بررسی خواص ضد استرپتوکوک موتانس شیاربندهای فلورایددار و بدون فلوراید پس از افزودن نانوذرات نقره

دکتر مریم قاسمپور[۱]- زهرا مولانا[۲]- دکتر همایون علاقه‌مند[۳]- دکتر علی بیرامی[۴]- دکتر علی بیژنی[۵]- فریبا اصغرپور[۶]
دکتر احمدرضا شمشیری[۷]- دکتر قاسم میقانی[۸+]

۱- عضو مرکز تحقیقات مواد دندانی، استادیار گروه آموزشی دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی بابل، بابل، ایران
۲- عضو مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، استادیار گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی بابل، بابل، ایران
۳- عضو مرکز تحقیقات مواد دندانی، دانشیار گروه آموزشی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی بابل، بابل، ایران
۴- استادیار گروه آموزشی دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی اردبیل، اردبیل، ایران
۵- عضو مرکز تحقیقات بیماری‌های غیرواگیر کودکان، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران
۶- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی بابل، بابل، ایران
۷- عضو مرکز تحقیقات دندانپزشکی و استادیار گروه آموزشی سلامت دهان و دندانپزشکی اجتماعی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی، تهران، ایران
۸- استادیار گروه آموزشی دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران

Anti Streptococcus mutans non fluoride and fluoride containing sealants after adding nano-silver particles

Maryam Ghasempour[1], Zahra Molana[2], Homayon Alaghemand[3], Ali Beirami[4], Ali Bijani[5], Fariba Asgharpour[6], Ahmadreza Shamshiri[7], Ghasem Mighani[8†]

1- Member of Dental Materials Research Center, Assistant Professor, Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
2- Member of Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Assistant Professor, Department of Microbiology, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
3- Member of Dental Materials Research Center, Associate Professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
4- Assistant Professor, Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
5- Member of Non-Communicable Pediatric Diseases Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
6- Faculty of Clinical Laboratory Sciences, School of Clinical laboratory Sciences, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
7- Member of Dental Research Center, Assistant Professor, Department of Community Oral Health, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
8†- Assistant Professor, Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Background and Aims: Since recurrent caries are one of the major causes of failure in resin restorations, the production of antibacterial resin composites was always under investigation. The aim of this study was to evaluate the efficacy of fissure sealants containing nanosilver particles against the Streptococcus mutans.
Materials and Methods: In this experimental study, the antibacterial properties of two sealants (with fluoride (Clinpro 3M) and without fluoride (Concise 3M) was investigated with 0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05% w/w after adding nano-silver using direct contact test. Sealants formed on the walls of 500ml micro tube and after curing, they left in contact with bacterial suspension. In periods of 3, 24, 48h, a 10 µl volume of liquid medium was placed in blood agar culture and after 24 h incubation at 37ºC, the number of S.mutans colony was counted by colony counter. Data were analyzed using ANOVA and T-test.
Results: Results reported sealants with fluoride comparing to non fluoride ones had significant effect on inhibition of S.mutans growth ($P<0.001$). The direct contact test demonstrated that by increasing the amount of nano particles, the bacterial growth was significantly diminished ($P<0.001$).
Conclusion: While sealants with fluoride demonstrated antibacterial effect, sealants with incorporation of higher weight percentage of nanosilver particles, had stronger and more significant antibacterial effect in direct contact test.

Key Words: Fluoride, Streptococcus mutans, Fissure sealants, Nano-silver

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2014;27(1):16-23

+ مؤلف مسؤول: نشانی: تهران- انتهای کارگر شمالی بعد از انرژی اتمی- دانشکده دندانپزشکی- دانشگاه علوم پزشکی تهران- گروه آموزشی دندانپزشکی کودکان
تلفن: ۸۸۰۱۵۹۵۰ نشانی الکترونیک: mighani@sina.tums.ac.ir

www.SID.ir
Archive of SID

چکیده

زمینه و هدف: از آنجاییکه پوسیدگی ثانویه، مهم‌ترین علتی است که منجر به شکست ترمیم‌های رزینی می‌شود، تولید مواد رزینی با خاصیت ضدمیکروبی، همواره مورد توجه بوده است. هدف از این مطالعه، بررسی عملکرد شیاربندهای فلورایددار و بدون فلوراید حاوی نانوذرات نقره بر استرپتوکوک موتانس بود.

روش بررسی: در این مطالعه، خواص ضدمیکروبی شیاربندهای فلورایددار (Clinpro 3M) و بدون فلوراید (Concise 3M) پس از افزودن نانوذرات نقره با درصدهای وزنی ۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴، ۰/۰۵ با تست تماس مستقیم مورد بررسی قرار گرفت. شیاربندها بر دیواره‌های میکروتیوب‌های ۵۰۰ میکرولیتری شکل داده شد و پس از کیور شدن توسط دستگاه لایت‌کیور، در مجاورت باکتری‌های غوطه‌ور در محیط مایع قرار گرفتند. سپس در زمان‌های ۳، ۲۴ و ۴۸ ساعت، ۱۰ میکرولیتر از محیط مایع بر روی محیط کشت بلاد آگار، کشت داده شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در محیط ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تعداد کلونی‌های موتانس با دستگاه شمارنده کلونی شمارش شد. داده‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون T مستقل ارزیابی شدند.

یافته‌ها: شیاربندهای فلورایددار نسبت به شیاربندهای بدون فلوراید در غلظت‌های پایین (۰/۰۲-۰)، تأثیر معنی‌داری در جلوگیری از رشد استرپتوکوک موتانس داشتند ($P\leq ۰/۰۰۱$). گروه‌های حاوی نانوذرات نیز به طور معنی‌داری رشد باکتری‌ها را کاهش دادند ($P\leq ۰/۰۰۱$) که این خصوصیت با افزایش میزان نانوذرات، به وضوح افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: اگرچه شیاربندهای فلورایددار خواص ضدمیکروبی از خود نشان دادند، اما با افزایش درصد وزنی نانوذرات نقره، خاصیت ضدمیکروبی قوی‌تر و مؤثرتری از خود نشان دادند.

کلید واژه‌ها: فلوراید، استرپتوکوک موتانس، شیاربند، نانوذرات نقره

وصول: ۹۲/۰۳/۱۲ اصلاح نهایی: ۹۲/۱۱/۱۴ تأیید چاپ: ۹۲/۱۱/۱۵

مقدمه

اگرچه درمورد عوامل ایجاد کننده پوسیدگی دندان و نیز روش‌های پیشگیری، به طور گسترده‌ای مطالعه شده است، پوسیدگی‌های ثانویه، همچنان علت اصلی تعویض مواد ترمیمی با پایه رزینی هستند (۴-۱).

باتوجه به اینکه پوسیدگی دندان عارضه عفونی است (۵) و باکتری‌هایی مانند استرپتوکوک‌ها و لاکتوباسیل‌ها که در شروع و پیشرفت ضایعات پوسیدگی نقش دارند (۶) را از این ضایعات جدا کرده‌اند (۴)، انتظار می‌رود با کاهش تعداد باکتری در سطح تماس بین دندان- رزین، بروز پوسیدگی کاهش پیدا کند (۶).

بدین‌ترتیب، استفاده از مواد رزینی که دارای خواص ضدمیکروبی باشند، در پیشگیری از پوسیدگی ثانویه بسیار مفید خواهد بود (۷). شیاربندها (Sealants)، ازجمله مواد رزینی هستند که برای سیل کردن فرورفتگی‌ها و شیارهای دندان (Pit&Fissures) به کار می‌روند و در مواردی که پوسیدگی در سطحی که باید سیل شود باقی گذاشته شود (۸) و یا در مواردی که ایزولاسیون در هنگام کار مناسب نباشد (۹) و یا ریزنشت (Microleakage) اتفاق بیفتد (۱۰) و نیز برای کاهش شکل‌گیری بیوفیلم بر روی مواد رزینی (۱۱) اضافه کردن مواد ضدمیکروبی مانند فلوراید و کلرهگزیدین توصیه شده است (۱۲). این مواد اگرچه در ابتدا اثری قوی دارند، آزاد شدن آن‌ها دوام دراز مدت نداشته (۱۵-۱۳) و قدرت اتصال رزین‌های حاوی این مواد، کاهش قابل‌توجهی می‌یابد (۱۸-۱۶).

در دهه‌های گذشته، فلزات گران‌قیمتی مانند طلا، نقره و روی، به صورت ذرات نانو به عنوان ضدباکتری استفاده شده‌اند (۲۲-۱۹). خاصیت ضدمیکروبی فلزات، به سطح تماس آن‌ها بستگی دارد. بنابراین، با کاهش اندازه ذرات فلزی و افزایش نسبت سطح به حجم آن‌ها، قدرت ضدباکتریایی این مواد افزایش می‌یابد. بدین‌ترتیب، تبدیل ذرات از اندازه میکرومتر به نانومتر، خاصیت ضدمیکروبی آن‌ها را تا حد زیادی بهبود می‌بخشد (۱۲،۲۰).

تحقیقات نشان می‌دهد که اثر ضدباکتریایی انواع مختلف شیاربند، متفاوت است (۲۳). حتی شیاربندهای با پایه رزینی با مارک‌های مختلف تجاری نیز ازنظر خاصیت ضدباکتریایی با هم مقایسه شده‌اند (۲۴). همچنین، مطالعاتی درباره اثر ضدباکتریایی شیاربندهای فلورایددار با پایه رزینی انجام شده است که نشان می‌دهد این نوع شیاربندها اثر ضدباکتریایی دارند (۶،۲۵،۲۶)، ولی همان‌گونه که پیش‌تر ذکر شد، مسأله اصلی این است که آزاد شدن فلوراید از شیاربند دوام طولانی مدت ندارد و قدرت اتصال مواد رزینی را کاهش می‌دهد (۱۳-۱۸،۲۶).

بنابراین، در مطالعه حاضر، بر آن شدیم تا با افزودن درصدهای مختلف وزنی نانوذرات نقره با اندازه حدود ۲۰ نانومتر به مواد شیاربند با پایه رزینی، خواص ضدباکتریایی آن‌ها را علیه باکتری استرپتوکوکوس موتانس در مواد مذکور مورد بررسی قرار دهیم.

Archive of SID
www.SID.ir

همچنین، حداقل میزان نانوذرات موجود در رزین را جهت عملکرد علیه باکتری مزبور تعیین کنیم و خواص ضدمیکروبی شیاربندهای فلورایددار با پایه رزینی را به طور جداگانه بررسی کنیم. هدف از این مطالعه بررسی عملکرد شیاربندهای فلورایددار و بدون فلوراید حاوی نانوذرات نقره بر استرپتوکوک موتانس بود.

روش بررسی

در این مطالعه، به دو گروه شیاربندهای فلورایددار (Clinpro, 3M ESPE) و بدون فلوراید (Clinpro, 3M ESPE)، به ترتیب صفر، یک، دو، سه، چهار و پنج صدم درصد وزنی نانوذرات نقره (Nanoshell, USA) اضافه شد و در مواجهه مستقیم با استرپتوکوک موتانس قرار گرفتند. نحوه کار بدین شکل بود که ابتدا برای حذف رطوبت هوا از سطح ذرات، نانوذرات نقره به مدت یک ساعت در درجه حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، در دستگاه فور قرار گرفت. سپس، بلافاصله در دسیکاتور محتوی سیلیکاژل قرار داده شد تا در مدت شروع تهیه نمونه‌ها، به عنوان رطوبت‌زدا عمل کند. پس از آماده‌سازی گروه‌های مورد مطالعه در فضای تاریک، در زیر منبع نور قرمز مخصوص تاریک‌خانه، نانوذرات با درصدهای گفته شده، به شیاربندها اضافه شد. مخلوط‌ها را به مدت بیست دقیقه با اسپاتول پلاستیکی به هم زده و ده دقیقه بر روی دستگاه ویبراتور گذاشته شدند. ازآنجا که در تست‌های تماس مستقیم نیاز بود تا باکتری‌های شناور درون محیط کشت مایع، در تماس با ماده رزینی قرار گیرد، مناسب‌ترین قالب برای نگهداری کامپوزیت‌ها، ظرف‌های با درهای کیپ شونده و حجم مشخص بودند تا علاوه بر امکان یکسان‌سازی سطح تماس مواد شیاربند، در طی زمان مجاورت آن‌ها با مایع، از آلودگی احتمالی جلوگیری به عمل آید. بدین‌منظور، میکروتیوب‌های مربوط به آزمایش‌های باکتری‌شناسی انتخاب شدند که دارای حجم ۵۰۰ میکرولیتر بودند.

با استفاده از سرنگ انسولین، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از هر یک از گروه‌های مواد شیاربند فلورایددار و بدون فلوراید، به درون میکروتیوب‌های مزبور وارد شده و پس از تطابق یافتن بر روی دیواره‌های داخلی به کمک اسپاتول، عمل پلیمریزاسیون با دستگاه لایت‌کیور انجام شد. بدین‌ترتیب، حجم مشخصی از میکروتیوب‌ها با کامپوزیت اشغال شده (۲۰۰ میکرولیتر)، حجم ۳۰۰ میکرولیتر در مرکز محفظه باقی می‌ماند و متعاقباً مایع در آن قرار می‌گرفت. درحالیکه مایع فوق‌الذکر در محیط اطراف خود در تماس با شیاربند مورد آزمایش بود.

برای بالاتر بردن دقت مطالعه، از هر نمونه سه عدد و با توجه به دوازده گروه رزینی مورد آزمایش، در مجموع ۳۶ میکروتیوب حاوی شیاربند آماده شد. آنگاه، ده میکرولیتر از محلول استاندارد نیم مک‌فارلن استرپتوکوکوس موتانس (حدود 10^7 باکتری) درون ظروف ریخته شده و ظرف‌های مذکور، به مدت یک ساعت در محیط سترون زیر هود قرار داده شدند. در این مدت، باکتری‌ها در تماس مستقیم با سطح آزاد رزین قرار داشته و پس از تبخیر کامل محلول، میزان ۳۰۰ میکرولیتر محیط کشت عصاره قلب و مغز Brain Heart Infusion (BHI) به هریک از ظرف‌ها افزوده گردید. سپس درپوش ظرف‌ها کاملاً بسته شده، در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری و در زمان‌های ۳، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد، حجم مشخص ده میکرولیتر از محلول موجود در هر یک از ظروف بر روی محیط کشت جامد بلاد آگار قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تعداد کلونی‌های ایجاد شده باکتری‌ها، با دستگاه شمارشگر کلونی، شمارش گردید. ازآنجا که در ابتدا تعداد باکتری‌های موجود در هر یک از ظروف معلوم و نیز حجم محلول مشخص بود، کاهش تعداد باکتری‌ها، نمایانگر اثر ضدباکتریایی رزین بود.

روش تجزیه و تحلیل آماری

آنالیزهای آماری بر روی داده‌های Log-transformed شمار باکتری‌ها انجام گرفت. با توجه به ماهیت تکرار مشاهدات در زمان‌های مختلف، از آنالیز Repeated measurement ANOVA استفاده شد، ولی به دلیل وجود بر هم کنش (Interaction) بین فاکتور زمان و غلظت نانوذرات نقره (P=۰/۰۷) و نیز بین فاکتور زمان و وجود فلوراید در شیاربند (P=۰/۱۵)، برای بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره بر رشد باکتری‌ها، از آنالیز واریانس یک طرفه و برای مقایسه اثر وجود یا عدم وجود فلوراید در شیاربند از آزمون T مستقل (به تفکیک زیرگروه‌ها) استفاده گردید. همچنین برای بررسی روند تغییرات شمار باکتری‌های زنده در ساعت‌های مختلف بررسی (به تفکیک زیرگروه‌های مطالعه) از Repeated measurement ANOVA استفاده شد. حد معنی‌داری آماری کمتر از ۰/۰۵ درنظر گرفته شد.

www.SID.ir

یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار تعداد باکتری‌های رشد کرده پس از ۳، ۲۴ و ۴۸ ساعت، بر سطح هر یک از گروه‌های رزینی در تست‌های تماس مستقیم، در جدول ۱ نشان داده شده است. با افزایش غلظت نانوذرات نقره، میزان رشد باکتری کاهش یافت که در کلیه حالات نمونه‌های فاقد نانوذرات، تعداد باکتری‌ها بیشتر بود (P<۰/۰۰۱). همچنین، در گروه‌های شیاربندهای فلوراید‌دار با ۰٪، ۰/۰۱٪، ۰/۰۲٪ نانوذرات نقره در ساعت‌های ۳ و ۲۴، رشد باکتری‌ها به طور معنی‌داری کمتر از گروه‌های بدون فلوراید بود (P≤۰/۰۰۱)، ولی در سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری دیده نشد.

در مقایسه میانگین شمار باکتری در زمان‌های مختلف با یکدیگر، تا غلظت ۰/۰۲ نانوذرات نقره با گذشت زمان، کاهش تعداد باکتری معنی‌دار بود، ولی در غلظت‌های بالاتر این تفاوت معنی‌دار نبود. یعنی از ابتدا تعداد باکتری‌ها کاهش قابل ملاحظه‌ای پیدا کرده است. افزون بر آن، نمودار ۱ نشانگر میزان رشد باکتری‌ها در گروه‌های مورد مطالعه است.

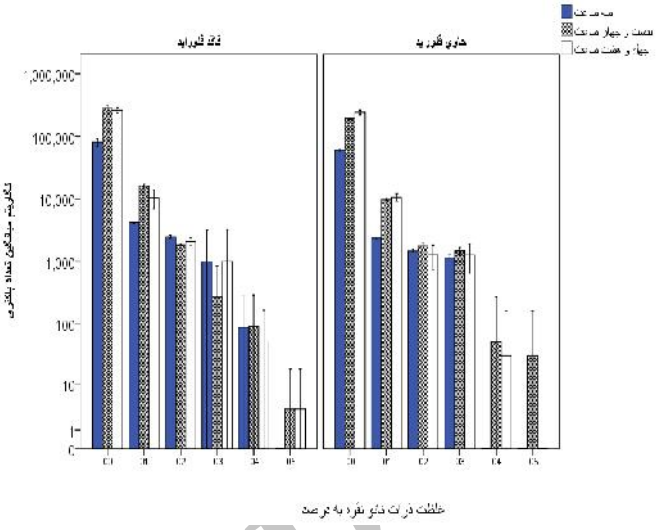
جدول ۱- میانگین لگاریتم شمار باکتری‌های رشد کرده در تست تماس مستقیم در گروه‌های مختلف

غلظت نانوذرات نقره	زمان	گروه‌ها		P-Value‡
		بدون فلوراید	دارای فلوراید	
۰/۰۰	ساعت ۳	۴/۹ (±۰/۰۲)	۴/۷۸ (±۰/۰۱)	۰/۰۰۹
	ساعت ۲۴	۵/۴۵ (±۰/۰۲)	۵/۲۹ (±۰)	<۰/۰۰۱
	ساعت ۴۸	۵/۴۲ (±۰/۰۲)	۵/۳۸ (±۰/۰۲)	۰/۰۷
		<۰/۰۰۱†	<۰/۰۰۱†	
۰/۰۱	ساعت ۳	۳/۶۲ (±۰)	۳/۳۷ (±۰/۰۱)	<۰/۰۰۱
	ساعت ۲۴	۴/۲۱ (±۰/۰۱)	۳/۹۹ (±۰/۰۱)	<۰/۰۰۱
	ساعت ۴۸	۴/۰۲ (±۰/۰۶)	۴/۰۲ (±۰/۰۲)	۰/۸۴
		<۰/۰۰۱†	<۰/۰۰۱†	
۰/۰۲	ساعت ۳	۳/۳۹ (±۰/۰۱)	۳/۱۷ (±۰/۰۱)	<۰/۰۰۱
	ساعت ۲۴	۳/۲۶ (±۰/۰۱)	۳/۲۵ (±۰/۰۲)	۰/۳۱
	ساعت ۴۸	۳/۳۱ (±۰/۰۱)	۳/۱ (±۰/۰۷)	۰/۰۰۸
		۰/۰۰۲†	۰/۰۴†	
۰/۰۳	ساعت ۳	۲/۱۲ (±۱/۸۳)	۳/۰۶ (±۰/۰۲)	۰/۴۷
	ساعت ۲۴	۱/۷۳ (±۱/۵)	۳/۱۷ (±۰/۰۲)	۰/۲۴
	ساعت ۴۸	۲/۱۲ (±۱/۸۳)	۳/۱ (±۰/۰۹)	۰/۴۵
		۰/۱۲†	۰/۰۹†	
۰/۰۴	ساعت ۳	۱/۴۱ (±۱/۲۲)	۰ (±۰)	۰/۱۸
	ساعت ۲۴	۱/۴۲ (±۱/۲۳)	۰/۷۳ (±۱/۲۶)	۰/۵۳
	ساعت ۴۸	۱/۲۶ (±۱/۰۹)	۰/۶۵ (±۱/۱۳)	۰/۵۴
		۰/۱۸†	۰/۴۴†	
۰/۰۵	ساعت ۳	۰/۰۰ (±۰/۰۰)	۰/۰۰ (±۰/۰۰)	۱/۰۰
	ساعت ۲۴	۰/۳۳ (±۰/۵۸)	۰/۶۵ (±۱/۱۳)	۰/۶۹
	ساعت ۴۸	۰/۳۳ (±۰/۵۸)	۰/۰۰ (±۰/۰۰)	۰/۴۲
		۰/۵۴†	۰/۴۷†	

† P-values from comparing 3 means in different times by repeated measurement ANOVA.
‡ P-values from comparing 2 means in with/without fluoride by independent sample t test.

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۱- میانگین رشد باکتری‌ها بر سطح گروه‌های رزینی در تست تماس مستقیم

بحث و نتیجه‌گیری

در این پژوهش، اثر ضد استرپتوکوک موتانس شیاربند فلورایددار (Clinpro, 3M ESPE) و شیاربند بدون فلوراید (Concise, 3M ESPE)، پس از افزودن نانوذرات نقره با مقادیر ۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴ و ۰/۰۵ درصد وزنی مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها نشانگر آن است که در تست تماس مستقیم شیاربندهای دارای نانوذرات نقره، در هر دو گروه فلورایددار و بدون فلوراید، نسبت به گروه کنترل فاقد نانوذرات نقره، به طور معنی‌داری از رشد باکتری موتانس بر سطح خود ممانعت به عمل آوردند که با افزایش غلظت نانوذرات فوق از ۰/۰۱٪ تا ۰/۰۵٪ وزنی، میزان رشد باکتری‌ها کاهش چشمگیری را نشان دادند. این موضوع با مطالعات Nam، Sondi و Salopek-Sondi، Cheng و همکاران مطابقت دارد (۲۹-۲۷).

Nam (۲۰۱۱) در مطالعه خود، با اضافه کردن نانوذرات نقره با درصدهای وزنی مختلف ۰/۱٪ تا ۳٪ به موادی در تماس با بافت در دوره محدود با هدف کمک به بازگشت به شرایط سالم (Tissue conditioner)، اثر ضد باکتریایی آن را بر روی باکتری‌های استافیلوکوک اورئوس و استرپتوکوک موتانس نشان داد. به طوری که با افزایش غلظت نانوذرات، این اثر تشدید می‌شد. وی بر این فرضیه تأکید نمود که عملکرد نقره، به عنوان کاتالیزور، موجب تبدیل اکسیژن به اکسیژن فعال شده (شامل رادیکال‌های هیدروکسیل) و بدین‌ترتیب از رشد باکتری‌ها جلوگیری می‌کند (۲۷).

Sondi و Salopek-Sondi در سال ۲۰۰۴، اثر ضدباکتریایی نانوذرات نقره را علیه باکتری اشرشیاکلی نشان دادند. آن‌ها بر این نظریه تأکید کردند که در مواجهه با نانوذرات نقره، میکروارگانیسم‌ها توانایی همانندسازی خود را از دست داده و پروتئین‌های سلولی غیرفعال می‌شوند (۲۸).

Durner و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه خود نشان دادند که نانوذرات در درصدهای وزنی بالاتر از ۰/۰۵، بر فرآیند پلی‌مریزاسیون مواد دندانی حاوی نقره تأثیر گذاشته و باعث کاهش سازگاری نسجی آن‌ها می شود. به این دلیل، ما در مطالعه حاضر، از نانوذرات نقره در درصدهای وزنی پایین استفاده کردیم (۳۰).

مطالعه Ahn و همکاران (۲۰۰۹)، اثر ضد باکتریایی رزین‌ها ناشی از تماس مستقیم با باکتری را ذکر کرده و نشان دادند که نانوذرات نقره از درون توده کامپوزیتی آزاد نشده و درنتیجه علیه باکتری‌های مجاور موجود در محیط مایع مؤثر نیستند. این مسأله در حفظ استحکام مکانیکی و استحکام اتصال کامپوزیت‌های مذکور بسیار مؤثر است، زیرا از ایجاد حباب‌های درون توده‌ای در کامپوزیت و درنتیجه، تشکیل نقاط ضعف در کامپوزیت جلوگیری می‌کند (۱۲).

در مطالعه Cheng و همکاران (۲۰۱۲)، معلوم شد که کامپوزیت‌های دارای نانوذرات نقره و ACP، نسبت به کامپوزیت‌های معمولی، به طور عمده‌ای باعث کاهش رشد بیوفیلم استرپتوکوک موتانس، فعالیت متابولیک و شمارش CFU می‌شوند. این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار بود. آن‌ها همچنین بیان کردند که یون‌های نقره با آنزیم‌های باکتری زنده واکنش نشان داده و آن‌ها را غیرفعال می کند و موجب می‌شود که باکتری‌ها توانایی همانندسازی خود را از دست داده، دچار مرگ شوند (۲۹). نتیجه مطالعه ما با این مطالعه، سازگار است.

در مطالعه حاضر، گروه کنترل شیاربند فلورایددار نسبت به گروه کنترل بدون فلوراید، اثر ضد باکتریایی بیشتری نشان داد که از لحاظ آماری معنی‌دار بود. شیاربندهای فلورایددار مختلف، دارای اثر ضدباکتریایی متفاوت هستند. چنانچه Malaton و همکاران نیز در سال ۲۰۰۳، برای بررسی اثر ضدباکتریایی شیاربندها، از روشی مشابه روش

www.SID.ir

این تحقیق استفاده کردند و نشان دادند که شیاربند فلوراید‌دار (Dentsply) Dyract seal دارای خصوصیات ضدباکتریایی علیه استرپتوکوک موتانس است (۳۱). همچنین Menon preetha و همکاران در سال ۲۰۰۷، تحقیقی مشابه این مطالعه انجام دادند و خاصیت ضدباکتریایی دو شیاربند آزادکننده فلوراید، یعنی Helio seal F و Teethmate F را علیه استرپتوکوک موتانس بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که Teethmate F دارای خصوصیات ضدباکتریایی علیه این باکتری است، ولی Helio seal F اثر آنتی‌باکتریال از خود نشان نداد (۶).

Naorungroj و همکاران در سال ۲۰۱۰، اثر ضدباکتریایی شیاربندهای Clinpro، Embrace، UltraSeal XT plus را بر روی استرپتوکوک موتانس بررسی کردند و نشان دادند که تمام شیاربندهای فلوراید‌دار فوق، اثر ضدباکتریایی دارند، ولی خاصیت ضدباکتریایی UltraSeal اندک و کوتاه مدت است (۲۴).

علت نداشتن اثر ضدباکتریایی بعضی از شیاربندهای فلوراید‌دار، ممکن است به روشی که یون فلوراید به داخل ماده اضافه می‌شود مربوط باشد. روش‌هایی که فلوراید به شیاربند اضافه می‌شود، ممکن است بر میزان آزاد شدن فلوراید و خصوصیات آن تأثیر بگذارد. دو روش اصلی اضافه کردن فلوراید وجود دارد: ۱- اضافه کردن نمک فلوراید محلول به رزین غیر پلی‌مریزه ۲- اضافه کردن ترکیب فلوراید ارگانیک به رزین غیر پلی‌مریزه. نشان داده شده است که خصوصیات مکانیکی شیاربندهایی که با روش نخست تولید می‌شوند، کاهش می‌یابد. زیرا آزاد شدن فلوراید، ناشی از حل شدن نمک فلوراید قابل حل است. در حالی که اضافه کردن فلوراید از طریق روش دوم، آزاد شدن طولانی مدت و درحد پایین فلوراید را نشان داده است. نتایج مطالعه Clinpro با این روش مطابقت دارد. Clinpro ترکیب ارگانیک فلوراید Tetrabutylammonium و Tetrafluoroborate داشته که می‌تواند عامل خواص ضدباکتریایی نسبی در بلند مدت باشد. درحالیکه Embrace و UltraSeal توسط روش اول ساخته شده‌اند. بنابراین، خاصیت ضدباکتریایی زیاد Embrace با محتوای فلوراید بیشتر آن مرتبط است (۲۴).

در مطالعه حاضر، روند کلی رشد باکتری‌ها در ۳ و ۲۴ ساعت پس از قرار گرفتن بر سطح رزین‌های موجود در محیط کشت، افزایش یابنده است که البته این امر در گروه‌های رزینی محتوی ۰٪، ۰/۰۱٪، ۰/۰۲٪ و ۰/۰۳٪ نانوذرات، مشخصاً قابل مشاهده است. اما در دو گروه حاوی ۰/۰۴٪ و ۰/۰۵٪ نانوذرات، میزان باکتری در ساعات ۳ و ۲۴، تفاوت چندانی ندارد. این روند رشد افزایشی باکتری‌ها، ناشی از نمودار رشد باکتریایی بوده که مشتمل بر چهار فاز تأخیری، افزایش یابنده، سکون و مرگ است، یعنی در درصدهای پایین نانوذرات نقره، جلوگیری از رشد باکتری‌ها ۱۰۰٪ نبوده و باکتری‌ها به رشد و تکثیر خود ادامه می‌دهند. این امر نشانگر تأثیر سریع و مؤثر نانوذرات نقره در غلظت‌های بالاتر است (۳۲).

در مطالعه Nam (۲۷)، اثر ضدباکتریایی تیشو کاندیشنر حاوی نانوذرات نقره بین ۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت، تفاوت معنی‌داری نداشت. در مطالعه حاضر نیز تفاوت موجود بین ساعت‌های ۲۴ و ۴۸ از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

در مطالعه حاضر اثر ضدباکتریایی مشترک فلوراید و نانوذرات نقره در گروه‌های با ۰/۰۱ و ۰/۰۲ درصد وزنی نانوذرات بارز بود، ولی در گروه‌های ۰/۰۳، ۰/۰۴ و ۰/۰۵ درصد وزنی، به علت اثر ضدباکتریایی مؤثرتر نانوذرات نقره، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های فلوراید‌دار و بدون فلوراید مشاهده نشد.

به منظور تعیین حداقل غلظت ضد باکتریایی، از MBC (Minimum Bactericidal Concentration) استفاده کردیم. بر طبق استانداردهای معمول، مرز اثر ضدمیکروبی به این صورت مشخص می‌شود که ۰/۱٪ از سلول‌ها زنده مانده و ۹۹/۹٪ کاهش در CFU دیده شود که در این صورت، حداقل غلظت باکتریایی حاصل خواهد شد (۲۷). با توجه به تعریف مذکور و یافته‌های ما در مطالعه حاضر، MBC در حدود ۰/۰۴٪ به دست آمد. Nam در مطالعه خود، نانوذرات نقره را با درصدهای وزنی مختلف ۰/۱٪ تا ۳٪ به تیشو کاندیشنر اضافه کرد و پس از مواجهه نمونه‌ها با سوسپانسیون میکروبی موتانس، بعد از انکوباسیون ۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت، شمارش CFU را به دست آورد. در این مطالعه، MBC ۰/۱٪ بود. تفاوت در MBC، می‌تواند ناشی از تفاوت در ماده مورد بررسی، اختلاف در نوع محیط کشت، تفاوت در سروتیپ باکتری و نیز روش شمارش کلونی باشد. به نظر می‌رسد دستیابی به حداقل غلظت باکتریسیدال، موجب استفاده از درصدهای وزنی مؤثر نانوذرات نقره شده و مواردی مانند رنگ و خواص

www.SID.ir
Archive of SID

مکانیکی رزین، تغییرات چندانی نخواهد داشت (۲۷).

شیاربند فلورایددار Clinpro نسبت به شیاربند بدون فلوراید Concise، خاصیت ضدباکتریایی بیشتری از خود نشان می‌دهد که در نمونه‌های دارای مقادیر نانوذرات بالاتر از ۰/۰۳٪ درصد وزنی، به علت اثر ضدباکتریایی قوی‌تر نانوذرات نقره، این تفاوت معنی‌دار نیست.

شیاربندهای حاوی مقادیر ۰/۰۱٪ تا ۰/۰۵٪ درصد وزنی نانوذرات نقره، در تست تماس مستقیم، خاصیت ضدباکتریایی از خود نشان می‌دهند که با افزایش میزان نانوذرات، تعداد باکتری‌ها به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد.

فلوراید و نانوذرات نقره، خاصیت آنتی‌باکتریال افزایشی (سینرژیسم) نشان دادند. حداقل غلظت باکتریسیدال نانوذرات نقره در شیاربند، ۰/۰۴ درصد وزنی بود.

در پایان پیشنهاد می‌گردد که تأثیر شیاربندهای فلورایددار و نانوذرات نقره، ازنظر بالینی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین اثر نانوذرات نقره در زمان ۷۲ ساعت بعد نیز ارزیابی شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از پشتیبانی بی‌دریغ معاونت تحصیلات تکمیلی، مرکز تحقیقات مواد دندانی دانشکده دندانپزشکی (شماره طرح تحقیقاتی ۹۰۳۰۶۱۴) و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل کمال تشکر را داریم.

منابع:

1- Tyas MJ. Placement and replacement of restoratins by selected practitioners. Aust Dent J. 2005;50(2):81-9.

2- Mjor IA. Clinical diagnosis of recurrent caries. J Am Dent Assoc. 2005;136(10):1426-33.

3- Gondim JO , Duque C, Hebling J, Giro EM. Influence of human dentine on the antibacterial activity of self-etching adhesive systems against cariogenic bacteria. J Dent. 2008;36(4):241-8.

4- Korkmaz Y, Ozalp M, Attar N. Comparision of the antibacterial Activity of different self-etching primers and Adhesives. J Contemp Dent Pract. 2008;9(7):57-64.

5- Loesche WJ. Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according in the specific plaque hypothesis. J Dent Res. 1979;58(12):2404-12.

6- Menon Preetha V, Shashikiran ND, Reddy VV. Comparison of antibacterial properties of two fluoride-releasing and a nonfluoride-releasing pit and fissure sealants. J Indian Soc Pedod Prev Dent. 2007;25(3):133-6.

7- Hikata H, Shindo K, Yamanaka T. Antibacterial glass and resin composite comprising the same. U.S. Patent. No 6,410,633;2002.

8- Mertz-Fairhurst EJ, Schuster GS, Fairhurst CW. Arresting caries by sealants: results of a clinical study. J Am Dent Assoc. 1986;112(2):194-7.

9- Seemann R, Klück I, Bizhang M, Roulet JF. Secondary caries-like lesions at fissure sealings with Xeno III and Delton--an in vitro study. J Dent. 2005;33(5):443-9.

10- Qadri GW, Noor SN, Mohamad D. Microleakage assessment of a repaired, nano-filled, resin-based fissure sealant. Pediatr Dent. 2009;31(5):389-94.

11- Rolland SL, McCabe JF, Robinson C, Walls AW. In vitro biofilm formation on the surface of resin-based dentine adhesives. Eur J Oral Sci. 2006;114(3):243-9.

12- Ahn SJ, Lee SJ, Kook JK, Lim BS. Experimental antimicrobial orthodontic adhesives using nanofillers and silver nanoparticles. Dent Mater. 2009;25(2):206-13.

13- Ribeiro J, Ericson D. In vitro antibacterial effect of chlorhexidine added to glass-ionomer cements. Scand J Dent Res. 1991;99(6):533-40.

14- Cohen WJ, Wiltshire WA, Dawes C, Lavelle CL. Long-term in vitro fluoride release and rerelease from orthodontic bonding materials containing fluoride. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2003;124(5):571-6.

15- Evrenol BI, Kucukkeles N, Arun T, Yarat A. fluoride release copcecities of four different orthodentic adhsives. J Clin Pediatr Dent. 1999;23(4):315-9.

16- Jedrychowski JR, Caputo AA, Kerper S. Antibacterial and mechanical properties of restorative materials combined with chlorhexidines. J Oral Rehabil. 1983;10(5):373-81.

17- Addy M, Handley R. The effects of the incorporation of chlorhexidine acetate or some physical properties of polymerized and plasticized acrylics. J Oral Rehabil. 1981;8(2):155-63.

18- Ashcraft DB, Staley RN, Jakobsen JR. Fluoride release and shear bond strengths of three light-cured glass ionomer cements. Am J Orthod Dentofacial Orthop. 1997;111(3):260-5.

19- Elsome AM, Hamilton-Miller JM, Brumfitt W, Noble WC. Antimicrobial activities in vitro and in vivo of transition element complexes containing gold(I) and osmium(VI). J Antimicrob Chemother. 1996;37(5):911-8.

20- Abou El-Nour, Kholoud MM, Eftaiha A , Al-Warthan A , Ammar R . Synthesis and applications of silver nanoparticles. Arab J chem. 2010; 3: 135-40.

21- Phan TN, Buckner T, Sheng J, Baldeck JD, Marquis RE. Physiologic action of zinc related to inhibation of acid and alkali production by oral streptococci in suspensions and biofilms. Oral Microbiol Immunol. 2004;19(1):31-8.

22- Lansdown AB. Silver in health care. Antimicrobial effects and safety in use. Curr Probl Dermatol. 2006;33:17-34.

23- Amin HE. Clinical and antibacterial effectiveness of three

Archive of SID

www.SID.ir

different sealant materials. J Dent Hyg. 2008;82(5):45.

24- Naorungroj S, Wei HH, Arnold RR, Swift EJ Jr, Walter R. Antibacterial surface properties of fluoride-containing resin-based sealants. J Dent. 2010;38(5):387-91.

25- Bayrak S, Tunc ES, Aksoy A, Ertas E, Guvenc P, Ozer S. Fluoride release and recharge from different meterials used as fissure sealants. Eur J Dent. 2010;4(3):245-50.

26- Loyola-Rodriguez JP, Garcia-Godoy F. Antibacterial activity of fluoride release sealants on mutans streptococci. J Clin Pediatr Dent. 1996;20(2):109-11.

27- Nam KY. In vitro antimicrobial effect of the tissue conditioner containing silver nanoparticles. J Adv Prosthodont. 2011;3(1):20-4.

28- Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. J Colloid Interface Sci. 2004;275(1):177-82.

29- Cheng L, Weir MD, Xu HH, Antonucci JM, Kraigsley AM, Lin NJ, et al. Antibacterial amorphous calcium phosphate nanocomposites with a quaternary ammonium dimethacrylate and silver nanoparticles . Dent Mater. 2012;28(5):561-72.

30- Durner J, Stojanovic M, Urcan E, Hickel R, Reichl FX. Influence of silver nano-particles on monomer elution fromlight-cured composites. Dent Mater. 2011;27(7):631-6.

31- Matalon S, Slutzky H, Mazor Y, Weiss EI. Surface antibacterial properties of fissure sealants. Pediatr Dent. 2003;25(1):43-8.

32- Jia H, Hou W, Wei L, Xu B, Liu X. The structures and antibacterial properties of nano-SiO2 supported silver/zinc–silver materials. Dent Mater. 2008;24(2):244-9.

Archive of SID

www.SID.ir