[DOI: 10.29252/ijpd.15.1.93]
Downloaded from journal.iapd.ir at 12:59 +0430 on Sunday May 17th 2020

Comparison of the antibacterial effect of nanosilver and chlorhexidine mouthwash on Streptococcus mutans (invitro)

Original Article

Abstract

Background: Many bacteria are involved in dental plaque formation and caries. Streptococcus mutans is one of the most important bacteria involved in this case. One of the ways to control plaque is the use of mouthwash on the side of toothbrushes and toothbrushes. Although chlorhexidine is the most effective mouthwash against oral microorganisms, the side effects of long-term use suggest the need for an alternative. The purpose of this study was to compare the antibacterial effect of nanosilver and chlorhexidine mouthwash on Streptococcus mutans in pediatric ward of Dental School of Islamic Azad University of Tehran and Laboratory of Veterinary School of Tehran University in 1397-1398.

Materials and methods: This experimental study was performed in vitro on Streptococcus mutans. Experiments were performed on two groups of case (nanosilver mouthwash) and control (chlorhexidine mouthwash) in three parts. Antimicrobial potency was measured by Disk diffusion assay by measuring inhibitory zone diameter. Then both micro and macro dilution methods were used to measure MIC (Minimum bacterial growth Inhibitor Concentration) and finally for measure MBC (Minimum Bactericidal Concentration) using Blood agar dilution method.

Results: Statistical analysis showed that the nanosilver mouthwash has no inhibitory zone and MBC. Also its MIC was higher than chlorhexine and this difference was statistically significant (P <0.001).

Conclusion: According to the results of the in vitro study of nanosilver mouthwash compared to chlorhexidine, it has minor bacteriostatic properties and no bactericidal effect. It is recommended to repeat this study by changing the mouthwash formulation in terms of particle concentration and diameter.

Keywords: Chlorhexidine, Nanosilver, Inhibitory zone, MIC, MBC, Streptococcus mutans

Rabbani Hassan Abad M[1]
Aref P[2]*
Askarizadeh N[3]
Ashrafi Tamai I[4]

1Dental Student, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2Assistant Professor, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3Associate Professor, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
4PhD of Bacteriology, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinery Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Corresponding Author:
parissa234@yahoo.com

[DOI: 10.29252/ijpd.15.1.93]
Downloaded from journal.iapd.ir at 12:59 +0430 on Sunday May 17th 2020

مقایسه اثر آنتی باکتریال دهانشویه نانوسیلور و کلرهگزیدین بر روی استرپتوکوک موتانس (invitro)

چکیده

تحقیقی

زمینه و هدف: باکتری های زیادی در تشکیل پلاک دندانی و ایجاد پوسیدگی دخالت دارند. استرپتوکوک موتانس یکی از مهمترین باکتری های دخیل در این مورد است. یکی از روش های کنترل پلاک استفاده از دهانشویه در کنارمسواک و نخ دندان است .گرچه کلرهگزیدین به عنوان موثر ترین و رایج ترین دهانشویه بر علیه میکروارگانیسم های دهانی مطرح است اما عوارض ناشی از مصرف طولانی مدت آن، نیاز به یافتن یک ماده جایگزین را مطرح می کند. این تحقیق با هدف مقایسه اثر آنتی باکتریال دهانشویه نانوسیلور و کلرهگزیدین بر روی استرپتوکوک موتانس در بخش کودکان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران و آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۸ انجام شد.

مواد و روش ها: این پژوهش از نوع experimental و در شرایط in vitro روی استرپتوکوک موتانس انجام گرفت. آزمایش روی دو گروه مورد(دهانشویه نانوسیلور) و شاهد(دهانشویه کلرهگزیدین) در سه قسمت انجام شد. ابتدا با استفاده از روش Disk diffusion بررسی قدرت آنتی میکروبیال از طریق اندازه گیری قطر هاله مورد بررسی سپس جهت اندازه گیری)MICحداقل غلظت مهار کننده رشد باکتری ها) از دو روش میکرو و ماکرودایالوشن استفاده شد و در پایان برای اندازه گیری) MBCحداقل غلظت کشنده باکتری ها) از روش Blood agar dilution استفاده شد. سپس با استفاده از آزمون آماری Mann-u-Whitney داده های به دست آمده تحلیل شد.

یافته ها: آزمون آماری نشان داد دهانشویه نانوسیلور فاقد هاله عدم رشد و نیز فاقد MBC است. همچنین MIC آن در مقایسه با کلرهگزیدین بیشتر بوده و این اختلاف از نظر آماری معنی دار است.((P<0.001

نتیجه گیری: با توجه به نتایج این مطالعه در روش آزمایشگاهی دهانشویه نانوسیلور در مقایسه با کلرهگزیدین دارای خاصیت باکتریو استاتیکی ناچیز و فاقد خاصیت باکتریوسیدی است. توصیه می شود این بررسی با تغییر فورمولاسیون دهانشویه از نظر غلظت و قطر ذرات مجددا تکرار شود.

کلمات کلیدی: کلرهگزیدین، نانوسیلور،هاله مهاری، MIC، MBC، استرپتوکوک موتانس

مریم ربانی[۱]
پریسا عارف[۲*]
ناهید عسگرزاده [۳]
ایرج اشرافی تمای [۴]

۱ دانشجوی دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲ استادیار گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳ دانشیار گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۴ دکتری باکتری شناسی، گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

نویسنده مسئول:
دکتر پریسا عارف
parissa234@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۶/۱۵
تاریخ پذیرش: ۹۸/۹/۲۱

مقدمه: باکتری استرپتوکوک موتانس به عنوان اصلی ترین عامل پوسیدگی های دندانی شناخته شده است (۱). استرپتوکوک موتانس می تواند در محیط زیستی شامل سطوح مخاط در معرض جریان بزاق، یا زندگی آزاد در بزاق تکثیر شود در حالی که دیگر باکتری ها نمی توانند به صورت آزاد در دهان تکثیر شده و باقی بمانند. بلکه باید به سطوح مخاطی اتصال پیدا کرده و سپس تکثیر شوند (۲و۳). قدرت باکتری موتانس در اتصال مستقیم به سطوح مخاطی ضعیف تر از سطح دندان است .بنابراین آلودگی با موتانس قبل از رویش دندان ها موقت بوده و حضور مداوم آن در دهان منوط به کلونیزه شدن آن پس از رویش دندان ها می باشد (٤و٥). در یک بررسی گزارش داده شد که فقط نوزادانی که توسط استرپتوکوک موتانس کلونیزه شدند، خطر ابتلا به پوسیدگی شیرخواران را دارا می باشند (٦).

[DOI: 10.29252/ijpd.15.1.93]
Downloaded from journal.iapd.ir at 12:59 +0430 on Sunday May 17th 2020

روش‌های مختلفی برای جلوگیری یا کاهش پوسیدگی مطرح شده است، روش‌های مکانیکی کنترل پلاک از جمله مسواک زدن و استفاده از تمیزکننده‌های بین دندانی همچنان به عنوان استاندارد طلایی در این زمینه در نظر گرفته می‌شوند. با وجود این، در برخی بیماران از جمله افراد کم توان یا آنهایی که به تازگی تحت تروما یا جراحی دهان قرار گرفته اند، کنترل پلاک دندانی با روش‌های مکانیکی به طور مناسب امکان پذیر نیست. (۷) در این موارد، روش‌های شیمیایی کنترل پلاک مانند استفاده از دهان‌شویه به عنوان محلول ضدعفونی کننده می‌تواند در کنترل پلاک موثر واقع شود از جمله دهانشویه های رایج می توان به آنزیم ها ،ترکیبات متلی و آمونیم, بیس گوامیدین، لیسترین، تری کلوسان، پراکسید، فلوراید و کلرهگزیدین اشاره کرد. از این بین کلرهگزیدین و سدیم فلوراید دهانشویه های رایج اند (۸) با وجود این، عوارض ناشی از برخی دهان‌شویه‌ها از جمله تغییر رنگ و طعم ناخوشایند سبب محدودیت استفاده از آنها شده است. کلر هگزیدین از جمله همین دهان‌شویه‌ها می‌باشد. بعلاوه این دهانشویه در طولانی مدت اثر تخریبی روی فلور میکروبی حفره دهان دارد (۵) کلرهگزیدین از گروه آنتی‌سپتیک‌های با بیسبیگوانید بوده و بر روی طیف وسیعی از باکتری‌ها، کاندیدا و برخی از ویروس‌ها از جمله ویروس مولد ایدز و هپاتیت موثر می‌باشد و از تشکیل پلاک و ژینژیویت جلوگیری می‌کند. از مزایای کلرهگزیدین اتصال و چسبندگی محکم آن به اغلب نواحی دهان می‌باشد که باعث می‌شود این ماده پس از مصرف به تدریج و آهسته آزاد گردد و در یک محدوده زمانی، دائماً محیط ضدمیکروبی در دهان فراهم آورد. علت چسبندگی کلرهگزیدین را به خاصیت کاتیونی آن نسبت می‌دهند که باعث اتصال آن به گروه‌های آنیونیک موجود در گلیکوپروتئین‌ها و فسفوپروتئین‌های سطح مخاط دهانی می‌گردد. محققین بر این عقیده هستند که مکانیزم اثر کلرهگزیدین در ارتباط با تمایل شدید این ماده برای چسبندگی و اتصال قوی به غشاء باکتری‌ها است. متاسفانه عوارض جانبی چون تغییر رنگ دندان‌ها، استفاده معمول از این دهان‌شویه را به عنوان عامل کنترل پلاک محدود کرده است. کلرهگزیدین موجب پدیدآمدن رنگ قهوه‌ای بر روی دندان‌ها و پرکردگی‌های همرنگ دندان، مخاط دهان و زبان، طعم ناخوشایند، خشکی دهان و نیز تغییر فلور میکروبی می‌شود (۱۳-۹). از جمله موادی که امروزه به عنوان ترکیب اصلی دهانشویه پیشنهاد شده است نانوذرات نقره می باشد. اثر آنتی باکتریال نانوذرات نقره و طلا در مطالعات پیشین اثبات شده است (۱٤). و مکانیسم های اثر متفاوتی برای آنها ذکر شده است. نانو ذرات نقره آنزیم های چرخه تنفسی باکتری را مهار می کنند و سنتز DNA را تخریب می کنند(۱۵و۲٦). نقره به عنوان ماده آنتی میکروبیال پیشینه طولانی در علم پزشکی دارد (۱۷و۱۸). یونهای نقره ی حاصل ترکیبات فلزی ارگانیک و ترکیبات حل نشدنی با گروه های سولفیدریل (به عنوان مثال رسوبات سیستئین) در دیواره سلولی باکتری ها و قارچ ها، آنزیم های حیاتی شان را که در متابولیسم و انتقال الکترون دخالت دارند غیر فعال می کند. یونهای نقره هم چنین چرخه انتقال الکترون را مهار می کند (۱۹و۲۰). نانو ذرات نقره به دلیل سطح تماس زیادی که با میکرو ارگانیسم ها دارند خاصیت آنتی میکروبیال خوبی دارند (۲۱و۲۲). نقره، فلزی شناخته شده ای است که طیف وسیعی از خاصیت آنتی میکروبیال شامل باکتری های گرم مثبت و منفی، هوازی بی هوازی، قارچ ها، پروتوزوآ و برخی ویروس های خاص که در مقابل آنتی بیوتیک ها مقاوم اند را دارد (۲۳و۲٤). افزایش مقاومت پاتوژن های دهان در مقابل عوامل آنتی باکتریال باعث شده است که امروزه نیاز به یافتن درمانهای جایگزین بیشتر احساس شود. برخی از مطالعات گذشته نشان داده است که دهانشویه نانوسیلور بر روی باکتری استرپتوکوک موتانس و

[DOI: 10.29252/ijpd.15.1.93]
Downloaded from journal.iapd.ir at 12:59 +0430 on Sunday May 17th 2020

سانگوئیس موثر بوده است. (۱۸،۲۸،۲۷،۲۶،۲۵) اما برخی دیگر از بررسی ها همچنان کلرهگزیدین را در مقایسه با نانوسیلور به عنوان بهترین دهانشویه آنتی میکروبیال معرفی می کنند. (۲۹،۳۰) برای اولین بار در این تحقیق استفاده از یک دهانشویه ی نانوسیلور ایرانی(سیلوسپت) مورد بررسی قرار گرفته است. لذا با توجه به خلاء اطلاعاتی موجود در این زمینه و اهمیت این موضوع بر آن شدیم تا به مقایسه اثر آنتی میکروبیال یک دهانشویه نانو سیلور ایرانی (سیلوسپت) بر روی باکتری استرپتوکوک موتانس در دانشکده دندانپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران و آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در سال ۱۳۹۷ بپردازیم.

روش بررسی: این بررسی در آزمایشگاه مولکولی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شد. جمع آوری داده های مورد نیاز تحقیق از تاریخ ۱۳۹۸/۰۲/۱۵ تا ۱۳۹۸/۰٤/۱۵ انجام شده است.

تهیه سویه های میکروبی: تحقیق به روش تجربی آزمایشگاهی انجام شد و نمونه کشت زنده باکتری استرپتوکوک موتانسسویه ایرانی (PTCC1683) از مرکز منطقه ای کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی ایران تهیه شد.

دهانشویه ها: دهانشویه نانوسیلور سیلوسپت با برند chitotech ساخت ایران با غلظت نانو ذرات ppm10 و سایز نانو ذرات 30-50 nm با طعم ساده با حلال آب، بدون مواد افزودنی و دهانشویه کلرهگزین ۰،۲٪ ساخت لابراتوار دنیای بهداشت در این تحقیق استفاده شد.

اندازه گیری هاله مهاری: در قسمت اول مطالعه ، از تکنیک دیسک گذاری (Disk diffusion test) درون آگار که توسط انجمن استاندارد کلینیکی و لابراتواری (CLSI2016) توصیه شده است، جهت بررسی پتانسیل آنتی باکتریال نانو سیلور استفاده می شود. از کشت تازه استرپتوکوک ها کدورتی معادل 0.5 Mc Farland تهیه شد. سپس باکتری را از محیط سرم در محیط کشت MHA (Muller Hinton Agar) به همراه ۵٪ خون به روش چمنی کشت می دهیم و سپس یک دیسک حاوی کلرهگزیدین ۰/۲٪(گروه شاهد) و یک disk حاوی دهانشویه نانو سیلور (گروه مورد) تهیه کرده و به همراه یک Blank disk (دیسک خنثی) به عنوان کنترل منفی ، بر روی محیط کشت اختصاصی باکتری قرار می دهیم و برای ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه می کنیم. بعد از ۲٤ ساعت هاله عدم رشد باکتری (Inhibitory zone) با کولیس استاندارد اندازه گیری می شود و تغییرات کمتر از mm ۱ صفر در نظر گرفته می شود. برای اطمینان از پاسخ ، تحقیق تحت شرایط حفاظت شده آسپتیک انجام و ۳ بار تکرار می گردد.(۳۱).

اندازه گیری MIC: در قسمت دوم مطالعه جهت ارزیابی MIC از هر دو تکنیک Microdilution broth و Macrodilution broth که توسط انجمن استانداردهای کلینیکی و لابراتواری (CLSI) توصیه شده است در محیط آب گوشت BHI (Brain Heart Infusion) استفاده مینماییم و سپس جهت ارزیابی حداقل غلظت کشنده باکتریایی MBC از هر یک از لوله های رقیق شده در آزمایش Macrodilution broth اقدام به کشت در محیط اختصاصی باکتری Mitis Salivarius می کنیم. برای این منظور غلظتی معادل 0.5 Mc Farland تهیه می نماییم و جهت ارزیابی MIC و MBC از این غلظت استفاده می کنیم. سپس جهت بررسی MIC به روش Microdilution

[DOI: 10.29252/ijpd.15.1.93]
Downloaded from journal.iapd.ir at 12:59 +0430 on Sunday May 17th 2020

broth یک well Plate 96 تهیه کرده و 100 µl از محلول آبگوشت BHI به تمام چاهک ها اضافه می نماییم و سپس به چاهک اول میزان 100 µl از دهانشویه خالص می ریزیم پس از خوب مخلوط کردن آن 100 µl از آن محلول به لوله دوم ریخته شده و به همین ترتیب تا لوله دهم ادامه می دهیم. سپس 100 µl از مایع لوله دهم دور ریخته می شود. سپس به تمام چاهک ها 100 µl از سرم فیزیولوژی حاوی باکتری S.mutans با کدورت Mc Farland 0.5 تهیه شده را اضافه می کنیم. همین مراتب را برای کلرهگزیدین ۰/۲٪ (گروه های شاهد) نیز انجام می دهیم.

کنترل مثبت: یک لوله حاوی آبگوشت BHI و سوش باکتری که بایدکدر شود. کنترل منفی: یک لوله حاوی آبگوشت BHI خالی که باید شفاف باقی بماند. سپس Micro plate جهت رشد به انکوباتور در شرایط بی هوازی منتقل می شود و نتایج پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه مورد ارزیابی قرار می گیرد و بررسی های چشمی تعیین کدورت جهت تعیین MIC به عمل می آید. در هر سری از آزمایش بعد از ۲٤ ساعت انکوباسیون یک سری از لوله ها با دید چشمی شفاف باقی می مانند که نشان از عدم رشد باکتری در آن غلظت ها است. اولین لوله ای که شفاف باقی ماند به عنوان MIC در نظر گرفته می شود. (۳۲)

اندازه گیری MBC: جهت یافتنMBC از هر یک از لوله های Macro tube صرف نظر از کدر یا شفاف بودنش به محیط کشت جامد اختصاصی Mitis Salivaris به صورت چمنی کشت می دهیم و پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه در شرایط بی هوازی اولین Petridish که هیچ گونه باکتری در آن رشد نکرده باشد به عنوان غلظت (MBC حداقل غلظت باکتریوسید دهانشویه نانوسیلور) در نظر گرفته می شود (۳۳).

نتایج: در این تحقیق از آزمون آماری Mann-u-Whitneyبرای تجزیه و تحلیل داده ها استفاده شد. عمل دیسک گذاری توسط دیسک های آغشته به مواد مورد آزمایش جهت تعیین قطر هاله مهاری رشد (inhibitory zone) در محیط کشت MHA مورد بررسی و برای هر ماده ۳بار تکرار شد. قطر هاله مهاری در جدول زیر ارائه شده است. در گروه مورد هاله مهاری تشکیل نشد و در کل CHX دارای بیشترین قطر هاله عدم رشد بود.

جدول شماره ۱: قطر هاله عدم رشد در گروه های مختلف

قطر هاله عدم رشد(mm)	St.mutans		
دهانشویه نانوسیلور	0	0	0
دهانشویه کلرهگزیدین	17	17	17

(P<0.001) داده ها از نظر آماری معنی دار هستند.

[DOI: 10.29252/ijpd.15.1.93]
Downloaded from journal.iapd.ir at 12:59 +0430 on Sunday May 17th 2020

جدول شماره ۲: MIC دهانشویه نانوسیلور و کلر هگزیدین برای باکتری استرپتوکوک موتانس

حداقل غلظت بازدارنده رشد در هر دهانشویه (درصد)	St.mutans		
دهانشویه نانوسیلور	100%	100%	100%
دهانشویه کلرهگزیدین	1.56%	1.56%	1.56%

جدول شماره 3: MBC دهانشویه نانسیلور و کلرهگزیدین برای باکتری استرپتوکوک موتانس

حداقل غلظت کشنده در هر دهانشویه(درصد)	St.mutans		
دهانشویه نانوسیلور	ندارد	ندارد	ندارد
دهانشویه کلرهگزیدین	3.12%	3.12%	3.12%

بحث: این تحقیق به شکل تجربی و در محیط آزمایشگاهی به بررسی اثر ضدمیکروبی غلظت های مختلف دهانشویه نانوسیلور نسبت به کلرهگزیدین بر روی باکتری استرپتوکوک موتانس با دو روش تعیین قطر هاله عدم رشدبه روش دیسک پلیت و سپس تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) به روش broth dilution پرداخت. نتایج کلی ارزیابی هاله مهاری نشان می دهد که دهانشویه نانوسیلور(سیلوسپت)ر فعالیت مهاری در برابر باکتری استرپتوکوک موتانس ندارد. در بررسی MIC و MBC به این نتیجه رسیدیم که مقدار موثرغلظت این دهانشویه برای جلوگیری از رشد باکتری ۱۰۰٪بوده و این دهانشویه فاقد اثر کشندگی بر روی باکتری فوق می باشد. به طور کلی مکانسیم اثر آنتی باکتریال ذرات نانوسیلور کاملا شناخته نشده است. برخی معتقدند که ذرات نانوسیلور از طریق تخریب دیواره سلولی باکتری باعث مرگ آن می شوند و برخی دیگر معتقدند نانوسیلور با ایجاد اختلال در متابولیسم سلول اثر خود را القا میکند. نکته مهم دیگر در خصوص نانو ذرات نحوه ی تولید آن است. نانو ذرات به سه روش فیزیکی، شیمیایی و زیستی تولید می شوند. دو روش فیزیکی و شیمیایی با وجود گران بودن مستعد تولید ذرات سمی نیز هستند. در نتیجه متداول ترین روش سنتز ذرات نانو که برای مصارف پزشکی استفاده می شود، روش زیستی است.(۳٤) در مقابل خاصیت آنتی باکتریالی ذرات نانو، سمیت این ذرات قرار دارد. تاکنون مطالعات in vitro بلند مدت زیادی روی انسان انجام نشده است (۳۵) اما برخی مطالعات نشان می دهد گرچه استفاده های دندان پزشکی از نانو ذرات موجب تجمع آنها در کبد، بیضه، کلیه، ریه، خون و مغز می شود، اما این ذرات موجب سمیت ژنتیکی قابل توجه در میانگین سایز ذرات ٦۰ نانومتر و در دوز های معمول استفاده های دندان پزشکی نمی شود. (۳٦) مطالعات دیگری نشان می دهد. ذرات کوچکتر از ۱۲ نانومتر اثر سویی بر تکامل جنین ماهی دارد. (۳۷) به نظر می رسد برای استفاده مطمئن از نانوذرات، مطالعات بلند مدت تری برای اثبات سمیت ذرات نانو برای انسان و نسل های آینده آن نیاز است. در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۸ توسط A Ebru Borum و Ertan Güneşدر کشور ترکیه انجام شد، اثر انتی میکروبیال غلظت های مختلف محلول نانوسیلور روی

[DOI: 10.29252/ijpd.15.1.93]
Downloaded from journal.iapd.ir at 12:59 +0430 on Sunday May 17th 2020

میکروارگانیسمهای Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella typhimurium, Enterococcus faecalis, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Paenibacillus larvae, Candida albicans , Aspergillus niger به روش counting the colonies انجام شد، غلظت ۳۰ ppm و ۱۰۰ ppmمحلول نانو استفاده شد. غلظت ۳۰ ppm فقط باعث از بین رفتن ٦ مورد از میکروارگانیسم ها در ٢٤ ساعت شد در حالی که غلظت ۱۰۰ ppm،۸ مورد از میکروارگانسیم ها را در ٢٤ ساعت از بین برده بود. به نظر می رسد بین قدرت آنتی میکروبیال محلول نانو و غلظت آن رابطه مستقیم وجود دارد. به طوری که قدرت مهار کنندگی رشد در ۱۰۰ ppm بیشتر از ۳۰ ppmاست.همین طور مدت زمان مجاورت محلول نانو سیلور با میکروارگانیسم ها یکی دیگر از متغیر های مهم در این مورد است. نکته جالب توجه در این پژوهش مهار رشد باکتری ارئوس در بازه زمانی ٥تا ٦٠ دقیقه و رشد مجدد آن بعد از ۱ساعت بوده است. به این ترتیب می توان احتمال داد که محلول نانو سیلور در مجاورت برخی ارگانیسم ها به مرور خاصیت خود را از دست می دهد. (۳۸) محلول نانو سیلور استفاده شده در پژوهش ما دارای غلظت ۱۰ ppm بوده که ممکن است یکی از علل نا کارآمدی آن همین غلظت کم آن باشد. در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۳ توسط دکتر نیکان و همکاران انجام شد، پایداری محلول نانو در طی زمان بر روی سه باکتری: استرپتوکوک اورئوس، موتانس و سودوموناس آئوژینوزا با روش disk diffusion بررسی شد. محلول نانوی مورد استفاده در این مطالعه دارای غلظت ٤۰۰۰ µg/ml معادل ٤۰۰۰ ppm بود که به مراتب بیشتر از غلظت مورد استفاده در دهانشویه ما بود. این مطالعه نشان داد خاصیت آنتی باکتریال محلول نانو با این غلظت پس از ۹ ماه نسبت به با کتری استرپتوکوک موتانس به یک سوم کاهش پیدا کرده و غلظت ۲۰/۱ از این محلول (۲۰۰ (ppmبدون اثر روی باکتری بوده است. (۳۹) به نظر می رسد اثر بخشی نانوسیلور وابستگی تنگاتنگی با عمر این محصول دارد. در مطالعه ای در سال ۲۰۱۹ توسط دکتر اصفهانیان و همکاران در دانشکده دندانپزشکی خوراسگان به مقایسه اثر کلرهگزیدین و محلول نانو بر روی پلاک دندانی پرداخته شد. تحقیقات نشان داد کلر هگزیدین همچنان به عنوان استاندارد طلایی قدرت آنتی باکتریال قوی تری نسبت به نانوسیلور در هر دو شرایط هوازی و بی هوازی دارد. از طرفی در این پژوهش نشان داده شد که محلول نانوسیلور در شرایط بی هوازی موثر تر از شرایط هوازی ظاهر شده است که این امر را می توان به آزاد شدن اکسیژن از گروه های پراکسید هیدروژن موجود در نانو سیلور نسبت داد.(٤۰) در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۸ در یمن توسط Amani Al-sharani و همکاران به صورت in vivo انجام شد، میزان کاهش سه شاخص: پلاک ایندکس، جینجیوال ایندکس و خونریزی از پاپیلا و لثه بعد استفاده از دو دهانشویه کلرهگزیدین و نانوسیلور بررسی شد. مدت این بررسی ٤ هفته بوده است و دهانشویه نانوسیلوراستفاده شده در این مطالعه با نام Nanogist ساخت کره جنوبی بوده است. متاسفانه در این بررسی اشاره ای به غلظت ذرات نانو و همچنین سایز آنها نشده است. در این پژوهش هر دو دهانشویه در کاهش شاخص های فوق قابل قبول و نزدیک به هم عمل کردند، گرچه میزان کاهش متغییر ها در گروه کلرهگزیدین بیشتر از نانوسیلور بود.(۳۰) در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۷ در برزیل توسط Priscila L.L. Freire1 و همکاران انجام شد، تاثیر محلول (NsF نانوسیلور و فلوراید) بر روی استرپتوکوک

[DOI: 10.29252/ijpd.15.1.93]
Downloaded from journal.iapd.ir at 12:59 +0430 on Sunday May 17th 2020

موجود در پلاک دندانی و همچنین PH پلاک کودکان بررسی شد. سایز ذرات نانوی موجود در محلول استفاده شده از ۵تا۱۱ نانو متر متغیر بود، اما در این بررسی اشاره ای به غلظت محلول مورد استفاده نشده بود. نتایج این بررسی نشان داد تعداد کلونی های کمتری از استرپتوکوک موتانس در پلاک دندانی کودکانی که از محلول نانو استفاده کرده بودند وجود داشت. اما PH پلاک دندانی در گروه مورد و شاهد(استفاده از نرمال سالین) تفاوتی نداشت (۴۱).ذرات نانوسیلور استفاده شده در بررسی ها ما دارای سایز ۳۰ تا ۵۰ نانومتر بودند که ممکن است بر روی کارایی آنها در مقایسه با مطالعه قبلی موثر بوده باشد. همچنین در این مطالعه ذرات نانو همراه با فلوراید مورد استفاده قرار گرفته اند که خود دارای خواص انتی باکتریال بوده و خواص نانوسیلور را تقویت می نماید. در مطالعه ای که توسط دکتر لیسار و همکاران در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه شاهد انجام شد، خواص آنتی باکتریال محلول نانوسیلور و روغن سیاهدانه در مقایسه با آموکسی سیلین بر روی دوباکتری استرپتوکوک موتانس و سانگوئیس بررسی شد. غلظت محلول نانوی استفاده شده در این بررسی ppm ۳۵۰۰ بوده که در حدود ۳۵۰ برابر محلول استفاده شده در تحقیق ماست. در این بررسی مشابه تحقیق ما از دور روش میکرودایالوشن و دیسک دفیوژن استفاده شده است. نتایج نشان داد که هاله مهاری محلول نانوسیلور در غلظت های کمتر از ۲۱ pppmتشکیل نمی شود که این موضوع یافته های ما را در این بررسی تائید می کند.(۴۲) در مطالعه ای که توسط دکتر زونگ و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام شد، رابطه سایز ذرات نانو و خواص انتی باکتریال آن ها بررسی شد. در این بررسی باکتری های بی هوازی بیماری زای حفره دهان مثل موتانس و سانگوئیس و نیز سایز نانو ذرات ۵،۱۵ ۵۵ نانو متر بررسی شدند. در این مطاله از روش شمارش کلنی ها برای تعیین میزان MIC استفاده شد. نتایج این بررسی نشان داد که ذرات کوچکتر نانوسیلور nm5 داری خواص آنتی باکتری قوی تری دارند. همچنین ذراتی با اندازه ۵۵ نانو متر که به اندازه ذرات ما در تحقیق نزدیک تر است در غلظت ppm۲۰۰ دارای خواص باکتریواستاتیکی می باشد. که از این نظر با غلظت استفاده شده ی ما تفاوت داشته و یافته های مارا در رابطه با وابستگی غلظت نانوذرات و اثر بخشی محلول تائید می کند.(۴۳)

نتیجه گیری: دهانشویه نانوسیلور مورد استفاده در تحقیق ما (سیلوسپت) نسبت به کلر هگزیدین دارای خاصیت باکتریواستاتیکی ناچیز و فاقد خاصیت باکتریوسیدال است. استفاده از ترکیبات نانو به عنوان دهانشویه جایگزین برای دهانشویه های رایج فعلا مقدور نیست و نیازمند ارتقای فرمولاسیون آن می باشد.

[DOI: 10.29252/ijpd.15.1.93]
Downloaded from journal.iapd.ir at 12:59 +0430 on Sunday May 17th 2020

Refrences

1- F.Ahrari, N.Eslami, O.Rajabi, K.Ghazvini and S.Barati. The antimicrobial sensitivity of Streptococcus mutans and Streptococcus sangius to colloidal solutions of different nanoparticles applied as mouthwashes. Dental Research Journal, 2015 Jan-Feb;12(1): 44-49

2- Mohammad mehdi Solan dalal, Hussein Dargahi, fariborz Mehrani, Mohammad kazem Sharifi yazdi, Abbas Rahimi froshani, Seyed asghar Miremadi.The role of Streptococcus Muttans In Dental Caries In Two Groups Of sensitive And Resistance children age 3 to 5 years. Payavard Salamat J,2013; 6(6)467-477 [Persian]

3- Wennström JL, Dahlén G, Gröndahl K, Heijl L. Periodic subgingival antimicrobial irrigation of periodontal pockets (II). Microbiological and radiographical observations. Journal of Clinical Periodontology. 1987;14(9):573–80

4- Newman MG, Takei HH, Carranza FA. 10th ed. Ch. 6. Philadelphia: Elsevier; 2006. Clinical Periodontology; p. 42.

5- Shah HM, Shah MN, Gokani VN, Jethal BS. A comparative, qualitative and quantitative antimicrobial efficacies of mouthrinses containing chlorhexidine gluconate and essential oils. Indian J Dent Res. 1993;4(3-4):103–111.

6- O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. J Periodontol. 1972;43(1):38.

7- Garnett JA, Matthews S. Interactions in bacterial Biofilm development: A structural Perspective. Current Protein and Peptide Science 2012; 13: 739-55.

8- Wennström JL, Dahlén G, Gröndahl K, Heijl L. Periodic subgingival antimicrobial irrigation of periodontal pockets (II). Microbiological and radiographical observations. Journal of Clinical Periodontology. 1987;14(9):573–80

9- Eriksen HM, Nordbö H. Extrinsic discoloration of teeth. J Clin Periodontol 1978; 5: 229-32.

10- Paknejad M, Jafarzade Ts, Shamloo Am. Comparison of the efficacy of Matrica and 0.2% cholorhexidine mouthwashes in patients with chronic periodontitis. J Islamic Dent Assoc 2006; 18(3): 92-7. (Persian)

11- Abd EI Rahman Hf, Skaug N, Francis Gw. In vitro antimicrobial effects of crude miswak extract on oral pathogen. Saudi Dent J 2002; 14(1): 26-32.

12- Haghighati F, Jafari S, Beitollahi J. Comparison of antimicrobial effects of ten Herbal extracts with chlorhexidine on three different oral pathogens: An in vitro study. Hakim Res J 2003; 6(3): 71-6. (Persian)

13- Haffajee AD, Yaskell T, Sokransky SS. Antimicrobial effectiveness of an herbal mouthrinse compared with an essential oil and a chlorhexidine mouthrinse. J Am Dent Assoc 2008; 139(5): 606-17.

14- Hernández-Sierra JF, Ruiz F, Pena DC, Martínez-Gutiérrez F, Martínez AE, Guillén Ade J, et al. The antimicrobial sensitivity of Streptococcus mutans to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold. Nanomedicine. 2008;4(3):237–240.

15- Shrivastava S, T Bera, A Roy, G Singh, P Ramachandrarao and D Dash. Characterization of enhanced antibacterial effects of nano silver nano particles. J Nanotechnology. 2007;18(22):103–125.

16- Hidalgo E, Domínguez C. Study of cytotoxicity mechanisms of silver nitrate in human dermal fibroblasts. Toxicology Letters. 1998; 98(3):169–179.

17- Lee HJ, Yeo SY, S H Jeong. Antibacterial effect of nanosized silver colloidal solution on textile fabrics. J Materials science. 2003;38(10):2199–2204.

18- G.Holla, R.Yeluri and K.Munshi. Evaluation of minimum inhibitory and minimum bactericidal concentration of nanosilver base inorganic anti-microbial agent (Novaron®) against streptococcus mutans.Contemporary clinical dentistry. 2012;3(3): 288-293

19- Brett DW. A discussion of silver as an antimicrobial agent: Alleviating the confusion. Ostomy Wound Manage. 2006; 52(1):34–41.

20- Williams RL, Doherty PJ, Vince DG, Grashoff GJ, Williams DF. The biocompatibility of silver. Critical Reviews in Biocompatibility. 1989; 5(3):221–243.

21- Bragg PD, Rainnie DJ. The effect of silver ions on the respiratory chain of Escherichia coli. Can J Microbiol. 1974; 20(6):883–889.

22- Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnol Adv. 2009;27(1):76–83.

23- Holister P, Weener JW, Romas Vas C, Harper T. Nanoparticles. Technology white papers 3. London: Sientific Ltd; 2003. pp. 2–11.

[DOI: 10.29252/ijpd.15.1.93]
Downloaded from journal.iapd.ir at 12:59 +0430 on Sunday May 17th 2020

24- Stobie N, Duffy B, McCormack DE, Colreavy J, Hidalgo M, McHale P, et al. Prevention of Staphylococcus epidermidis biofilm formation using a low-temperature processed silver-doped phenyltriethoxysilane sol-gel coating. Biomaterials. 2008;29(8):963–69

25- Melaiye A, Youngs WJ. Silver and its application as an antimicrobial agent. Expert Opin Ther Pat. 2005;15(2):125–130.

26- Kariminik.A and Motaghi.MM. Evaluation of Antimicrobial Susceptibility Pattern of Streptococcus Mutans Isolated from Dental Plaques to Chlorhexidine, Nanosil and Common Antibiotics. International journal of life science. 2015;9(2): 18-21

27- Fattahi Dolat Abadi.M, Mehrabian.S, Asgari.B, Ebrahimzadeh Namavar.A, F.Ezzatifar.F, A.Rastegar Lari.A. Silver nanoparticles as active ingredient used for alcohol-free mouthwash. GMS Hyg Infect control. 2013; 8(1): Doc05

28- A.Kaladhar Reddy, Prabhurag B, Kambalyal, Santosh R Patil, M Vankhre, Yaser Ahmad Khan, T Ramanna Kumar. Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Silver, Titanium. J Orthod Sci.2016 Oct-Dec; 5(4): 127-131

29- V. Esfahanian, F. Mohamadi, SH. Amini . An In Vitro Comparison of Antimicrobial Effect of Nanosil and ChlorhexidineMouthrinses. Journal of Islamic Dental Association of IRAN (JIDAI) / Fall 2012 /24 / (3)

30- Al-sharani A, Al-Hajj W & Madfa A. Clinical efficacy of nanosilver and chlorhexidine in the treatment of plaque-induced gingivitis: randomized controlled clinical trial. J Oral Res 2018; 7(7):238-244

31- P. Divya Kumari, Shilpa M. Shenoy, Shahnawaz Khijmatgar, Avidyuti Chowdhury, Edward Lynch, Chitta R. Chowdhury, Antibacterial activity of new atraumatic restorative treatment materials incorporated with Azadirachta indica (Neem) against Streptococcus mutans, Journal of Oral Biology and Craniofacial Research,2019;9(4) 321-325,

32- Ahn S-J,Cho E-J,Kim H-J,Park S-N, Lim Y-K,Kook J-K. The antimicrobial effect of deglycyrrhizinated licorice root extract on Streptococcus mutans UA159 in both planktonic and biofilm cultures. Anaerobe.2012; 18(6):590-6.

33- Ahn S-J, Soon-Nang Park , Young Ju Lee , Eun-Jung Cho, Yun Kyong Lim, Xue Min Li. Invitro antimicrobial activities of 1-Methoxyficifolionol, Licorisoflavan A, and 6,8-Diprenylgenistein against streptococcus mutans. Caries Res 2015; 49(1): 78-89

34- Sukumaran Prabhu, Eldho K Poulose. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. inl-journal.2012;2(32)

35- Liangpeng, Qingtao, Meng Wang, Jun Ouyang, Xiaojian Li, Malcolm MQ Xing. Nanosilver particles in medical applications: synthesis, performance, and toxicity. International Journal of Nanomedicine 2014:9 2399–2407

36- Ji JH, Jung JH, Kim SS, et al. Twenty-eight-day inhalation toxicity study of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. Inhal Toxicol. 2007;19(10):857–871.

37- Lee KJ, Nallathamby PD, Browning LM, Osgood CJ, Xu XH. In vivo imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos. ACS Nano. 2007;1(2):133–143.

38- Borum AE and Güneş E. Antibacterial effect of different concentrations of silver nanoparticles. Pak Vet J, 2018, 38(3): 321-324

39- Niakan,M, Azimi.H, Jafarian.Z, MohammadtaghiG, Niakan.S, Mostafavizade,S. Evaluation of Nanosilver Solution Stability against Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa. Jundishapur Journal of Microbiology. 2013 Aug; 6(6): e8570.

40- Esfahanian.v, Mohamadi.F,. Amini .SH. An In Vitro Comparison of Antimicrobial Effect of Nanosil and ChlorhexidineMouthrinses. Journal of Islamic Dental Association of IRAN (JIDAI) / Fall 2012 /24 / (3)

41- Priscila L.L. Freire1, Allan J.R. Albuquerque2, Fabio C. Sampaio2, André Galembeck3, Miguel A. P. Flores3, Thayza C. M. Stamford3,et al. AgNPs: The New Allies Against S. Mutans Biofilm - A Pilot Clinical Trial and Microbiological Assay. Brazilian Dental Journal (2017) 28(4): 417-422

42- Azimi Laysar H, Niakan M, Mohammad Taghi G, Jafarian Z, Mostafavizade M, Niakan S. Comparison of the antibacterial activity of various concentrations of Nigella Sativa and Nanosilver on the growth of S.sanguis and S. mutans. J Res Dent Sci. 2013; 9 (4) :179-186

43- Zhong Lu , Kaifeng Rong , Ju Li , Hao Yang ,Rong Chen. Size-dependent antibacterial activities of silver nanoparticles against oral anaerobic pathogenic bacteria. J Mater Sci: Mater Med (2013) 24:1465–1471