

مقایسه آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی محلولهای نانوذرات نقره و کلر هگزیدین بر استرپتوکوک سانگوئیس و اکتینومایسین ویسکوزوس

دکتر رخساره صادقی^۱- دکتر پرویز اولیا^۲- دکتر محمد باقر رضوانی^۳- دکتر فریال طالقانی^۱- دکتر فاطمه شریف^۴

۱- استادیار گروه آموزشی پریودنٹولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شاهد

۲- استاد گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد

۳- استادیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شاهد

۴- دندانپزشک

چکیده

زمینه و هدف: در سالهای اخیر خواص ضد میکروبی نانوذرات نقره در زمینه‌های مختلف پژوهشی مورد بررسی قرار گرفته، اما مطالعه‌ای در مورد اثر آن بر میکروارگانیسم‌های پلاک دندانی انجام نشده است. هدف از این مطالعه بررسی آزمایشگاهی تأثیر محلول نانوذرات نقره بر میکروارگانیسم‌های اکتینومایسین ویسکوزوس و استرپتوکوکوس سانگوئیس موجود در پلاک میکروبی و مقایسه آن با کلر هگزیدین می‌باشد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی جهت بررسی اثرات آنتی باکتریال نانوذرات نقره و کلر هگزیدین، از روش Broth Microdilution استفاده شد، بدین ترتیب که رقتیهای متساوی از هر دو محلول را با باکتری مجاور کرده تا حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (Minimum Antibacterial Concentration=MBC) و حداقل غلظت باکتریوسیdal (Minimum Inhibitory Concentration=MIC) به روش رقت‌های متوالی تعیین گردد. هر آزمایش حداقل پنج بار تکرار گردید تا از صحبت آزمایشها اطمینان حاصل شود.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد میزان MIC محلول نانوذرات نقره و کلر هگزیدین علیه استرپتوکوکوس سانگوئیس به ترتیب ۱۶ و ۲۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر، و برای اکتینومایسین ویسکوزوس ۴ و ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. میزان MBC محلول نانوذرات نقره و کلر هگزیدین علیه استرپتوکوکوس سانگوئیس، ۵۱۲ و ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای اکتینومایسین ویسکوزوس ۱۶ و ۱۰۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

نتیجه‌گیری: نانوذرات نقره دارای فعالیت ضد باکتری خوبی علیه استرپتوکوکوس سانگوئیس و اکتینومایسین ویسکوزوس است که این اثر در مقایسه با کلر هگزیدین با غلظتها پایینتری از محلول نانوذرات نقره حاصل می‌شود.

کلید واژه‌ها: نانوذرات نقره- مقاومت- استرپتوکوک سانگوئیس.

پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۴/۸

اصلاح نهایی: ۱۳۹۰/۳/۳۱

وصول مقاله: ۱۳۸۹/۱۲/۳۴

e.mail:fateme.sharif@yahoo.com

نویسنده مسئول: دکتر فاطمه شریف، دندانپزشک

مقدمه

دست رفتن دندانها می‌شود. (۱)، اکثریت افراد جامعه نمی‌توانند توسط روش‌های مکانیکی به طور مؤثری پلاک میکروبی را از روی سطوح دندانی خود حذف کنند، بتاراین استفاده از روش‌های شیمیایی مانند کاربرد دهان‌شویه‌ها، چنانچه بتوانند سبب ارتقای مراقبتها خانگی و روزانه شود، یک راه مؤثر در حذف یا کنترل تشکیل پلاک میکروبی و عوارض ناشی از آن خواهد بود. (۲)

کلونیزه شدن میکروارگانیسم‌ها در دهان بلافضله بعد از تولد آغاز می‌شود. پس از رویش دندانها فلور پیچیده‌تری در دهان شکل می‌گیرد. میکروب‌ها از طریق پلاک دندانی اثراشان را بر روی دندانها و پریودنثیوم اعمال می‌کنند، بدین ترتیب که تجمع پاره‌های از میکروارگانیسم‌ها بر روی سطوح دندانی و لثه‌ای مجاور به صورت پلاک دندانی سبب بروز پوسیدگی و بیماریهای پریودنال و متعاقب آن از

متعددی در ایجاد بیماریهای پریودنتال دخالت دارند، ولی به علت محدودیت در انجام مطالعه روی ارگانیسم‌های بی‌هوایی، دو میکروارگانیسم استرپتوبکوک سانگوئیس و اکتینومایسین ویسکوزوس که به عنوان کلونیزه شونده‌های اولیه در پلاک میکروبی دندانی شناخته می‌شوند، انتخاب شدند. هدف از مطالعه حاضر بررسی خواص ضد میکروبی نانوسیلور بر دو میکروارگانیسم فوق است که به طور اولیه در پلاک تجمع می‌یابند.

روش بررسی

این مطالعه به صورت تجربی و آزمایشگاهی (*In vitro*) انجام شد. جمعیت مورد مطالعه در این مطالعه، دو میکروارگانیسم *Actinomyces* و *Streptococcus sanguis* (PTCC 1449) و *S. viscosus* (PTCC 1202) می‌باشد که به صورت انتخابی از مرکز کلکسیون قارچها و باکتری‌های عفونی و صنعتی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. نانوسیلور مورد استفاده در این مطالعه از شرکت Pharma chem آلمان و به صورت محلول کلوئیدال ۱/۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و اندازه متوسط ابعاد ده نانومتر تهیه شد.

کلرهگزیدین مورد استفاده در این مطالعه از شرکت داروسازی دنیای بهداشت با نام تجاری هگزوداین و با غلظت ۱۲٪ تهیه گردید. برای انجام تست MIC یا تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد محلول نانوسیلور و دهان‌شویه کلرهگزیدین علیه باکتری استرپتوبکوکوس سانگوئیس و یا اکتینومایسین ویسکوزوس از روش Broth microdilution استفاده شد. (۲۰)، تعداد ۱۲ لوله آزمایش استریل (۱۶ × ۱۰۰) انتخاب و از شماره ۱۲-۱ شماره گذاری شد. به لوله‌های ۱۰-۱ یک میلی لیتر از محیط مولر هینتون براث اضافه شد، هزارو دویست و هشتاد میکرولیتر از سوسپانسیون نانوسیلور (۱/۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) برداشته و در لوله آزمایش جداگانه‌ای به هفتصد و بیست میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث که با ۲/۵ برابر غلظت تهیه شده بود، اضافه شد و توسط ورتکس خوب مخلوط گردید. یک میلی‌لیتر از محتويات این لوله که حاوی

در سالهای اخیر فناوری نانو توانسته است تحولات عمیقی در زمینه پژوهش و تولید محصولات مختلف ایجاد کند. (۲)، در این فناوری از مواد در ابعاد نانومتر جهت تولید محصولات جدید استفاده می‌شود. (۴)، ماده در ابعاد نانو در مقایسه با همان ماده به صورت توده، رفتار متفاوتی نشان می‌دهد. (۵-۷)، یکی از محصولات فناوری نانو، نانوذرات نقره می‌باشد. اثرات ضد میکروبی نقره از دیر باز شناخته شده است، توانایی ارائه نقره از طریق ساختار نانوکریستال به طرز شگرفی ارزش بیولوژیکی و ضد میکروبی آن را بالا برده است، (۸) زیرا نانو ذرات نقره سطح تماس بیشتری در مقایسه با ذرات نقره به صورت توده دارد. این امر سبب اثر ضد میکروبی بالاتر آن می‌شود، به طوری که مقدار بسیار اندکی از ذرات نقره به صورت نانو لازم است تا اثر ضد میکروبی مشابه با نقره به صورت توده داشته باشد. (۹) (۱۳-۹) کلرهگزیدین نیز یک دیگرانو-هگزیدین با خصوصیات آنتی‌سپتیک مشخص می‌باشد که تا به امروز به عنوان بهترین ماده در درمان التهاب لثه پذیرفته شده است. عوارض جانبی موضعی و برگشت پذیراین ماده شامل قهوه‌ای رنگ شدن دندانها، زبان و ترمیمهای سیلیکات و رزین و اختلال گذرا در حس چشایی می‌باشد. دهان‌شویه کلرهگزیدین، حاوی ۱۲٪ الکل نیز می‌باشد که باعث نگرانی کلینیسین و بیماران است، چرا که استفاده مداوم از الکل خطر ابتلا به سرطانهای دهانی - حلقی را افزایش می‌دهد. (۱)

نتایج بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که برخلاف آنتی بیوتیک‌های رایج که معمولاً فقط روی باکتری‌ها اثر کشند و مهاری دارند، نانوسیلور علاوه بر باکتری‌ها دارای اثرات کشندگی روی طیف وسیعی از قارچ‌ها، پورتوزوا و حتی ویروس‌ها می‌باشد. (۱۸) در مورد تأثیر محلول نانو سیلولر روی میکروارگانیسم‌های پلاک میکروبی دندان مطالعه‌ای به عمل نیامده است. استرپتوبکوکوس سانگوئیس و اکتینومایسین ویسکوزوس (*Streptococcus sanguis*) و *Actinomyces viscosus*) دو میکروارگانیسمی هستند که به عنوان کلونیزه شونده‌های اولیه در تشکیل پلاک دندانی ایفای نقش می‌کنند. (۱۹)، اگرچه میکروارگانیسم‌های

و با تعداد سلول زنده در واحد حجم اینوکلوم اولیه (Origin alinoculum) مقایسه شد. از آنجایی که حتی داروهای باکتریوسیدال همیشه به طور کامل یک جمعیت باکتریال را از بین نمی‌برند، کمترین غلظتی از ماده ضد میکروبی که تعداد باکتری‌های زنده را به کمتر از ۱٪ اینوکلوم اولیه کاهش دهد، به عنوان حداقل غلظت کشندۀ باکتری (Minimal Bactericidal Concentration) در نظر گرفته شود. (۲۰)

تمامی مراحل تست MIC و MBC، پنج بار تکرار شد تا از صحت انجام آزمایشات اطمینان حاصل شود. در مرحله بعد قدرت باکتریوسیدال در لوله مورد آزمایش قرار گرفت. برای MBC انجام این کار نانوسیلور را با غلظت مشابه با غلظت C و دهان‌شویه کلرهگزیدین را به میزان پیشنهادی شرکت تولید کننده (۱۵ سی) تهیه و به هریک از آنها پنجاه میکرولیتر سوسپانسیون باکتری اضافه شد. از آنجا که به طور معمول دهان‌شویه سی ثانیه در دهان قرار می‌گیرد. (۱)، لذا در این تست زمان مجاور کردن محلولها با سوسپانسیون میکروبی، سی ثانیه در نظر گرفته شد. در این فاصله محتويات داخل لوله‌ها را ورتکس کرده و پس از سی ثانیه تماس با سر سمپلر استریل پنجاه میکرولیتر از مخلوط ماده ضدغونه و باکتری را برداشته و در محیط کشت مولر هینتون براث کشت ثانوی داده و مجدداً لوله‌ها را ورتکس کرده و لوله‌های حاوی سویه‌های باکتری هرکدام به انکوباتور مخصوص خود منتقل شد و در حین کار دقت گردید که شرایط استریل رعایت شود تا آنکه ثانویه پیش نیاید. همچنین فاصله زمانی بین افزودن سوسپانسیون باکتری به لوله‌ها و تهیه کشت ثانوی همان سی ثانیه بود.

این مرحله از آزمایش برای هر باکتری پنج بار تکرار گردید تا خطای آزمایشگر به حداقل برسد. نتایج بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرائت شد. بر اساس کدورتی که در لوله‌ها حاصل می‌شود، نتایج خوانده می‌شود و شفاف بودن محتويات لوله‌ها نشانگر استریل بودن آنها است به این معنی که محلول در رقت تهیه شده تأثیر باکتریوسیدال داشته و باکتری‌ها کلاً از بین رفتند و در کشت مجدد رشد نکرده است و اگر کدر باشد، مشخص می‌شود

۶۴ میکروگرم نانوسیلور بود به لوله شماره یک اضافه شد. در نتیجه غلظت نهایی نانوسیلور در لوله شماره یک به ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر رسید. سپس محتويات لوله شماره یک را خوب ورتکس کرده و بعد یک میلی‌لیتر از لوله شماره یک را به لوله شماره دو اضافه کرده و خوب ورتکس گردید و این کار را تا لوله شماره ده ادامه یافت. از لوله شماره ده مقدار یک میلی‌لیتر از محلول دور ریخته شد. در هر مرحله نوک سمپلر عوض گردید. در پایان این مرحله، لوله اول دارای محلول نانوسیلور با غلظت ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده که به نسبت ۱/۲ در لوله‌های بعدی رقیق شد و در لوله دهم به غلظت ۰/۰۶۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر رسید. به عبارت دیگر لوله‌ها حاوی غلظتها را به تدریج کاهش یافته نانوسیلور بودند. در مرحله بعد، به اندازه یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده که حاوی 10^6 باکتری در هر میلی‌لیتر بود، به هر لوله اضافه شد. بنابراین در هر لوله آزمایش 5×10^5 واحد کلونی در میلی‌لیتر وجود داشت که مطابق استاندارد روش براث مایکرو دایلوشن بود.

پس از آن غلظت نانوسیلور در حجم نهایی (دو میلی‌لیتر) محاسبه گردید که ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر در لوله اول تا ۰/۰۳۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر در لوله دهم خواهد بود. لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از زمان انکوباسیون کمترین غلظتی از نانوسیلور که باعث مهار رشد باکتری گردید و با مشاهده عدم کدورت در لوله مشخص می‌شود، به عنوان MIC محلول نانوسیلور در برابر سویه میکروبی در نظر گرفته شد. (۲۰)

تمام مراحل فوق برای دهان‌شویه کلرهگزیدین ۰/۱۲٪ نیز انجام گردید. بعد از اینکه MIC تعیین شد، مقدار معینی (صد میکرولیتر) اینوکلوم، از یک لوله قبل از لوله‌ای که به عنوان MIC انتخاب شده بود و از تمامی لوله‌های بعدی که کدورت نداشتند، برداشته و روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت سطحی کشت داده شد. بعد از آن تمامی پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند و پس از ۲۴ ساعت تعداد کلنی‌ها شمارش شده

داشت، به این ترتیب که میکروارگانیسم‌ها در لوله‌های حاوی محیط کشت مولرهینتون رشد نکرده و محتویات لوله‌ها شفاف بود.

که تعدادی از باکتری‌ها پس از مجاورت با ماده آنتی باکتریال، پس از سی ثانیه زنده مانده و در کشت مجدد رشد کرده‌اند.

بحث

در این مطالعه اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره علیه دو میکروارگانیسم پلاک دندانی یعنی استرپتوکوکوس سانگوئیس و اکتینومایسیس ویسکوزوس، از طریق تعیین کمترین غلظت برای مهار رشد و بقای باکتری‌ها (MBC و MIC) مورد بررسی گرفت. روش آزمایشگاهی مورد استفاده، روش رقیق‌سازی متوالی (Brothmicrodilution) بود که به عنوان یک روش استاندارد در آزمایشگاهها استفاده می‌شود و در مقایسه با سایر روشها نظریه روش انتشاری در چاهک، دقیقتر و قابل اعتمادتر بوده و نتایج حاصل از آن راحت‌تر از سایر روشها تفسیر می‌شود. (۲۰ و ۲)

عوامل مداخله‌گر در این مطالعه شامل محیط کشت، درجه حرارت، رطوبت، pH، حضور مواد آلی و معدنی در محیط‌ها، شکل باکتری و مرحله رشد آنها به دقت یکسان‌سازی شدند. MIC سوسپانسیون نانوذرات سیلور علیه باکتری‌های استرپتوکوکوس سانگوئیس و اکتینومایس ویسکوزوس به ترتیب برابر ۱۶ و ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر است و میانگین MBC به ترتیب ۶۴ و ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر. به نظر می‌رسد باکتری اکتینومایس ویسکوزوس نسبت به استرپتوکوکوسانگوئیس در مقابل این ماده حساس‌تر می‌باشد. در این مطالعه اثر آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره با کلره‌گزیدین ۱۲٪ مقایسه شد. میزان MIC محلول نانوذرات نقره در رابطه با هر دو گونه باکتری مورد بررسی یک شانزدهم کلره‌گزیدین بود. میزان MIC محلول نانوذرات نقره علیه استرپتوکوکوس سانگوئیس یک هشت‌تم و برای اکتینومایسیس ویسکوزوس تقریباً یک‌ششم کلره‌گزیدین بود. به عبارت دیگر، نانوذرات نقره در مقایسه با کلره‌گزیدین در غلظتهای پایین‌تری اثر مهاری خود را بر میکروارگانیسم‌های فوق اعمال می‌کند. این در حالی است که نتایج مطالعاتی که به مقایسه اثر کلره‌گزیدین با سایر

یافته‌ها

یافته‌ها نشان داد میزان MIC محلول نانوذرات نقره و کلره‌گزیدین در رابطه با استرپتوکوکوس سانگوئیس به ترتیب، ۱۶ و ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر، در حالی که برای اکتینومایسیس ویسکوزوس به ترتیب ۴ و ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. (جدول ۱)

جدول ۱: حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC)

گونه باکتری	محلول نانوذرات نقره	دهان‌شویه کلره‌گزیدین
استرپتوکوکوس	۱۶	میکروگرم در میلی‌لیتر
سانگوئیس		میکروگرم در میلی‌لیتر
اکتینومایسیس	۴	
ویسکوزوس		

میزان MIC محلول نانوذرات نقره و کلره‌گزیدین روی استرپتوکوکوس سانگوئیس، ۶۴ و ۵۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر، در حالی که برای اکتینومایسیس ویسکوزوس ۱۶ و ۱۰۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. (جدول ۲)

جدول ۲: حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC)

گونه باکتری	محلول نانوذرات نقره	دهان‌شویه کلره‌گزیدین
استرپتوکوکوس	۶۴	میکروگرم در میلی‌لیتر
سانگوئیس		میکروگرم در میلی‌لیتر
اکتینومایسیس	۱۶	
ویسکوزوس		

یافته‌های مربوط به مرحله دوم آزمایش (تعیین قدرت باکتریوسیدال در لوله) نشان داد که غلظت پیشنهادی شرکت تولید کننده دهان‌شویه کلره‌گزیدین و غلظت MBC سوسپانسیون نانوسیلور در مدت سی ثانیه اثر باکتریوسیدال

دست آمده است و ممکن است این غلظت در شرایط کلینیکی چنین اثری نداشته باشد. علت این امر تفاوت محیط دهان و وجود عواملی است که در محیط آزمایشگاه وجود ندارد. در محیط دهان ماتریکس بین سلولی پلاک از تأثیر دهان‌شویه و سایر مواد ضد میکروبی موضعی روی میکروارگانیسم‌ها پلاک جلوگیری می‌کند. (۱)، نقش بزرگ از لحاظ تغییر pH دهان و رقیق کردن ماده نیز قابل ذکر است. حرارت دهان با درجه حرارت انکوباتور متفاوت می‌باشد، وجود خون در محیط و توان اکسیداسیون و احیای مختلف در نقاط مختلف حفره دهان را نیز می‌توانند روی نتایج اثر بگذارند. (۱)، مسئله قابل توجه دیگر این است که در لوله‌ها و پلیت‌های حاوی محیط کشت، ماده ضد میکروبی به طور مدام در تماس با میکروب می‌باشد ولی در استفاده از مواد ضد میکروبی به صورت دهان‌شویه معمولاً بعد از چند ثانیه قرقه کردن، ماده از محیط دهان حذف شده و عوامل موجود در دهان اثر آن را خنثی می‌کنند. در مطالعه حاضر نانوذرات نقره، به صورت خالص استفاده شده است و به صورت فرمولاسیون یک دهان‌شویه - که حاوی مواد متعدد دیگری است - به کار گرفته نشده است. اثرات یک ماده شیمیایی هنگامی که به صورت خالص استفاده می‌شود، در مقایسه با زمانی که در ترکیب با سایر مواد شیمیایی به کار می‌رود، ممکن است متفاوت باشد. (۲۵)

نتایج تمام مطالعاتی که تاکنون درباره اثر آنتی باکتریال نانوذرات نقره انجام شده، نشان می‌دهند که این ماده در غلظتهای پایین سبب مهار رشد و مرگ میکروارگانیسم‌ها می‌شود. (۲۶-۲۸)، از آنجا که سلول‌های یوکاریوت بسیار بزرگتر از پروکاریوت‌ها می‌باشد و دارای زوائد ساختاری و فانکشنال پیچیده‌تری در مقایسه با سلول‌های پروکاریوت هستند، لذا برای ایجاد اثر سیتو توکسیک در سلول‌های یوکاریوت غلظت بیشتری از یون سیلور نیاز است. (۲۹)، بنابراین بعيد به نظر می‌رسد که استفاده از نانوذرات سیلور در غلظتهای پایین که علیه میکروارگانیسم‌ها مؤثر می‌باشد، آثار سُمّی بر روی سلول‌های یوکاریوت داشته باشد، البته این موضوع نیاز به بررسیهای بیشتری دارد.

محصولات آنتی باکتریال پرداخته‌اند، نشان می‌دهند که کلرهگزیدین، نسبت به سایر مواد اثر آنتی باکتریال قویتری روی میکروارگانیسم‌های پلاک دندانی دارد. (۲۳-۲۱)، به عنوان مثال، در مطالعه‌ای که توسط Haffajee و همکارانش در سال ۲۰۰۸ به روش سریال دایلوجن و با تعیین MIC انجام گرفت، نشان داده شد که دهان‌شویه کلرهگزیدین در مقایسه با یک دهان‌شویه گیاهی و Essential oil دارای اثر آنتی باکتریال بالاتری روی چهل میکروارگانیسم دهانی می‌باشد. (۲)، تحقیق روستایی و همکارانش در سال ۱۳۷۹ جهت مقایسه کلرهگزیدین با دهان‌شویه گیاهی پرسیکا MIC علیه دو گونه باکتری استرپتوكوکوس سانگوئیس و اکتینومایس ویسکوزوس را تعیین کردند و نشان دادند که کلرهگزیدین دارای اثر ضد باکتری قویتری نسبت به پرسیکا می‌باشد. (۲۳)، در مرحله دیگری از مطالعه، به منظور مقایسه زمان تأثیر ضد میکروبی نانوذرات نقره و دهان‌شویه کلرهگزیدین، از روش تعیین قدرت باکتریوسیدال در لوله، استفاده شد. از آنجا که کاربرد کلرهگزیدین به مدت سی ثانیه در دهان سبب تأمین اثرات ضد میکروبی آن می‌شود (۱)، در رابطه با نانو نقره این سوال مطرح می‌شود که آیا این ماده هم می‌تواند در طی این مدت اثر ضد میکروبی خود را اعمال کند یا خیر، لذا در این آزمایش، محلولها به مدت سی ثانیه با سوسپانسیون میکروبی مجاور شدند. نتایج این مرحله از مطالعه نشان داد که محلول نانوذرات نقره نیز همانند دهان‌شویه کلرهگزیدین در مدت زمان سی ثانیه روی هر دو میکروارگانیسم مورد مطالعه اثر باکتریوسیدال داشت. سادگی این آزمایش سبب می‌شود که بتوان آن را به طور گستردگی مورد استفاده قرار گیرد و بتوان غلظتهای مختلف و زمانهای تماس متفاوت را مورد آزمایش قرار داد. مهمترین نقص روش سوسپانسیون کیفی این است که اگر تنها یک سلول باکتری باقیمانده باشد، نتیجه مشابه Hallتی است که ماده ضد عفوی کننده هیچ اثری روی میکروارگانیسم موردنظر نداشته باشد. (۲۴)

نکته‌ای که باید به آن توجه داشت این است که مقدار مؤثر نانو نقره بر علیه این دو باکتری در شرایط آزمایشگاهی به

نتیجه‌گیری

نانوذرات نقره دارای فعالیت ضدبacterی خوبی علیه استرپتوکوکوس سانگوئیس و اکتینومایسیس ویسکوزوس است که این اثر در مقایسه با کلرهکزیدین با غلظتها پایینتری از محلول نانوذرات نقره حاصل می‌شود.

تشکر و قدردانی

با سپاس و تشکر از مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شاهد که ما را در انجام این پروژه یاری کردند.

REFERENCES

1. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Clinical Periodontology. 10th ed. USA, Philadelphia: Elsevier; 2006, Chapter 6, 42.
2. Haffajee A, Yaskell T, Socransky S. Antimicrobial effectiveness of an herbal mouthrinse compared with an essential oil and a chlorhexidine mouthrinse. *J Am Dent Assoc*. 2008 May; 139(5):606-611.
3. Colvin V. The potential environmental impacts of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnol J*. 2003 Oct; 21(10):1166-1170.
4. Gleiter H. Nanostructured materials: Basic concepts and microstructure. *Acta Materialia*. 2000 Jan; 48 (1): 1-29.
5. Lewis L N. Chemical catalysis by colloids and clusters. *Chem Rev*. 1993 Dec; 93 (8): 2693–2730.
6. Králik M, Biffis A. Catalysis by metal nanoparticles supported on functional organic polymers. *J of Molec Cataly A Chem*. 2001 Dec; 177 (1): 113-138.
7. Alivisatos AP. Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots. *Science* 1996 May; 271(5251): 933-937.
8. Savage N, Diallo MS. Nanomaterials and water purification: opportunities and challenges. *J Nanoparticle Res*. 2006 Oct; 7(5): 331-342.
9. Shrivastava S, Bera T, Roy A, Singh G, Ramachandrarao P. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology* 2007 Oct; 18(22): 225103.
10. 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 March; 275(3): 177–182.
11. Panacek A, Kvítek L, Prucek R, Kolar M, Vecerova R, Pizúrova N, et al. Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity. *J Phys Chem B*. 2006 Aug; 110(33):16248-53.
12. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnol J*. 2005 Aug; 16(8): 2346-2353.
13. Baker C, Pradhan A, Pakstis L, Pochan DJ, Shah SI. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol*. 2005 Feb; 5(2):244-9.
14. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et.al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomed J*. 2007 Mar; 3 (1): 95-101.
15. Kim H, Kang H, Chu G. Antifungal effectiveness of nanosilver colloid against rose powdery mildew in greenhouses. *Solid State Phenomena J*. 2008 Feb; 135(1): 15-18.
16. Lara H, Ayala-Nuñez L, Ixtepan-Turrent L, Rodriguez-Padilla C. Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. *J Nanobiotech*. 2010 Jan; 8(1): 1186-1477.

17. Lu L, Sun RW, Chen R, Hui CK, Ho CM, Luk JM, et.al. Silver nanoparticles inhibit hepatitis B virus replication. *Antivir Ther J.* 2008 Mar; 13(2):253-262.
18. Sun L, Singh AK, Vig K. Silver Nanoparticles Inhibit Replication of Respiratory Syncytial Virus. *J Biomed Biotechnol.* 2008 June; 4 (2):149-158.
19. Lindehe J. Clinical periodontology and implant dentistry. 3th ed. Blackwell: Munksgaard; 1994, Chapter 23.
20. Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA, Bush K, Dudley MN, Hardy D. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard J. 2009 Jan; 29 (2): 552-558.
21. Addy M, Wright R. Comparison of the invivo and invitro antibacterial properties of povidone iodine and chlorhexidine gluconate mouthrinses. *Clin Periodont J.* 1978 March; 5(8):198-205.
22. Seyedine SM, Shaffi S. Comparison of gingivitis treatment between Persica and chlorhexidine mouthrinses. [Thesis]. Tehran: Faculty of Medicine Shahid Beheshti University; 1375-76.
23. Rustayi F. Comparison between antimicrobial activity of Persica and chlorhexidine mouthrinses against Streptococcus sanguis and Actinomyces viscosus. [Thesis]. Tehran: Faculty of Dentisrt Shahed University; 1379.
24. Esalu M, Imandel K. Evaluation of hospital infection bacterials sensitivity into disinfectant and antiseptic. [Thesis]. Tehran: Faculty of Hygiene Medical Sciences of Tehran University; 1370.
25. Gazi MI. The Immediate and medium-term effects of meswak on the composition of mixed saliva. *Clin Periodontol J.* 1992 May; 21(2):113-117.
26. Lee HG, Yeo SY. Antibacterial effect of nanosized silver colloidal solution on textile fabrics. *J Biol Inorg Chem.* 2003 May;16(3) :44-7.
27. Shahverdi AR, Fakhimi A, Shahverd i HR. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *Nanomedicine J.* 2007 Nov; 3(6):168-171.
28. Dabbagh MA, Moghimipour E, Ameri A. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of nanosilver containing hydrogels. *Iranian J of Pharmaceut Res.* 2008 Feb; 7 (1): 21-28.
29. ALT V, Bechert T, Steinrucke P, Wagener M, Seidel P, Dingeldein E. An invitro assessment of antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomaterials J.* 2004 Sep; 25(10): 4383-4391.