

## بررسی اثر گلاس یونومر نوری حاوی مقادیر مختلف نانوذرات اکسید روی بر استرپتوکوک موتناس

فاطمه اسمی (DDS, MS)<sup>۱\*</sup>، سید محمد امین مرعشی (PhD)<sup>۲</sup>، عاطفه صفاری (DDS, MS)<sup>۱</sup>، ایاد عبیات (DDS)<sup>۲</sup>، علی بیژنی (MD)<sup>۳</sup>

- ۱- مرکز تحقیقات مواد دندانی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل
- ۲- گروه میکروب شناسی و ایمنی، دانشگاه علوم پزشکی البرز
- ۳- دانشگاه علوم پزشکی بابل
- ۴- مرکز تحقیقات بیماریهای غیرواگیر کودکان امیرکلا، دانشگاه علوم پزشکی بابل

دریافت: ۹۲/۲/۳۱، اصلاح: ۹۲/۴/۱۹، پذیرش: ۹۲/۸/۱۵

### خلاصه

**سابقه و هدف:** استفاده از نانوذرات در بهبود خواص آنتی باکتریال رزین های دندانی اخیراً بسیار مورد توجه قرار گرفته است. با افزودن این ذرات به مواد رزینی، نتایج بسیار مطلوبی را در کاهش رشد باکتری ها گزارش کرده اند. از آنجاییکه اکسید روی به عنوان یک ماده آنتی باکتریال در موارد مختلف مورد توجه می باشد، در این مطالعه با افزودن نانوذرات اکسید روی به یک نوع گلاس آینومر نوری، خواص آنتی باکتریال آن بر علیه استرپتوکوک موتناس مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روشهای:** در این مطالعه آزمایشگاهی تعداد ۳۰ نمونه مورد مطالعه در ۲ دسته آزمایشی میکروبیولوژی ( تست دیسک دیفیوژن و تست تماس مستقیم) هر دسته شامل پنج گروه گلاس یونومر نوری (Fuji II LC/GC Corp. Japan) حاوی درصدهای وزنی مختلف از نانوذرات اکسید روی (به ترتیب ۰ (گروه کنترل)، ۱، ۲، ۳ و ۴٪) و هر گروه شامل ۳ نمونه تقسیم شد. پس از توزین نانوذرات توسط ترازوی دیجیتال چهار رقم اعشار، این ذرات به مدت ۲۰ دقیقه توسط گوده و هاون با پودر گلاس یونومر مخلوط گردیدند. جهت تست دیسک دیفیوژن ۱۵ عدد دیسک از گلاس یونومر آزمایشی داخل قالب های پلاستیکی یکسان با ضخامت ۲ mm و قطر ۸mm کیور شد. سپس آنتی باکتریال آنها در محیط کشت آکار بر علیه باکتری استرپتوکوک موتناس مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام تست تماس مستقیم، ۱۵ عدد میکروتیوب حاوی گروه های گلاس اینومر تهیه شد و اثر آنتی باکتریال آنها مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** در تست دیسک دیفیوژن میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری اطراف دیسکها با افزایش درصد نانوذرات موجود در نمونه ها افزایش چشمگیری داشت. در تست تماس مستقیم در گلاس یونومر های حاوی نانوذرات اکسید روی، بین سه گروه مختلف حاوی ۳٪، ۲٪، ۱٪ نانوذرات اختلاف معنی داری وجود نداشت. ولی گروه حاوی ۵٪ نانوذرات اکسید روی در مقایسه با گروه کنترل تفاوت زیادی را در کاهش رشد باکتری نشان داد.

**نتیجه گیری:** نتایج مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت نانوذرات اکسید روی در گلاس اینومر میزان رشد باکتری ها کاهش چشمگیری می یابد.

**واژه های کلیدی:** گلاس اینومر، استرپتوکوک موتناس، نانوذرات اکسید روی.

### مقدمه

در انگلستان ابداع گردید (۱). گرچه این ماده دارای مزایایی همچون توانایی باند شیمیایی به دندان ضریب انساط حرارتی و ضریب انتقال حرارتی مشابه دندان و عدم وجود انقباض در زمان پلیمریزاسیون برخلاف کامپوزیتها بود (۱). اما به علت ضعف خواص مکانیکی به عنوان یک ماده ترمیمی چندان گسترش نیافت (۱). از آنجا که یکی از خواص مهم گلاس آینومر غیر از قابلیت اتصال شیمیایی به سطح دندان، توانایی آزاد سازی فلوراید می باشد، تکیه بر خاصیت آزاد سازی فلوراید به منظور کاهش خطر پوسیدگی و کاهش استرپتوکوکهای موتناس مطالعات زیادی را در این زمینه برانگیخته است که به نتایج ضدو نقیضی در مورد خاصیت ضد پوسیدگی گلاس آینومر دست یافته اند (۲). سالهای متمادی است که از فلزات به

سالها محققین به دنبال ماده ای ترمیمی بودند که آنرا جایگزین آمالگام کنند. بطوریکه موادیکه ارائه کردند نه تنها از نظر زیبایی قابل قبول بود بلکه از نظر مقاومت به سایش نیز با آمالگام قابل مقایسه بود. در مسیر جایگزینی آمالگام دو نوع ماده ترمیمی یعنی کامپوزیت و گلاس آینومر ارائه شدند که هر کدام در نوع خود دارای مزایا و معایب بودند (۱). اما مهمترین ایدایکه به آمالگام وارد می شود مسأله زیبایی و مهمترین ابراد کامپوزیت مسأله انقباض حاصل از پلیمریزاسیون می باشد که در نهایت منجر به از بین رفتن باند در عاج و عود پوسیدگی و حساسیت ثانویه میشود (۱). به دنبال رفع معایب کامپوزیت ماده Kent در سال ۱۹۷۲ دیگری به نام گلاس آینومر توسط Wilson و Kent در سال ۱۹۷۲

۱- این مقاله حاصل پایان نامه ایاد عبیات دانشجو دندانپزشکی و طرح تحقیقاتی به شماره ۹۱۳۳۲۱۹ دانشگاه علوم پزشکی بابل می باشد.

\* مسئول مقاله: دکتر فاطمه اسمی

آدرس: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده دندانپزشکی، مرکز تحقیقات مواد دندانی، تلفن: ۰۱۱-۲۲۹۱۴۰۸

ثانیه مخلوط شد. مخلوط حاضر داخل قالب استوانه ای پلاستیکی قرار داده شد. فضای مرکزی این قالب ها دارای ابعادی با ضخامت ۲mm و قطر ۸mm می باشد. سپس دو سر آن توسط دو صفحه شیشه ای جداگانه پوشیده شد، تا سطح صافی از دیسک را فراهم سازد. سپس عمل پلیمریزاسیون گلاس یونومر توسط دستگاه لایت کیور LED به مدت ۲۰ ثانیه برای هر نمونه انجام شد. برای تهیه گروههای دوم تا پنجم میزان ۲، ۳، ۵ درصد وزنی از نانوذرات اکسید روی پس از توزین توسط ترازوی دیجیتال چهار رقم اعشار به پودر گلاس آینومر اضافه شد. چهت یکسان سازی توزیع نانوذرات داخل گلاس یونومر، این ترکیب توسط گوده و هاون به مدت ۲۰ دقیقه (به روش mortar & pestle) به طور دستی مخلوط گردید. سپس پودرهای حاصله طبق دستورالعمل کارخانه با مایع گلاس آینومر به همان روشی که برای گروه کنترل ذکر شد مخلوط گردید و نمونه ها آماده شد.

**تست دیسک دیفیوژن:** پس از آماده سازی تعداد ۳ عدد دیسک از هر یک از ۵ گروه گلاس یونومر مورد آزمایش (در مجموع ۱۵ دیسک)، ۵ پلیت جداگانه ۲۰۰ میکرومتر از محلول استاندارد نیم مک فارلاند استرپتوکوک موتانس (ATCC 1601) (حدود  $1.5 \times 10^4$  پاکتی) بر روی محیط برات آگار کشت داده شدند و دیسک های تهیه شده بر سطح هر یک از ظروف حاوی محیط کشت قرار داده شد. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  در انکوباتور نگهداری شدند.

**آماده سازی نمونه ها جهت تست تماس مستقیم:** تعداد ۱۵ نمونه مربوط به این آزمایش در پنج گروه گلاس یونومر نوری Fuji II LC(GC Corp. Japan) حاوی درصدهای وزنی مختلف از نانوذرات اکسید روی (به ترتیب ۰ (گروه کنترل)، ۲۳٪، ۱٪ و ۷٪) و هر گروه شامل ۳ نمونه تقسیم شد. سپس گروههای مختلف وزنی از نانوذرات اکسید روی به روش ذکر شده در تست دیسک دیفیوژن، برای این آزمایش نیز مهیا گشتند. برای تهیه هر نمونه از میکروتیوب های مربوط به آزمایشات باکتری شناسی که دارای حجم ۵۰۰ میکرومتر هستند، استفاده شده و پس از وارد کردن گلاس آینومرها معادل ۲۰۰ میکرومتر از حجم تیوب در این تیوب ها و تطابق یافتن بر روی دیواره های داخلی به کمک اسپاتول پلاستیکی، عمل پلیمریزاسیون با دستگاه لایت کیور انجام شد. ۳۰۰ میکرومتر باقیمانده حجم میکروتیوب ها نیز با مایع بر شدند.

**تست تماس مستقیم:** تعداد ۳ عدد میکروتیوب از هر یک از ۵ گروه گلاس آینومر مورد آزمایش تهیه شد. آن گاه ۱۰ میکرومتر از محلول استاندارد نیم فک فارلاند استرپتوکوک موتانس (ATCC 1601) درون ظرف اضافه شد. درب ظرفها کاملاً بسته شده و در انکوباتور با دمای  $37^\circ\text{C}$  در زمانهای ۳، ۶، ۱۲ ساعت بعد، حجم مشخص ۱۰ میکرومتر از محلول موجود در هر یک از ظروف بر روی محیط کشت شکلات آگار قرار داده شد و پس از ۲۴-۴۸ ساعت نگهداری در انکوباتور تعداد باکتری در حجم واحد تعیین گردید. به منظور جمع آوری اطلاعات، در حجم مشخص محلول باکتریایی مجاور با نمونه های گلاس یونومر منتقل شده به محیط کشت جامد، پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای  $37^\circ\text{C}$  کلونی های ایجاد شده باکتریها شمارش شدند. علاوه میزان هاله عدم رشد باکتری ها در اطراف نمونه ها بر حسب میلی متر اندازه گیری شد و سپس میانگین و انحراف معیار برای هر گروه آزمایشی محاسبه شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS17 و آزمون آماری ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و  $p < 0.05$  معنی دار تلقی گردید.

عنوان عوامل ضد باکتری استفاده میشود. از جمله فلزات مطرح در این زمینه طلا، نقره و روی را میتوان نام برد (۴ و ۵) یون های نقره بدون مخاطره جدی در خواص مکانیکی کامپوزیتها مورد استفاده قرار گرفته اند. ولی خواص آنتی باکتریال آنها فقط برای مدت کوتاهی دوام داشته است (۶) به علاوه تغییر رنگ ایجاد شده در کامپوزیت، ناشی از افزودن ذرات نقره، مشکل بزرگی است (۷). اکسید روی دارای اثر ضد باکتری بر علیه بسیاری از باکتریها از جمله استرپتوکوک موتانس می باشد (۸ و ۹). از دیگر محسن اکسید روی غیر محلول و سفید بدون آن است که برای استفاده در مواد ترمیمی هم رنگ زیبای آنها را با خطر مواجه نمی سازد (۱۰). اگر چه بکار گیری اکسید روی به عنوان عامل آنتی باکتریال در محصولات مختلف صنعتی و تجاری سابقه ای طولانی دارد، استفاده از این خاصیت در مواد دندانی تنها در سالهای اخیر و متعاقب پیشرفت گسترده در علم نانو تکنولوژی مورد توجه قرار گرفته است. یکی از مهمترین مباحث مطالعات اخیر، استفاده از نانوذرات در بهبود خواص آنتی باکتریال رزین های دندانی بوده است. از آنجایی که خواص آنتی باکتریال اکثر مواد، به سطح تماس آن ها با میکروارگانیسم بستگی دارد، لذا با تولید ذرات در سایز نانومتر نسبت سطح به حجم آن ها افزایش قابل توجهی یافته و باعث اثربخشی آن ها در غلظت های بسیار کم می شود که این امر مزیت اصلی و علت اولیه کاربرد نانوذرات به عنوان مواد آنتی باکتریال می باشد که نتایج بسیار خوبی را در پی داشته است (۹). تحقیقات جدیدی جهت بررسی اثر آنتی باکتریال ذرات اکسید روی در انواع رزین کامپوزیت ها با هدف کاهش پوسیدگی ثانویه انجام پذیرفته است (۱۱ و ۱۲). بررسی این مطالعات بیانگر این نکته است که با کاهش سایز ذرات اکسید روی از میکرومتر به نانومتر اثر و قدرت آنتی باکتریال آنها در انواع رزین کامپوزیتها تا حد قابل توجهی افزایش می یابد (۱۳-۱۴). چرا که خاصیت ضد باکتریایی فلزات به سطح تماس آنها بستگی دارد (۱۵).

با توجه به اطلاعات محدود در دسترس و گزارشات مبنی بر وجود پوسیدگی ثانویه در کنار گلاس آینومر با وجود خاصیت رها سازی فلوراید هدف از این مطالعه افزودن نانو ذرات اکسید روی به یک نوع گلاس آینومر نوری و بررسی خواص آنتی باکتریال آن در برابر استرپتوکوک موتانس می باشد.

## مواد و روشها

در این مطالعه آزمایشگاهی تعداد ۳۰ نمونه مورد مطالعه در ۳ دسته آزمایشی میکروبیولوژی (تست دیسک دیفیوژن و تست تماس مستقیم) هر دسته شامل پنج گروه گلاس یونومر نوری Fuji II LC(GC Corp. Japan) حاوی درصدهای وزنی مختلف از نانوذرات اکسید روی (به ترتیب ۰ (گروه کنترل)، ۱٪، ۲٪ و ۳٪) و هر گروه شامل ۳ نمونه تقسیم شدند.

**آماده سازی نمونه ها جهت تست دیسک دیفیوژن:** تعداد ۱۵ نمونه مربوط به این آزمایش در پنج گروه گلاس یونومر نوری Fuji II LC(GC Corp. Japan) حاوی درصدهای وزنی مختلف از نانوذرات اکسید روی (به ترتیب ۰ (گروه کنترل)، ۱٪، ۲٪ و ۳٪) و هر گروه شامل ۳ نمونه تقسیم شدند. جهت آماده سازی گروه کنترل مقداری از پودر گلاس آینومر Fuji II LC (GC Corp., Japan) و مایع آن به ترتیب به نسبت  $3/2$  به  $g$ ،  $1$ ، توسط ترازوی دیجیتال چهار رقم اعشار وزن شده و بر روی اسلب شیشه ای به مدت ۲۵

## یافته ها

۳، ۶ و ۲۴ ساعت پس از قرار گرفتن بر سطح گلاس آینومر موجود در محیط کشت کاهش یابنده است که البته این امر در گروه های ریزی محتوای٪۰،٪۱،٪۲،٪۳ نانوذرات کمتر از گروه حاوی٪۵ قابل مشاهده می باشد (جدول ۲).

**جدول ۱. میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری در اطراف دیسکهای حاوی نانوذرات اکسید روی در تست دیسک دیفیوژن**

| درصد نانوذرات | میانگین قطر هاله عدم رشد موجود در رزین | باکتری بر حسب میلی متر |
|---------------|--|------------------------|
| ۱۱±۰.         | ۱۱                                     | %۰                     |
| ۱۳±۰.         | ۱۳                                     | %۱                     |
| ۱۸±۰.         | ۱۸                                     | %۲                     |
| ۲۰±۰.         | ۲۰                                     | %۳                     |
| ۲۳±۰.         | ۲۳                                     | %۵                     |

**جدول ۲. میانگین تعداد کلونی های رشد کرد در تست تماس مستقیم در فواصل زمانی مختلف در گروههای حاوی درصدهای مختلف نانوذرات اکسید روی\***

| **PValue | درصد نانوذرات موجود در گلاس یونومر |                            |                            | **P Value |
|----------|------------------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------|
|          | باکتریهای رشد پس از ۲۴ ساعت        | باکتریهای رشد پس از ۶ ساعت | باکتریهای رشد پس از ۳ ساعت |           |
| Mean±SD  | Mean±SD                            | Mean±SD                    |                            |           |
| .۰/۰۰۰   | ۱۵۱۰۰±۴۵                           | ۱۴۲۰۰±۹۰                   | ۱۳۵۰۰±۱۰۰                  | %۰        |
| .۰/۰۰۰   | ۱۱۰۰۰±۵۵                           | ۸۷۰۰±۶۰                    | ۹۷۰۰±۳۰                    | %۱        |
| .۰/۰۰۰   | ۱۰۵۰۰±۶۵                           | ۴۹۰۰±۴۵                    | ۵۲۰۰±۶۰                    | %۲        |
| .۰/۰۰۰   | ۳۸۰۰±۱۰۰                           | ۲۰۰۰±۵۰                    | ۲۱۰۰±۹۰                    | %۳        |
| .۰/۰۰۰   | ۲۵۰۰±۶۰                            | ۵۰۰±۷۰                     | ۴۵۰±۳۰                     | %۵        |
| .        | .                                  | .                          | .                          |           |

\* تعداد باکتری اولیه که به محیط اضافه شده  $10^5$  cfu/ml می باشد.

\*\*در مقایسه دو به دو نیز بین همه گروهها اختلاف آماری مشاهده شد.

## بحث و نتیجه گیری

سایز نانوذرات اکسیدروی، میزان اثربخشی در مقابل باکتری افزایش چشمگیری خواهد داشت. چرا که خاصیت آنتی باکتریال بسیار وابسته به سطح تماس ذرات می باشد (۱۰).

اکسید روی دارای تأثیر آنتی باکتریال بر علیه بسیاری از باکتری ها از جمله استرپتوکوک موتانس می باشد (۱۶). مزیت مهم دیگر اکسید روی رنگ سفید آن بوده که با کاربردهای زیبایی مواد دندانی تداخل ندارد (۱۷). در مطالعه حاضر نتایج حاصل از تست دیسک دیفیوژن تفاوت معنی داری را بین گروه های حاوی درصدهای مختلف نانوذرات اکسید روی مشخص می کند، در واقع هاله عدم رشد باکتری در اطراف تمامی گروه های مورد مطالعه حاوی درصدهای گوناگون نانوذرات اکسیدروی مشاهده گردید و با افزایش درصد نانوذرات موجود از یک

نتایج حاصل از تست دیسک دیفیوژن تفاوت معنی داری را بین گروه های حاوی درصدهای مختلف نانوذرات اکسید روی مشخص می کند، در واقع هاله عدم رشد باکتری در اطراف تمامی گروههای مورد مطالعه حاوی درصدهای گوناگون نانوذرات اکسیدروی مشاهده گردید و با افزایش درصد نانوذرات موجود از یک درصد تا پنج درصد قطر هاله عدم رشد بطور معنی داری افزایش یافته است. این نتیجه نشان میدهد نانوذرات موجود در نمونه های گلاس آینومر بخوبی در محیط پیرامونی (براث آگار) نفوذ کرده و رشد باکتریها را مختل نموده است (جدول ۱).

براساس یافته های مطالعه حاضر، در تست تماس مستقیم نمونه های حاوی نانوذرات اکسید روی به طور معنی داری از رشد باکتری موتانس بر سطح خود ممانتع به عمل آورند که با افزایش غلظت نانوذرات فوق از یک تا پنج درصد اختلاف چشم گیری بین خواص آنتی باکتریال نمونه های حاوی٪۰،٪۱،٪۲،٪۳ و نمونه های حاوی٪۵ نانوذرات اکسید روی می باشد. روند کلی رشد باکتری ها در

می باشد. فلوراید موجود در یک ترمیم گلاس آینومر می تواند در دایره ای به قطر ۳mm انتشار گردد، یعنی حتی ممکن است دندان کناری را نیز شامل شود. این آزادسازی در ابتدای قرار دادن سمان در حفره زیاد است ولی با گذشت زمان از میزان آن کاسته می شود (۳۷). فلوراید اثر کاهنده‌ی بر میزان دمینرالیزاسیون و در مقابل اثر افزایشی بر روند رمینرالیزاسیون ایفا می کند. در مطالعه ای توسط Imaizato و همکاران که از تست های تماس مستقیم استفاده شده است، رزین کامپوزیت حاوی تریکلوزان به طور معنی داری از رشد باکتری ها مانعت به عمل آورده است (۳۸).

در تحقیقی که توسط Othman و همکاران انجام شده است نیز ذرات بنزاكلولیوم کلراید به رزین کامپوزیت های دندانی افزوده شده و خواص قابل توجه آتنی باکتریال از آن ها گزارش شده است (۳۹)، در این مطالعه بیان گردیده که ذرات فوق با سرعتی ثابت از شبکه رزینی جداگشته و ادعا شده است که این آزادسازی ذرات آتنی باکتریال اثر پایداری را در جلوگیری از تشکیل پلاک های باکتریال بر سطح دندان دارند و نقش آن ها از لحاظ نفوذ در محیط اطراف دندان به مشابهت آزادسازی ذرات فلوراید از گلاس آینومر گزارش شده است (۳۹). با وجود تحقیقات گسترشده در مورد نانوذرات اکسید روی در تمامی مطالعات فوق ماده مورد بررسی رزین کامپوزیت ها می باشد و این مطالعه اولین مطالعه ای است که اختصاصاً خاصیت آتنی باکتریال نانوذرات اکسید روی را در گلاس آینومرها می ساخت شونده با نور مورد نقد و بررسی قرار داده است. در سیاری از مطالعات گذشته چهت بررسی خواص آتنی باکتریال مواد مختلف پزشکی و دندانپزشکی از روش نفوذ در محیط آگار و یا روش تعیین حداقل غلظت مهارکننده باکتری (۴۰و۴۱) استفاده شده است که این دو روش در مورد مواد حل شونده در محیط مایع مفید بوده و اغلب چهت بررسی تأثیر آتنی بیوتیک ها به کار می روند لذا استفاده از آن ها چهت بررسی مواد با میزان انحلال اندک مناسب نمی باشد (۴۲). لذا از آن جایی که نتایج تحقیقات قبلی میبن میزان انحلال اندک نانوذرات اکسید روی بودند (۱۱).

در مطالعه حاضر از تست تماس مستقیم چهت بررسی خواص آتنی باکتریال رزین های حاوی نانوذرات اکسید روی استفاده گردیده است. طبق گزارشات بدست آمده از این تحقیق در تست تماس مستقیم نمونه های حاوی نانوذرات اکسید روی به طور معنی داری از رشد باکتری متوافق بر سطح خود مانعت به عمل آورده که با افزایش غلظت نانوذرات فوق از یک تا پنج درصد وزنی میزان رشد باکتری ها کاهش چشم گیری را نشان دادند. این روند کاهشی در نمونه حاوی پنج درصد نانوذرات شدت بیشتری پیدا کرد که نشان دهنده اختلاف چشم گیری بین خواص آتنی باکتریال نمونه های حاوی %۱، %۲، %۳ و نمونه های حاوی %۵ نانوذرات اکسید روی می باشد و روند کلی رشد باکتری ها در %۶، %۷ و %۸ ساعت پس از قرار گرفتن بر سطح گلاس آینومر موجود در محیط کشت کاهش یابنده است که البته این امر در گروه های رزینی محتوای %۰، %۱، %۲، %۳ نانوذرات کمتر از گروه حاوی %۵ قابل مشاهده می باشد. این امر میبن این مطلب است که حداقل دوز موثر نانو ذرات اکسید روی در گلاس آینومر نوری میزان ۵ درصد وزنی از نانو ذرات می باشد. در مطالعات دیگر تأثیر ضدباکتریایی ذرات افزوده شده به کامپوزیت ها به وسیله روش کدروت سنگی بررسی شده است (۴۳). در روش مذکور ایجاد افتراق بین باکتری های زنده و مرده امکان ناپذیر بوده (۴۴) حال آن که در مطالعه حاضر با شمارش تعداد کلونی های رشد

در صد تا پنج درصد قطر هاله عدم رشد به طور معنی داری افزایش یافت. این نتیجه نشان می دهد که نانوذرات موجود در نمونه های گلاس آینومر به خوبی در محیط پیرامونی (براث آگار) نفوذ کرده و رشد باکتری ها را مختلط نموده است. این نتایج در توافق با مطالعات Adams و همکاران و Jones که نشان دادند نانوذرات اکسید روی با داشتن نسبت سطح به حجم بالاتر بر ضد باکتری های گرم مشبت و گرم منفی، مؤثر از ذرات بزرگتر اکسید روی می باشد (۱۲و۱۳). مزیت مهم نانو ذرات عبارت از سطح تماس بسیار زیاد آن ها می باشد که منجره ایجاد تأثیرات آتنی باکتریال گسترشده در حضور مقادیر اندک از ذرات می شود. تفاوت قدرت ذرات آتنی باکتریال بر اساس نوع ذرات و نیز نوع باکتری مورد آزمایش می باشد (۱۰و۲۰). لذا میزان تأثیر نانوذرات اکسید روی برعلیه دیگر انواع باکتری های پوسیدگی را نیازمند تحقیقات گسترشده تر می باشد.

جهت توجیه اثر آتنی باکتریال نانوذرات اکسید روی مکانیسم های احتمالی مختلفی را می توان در نظر گرفت. یک مکانیسم احتمالی برای توضیح خاصیت آتنی باکتریال نانوذرات اکسید روی تولید مواد دارای اکسیژن فعال مانند پراکسیدهیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) می باشد، که منجر به ممانعت از رشد میکروب های پلیکتونیک می شود (۱۸). هیدروژن پراکساید و اکسیژن های فعال تولید شده با اجزا پوشش باکتری ها (مانند پروتئین ها و باقیمانده های سیستنیل) و یا یونهای آزاد باکتری ها واکنش داده و تولید رادیکال های آزاد هیدروکسیل می کنند که مانع از رشد باکتری ها شده و ادامه حیات آن ها را مختلط می کند (۲۱و۲۲). بسیاری از نانوذرات تنها تحت منع نور مأموره بشقش قادر به تولید اکسیژن فعال هستند (۱۸) اما مطالعات گسترشده ای حاکی از خواص ضدباکتریالی نانوذرات اکسید روی در شرایط تاریکی بوده اند (۲۳و۲۴).

مکانیسم احتمالی دیگر مشتمل بر آن است که هالوژن های جذب شده بر سطح نانوذرات به عنوان عوامل اکسید کننده عمل کرده و از فعالیت باکتری ها جلوگیری می کنند (۲۶) که احتمالاً این مکانیسم در شرایط هوایی قوت می یابد (۱۱). بعلاوه مکانیسم احتمالی دیگری که می توان جهت توجیه اثر این نانوذرات در نظر گرفت، عبارت از نفوذ یون در محیط کشت است (۲۷) چرا که یون روی، یک عامل سمی بوده و باعث برداشت یون منیزیم از چرخه متابولیکی میکرووارگانیسم ها شده و در نتیجه حیات باکتری ها به خطر می افتد (۲۸) از جانب دیگر یون های روی باعث تولید مقادیر کمتر اسید ناشی از میکرووارگانیسم ها شده و معدنی زدایی بافت دندان را در محیط آزمایشگاهی و نیز در بدن موجود زنده کاهش می دهد (۲۹و۳۰).

حدود چهار دهه است که سمان گلاس آینومر در عرصه دندانپزشکی وارد شده و مورد مصارف متعددی قرار گرفته است، اما همچنان به عنوان انتخاب اول برای مواد ترمیمی برگزیده نمی شود. زیرا از لحاظ زیبایی در حد کامپوزیت ها نیست و از سوی دیگر از نظر تکنیکی حساس می باشد (۳۱-۳۳). اما توانایی باند شیمیایی و میکرومکانیکال این مواد با دندان و قابلیت آزادسازی فلوراید دو ویژگی مهمی است که انتخاب این سمان را در ضایعات با پوسیدگی متعدد و نیز ترمیم ضایعات سرویکال و ART تکنیک، مطرح می سازد. در سال های اخیر گلاس آینومر اصلاح شده با رزین به بازار مصرف عرضه شده که به طور معنی داری از استحکام بالاتری نسبت به گلاس آینومر کانونشنال برخوردار است (۳۴-۳۶).

یکی از مزایای مهم استفاده از سمان های گلاس آینومر در دندانپزشکی ترمیمی، آزاد سازی یون فلوراید توسط این ماده در مجاورت ساختار دندانی

آوردنده که با افزایش غلظت نانوذرات فوق از یک تا پنج درصد وزنی میزان رشد باکتری ها کاهش چشم گیری را نشان دادند. بنابراین می توان چنین نتیجه گرفت که وجود نانوذرات اکسید روی در گلاس آینومر نوری باعث ممانعت از رشد استرپتوكوک موتابنس بر سطح این ماده میشود و حداقل دوز موثر نانو ذرات اکسید روی در گلاس آینومرها سخت شونده با نور میزان ۵ درصد وزنی می باشد. از سویی انتظار می رود که نانوذرات اکسید روی در گلاس آینومرها سخت شونده با نور نیز به عنوان فیلر مورد استفاده قرار بگیرند.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت مرکز تحقیقات مواد دندانی دانشکده دندانپزشکی بابل تشکر و قدردانی میگردد.

کرده و در محیط کشت جامد، امکان شناسایی باکتری های زنده فراهم شده است، همچنین در برخی مطالعات گذشته (۱۱) نیز افتراق مزبور توسط استفاده از روش بررسی بیوفیلم رشد کرده در سطح کامپوزیت انجام پذیرفته است آنچنان که در مطالعات گوناگون ذکر شده است، نانوذرات اکسید روی دارای حلایت کم در طول زمان بوده به گونه ای که می توان از آن ها به عنوان فیلر در این کامپوزیت ها استفاده کرد، در نتیجه انتظار می رود که با گذشت زمان خواص مکانیکی این کامپوزیت ها افت نداشته باشد.(۴۵)

در این مطالعه نتایج حاصل از تست دیسک دیفیوژن نشان می دهد که نانوذرات موجود در نمونه های گلاس آینومر به خوبی در محیط پیرامونی (براث آکار) نفوذ کرده و رشد باکتری ها را مختل نموده است از طرفی نتایج حاصل از تست تماس مستقیم مبین این مطلب است نمونه های حاوی نانوذرات اکسید روی به طور معنی داری از رشد باکتری موتابنس بر سطح خود ممانعت به عمل

## The Effect of Light Curing Glass Ionomer Containing Various Amounts of Zinc Oxide Nanoparticles on the Streptococcus Mutans Activity

F. Esmi (DDS, MS)<sup>1\*</sup>, S.M.A. Marashi (PhD)<sup>2</sup>, A. Saffari (DDS, MS)<sup>1</sup>,  
A. Abyat (DDS)<sup>3</sup>, A. Bijani (MD)<sup>4</sup>

1. Dental Materials Research Center, Dental School, Babol University of Medical Science, Babol, Iran
2. Department of Microbiology, Alborz University of Medical Science, Karaj, Iran
3. Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
4. Non-Communicable Pediatric Diseases Research Center, Amirkola Children's Hospital, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

J Babol Univ Med Sci; 16(4); Apr 2014; pp: 35-42

Received: May 21<sup>st</sup> 2013, Revised: Jul 10<sup>th</sup> 2013, Accepted: Nov 6<sup>th</sup> 2013.

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Recently, one of the important titles in dentistry is usage of nanoparticles in improvement of antibacterial properties of resin composites. There are many interesting findings about the decrease in bacterial growth adding nanoparticles to resin composite. Since there are many interests to Nano Zinc Oxide as an antibacterial agent, in this study, we evaluated antibacterial effect of zinc oxide against streptococcus mutans.

**METHODS:** In this in-vitro study, 30 samples in 2 microbiological test majors were evaluated (disc diffusion test and direct contact test). There were 5 groups of Resin Modified Glass Ionomer (RMGI) (Fuji II LC) containing different weight percent of Zinc Oxide (ZnO) nanoparticles (0%, 1%, 2%, 3% and 5%, respectively) and there were 3 samples in each group. These particles were mixed with RMGI powder by mortar and pestle in 20 minute after nanoparticles weighting by digital balance. For disc diffusion test, 15 discs of experimental GI were cured in 2mm × 8mm plastic mold and their anti-streptococcus mutants effects were evaluated in agar culture. Antibacterial effects of 15 micro-tubes containing different groups of RMGI were evaluated in direct contact test.

**FINDINGS:** In disc diffusion test there was significant increasing in non-growth halo of bacteria around the discs by increasing in nanoparticles percentage. In direct contact test there was no significant difference between 1, 2, and 3 weight percent groups but there was a significant difference between specimens containing 5 weight percent in comparison with control group.

**CONCLUSION:** The results of this study showed a considerable decrease in bacterial growth with Nano ZnO weight percent increase.

**KEY WORDS:** *Glass Ionomer, Streptococcus Mutants, Zinc Oxide Nanoparticles.*

### Please cite this article as follows:

Esmi F, Marashi SMA, Saffari A, Abyat A, Bijani A. The effect of light curing glass ionomer containing various amounts of zinc oxide nanoparticles on the streptococcus mutans activity. J Babol Univ Med Sci 2014;16(4): 35-42.

\* Corresponding Author; F. Esmi (DDS, MS)

Address: Dental Minerals Research Center, Dental School, Babol University of Medical Science, Babol, Iran

Tel: + 98 111 2291408

E-mail: f.esmi@yahoo.com

## References

- 1.Roberson T, Heymann H, Swift EJ. Sturdevant's art and science of operative dentistry. 5th ed. USA: Mosby 2006; pp: 215-20.
- 2.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.
- 3.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.
- 4.Phan TN, Buckner T, Sheng J, Baldeck JD, Marquis RE. Physiologic actions of zinc related to inhibition of acid and alkali production by oral streptococci in suspensions and biofilms. *Oral Microbiol Immunol* 2004;19(1):31-8.
- 5.Yamamoto K, Ohashi S, Aono M, Kokubo T, Yamada I, Yamauchi J. Antibacterial activity of silver ions implanted in SiO<sub>2</sub> filler on oral streptococci. *Dent Mater* 1996;12(4):227-9.
- 6.Kawashita M, Tsuneyama S, Miyaji F, Kokubo T, Kozuka H, Yamamoto K. Antibacterial silver-containing silica glass prepared by sol-gel method. *Biomaterials* 2000;21(4):393-8.
- 7.Syafuddin T, Hisamitsu H, Toko T, et al. In vitro inhibition of caries around a resin composite restoration containing antibacterial filler. *Biomaterials* 1997;18(15):1051-7.
- 8.Beyth N, Domb AJ, Weiss EI. An in vitro quantitative antibacterial analysis of amalgam and composite resins. *J Dent Res* 2007;35(3):201-6.
- 9.Hernández-Sierra JF, Ruiz F, Pena DC, et al. The antimicrobial sensitivity of streptococcus mutans to nanoparticles of silver, zink oxide, and gold. *Nanomedicine* 2008;4(3):237-40.
- 10.Aydin Sevinç B, Hanley L. Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010;94(1):22-31.
- 11.Niu LN, Fang M, Jiao K, et al. Tetrapod-like zinc oxide whisker enhancement of resin composite. *J Dent Res* 2010;89(7):746-50.
- 12.Adams LK, Lyon DY, Alvarez PJ. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and ZnO water suspensions. *Water Res* 2006;40(19):3527-32.
- 13.Jones N, Ray B, Ranjit KT, Manna AC. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. *FEMS Microbiol Lett* 2008;279(1):71-6.
- 14.Ribeiro J, Ericson D. In vitro antibacterial effect of chlorhexidine added to glass-ionomer cements. *Scand J Dent Res* 1991;99(6):533-40.
- 15.Ahn SJ, Lee SJ, Kook JK, Lim BS. Experimental antimicrobial orthodontic adhesives using nanofillers and silver nanoparticles. *Dent Mater* 2009;25(2):206-13.
- 16.Mohammadi Basir M, Haj Ali Mohammadi M. Flexural strength evaluation of six type of restorative glass ionomer cements in three different times. Thesis, Faculty of Dentistry, Shahed University, Iran 2007. [in Persian]
- 17.William JA, Billington RW. Change in compressive strength of glass ionomer restorative materials with respect to time periods of 24 hours to 4 months. *J Oral Rehabil* 1991;18(2):163-8.
- 18.Beyth N, Hourie-Haddad Y, Baraness-Hadar L, Yudovin-Farber I, Domb AJ, Weiss EI. Surface antimicrobial activity and biocompatibility of incorporated polyethylenimine nanoparticles. *Biomaterials* 2008;29(31):4157-63.
- 19.Ashby MT. Inorganic chemistry of defensive peroxidases in the human oral cavity. *J Dent Res* 2008;87(10): 900-14.
- 20.Storz G, Imlay J. Oxidative stress. *Curr Opin Microbiol* 1999;2(2):188-94.
- 21.Zhou G, Li Y, Xiao W, et al. Synthesis, characterization, and antibacterial activities of a novel nanohydroxyapatite/zinc oxide complex. *J Biomed Mater Res A* 2008;85(4):929-37.
- 22.Zhang L, Jiang Y, Diang Y, Povey M, York D. Investigation into the antibacterial behavior of suspensions of Zno nanoparticles (ZnOnanofluids). *J Nanopart Res* 2007;9(3):479-89.

- 23.Aydin Sevinç B, Hanley L. Antibacterial activity of dental composites containing zinc oxide nanoparticles. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010;94(1):22-31.
- 24.Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, Klabunde KJ. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir* 2002;18(17):6679-86.
- 25.De Soet J, van Loveren C, Lammens A, et al. Differences in cariogenicity between fresh isolates of streptococcus sobrinus and streptococcus mutans. *Caries Res* 1991;25(2):116-22.
- 26.Paunio IK. The effect of certain cautions and anions on the alkaline phosphomonoesterase activities in human dental plaque. *Acta Odontol Scand* 1970;28(3):399-415.
- 27.Wunder D, Bowen WH. Action of agents on glucosyltransferases from streptococcus mutans in solution and adsorbed to experimental pellicle. *Arch Oral Biol* 1999;44(3):203-14.
- 28.Giertsen E, Scheie A, Rolla G. Inhibition of plaque formation and plaque acidogenicity by zinc and chlorhexidinecombinations. *Scand J Dent Res* 1988;96(6):541-50.
- 29.Hernandez-Sierra JF, Ruiz F, Pena DC, et al. The antimicrobial sensitivity of Streptococcus mutans to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold. *Nanomedicine* 2008;4(3):237-40.
- 30.Sunada K, Watanabe T, Hashimoto K. Bactericidal activity of copper-deposited TiO<sub>2</sub> thin film under weak UV light illumination. *Environ Sci Technol* 2003;37(20):4785-9.
- 31.Mallmann A, Ataíde JC, Amoedo R, Rocha PV, Jacques LB. Compressive strength of glass ionomer cements using different specimen dimensions. *Braz Oral Res* 2007;12(3):204-8.
- 32.Powers JM, Sakaguchi RL. Craig's restorative dental material. 5th ed. USA: Mosby Co 2006; pp: 484-7.
- 33.Anusavica KJ. Philips' science of dental materials. 10th ed. Philadelphia: W.B. Saunders 1996; pp: 307-39.
- 34.Sidhu SK, Watson TF. Resin modified glass ionomer materials. A status report for the American Journal of dentistry. *Am J Dent* 1995;8(1):59-67.
- 35.Willson AD, Kent BE. The glass-ionomer cement. A new translucent dental feeling material. *J Appl Chem Biotechnol* 1971;21(11):313-20.
- 36.Imazato S, Torii M, Tsuchitani Y. Antibacterial effect of composite incorporating triclosan against Streptococcus mutans. *J Osaka Univ Dent Sch* 1995;35:5-11.
- 37.Othman HF, Wu CD, Evans CA, Drummond JL, Matasa CG. Evaluation of antimicrobial properties of orthodontic composite resins combined with benzalkonium chloride. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122(3): 288-49.
- 38.Karanika-Kouma A, Dionysopoulos P, Koliniotou-Koubia E, Kololotronis A. Antibacterial properties of dentin bonding systems, poly acid modified composite resins and composite resins. *J Oral Rehabil* 2001;28(2):157-60.
- 39.Palenik CJ, Setcost JC. Antimicrobial abilities of various dentin bonding agents and restorative materials. *J Dent Res* 1996;24(4):289-95.
- 40.Weiss E, Shalhav M, Fuss Z. Assessment of antibacterial activity of endodontic sealers by a direct contact test. *Endod Dent Traumatol* 1996;12(4):179-84.
- 41.Imazato S, Torii M, Tsuchinati Y, McCabe J, Russell R. Incorporation of bacterial inhibitor into resin composite. *J Dent Res* 1994;73(8):1437-43.
- 42.Guggenheim B, Giertsen E, Schupbach P, Shapiro S. Validation of an in vitro biofilm model of supragingival plaque. *J Dent Res* 2001;80(1):363-70.
- 43.Imazato S, Ebi N, Takahashi Y, Kaneko T, Ebisu S, Russel RR. Antibacterial activity of bactericide-immobilized filler of resinbased restoratives. *Biomaterials* 2003;24(20):3605-9.