Original Article

10.18502/ijds.v17i2.6877

Crossref

Journal of Isfahan Dental School

2021; 17(2): 137-148

Evaluation of Antibacterial and Antifungal Properties of ZnO and Silver Nanoparticles against Candida Albicans and Streptococcus Mutans in Acrylic Resin

Amin Khaleghi[1]
Amin Archin[2]
Mojtaba Azarian Borujeni[3]

1. Postgraduate Student, Department of Orthodontics, Dental Research Center, Dental Research Institute, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
2. Dentist, Zahedan, Iran.
3. **Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Prosthodontics, School of Dentistry, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.
Email: doctorazarian@yahoo.com

Abstract

Introduction: This study aimed to evaluate the antibacterial and antifungal effect of Ag and zinc oxide nanoparticles to complete denture acrylic resin

Materials & Methods: In this experimental laboratory study, 144 samples were evaluated. The powder of acrylic resin (PMMA Ivoclar Vivadent, Lichenstein SR Triplex Hot) was mixed homogeneously in the ultrasonic apparatus with Ag (purity: 99.99%, size: 20nm, spherical) and ZnO (purity: 99%, size: 10-30 nm, nearly spherical) particles with mass fraction 0.5, 1 ,2 and 5. The microorganisms of this study were Candida albicans and Streptococcus mutans. The growth rate of microorganisms was measured by spectrophotometer based on turbidity and readings at 600 nm. Data were analyzed by ANOVA and Tukey post hoc tests. The significance level was set at 0.05.

Results: Increasing Ag and ZnO nanoparticles to acrylic resin reduced the growth of Candida Albicans and Streptococcus Mutans. Even the concentration of 0.5% significantly reduced the growth of microorganisms. Complete growth inhibition was in the concentration of 5% after 24 and 48 hours.

Conclusion: Increasing the Ag and ZnO nanoparticles to acrylic resin reduced the growth of microorganisms.

Key words: Acrylic resins, Denture stomatitis, Candida albicans, Streptococcus mutans

Received: 06.01.2021 **Revised**: 10.04.2021 **Accepted:** 11.05.2021

How to cite: Khaleghi A, Archin A, Azarian Borujeni M. Evaluation of Antibacterial and Antifungal Properties of ZnO and Silver Nanoparticles against Candida Albicans and Streptococcus Mutans in Acrylic Resin. J Isfahan Dent Sch 2021; 17(2): 137-148.

مقاله اصیل پژوهشی

10.18502/ijds.v17i2.6877
Crossref

مجله دانشکده
دندان‌پزشکی اصفهان
۱۴۰۰؛ ۱۷(۲): ۱۳۷ تا ۱۴۸

بررسی خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی نانوذرات اکسید روی و نقره علیه کاندیدا آلبیکانس و استرپتوکوک موتانس در رزین اکریل‌های بیس دنچر

امین خالقی [۱]
امین ارچین [۲]
مجتبی آذریان بروجنی [۳]

۱. دستیار تخصصی گروه ارتودنسی، پژوهشکده‌ی علوم دندان‌پزشکی، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۲. دندان‌پزشک، زاهدان، ایران.
۳. **نویسنده مسؤول:** استادیار،گروه پروتزهای دندانی، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران.
Email: doctorazarian@yahoo.com

چکیده

مقدمه: این مطالعه با هدف بررسی خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی حاصل از افزودن نانوذرات اکسید نقره و اکسید روی به رزین اکریلی بیس دنچر انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی- آزمایشگاهی تعداد ۱۲۰ نمونه بررسی گردید. پودر ساخت بیس دنچر پلی‌متیل متاکریلات Ivoclar (Ivoclar vivadent, Lichenstein SR Triplex Hot) با ذرات ZnO (تقریباً کروی، اندازه‌ی: ۱۰-۳۰ نانومتر، خلوص ۹۹ درصد) و نقره Ag (کروی، اندازه‌ی: ۲۰ نانومتر، خلوص ۹۹/۹۹ درصد) با درصد وزنی ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ درون دستگاه اولتراسونیک برای به دست آوردن یک ترکیب هموژن به خوبی مخلوط شدند. میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه در این پژوهش، کاندیدا آلبیکانس و استرپتوکوک موتانس بود. میزان رشد میکروارگانیسم‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر بر اساس کدورت‌سنجی اندازه‌گیری شد و خوانش در ۶۰۰ نانومتر انجام گرفت. داده‌ها توسط آزمون‌های ANOVA One way و Tukey انجام گردید. سطح معنی داری، ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: افزودن نانوذرات نقره و اکسید روی به رزین آکریلی باعث کاهش رشد کاندیدا آلبیکانس و استرپتوکوک موتانس گردید به طوری که حتی غلظت ۰/۵ درصد وزنی نانوذرات هم باعث کاهش معنی‌دار رشد میکروارگانیسم‌ها شد (p value< ۰/۰۵). مهار کامل رشد در هر دو زمان ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت در غلظت ۵ درصد بود.

نتیجه‌گیری: افزودن نانوذرات اکسید نقره و اکسید روی به رزین اکریلی بیس دنچر، باعث کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها می گردد.

کلید واژه‌ها: رزین اکریلی، دنچر استوماتیت، کاندیدا آلبیکانس، استرپتوکوکوس موتانس.

تاریخ ارسال: ۱۳۹۹/۱۰/۱۷ **تاریخ اصلاح: ۱۴۰۰/۱/۲۱** **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۱**

استناد به مقاله: خالقی امین، ارچین امین، آذریان بروجنی مجتبی. بررسی خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی نانوذرات اکسید روی و نقره علیه کاندیدا آلبیکانس و استرپتوکوک موتانس در رزین اکریل‌های بیس دنچر. مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان. ۱۴۰۰؛ ۱۷(۲): ۱۳۷-۱۴۸.

مقدمه

در طی سالیان متمادی از مواد مختلفی برای ساخت دنچرهای متحرک استفاده شده است (۱). هدف محققین، یافتن ماده‌ای با خصوصیاتی همچون دقت انطباق با بافت‌ها با حداقل تغییرات حجمی و سطحی، سازگاری بافتی، قابلیت پرداخت مناسب، استحکام کافی، زیبایی، راحتی استفاده و امکان رعایت بهداشت می‌باشد (۲). متداول‌ترین ماده بدین منظور، پلی‌متیل متاکریلات (Polymethyl methacrylate) PMMA گرماسخت می‌باشد که دارای خصوصیات مطلوبی از جمله قابلیت پالیش شدن، کاربرد آسان، زیبایی، سهولت تعمیر، ثبات رنگی، دقت قابل قبول و قیمت مناسب می‌باشند (۱، ۳). هر چند این ماده نیز محدودیت‌هایی دارد. در صورتی که به هر دلیلی از جمله سن بالای بیمار، عدم توانایی فیزیکی (پارکینسون) و یا عدم توانایی به خاطر سپردن آموزش‌های بهداشتی (آلزایمر)، بهداشت بیمار به خوبی رعایت نشود، با گذشت زمان، شاهد رشد زیاد میکروب‌ها در زیر بیس‌های رزینی آکریلی هستیم که می‌تواند منجر به زخم دهانی وابسته به دنچر شود (۴-۶). دنچر استوماتیت یک حالت پاتولوژیک قرمز رنگ است که مخاط پوشیده شده توسط دنچر را درگیر می‌کند. این حالت در افراد استفاده کننده از دنچر بسیار شایع است و میزان آن در مطالعات مختلف بین ۲۵-۴۲/۴ درصد ذکر شده است (۷، ۸).

بیشتر روش‌های درمانی رایج دارای اثر کوتاه‌مدت بوده و مقاومت‌های دارویی ایجاد می‌کند. این مسائل باعث شده مطالعاتی برای یافتن روشی ایمن و بدون آسیب به کمک اصلاح و تبدیل رزین اکریلی به ماده‌ای خود تمیزشونده و داشتن خاصیت ضد میکروبی انجام پذیرد (۴-۶).

برای غلبه بر نقایص فیزیکال و مکانیکال رزین‌های متاکریلاتی، تغییراتی در ساختار پلیمرها اعمال گردیده است که هدف آن بهبود خواص پلیمرها می‌باشد (۹). اخیراً با توجه به گسترش علم نانوتکنولوژی، تلاش‌هایی در جهت بهبود خواص مکانیکی و میکروبی این پلیمرها با افزودن نانوذرات و تولید نانوکامپوزیت‌های آکریلی انجام یافته و موفقیت‌هایی به دست آمده است، ولیکن تناقضاتی در این مطالعات مشهود می‌باشد (۱۰، ۱۱).

یون‌های نقره یا نمک‌های شناخته شده از آن اثرات ضد میکروبی گسترده‌ای را در زمینه‌های مختلف طب نشان داده اند (۱۲، ۱۳). اتصال به سطح و از بین بردن عملکرد غشاء، مهم‌ترین مکانیزم مرگ باکتری توسط یون‌های نقره است (۱۴).

علاوه بر خاصیت ضد میکروبی قوی، نقره دارای مزایای بسیاری مانند سمیت کم و سازگاری خوب با سلول‌های انسانی، فعالیت ضد باکتریایی طولانی‌مدت به علت آزادسازی یون و عدم مقاوم شدن باکتری‌ها نسبت به آن را دارا می‌باشند (۱۵، ۱۶).

با ظهور فناوری نانو، نانوذرات نقره تولید شده‌اند و آن‌ها خواص ضد میکروبی قوی نشان داده‌اند (۱۷، ۱۸). نانوذرات نقره تعاملات منحصر به فردی با باکتری‌ها و گونه‌های مختلف قارچ نشان داده‌اند (۱۹).

این ذرات کوچک، دارای سطح وسیع اثربخشی می‌باشند و غلظت نقره بر اساس اثربخشی مورد نیاز تنظیم می‌گردد به شرط آن‌که تأثیر منفی بر خواص مکانیکی ایجاد نشود (۲۰، ۲۱).

در مطالعات متعددی که نانوذرات نقره برای بهبود خواص مکانیکی رزین آکریلی به آن افزوده شده، نشان داده شده است که این عمل در غلظت‌های پایین موجب افزایش استحکام دنچر می‌شود (۲۲، ۲۳). با وجود این‌که افزودن ۲۵ درصد پودر نقره به رزین آکریلی موجب افزایش حدود ۴/۵ برابری انتقال حرارتی ماده می‌شود، اما استحکام کششی ماده را تا ۳۵ درصد کاهش داده و دنچر را مستعد شکستن می‌سازد (۲۴).

ترکیبات ضد میکروبی غیر آلی به ویژه فلزات و اکسید آن‌ها و از جمله اکسیدروی به دلیل توانایی تحمل شرایط سخت فرآوری از جمله دما و فشار بالا، مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است (۲۵).

نانوذرات اکسید روی دارای اثرات ضد میکروبی بوده و نسبت به نانوذرات نقره مزایایی دارند، از جمله این مزیت‌ها می‌توان به قیمت پایین‌تر، ظاهر سفید رنگ و توانایی بلوکه کردن اشعه‌ی فرابنفش اشاره کرد (۲۶).

سمیت نانوذرات اکسید روی به طور مستقیم به وارد شدن آن‌ها به درون سلول نسبت داده نمی‌شود، بلکه تماس نزدیک آن‌ها با سلول موجب تغییر در ریز محیط باکتری شده و با افزایش حلالیت فلز یا تولید رادیکال‌های اکسیژن فعال در نهایت باعث آسیب به غشاء می‌شوند (۲۷).

از آن‌جا که بر اساس بررسی مقالات موجود، اثرات ضد قارچی و ضد باکتریایی نانوذرات نقره و اکسید روی با تعیین بهترین غلظت مؤثر به PMMA مورد استفاده در ساخت بیس دنچر بررسی نشده بود، این مطالعه با هدف مقایسه‌ی خواص ضد باکتریایی نانوذرات اکسید روی و نقره علیه کاندیدا آلبیکانس و استرپتوکوک موتانس در رزین اکریل‌های بیس دنچر صورت گرفت. درصدهای وزنی به علت فقدان سابقه در دامنه‌ی وسیع ۰/۵ تا ۵ درصد به جهت کشف حداقل مورد نیاز برای کشتن میکروارگانیسم‌ها در نظر گرفته شد. این مطالعه با هدف بررسی خواص ضد باکتریایی و ضد قارچی نانوذرات اکسید روی و نقره علیه کاندیدا آلبیکانس و استرپتوکوک موتانس در رزین اکریل‌های بیس دنچر انجام شد. با این فرضیه که استفاده از این مواد همراه بیس‌دنچر خصوصیات ضد باکتریایی و ضد قارچی ندارد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی- آزمایشگاهی در قالب پایان‌نامه ی شماره‌ی ۲۰۵۷ در دانشکده‌ی دندان‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان به تصویب رسید و انجام شد. تعداد ۱۲۰ نمونه در ۱۰ گروه ۱۲تایی وجود داشت.

ابتدا پودر ساخت بیس‌دنچر (پلی‌متیل متاکریلات (SR-Ivocap Triplex Hot, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) با ذرات ZnO (purity: 99%, size:10-30nm, nearly spherical) و Ag (purity: 99.99%, size: 20nm, spherical) با درصد وزنی ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ درون دستگاه اولتراسونیک (UP200H Heilscher ultrasonics tec, Germany) برای به دست آوردن یک ترکیب هموژن به خوبی مخلوط شدند (برای ساخت گروه شاهد، هیچ ماده‌ای به پلی‌متیل متاکریلات افزوده نشد). جهت اطمینان از توزیع یکنواخت نانوذرات و به منظور بررسی هموژن بودن، نمونه‌ها قبل از انجام تست‌های ضد میکروبی توسط SEM (Elektronen optik, Dortmund, Germany) بررسی شدند.

سپس مونومر، طبق دستور کارخانه‌ی سازنده اضافه گردید و داخل مولد مکعبی از پیش ساخته شده در ابعاد ۷ میلی‌متر و ارتفاع ۵ میلی‌متر ریخته شد. سپس نمونه‌ها در داخل مخزن آب با دمای محیط بر روی شعله قرار گرفته و در عرض یک ساعت به دمای ۷۴ درجه‌ی سانتی‌گراد رسید و به مدت ۷ ساعت در این دما باقی مانده و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در آب جوش ۱۰۰ درجه قرار گرفته و پخته شدند.

میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه در این پژوهش، کاندیدا آلبیکانس و استرپتوکوک موتانس بود که از انستیتو پاستور ایران تهیه گردید.

نمونه‌ها بعد از تهیه، درون ظرف‌های حاوی سرم فیزیولوژی قرار گرفت و در آزمایشگاه، هر نمونه درون یک لوله‌ی آزمایش جداگانه گذاشته و در دمای ۱۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. محیط کشت (Brain Heart broth Merc, Darmstadt, Germany) جهت رشد قارچ مورد آزمایش طبق دستور کارخانه، به صورت ۳۰ گرم در لیتر تهیه شده و سپس با اتوکلاو استریل گردید (۲۸).

محیط کشت Blood agar نیز به روش معمول جهت کشت نمونه‌ها تهیه گردید. به این ترتیب که محیط Mueller Hinton Broth تهیه شد و بعد از استریل شدن توسط اتوکلاو و خنک شدن تا دمای محیط به اندازه‌ی ۱۷ درصد حجم، خون گوسفندی (Blood sheep) به آن اضافه و جهت کشت نمونه‌ها درون پلیت‌های ۸ سانتی‌متر استریل ریخته شد.

سویه‌ی قارچی که به صورت پودر لیوفیلیزه تهیه شد، در محیط کشتBrain heart broth حل شد و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه، بر روی پلیت‌های استریل کشت داده شد تا میکروارگانیسم رشد نماید. سپس از قارچ

های رشد یافته، سوسپانسیون به غلظت ۰/۵ Mc Farland معادل ۱/۵ × ۱۰ CFU (Colony Forming Unit) میکروب در مقایسه با استاندارد مک‌فارلند تهیه گردید. پس از آن با رقیق‌سازی این سوسپانسیون، به غلظت ۱/۵ × ۱۰۵ CFU رسانده شد (۲۸).

برای تهیه‌ی سوسپانسیون قارچی (میکروبی) به غلظت ۱/۵ × ۱۰۵ CFU، ۱ سی‌سی از سوسپانسیون با غلظت ۱/۵ × ۱۰۸ با ۹ سی‌سی از محیط کشت مخلوط شده و سوسپانسیون با غلظت ۱/۵ × ۱۰۷ به دست آمد و همین کار ۲ بار دیگر تکرار گردید تا سوسپانسیون به غلظت ۱/۵ × ۱۰۵ برسد. از سوسپانسیون نهایی با غلظت ۱/۵ × ۱۰۵ CFU در هر لوله‌ی آزمایش توسط سمپلر ریخته و یک نمونه‌ی آکریلی، درون هر لوله قرار داده شد. در شروع کار، ۱۰ میکرولیتر از هر سوسپانسیون جدا خواهد شد و به عنوان زمان اولیه‌ی تماس نمونه ها با قارچ، کشت خطی داده شد. سپس لوله‌های آزمایش درون شیکر انکوباتور، به مدت ۲۴ ساعت، در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از قرار دادن نمونه‌ها درون انکوباتور بعد از ۱، ۶ و ۲۴ ساعت نیز مجدداً ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون برداشته و کشت داده شد. هر پلیت بعد از این که کشت خطی داده شد، به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت درون انکوباتور انکوبه گردید و سپس کلونی‌ها اندازه‌گیری شد (۲۸).

از دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO, 2150, USA) به منظور اندازه‌گیری میزان رشد باکتری استفاده شد. میزان رشد میکروارگانیسم‌ها بر اساس توربیدیتی و کدورت‌سنجی ثبت شد و خوانش در دستگاه در ۶۰۰ نانومتر انجام گرفت.

نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) تجزیه و تحلیل شدند. از روش‌های آمار توصیفی مانند میانگین و انحراف استاندارد استفاده شد. جهت مقایسه‌ی میزان رشد میکروارگانیسم در غلظت‌های مختلف نانوذرات از آزمون ANOVA و جهت مقایسه‌ی دو به دوی گروه‌ها از آزمون Tukey استفاده شد. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ به دست آمد.

یافته‌ها

در جدول ۱، میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از رشد کاندیدا آلبیکانس در رزین اکریلی ترکیب شده با ذرات نقره با درصد وزنی ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ نانو در طی دو زمان نشان داده شده است.

در جدول ۲، نتایج مقایسه‌ی دو به دوی غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره در بررسی خاصیت ضد قارچی کاندیدا آلبیکانس نشان داد که هم در زمان ۲۴ ساعت و هم ۴۸ ساعت، غلظت ۰/۵ درصد نانو ذرات به طور معنی‌داری کدورت کم‌تری از نمونه‌ی شاهد دارد (p value < ۰/۰۵) و بین غلظت‌های مختلف دیگر اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد. همچنین مهار کامل رشد قارچ کاندیدا آلبیکانس در غلظت ۵ درصد جرمی اتفاق می‌افتد.

جدول ۱: مقایسه‌ی خاصیت ضد قارچی ذرات نقره در رزین آکریلی ترکیب شده با درصد وزنی ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ نانوذرات در طی دو زمان

غلظت نقره	تعداد	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
		میانگین ± نحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
۰/۵	۱۲	۲/۱۱ ± ۰/۶۳	۱/۶۸ ± ۰/۵۷
۱	۱۲	۱/۸۶ ± ۰/۵۱	۱/۵۳ ± ۰/۵۵
۲	۱۲	۰/۷۵ ± ۰/۳۴	۰/۲۳ ± ۰/۱۷
۵	۱۲	± ۰	۰ ± ۰
شاهد	۱۲	۱۱/۱۸ ± ۵/۵۷	۱۵/۰۲ ± ۲/۵۳
p value		۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

p value حاصل از One way ANOVA

جدول ۲: آزمون Tukey جهت مقایسه‌ی دو به دوی غلظت‌ها ترکیب نانوذرات نقره در بررسی خاصیت ضد قارچی کاندیدا آلبیکانس

غلظت (I)	غلظت (J)	۲۴ ساعت		۴۸ ساعت	
		(I- J)	p value	(I- J)	p value
شاهد	۰/۵	۹/۷۷-	۰/۰۰۱	۱۲/۸۴-	۰/۰۰۱
۰/۵	۱	۰/۴۵-	۰/۶۲۸	۰/۳۵-	۰/۴۵۶
۱	۲	۰/۹۱-	۰/۳۲۸	۱/۶-	۰/۴۲۰
۲	۵	۱/۰۵-	۰/۱۸۹	۰/۴۳-	۰/۱۱۱

در جدول ۳، میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از رشد استرپتوکوک موتانس طی ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان داده شده است.

بر اساس نتایج جدول ۴، مقایسه‌ی دو به دوی غلظت‌های ترکیب نانوذرات در بررسی خاصیت ضدمیکروبی استرپتوکوک موتانس نشان می‌دهد که در زمان ۲۴ ساعت و همچنین ۴۸ ساعت، غلظت ۰/۵ درصد نانوذرات به طور معنی داری کدورت کم‌تری از نمونه‌ی شاهد دارد ($p < ۰/۰۵$ value) و بین سایر غلظت‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد. غلظت ۵ درصد نانوذرات باعث مهار کامل رشد گردیده است.

در جدول ۵، میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از رشد کاندیدا آلبیکانس طی ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان داده شده است.

جدول ۳: مقایسه‌ی خاصیت ضد میکروبی ذرات نقره در رزین اکریلی ترکیب شده با درصد وزنی ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ نانوذرات در طی دو زمان

غلظت نقره	تعداد	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
		میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
۰/۵	۱۲	۳/۴۴ ± ۱/۱	۳/۰۵ ± ۱/۰۵
۱	۱۲	۳/۱۹ ± ۰/۹۸	۲/۹ ± ۱/۰۳
۲	۱۲	۲/۰۸ ± ۰/۸۱	۱/۶ ± ۰/۶۵
۵	۱۲	۰ ± ۰	۰ ± ۰
شاهد	۱۲	۱۲/۵۱ ± ۶/۰۴	۱۶/۳۹ ± ۴/۰۱
p value		۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

p value حاصل از One way ANOVA

جدول ۴: آزمون Tukey جهت مقایسه‌ی دو به دوی غلظت‌ها ترکیب نانوذرات نقره در بررسی خاصیت ضد میکروبی استرپتوکوک موتانس

غلظت (I)	غلظت (J)	۲۴ ساعت		۴۸ ساعت	
		(I- J)	p value	(I- J)	p value
شاهد	۰/۵	۹/۰۷-	۰/۰۰۰	۱۳/۲۳	۰/۰۰۰
۰/۵	۱	۰/۲۵-	۰/۵۴۳	۰/۱۱	۰/۶۵۴
۱	۲	۱/۱۱-	۰/۳۵۷	۰/۱۵	۰/۵۸۰
۲	۵	۲/۰۸	۰/۰۲۷	۱/۶۵	۰/۰۴۶

جدول ۵: مقایسه‌ی خاصیت ضد قارچی نانوذرات اکسید روی در رزین اکریلی ترکیب شده با درصد وزنی ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ نانوذرات در طی دو زمان

غلظت نقره	تعداد	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
		میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
۰/۵	۱۲	۳/۵۱ ± ۰/۹۹	۲/۴۵ ± ۰/۵۵
۱	۱۲	۲/۲۴ ± ۰/۱۶	۱/۹۳ ± ۰/۱۸
۲	۱۲	۱/۵ ± ۰/۳۳	۰/۸۶ ± ۰/۰۰
۵	۱۲	۰ ± ۰	۰ ± ۰/۰۰
شاهد	۱۲	۱۳/۲۲ ± ۲/۱۵	۱۶/۰۸ ± ۳/۷۷
p value		۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

p value حاصل از One way ANOVA

نتایج جدول ۶ در مورد مقایسه‌ی دو به دوی غلظت های نانوذرات اکسید روی در بررسی خاصیت ضد قارچی کاندیدا آلبیکانس نشان می‌دهد که در زمان ۲۴ ساعت، غلظت ۰/۵درصد نانوذرات به طور معنی‌داری کدورت کم تری از نمونه‌ی شاهد داشته است (p value < ۰/۰۵). همچنین غلظت ۱ درصد نانوذرات به طور معنی‌داری، کدورت کم‌تری از غلظت ۰/۵ درصد و غلظت ۵ درصد نانوذرات به طور معنی‌داری کدورت کم‌تری از نمونه‌ی ۲ درصد دارد (p value < ۰/۰۵). ولی غلظت ۲ درصد نانوذرات تفاوت معنی‌داری با غلظت ۱ درصد ندارد. در غلظت ۵ درصد مهار کامل رشد اتفاق افتاده است. در زمان ۴۸ ساعت، غلظت ۰/۵ درصد نانو ذرات به طور معنی‌داری کدورت کم‌تری از نمونه‌ی شاهد دارد (p value < ۰/۰۵) ولی بین سایر غلظت‌ها، اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد. در غلظت ۵ درصد، مهار کامل رشد اتفاق افتاده است.

در جدول ۷، میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از رشد استرپتوکوک موتانس نشان داده شده است.

نتایج جدول ۸ در مورد مقایسه‌ی دوبه دوی غلظت‌های ترکیب نانوذرات در بررسی خاصیت ضد باکتریایی استرپتوکوکوس موتانس نشان داد که هم در زمان ۲۴ ساعت و هم ۴۸ ساعت، غلظت ۰/۵درصد نانوذرات به طور معنی داری کدورت کم‌تری از نمونه‌ی شاهد دارد (p value < ۰/۰۵)، ولی بین غلظت ۱ و ۰/۵ درصد و همچنین غلظت ۲ و ۱ درصد، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. غلظت ۵ درصد نانوذرات نیز به طور معنی‌داری کدورت کم‌تری از نمونه‌ی ۲ درصد دارد (p value < ۰/۰۵). در غلظت ۵ درصد، مهار کامل رشد اتفاق افتاده است.

جدول ۶: آزمون Tukey جهت مقایسه‌ی دو به دوی غلظت‌ها ترکیب نانوذرات اکسید روی در بررسی خاصیت ضد قارچی کاندیدا آلبیکانس

غلظت (I)	غلظت (J)	۲۴ ساعت		۴۸ ساعت	
		(I- J)	p value	(I- J)	p value
شاهد	۰/۵	۹/۷۱-	۰/۰۰۱	۱۳/۶۳-	۰/۰۰۱
۰/۵	۱	۱/۲۷-	۰/۰۳۳	۰/۵۲-	۰/۳۵۸
۱	۲	۰/۷۴-	۰/۰۷۶	۱/۰۷-	۰/۰۶۷
۲	۵	۱/۵-	۰/۰۲۸	۰/۸۶-	۰/۴۶۳

جدول ۷: میانگین و انحراف معیار خاصیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی در رزین اکریلی ترکیب شده با درصد وزنی ۰/۵، ۱، ۲ و ۵ نانوذرات در طی دو زمان

غلظت نقره	تعداد	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
		میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
۰/۵	۱۲	۳/۹ ± ۱/۱۱	۲/۳۴ ± ۰/۶۳
۱	۱۲	۲/۸ ± ۱/۰۷	۱/۷۵ ± ۰/۵۸
۲	۱۲	۱/۶ ± ۰/۴۲	۰/۶۹ ± ۰/۲۳
۵	۱۲	۰ ± ۰	۰ ± ۰
شاهد	۱۲	۱۲/۰۹ ± ۶/۰۲	۱۳/۱۲ ± ۵
p value		۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

p value حاصل از One way ANOVA

جدول ۸: آزمون Tukey جهت مقایسه‌ی دو به دوی غلظت‌های ترکیب نانوذرات اکسید روی در بررسی خاصیت ضد باکتری استرپتوکوکوس موتانس

غلظت (I)	غلظت (J)	۲۴ ساعت		۴۸ ساعت	
		(I- J)	p value	(I- J)	p value
کنترل	۰/۵	۸/۱۹-	۰/۰۰۰	۱۰/۷۸-	۰/۰۰۰
۰/۵	۱	۱/۱-	۰/۰۶۲	۰/۵۹-	۰/۴۴
۱	۲	۱/۲-	۰/۰۵۴	۱/۰۶-	۰/۰۷۶
۲	۵	۱/۶	۰/۰۳۱	۰/۶۹-	۰/۳۷۲

بر اساس نتایج جدول ۹، مقایسه‌ی خاصیت ضد قارچی نانوذرات نقره و اکسید روی بر روی کاندیدا آلبیکانس نشان داد که در غلظت ۰/۵ درصد در ۲۴ و ۴۸ ساعت و همچنین غلظت ۱ درصد در ۲۴ ساعت، تأثیر نانوذرات نقره به طور معنی‌داری بیشتر از اکسید روی است. در غلظت یک درصد در ۴۸ ساعت و همچنین در غلظت دو درصد و ۵ درصد، در ۲۴ و ۴۸ ساعت، تأثیر نانوذرات نقره مشابه با اکسید روی است. در غلظت ۵ درصد در هر دو نانوذره مهار کامل رشد اتفاق افتاده است.

نتایج جدول ۱۰ در مورد مقایسه‌ی خاصیت ضد قارچی نانوذرات نقره و اکسید روی بر روی استرپتوکوک موتانس نشان داد که در غلظت ۰/۵ و ۱ درصد، در ۲۴ ساعت تأثیر دو نانوذره مشابه است، ولی در ۴۸ ساعت تأثیر نانوذرات نقره به طور معنی‌داری بیشتر از اکسید روی است. در غلظت ۲ و ۵ درصد، در ۲۴ و ۴۸ ساعت، تأثیر نانوذرات نقره مشابه با اکسید روی است. در غلظت ۵ درصد، در هر دو نانوذره مهار کامل رشد اتفاق افتاده است.

جدول ۹: مقایسه‌ی خاصیت ضد قارچی کاندیدا آلبیکانس در نانوذرات نقره و اکسید روی در غلظت‌های مختلف در طی دو زمان

	۲۴ ساعت			۴۸ ساعت		
	نقره	اکسید روی	p value	نقره	اکسید روی	p value
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار		میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
۰/۵	۲/۱۱ ± ۰/۶۳	۳/۵۱ ± ۰/۹۹	۰/۰۳۲	۲/۴۵ ± ۰/۵۵	۱/۶۸ ± ۰/۵۷	۰/۰۴۱
۱	۱/۸۶ ± ۰/۵۱	۲/۲۴ ± ۰/۱۶	۰/۰۴۲	۱/۹۳ ± ۰/۱۸	۱/۵۳ ± ۰/۵۵	۰/۰۷۵
۲	۰/۷۵ ± ۰/۳۴	۱/۵ ± ۰/۳۳	۰/۳۱۵	۰/۸۶ ± ۰/۲۸	۰/۲۳ ± ۰/۱۷	۰/۲۱۸
۵	۰ ± ۰	۰ ± ۰		۰ ± ۰	۰ ± ۰	

جدول ۱۰: مقایسه‌ی خاصیت ضد میکروبی استرپتوکوک موتانس در نانوذرات نقره و اکسید روی در غلظت‌های مختلف در طی دو زمان

	۲۴ ساعت			۴۸ ساعت		
	نقره	اکسید روی	p value	نقره	اکسید روی	p value
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار		میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
۰/۵	۳/۴۴ ± ۱/۱	۳/۹ ± ۱/۱۱	۰/۵۶۱	۲/۳۴ ± ۰/۶۳	۳/۰۵ ± ۱/۰۵	۰/۰۴۷
۱	۳/۱۹ ± ۰/۹۸	۲/۸ ± ۱/۰۷	۰/۲۳۴	۱/۷۵ ± ۰/۵۸	۲/۹ ± ۱/۰۳	۰/۰۳۲
۲	۲/۰۸ ± ۰/۸۱	۱/۶ ± ۰/۴۲	۰/۱۴۷	۰/۶۹ ± ۰/۲۳	۱/۶ ± ۰/۶۵	۰/۰۵۸
۵	۰ ± ۰	۰ ± ۰		۰ ± ۰	۰ ± ۰	

بحث

با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر، فرضیه‌ی صفر رد شد. از مهم ترین مشکلات همراه بیس آکریلی دنچر، در صورت نامناسب بودن بهداشت، زخم دهانی وابسته به دنچر است که ناشی از رشد زیاد میکروب‌ها و قارچ کاندیدا آلبیکانس در زیر بیس‌های رزینی آکریلی می‌باشد (۴-۶). لذا جلوگیری از چسبندگی و کلونیزاسیون کاندیدا بر سطح دنچر در کنترل دنچر استئوماتیت الزامی است (۴).

در این مطالعه، اثر افزودن نانوذرات نقره و اکسید روی در جهت افزایش اثرات ضد قارچی و ضد میکروبی رزین اکریلی بررسی گردید.

نقره، عنصری شفاف و سفید رنگ است که از مهم‌ترین خصوصیات و استفاده‌های آن جهت اهداف بهداشتی و پزشکی خاصیت ضد باکتریایی آن است. نانوذرات نقره خصوصیات ضدباکتریایی بارزی را نسبت به سایر نمک‌های نقره از خود نشان می‌دهند که این موضوع به دلیل مساحت سطحی بسیار بالای آن‌ها است که سبب می‌شود تماس مؤثرتری را با میکروارگانیسم‌ها فراهم کند (۲۹). نانوذرات نقره به غشای سلولی متصل شده و همچنین به داخل سلول باکتری نفوذ می‌کنند. غشای باکتری دارای پروتئین‌های حاوی گروه سولفور می‌باشد و نانوذرات نقره نه تنها با این پروتئین‌ها، بلکه با ترکیبات حاوی فسفر از جمله DNA واکنش می‌دهند. نانوذرات همچنین به زنجیره‌ی تنفسی (که در تقسیم سلولی مؤثر است) حمله می‌کنند و منجر به مرگ سلولی می‌شوند. همچنین نانوذرات، یون نقره را آزاد می‌کنند که این خود منجر به افزایش فعالیت ضدباکتریایی آن‌ها می‌شود (۳۰).

در مطالعه‌ی حاضر افزایش نانوذرات نقره به رزین آکریلی باعث کاهش رشد کاندیدا آلبیکانس و استرپتوکوک موتانس گردید به طوری که افزایش غلظت ۰/۵ درصد وزنی نقره باعث کاهش معنی‌داری در میزان کلونی‌های شمارش شده نسبت به نمونه‌ی شاهد بود. مهار کامل رشد در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت در غلظت ۵ درصد بود. نتایج به وضوح حاکی از آن است که افزایش حتی ۰/۵ درصدی نقره نیز خاصیت ضد قارچی مطلوب‌تری از رزین آکریل خالص دارد. با توجه به این که مهار کامل رشد در ۵ درصد اتفاق افتاده است، لذا افزایش غلظت بیش از این مقدار، تأثیری در خاصیت ضد قارچی ندارد و فقط باعث افزایش عوارض ناشی از اثرات سمی ذرات نقره خواهد بود. مقایسه‌ی دو به دوی غلظت‌های نانوذرات نقره نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های بالاتر وجود ندارد، بنابراین غلظت حداقل یعنی ۰/۵ درصد توصیه می‌گردد.

در پژوهش Nam و همکاران (۳۱)، بیان شد که نانوذرات نقره در رزین اکریلی، تأثیر مثبتی در مهار رشد کاندیدا آلبیکانس دارند و حتی غلظت ۰/۵ درصد آن نیز بر روی کاندیدا آلبیکانس مؤثر است، این نتایج همسو با مطالعه‌ی ما می‌باشد.

قهرمانلو و همکاران (۳۲) نیز گزارش کردند که در رزین آکریلی حاوی نانوذرات نقره با افزایش زمان تماس و غلظت

نانوذرات نقره اثر ضد قارچی بیشتر می‌شود. در بررسی حاضر نیز افزایش درصد وزنی ذرات، خاصیت ضد قارچی را افزایش داد.

Kamikawa و همکاران (۳۳) در مطالعه‌ای، تأثیر مثبت ضد قارچی ذرات نقره را بر روی کاندیدا آلبیکانس و کاندیدا گلابراتا مشاهده کردند که نتایج مشابه پژوهش ما برای کاندیدا آلبیکانس می‌باشد. در مطالعه‌ی حاضر، غلظت‌های مختلف بررسی شده که مزیت پژوهش ما نسبت به آن است و البته در آن تحقیق الگوی تشکیل کلونی‌ها هم بررسی شد.

Li و همکاران (۳۴) نیز نشان دادند که ذرات نقره باعث افزایش خواص ضد قارچی در رزین اکریلی می‌گردد که مشابه نتیجه‌ی ما می‌باشد. البته بر خلاف مطالعه‌ی ما که حتی کم‌ترین غلظت هم تأثیر معنی‌داری در کنترل رشد قارچ داشت، در این پژوهش غلظت پایین، بی‌تأثیر بود و فقط غلظت ۵ درصد مؤثر بود.

اکسید روی، یک ترکیب غیر آلی محلول در آب است و خواص ضد باکتری و ضد قارچی آن به اثبات رسیده است این نانوذره با اتصال به غشاء میکروارگانیزم‌ها، فاز تأخیری چرخه‌ی رشد را طولانی کرده و سبب طولانی شدن مدت زمان germination ارگانیسم‌ها می‌شود (۲۷).

در مطالعه‌ی حاضر افزایش نانوذرات اکسید روی به رزین آکریلی باعث کاهش رشد کاندیدا آلبیکانس و استرپتوکوک موتانس گردید. به طوری که افزایش غلظت ۰/۵ درصد وزنی اکسید روی باعث کاهش معنی‌داری در میزان کلونی‌های شمارش شده نسبت به نمونه‌ی شاهد شد. مقایسه‌ی دو به دوی غلظت‌های نانوذرات اکسید روی نشان داد در ۲۴ ساعت، غلظت ۵ درصد مؤثرتر است ولی در ۴۸ ساعت، بین غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. شاید این مورد را بتوان به تأثیر زمان مربوط دانست که با گذشت زمان و در ۴۸ ساعت، همان غلظت کم‌تر نیز تأثیرگذاری خود را نشان می‌دهد و اختلاف غلظت، کمتر اهمیت پیدا می‌کند.

Kairyte و همکاران (۲۸) در مطالعه‌ای، تأثیر قوی ضد باکتریایی و ضد قارچی نانوذرات اکسید روی را علیه Escherichia coli، Listeria monocytogenes و Botrytis cinerea گزارش نمودند.

همچنین Zhang و همکاران (۲۵)، در پژوهش خود، تأثیر مثبت ضد باکتریایی ذرات اکسید روی را علیه باکتری Escherichia coli مشاهده نمودند که با افزایش غلظت ذرات تأثیر آنتی‌باکتریال بیشتر می‌شد. آنالیز SEM باکتری‌ها، قبل و بعد درمان در این مطالعه نشان داد، نانوذرات باعث آسیب به دیواره‌ی سلولی باکتری می‌شوند. تحقیقات مذکور نتایجی مشابه پژوهش حاضر را داشتند که البته به دلیل متفاوت بودن گونه‌های باکتری و قارچ مورد بررسی بهتر است نتایج مطالعات به طور مستقیم مقایسه نگردد.

نتایج بررسی حاضر نشان داد که در بیشتر غلظت‌های مورد بررسی، تأثیر ضد قارچی و ضد میکروبی نانوذرات نقره به طور معنی‌داری بیشتر از اکسید روی می‌باشد.

Kasraei و همکاران (۳۵) نشان دادند که اثر اکسید روی بر روی استرپتوکوکوس موتانس به طور قابل توجهی بالاتر از نقره بود. این نتیجه مغایر با مطالعه‌ی حاضر می‌باشد. علت این اختلاف می‌تواند به نوع و غلظت میکروارگانیسم مورد استفاده و غلظت نانوذرات مورد بررسی مربوط باشد. به طوری که Sondi و Salopek- Sondi (۳۶) گزارش کردند اثر ضد باکتریایی به غلظت نانوذرات نقره و نیز غلظت باکتری بستگی دارد.

پیشنهاد می‌گردد مقایسه‌ی خاصیت ضد قارچی دو نوع نانوذره در طولانی‌مدت نیز بررسی گردد. در این مطالعه خاصیت دو نوع نانوذره درکوتاه‌مدت بررسی شد، در حالی که بهتر است این بررسی در طولانی‌مدت و به صورت بالینی نیز انجام گردد.

نتیجه‌گیری

افزودن نانوذرات نقره و اکسید روی به رزین اکریلی بیس دنچر باعث کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها می‌گردد. مهار کامل رشد در هر دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت در غلظت ۵ درصد، اتفاق می‌افتد.

سپاسگزاری

این مطالعه در قالب پایان‌نامه‌ی شماره‌ی ۲۰۵۷ در دانشکده ی دندان‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان به تصویب رسید. بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی این دانشگاه سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Zarb G, Hobkirk J, Eckert S, Jacob R. Prosthodontic treatment for edentulous patients. 12th ed: Elsevier Health Sciences; 2013. p. 44-7.
2. Alan B. Mc Cracken removable partial prosthodontics. 11th ed. St Louis: CV Mosby; 2005. p. 158.
3. Jagger DC, Jagger RG, Allen SM, Harrison A. An investigation into the transverse and impact strength of "high strength" denture base acrylic resins. J Oral Rehabil 2002; 29(3): 263-7.
4. Casemiro LA, Gomes Martins CH, Pires-de-Souza Fde C, Panzeri H. Antimicrobial and mechanical properties of acrylic resins with incorporated silver-zinc zeolite - part I. Gerodontology 2008; 25(3): 187-94.
5. Kassaee MZ, Akhavan A, Sheikh N, Sodagar A. Antimicrobial effect of a new dental acrylic resin containing silver nonoparticles. J Appl Polym Sci 2008; 110(3): 1699-703.
6. Kanie T, Fuji K, Arikawa H, Inoue K. Flexural properties and impact strength of denture base polymer reinforced with woven glass fibers. Dental Materials 2000; 16(2): 150-8.
7. McNally L, Gosney MA, Doherty U, Field EA. The orodental status of a group of elderly in-patients: a preliminary assessment. Gerodontology 1999; 16(2): 81-4.
8. Jagger D, Jagger R, Allen S, Harrison A. An investigation into the transverse and impact strength of high strength denture base acrylic resins. J Oral Rehabil 2002; 29(3): 263-7.
9. Yadav P, Mittal R, Sood VK, Garg R. Effect of incorporation of silane-treated silver and aluminum microparticles on strength and thermal conductivity of PMMA. J Prosthodont 2012; 21(7): 546-51.
10. Prombonas AE, Vlissidis DS. Analysis of stresses in complete upper dentures with flat teeth at differing inclinations. Med Eng Phys 2009; 31(3): 314-9.
11. Mercier P, Bellavance F. Effect of artificial tooth material on mandibular residual ridge resorption. J Can Dent Assoc 2002; 68(6): 346-50.
12. Alt V, Bechert T, Steinrücke P, Wagener M, Seidel P, Dingeldein E, et al. An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. Biomaterials 2004; 25(18): 4383-91.
13. Samuel U, Guggenbichler JP. Prevention of catheter-related infections: the potential of a new nano-silver impregnated catheter. Int J Antimicrob Agents 2004; 23(1): 75-8.
14. Shrivastava S, Bera T, Roy A, Singh G, Ramachandrarao P, Dash D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. Nanotechnology 2007; 18(22): 225103.
15. Slenters TV, Hauser-Gerspach I, Daniels AU, Fromm KM. Silver coordination compounds as light-stable, nano-structured and anti-bacterial coatings for dental implant and restorative materials. J Mater Chem 2008; 18(44): 5359-62.
16. Damm C, Münstedt H, Rösch A. Long-term antimicrobial polyamide 6/silver-nanocomposites. J Mater Sci 2007; 42(15): 6067-73.
17. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K, Kouri JB, Ramírez JT, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology 2005; 16(10): 2346.
18. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnol Adv 2009; 27(1): 76-83.
19. Lok CN, Ho CM, Chen R, He QY, Yu WY, Sun H, et al. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. J Proteome Res 2006; 5(4): 916-24.
20. 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.
21. Cheng L, Weir MD, Xu HH, Antonucci JM, Lin NJ, Lin-Gibson S, et al. Effect of amorphous calcium phosphate and silver nanocomposites on dental plaque microcosm biofilms. J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2012; 100(5): 1378-86.

22. Solhi L, Atai M, Nodehi A, Imani M. A novel dentin bonding system containing poly (methacrylic acid) grafted nanoclay: synthesis, characterization and properties. Dental Materials 2012; 28(10): 1041-50.
23. Chladek G, Kasperski J, Barszczewska-Rybarek I, Żmudzki J. Sorption, solubility, bond strength and hardness of denture soft lining incorporated with silver nanoparticles. Int J Mol Sci 2013; 14(1): 563-74.
24. Sodagar A, Kassaee MZ, Akhavan A, Javadi N, Arab S, Kharazifard MJ. Effect of silver nano particles on flexural strength of acrylic resins. J Prosthodont Res 2012; 56(2): 120-4.
25. Zhang L, Jiang Y, Ding Y, Povey M, York D. Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids). J Nanopart Res 2007; 9(3): 479-89.
26. Llorens A, Lloret E, Picouet PA, Trbojevich R, Fernandez A. Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. Trends Food Sci Technol 2012; 24(1): 19-29.
27. Emamifar A, Kadivar M, Shahedi M, Soleimanian-zad S. Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of Lactobacillus plantarum in orange juice. Food Control 2010; 22(3-4): 408-13.
28. Kairyte K, Kadys A, Luksiene Z. Antibacterial and antifungal activity of photoactivated ZnO nano particles in suspension. J Photoch Photobio B 2013; 128: 78-84.
29. Baker C, Pradhan A, Pakstis L, Pochan DJ, Shah SI. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. J Nano Sci Nanotechnol 2005; 5(2): 244-9.
30. Panacek A, Kvitek SL, Prucek R, Kolgr M, Vecerova R, Pizurova N, et al. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. J Phys Chem B 2006; 110(33): 16248-53.
31. Nam KY, Lee CH, Lee CJ. Antifungal and physical characteristics of modified denture base acrylic incorporated with silver nanoparticles. Gerodontology 2012; 29(2): e413-e419.
32. Ghahremanloo A, Rajabi O, Ghazvini K, Mirmortazavi AT, Haghighi MM. Antifungal effect of silver nanoparticles in acrylic resins. J Mashhad Dent Sch 2013; 37(3): 239-48.[In Persian].
33. Kamikawa Y, Hirabayashi D, Nagayama T, Fujisaki J, Hamada T, Sakamoto R, et al. In vitro antifungal activity against oral Candida species using a denture base coated with silver nanoparticles. J. Nanomater 2014; 2014: 6.
34. Li Z, Sun J, Lan J, Qi Q. Effect of a denture base acrylic resin containing silver nanoparticles on Candida albicans adhesion and biofilm formation. Gerodontology 2016; 33(2): 209-16.
35. Kasraei S, Sami L, Hendi S, AliKhani MY, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z. Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on Streptococcus mutans and Lactobacillus. Restor Dent Endod 2014; 39(2): 109-14.
36. 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 Interf Sci 2004; 275(1): 177-82.