

## Evaluation of Antibacterial and Anti-Fungal Effect of Zinc Oxide Nano Particles to Complete Denture Tissue Conditioners

Amin Khaleghi<sup>1</sup> 

Parisa Faghani<sup>2</sup> 

Mojtaba Azarian Borujeni<sup>3</sup> 

1. Post Graduated Student, Department of Orthodontics, Student Research Committee, Dental Research Center, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.  
2. Dentist, School of Dentistry, Zahedan University of Medical Sciences, 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:** The tissue conditioners are used to treat and prepare denture supporting tissue. This study aimed to evaluate the antibacterial and antifungal effect of zinc oxide nanoparticles on total denture tissue conditioners.

**Materials & Methods:** In this laboratory study, 144 samples were collected and evaluated. Synthesized ZnO nanoparticles using the optic-optic method and, they were homogeneous with a mass fraction (0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, and 20) according to the principles of the MIC method with tissue concentrators. In the present study, four bacterial species (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*), which represent different types of pathogen microorganisms, were used. For measuring the growth rate of microorganisms, a spectrophotometer was used based on turbidity with done readings at 600 nm. Included tests were ANOVA and Tukey post hoc tests. Considered significant level of 0.05.

**Results:** In the present study, increasing ZnO nanoparticles to tissue concentrators reduced the growth of all microorganisms studied. In the concentration of 20% absolute growth inhibition for *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa* occurred. The best concentration for *Candida*, *Enterococcus faecalis* is in the concentration of 20% ZnO and, for *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa* at a concentration of 5% ZnO.

**Conclusion:** Increasing the ZnO nanoparticles to improve tissue improves the growth of microorganisms.

**Key words:** Zinc oxide, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*.

**Received:** 11.03.2021

**Revised:** 12.06.2021

**Accepted:** 12.07.2021

**How to cite:** Khaleghi A, Faghani P, Azarian Borujeni M. Evaluation of Antibacterial and Anti-Fungal Effect of Zinc Oxide Nano Particles to Complete Denture Tissue Conditioners. J Isfahan Dent Sch 2021; 17(3): 292-300.

## بررسی خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی افزودن نانوذرات اکسید روی به مواد بهسازی بافت مورد استفاده در پروتز کامل

۱. دستیار تخصصی، گروه ارتودنسی، مرکز تحقیقات دانشجویی، پژوهشکده‌ی علوم دندان پزشکی، دانشکده‌ی دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.  
 ۲. دندان پزشک، دانشکده‌ی دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران.  
 ۳. نویسنده مسؤل: استادیار، گروه پروتزهای دندانی، دانشکده‌ی دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران.  
 Email: doctorazarian@yahoo.com

امین خالقی<sup>۱</sup> 

پریسا فغانی<sup>۲</sup> 

مجتبی آذریان بروجنی<sup>۳</sup> 

### چکیده

**مقدمه:** این مطالعه با هدف بررسی خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی حاصل از افزودن نانوذرات ZnO به بهساز بافتی انجام گرفت.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه‌ی آزمایشگاهی، در دانشکده‌ی دندان پزشکی زاهدان انجام شد و تعداد ۱۴۴ نمونه تهیه و بررسی گردید. نانوذرات ZnO به روش ترسیب نوری سنتز شده و با درصدهای جرمی ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ با مایع بهساز بافتی به طور یکنواخت همگن گردید. در مطالعه‌ی حاضر، از ۴ گونه‌ی باکتریایی (استافیلوکوک اورئوس، سودوموناس آیروژنوزا، کاندیدا آلبیکانس، انتروکوک فکالیس) که نماینده‌ی انواع مختلف میکروارگانیسم‌های پاتوژن هستند، استفاده شده است. میزان رشد میکروارگانیسم‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر بر اساس توربیدیتی اندازه‌گیری شد و خوانش در ۶۰۰ نانومتر انجام گرفت. از آزمون‌های آماری ANOVA و Tukey post hoc جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده گردید. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** در مطالعه‌ی حاضر، افزایش نانوذرات ZnO به بهسازی بافت، باعث کاهش تمامی میکروارگانیسم‌های مورد بررسی گردید. در غلظت ۲۰ درصد، مهار کامل رشد برای کاندیدا آلبیکانس، استرپتوکوکوس موتانس، انتروکوک فکالیس و سودوموناس آیروژنوزا اتفاق افتاد. بهترین غلظت تأثیر برای کاندیدا و انتروکوک فکالیس در غلظت ۲۰ درصد ZnO و برای استرپتوکوکوس موتانس و سودوموناس آیروژنوزا در غلظت ۵ درصد بود.

**نتیجه‌گیری:** افزایش نانوذرات ZnO، به بهسازی بافت، باعث کاهش رشد میکروارگانیسم‌ها می‌گردد.

**کلید واژه‌ها:** بهسازهای بافتی، دنچراستوماتیت، کاندیدا آلبیکانس، استرپتوکوکوس موتانس.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۴/۲۱

تاریخ اصلاح: ۱۴۰۰/۳/۲۲

تاریخ ارسال: ۱۳۹۹/۱۲/۲۱

**استناد به مقاله:** خالقی امین، فغانی پریسا، آذریان بروجنی مجتبی. بررسی خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی افزودن نانوذرات اکسید روی به مواد بهسازی بافت مورد استفاده در پروتز کامل. مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان. ۱۴۰۰؛ ۱۷(۳): ۲۹۳-۳۰۰.

## مقدمه

بهسازهای بافتی، برای درمان و آماده‌سازی بافت‌های آزرده ی حمایت‌کنندهی دنچر استفاده می‌شوند. در مواردی که خارج کردن دنچر از دهان امکان‌پذیر نباشد، می‌توان از یک لایه‌ی نازک ماده‌ی بهسازی بافت در سطح مخاطی دنچر استفاده کرد که به صورت یک ضربه‌گیر برای جلوگیری از تروما عمل می‌کند (۱). آستر نمودن دنچرهای با تطابق ضعیف به بافت‌ها فرصت می‌دهند، قبل از قالب‌گیری برای دنچرهای جدید، سلامتی خود را بازیابند. این مواد همچنین جهت مقاصد تسکینی، تشخیصی، برگرداندن ارتفاع عمودی اکلوژن و اصلاح اکلوژن پروتزیهای قدیمی به کار می‌روند (۲). متأسفانه در مواردی این مواد بهسازی، خود بستر مناسبی برای رشد و کلونیزاسیون انواع میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌آورند که می‌تواند عوارض ناشی از دنچر را تشدید نماید (۱، ۳). یکی از شایع‌ترین عوارض استفاده از دنچرهای کامل، بروز استوماتیت دنچری یا کاندیدیازیس مزمن آتروفیک می‌باشد (۴). با استفاده‌ی مکرر از دنچر، سطح بافتی دنچر و فضای ایجاد شده بین سطح بافتی و بافت مخاطی بیمار به تدریج مستعد رشد و کلونیزاسیون انواع میکروارگانیسم‌ها می‌شوند (۴). اتیولوژی استوماتیت دنچری شامل مجموعه‌ای از فاکتورهاست. از آن دسته می‌توان تروما، زروستومیا، رژیم غذایی، استفاده‌ی طولانی‌مدت از دنچر و البته رشد و کلونیزاسیون کاندیدا آلیکانس را نام برد (۵). کلونیزاسیون کاندیدا آلیکانس جدیدترین مشکل می‌باشد (۶، ۷). به طور قطعی ثابت شده است که کاندیدا آلیکانس، نقش مهمی را در پاتوژنز دنچر استوماتیت دارد (۸). هر چند در این موارد، درمان ضدقارچی موضعی و رفع عیب دنچر پیشنهاد می‌شود؛ ولی به دلیل شستشوی ناشی از بزاق و بلعیده شدن مواد ضدقارچی، نمی‌توان دوز مناسب دارو را در دهان ثابت نگه داشت. به علاوه مصرف داروهای موضعی ضدقارچی در بیماران مسن به علت طعم ناخوشایند، کاهش حافظه و قدرت حرکتی، بسیار مشکل می‌باشد (۹). ترکیب داروهای ضدقارچی و ضد میکروبی با ماده‌ی بهسازی بافت

می‌تواند تشکیل پلاک میکروبی خصوصاً بیوفیلم کاندیدیایی را مهار کرده و برای پیشگیری از بروز و کنترل دنچر استوماتیت مؤثر واقع شود (۱۰). ترکیبات ضد میکروبی غیر آلی به ویژه فلزات و اکسیدان ها و از جمله اکسید روی، به دلیل توانایی تحمل شرایط سخت فرآوری از جمله دما و فشار بالا، مورد توجه بسیاری از محققان قرار گرفته است (۱۱). هر چند مطالعات متعددی از خواص ضد میکروبی اکسید روی انجام شده ولی بررسی اثر این نانو ذره بر روی ماده‌ی بهسازی بافتی، انجام نگرفته است. این مطالعه با هدف بررسی خاصیت ضدباکتریایی و ضدقارچی حاصل از افزودن نانوذرات اکسید روی (ZnO) به بهسازی بافتی انجام گرفت. فرضیه‌ی صفر ما این بود که استفاده از این مواد همراه بهسازی بافتی، خصوصیات ضدباکتریایی و ضدقارچی ندارد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه‌ی آزمایشگاهی، تعداد ۱۴۴ نمونه تهیه و بررسی گردید. نانوذرات ZnO (Purity 99%, size: 10-) (Shayankar, Iran) (30 nm, nearly spherical) به روش ترسیب نوری سنتز شد (۱۲). در این روش، مقدار مشخصی نمک استات روی در اتانول و آب مقطر (CCIRAN, Iran) حل شد. سپس با دستگاه اولتراسوند (Heilscher ultrasonics GmbH, UP200H) پخش یکنواخت ذرات انجام شده و داخل یک راکتور (Thermo Lab, Iran) تحت رفالکس به مدت ۲ ساعت در دمای ۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد حرارت داده شد. در ادامه، مقدار مشخصی نمک نیترات نقره به محلول گرم اضافه شده، یک ساعت باز روانی ادامه یافت. سپس محلول حاصل تحت نور فرابنفش (UNICO, 2150, USA) به مدت ۲ ساعت بدون حرارت هم زده شد. در انتها رسوب حاصل سانتریفیوژ (Hettich, Germany) شده و به کوره (Thermo Lab, Iran) منتقل و در دمای ۵۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد کلسینه گردید. محصول حاصل، ZnO بود (۱۲).

نانوذرات تهیه شده با درصدهای جرمی ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ بر طبق اصول روش MIC (Minimum inhibitory concent) با مایع بهساز بافتی به طور یکنواخت همگن گردید (۱۲). درصدهای وزنی به علت فقدان سابقه (ترکیب نانو ذره) در دامنه‌ی وسیع ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ به جهت کشف حداقل مورد نیاز برای کشتن میکروارگانیسم‌ها استفاده شد. لازم به ذکر است که در تعیین غلظت‌های مواد به این مهم توجه شده است که افزودن نانوذرات در غلظت‌های بیش از ۲۰ درصد، باعث ایجاد خواص توکسیک می‌شود (۹). از این رو بیشترین غلظت مورد استفاده از نانوذرات، ۲۰ درصد جرمی در نظر گرفته شد. سپس طبق اصول روش MIC، این عدد جهت رقیق‌سازی در هر مرحله نصف گردید (۱۲). دلیل اختلاط با مایع همگن‌سازی بهتر و تهیه‌ی محلول همگن‌تر بود (۱۳). ترکیب تهیه شده در قالب‌های اکریلی که به ابعاد ۸×۶×۲ میلی‌متر تهیه شده بود، قرار گرفت (۱۳).

در مطالعه‌ی حاضر، از ۴ گونه‌ی باکتریایی که نماینده‌ی از انواع مختلف میکروارگانیسم‌های پاتوژن هستند، استفاده شد. از استافیلوکوک اورئوس (ATCC ۶۵۳۸) به عنوان نماینده‌ی باکتری‌های گرم مثبت و بدون اسپور، سودوموناس آیروژنوزا (ATCC ۹۰۲۷) به عنوان نماینده‌ی باکتری‌های گرم منفی و مقاوم، کاندیدا آلیکانس (ATCC ۱۰۲۳۱) به عنوان قارچ پاتوژن موجود در دهان و انتروکوک فکالیس (ATCC ۲۹۲۱۲) به عنوان نماینده‌ی باکتری‌های گرم مثبت و مقاوم استفاده شد (۸).

محیط کشت Brain Heart (Darmstadt, Germany) Merc broth جهت رشد میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش طبق دستور کارخانه، به صورت ۳۰ گرم در لیتر تهیه شده و سپس با اتوکلاو (Getidy, China) استریل گردید (۱۳). محیط کشت Blood agar نیز به روش معمول جهت کشت نمونه‌ها تهیه گردید. به این ترتیب که محیط Mueller Hinton Broth (Darmstadt, Germany)

Merc تهیه شد و بعد از استریل شدن توسط اتوکلاو و خنک شدن تا دمای محیط به اندازه‌ی ۱۷ درصد حجم، خون گوسفندی به آن اضافه و جهت کشت نمونه‌ها درون پلیت‌های ۸ سانتی‌متر استریل ریخته شد. سویه‌ی قارچی (یا میکروبی) (Persian Type Culture Collection, Iran) که به صورت پودر لیوفیلیزه تهیه می‌شود، در محیط کشت Brain heart broth حل شد و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون (UNIMAX, Germany) در دمای ۳۷ درجه، بر روی پلیت‌های استریل کشت داده شد تا میکروارگانیسم رشد نماید. سپس از قارچ‌های رشد یافته، سوسپانسیون به غلظت ۰/۵ Mc Farland (معادل CFU colony-forming unit) ۱۰۸ × ۱/۵ میکروب) در مقایسه با استاندارد مک فارلند تهیه گردید (۹). سپس با رقیق‌سازی این سوسپانسیون، به غلظت ۱۰۵ CFU × ۱/۵ رسانده شد (۹). برای تهیه‌ی سوسپانسیون قارچی به غلظت ۱۰۵ CFU \* ۱/۵، ۱cc از سوسپانسیون با غلظت ۱۰۸ × ۱/۵ با ۹cc از محیط کشت مخلوط شده و سوسپانسیون با غلظت ۱۰۷ × ۱/۵ به دست آمد و همین کار ۲ بار دیگر تکرار گردید تا سوسپانسیون به غلظت ۱۰۵ × ۱/۵ برسد. از سوسپانسیون نهایی با غلظت ۱۰۵ CFU × ۱/۵ در هر لوله آزمایش توسط سمپلر ریخته و از ترکیب نانوذرات ZnO به بهساز بافتی اضافه گردید. انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام گردید (۹). سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO, 2150, USA) میزان رشد میکروارگانیسم‌ها اندازه‌گیری شد. میزان رشد میکروارگانیسم‌ها بر اساس توریدیتی ثبت و خوانش در دستگاه در ۶۰۰ نانومتر انجام گرفت.

نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد بررسی قرار گرفت. جهت مقایسه‌ی میزان رشد میکروارگانیسم در غلظت‌های مختلف نانوذرات از آزمون ANOVA و جهت مقایسه‌ی دو به دوی گروه‌ها، از آزمون Tukey post hoc استفاده گردید. سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها**

نتایج جدول ۱، میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از رشد کاندیدا آلیکانس را توسط دستگاه اسپکتروفتومتر نشان می‌دهد. نتایج جدول ۲، مقایسه‌ی دو به دو غلظت‌های ترکیب نانوذرات در بررسی خاصیت ضدقارچی کاندیدا آلیکانس را نشان می‌دهد که غلظت ۰/۶۲۵ درصد نانوذرات به طور معنی‌داری کدورت کمتری از نمونه‌ی شاهد دارد ( $p \text{ value} < 0/05$ ). بین غلظت ۰/۶۲۵ و ۱/۲۵ و همچنین غلظت ۱/۲۵ و ۲/۵ و همچنین ۲/۵ و ۵ درصد، تفاوت معنی‌داری دیده نمی‌شود. غلظت ۱۰ درصد نانوذرات به طور معنی‌داری کدورت کمتری از غلظت ۵ درصد دارد ( $p \text{ value} < 0/05$ ) و غلظت ۲۰ درصد نانوذرات به طور معنی‌داری کدورت کمتری از غلظت ۱۰ درصد دارد ( $p \text{ value} < 0/05$ ).

در جدول ۳، میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از رشد استرپتوکوکوس موتانس نشان داده شده است. در جدول ۴، مقایسه‌ی دو به دو غلظت‌های ترکیب نانوذرات در بررسی خاصیت ضدباکتریایی استرپتوکوکوس موتانس نشان می‌دهد که غلظت ۰/۶۲۵ درصد نانوذرات به طور معنی‌داری کدورت کمتری از نمونه‌ی شاهد دارد ( $p \text{ value} < 0/05$ ). بین غلظت ۰/۶۲۵ و ۱/۲۵ و همچنین ۱/۲۵ و ۲/۵ درصد نانوذرات، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. بین غلظت‌های ۵ و ۲/۵ درصد و همچنین غلظت‌های ۱۰ و ۵ درصد و غلظت‌های ۲۰ و ۱۰ درصد، تفاوت معنی‌دار از نظر مهار رشد استرپتوکوکوس موتانس وجود دارد ( $p \text{ value} < 0/05$ ).

**جدول ۳: میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از رشد استرپتوکوکوس موتانس در بهسازهای بافتی حاوی درصد‌های مختلف نانوذرات**

غلظت ZnO	تعداد نمونه	میانگین $\pm$ انحراف معیار
۰/۶۲۵	۶	۴/۰۷ $\pm$ ۱/۰۸
۱/۲۵	۶	۳/۹۳ $\pm$ ۰/۱۵
۲/۵	۶	۳/۵۱ $\pm$ ۰/۹۹
۵	۶	۱/۷۱ $\pm$ ۰/۱۶
۱۰	۶	۰/۷۴ $\pm$ ۰/۳۳
۲۰	۶	۰/۰۰ $\pm$ ۰/۰۰
شاهد	۶	۱۳/۲۲ $\pm$ ۲/۱۵

**جدول ۱: میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از رشد کاندیدا آلیکانس در بهسازهای بافتی حاوی درصد‌های مختلف نانوذرات**

غلظت ZnO	تعداد نمونه	میانگین $\pm$ انحراف معیار
۰/۶۲۵	۶	۲/۲۵ $\pm$ ۰/۵۷
۱/۲۵	۶	۲/۱۱ $\pm$ ۰/۶۳
۲/۵	۶	۱/۸۶ $\pm$ ۰/۵۱
۵	۶	۱/۵۳ $\pm$ ۰/۷۰
۱۰	۶	۰/۷۵ $\pm$ ۰/۳۴
۲۰	۶	۰/۰۰ $\pm$ ۰/۰
شاهد	۶	۱۱/۱۸ $\pm$ ۵/۵۷

**جدول ۴: آزمون Tukey جهت مقایسه‌ی دو به دو خاصیت ضدباکتری استرپتوکوکوس موتانس غلظت‌های مختلف نانوذرات**

p value	غلظت ZnO (درصد)	غلظت ZnO (درصد)
۰/۰۰۱	۰/۶۲۵	شاهد
۰/۸۲۱	۱/۲۵	۰/۶۲۵
۰/۰۶۷	۲/۵	۱/۲۵
۰/۰۰۱	۵	۲/۵
۰/۰۳۳	۱۰	۵
۰/۰۳۶	۲۰	۱۰

**جدول ۲: آزمون Tukey جهت مقایسه‌ی دو به دو خاصیت ضدقارچی غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی علیه کاندیدا آلیکانس**

p value	غلظت ZnO (J)	غلظت ZnO (I)
۰/۰۰۱	۰/۶۲۵	شاهد
۰/۵۴۳	۱/۲۵	۰/۶۲۵
۰/۳۵۷	۲/۵	۱/۲۵
۰/۲۸۹	۵	۲/۵
۰/۰۲۶	۱۰	۵
۰/۰۲۲	۲۰	۱۰

رشد سودوموناس آيروژنزا نشان داده شده است. نتایج جدول ۸ در مورد باکتری سودوموناس آيروژنزا نشان می‌دهد که غلظت ۰/۶۲۵ درصد نانوذرات به طور معنی‌داری، کدورت کمتری از نمونه‌ی شاهد دارد ( $p \text{ value} < ۰/۰۵$ ). بین غلظت‌های ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ و همچنین ۲/۵ و ۱/۲۵ تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. غلظت ۵ درصد نانوذرات به طور معنی‌داری کدورت کمتری از نمونه‌ی ۲/۵ درصد، دارد ( $p \text{ value} < ۰/۰۵$ ) و بین غلظت‌های ۱۰ و ۵ درصد و همچنین ۲۰ و ۱۰ درصد، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

جدول ۷: میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از رشد سودوموناس آيروژنزا در بهسازهای بافتی حاوی درصد‌های مختلف نانوذرات

میانگین $\pm$ انحراف معیار	تعداد نمونه	غلظت ZnO (درصد)
۳/۳۱ $\pm$ ۱/۱	۶	۰/۶۲۵
۲/۶۹ $\pm$ ۱/۰۳	۶	۱/۲۵
۱/۹۵ $\pm$ ۱/۰۲	۶	۲/۵
۰/۸۹ $\pm$ ۰/۲۶	۶	۵
۰/۳۶ $\pm$ ۰/۱۱	۶	۱۰
۰/۰ $\pm$ ۰/۰	۶	۲۰
۱۱/۲۴ $\pm$ ۴/۴۲	۶	شاهد

جدول ۸: آزمون Tukey جهت مقایسه‌ی دو به دو خاصیت ضدباکتری سودوموناس آيروژنزا در غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید روی

p value	غلظت ZnO (درصد)	غلظت ZnO (درصد)
۰/۰۰۱	۰/۶۲۵	شاهد
۰/۱۰۷	۱/۲۵	۰/۶۲۵
۰/۰۸۲	۲/۵	۱/۲۵
۰/۰۲۷	۵	۲/۵
۰/۱۲۳	۱۰	۵
۰/۴۲۸	۲۰	۱۰

در جدول ۵، میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از رشد انتروکوک فکاليس نشان داده شده است. نتایج جدول ۶، نشان می‌دهد که غلظت ۰/۶۲۵ درصد نانوذرات در مورد باکتری انتروکوک فکاليس، به طور معنی‌داری کدورت کمتری از نمونه‌ی شاهد دارد ( $p \text{ value} < ۰/۰۵$ ). بین غلظت‌های ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ و غلظت ۲/۵ و ۱/۲۵ و همچنین ۵ و ۲/۵ درصد، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. بین غلظت‌های ۱۰ و ۵ درصد و همچنین ۲۰ و ۱۰ درصد، تفاوت معنی‌دار وجود دارد ( $p \text{ value} < ۰/۰۵$ ).

جدول ۵: میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از رشد انتروکوک فکاليس در بهسازهای بافتی حاوی درصد‌های مختلف نانوذرات

میانگین $\pm$ انحراف معیار	تعداد نمونه	غلظت ZnO
۳/۱۴ $\pm$ ۰/۹۶	۶	۰/۶۲۵
۲/۷۸ $\pm$ ۱/۰۲	۶	۱/۲۵
۲/۱۷ $\pm$ ۱/۱۱	۶	۲/۵
۱/۶۲ $\pm$ ۱/۰۷	۶	۵
۰/۶۵ $\pm$ ۰/۴۲	۶	۱۰
۰/۰۰ $\pm$ ۰/۰۰	۶	۲۰
۱۲/۰۹ $\pm$ ۶/۰۲	۶	شاهد

جدول ۶: آزمون Tukey جهت مقایسه‌ی دو به دو خاصیت ضدباکتری انتروکوک فکاليس غلظت‌های مختلف نانوذرات

p value	غلظت ZnO (درصد)	غلظت ZnO (درصد)
۰/۰۰۱	۰/۶۲۵	شاهد
۰/۳۵۷	۱/۲۵	۰/۶۲۵
۰/۵۰۸	۲/۵	۱/۲۵
۰/۱۲۴	۵	۲/۵
۰/۰۲۲	۱۰	۵
۰/۰۳۶	۲۰	۱۰

در جدول ۷، میانگین و انحراف معیار کدورت حاصل از

## بحث

اکسید روی، یک ترکیب غیر آلی محلول در آب است و خواص ضدباکتری و ضدقارچی 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 ارگانسیم‌ها می‌شود. مطالعه‌ی تأثیر افزودن نانو کریستال‌های ZnO به مواد دندان‌ی نیز به عنوان یک ماده‌ی زیست‌سازگار، از مواردی است که به تازگی توجه محققین را به خود جلب نموده است (۸).

در مطالعه‌ی ما، افزایش نانوذرات ZnO به بهسازی بافت، باعث کاهش رشد کاندیدا آلبیکانس گردید که فرضیه‌ی صفر را رد می‌کند. به طوری که حتی غلظت ۰/۶۲۵ درصد جرمی نانوذرات هم باعث کاهش معنی‌داری در رشد کاندیدا نسبت به نمونه‌ی شاهد شد. مهار کامل رشد در غلظت ۲۰ درصد مشاهده گردید. بهترین غلظت تأثیر، غلظت ۲۰ درصد ZnO می‌باشد. با توجه به اینکه نانوذرات فلزی در درصدهای وزنی بالا بر فرایند پلیمریزاسیون مواد دندان‌ی تأثیر گذاشته و باعث کاهش سازگاری نسجی آن‌ها می‌شود، لذا بایستی از حداقل مقادیر غلظت‌هایی که مؤثر می‌باشند استفاده گردد (۱۴).

حسین زاده و همکاران (۱۶) نشان دادند که نانوذره اکسید روی، اثر ضدباکتریایی داشته و می‌تواند به عنوان گزینه‌ی مناسبی برای حذف باکتری‌های گرم مثبت و منفی استفاده گردد.

Kairyte و همکاران (۱۷)، نشان دادند که نانوذرات اکسید روی به صورت سوسپانسیون، دارای خواص ضدقارچی و میکروبی می‌باشد. البته به دلیل متفاوت بودن میکروب‌های مورد بررسی در این مطالعه، با مطالعه‌ی حاضر امکان مقایسه‌ی مستقیم وجود ندارد.

Zhang و همکاران (۱۸)، تأثیر ضد میکروبی نانوپارتیکل‌های اکسید روی را علیه *E. Coli* بررسی نمودند. در این مطالعه تأثیر سایز و غلظت نانوذرات بررسی شد. با افزایش غلظت ذرات و همچنین کاهش سایز ذرات، تأثیر ضد میکروبی بیشتر شد. همچنین غلظت نانوذرات اکسید روی، نقش مهم‌تری نسبت به سایز آن در افزایش خاصیت

ضدمیکروبی دارد. نتایج آن‌ها در مورد تأثیر غلظت ذرات مشابه نتایج ما می‌باشد.

خاصیت ضدمیکروبی فلزات، به سطح تماس آن‌ها بستگی دارد. با کاهش اندازه‌ی ذرات فلزی و افزایش نسبت سطح به حجم آن‌ها، قدرت ضدباکتریایی این مواد افزایش می‌یابد. تبدیل ذرات از اندازه‌ی میکرومتر به نانومتر، باعث بهبود و افزایش برهم کنش الکترواستاتیکی بین سطح باکتری و نانوذره گردیده و خاصیت ضدمیکروبی افزایش می‌یابد و افزودن این نانوذرات به سایر مواد، باعث خواص ضدباکتریایی می‌شود (۱۹).

در مطالعه‌ی حاضر، افزایش نانوذرات ZnO به بهسازی بافت، باعث کاهش رشد استرپتوکوکوس موتانس گردید. به طوری که افزایش غلظت ۰/۶۲۵ درصد جرمی نانوذرات، باعث کاهش معنی‌داری در رشد استرپتوکوکوس موتانس نسبت به نمونه‌ی شاهد گردید. مهار کامل رشد در غلظت ۲۰ درصد، اتفاق می‌افتد. بهترین غلظت تأثیر، غلظت ۲۰ درصد ZnO می‌باشد.

Kasraei و همکاران (۲۰)، نشان دادند که نانوذرات اکسید روی و یا نانوذرات نقره، فعالیت ضدباکتریایی در برابر استرپتوکوکوس موتانس دارند و اثر اکسید روی بر استرپتوکوکوس موتانس به طور قابل توجهی بالاتر از نقره بود. حسین زاده و همکاران (۱۶) بیان کردند که نانوذره اکسید روی، به عنوان گزینه‌ی مناسبی برای حذف باکتری‌های گرم مثبت و منفی است. نتایج مطالعات مذکور، تأیید کننده‌ی مطالعه‌ی حاضر بود.

Sirelkhatim و همکاران (۱۷) و Padmavathy و Vijayaraghavan (۲۱) در بررسی خواص نانوذرات اکسید روی، این ماده را به عنوان یک عامل مؤثر ضدباکتریایی و سازگار با سلول‌های انسانی معرفی کردند.

در مطالعه‌ی حاضر، افزایش نانوذرات ZnO به بهسازی بافت، باعث کاهش رشد انتروکوک فکالیس گردید. به طوری که افزایش غلظت ۰/۶۲۵ درصد جرمی نانوذرات، باعث کاهش معنی‌داری در رشد انتروکوک فکالیس نسبت به نمونه‌ی شاهد

عامل ضدباکتریایی قوی تری گزارش نمودند. رمضانزاده و یعقوبی (۲۵)، نشان دادند که ترکیبی از نانو اکسید مس و نانو اکسید روی، دارای اثر ضد میکروبی بهتری است. در مطالعه‌ی ما، خاصیت نانو ذرات در کوتاه مدت بررسی شد در حالی که پیشنهاد می‌شود، این بررسی در طولانی مدت و به صورت بالینی نیز انجام گردد.

### نتیجه‌گیری

افزایش نانوذرات ZnO به ماده‌ی بهسازی بافت، باعث کاهش رشد باکتری‌های استریتوکوکوس موتانس، انتروکوک فکالیس و سودوموناس آيروژنزا و قارچ کاندیدا آلیکانس می‌گردد.

### سپاسگزار

این مطالعه در قالب پایان‌نامه‌ی شماره‌ی ۲۲۱۲ در دانشکده‌ی دندان پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان به تصویب رسیده است.

گردید. مهار کامل رشد در غلظت ۲۰ درصد اتفاق افتاد. بهترین غلظت تأثیر، غلظت ۲۰ درصد ZnO می‌باشد. نمودار رشد باکتریایی مشتمل بر چهار فاز تأخیری، افزایش یابنده، سکون و مرگ می‌باشد، لذا در درصدهای پایین نانوذرات (همچون نقره و اکسید روی) جلوگیری از رشد باکتری‌ها، ۱۰۰ درصد نبوده و باکتری‌ها به رشد و تکثیر خود ادامه می‌دهند. این امر نشانگر عدم تأثیر در غلظت‌های پایین و مؤثر بودن نانوذرات در غلظت‌های بالاتر است (۲۲). در مطالعه‌ی حاضر، افزایش نانوذرات ZnO به بهسازی بافت، باعث کاهش رشد سودوموناس آيروژنزا گردید. به طوری که افزایش غلظت ۰/۶۲۵ درصد جرمی نانوذرات، باعث کاهش معنی‌داری در رشد سودوموناس آيروژنزا نسبت به نمونه‌ی شاهد گردید. مهار کامل رشد در غلظت ۲۰ درصد اتفاق می‌افتد. بهترین غلظت تأثیر، غلظت ۵ درصد ZnO می‌باشد.

Jiang و همکاران (۲۴)، اکسید روی را در مقایسه با اکسیدهای فلز Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>، TiO<sub>2</sub> و SiO<sub>2</sub> در مقابله با باکتری‌های اشرشیاکلی، سودوموناس و باسیلوس سوبتیلوس

## References

1. Mc Carthy JA, Moser JB. Tissue conditioning and functional impression materials and techniques. Dent Clin North Am 1984; 28(2): 239-51.
2. Zarb G, Hobkirk J, Eckert S, Jacob R. Prosthodontic treatment for edentulous patients. 13th ed. St. Louis: Mosby; 2013. p. 73-99.
3. Rathore P, Hegde A, Ginjupalli K, Upadhya N. Evaluation of antifungal activity of additives to resilient liners. Trends Biomater Artif Organs 2009; 23(1): 6-9.
4. Chow CK, Matear DW, Lawrence HP. Efficacy of antifungal agents in tissue conditioners in treating candidiasis. Gerodontolgy 1999; 16(2): 110-8.
5. Warnakulasuriya S. Burket's oral medicine: diagnosis and treatment. 10th ed. Ontario: BC Decker Inc; 2003. p. 41-6.
6. Masella RP, Dolan CT, Laney WR. The prevention of the growth of Candida on silastic 390 soft liner for dentures. J Prosthet Dent 1979; 33(3): 250-7.
7. Woelfel JB, Paffenbarger GC. Evaluation of complete dentures lined with resilient silicone rubber. J Am Dent Assoc 1986; 76(3): 582-90.
8. Cawson RA. Symposium on denture sore mouth. II. The role of candida. Dent Pract Dent Rec 1965; 16(4): 138-42.
9. Nam KY. In vitro antimicrobial effect of the tissue conditioner containing silver nanoparticles. J Adv Prosthodont 2011; 3(1): 20-4.
10. Warnakulasuriya KA, Samaranyaka LP, Peiris JS. Angular cheilitis in group of sri lanka adults: a clinical and microbiologic study. J Oral Pathol Med 1991; 20(4): 172-5.
11. Zhang L, Jiang Y, Ding Y, Povey M, York DW. Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles. Journal of Nanoparticle Research 2007; 9(3): 479-89.
12. Ebadian B, Navarchian AH, Sedighipour L. The effect of surface coating on softness of two kind of tissue conditioners. Dent Res J 2006; 3(1): 14-8. [In Persian].



13. Malmstrom HS, Mehta N, Sanchez R, Moss ME. The effect of two different coating on the surface integrity and softness of tissue conditioners. *J Prosthet Dent* 2002; 87(2): 153-7.
14. Hosseini SS, Joshaghani H, Shokohi T, Ahmadi A, Mehrbakhsh Z. Antifungal activity of ZnO nanoparticles and nystatin and downregulation of SAP1-3 genes expression in fluconazole-resistant candida albicans isolates from vulvovaginal candidiasis. *Infection and Drug Resistance* 2020; 13: 385-94.
15. Kreve S, Oliveira VC, Bachmann L, Alves OL, Reis ACD. Influence of AgVO(3) incorporation on antimicrobial properties, hardness, roughness and adhesion of a soft denture liner. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 11889.
16. Hoseinzadeh E, Samargandi MR, Alikhani MY, Roshanaei G, Asgari G. Antimicrobial efficacy of zinc oxide nanoparticles suspension against gram negative and gram positive bacteria. *Iranian Journal of Health and Environment* 2012; 5(3): 331-42. [In Persian].
17. Kairyte K, Kadys A, Luksiene Z. Antibacterial and antifungal activity of photoactivated ZnO nanoparticles in suspension. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2013; 128: 78-84.
18. Zhang L, Jiang Y, Ding Y, Povey M, York D. Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO Nanofluids). *Journal of Nanoparticle Research* 2007; 9(3): 479-89.
19. Abou El-Nour KMM, Eftaiha A, Al-Warthan A, Ammar RAA. Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry* 2010; 3: 135-40.
20. 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.
21. Padmavathy N, Vijayaraghavan R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles an antimicrobial study. *Sci Technol Adv Mater* 2008; 9(3): 035004.
22. Sirelkhatim A1, Mahmud S1, Seeni A2, Kaus NHM3, Ann LC1, Bakhori SKM, et al. Review on zinc oxide nanoparticles antibacterial activity and toxicity mechanism. *Nanomicro Letters* 2015; 7(3): 219-42.
23. Morones-Ramirez JR, Elechiguerra JL, Camacho A, Holt K. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* 2015; 16(10): 2346-53.
24. Jiang W, Mashayekhi H, Xing B. Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles. *Environ Pollut* 2009; 157(5): 1619-25.
25. Ramazanzadeh B, Yaghoobi M. Comparison of antimicrobial effect of the brackets coated with nanoparticles of copper and zinc oxide against streptococcus mutan Iran. *Dent Sch Mashhad Univ Med Sci* 2010; 4(3): 627-33. [In Persian].