

Original Article

Assessment of the anti-bacterial efficacy of the silver incorporated resin composites

Mohammad Hossein Farahani¹ , Abolfazl Farahani² *, Hasanali Shafiee¹ , Hamid Farahani³ 

¹Orthodontist Resident,
Faculty of Dentistry, Shahid
Beheshti University of
Medical Sciences, Tehran,
Iran.

²Department of Oral &
Maxillofacial Surgery,
Faculty of Dentistry, Tehran
University of Medical
Sciences, Tehran, Iran.

³Department of Physiology &
Pharmacology, Faculty of
Medicine, Qom University of
Medical Sciences, Qom,
Iran.

*Corresponding Author:
Abolfazl Farahani;
Department of Oral &
Maxillofacial Surgery,
Faculty of Dentistry, Tehran
University of Medical
Sciences, Tehran, Iran.

Email:
masodfarahani@gmail.com

Received: 9 Jul, 2019
Accepted: 26 Oct, 2019

Abstract

Background and Objectives: Increased bacterial (streptococcal) biofilm aggregation on the surface of resin composite restorations in comparison with amalgam and glass ionomer restorations makes the composite restorations susceptible to secondary caries next to the restorations. In this study, the anti-*Streptococcus mutans* properties of resin composites containing silver nanoparticles were investigated.

Methods: In this experimental - laboratory study, using turbidity (spectrophotometry) test, the anti-streptococcus *mutans* properties of resin composites containing 0, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05% w/w of nanosilver particles, were investigated. the composites were adapted on the wall surfaces of 400µl microplates, and after curing or stiffening (by light curing apparatus), they were exposed to the bacterial suspension in broth medium. After 3, 24, and 48 hours, the optical density of the broth was read by spectrophotometer.

Results: The results of the one-way analysis of variance showed that optical density (index of bacterial proliferation) in the composites containing silver nanoparticles with concentration of 0.03% w/w significantly decreased at times of 3 h (0.080 ± 0.0009), 24h (0.079 ± 0.0013), and 48 h (0.079 ± 0.008) in comparison with composites without silver nanoparticles (0.089 ± 0.005 , 0.094 ± 0.005 , and 0.101 ± 0.009 , respectively), which is indicative of significant decrease in bacterial proliferation. This antibacterial effects did not increase in composites containing 0.04 and 0.05 % w/w concentrations of silver nanoparticles.

Conclusion: The results of this study revealed that all groups of the composite containing silver nanoparticles have antibacterial effect. Furthermore, optimal antibacterial effect exists in groups containing silver nanoparticles with concentration of 0.03% w/w.

Keywords: Nanoparticles; Silver; *Streptococcus mutans*; Synergy composite resin.

DOI: 10.29252/qums.13.10.1

بررسی خواص ضد باکتریایی رزین کامپوزیت‌های حاوی نقره

محمدحسین فراهانی^۱، ابوالفضل فراهانی^۲، حسنعلی شفیعی^۳، حمید فراهانی^۳

چکیده

زمینه و هدف: افزایش تجمع بیوفیلم باکتریایی (استرپتوکوکی) بر سطح ترمیم‌های کامپوزیتی در مقایسه با ترمیم‌های آمالگام و گلوکس آینومر سبب مستعد شدن ترمیم‌های کامپوزیتی به پوسیدگی‌های ثانویه مجاور ترمیم می‌گردد. در این مطالعه، خواص ضد استرپتوکوک موتانس رزین کامپوزیت‌های حاوی نانوذرات نقره بررسی شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی، خواص ضد موتانس کامپوزیت‌ها پس از افزودن نانوذرات نقره به آن‌ها در درصدهای وزنی ۰، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴ و ۰/۰۵ با تست اسپکتروفتومتر بررسی گردید. کامپوزیت‌ها بر روی دیواره‌های میکروپلیت‌های ۴۰۰ میکرولیتری تطابق‌یافته و پس از کیور یا سفت شدن (با دستگاه لایت کیور)، در مجاورت باکتری‌های غوطه‌ور در محیط کشت مایع قرار گرفتند، سپس در زمان‌های ۳، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد، طیف جذبی محیط کشت به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت گردید.

یافته‌ها: براساس نتایج آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه، میزان تراکم نوری (شاخص تکثیر باکتری) در کامپوزیت‌های حاوی نانوذرات نقره با غلظت‌های ۰/۰۳٪ وزن جرمی در زمان‌های ۳ (۰/۰۸۰±۰/۰۰۰۹)، ۲۴ (۰/۰۷۹±۰/۰۰۱۳) و ۴۸ (۰/۰۷۹±۰/۰۰۰۸) ساعت در مقایسه با کامپوزیت‌های بدون نانوذرات نقره (به ترتیب ۰/۰۸۹±۰/۰۰۰۵، ۰/۰۹۴±۰/۰۰۰۵ و ۰/۰۹۱±۰/۰۰۰۹)، به طور معنی‌داری کاهش یافت که نشان‌دهنده کاهش چشمگیر تکثیر باکتری‌ها بود. در کامپوزیت‌های دارای غلظت‌های ۰/۰۴٪ و ۰/۰۵٪ نانوذرات نقره، این اثرات ضد باکتریایی افزایش نیافت.

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر نشان داد تمامی گروه‌های کامپوزیتی حاوی نانوذرات نقره دارای اثر ضد باکتریایی هستند. به علاوه، بهینه اثر ضد باکتریایی در گروه حاوی غلظت ۰/۰۳ وزنی نانوذرات نقره قرار دارد.

کلیدواژه‌ها: نانوذرات؛ نقره؛ استرپتوکوک موتانس؛ رزین کامپوزیت سینرژي.

^۱دستیار ارتودنسی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

^۲گروه جراحی فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

^۳گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

ابوالفضل فراهانی؛ گروه جراحی فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

masodfarahani@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۶/۴

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Farahani MH, Farahani A, Shafiee HA, Farahani H.
Assessment of the anti-bacterial efficacy of the silver
incorporated resin composites. Qom Univ Med Sci J 2019;13(10):1-9. [Full Text in
Persian]

مقدمه

کامپوزیت‌ها، مواد ترمیمی همرنگ دندان می‌باشند. در عصر حاضر، پوسیدگی دندانی به یک مشکل سلامت دندانی در کشورهای متعدد و حتی کشورهای توسعه‌یافته تبدیل شده است (۱). بهداشت نامناسب دهان و دندان باعث رشد باکتری‌های بی‌هوازی، تکثیر پلاک و جرم دندانی می‌شود (۲). بیوفیلم دندانی که مهم‌ترین ترکیب پوسیدگی‌زای آن *استرپتوکوک موتانس* است (۳، ۴)، به سطوح دندان و ترمیم می‌چسبد و با تولید متابولیت‌های اسیدی از مواد غذایی، سبب دمی‌نرالیزاسیون دندان می‌شود. پوسیدگی ثانویه، ضایعه‌ای است که در لبه یک ترمیم ایجاد می‌شود و به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان مهم‌ترین و شایع‌ترین علت تعویض ترمیم، بدون توجه به نوع ماده ترمیمی شناخته شده است (۵). امروزه، عموماً پوسیدگی‌های ثانویه یا راجعه به‌صورت یک ضایعه پوسیدگی اولیه دندان در حاشیه یک ترمیم موجود که برای مدتی استفاده شده، تعریف می‌گردد (۶). در بین مواد ترمیمی مختلف، بیوفیلم قدرت چسبندگی متفاوتی را نشان داده است. در طی مطالعات صورت گرفته، کامپوزیت رزین‌ها نسبت به آمالگام و گلاس یونومر دارای تجمع بیشتر بیوفیلم و اثرات ضدباکتریایی کمتری بوده‌اند که این خود، میزان پوسیدگی‌های ثانویه را افزایش می‌دهد (۷). بنابراین یک راه مهم پیشگیری از پوسیدگی‌های ثانویه، جلوگیری از رشد بیوفیلم بر روی سطوح دندان و ترمیم است (۸). از آنجایی که دوام ترمیم‌ها و بهداشت دهان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است؛ لذا مطالعات متعددی در زمینه ایجاد اثر ضد باکتریایی در رزین کامپوزیت‌ها با افزودن ترکیباتی نظیر ذرات تیتانیوم، طلا و نقره صورت گرفته است (۹، ۱۰). از سال‌ها قبل، اثرات مفید ضدباکتریایی نقره شناخته شده است (۱۱). نانوذرات نقره بر روی رنج وسیعی از باکتری‌های گرم منفی تا گرم مثبت و حتی طیف مقاوم به آنتی‌بیوتیک تأثیر دارد (۱۲). اثرات ضدباکتریایی، وابسته به غلظت و اندازه ذرات است؛ به‌طوری‌که هرچه غلظت ذرات بیشتر و اندازه ذرات کوچکتر باشد خاصیت ضدباکتری آن نیز بیشتر می‌شود (۱۲). همچنین جدای از اندازه و غلظت، شکل ذرات نیز بر خاصیت ضدباکتریایی تأثیرگذار است. طی تحقیقات صورت گرفته، نانوپلیت‌ها مؤثرتر از سایر اشکال ذرات بوده‌اند (۱۳).

این ذرات به گروه‌های مولکولی دارای فسفر و گوگرد، تمایل دارند. یون‌های نقره آزادشده با آسیب به زنجیره انتقال الکترون موجود در غشای سلولی باکتری و رونویسی DNA، اثرات خود را اعمال می‌کنند (۸). تحقیقات نشان داده‌اند فیلرهای حاوی ذرات نقره دارای تأثیرات حفاظتی خیلی خوبی بر روی *استرپتوکوک موتانس* هستند (۱۴). در مطالعه حاضر با افزودن درصد‌های مختلف وزنی از نانوذرات نقره با میانگین اندازه ۴۰ نانومتر به کامپوزیت رزین‌ها، خواص ضدباکتریایی، همچنین حداقل میزان نانوذرات موجود در رزین، جهت عملکرد علیه باکتری *استرپتوکوک موتانس* بررسی گردید.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی انجام شد. گروه‌های مورد مطالعه به‌ترتیب شامل پنج گروه کامپوزیت رزین‌های حاوی ۰٪، ۰/۰۲٪، ۰/۰۳٪، ۰/۰۴٪ و ۰/۰۵٪ وزنی نانوذرات نقره (Nanosav, IRAN) بود که در تماس مستقیم با باکتری *استرپتوکوک موتانس* قرار گرفتند.

باکتری *استرپتوکوک موتانس* (*Streptococcus mutans* 1683) به‌صورت آمپول لیوفیلیزه، از مرکز مجموعه میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران تهیه گردید.

در این مطالعه، ابتدا باکتری‌ها بر روی محیط کشت جامد، کشت داده شدند. سپس از کلنی‌های رشدیافته، به‌منظور تهیه سوسپانسیون‌های مورد نیاز محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند، همچنین تهیه رقت‌های سریالی استفاده شد. پس از وزن‌کشی نانوذرات نقره به‌وسیله ترازوی دیجیتالی (Sartorius CAP225)، نانوذرات با درصد‌های مذکور در تاریک‌خانه و زیر نور قرمز به میزان ۱۰۰ میکرولیتر کامپوزیت رزین‌ها اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه با اسپاتول پلاستیکی هم زده شدند. از آنجاکه در تست تماس مستقیم، باید باکتری‌های شناور در محیط کشت مایع، در تماس با ماده رزینی قرار گیرند؛ از این رو میکروپلیت‌های ۹۶ خانه‌ای مخصوص تست سنجش حداقل غلظت مهارکننده (مشمول بر درب کیپ‌شونده و حجمی معادل ۴۰۰ میکرولیتر)، انتخاب شدند تا از آلودگی احتمالی محیط کشت جلوگیری به عمل آید.

با توجه به مدت زمان کشت باکتری، درمجموع ۹۰ میکروپلیت آماده‌سازی شد. به‌وسیله سمپلر، از گروه‌های مواد کامپوزیت، هرکدام به میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به درون چاهک‌های مزبور ریخته شد و پس از تطابق یافتن کامپوزیت با دیواره‌های داخلی، عمل پلیمریزاسیون با دستگاه لایت کیور (LED DENTMATE Ledex™ WL-070) انجام گرفت. بدین ترتیب حجم مشخصی از چاهک‌ها به‌وسیله مواد کامپوزیت اشغال شد (۱۰۰ میکرولیتر) و حجم ۳۰۰ میکرولیتر در محفظه باقی می‌ماند که متعاقباً مایع در آن قرار می‌گرفت. درادامه، مایع فوق‌الذکر در محیط اطراف خود در تماس با کامپوزیت، آزمایش شد. جهت این آزمایش از هرگروه، ۶ نمونه تهیه گردید و با توجه به مدت زمان کشت باکتری، درمجموع ۹۰ میکروپلیت آماده‌سازی شد. تست اسپکتروفتومتری جهت بررسی خواص ضدباکتریایی در سطح آزاد کامپوزیت‌های حاوی نانوذرات نقره صورت گرفت.

در این مطالعه، ابتدا باکتری‌ها بر روی محیط کشت جامد، کشت داده شدند. سپس از کلنی‌های رشدیافته، به‌منظور تهیه سوسپانسیون‌های موردنیاز محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند، همچنین تهیه رقت‌های سریالی استفاده گردید. میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند به درون هریک از ظرف‌ها ریخته شد و به آن ۱۵۰ میکرولیتر محیط (TSB (Tryptic Soy Broth اضافه گردید، ظرف‌ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و در زمان ۳، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد (۲۲)، میزان تراکم نوری محیط‌های کشت به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Synergy HT, BioTek) در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر ثبت گردید. برای تعیین میزان باکتری، نیاز بود تا یک نمودار تراکم نوری - تعداد باکتری اختصاصی رسم گردد؛ بدین‌صورت که با تهیه یک محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند (حاوی 1×10^8 باکتری/استریپتوکوک موتانس در هر میلی‌لیتر) و

تنظیم دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر، میزان تراکم نوری، تعیین و مقدار آن بر روی محور عمودی نمودار ثبت گردید. سپس با استفاده از رقیق‌سازی سریالی باکتری (Serial Dilution)، تراکم نوری در مقادیر مختلف باکتری نیز ثبت و منحنی آن رسم شد. درادامه، با به دست آوردن معادله رگرسیون خطی، معادله تعداد باکتری/استریپتوکوک موتانس مشخص گردید.

در مرحله بعد، خواص ضد/استریپتوکوک موتانس (شیاربندی‌های فلورایددار و بدون فلوراید) پس از افزودن نانوذرات نقره بررسی گردید.

براساس دستورالعمل دستگاه، مقادیر تراکم نوری تا حداکثر ۰/۳ مجاز بوده و مقادیر بیشتر نامعتبر می‌باشد. برای تعیین نرمال‌بودن توزیع متغیرها در هرگروه، از آزمون کلموگراف - اسمیرنوف استفاده شد. همچنین برای بررسی میزان تفاوت در میانگین تراکم نوری چاهک‌های کامپوزیت (حاوی درصد‌های مختلف وزنی نانوذرات نقره در دوره‌های زمانی اندازه‌گیری)، از آزمون آنالیز واریانس با تکرار و جهت بررسی میزان تفاوت در بین میانگین تراکم نوری و تعداد باکتری چاهک‌های حاوی کامپوزیت با درصد‌های مختلف نانوذرات نقره در هریک از زمان‌های ۳، ۲۴ و ۴۸، از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. سطح معنی‌داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد. نتایج به‌صورت (Mean $\pm$ SD) بیان گردید.

یافته‌ها

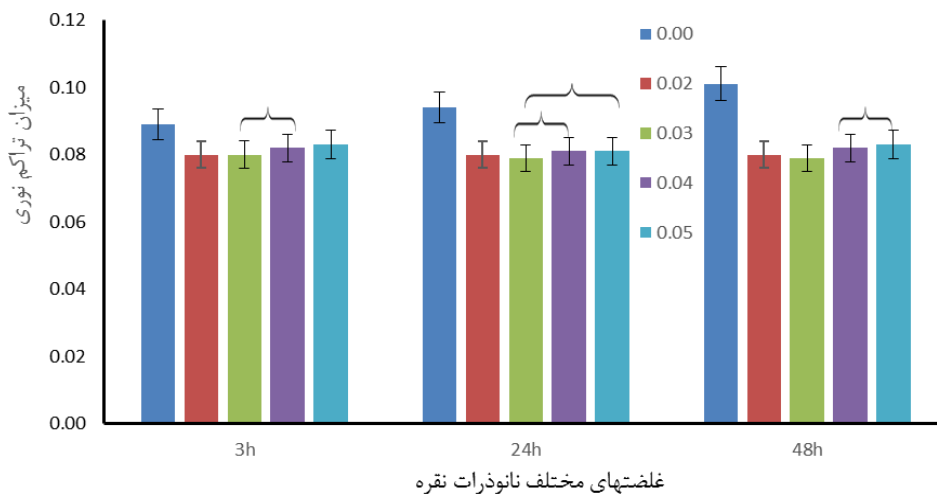
میزان کاهش تراکم نوری، به‌عنوان شاخص مهمی برای تکثیر باکتری است. مقادیر میانگین تراکم‌های نوری و تعداد باکتری‌های رشدیافته در گروه‌های مختلف کامپوزیت‌های حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره در جدول نشان داده شده است.

جدول: میانگین میزان تراکم‌های نوری و تعداد باکتری‌های رشد یافته در گروه‌های مختلف کامپوزیت‌های حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره

غلظت نانوذرات نقره در کامپوزیت‌ها	زمان	میزان تراکم نوری (کاندلا)	تعداد باکتری
۰/۰۰	۳ ساعت	۰/۰۸۹±۰/۰۰۰۵	۹۱۹۹۱۶۶±۲۱۸۷۲/۸۲۰
	۲۴ ساعت	۰/۰۹۴±۰/۰۰۰۵	۹۷۸۷۰۸۳±۲۱۸۷۲/۴۲۰
	۴۸ ساعت	۰/۱۰۱±۰/۰۰۰۹	۱۰۴۷۸۷۵۰±۳۷۸۸۴/۴
۰/۰۲	۳ ساعت	۰/۰۸۰±۰/۰۰۰۹	۸۳۰۰۰۰±۳۷۸۸۴
	۲۴ ساعت	۰/۰۸۰±۰/۰۰۲۰	۸۳۳۴۵۸۳±۸۷۴۸۹
	۴۸ ساعت	۰/۰۸۰±۰/۰۰۰۵	۸۳۳۴۵۸۳±۲۱۸۷۲
۰/۰۳	۳ ساعت	۰/۰۸۰±۰/۰۰۰۹	۸۳۰۰۰۰±۹۲۷۹۶
	۲۴ ساعت	۰/۰۷۹±۰/۰۰۱۳	۸۱۲۷۰۸۳±۱۴۱۷۴۹
	۴۸ ساعت	۰/۰۷۹±۰/۰۰۰۸	۸۱۹۶۲۵۰±۹۲۷۹۶
۰/۰۴	۳ ساعت	۰/۰۸۲±۰/۰۰۰۵	۸۵۴۲۰۸۳±۵۳۵۷۶
	۲۴ ساعت	۰/۰۸۱±۰/۰۰۰۸	۸۴۰۳۷۵۰±۹۲۷۹۶
	۴۸ ساعت	۰/۰۸۰±۰/۰۰۰۵	۸۳۶۹۱۶۶±۵۳۵۷۶
۰/۰۵	۳ ساعت	۰/۰۸۳±۰/۰۰۰۹	۸۶۱۱۲۵۰±۹۲۷۹۶
	۲۴ ساعت	۰/۰۸۱±۰/۰۰۱۰	۸۳۶۹۱۶۶±۱۰۷۱۵۲
	۴۸ ساعت	۰/۰۸۰±۰/۰۰۱۹	۸۲۶۵۴۱۶±۱۹۳۱۷۱

میزان تراکم نوری در گروه کامپوزیت‌های حاوی نانوذرات نقره با غلظت‌های ۰/۰۳٪ در زمان‌های ۳ (۰/۰۸۰±۰/۰۰۰۹)، ۲۴ (۰/۰۷۹±۰/۰۰۱۳) و ۴۸ (۰/۰۷۹±۰/۰۰۰۸) ساعت در مقایسه با گروه کامپوزیت‌های بدون نانوذرات نقره (گروه با غلظت ۰٪) (به ترتیب: ۰/۰۸۹±۰/۰۰۰۵، ۰/۰۹۴±۰/۰۰۰۵ و ۰/۱۰۱±۰/۰۰۰۹) به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<0/05$). به‌علاوه میزان تراکم نوری در کامپوزیت‌های حاوی غلظت‌های ۰/۰۴٪ و ۰/۰۵٪ نانوذرات نقره، در مقایسه با کامپوزیت‌های بدون نانوذرات نقره، به‌طور معنی‌داری کم شد ($p<0/05$). میزان تراکم نوری در کامپوزیت‌های m حاوی غلظت‌های ۰/۰۴٪ و ۰/۰۵٪ نانوذرات نقره نسبت به کامپوزیت‌های حاوی غلظت‌های ۰/۰۳٪ نانوذرات نقره کاهش نشان نداد. این یافته بیانگر این است که اثرات ضد باکتریایی این کامپوزیت‌ها در غلظت‌های ۰/۰۳٪ نانوذرات نقره، در مقدار بهینه خود قرار دارد. میانگین تعداد باکتری‌ها و تراکم نوری چاهک‌های حاوی کامپوزیت با درصد‌های مختلف نانوذرات نقره، در ساعت ۴۸ نیز بررسی شد.

مقایسه میانگین تعداد باکتری چاهک‌های حاوی کامپوزیت با درصد‌های مختلف نانوذرات نقره در ساعت ۴۸، تنها تفاوت معنی‌دار بین چاهک حاوی ۰/۰۳٪ وزنی نانوذرات نقره را با چاهک حاوی ۰/۰۴٪ وزنی نشان داد ($p<0/05$)؛ درحالی‌که در سایر گروه‌ها، تفاوت معنی‌داری به دست نیامد. براساس آزمون واریانس در مقایسه ۳، ۲۴ و ۴۸ ساعت تابش نور، میانگین تراکم نوری بین گروه‌ها با یکدیگر متفاوت بود و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار شد ($p<0/05$). در ۳ ساعت تابش نور، تست تعقیبی بونفرونی نشان داد در غلظت‌های ۰/۰۴٪ و ۰/۰۵٪ تفاوت بین میانگین‌های تراکم نوری، از نظر آماری معنی‌دار بوده است ($p<0/05$). در ۲۴ ساعت تابش نور نیز براساس تست تعقیبی بونفرونی در مقایسه غلظت ۰/۰۳٪ با غلظت‌های ۰/۰۴٪ و ۰/۰۵٪ درصد تفاوت بین میانگین‌های تراکم نوری از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<0/05$). طبق آزمون تعقیبی بونفرونی در ۴۸ ساعت تابش نور، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار).



نمودار: میانگین میزان تراکم نوری در پنج گروه کامپوزیت حاوی غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره ($p < 0.05$) (مقایسه گروه غلظت صفر درصد با سایر گروه‌ها) $p < 0.01$.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد کامپوزیت‌های حاوی نانوذرات نقره نسبت به کامپوزیت‌های بدون نانوذرات، به‌طور معنی‌داری از رشد باکتری / استرپتوکوک موتانس در مجاورت خود ممانعت به عمل می‌آورد؛ این یافته‌ها با نتایج تمامی مطالعات دیگر که نشان دادند با افزایش غلظت نانوذرات نقره تا ۰/۰۳٪ اثر ضد باکتریایی افزایش، سپس کاهش می‌یابد، همخوانی داشت. درحالی‌که این یافته با نتایج مطالعات آذر سینا و همکاران (۱۴)، Nam و همکاران (۱۵)، و Sondi و همکاران (۱۶) که بیانگر رابطه مستقیم افزایش غلظت نانوذرات نقره و اثر ضد باکتریایی بود، همخوانی نداشت. در مطالعه Neves و همکاران نیز مشخص گردید به سبب لزوم، افزایش غلظت بیانگر افزایش اثر ضد باکتریایی نخواهد بود که نتایج مطالعه حاضر نیز دلالت بر همین نتیجه داشت (۸). کاربرد نانوذرات نقره در پزشکی و صنعت به‌علت خاصیت آنتی‌میکروبیال آن روزه‌روز در حال افزایش است. در بین مواد ترمیمی، کامپوزیت رزین‌ها بیشترین موادی هستند که جذب سطحی میکروارگانیزم‌ها در سطح آن‌ها اتفاق می‌افتد (۱۵، ۱۷). در این مطالعه، اثر ضد موتانس کامپوزیت رزین (Filtelk Supreme Plus Flowable Restorative) پس از افزودن نانوذرات نقره با مقادیر ۰/۰۲٪، ۰/۰۳٪، ۰/۰۴٪ و ۰/۰۵٪ وزنی مورد بررسی قرار گرفت.

در مطالعه حاضر برای ارزیابی خصوصیات ضد باکتریایی کامپوزیت رزین‌ها، از تست تماس مستقیم استفاده شد.

Nam و همکاران در مطالعه خود نشان دادند ماده بهسازی بافتی حاوی نانوذرات نقره نسبت به گروه کنترل فاقد نانوذرات، اثر آنتی‌باکتریال قابل توجهی دارد و با افزایش غلظت نانوذرات، این اثر تشدید می‌شود؛ بنابراین ضمن اثبات خاصیت ضدباکتریایی نانوذرات نقره، با اشاره بر ناشناخته بودن مکانیسم ترکیبات حاوی نقره، توضیح دادند که نانوذرات نقره از نمونه‌های مورد بررسی آزاد نمی‌شود و اثر ضد باکتریایی خود را در تماس مستقیم با سلول‌های میکروبی نشان نمی‌دهد، ولی همچنان تأکید کردند عملکرد نقره به‌عنوان کاتالیزور، موجب تبدیل اکسیژن به اکسیژن فعال شده (شامل رادیکال‌های هیدروکسیل) و این واکنش به‌وسیله انرژی نوری در هوا یا H_2O و تنها در سطوح قطبی انجام می‌گیرد؛ در نتیجه اکسیژن فعال از رشد باکتری‌ها ممانعت می‌کند (۱۵). همچنین Sondi و همکاران در مطالعه خود با اشاره بر ناشناخته بودن مکانیسم مهار نانوذرات نقره، بر این نظریه تأکید کردند که در مواجهه با نانوذرات نقره، میکروارگانیزم‌ها توانایی همانندسازی خود را از دست داده و پروتئین‌های سلولی غیرفعال می‌شوند (۱۶).

Neves و همکاران نیز در محیط آزمایشگاهی با افزودن نانوذرات نقره به میزان ۰/۰۳٪ و ۰/۰۶٪ به کامپوزیت رزین و آنالیز میکروسکوپی در بین دو گروه با گروه بدون نانوذرات، تفاوتی در خشونت سطحی مشاهده نکردند. همچنین اثرات ضدباکتریایی در ۰/۰۳٪ وزنی بیشتر از گروه دیگر و در مجموع، بیشتر از گروه کنترل بود که مطالعه حاضر نیز اشاره به وجود چنین پدیده‌ای داشت (۸).

در مطالعه‌ای دیگر، Durner و همکاران با افزودن نانوذرات نقره به میزان ۰/۰۱۲۵٪، ۰/۰۰۲۵٪، ۰/۰۰۵٪، ۰/۰۰۱٪ و ۰/۰۰۳٪ وزنی به کامپوزیت قابل سیلان، میزان آزاد شدن یا شسته شدن مونومرها و سایر ترکیبات را آنالیز کردند؛ به‌طوری‌که میزان شسته شدن در نمونه‌هایی با غلظت ۰/۰۱٪ و ۰/۰۰۳٪ وزنی به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها بسیار بالاتر بود و ثابت گردید نانوذرات در درصدهای مذکور بر روی فرآیند پلیمریزاسیون مواد دندان‌آثارگذار است. بنابراین، با افزایش آزاد شدن مواد از کامپوزیت‌های پلیمریزه‌شده، سازگاری نسبی مواد حاوی نقره کاهش می‌یابد. در مطالعه حاضر نیز از نانوذرات در درصدهای وزنی پایین‌تر استفاده شد (۱۸). مطالعه Azarsina و همکاران نشان داد اتصال استرپتوکوک‌های بیماری‌زا به مواد چسبنده دندان‌آزاری، به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای کمتر از انواع غیرکامپوزیتی مانند گلاس اینومر تغییر یافته با رزین بوده که با ذکر علت این پدیده مشخص گردید قطبیت و خصوصیات سطحی گلاس اینومر تغییر یافته با رزین دارای سطح خشن‌تر نسبت به کامپوزیت معمولی می‌باشد. اگرچه گروه‌های رزینی حاوی نانوذرات نقره دارای سطح خشن‌تری بوده‌اند، اما به‌علت تأثیر ممانعت‌کننده نانوذرات نقره، حداقل رشد باکتری برای آن‌ها گزارش شده است. در این مطالعه، تأثیر ضد باکتریایی رزین‌ها، ناشی از تماس مستقیم با باکتری عنوان شد و مشخص گردید نانوذرات نقره از درون توده کامپوزیتی آزاد نشده و در نتیجه بر علیه باکتری‌های مجاور موجود در محیط مایع مؤثر نمی‌باشد که این مسئله در حفظ استحکام مکانیکی و استحکام باند کامپوزیت‌های مذکور بسیار مفید است؛ چراکه از ایجاد حباب‌های درون توده‌ای در کامپوزیت، همچنین تشکیل نقاط ضعف در کامپوزیت ممانعت می‌کند (۱۴).

در مطالعات دیگر نیز تأثیر ضد باکتریایی مواد افزوده‌شده به کامپوزیت‌ها به‌وسیله روش کدورت‌سنجی بررسی شده است (۱۹). در مطالعه حاضر تفاوت در میزان رشد باکتری‌ها معنی‌دار بود. در مورد مکانیسم بروز خاصیت آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره چنین بیان شد که یون‌های نقره با آنزیم‌های باکتری زنده واکنش نشان داده و آن‌ها را غیرفعال می‌کند، همچنین موجب می‌گردد تا باکتری‌ها توانایی همانندسازی خود را از دست داده و دچار مرگ شوند (۱۷).

همچنین در این مطالعه، روند رشد باکتری‌ها در ساعت‌های ۳، ۲۴، ۴۸ و غلظت ۰/۰۰۲٪ وزنی معنی‌دار نبود؛ درحالی‌که در غلظت‌های ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۵٪، روند کاهش داشت. این بدان معناست که در درصد پایین، ممانعت از رشد باکتری‌ها ۱۰۰٪ نبوده و باکتری‌ها به تکثیر خود ادامه داده‌اند. از طرفی، در غلظت‌های بالاتر نیز به دلیل تأثیر سریع و مؤثر نانوذرات نقره، این ممانعت رشدی کاملاً مشخص است. با این حال در غلظت ۰/۰۰۳٪، این روند ابتدا در ساعت ۲۴ نسبت به ساعت ۳ کاهش، سپس افزایشی بود. در مطالعه قاسم‌پور و همکاران (۲۰) نیز این روند مشاهده گردید که هنوز علت قابل توضیحی برای آن وجود ندارد. مزیت مهم دیگر نقره این است که ایجاد مقاومت باکتریایی نمی‌کند و برای تماس مستقیم نانوذرات نقره با باکتری، باید اندازه آن‌ها بین ۱۰-۱ نانومتر باشد. در این مطالعه، اندازه متوسط نانوذرات ۴۰ نانومتر بود که بیشترین اثر ضد باکتریایی را داشت (۲۱).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد تمامی کامپوزیت‌های حاوی نانوذرات نقره دارای اثر ضد باکتریایی هستند. به‌علاوه، بیشترین اثر بهینه ضد باکتریایی در کامپوزیت‌های حاوی ۰/۰۰۳٪ وزنی نانوذرات نقره وجود دارد که با افزایش درصد وزنی این نانوذرات، اثر ضد باکتریایی بیشتر نمی‌شود. همچنین حداقل غلظت باکتریسیدال در گروه ۰/۰۰۲٪ وزنی نانوذرات نقره به دست آمد. بنابراین تحقیقات بیشتری جهت کاربرد بالینی نانوذرات در کامپوزیت‌های دندانپزشکی لازم است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از مسئولین آزمایشگاه دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی جهت هماهنگی و در اختیار قرار دادن آزمایشگاه تشکر می‌نمایم.

References:

1. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray C, Marcenes W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *J Dent Res* 2015;94(5):650-8. PubMed
2. Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol* 1999;70(1):13-29. PubMed
3. Saifudin A, Forentin AM, Fadhilah A, Tirtodiharjo K, Melani WD, Widyasari D, et al. Bioprospecting for anti-Streptococcus mutans: The activity of 10% Sesbania grandiflora flower extract comparable to erythromycin. *Asian Pacific J Trop Biomed* 2016;6(9):751-4. Link
4. Nyvad B, Crielaard W, Mira A, Takahashi N, Beighton D. Dental caries from a molecular microbiological perspective. *Caries Res* 2012;47(2):89-102. PubMed
5. Mjör IA. Clinical diagnosis of recurrent caries. *J Am Dent Assoc* 2005;136(10):1426-33. PubMed
6. Mjör IA, Toffentti F. Secondary caries: A literature review with case reports. *Quintessence Int* 2000;31(3):165-79. PubMed
7. de Fúcio SB, Puppini-Rontani RM, de Carvalho FG, Mattos-Graner Rde O, Correr-Sobrinho L, Garcia-Godoy F. Analyses of biofilms accumulated on dental restorative materials. *Am J Dent* 2009;22(3):131-6. PubMed
8. das Neves PB, Agnelli JA, Kurachi C, de Souza CW. Addition of silver nanoparticles to composite resin: effect on physical and bactericidal properties in vitro. *Bra Dent J* 2014;25(2):141-5. PubMed
9. Elsaka SE, Hamouda IM, Swain MV. Titanium dioxide nanoparticles addition to a conventional glass-ionomer restorative: influence on physical and antibacterial properties. *J Dent* 2011;39(9):589-98. PubMed
10. Imazato S. Bio-active restorative materials with antibacterial effects: new dimension of innovation in restorative dentistry. *Dent Mater J* 2009;28(1):11-9. PubMed
11. Uchiyama T. Silver diagnosis in neuropathology: principles, practice and revised interpretation. *Acta Neuropathol* 2007;113(5):483-99. PubMed
12. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine* 2007;3(1):95-101. PubMed
13. Sadeghi B, Garmaroudi FS, Hashemi M, Nezhad H, Nasrollahi A, Ardalan S, et al. Comparison of the anti-bacterial activity on the nanosilver shapes: nanoparticles, nanorods and nanoplates. *Adv Powder Technol* 2012;23(1):22-6. Link
14. Azarsina M, Kasraei S, Yousefi-Mashouf R, Dehghani N, Shirinzad M. The antibacterial properties of composite resin containing nanosilver against Streptococcus mutans and Lactobacillus. *J Contemp Dent Pract* 2013;14(6):1014-8. PubMed
15. Nam K-Y. In vitro antimicrobial effect of the tissue conditioner containing silver nanoparticles. *J Adv Prosthodont* 2011;3(1):20-4. PubMed
16. Sonidi I, Salopek-Sonidi 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. PubMed
17. 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. PubMed
18. Durner J, Stojanovic M, Urcan E, Hickel R, Reichl F-X. Influence of silver nano-particles on monomer elution from light-cured composites. *Dent Mater* 2011;27(7):631-6. PubMed

19. Tavassoli Hojati S, Alaghemand H, Hamze F, Babaki FA, Rajab-Nia R, Rezvani MB, et al. Antibacterial, physical and mechanical properties of flowable resin composites containing zinc oxide nanoparticles. *Dent Mater* 2013;29(5):495-505. PubMed
20. Ghasempour M, Molana Z, Alaghemand H, Beirami A, Bijani A, Asghari F, et al. Anti Streptococcus mutans non fluoride and fluoride containing sealants after adding nano-silver particles. *J Dent Med* 2014;27(1):16-23. Link
21. Haghgoo R, Saderi H, Eskandari M, Haghshenas H, Rezvani M. Evaluation of the antimicrobial effect of conventional and nanosilver-containing varnishes on oral streptococci. *J Dent (Shiraz)* 2014;15(2):57-62. PubMed
22. Ghasempour M, et al. Anti Streptococcus mutans non fluoride and fluoride containing sealants after adding nano-silver particles. *J Dent Med Tehran Univ Med Sci* 2014;27(1):16-23. Link