

## مقایسه آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی محلولهای نانوذرات نقره و کلر هگزیدین بر استرپتوکوک سانگوئیس و اکتینومایسس ویسکوزوس

دکتر رخساره صادقی<sup>۱</sup> - دکتر پرویز اولیا<sup>۲</sup> - دکتر محمدباقر رضوانی<sup>۳</sup> - دکتر فریال طالقانی<sup>۱</sup> - دکتر فاطمه شریف<sup>۴</sup>

۱- استادیار گروه آموزشی پریدنتولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شاهد

۲- استاد گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد

۳- استادیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شاهد

۴- دندانپزشک

### چکیده

**زمینه و هدف:** در سالهای اخیر خواص ضد میکروبی نانوذرات نقره در زمینه‌های مختلف پزشکی مورد بررسی قرار گرفته، اما مطالعه‌ای در مورد اثر آن بر میکروارگانیسم‌های پلاک دندانی انجام نشده است. هدف از این مطالعه بررسی آزمایشگاهی تأثیر محلول نانوذرات نقره بر میکروارگانیسم‌های اکتینومایسس ویسکوزوس و استرپتوکوکوس سانگوئیس موجود در پلاک میکروبی و مقایسه آن با کلر هگزیدین می‌باشد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی جهت بررسی اثرات آنتی باکتریال نانوذرات نقره و کلر هگزیدین، از روش *Broth Microdilution* استفاده شد، بدین ترتیب که رقت‌های متوالی از هر دو محلول را با باکتری مجاور کرده تا حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (*Minimum Inhibitory Concentration=MIC*) و حداقل غلظت باکتریوسیدال (*Minimum Antibacterial Concentration=MBC*) به روش رقت‌های متوالی تعیین گردد. هر آزمایش حداقل پنج بار تکرار گردید تا از صحت آزمایشها اطمینان حاصل شود.

**یافته‌ها:** یافته‌ها نشان داد میزان *MIC* محلول نانوذرات نقره و کلر هگزیدین علیه استرپتوکوکوس سانگوئیس به ترتیب ۱۶ و ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، و برای اکتینومایسس ویسکوزوس ۴ و ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. میزان *MBC* محلول نانوذرات نقره و کلر هگزیدین علیه استرپتوکوکوس سانگوئیس، ۶۴ و ۵۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای اکتینومایسس ویسکوزوس ۱۶ و ۱۰۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. نتیجه‌گیری: نانوذرات نقره دارای فعالیت ضد باکتری خوبی علیه استرپتوکوکوس سانگوئیس و اکتینومایسس ویسکوزوس است که این اثر در مقایسه با کلر هگزیدین با غلظتهای پایینی از محلول نانوذرات نقره حاصل می‌شود.

**کلید واژه‌ها:** نانوذرات نقره - مقاومت - استرپتوکوک سانگوئیس.

پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۴/۸

اصلاح نهایی: ۱۳۹۰/۳/۳۱

وصول مقاله: ۱۳۸۹/۱۲/۲۴

e.mail:fateme.sharif@yahoo.com

نویسنده مسئول: دکتر فاطمه شریف، دندانپزشک

### مقدمه

دست رفتن دندانها می‌شود. (۱)، اکثریت افراد جامعه نمی‌توانند توسط روشهای مکانیکی به طور مؤثری پلاک میکروبی را از روی سطوح دندانی خود حذف کنند، بنابراین استفاده از روشهای شیمیایی مانند کاربرد دهان‌شویه‌ها، چنانچه بتوانند سبب ارتقای مراقبتهای خانگی و روزانه شود، یک راه مؤثر در حذف یا کنترل تشکیل پلاک میکروبی و عوارض ناشی از آن خواهد بود. (۲)

کلونیزه شدن میکروارگانیسم‌ها در دهان بلافاصله بعد از تولد آغاز می‌شود. پس از رویش دندانها فلور پیچیده‌تری در دهان شکل می‌گیرد. میکروب‌ها از طریق پلاک دندانی اثرشان را بر روی دندانها و پریدنتشیوم اعمال می‌کنند، بدین ترتیب که تجمع پاره‌ای از میکروارگانیسم‌ها بر روی سطوح دندانی و لثه‌ای مجاور به صورت پلاک دندانی سبب بروز پوسیدگی و بیماریهای پریدنتال و متعاقب آن از

متعددی در ایجاد بیماریهای پریودنتال دخالت دارند، ولی به علت محدودیت در انجام مطالعه روی ارگانسیمهای بی هوازی، دو میکروارگانسیم استرپتوکوک سانگوئیس و اکتینومایسس ویسکوزوس که به عنوان کلونیزه شونده‌های اولیه در پلاک میکروبی دندان شناخته می‌شوند، انتخاب شدند. هدف از مطالعه حاضر بررسی خواص ضد میکروبی نانوسیلور بر دو میکروارگانسیم فوق است که به طور اولیه در پلاک تجمع می‌یابند.

### روش بررسی

این مطالعه به صورت تجربی و آزمایشگاهی (In vitro) انجام شد. جمعیت مورد مطالعه در این مطالعه، دو میکروارگانسیم *Streptococcus sanguis* (PTCC 1449) و *Actinomyces viscosus* (PTCC 1202) می‌باشد که به صورت انتخابی از مرکز کلکسیون قارچها و باکتری‌های عفونی و صنعتی سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران تهیه شد. نانوسیلور مورد استفاده در این مطالعه از شرکت Pharma chem آلمان و به صورت محلول کلوئیدال ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و اندازه متوسط ابعاد ده نانومتر تهیه شد. کلرگزیدین مورد استفاده در این مطالعه از شرکت داروسازی دنیای بهداشت با نام تجاری هگزوداین و با غلظت ۰/۱۲٪ تهیه گردید. برای انجام تست MIC یا تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد محلول نانوسیلور و دهان‌شویه کلرگزیدین علیه باکتری استرپتوکوکوس سانگوئیس و یا اکتینومایسس ویسکوزوس از روش Broth microdilution استفاده شد. (۲۰)، تعداد ۱۲ لوله آزمایش استریل (۱۰۰ × ۱۶) انتخاب و از شماره ۱-۱۲ شماره گذاری شد. به لوله‌های ۱-۱۰ یک میلی لیتر از محیط مولر هینتون براث اضافه شد، هزارو دویست و هشتاد میکرولیتر از سوسپانسیون نانوسیلور (۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) برداشته و در لوله آزمایش جداگانه‌ای به هفتصد و بیست میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث که با ۲/۵ برابر غلظت تهیه شده بود، اضافه شد و توسط ورتکس خوب مخلوط گردید. یک میلی‌لیتر از محتویات این لوله که حاوی

در سالهای اخیر فناوری نانو توانسته است تحولات عمیقی در زمینه پژوهش و تولید محصولات مختلف ایجاد کند. (۳)، در این فناوری از مواد در ابعاد نانومتر جهت تولید محصولات جدید استفاده می‌شود. (۴)، ماده در ابعاد نانو در مقایسه با همان ماده به صورت توده، رفتار متفاوتی نشان می‌دهد. (۵-۷)، یکی از محصولات فناوری نانو، نانوذرات نقره می‌باشد. اثرات ضد میکروبی نقره از دیر باز شناخته شده است، توانایی ارائه نقره از طریق ساختار نانوکریستال به طرز شگرفی ارزش بیولوژیکی و ضد میکروبی آن را بالا برده است، (۸) زیرا نانو ذرات نقره سطح تماس بیشتری در مقایسه با ذرات نقره به صورت توده دارد. این امر سبب اثر ضد میکروبی بالاتر آن می‌شود، به طوری که مقدار بسیار اندکی از ذرات نقره به صورت نانو لازم است تا اثر ضد میکروبی مشابه با نقره به صورت توده داشته باشد. (۹-۱۳) کلرگزیدین نیز یک دیگوانوگزیدین با خصوصیات آنتی‌سپتیک مشخص می‌باشد که تا به امروز به عنوان بهترین ماده در درمان التهاب لثه پذیرفته شده است. عوارض جانبی موضعی و برگشت پذیر این ماده شامل قهوه‌ای رنگ شدن دندانها، زبان و ترمیمهای سیلیکات و رزین و اختلال گذرا در حس چشایی می‌باشد. دهان‌شویه کلرگزیدین، حاوی ۱۲٪ الکل نیز می‌باشد که باعث نگرانی کلینیسین و بیماران است، چرا که استفاده مداوم از الکل خطر ابتلا به سرطانهای دهانی- حلقی را افزایش می‌دهد. (۱)

نتایج بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که برخلاف آنتی بیوتیک‌های رایج که معمولاً فقط روی باکتری‌ها اثر کشنده و مهاری دارند، نانوسیلور علاوه بر باکتری‌ها دارای اثرات کشندگی روی طیف وسیعی از قارچها، پورتوزوا و حتی ویروسها می‌باشد. (۱۴-۱۸) در مورد تأثیر محلول نانو سیلور روی میکروارگانسیمهای پلاک میکروبی دندان مطالعه‌ای به عمل نیامده است. استرپتوکوکوس سانگوئیس (*Streptococcus sanguis*) و اکتینومایسس ویسکوزوس (*Actinomyces viscosus*) دو میکروارگانسمی هستند که به عنوان کلونیزه شونده‌های اولیه در تشکیل پلاک دندان ایفای نقش می‌کنند. (۱، ۱۹)، اگرچه میکروارگانسیمهای

و با تعداد سلول زنده در واحد حجم اینوکولوم اولیه ( Origin  $10^6$  CFU/ml) مقایسه شد. از آنجایی که حتی داروهای باکتریوسیدال همیشه به طور کامل یک جمعیت باکتریال را از بین نمی‌برند، کمترین غلظتی از ماده ضد میکروبی که تعداد باکتری‌های زنده را به کمتر از  $10^1$ ٪ اینوکولوم اولیه کاهش دهد، به عنوان حداقل غلظت کشنده باکتری ( Minimal Bactericidal Concentration) در نظر گرفته شود. (۲۰)

تمامی مراحل تست MIC و MBC، پنج بار تکرار شد تا از صحت انجام آزمایشات اطمینان حاصل شود. در مرحله بعد قدرت باکتریوسیدال در لوله مورد آزمایش قرار گرفت. برای انجام این کار نانوسیلور را با غلظت مشابه با غلظت MBC و دهان‌شویه کلرهگزیدین را به میزان پیشنهادی شرکت تولید کننده (۱۵ سی سی) تهیه و به هریک از آنها پنجاه میکرولیتر سوسپانسیون باکتری اضافه شد. از آنجا که به‌طور معمول دهان‌شویه سی ثانیه در دهان قرار می‌گیرد. (۱)، لذا در این تست زمان مجاور کردن محلولها با سوسپانسیون میکروبی، سی ثانیه در نظر گرفته شد. در این فاصله محتویات داخل لوله‌ها را ورتکس کرده و پس از سی ثانیه تماس با سر سمپلر استریل پنجاه میکرولیتر از مخلوط ماده ضد عفونی و باکتری را برداشته و در محیط کشت مولر هینتون براث کشت ثانوی داده و مجدداً لوله‌ها را ورتکس کرده و لوله‌های حاوی سویه‌های باکتری هر کدام به انکوباتور مخصوص خود منتقل شد و در حین کار دقت گردید که شرایط استریل رعایت شود تا آلودگی ثانویه پیش نیاید. همچنین فاصله زمانی بین افزودن سوسپانسیون باکتری به لوله‌ها و تهیه کشت ثانوی همان سی ثانیه بود.

این مرحله از آزمایش برای هر باکتری پنج بار تکرار گردید تا خطای آزمایشگر به حداقل برسد. نتایج بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرائت شد. بر اساس کدورتی که در لوله‌ها حاصل می‌شود، نتایج خوانده می‌شود و شفاف بودن محتویات لوله‌ها نشانگر استریل بودن آنها است به این معنی که محلول در رقت تهیه شده تأثیر باکتریوسیدال داشته و باکتری‌ها کلاً از بین رفته و در کشت مجدد رشد نکرده است و اگر کدر باشد، مشخص می‌شود

۶۴ میکروگرم نانوسیلور بود به لوله شماره یک اضافه شد. در نتیجه غلظت نهایی نانوسیلور در لوله شماره یک به ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر رسید. سپس محتویات لوله شماره یک را خوب ورتکس کرده و بعد یک میلی‌لیتر از لوله شماره یک را به لوله شماره دو اضافه کرده و خوب ورتکس گردید و این کار را تا لوله شماره ده ادامه یافت. از لوله شماره ده مقدار یک میلی‌لیتر از محلول دور ریخته شد. در هر مرحله نوک سمپلر عوض گردید. در پایان این مرحله، لوله اول دارای محلول نانوسیلور با غلظت ۳۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده که به نسبت ۱/۲ در لوله‌های بعدی رقیق شد و در لوله دهم به غلظت ۰/۰۶۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر رسید. به عبارت دیگر لوله‌ها حاوی غلظتهای به تدریج کاهش یافته نانوسیلور بودند. در مرحله بعد، به اندازه یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده که حاوی  $10^6$  باکتری در هر میلی‌لیتر بود، به هر لوله اضافه شد. بنابراین در هر لوله آزمایش  $10^5 \times 5$  واحد کلونی در میلی‌لیتر وجود داشت که مطابق استاندارد روش براث میکرو دایلوژن بود.

پس از آن غلظت نانوسیلور در حجم نهایی (دو میلی‌لیتر) محاسبه گردید که ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر در لوله اول تا ۰/۰۳۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر در لوله دهم خواهد بود. لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از زمان انکوباسیون کمترین غلظتی از نانوسیلور که باعث مهار رشد باکتری گردید و با مشاهده عدم کدورت در لوله مشخص می‌شود، به عنوان MIC محلول نانوسیلور در برابر سویه میکروبی در نظر گرفته شد. (۲۰)

تمام مراحل فوق برای دهان‌شویه کلرهگزیدین ۰/۱۲٪ نیز انجام گردید. بعد از اینکه MIC تعیین شد، مقدار معینی (صد میکرولیتر) اینوکولوم، از یک لوله قبل از لوله‌ای که به عنوان MIC انتخاب شده بود و از تمامی لوله‌های بعدی که کدورت نداشتند، برداشته و روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت سطحی کشت داده شد. بعد از آن تمامی پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند و پس از ۲۴ ساعت تعداد کلنی‌ها شمارش شده

داشته، به این ترتیب که میکروارگانسیم‌ها در لوله‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون رشد نکرده و محتویات لوله‌ها شفاف بود.

### بحث

در این مطالعه اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره علیه دو میکروارگانسیم پلاک دندانی یعنی استرپتوکوکوس سانگوئیس و اکتینومایسس ویسکوزوس، از طریق تعیین کمترین غلظت برای مهار رشد و بقای باکتری‌ها (MBC و MIC) مورد بررسی گرفت. روش آزمایشگاهی مورد استفاده، روش رقیق‌سازی متوالی (Broth microdilution) بود که به عنوان یک روش استاندارد در آزمایشگاهها استفاده می‌شود و در مقایسه با سایر روشها نظیر روش انتشاری در چاهک، دقیقتر و قابل اعتمادتر بوده و نتایج حاصل از آن راحت‌تر از سایر روشها تفسیر می‌شود. (۲ و ۲۰)

عوامل مداخله‌گر در این مطالعه شامل محیط کشت، درجه حرارت، رطوبت، pH، حضور مواد آلی و معدنی در محیطها، شکل باکتری و مرحله رشد آنها به دقت یکسان‌سازی شدند. MIC سوسپانسیون نانوذرات سیلور علیه باکتری‌های استرپتوکوکوس سانگوئیس و اکتینومایسس ویسکوزوس به ترتیب برابر ۱۶ و ۴ میکروگرم در میلی‌لیتر است و میانگین MBC به ترتیب ۶۴ و ۱۶ میکروگرم در میلی‌لیتر. به نظر می‌رسد باکتری اکتینومایسس ویسکوزوس نسبت به استرپتوکوکوس سانگوئیس در مقابل این ماده حساستر می‌باشد. در این مطالعه اثر آنتی‌باکتریال نانوذرات نقره با کلرگزیدین ۰/۱۲٪ مقایسه شد. میزان MIC محلول نانوذرات نقره در رابطه با هر دو گونه باکتری مورد بررسی یک شانزدهم کلرگزیدین بود. میزان MBC محلول نانوذرات نقره علیه استرپتوکوکوس سانگوئیس یک هشتم و برای اکتینومایسس ویسکوزوس تقریباً یک‌ششم کلرگزیدین بود. به عبارت دیگر، نانوذرات نقره در مقایسه با کلرگزیدین در غلظتهای پایینی اثر مهاری خود را بر میکروارگانسیم‌های فوق اعمال می‌کند. این در حالی است که نتایج مطالعاتی که به مقایسه اثر کلرگزیدین با سایر

که تعدادی از باکتری‌ها پس از مجاورت با ماده آنتی‌باکتریال، پس از سی‌ثانیه زنده مانده و در کشت مجدد رشد کرده‌اند.

### یافته‌ها

یافته‌ها نشان داد میزان MIC محلول نانوذرات نقره و کلرگزیدین در رابطه با استرپتوکوکوس سانگوئیس به ترتیب، ۱۶ و ۲۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر، در حالی که برای اکتینومایسس ویسکوزوس به ترتیب ۴ و ۶۴ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. (جدول ۱)

جدول ۱: حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC)

گونه باکتری	محلول نانوذرات نقره میکروگرم در میلی‌لیتر	دهان‌شویه کلرگزیدین میکروگرم در میلی‌لیتر
استرپتوکوکوس سانگوئیس	۱۶	۲۵۶
اکتینومایسس ویسکوزوس	۴	۶۴

میزان MBC محلول نانوذرات نقره و کلرگزیدین روی استرپتوکوکوس سانگوئیس، ۶۴ و ۵۱۲ میکروگرم در میلی‌لیتر، در حالی که برای اکتینومایسس ویسکوزوس ۱۶ و ۱۰۲ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. (جدول ۲)

جدول ۲: حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC)

گونه باکتری	محلول نانوذرات نقره میکروگرم در میلی‌لیتر	دهان‌شویه کلرگزیدین میکروگرم در میلی‌لیتر
استرپتوکوکوس سانگوئیس	۶۴	۵۱۲
اکتینومایسس ویسکوزوس	۱۶	۱۰۲

یافته‌های مربوط به مرحله دوم آزمایش (تعیین قدرت باکتریوسیدال در لوله) نشان داد که غلظت پیشنهادی شرکت تولید کننده دهان‌شویه کلرگزیدین و غلظت MBC سوسپانسیون نانوسیلور در مدت‌سی‌ثانیه اثر باکتریوسیدال

دست آمده است و ممکن است این غلظت در شرایط کلینیکی چنین اثری نداشته باشد. علت این امر تفاوت محیط دهان و وجود عواملی است که در محیط آزمایشگاه وجود ندارد. در محیط دهان ماتریکس بین سلولی پلاک از تأثیر دهان‌شویه و سایر مواد ضد میکروبی موضعی روی میکروارگانیسم‌ها پلاک جلوگیری می‌کند. (۱)، نقش بزاق از لحاظ تغییر pH دهان و رقیق کردن ماده نیز قابل ذکر است. حرارت دهان با درجه حرارت انکوباتور متفاوت می‌باشد، وجود خون در محیط و توان اکسیداسیون و احیای مختلف در نقاط مختلف حفره دهان را نیز می‌توانند روی نتایج اثر بگذارند. (۱)، مسئله قابل توجه دیگر این است که در لوله‌ها و پلیت‌های حاوی محیط کشت، ماده ضد میکروبی به طور مدام در تماس با میکروب می‌باشد ولی در استفاده از مواد ضد میکروبی به صورت دهان‌شویه معمولاً بعد از چند ثانیه قرقره کردن، ماده از محیط دهان حذف شده و عوامل موجود در دهان اثر آن را خنثی می‌کنند. در مطالعه حاضر نانوذرات نقره، به صورت خالص استفاده شده است و به صورت فرمولاسیون یک دهان‌شویه - که حاوی مواد متعدد دیگری است - به کار گرفته نشده است. اثرات یک ماده شیمیایی هنگامی که به صورت خالص استفاده می‌شود، در مقایسه با زمانی که در ترکیب با سایر مواد شیمیایی به کار می‌رود، ممکن است متفاوت باشد. (۲۵)

نتایج تمام مطالعاتی که تاکنون درباره اثر آنتی باکتریال نانوذرات نقره انجام شده، نشان می‌دهد که این ماده در غلظتهای پایین سبب مهار رشد و مرگ میکروارگانیسم‌ها می‌شود. (۲۶-۲۸)، از آنجا که سلول‌های یوکاریوت بسیار بزرگتر از پروکاریوت‌ها می‌باشد و دارای زوائد ساختاری و فانکشنال پیچیده‌تری در مقایسه با سلول‌های پروکاریوت هستند، لذا برای ایجاد اثر سیتوتوکسیک در سلول‌های یوکاریوت غلظت بیشتری از یون سیلور نیاز است. (۲۹)، بنابراین بعید به نظر می‌رسد که استفاده از نانوذرات سیلور در غلظتهای پایین که علیه میکروارگانیسم‌ها مؤثر می‌باشد، آثار سمی بر روی سلول‌های یوکاریوت داشته باشد، البته این موضوع نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

محصولات آنتی‌باکتریال پرداخته‌اند، نشان می‌دهند که کلرهگزیدین، نسبت به سایر مواد اثر آنتی باکتریال قویتری روی میکروارگانیسم‌های پلاک دندانی دارد. (۲۱-۲۳)، به عنوان مثال، در مطالعه‌ای که توسط Haffajee و همکارانش در سال ۲۰۰۸ به روش سریال دایلوژن و با تعیین MIC انجام گرفت، نشان داده شد که دهان‌شویه کلرهگزیدین در مقایسه با یک دهان‌شویه گیاهی و Essential oil دارای اثر آنتی باکتریال بالاتری روی چهل میکروارگانیسم دهانی می‌باشد. (۲)، تحقیق روستایی و همکارانش در سال ۱۳۷۹ جهت مقایسه کلرهگزیدین با دهان‌شویه گیاهی پرسیکا MIC علیه دو گونه باکتری استرپتوکوکوس سانگونیس و اکتینومایس ویسکوزوس را تعیین کردند و نشان دادند که کلرهگزیدین دارای اثر ضد باکتری قویتری نسبت به پرسیکا می‌باشد. (۲۳)، در مرحله دیگری از مطالعه، به منظور مقایسه زمان تأثیر ضد میکروبی نانوذرات نقره و دهان‌شویه کلرهگزیدین، از روش تعیین قدرت باکتریوسیدال در لوله، استفاده شد. از آنجا که کاربرد کلرهگزیدین به مدت سی ثانیه در دهان سبب تأمین اثرات ضد میکروبی آن می‌شود (۱)، در رابطه با نانو نقره این سوال مطرح می‌شود که آیا این ماده هم می‌تواند در طی این مدت اثر ضد میکروبی خود را اعمال کند یا خیر، لذا در این آزمایش، محلولها به مدت سی ثانیه با سوسپانسیون میکروبی مجاور شدند. نتایج این مرحله از مطالعه نشان داد که محلول نانوذرات نقره نیز همانند دهان‌شویه کلرهگزیدین در مدت زمان سی ثانیه روی هر دو میکروارگانیسم مورد مطالعه اثر باکتریوسیدال داشت. سادگی این آزمایش سبب می‌شود که بتوان آن را به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گیرد و بتوان غلظتهای مختلف و زمانهای تماس متفاوت را مورد آزمایش قرار داد. مهمترین نقص روش سوسپانسیون کیفی این است که اگر تنها یک سلول باکتری باقیمانده باشد، نتیجه مشابه حالتی است که ماده ضد عفونی‌کننده هیچ اثری روی میکروارگانیسم مورد نظر نداشته باشد. (۲۴)

نکته‌ای که باید به آن توجه داشت این است که مقدار مؤثر نانو نقره بر علیه این دو باکتری در شرایط آزمایشگاهی به

## نتیجه‌گیری

نانوذرات نقره دارای فعالیت ضدباکتری خوبی علیه استرپتوکوکوس سانگوئیس و اکتینومایسس ویسکوزوس است که این اثر در مقایسه با کلرهگزیدین با غلظتهای پایبتری از محلول نانو ذرات نقره حاصل می‌شود.

## تشکر و قدردانی

با سپاس و تشکر از مرکز تحقیقات نانوتکنولوژی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه شاهد که ما را در انجام این پروژه یاری کردند.

## REFERENCES

1. Newman MG, Takei HH, Carranza FA. Clinical Periodontology. 10th ed. USA, Philadelphia: Elsevier; 2006, Chapter 6, 42.
2. Haffajee A, Yaskell T, Socransky S. Antimicrobial effectiveness of an herbal mouthrinse compared with an essential oil and a chlorhexidine mouthrinse. J Am Dent Assoc. 2008 May; 139(5):606-611.
3. Colvin V. The potential environmental impacts of engineered nanomaterials. Nature Biotechnol J. 2003 Oct; 21(10):1166-1170.
4. Gleiter H. Nanostructured materials: Basic concepts and microstructure. Acta Materialia. 2000 Jan; 48 (1): 1-29.
5. Lewis L N. Chemical catalysis by colloids and clusters. Chem Rev. 1993 Dec; 93 (8): 2693-2730.
6. Králik M, Biffis A. Catalysis by metal nanoparticles supported on functional organic polymers. J of Molec Cataly A Chem. 2001 Dec; 177 (1): 113-138.
7. Alivisatos AP. Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots. Science 1996 May; 271(5251): 933-937.
8. Savage N, Diallo MS. Nanomaterials and water purification: opportunities and challenges. J Nanoparticle Res. 2006 Oct; 7(5): 331-342.
9. Shrivastava S, Bera T, Roy A, Singh G, Ramachandrarao P. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. Nanotechnology 2007 Oct; 18(22): 225103.
10. 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 Interface Sci. 2004 March; 275(3): 177-182.
11. Panacek A, Kvítek L, Pruček R, Kolar M, Vecerova R, Pizúrova N, et al. Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity. J Phys Chem B. 2006 Aug; 110(33):16248-53.
12. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A. The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnol J. 2005 Aug; 16(8): 2346-2353.
13. Baker C, Pradhan A, Pakstis L, Pochan DJ, Shah SI. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. J Nanosci Nanotechnol. 2005 Feb; 5(2):244-9.
14. Kim JS, Kuk E, Yu KN, Kim JH, Park SJ, Lee HJ, et.al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. Nanomed J. 2007 Mar; 3 (1): 95-101.
15. Kim H, Kang H, Chu G. Antifungal effectiveness of nanosilver colloid against rose powdery mildew in greenhouses. Solid State Phenomena J. 2008 Feb; 135(1): 15-18.
16. Lara H, Ayala-Nuñez L, Ixtepan-Turrent L, Rodriguez-Padilla C. Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HIV-1. J Nanobiotech. 2010 Jan; 8(1): 1186-1477.

17. Lu L, Sun RW, Chen R, Hui CK, Ho CM, Luk JM, et.al. Silver nanoparticles inhibit hepatitis B virus replication. *Antivir Ther J*. 2008 Mar; 13(2):253-262.
18. Sun L, Singh AK, Vig K. Silver Nanoparticles Inhibit Replication of Respiratory Syncytial Virus. *J Biomed Biotechnol*. 2008 June; 4 (2):149-158.
19. Lindehe J. *Clinical periodontology and implant dentistry*. 3th ed. Blackwell: Munksgaard; 1994, Chapter 23.
20. Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA, Bush K, Dudley MN, Hardy D. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *Approved Standard J*. 2009 Jan; 29 (2): 552-558.
21. Addy M, Wright R. Comparison of the invivo and invitro antibacterial properties of povidone iodine and chlorhexidine gluconate mouthrinses. *Clin Periodont J*. 1978 March; 5(8):198-205.
22. Seyedine SM, Shafii S. Comparison of gingivitis treatment between Persica and chlorhexidine mouthrinses. [Thesis]. Tehran: Faculty of Medicine Shahid Beheshti University; 1375-76.
23. Rustayi F. Comparison between antimicrobial activity of Persica and chlorhexidine mouthrinses against *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces viscosus*. [Thesis]. Tehran: Faculty of Dentistry Shahed University; 1379.
24. Esalu M, Imandel K. Evaluation of hospital infection bacteria sensitivity into disinfectant and antiseptic. [Thesis]. Tehran: Faculty of Hygiene Medical Sciences of Tehran University; 1370.
25. Gazi MI. The Immediate and medium-term effects of meswak on the composition of mixed saliva. *Clin Periodontol J*. 1992 May; 21(2):113-117.
26. Lee HG, Yeo SY. Antibacterial effect of nanosized silver colloidal solution on textile fabrics. *J Biol Inorg Chem*. 2003 May;16(3) :44-7.
27. Shahverdi AR, Fakhimi A, Shahverd i HR. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine J*. 2007 Nov; 3(6):168-171.
28. Dabbagh MA, Moghimipour E, Ameri A. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of nanosilver containing hydrogels. *Iranian J of Pharmaceut Res*. 2008 Feb; 7 (1): 21-28.
29. AIT V, Bechert T, Steinrucke P, Wagener M, Seidel P, Dingeldein E. An invitro assessment of antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomaterials J*. 2004 Sep; 25(10): 4383-4391.