Original Article

Effect of adding zinc oxide nanoparticles supported in 4A zeolite on antibacterial properties and flexural strength of self-curing acrylic resin used in removable orthodontic appliances

Mahdiyeh Esmaeilzadeh[1], Baharak Divband[2], Fatemeh Yeganeh Sefidan[3], Mona Gholami[4], Mojgan Kachoei[5*]

[1]Student of Dentistry, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[2] Dental and Periodontal Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran / Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3]Department of Bacteriology and Virology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[4]Postgraduate Student of Orthodontics, Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[5]Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran / Dental and Periodontal Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
*Corresponding author; E-mail: drkachoei@gmail.com

Received: 11 Jan 2021 Accepted: 6 Feb 2021 First Published online:
Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(3): In Press

Abstract

Background: Self-curing acrylic resins, mainly composed of Polymethyl Methacrylate (PMMA), are widely used to manufacture removable orthodontic appliances. Self-curing acrylic resins have higher porosity than heat-curing acrylic resins leading to a susceptible place for microbial plaque colonization. Due to some of these microorganisms' activities, a very unpleasant odor is emitted from orthodontic base plates, which has adverse effects on patients' cooperation. This study aimed to investigate the antimicrobial properties of cold-curing PMMA acrylic resin containing ZnO nanoparticles supported in 4A zeolite and evaluating its mechanical properties.

Methods: The synthesized nanocomposite ZnO/4A zeolite was added to SR Triplex® Cold orthodontic self-curing acrylic resin powder with 2wt% and 4wt% concentrations. X-ray diffraction (XRD), Field Emission Scanning Electron Microscopy (FE-SEM), energy dispersive X-ray (EDX), MAP analysis, and Dynamic light scattering (DLS) were performed to investigate the sample's characteristics. Direct test method was used to assess the antibacterial properties of the fabricated acrylic samples against three bacterial strains *Streptococcus mutans, Klebsiella Pnemoniae, and Esherichia coli*. Flexural strength was evaluated by a three-point bending test, and One-way ANOVA and Tukey's post hoc test were used for statistical evaluation of data. The p-value of less than 0.05 was considered significant.

Results: The addition of ZnO/4A in 2wt% and 4 wt% concentrations lead to more than 99% destruction of colonies in all three types of microorganisms. The mean flexural strength of acrylic specimens containing 2wt% and 4wt% of ZnO/4A significantly lower than the control group. Despite the considerable reduction, all mean values are greater than 50 MPa.

Conclusion: The ZnO/4A zeolite nanocomposite due to its potent antibacterial properties and minimal toxicity can reduce the unfavorable odor of orthodontic base plates consequently increases patient cooperation and reaching the desired result.

Keywords: Polymethyl Methacrylate, Metal nanoparticles, Removable orthodontic appliance, Zeolite

How to cite this article: Esmaeilzadeh M, Divband B, Yeganeh Sefidan F, Gholami M, Kachoei M. [Effect of adding zinc oxide nanoparticles supported in 4A zeolite on antibacterial properties and flexural strength of self-curing acrylic resin used in removable orthodontic appliances]. Med J Tabriz Uni Med Sciences. 2021;43(3): Persian.

© 2021 The Author. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقاله پژوهشی

تاثیر افزودن نانوذرات اکسید روی پشتیبانی شده داخل زئولیت A۴ بر خواص ضد باکتریایی و استحکام خمشی رزین آکریلی خود سخت شونده مورد استفاده در دستگاه‌های متحرک ارتودنسی

مهدیه اسمعیل‌زاده[۱]، بهارک دیوبند[۲]، فاطمه یگانه سفیدان[۳]، مونا غلامی[۴]، مژگان کچویی[۵*]

[۱] دانشجو دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۲] مرکز تحقیقات لثه و دندان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، گروه شیمی معدنی، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
[۳] گروه باکتری‌شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۴] دستیار تخصصی بالینی ارتودنسی، بخش ارتودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[۵] گروه ارتودنتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران/مرکز تحقیقات لثه و دندان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
نویسنده مسؤول؛ drkachoei@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۲۱ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۸ انتشار برخط:
مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۳): پیش از انتشار

چکیده

زمینه: رزین‌های آکریلی پلی‌متیل متاکریلات (PMMA) خودسخت شونده به شکل گسترده‌ای در ساخت دستگاه‌های متحرک ارتودنسی استفاده می‌شوند. ساختار این پلیمرآکریلی خودسخت شونده نسبت به انواع گرماسخت آن متخلخل‌تر بوده و محلی مناسب برای کلونیزاسیون پلاک میکروبی فراهم می‌کند. به دلیل فعالیت‌های متابولیکی برخی از این میکروارگانیسم‌ها بوی نامساعدی از سطح بیس پلیت‌های ارتودنسی متصاعد می‌شود که می‌تواند همکاری بیماران را مختل کند. هدف از این مطالعه تولید و افزودن نانوذرات اکسید روی پشتیبانی شده داخل شبکه زئولیت A۴ (Zn/4A) به ترکیب این پلیمر آکریلی و بررسی خواص ضدباکتریایی و استحکام خمشی آن است.

روش‌کار: نانوذرات اکسید روی پشتیبانی شده داخل زئولیت A۴ پس از تولید با درصدهای وزنی ۲ و۴ درصد به پودر رزین آکریلی پلی‌متیل متاکریلات خود سخت شونده SR Triplex® Cold اضافه شد. آنالیزهای پراش پرتو ایکس، میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی، توزیع انرژی پرتو ایکس و پراکندگی نور دینامیکی از نمونه‌های آکریل نوترکیب تهیه شد. خواص ضدمیکروبی با تکنیک تماس مستقیم (Direct contact) روی سه سوش باکتریایی استرپتوکوکوس موتانس، کلبسیلا پنومونیه و اشرشیا کلی بررسی شد. استحکام خمشی نمونه‌ها با تست three-point bending انجام شد. برای ارزیابی آماری داده‌ها ازتست one-way ANOVA و Tukey's post hoc test استفاده و p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها: افزودن نانوکامپوزیت Zn/4A در هردو غلظت ۲ و ۴ درصد وزنی به ترکیب آکریل پلی‌متیل متاکریلات خود سخت شونده منجر به تخریب بیش از ۹۹ درصد کلنی‌های هر سه نوع سوش باکتریایی گردید. میانگین استحکام خمشی نمونه‌های آکریلی حاوی نانوکامپوزیت Zn/4A با درصدهای وزنی ۲ و ۴ درصد به طور معناداری کمتر از گروه کنترل است ولی تمام مقادیر بیشتر از ۵۰ مگاپاسکال به دست آمد.

نتیجه‌گیری: افزودن نانوکامپوزیت Zn/4A در هردو درصد وزنی ۲ و ۴ درصد به ترکیب پلی‌متیل متاکریلات خودسخت شونده به دلیل خاصیت ضدباکتریایی و سمیت حداقلی باعث از بین رفتن کلنی‌های باکتریایی و بوی نامساعد از بیس پلیت‌های ارتودنسی شده و با ارتقا همکاری بیمار منجر به بهبود نتایج درمان می‌گردد.

کلید واژه‌ها: پلی‌متیل متاکریلات، دستگاه متحرک ارتودنسی، زئولیت، نانوذرات فلزی

نحوه استناد به این مقاله: اسمعیل‌زاده م، دیوبند ب، یگانه سفیدان ف، غلامی م، کچویی م. تاثیر افزودن نانوذرات اکسید روی پشتیبانی شده داخل زئولیت **A4** بر خواص ضد باکتریایی و استحکام خمشی رزین آکریلی خود سخت شونده مورد استفاده در دستگاه های متحرک ارتودنسی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۱۴۰۰؛ ۴۳(۳)

حق تالیف برای مولفان محفوظ است.
این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

رزین‌های آکریلی خودسخت شونده که به طور عمده از پلی‌متیل متاکریلات ((polymethylmetacrylat (PMMA) تشکیل شده‌اند به شکل گسترده‌ای در ساخت دستگاه‌های متحرک ارتودنسی استفاده می‌شوند (۱). پلی‌متیل متاکریلات به دلیل ویژگی‌های مطلوبی مانند خاصیت مکانیکی قابل قبول، زیست سازگاری، در دسترس بودن، مقرون به صرفه بودن، کارکرد آسان و زیبایی مطلوب به شکل گسترده‌ای در ساخت دنچرهای کامل و پارسیل و نیز دستگاه‌های متحرک ارتودنسی استفاده شده است (۲ و ۳). از دستگاه‌های متحرک ارتودنسی برای جابجایی اندک دندان‌ها، به عنوان نگهدارنده پس از درمان‌های ثابت ارتودنسی و نیز جهت درمان‌های رشدی فک استفاده می‌شود (۴).

در کنار مزایای بسیار زیاد این دستگاه‌ها، از معایب آن‌ها می‌توان به تجمع بیشتر بیوفیلم میکروبی روی سطوح دندانی، نواحی اجزا نگهدارنده و به خصوص بیس پلیت آکریلی اشاره کرد. پلی‌متیل متاکریلات در فرایند پلیمریزاسیون دچار تخلخل‌هایی در ساختار خود می‌شود که این میزان از تخلخل به نسبت تبدیل مونومر به پلیمر – که توسط کارخانه تعیین می‌گردد – وابسته و متغیر است (۳، ۵).

در مطالعات نشان داده شده است که آکریل‌های خودسخت شونده به دلیل درجه پایین پلیمریزاسیون، تخلخل بیشتری نسبت به آکریل‌های گرماسخت داشته و مکان مناسبی برای کلونیزاسیون پلاک میکروبی و چسبندگی میکروارگانیسم‌هایی چون استرپتوکوک موتانس و کاندیدا آلبیکنز هستند. این میکروارگانیسم‌ها قادرند ۱ تا ۲ نانومتر درون بیس آکریلی نفوذ کنند (۴، ۶ و ۷).

با فعالیت‌های متابولیکی برخی از این میکروارگانیسم‌ها بوی بسیار نامناسبی از بیس پلیت‌های ارتودنسی منتشر می‌شود که بر همکاری بیماران تحت درمان ارتودنسی اثر نامطلوبی دارد (۸ و ۹).

همچنین استفاده از دستگاه‌های متحرک ارتودنسی می‌تواند فلور میکروبی دهان را تغییر داده و تعداد کلنی‌های استرپتوکوک موتانس را افزایش دهد. از این رو در بیماران ارتودنسی استفاده از مواد شیمیایی ضدمیکروبی مانند دهانشویه کلرهگزیدین گلوکونات توصیه شده است چراکه مسواک زدن معمول به تنهایی قادر به حذف کامل میکروارگانیسم‌ها از تمامی نواحی گیر پلاک نیست. این ماده در مقایسه با سایر مواد شیمیایی ضدمیکروبی، استاندارد طلایی است اما به دلیل عوارض جانبی آن مانند ایجاد تغییر حس چشایی و نیز تغییر رنگ دندان‌ها برای استفاده طولانی مدت در بسیاری از بیماران قابل قبول نیست (۷).

نکات کاربردی

در این مطالعه مشخص شد که افزودن نانوذرات زیست سازگار اکسید روی داخل شبکه زئولیت A۴ به ترکیب پلیمر سازنده بیس پلیت‌های ارتودنسی، خاصیت ضد باکتریایی مطلوبی به آن می‌بخشد که بوی نامطبوع را از بین برده و همکاری بیمار را افزایش می‌دهد.

به دلیل وجود چنین محدودیت‌هایی، افزودن موادی به ساختار بیس پلیت آکریلی که خاصیت ضد میکروبی داشته و بتواند مانع تشکیل کلونی‌های باکتریایی روی آن شود و در عین حال ویژگی‌های مکانیکی آن را تضعیف نکند، مورد توجه قرار گرفت. در مطالعه فرهادیان و همکاران، نانوذرات نقره به بیس پلیت آکریلی دستگاه‌های نگهدارنده ارتودنسی (Retainers) افزوده شد. در این مطالعه نشان داده شد افزودن این نانو ذرات با سایز ۴۰ نانومتر و با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام به بیس پلیت آکریلی منجر به کاهش قابل توجه تشکیل کلونی باکتری استرپتوکوک موتانس می‌شود. از مشکلات استفاده از این نانوذره، توجه به مقدار و نحوه تولید این نانوذرات برای سمیت حداقلی همراه خاصیت ضدمیکروبی حداکثری است (۱۰). همچنین در مطالعه غفاری و همکاران، افزودن نانوذرات نقره با غلظت ۵ درصد وزنی به آکریل PMMA گرماسخت، منجر به کاهش استحکام کششی رزین آکریلی می‌شود (۱۱). در مطالعات پیشین خاصیت ضدمیکروبی نانوذره اکسید روی بر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ ثابت شده است (۱۲ و ۱۳)؛ همچنین زیست سازگاری و غیرسمی بودن آن منجر به استفاده گسترده آن در وسایل آرایشی و بهداشتی شده است (۱۴). در مطالعه سیرک و همکاران افزودن این نانو ذره به PMMA گرماسخت منجر به خاصیت ضدقارچی (کاندیدا آلبیکنز) بیس دنچر و در نتیجه کاهش دنچر استوماتیتیس شده است (۱۵). در مطالعه دیگر سیرک و همکاران، خواص مکانیکی این دنچر بیس جدید بررسی و مشخص شد افزودن این نانوذره بر خاصیت مکانیکی رزین آکریلی مانند سختی، تاثیر نامطلوبی نداشته است (۱۶). زئولیت‌های ضد باکتریایی امروزه بسیار مطالعه شده‌اند. زئولیت‌ها ذرات سیلیکات با ساختاری کریستالی هستند که در ساختار خود فضاهای خالی با ابعادی برابر ۱۰-۳ آنگستروم دارند و این فضاها محل مناسبی برای تبادل کاتیون‌های ضد میکروبی همانند نقره و روی هستند (۱۷). امروزه با گسترش تولید زئولیت‌ها از آنها به عنوان پشتیبانی کننده برای بهبود عملکرد یون‌های اکسید فلزی که خاصیت ضد میکروبی دارند استفاده می‌شود (۱۸). هدف از این مطالعه بررسی خواص ضدمیکروبی رزین آکریلی پلی‌متیل متاکریلات خودسخت شونده SR Triplex® Cold حاوی نانوذرات اکسید روی پشتیبانی شده در حفرات زئولیت A۴، بر سه گونه باکتریایی *استرپتوکوکوس*

موتانس، *کلبسیلا پنومونیه* و *اشرشیا کلی* و سنجش استحکام خمشی آن است.

روش‌کار

مطالعه حاضر به صورت تجربی و آزمایشگاهی انجام شده و با کد اخلاق IR.TBZMED.VCR.REC.1398.350 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز تصویب شده است. نانو ذرات اکسید روی پشتیبانی شده در زئولیت A۴ مطابق مطالعات مشابه پیشین تولید می‌شود (۱۸) و از این پس در این مقاله با نام اختصاری نانوکامپوزیت Zn/4A یاد می‌شود.

تولید زئولیت حاوی نانو اکسید روی (Zn/4A)

برای تولید زئولیت حاوی نانو اکسید روی، ابتدا زئولیت A۴ به روش هیدروترمال و با ظروف تفلونی مشخص، تولید شد. در مرحله اول اسید سیلیسیک، آلومینیوم نیترات، تمپلیت و واکنشگرهای قلیایی را برای تشکیل شبکه اولیه زئولیت در یک بشر ریخته، پس از تشکیل شبکه اولیه زئولیت در بشر، دو سوم ظروف تفلونی را با مواد یادشده پر کرده و یک سوم بقیه خالی گذاشته شد. سپس ظروف تفلونی را در دما و فشار ثابت قرار دادیم تا شبکه نهایی زئولیت A۴ در اثر کریستالیزه شدن تشکیل شود. در مرحله بعد، رسوب زئولیت تشکیل شده را از ظروف تفلونی خارج کرده و برای کاهش پی اچ چندین بار شستشو شد. در مرحله آخر برای خروج تمپلیت از زئولیت، در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت کلسینه شد. سپس از روش تبادل یونی برای آماده سازی نانوذرات اکسید روی داخل شبکه زئولیت A۴ استفاده شد. محلولی با غلظت ۰/۱۷ گرم زینک استات دهیدرات (Merck, Zn (CH3CHOO) 2·2H2O) تهیه شد و با نسبت ۵:۹۵ (درصد وزنی/ وزنی) به سوسپانسیون زئولیت A۴ اضافه شد، در نهایت بعد از تبادل یونی، ذرات تولیدی با سانتریفیوژ جدا شده و در دمای اتاق خشک شد. سپس داخل کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد کلسینه شده و نانو کامپوزیت زئولیت A۴ حاوی اکسید روی (Zn/4A) تولید شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها

در این مطالعه از رزین آکریلی خودسخت شونده ارتودنسی SR Triplex® Cold (Ivoclar Vivadent AG, FL-9494 Schaan/Liechtenstein) استفاده شد. برای افزودن نانو ذرات ساخته شده به ترکیب آکریل، پودر نانوکامپوزیت تولیدشده Zn/4A با درصدهای وزنی ۲ و ۴ به پودرآکریل SR Triplex® Cold افزوده شد. در ابتدا به شکل دستی مخلوط شد و برای اطمینان ازمخلوط‌سازی یکنواخت نمونه‌ها به مدت ده دقیقه در دستگاه آمالگاماتور مخلوط شدند. برای تشابه ساخت نمونه‌های آکریلی ست شده به بیس پلیت ارتودنسی از تکنیک نمک‌پاش (sprinkle-on) استفاده شد. مطابق دستور کارخانه به ازای هر ۱۳ گرم پودر ۱۰ میلی‌لیتر مونومر مایع استفاده شد.

آنالیز الگوی پراش پرتو ایکس XRD

الگوی پراش پرتو ایکس برای بررسی ساختار کریستالی نمونه‌های پودری رزین آکریلی مخلوط شده با نانوکامپوزیت Zn/4A با دستگاه Bruker D5000 x-ray powder diffraction system (سیمنز، آلمان) انجام شد. ژنراتور تولید اشعه X در ۴۰ کیلووات و ۳۰ میلی‌آمپر تنظیم شد. تشعشعات بازتابی از نمونه‌ها در دمای محیط و در محدوده زاویه ۲θ=4-70 ثبت و نمودار مربوط به شدت بازتابش آنها رسم شد.

میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) و آنالیز Element mapping (MAP) توزیع انرژی پرتوی ایکس (EDX)

برای بررسی مورفولوژی و آنالیز ریزساختار نانوکامپوزیت Zn/4A تولید شده و همچنین بررسی پودر مخلوط شده آکریل با نانوکامپوزیت قبل و بعد از پلیمریزه شدن از Field Emission Scanning Electron Microscope (تسکان، برنو، جمهوری چک) که مجهز به Energy Dispersive X-ray (EDX) بود استفاده شد. از طیف‌سنجی پراکندگی پرتو ایکس (EDAX) برای تجزیه و تحلیل ساختاری و آنالیز عناصر موجود در نمونه‌ها استفاده شد. نمونه‌های SEM قبل از مطالعه با روکش طلا آماده‌سازی شدند و دستگاه SEM در ۵ کیلوولت و EDX در ۱۵ کیلوولت تنظیم شد. آنالیز MAP به کمک Wavelength-Dispersive X-Ray spectroscopy system (WDS) انجام شد تا از توزیع یکنواخت نانوذرات و عناصر در نمونه‌های پلیمری اطمینان حاصل شود.

پراکندگی نور دینامیکی (DLS)

برای ارزیابی اندازه، فراوانی، پراکندگی و همچنین پتانسیل زتا و ارزیابی پایداری نانوکامپوزیت Zn/4A ساخته شده، از دستگاه dynamic light scattering(DLS) Zetasizer Nano ZS ZEN 3600 (شرکت تجهیزاتی مالورن، انگلیس) استفاده شد و در طول موج ۶۳۳ نانومتر تنظیم شد. از آب مقطر برای تهیه سوسپانسیون نانوکامپوزیت Zn/4A طی ارزیابی استفاده شد. اندازه ذرات با شاخص ID (intensity distribution) مشخص شد و برای ارزیابی پراکندگی ذرات از polydispersity index(PDI) استفاده شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها و انجام تست ضدمیکروبی

پلیت کشت ۶ خانه استریل تهیه و داخل هر یک ازچاهک‌ها با توجه به نسبت‌های توصیه شده کارخانه سازنده میزان ۱۰ میلی‌لیتر مونومر ریخته شد. ۱۳ گرم پودر پلیمری حاوی نانوکامپوزیت Zn/4A با دو درصد وزنی ۲ و ۴ درصد با تکنیک نمک‌پاش (sprinkle on) به مایع مونومر اضافه شد. تمامی نمونه‌ها

به مدت ۶ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند تا به خوبی پلیمریزه شوند. در یکی از چاهک‌ها آکریل بدون نانوذره به عنوان کنترل مثبت قرار داده شد و نیز برای اطمینان از صحت انجام تست ضد میکروبی، یک نمونه آکریلی حاوی نانو ذرات نقره با غلظت بالا – که در مطالعات قبلی (۱۹) خاصیت ضد میکروبی آن ثابت شده است – به عنوان کنترل منفی قرار داده شد.

برای ارزیابی خواص ضد میکروبی نمونه‌های آکریلی ساخته شده از تکنیک دایرکت تست و کلنی کانت استفاده شد. پلیت کشت شش خانه که در هرچاهک آن نمونه‌های آکریلی حاوی نانوذرات ست شده قرار داده شده بود به طور کامل با اتانول ۷۰ درصد شستشو شده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در زیر نور UV قرار داده شد تا استریل شوند. از سه سوش باکتریایی اشرشیاکلی (Escherichia coli ATCC 25922)، استرپتوکوکوس موتانس (Streptococcus mutans PTCC 1683) و کلبسیلا پنومونیه (Klebsiella pneumonia ATCC 700603) برای ارزیابی خواص ضد میکروبی استفاده شد. سوش‌های باکتریایی به طور جداگانه و در شرایط استریل روی محیط کشت BHI آگار (Brain Heart Infusion agar, Merck, Darmstadt, Germany) برای ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه کشت داده شدند. پس از دوره انکوباسیون از سویه‌های مورد نظر غلظت استاندارد نیم مک فارلند ($۱.۵ \times ۱۰^{۸} CFU/ml$) به محیط کشت BHI broth (مرک، دارمستارد، آلمان) تلقیح و سوپانسیون اولیه آماده شد. در شرایط استریل از غلظت تهیه شده، ۱۰۰۰ میکرولیتر – که تقریبا معادل ۱.۵×۱۰^{۸} تعداد کلنی باکتریایی در هر میلی‌لیتر است – به هر یک از چاهک‌های حاوی نانوذره و چاهک بدون نانوذره که به‌عنوان کنترل (رشد سویه) در نظر گرفته شده بود انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از دوره انکوباسیون جهت بررسی رشد و عدم رشد میکروارگانیسم‌ها از تمام چاهک‌ها تقریبا ۲۰ لاندا به محیط کشت BHI آگار انتقال یافت. جهت شمارش تعداد کلنی باکتری‌ها، رقت‌سازی شد. از هر رقت، ۱۰۰ میکرولیتر به پلیت کشت استاندارد BHI آگار تلقیح و پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، تعداد کلنی شمارش و تعداد کلنی‌ها به صورت CFU/mL گزارش شد. مراحل برای هریک از سوش‌های باکتریایی به صورت مشابهی تکرار شد.

بررسی استحکام خمشی

باری ارزیابی استحکام خمشی نمونه‌های آکریلی ساخته شده از تست three-point bending با دستگاه universal testing machine (Hounsfield H5K-S, England) استفاده و مطابق استاندارد ایزو شماره (ISO 20795-1(2008)) عمل شد. کراس هد دستگاه با سرعت پنج میلی‌متر در دقیقه و فاصله بین پایه‌های نگهدارنده ۵۰ سانتی‌متر تنظیم شد. پنج نمونه به شکل نواری به طول ۶۴، عرض ۰٫۲ ± ۱۰ و ارتفاع ۰٫۲± ۳٫۳ میلی‌متر ساخته شدند. حداکثر نیروی لازم برای شکست هر نمونه از روی دستگاه به نیوتن خوانده و در فرمول (۱) جایگذاری شد. در فرمول، F بیشترین نیروی لازم جهت شکست نمونه، l فاصله بین پشتیبان‌های دستگاه، b پهنای نمونه‌ها و h ارتفاع نمونه‌ها است. مقدار استحکام خمشی نهایی برحسب مگاپاسکال گزارش شد. برای ارزیابی آماری داده‌ها از تست ANOVA یک طرفه و Tukey's post hoc test استفاده شد و P کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

$$\text{Flexural strength} = 3Fl/2bh^2 \qquad (۱)$$

یافته‌ها

الگوی پراش پرتو ایکس مربوط به نمونه پودر رزین آکریلی حاوی نانوکامپوزیت تولید شده Zn/4A در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به شکل ۱ پودر زئولیت حاوی نانوذرات اکسیدروی با ساختار و رتزیت شش ضلعی پیک‌هایی در 2θ =7.30,10.3,12.6,21.9,24.2,27.3,30.1,34.4 دارد. پیک‌های مشاهده شده برای زئولیت اکسید روی با داده‌های استاندارد (JCPDS, 79-0207) مطابقت دارد که نشانگر کریستاله شدن خوب نانوکامپوزیت تولید شده است.

شکل ۲ نشانگر تصاویر FE-SEM ازآکریل پلیمریزه شده حاوی نانوکامپوزیت Zn/4A است. در آکریل پلیمریزه شده، نانوکامپوزیت مورد نظر هم در لایه‌های سطحی و هم داخل ساختار آکریل پخش شده است. نتایج آنالیز EDX و MAP نیز با تصاویر SEM سازگاری دارد. با توجه به شکل ۳ وجود عناصر کربن و اکسیژن تاییدکننده حضور ذرات پلی‌متیل متاکریلات و وجود عناصر سیلیسیوم و آلومینیوم و روی حاکی از حضور نانوذرات اکسید روی در زئولیت است. در تصاویر مربوط به آنالیز EDS-mapping اتم‌های عناصر موجود تقریبا توزیع یکنواختی را نشان می‌دهند و البته شواهدی از انباشتگی ذرات تولید شده در برخی مناطق نمونه دیده می‌شود (شکل ۴).

نتایج حاصل از پراکندگی نور دینامیکی از سوسپانسیون پودر نانو کامپوزیت Zn/4A در داخل آب مقطر در شکل ۵ نشان داده شده است. مطابق نمودار توزیع و پراکندگی اندازه ذرات، پروفایل اندازه نانو کامپوزیت Zn/4A میانگین ۲۹۵ نانومتر را نشان می‌دهد و با نتایج پیش‌بینی شده با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی همخوانی داشت. همچنین بار سطحی نانوکامپوزیت‌های ساخته شده براساس پتانسیل زتا منفی ۴۵٫۹ میلی‌ولت است که این پتانسیل زتا بالا حاکی از پایداری خوب ذرات در محلول آبی است.

جدول ۱: مقایسه شمارش تعداد کلنی‌های باکتریایی تشکیل شده در هر میلی‌لیتر روی نمونه‌های آکریلی

سوش باکتریایی	غلظت اولیه (CFU/ml)	غلظت پس از ۲۴ ساعت (CFU/ml)		
		کنترل (پلی متیل متاکریلات)	پلی متیل متاکریلات +ZnO/4A (۲٪)	پلی متیل متاکریلات +ZnO/4A (۴٪)
اشریشیا کلی	$۱/۵\times۱۰^{۸}$	$۳/۴\times۱۰^{۱۰}$	۰	۰
استرپتوکوکوس موتانس	$۱/۵\times۱۰^{۸}$	$۴/۷\times۱۰^{۱۰}$	۰	۰
کلبسیلا پنومونیه	$۱/۵\times۱۰^{۸}$	$۲/۴\times۱۰^{۱۰}$	۹×۱۰^{۷}	۰

جدول۲: مقادیر استحکام خمشی نمونه های آکریلی گروه های تست و گروه کنترل برحسب مگاپاسکال

گروه مورد مطالعه	تعداد نمونه	میانگین استحکام خمشی (مگاپاسکال)	انحراف معیار
پلی متیل متاکریلات (+ZnO/4A 2%)	۵	*۶۲/۶۴	±۴/۴۱
پلی متیل متاکریلات (+ZnO/4A 4%)	۵	*۶۵/۷۴	±۷/۴۴
کنترل	۵	۸۵/۸۵	±۴/۵۸

*اختلاف معنادار با گروه کنترل برحسب آنالیز تعقیبی توکی ($p<۰/۰۵$)

خاصیت ضد میکروبی

ارزیابی خاصیت ضد میکروبی آکریل سلف کیور حاوی نانو ذرات ZnO/4A روی سه سوش باکتریایی اشرشیاکلی (Escherichia coli)، استرپتوکوکوس موتانس (Streptococcus mutans) و کلبسیلا پنومونیه (Klebsiella pneumonia) انجام شد و نتایج حاصل از شمارش تعداد کلنی‌های باکتری تشکیل یافته (CFU) در جدول ۱ آورده شده است. مطابق جدول، رزین آکریلی حاوی ZnO/4A ۲ و ۴ درصد بر هر سه سوش باکتریایی موثر است و منجر به از بین رفتن آنها می‌شود. رزین آکریلی حاوی ZnO/4A با غلظت ۴ درصد منجر به از بین رفتن ۱۰۰درصد کلنی‌های هر سه نوع میکروارگانسیم می‌شود و در مورد ZnO/4A با غلظت ۲ درصد فقط تشکیل تعداد کمی کلنی در مورد میکروارگانیسم کلبسیلا پنومونیه دیده شد که در مقایسه با نمونه کنترل به مقدار قابل ملاحظه‌ای کمتر است.

استحکام خمشی

نتایج مربوط به استحکام خمشی نمونه‌ها در جدول ۲ آورده شده است. میانگین استحکام خمشی در نمونه‌های آکریلی حاوی ۲ و ۴ درصد وزنی Zn/4A در مقایسه با نمونه کنترل – که پلی‌متیل متاکریلات فاقد Zn/4A است – به صورت معناداری کمتر است ($p<۰/۰۵$)، در حالی که تفاوت مقادیر استحکام خمشی بین پلی‌متیل متاکریلات حاوی ۲ درصد Zn/4A و ۴ درصد Zn/4A معنادار نیست ($p<۰/۰۵$) ولی با وجود کاهش معنادار میانگین‌های استحکام خمشی در گروه‌های تست (پلی‌متیل متاکریلات حاوی ۲ درصد Zn/4A و ۴ درصد Zn/4A) در مقایسه با گروه کنترل (پلی‌متیل متاکریلات بدون Zn/4A) تمامی مقادیر بالای ۵۰ مگاپاسکال هستند که از نظر استاندارد ایزو شماره (ISO 20795-1:2008) قابل قبول است.

بحث

هدف از مطالعه حاضر افزودن نانوذرات اکسید روی پشتیبانی شده داخل شبکه زئولیت A۴ به ترکیب پودرآکریل خودسخت شونده SR Triplex® Cold و بررسی خواص ضدباکتریایی و استحکام خمشی آن پس از فرآیند پلیمریزاسیون بود. رزین آکریلی پلی‌متیل متاکریلات خودسخت شونده ماده رایج در ساخت بیس پلیت‌های متحرک ارتودنسی است. این ماده بعد از پلیمریزاسیون و سخت شدن به دلیل تبخیر مونومر باقیمانده‌ای که وارد فرآیند پلیمریزاسیون نشده است ساختاری متخلخل می‌یابد. باکتری‌های متنوعی در فلور میکروبی حفره دهان وجود دارند و روی سطوح مختلفی قادر به کلونیزاسیون هستند. بیس پلیت آکریلی دستگاه‌های متحرک ارتودنسی نیز با توجه به ساختار ناصاف و تخلخل‌های بسیار ریز (porosities) با وجود فرآیندهای فینیشینگ و پالیشینگ همچنان محل مناسبی برای رشد باکتری‌های متنوع دهانی است. تجمع باقیمانده‌های مواد غذایی همراه کلونیزاسیون میکروارگانیسم‌ها روی بیس پلیت آکریلی منجر به فعالیت‌های متابولیکی میکروارگانیسم‌ها می‌شود. یکی از محصولات جانبی حاصل از فعالیت‌های متابولیکی باکتری‌های پروتئولیتیک، بی‌هوازی و گرم منفی، سولفورهای فرار (volatile sulfide compounds, VSCs) مانند هیدروژن سولفید و متیل مرکاپتان هستند(۲۰). از آن‌جایی که دستگاه‌های متحرک ارتودنسی برای درمان‌های رشدی فک (فانکشنال) باید برای ساعات زیادی در دهان بیمار قرار داشته باشند و از سویی بیماران در حال درمان با این دستگاه‌ها اغلب از رده سنی پایینی هستند، نتایج مطلوب درمانی وابستگی زیادی به همکاری بیمار دارد. در بسیاری از موارد یکی از دلایل عدم همکاری بیمار و نبود رغبت و انگیزه برای استفاده از دستگاه متحرک، بوی نامطلوبی است که پس از چند ماه استفاده از دستگاه تولید می‌شود و همکاری بیمار را مختل ساخته و

درمان را با شکست مواجه می‌کند (۴، ۷ و ۱۰). مطالعات قبلی که روی دنچرهای پروتزی که به‌طور معمول از پلی‌متیل متاکریلات گرماسخت ساخته می‌شوند انجام گرفته، نشان می‌دهند که بیشترین میکروارگانیسمی که روی بیس‌های آکریلی تکثیر داشته، کلبسیلا پنومونیه و اشرشیا کلی هستند (۸). همچنین در مطالعات مختلفی علت بوی نامساعد از حفره دهان را تکثیر باکتری‌های گرم منفی مانند خانواده انتروباکتریاسه بیان کرده‌اند (۹). در نتیجه در مطالعه حاضر دو نوع باکتری از خانواده انتروباکتریاسه شامل کلبسیلا پنومونیه و اشرشیا کلی برای ارزیابی خواص ضدمیکروبی آکریل نوترکیب، انتخاب و بررسی شد. یکی دیگر از باکتری‌های موجود در حفره دهان باکتری استرپتوکوک موتانس است که در مطالعات مختلف عامل اصلی پوسیدگی‌های دندانی گزارش شده است (۴، ۷). در این مطالعه با افزودن نانوکامپوزیت تولید شده Zn/4A با درصدهای وزنی ۲ و ۴ درصد به ترکیب رزین پلی‌متیل متاکریلات، کلنی‌های هر سه نوع سوش باکتریایی اشرشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه و استرپتوکوکوس موتانس به‌طور معناداری از بین رفتند. در مطالعه کارآزمایی بالینی فرهادیان و همکاران (۱۰) نانوذرات نقره را به بیس پلیت آکریلی نگهدارنده‌های ارتودنسی افزوده و تاثیر آن را بر تشکیل کلنی باکتری استرپتوکوک موتانس سنجیدند و به این نتیجه رسیدند که افزودن این نانوذرات به‌طور معناداری باعث کاهش چشمگیر کلنی‌های تشکیل یافته این باکتری شده است که همسو با نتایج مطالعه ما است. در مطالعه فرهادیان و همکاران تاثیر افزودن نانوذرات نقره به بیس پلیت آکریلی بر خواص مکانیکی آن بررسی نشده است. در این مطالعه استحکام خمشی نمونه‌های آکریلی حاوی نانوکامپوزیت ZnO/4A برای بررسی تغییرات مکانیکی احتمالی ارزیابی شد. در مطالعات قبلی افزودن نانوذرات نقره به آکریل‌های خودسخت شونده و یا گرماسخت PMMA به آن خاصیت ضدمیکروبی خوبی داده است (۱۱، ۱۷، ۲۱). با این حال با توجه به سمی بودن نقره باید در هنگام افزودن این نانوذرات میزان رهایش یون‌های نقره ارزیابی شده و نانوذرات نقره باید در اندازه و غلظت محدودی استفاده شوند و این موضوع اندکی چالش‌انگیز است. خاصیت ضد میکروبی نانوذرات اکسید روی در مطالعات متعددی ثابت شده است (۱۲، ۲۲-۲۴). همچنین در مطالعات مشخص شده است که نانوذرات ZnO تا غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام سمی بودن قابل ملاحظه‌ای برای سلول‌های انسانی نداشته و در بسیاری از صنایع کاربرد دارند (۲۳). بنابراین انتخاب این نانوذره برای بهبود خواص ضدمیکروبی مواد دندانی معقول به نظر می‌رسد. نانوذرات اکسید روی در صنایع غذایی قابل استفاده بوده و مسمومیتی برای انسان ندارند و از نانوذرات ایمن با خاصیت ضد میکروبی هستند (۱۸، ۲۳). یکی از تکنیک‌های جدید برای افزودن نانوذرات اکسید فلزی به مواد پلیمری استفاده از یک پشتیبانی کننده و نگهدارنده با ابعادی بزرگتر ولی متخلخل مانند زئولیت‌ها است و این تکنیک در بهبود خواص ضدمیکروبی این نانوذرات موثر است. امروزه برای افزایش خاصیت ضدمیکروبی نانوذرات اکسید فلزی با هدف کاهش انباشتگی و توده‌ای شدن (aggregation) و شسته شدن (leaching) آنها از روی سطح و یا داخل ترکیبات صنعتی و یا مواد دندانی از تکنیک‌های تولید مختلفی مانند قرار دادن آن‌ها در یک بافت زمینه متخلخل مانند زئولیت استفاده شده است (۱۸، ۲۵). زئولیت‌ها نانوساختارهای آلومینوسیلیکاتی متخلخل سه بعدی هستند که از چهارضلعی‌های SiO_4 و AlO_4 تشکیل شده‌اند. این چهارضلعی‌ها توسط اتم‌های اکسیژن به هم متصل می‌شوند و یک ساختار کریستالی با حفرات و کانال‌هایی در اندازه اتمی تشکیل می‌دهند (۱۸). این ساختار ویژه امکان تماس مستقیم این کاتیون‌ها با میکروارگانیسم‌های موجود در محیط را فراهم می‌کند (۱۷). خاصیت ضدمیکروبی زئولیت‌های ادغام شده با این کاتیون‌های ضد میکروبی در مواد دندانی اثبات شده است (۱۷، ۲۱). این ماده غیرسمی و زیست سازگار بوده، خاصیت ضدمیکروبی بلند مدت داشته و بدون طعم و مزه است (۱۸، ۲۶). این خصوصیات مطلوب منجر به استفاده گسترده ذرات زئولیت شده است(۲۵)، بنابراین در این مطالعه نانوذرات اکسید روی به کمک زئولیت A۴ پشتیبانی شده و به پلیمر پلی متیل متاکریلات افزوده شد. بر اساس مطالعات گذشته یکی از خصوصیات مهم در تعیین میزان پایداری و رفتار ذرات بسیار ریز مانند نانوذرات در محیط‌های آبی، پتانسیل زتا آن‌ها است و هرچه مقدار بالاتری داشته باشد ذرات پایدارتر بوده و تمایل کمتری برای توده‌ای شدن دارند. مقادیر پتانسیل زتا در بازه ۴۰± تا ۶۰± میلی‌ولت برای نانوذرات پایداری خوبی را همراه دارد (۲۷). مطابق نتایج مطالعه حاضر، نانوکامپوزیت Zn/4A تولید شده با پتانسیل زتا منفی ۴۵,۹ پایداری خوبی دارد. از بین خصوصیات مکانیکی رزین‌های اکریلی، استحکام خمشی (flexural strength) اهمیت بالایی دارد و یک استاندارد حداقلی برای همه پلیمرهای دندانی – که شامل رزین‌های اکریلی نیز می‌شود – توسط سازمان استاندارد جهانی (ISO 20795 2008) تعیین شده است (۲۸). در نتیجه افزودن هرگونه ماده‌ای به بیس پلیت آکریلی ارتودنسی باید از نظر استحکام خمشی بررسی شود تا در کاربرد بالینی شکست نخورد. در مطالعه کازمیرو (۱۷) تاثیر افزودن نانوذرات سیلور زینک زئولیت (Irgaguard B5000) بر سه نوع آکریل تجاری استفاده شده برای ساخت دنچرهای کامل بی‌دندانی (آکریل سخت شونده با امواج ماکروویو Onda-Cryl، آکریل‌های گرماسخت Lucitone 550 و QC20) از نظر خواص ضدمیکروبی و استحکام خمشی بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد افزودن مقادیر بیش از ۲/۵ درصد زئولیت به هر سه نوع آکریل به‌طور معنی‌داری باعث کاهش استحکام خمشی نسبت به گروه کنترل شده است. اما در مقادیر کمتر از ۵ درصد تمام اعداد

به دست آمده از استحکام خمشی با ایزو شماره ISO 1567 مطابقت داشته و بیش از ۶۵ مگاپاسکال بوده است. نتایج مطالعه ما نیز نشان داد افزودن نانوکامپوزیت تولید شده Zn/4A به آکریل خودسخت شونده SR Triplex® Cold در هردو درصد وزنی ۲ و ۴ درصد باعث کاهش معنادار نسبت به گروه کنترل می‌شود ولی تمام مقادیر بالای ۵۰ مگاپاسکال بوده و با ایزو شماره (ISO 20795-1 2008) مطابقت دارد. دلیل تفاوت مقادیر استاندارد حداقلی برای استحکام خمشی در دنچرها و بیس پلیت‌های ارتودنسی این است که بیس پلیت‌های ارتودنسی برخلاف دنچرها در هنگام تغذیه از دهان خارج می‌شوند، در نتیجه نیازی به تحمل نیروهای جویدنی سنگین ندارند و داشتن حداقل استحکام خمشی ۵۰ مگاپاسکال از نظر بالینی قابل قبول است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج مطالعه فعلی، افزودن نانوذرات اکسید روی – که داخل شبکه زئولیت A۴ قرار داده شده‌اند (Zn/4A) – به ترکیب پلی‌متیل متاکریلات خود سخت شونده SR Triplex® Cold – که در ساخت بیس پلیت‌های ارتودنسی استفاده می‌شود – خاصیت ضدمیکروبی قوی به آن می‌دهد. با از بین رفتن کلونی‌های باکتریایی بوی نامساعد ناشی از فعالیت‌های متابولیکی آنها و خطر پوسیدگی دندان‌ها کاهش یافته و همکاری بیماران افزایش می‌یابد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده موفقیت‌های درمانی ناشی از استفاده از این بیس پلیت‌ها به صورت بالینی بررسی شود.

قدردانی

از مرکز تحقیقات لثه و دندان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به دلیل حمایت مالی از پژوهش تشکر می‌کنیم.

ملاحظات اخلاقی

طرح پژوهشی مطالعه حاضر با کد اخلاقی IR.TBZMED.VCR.REC.1398.350 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز تایید شده است.

منابع مالی

منابع مالی مطالعه حاضر توسط مرکز تحقیقات لثه و دندان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تامین شده است.

منافع متقابل

مولفان اظهار می‌کنند که هیچ منافع متقابلی از تالیف و انتشار این مقاله ندارند.

مشارکت مولفان

م ک ایده پردازی و طراحی مطالعه را عهده داشت. ب ک، ف ی س، م ا، به‌طور مشترک در آماده‌سازی نمونه‌ها و انجام تست‌های آزمایشگاهی و تحلیل داده‌ها همکاری کردند. م غ، م ا جمع‌آوری داده‌ها و ارزیابی مطالعات پیشین و نگارش پیش‌نویس مقاله را عهده داشتند. همه نویسندگان در نقد و بررسی محتوای فکری پیش‌نویس مقاله مشارکت داشتند و آن را تایید کرده‌اند.

References

1. Borzabadi-Farahani A, Borzabadi E, Lynch E. Nanoparticles in orthodontics, a review of antimicrobial and anti-caries applications. Acta Odontol. Scand 2014;72(6):413-7. doi: 10.3109/00016357.2013.859728
2. Anusavice KJ, Shen C, Rawls HR. Prosthetic polymers and resins. In: Phillips' science of dental materials: Elsevier, St. Louis, Missouri, 12th edition.
3. Shirkavand S, Moslehifard E. Effect of TiO2 nanoparticles on tensile strength of dental acrylic resins. JODDD 2014;8(4):197.
4. Lessa FCR, Enoki C, Ito IY, Faria G, Matsumoto MAN, Nelson-Filho P. In-vivo evaluation of the bacterial contamination and disinfection of acrylic baseplates of removable orthodontic appliances. Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop. 2007;131(6):705. e11-. e17. doi: 10.1016/j.ajodo.2006.09.042
5. Ghahremani L, Shirkavand S, Akbari F, Sabzikari N. Tensile strength and impact strength of color modified acrylic resin reinforced with titanium dioxide nanoparticles. J. Clin. Exp. 2017;9(5):e661. doi: 10.4317/jced.53620
6. Kuroki K, Hayashi T, Sato K, Asai T, Okano M, Kominami Y, et al. Effect of self-cured acrylic resin added with an inorganic antibacterial agent on Streptococcus mutans. Dent. Mater. J 2010;29(3):277-85. doi: 10.4012/dmj.2009-076
7. Peixoto ITA, Enoki C, Ito IY, Matsumoto MAN, Nelson-Filho P. Evaluation of home disinfection protocols for acrylic baseplates of removable orthodontic appliances: A randomized clinical investigation. Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop. 2011;140(1):51-7. doi: 10.1016/j.ajodo.2009.12.036
8. Silva SS, Ribeiro MdO, Gomes FIF, Chaves HV, Zanin ICJ, Barbosa FCB. Occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and pseudomonads isolated from the dental prostheses biofilm. J. Appl. Oral Sci. 2016;24(5):462-71. doi: 10.1590/1678-775720160032

9. Goldberg S, Cardash H, Browning H, Sahly H, Rosenberg M. Isolation of Enterobacteriaceae from the mouth and potential association with malodor. J. Dent. Res. 1997;76(11):1770-5. doi: 10.1177/00220345970760110801
10. Farhadian N, Mashoof RU, Khanizadeh S, Ghaderi E, Farhadian M, Miresmaeili A. Streptococcus mutans counts in patients wearing removable retainers with silver nanoparticles vs those wearing conventional retainers: A randomized clinical trial. Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop. 2016;149(2):155-60. doi: 10.1016/j.ajodo.2015.07.031
11. Ghaffari T, Hamedi-rad F. Effect of silver nano-particles on tensile strength of acrylic resins. JODDD. 2015;9(1):40. doi: 10.15171/joddd.2015.008
12. Gondal MA, Alzahrani AJ, Randhawa MA, Siddiqui MN. Morphology and antifungal effect of nano-ZnO and nano-Pd-doped nano-ZnO against Aspergillus and Candida. J. Environ. Sci. Health A. 2012;47(10):1413-8. doi: 10.1080/10934529.2012.672384
13. Khan MF, Hameedullah M, Ansari AH, Ahmad E, Lohani M, Khan RH, et al. Flower-shaped ZnO nanoparticles synthesized by a novel approach at near-room temperatures with antibacterial and antifungal properties. Int J Nanomedicine. 2014;9:853. doi: 10.2147/ijn.s47351
14. Ågren MS. Zinc in wound repair. Arch Dermatol 1999;135(10):1273-a-4.
15. Cierech M, Wojnarowicz J, Szmigiel D, Bączkowski B, Grudniak AM, Wolska KI, et al. Preparation and characterization of ZnO-PMMA resin nanocomposites for denture bases. Acta Bioeng Biomech. 2016;18(2). doi: 10.3390/nano8050305
16. Cierech M, Osica I, Kolenda A, Wojnarowicz J, Szmigiel D, Łojkowski W, et al. Mechanical and physicochemical properties of newly formed ZnO-PMMA nanocomposites for denture bases. Nanomaterials. 2018;8(5):305. doi: 10.3390/nano8050305
17. Casemiro LA, Martins CHG, Pires-de-Souza FdCP, Panzeri H. Antimicrobial and mechanical properties of acrylic resins with incorporated silver–zinc zeolite–part I. Gerodontology. 2008;25(3):187-94. doi: 10.1111/j.1741-2358.2007.00198.x
18. Azizi-Lalabadi M, Ehsani A, Divband B, Alizadeh-Sani M. Antimicrobial activity of Titanium dioxide and Zinc oxide nanoparticles supported in 4A zeolite and evaluation the morphological characteristic. Sci Rep. 2019;9(1):1-10. doi: 10.1038/s41598-019-54025-0
19. Kassaee M, Akhavan A, Sheikh N, Sodagar A. Antibacterial effects of a new dental acrylic resin containing silver nanoparticles. J. Appl. Polym. Sci. 2008;110(3):699-703. doi: 10.1002/app.28762
20. Krespi YP, Shrime MG, Kacker A. The relationship between oral malodor and volatile sulfur compound–producing bacteria. Otolaryngol. Head Neck Surg. 2006;135(5):671-6. doi: 10.1016/j.otohns.2005.09.036
21. Kawahara K, Tsuruda K, Morishita M, Uchida M. Antibacterial effect of silver-zeolite on oral bacteria under anaerobic conditions. Dental Materials. 2000;16(6):452-5. doi: 10.1016/s0109-5641(00)00050-6
22. Behroozian A, Kachoei M, Khatamian M, Divband B. The effect of ZnO nanoparticle coating on the frictional resistance between orthodontic wires and ceramic brackets. JODDD. 2016;10(2):106. doi: 10.15171/joddd.2016.017
23. Norouzzadeh Helali Z, Esmailzadeh M. A comparative study of antibacterial effects of mouthwashes containing Ag/ZnO or ZnO nanoparticles with chlorhexidine and investigation of their cytotoxicity. NMJ. 2018;5(2):102-10.
24. Kachoei M, Nourian A, Divband B, Kachoei Z, Shirazi S. Zinc-oxide nanocoating for improvement of the antibacterial and frictional behavior of nickel-titanium alloy. Nanomedicine. 2016;11(19):2511-27. doi: 10.2217/nnm-2016-0171
25. Azizi-Lalabadi M, Alizadeh-Sani M, Divband B, Ehsani A, McClements DJ. Nanocomposite films consisting of functional nanoparticles (TiO2 and ZnO) embedded in 4A-Zeolite and mixed polymer matrices (gelatin and polyvinyl alcohol). Food Res. Int 2020;137:109716. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109716
26. Nikawa H, Yamamoto T, Hamada T, Rahardjo M, Murata H, Nakanoda S. Antifungal effect of zeolite-incorporated tissue conditioner against Candida albicans growth and/or acid production. J. Oral Rehabil. 1997;24(5):350-7. doi: 10.1111/j.1365-2842.1997.tb00339.x
27. Yazdkhasti S, Monshi A, Doostmohammadi A. Preparation, Characterization and Comparative Study of Antibacterial Properties of Ag-TiO2 and ZnO-TiO2 Nanoparticles. Journal of Advanced Materials in Engineering (Esteghlal). 2016;34(4):43-52 (Persian). doi: 10.18869/acadpub.jame.34.4.43
28. Ahmed MA, El-Shennawy M, Althomali YM, Omar AA. Effect of titanium dioxide nano particles incorporation on mechanical and physical properties on two different types of acrylic resin denture base. WJNSE. 2016;6(3):111-9. doi: 10.4236/wjnse.2016.63011