> |
| 100 | 100 | 0 | 100 | 0 | 0 | 100 | 0 | 100 | <i>Mucor sp.</i> |
| 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 15 | 100 | <i>Penicillium lividum</i> |
| 100 | 100 | 100 | 100 | 0 | 100 | 100 | 100 | 100 | <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> |
| 100 | 63 | 90 | 100 | 0 | 100 | 100 | 42 | 78 | <i>Trichoderma viridae</i> |

• غلظت ترکیبات 100 میکروگرم بر میلی لیتر

• هر تست 4 مرتبه تکرار شده و نتایج ارائه شده در جدول، میانگین تکرارها می باشد.

با عنایت به جدول 4، سایر ترکیبات را می توان جزء مواد دارای اثر ضد کپکی متوسط یا پایین به حساب آورد.

جدول 4- مقایسه اثر ضد کپکی و ضد جلبکی ترکیبات مورد مطالعه

| کپکها | جلبک کلورلا و لگاریس | ترکیبات |
|-------|----------------------|--------------------|
| ++ | - | A ₁₆ |
| ++ | + | A ₁₇ |
| +++ | +++ | N ^o 149 |
| + | - | N ^o 150 |
| ++ | ++ | N ^o 151 |
| +++ | ++++ | N ^o 178 |
| ++ | ++ | N ^o 179 |
| +++ | +++ | N ^o 188 |
| +++ | - | نیستاتین |

*علائم اختصاری: - ندارد، + کم، ++ متوسط، +++ زیاد، ++++ بسیار زیاد

بررسی نتایج نشان داد که دو ماده 188 و 178 دارای بیشترین اثر بر سلولهای کپکی و جلبکی می باشند. در سه ماده 149 و 178 و 188 در جایگاه R₃ گروه C₈H₁₇ قرار داشته و در

بحث

یافته های مورد اشاره می توان گفت که محلول فوق با غلظت و زمان تعیین شده دارای اثر آنتی میکروبیال بر ضد باکتری های هوازی و قارچهای بدست آمده از نمونه های تجربی هستند. از آنجا که تمام میکروب ها، پس از تماس با محلول فوق به صورت برگشت ناپذیر از بین رفته اند، لذا این محلول دارای اثر ضد میکروبی پایدار بر ضد باکتری های هوازی و قارچهای بدست آمده از نمونه های تجربی می باشند. با توجه به این که محلول نامبرده توانسته اسپوره های باسیلوس سوبتیلیس را (به عنوان شاخص استریلیزاسیون) به صورت برگشت ناپذیر از بین ببرد، لذا در سطح ضد عفونی کننده های قوی قرار می گیرد. از آنجا که تمام مراحل ضد عفونی در این بررسی به صورت تجربی انجام شده و محلولهای فوق اثر ضد عفونی کنندگی خود را تحت شرایط تجربی نیز حفظ کردند، لذا دارای طیف اثر ثابت می باشند (8).

محلول ضد عفونی کننده Disept در طبقه بندی آنتی سپت ها، به گروه ترکیبات چهارگانه آمونیوم تعلق دارد. میزان تأثیر گذاری این ترکیب کاهش حداقل 105 در تمام سویه های میکروبی و کاهش حداقل 104 در سویه های قارچی می باشد. Disept بر روی میکروارگانیسم هایی مانند سودوموناس آئروژینوزا، اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس ارئوس، باسیلوس سرئوس، اسپرژیلوس نایجر، کاندیدا آلبیکانس و ویروس ها تأثیر گذار است. این ماده از بین برنده طیف وسیعی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی و انواع ویروس ها، قارچ ها و اسپور باکتری ها بوده و در غلظت های مناسب اثر بسیار سریع و طولانی مدتی روی انواع میکروارگانیسم ها دارد.

طی بررسی تأثیر محلول Micro 10 enzyme با غلظت 2% و Disept با غلظت 5% بر روی استافیلوکوک طلائی و کاندیدا آلبیکانس نتایج بیانگر نابودی کامل این میکروارگانیسمها و عدم رشد آنها بود (13).
طی مطالعاتی جداگانه شرف الدین و همکاران (16)، عظیمی حسینی و همکاران (17) و جواهری و همکاران (18)

جایگاه R1 در هر دو ترکیب 178 و 188 اتم فلور وجود دارد. این جایگاه در ماده 149 توسط رادیکال OC6H13 اشغال شده است. وجود رادیکال OC6H13 در ساختار این ماده منجر به آسیمتری مشخصی در ساختمان مولکولی شده که می تواند منجر به کاهش اثر ضد جلبکی آن در مقایسه با ترکیبات 178 و 188 شده باشد.

در صورت مقایسه وزن مولکولی ترکیب 149 با 150 و 151 مشخص می شود که رادیکال قرار گرفته در جایگاه 3 یا بسیار سبکتر و یا بسیار سنگینتر می باشد که طبعاً این تفاوت بر وزن مولکولی کل ماده اثر می گذارد. بدین ترتیب به نظر می رسد که ارتباطی بین وزن مولکولی و اثر بازدارندگی ترکیبات وجود داشته و میزان این اثر ارتباط مستقیمی با وزن مولکولی دارد. به نظر می رسد که موثرترین مواد باید دارای وزن مولکولی در بازه 58373 (ترکیب 178) تا 90/665 (ترکیب 149) باشند. واحدی و همکاران طی تحقیقی اثر بالای نوعی ترکیب چهار ظرفیتی آمونیم تحت عنوان میکروتز 10 را بر قارچها مورد بررسی قرار داده و مشاهده نمودند که این ترکیب در غلظت 2% پس از یک دقیقه تماس با قارچ موثرتر از اتانول 70% بوده و اثری مشابه با بتادین 10% و هیپوکلریت سدیم 5/25% دارد (12).

آزما و همکاران با بررسی اثر سه ترکیب چهار ظرفیتی آمونیوم با اسامی تجارتي Helvemed، Micro10enzyme با غلظت 2% و Disept با غلظت 5% دریافتند که این سه ترکیب از رشد قارچ کاندیدا آلبیکانس بطور کامل ممانعت به عمل می آورند (13). نتایج این محققین، با نتایج تحقیق حاضر هم خوانی دارد.

طی مطالعه صبوری و همکاران در 1385 در بررسی نتایج کشت بر روی قارچها و باکتری های هوازی گرم مثبت و منفی بدست آمده از نمونه های مراجعان و سوش های استاندارد، قبل و بعد از تماس با غلظت 1% از محلول Micro10+ با زمان تماس یک ساعت مشاهده شد که تمام میکروارگانیسم های بدست آمده از فایل های آلوده پس از تماس با این محلول از بین رفته اند. با توجه به

اثرات ضد عفونی کنندگی ترکیبات آمونیومی چهارتایی در ضد عفونی کردن سطوح را با هم مقایسه نمودند. نتایج آزما و همکاران مشابه گزارش مطالعات فوق بوده و آنها را تایید می نماید (14-16).

میزان خاصیت لیپوفیلی ترکیبات تولید شده در این تحقیق، در توانایی حل شدن آنها در لیپید غشاء سیتوپلاسمی سلول و در نتیجه ورود به سلول می تواند موثر می باشد. خاصیت لیپوفیلی این ترکیبات به خصوص مواد شماره 178 و 188 می تواند مربوط به اتم فلور موجود در ساختار آنها باشد.

از طرفی همانطور که قبلا اشاره شد بیشترین فعالیت ضد کپکی و ضد جلبکی مربوط به سه محصول ۱۷۸، ۱۴۹ و 188 می باشد که در ساختمان خود دارای رادیکالهای آلکیلی هستند. تفاوت زیاد در طول گروههای آلکیلی در ترکیبات A16, 150 و یا قرار گرفتن رادیکالهای دیگر به جای گروه آلکیل در ترکیبات A16, 150 یا 179 منجر به کاهش شدید اثر آنها می گردد.

نتایج حاصله نشان می دهند که تغییر خصوصیات شیمیایی این ترکیبات نظیر طول گروههای آلکیلی می تواند اثر آنتی میکروبی آنها را شدیداً افزایش دهد. بهترین طول گروه آلکیلی برابر با 10-8 اتم کربن می باشد. مواد مورد مطالعه جزء ترکیبات آنتی سبتیک کاتیونی بوده که در مرحله اول بر اثر وجود بار منفی در سطح سلولهای میکروبی به آنها اتصال یافته و فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دیواره را مختل نموده و سپس در لیپید موجود در غشای سلولی حل و به درون سلول نفوذ می کنند. با توجه به روش اثر این ترکیبات، تغییر در طول گروههای آلکیلی یا افزودن گروههای قطبی دیگر اثر محسوسی بر توانایی آنها در اتصال به سطح سلولهای میکروبی و نفوذ به درون سلول می گذارد. لازم به ذکر است که جایگزینی عناصر کاملاً متفاوت از نظر شیمیایی مانند فلور در بخش بی فیل این ترکیبات، منجر به تغییر اندکی در میزان فعالیت آنها می شود.

همانطور که در جدول 2 مشاهده گردید، در صورت افزایش غلظت ترکیب 188 از 50 میکروگرم بر میلی لیتر به 150

میکروگرم بر میلی لیتر (3 برابر) میزان هاله ممانعت از رشد جلبک به 2/1 برابر افزایش می یابد. در مورد مواد 149 و 178 با افزایش غلظت ترکیبات به 3 برابر اندازه هاله ممانعت از رشد جلبک کلورلا و لگاریس به میزان 1/45 و 1/38 افزایش یافته است. نتایج حاصله نشان می دهند که میزان افزایش اثر ممانعت کنندگی از رشد ماده 188 نسبت به دو ماده دیگر با افزایش غلظت با شدت بیشتری افزایش می یابد. بر اساس نتایج بدست آمده (جدول 3) میزان اثر ضد کپکی ترکیب 188، 178 و 149 بر 8 سویه مورد تحقیق بیش از سایر ترکیبات بوده و این 3 ماده دارای طیف اثر وسیعی می باشند. با عنایت به جدول نتایج، سایر ترکیبات را می توان جزء مواد دارای اثر ضد کپکی متوسط یا پایین به حساب آورد.

به طور کلی می توان نتیجه گیری کرد که کپکهای *Penicillium lividum* و *Sclerotinia sclerotiorum* حساسیت بالایی نسبت به ترکیبات مورد استفاده داشته و هفت ترکیب از هشت ترکیب مورد استفاده 100% مانع رشد آنها شده اند. در حالی که *Mucor sp.* و *Aspergillus niger* دارای بیشترین مقاومت بوده و کمترین تاثیر را از ترکیبات مورد مطالعه پذیرفته اند.

چنان که در جداول 2، 3 و 4 مشاهده می شود اثرات ضدقارچی و ضدجلبکی ترکیبات 188، 178 و 149 مشابه بوده و با افزایش اثر ضد کپکی، اثرات ضدجلبکی آنها نیز افزایش می یابد. اثرات ضد کپکی این ترکیبات قابل مقایسه با اثر نیستاتین می باشد.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج این تحقیق اثبات گردید که با جابجا نمودن گروههای عاملی ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی می توان خصوصیات ضد قارچی و ضد جلبکی این مواد را افزایش داد. در یک جمع بندی کلی میتوان گفت که از بین ترکیبات مورد بررسی در این تحقیق که به روش فوق تولید شده اند، سه ترکیب 178، 188 و 149 دارای بیشترین اثر

بدینوسیله نویسندگان کمال تشکر و قدردانی خود را از ریاست و کارشناسان محترم دانشکده زیست شناسی دانشگاه دولتی بلاروس جهت مساعدت در انجام این تحقیق ابراز می دارند.

تشکر و قدردانی

Reference

1. Bragg R, Jansen A, Coetzee M, van der Westhuizen W, Boucher C. Bacterial resistance to Quaternary Ammonium Compounds (QAC) disinfectants. *Adv Exp Med Biol* 2014; 808:1-13.
2. Megan C Jennings, Kevin PC Minbiole, and William M Wuest. Quaternary Ammonium Compounds: An antimicrobial mainstay and platform for innovation to address bacterial resistance. *ACS Infect Dis* 2015; 1:288–303.
3. Saboori A, Fallah F, Dastgerdi M. A comparison on two disinfectants: Micro10+ and Deconex 53 plus on dental instruments. *J Islamic Dent Assoc Iran* 2006; 18:49-55.
4. Heaysman CL, Phillips GJ, Lloyd AW, Lewis AL. Synthesis and characterisation of cationic quaternary ammonium-modified polyvinyl alcohol hydrogel beads as a drug delivery embolisation system. *J Mater Sci Mater Med* 2016; 27:53.
5. Buffet-Bataillon S, Tattevin P, Bonnaure-Mallet M, Jolivet-Gougeon A. Emergence of resistance to antibacterial agents: The role of quaternary ammonium compounds--a critical review. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 39: 381-9.
6. Rutala WA, Gergen MF, Weber DJ. Microbiologic evaluation of microfiber mops for surface disinfection. *Am J Infect Control* 2007; 35:569-73.
7. Imanifooladi A, Soltanpour M, Kachuei R, Mirnejad R, Rahimi M. The comparison of antibacterial effects of common antiseptics against three nosocomial resistant strains. *Medical Laboratory J Goums* 2008; 2 : 19-25.
8. Saboori A, Fatemeh Fallah, Dastgir M. Evaluation of the disinfecting effects of Micro 10+ and Deconex53 Plus on dental instruments. *Journal of Islamic Dental Association* 2006; 18: 49-55.
9. Nowrozi H, Kazemi A, Afshar, Adimi P. Antifungal activity of commercial disinfectants: formaldehyde, glutaraldehyde, microten, alcohol 70 and savlon-alcohol on isolated saprophytic fungi from hospital environments. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences* 2012; 14:107-112.
10. Nowrozi H, Kazemi A, Mottalebikhah F, Ghooshchi F, Khodai sherbiani A. Antifungal activity of disinfectants on saprophytical fungi factors isolated from the environment and operating room in private sector clinics of Tehran. *Journal of Birjand University of Medical Sciences* 2013; 20:305-311.
11. Standard for the operation of swimming pools and spa pools in South Australia (2003). Government of South Australia. Revised 2013. Sections: 7.1 and 9.1
12. Vahedi M, Bakianian Vaziri P, Abdolsamadi HR, Pahlavan A, Hajilooii M, Abdollahzadeh Sh. Evaluation of antimicrobial effect of four disinfectant solutions on hand pieces contaminated to staphylococcus aureus , pseudomonas aeruginosa and candida albicans. *Journal of Dentistry of Medical Sciences University of Tehran* 2008; 21: 132-139.
13. Ehsan Azma, Mehrdad Sadeghi Khanjani, Ehsan Kazemnejad Leili, Minoos Baghernia. Comparison of the antimicrobial effects of Iranian disinfectant dissept with disinfectants Helvemed forte and Micro10 enzyme. *Journal of Mashhad Dental School* 2015; 31: 35-42.

14. Sharaffedine F, Sadeghi AR, Kohanteb G. Comparison of the effect of Deconex (Solarsept), Micro 10 and Cidex in disinfecting dental instruments. *Journal of Dentistry Shiraz University of Medical Sciences* 2005; 6:38-46.
15. Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Mazzoni A. Can quaternary ammonium methacrylates inhibit matrix MMPs and cathepsins. *Dent Mater* 2015; 31:e25-32.
16. Oguz Ahmet S, Mutluay MM, Seyfioglu Polat Z. Addition of benzalkonium chloride to self-adhesive resin-cements: some clinically relevant properties. *Acta Odontol Scand* 2014; 72:831-8.