

نقش نانوذرات در کنترل بیوفیلیم باکتریایی در پوسیدگی دندان

نیما بهادر^{۱*}، هانیه لطافت^۱

گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز، ایران

نویسنده مسئول: ni.bahador@iau.ac.ir

نویسنده دوم: hanivehletafat@gmail.com

چکیده:

پوسیدگی دندان همچنان یک مسئله مهم بهداشت جهانی است که بدلیل مدیریت پرهزینه آن، سلامت و کیفیت زندگی افراد، تحت تاثیر قرار می دهد. پوسیدگی دندان عمدتاً توسط تشکیل یک بیوفیلیم خاص بر روی سطح دندان ایجاد می شود. بیوفیلیم بوجود آمده با تول اسید و فرآیند دمنیرالیزاسیون روی سطح مینای دندان به عنوان یک ضایعه لکه ای سفید ایجاد می نماید که پاتوژن های اصلی مسئول پوسیدگی دندان به شمار می آیند. این دسته از ارگانیسرها شامل: استرپتوکوکوس موتانس، میکروکوکوس لوتئوس، استافیلوکوکوس آرنئوس، کاندیدا آلبیکنس و بسیاری ارگانیسرها دیگر می باشند. از طرف دیگر، شکست درمان اندودنتیک می تواند ناشی از عوامل مختلفی از جمله عفونت باکتریایی، کانال های ریشه ای که به درستی تمیز و پر نشده اند، مهر و موم معیوب و کانال های درمان نشده (کانال های از دست رفته) باشد و حضور ارگانیسرهای مانند انتروکوکوس فیکاليس در بخش کانال ریشه تاثیر گذار باشد و از آنجاییکه ارگانيسم مقاومی به آنتی بیوتیکهاست بنابراین باعث عفونت طولانی مدت شود. بنابراین مواد مبتنی بر فناوری نانو برای بهبود این اقدامات درمانی و پیشگیرانه در درمان بیماری های دهان ناشی از پوسیدگی دندان و عفونت های مرتبط با پریودنتیت در نظر گرفته می شوند. بر همین اساس تحقیق حاضر به بحث بیوفیلیم باکتریایی و ارتباط آن با پوسیدگی دندان و نقش نانوذرات در این حیطه پرداخته است.

کلمات کلیدی: بیوفیلیم، پوسیدگی دندان، نانوذرات

۱. بیوفیلیم و پوسیدگی دندان

بیوفیلیم، پروسه‌ای نه چندان پیچیده است که توسط میکروارگانیسمهای دهان بر سطح مینای دندان بدنبال اتصال اولیه و پس از آن فعالیتهای میکروبی صورت می‌پذیرد. از بین ارگانیسمهای مختلف، استرپتوکوک موتانس عامل اصلی مسئول شروع و پیشرفت پوسیدگی دندان است [۱]. از آنجاییکه براکت‌ها و دستگاه‌های ارتودنسی ثابت با ایجاد مناطق احتباسی، تجمع باکتریایی را تسهیل می‌کنند [۲]، ادعا شده است که ۵۰ تا ۷۰ درصد از بیمارانی که تحت درمان با دستگاه‌های ارتودنسی ثابت قرار می‌گیرند، در اطراف براکت‌ها دچار معدنی شدن مینای دندان می‌شوند [۳] و تجمع باکتریایی در شکاف‌های ۱۰ میلی‌متری در محل اتصال چسب-مینا [۴] مشاهده شده است. بر همین اساس استراتژی‌های مختلفی که عمدتاً به رعایت بیمار وابسته هستند، برای کاهش معدنی شدن و تشکیل لکه سفید در طول درمان پیشنهاد شده است. در این میان رکن اصلی، حذف مکانیکی پلاکهای بیوفیلیمی استفاده از فلوراید و/یا عوامل ضد میکروبی است [۵]. استفاده از فلوراید به اشکال مختلف، به عنوان مثال: دهانشویه، خمیر دندان، استفاده حرفه‌ای، ترکیب شده در چسب‌ها) متابولیسم باکتری‌هایی که باعث پوسیدگی می‌شوند را مهار می‌کند و مقاومت مینا و عاج را افزایش می‌دهد [۶].

به دلیل قابلیت‌های ضد زیستی یا ضد چسبندگی برخی از نانوذرات، این مواد برای کنترل بیوفیلیم دهان و کاهش معدنی شدن در اطراف براکت‌ها در چسب‌های ارتودنسی قرار داده شده‌اند. هنگام افزودن نانوذرات به چسب‌ها و دستگاه‌های ارتودنسی معمولی، پوشش براکت ارتودنسی با یک لایه نازک از نانوذرات اکسید تیتانیوم با پوشش نیتروژن فوتوکاتالیز دی‌اکسید تیتانیوم (TiO₂) به خوبی شناخته شده است [۷]. در مقایسه با سطوح اصلاح نشده، نانوذرات اکسید تیتانیوم تمایل دارند از طریق افزایش آب‌دوستی [۸] در برابر تشکیل بیوفیلیم سطحی مقاومت کنند. پودر اکسید تیتانیوم در اندازه نانو به دلیل تجمع قوی ناشی از انرژی سطح بالا، که مستقیماً بر خواص ضد میکروبی و فیزیکوشیمیایی آن تأثیر می‌گذارد، به سختی پراکنده می‌شود [۹].

کائو و همکاران [۹] از براکت‌های پوشش داده شده با یک لایه نازک از نانوذرات اکسید تیتانیوم با پوشش نیتروژن استفاده کردند و خواص ضد میکروبی و چسبندگی باکتریایی در برابر باکتری‌های بیماری‌زای طبیعی دهان را از طریق نور مرئی گزارش کردند. پوشش نیتروژن و اصلاح، اکسید تیتانیوم را قادر می‌سازد تا فعالیت کاتالیزوری را در ناحیه نور مرئی نشان دهد. فعال شدن منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد OH، یون‌های سوپر اکسید (O₂•)، رادیکال‌های پروکسیل (HO₂) و پراکسید هیدروژن (H₂O₂) می‌شود. این مواد شیمیایی، از طریق یک سری واکنش‌های اکسیداسیون، با مولکول‌های بیولوژیکی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش می‌دهند و به ساختارهای سلول‌های بیولوژیکی آسیب می‌رسانند، اما فعالیت ضد میکروبی نیز اعمال می‌کنند. خواص ضد چسبندگی خوب در برابر استرپتوکوک موتانس در این مطالعه مشاهده شد [۹]. سرعت فعالیت ضد میکروبی براکت پوشش داده شده در برابر استرپتوکوک موتانس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، آکتینومایسس ویسکوزوس و کاندیدا آلبیکنس به ترتیب ۹۵٪، ۹۱٪، ۶۹٪ و ۹۹٪ گزارش گردید [۹]. این یافته‌ها در پیشگیری از معدنی شدن مینای دندان و ژئوپیت در طول درمان ارتودنسی اهمیت دارند. با این حال، برخی از اطلاعات مهم در مورد عملکرد بالینی طولانی‌مدت و ایمنی سطوح براکت اصلاح‌شده جدید و همچنین اثرات آن بر قدرت باند به دندان‌ها وجود ندارد.

ترکیب سیمان‌های یونومر شیشه یا سیمان‌های یونومر شیشه اصلاح‌شده با رزین با نانوذرات فلوروآپاتیت، فلوروهیدروکسی آپاتیت یا هیدروکسی آپاتیت در مقایسه با سیمان‌های یونومر شیشه (GICs) که هنگام استفاده برای باند براکت، قدرت باند نسبتاً کمتری با دندان‌ها ارائه می‌دهند [۱۰]، سیمان‌های یونومر شیشه اصلاح‌شده با رزین (RMGICs) قدرت باند قوی‌تری دارند در حالی که توانایی آزادسازی فلوراید را نیز حفظ می‌کنند [۱۱]. لین و همکاران [۱۲] نیز اثر ترکیب ذرات

فلوروآپاتیت (NFA) یا فلوروهیدروکسی آپاتیت (NFHA) در اندازه نانو را در یک RMGIC بررسی کردند. آزادسازی فلوراید RMGIC با ترکیب NFA یا NFHA بهبود یافت. با این حال، این امر به قیمت کاهش قابل توجه در قدرت باند برشی بود که در مرزهای پایین محدوده توصیه شده برای براکت‌های ارتودنسی باقی ماند [۱۳]. تحقیقات نشان داد که آزادسازی فلوراید پس از ۳۵ و ۷۰ روز نیز به ترتیب در گروه‌هایی که NFA یا NFHA داشتند، به طور قابل توجهی بیشتر بود [۱۲]. نویسندگان بیان کردند که در مقایسه با گروه کنترل، غلظت بهینه NFA و NFHA اضافه شده برای حداکثر آزادسازی فلوراید ۲۵ درصد وزنی بود که تقریباً آزادسازی فلوراید را پس از ۷۰ روز سه برابر کرد. همچنین، در مطالعه دیگری، آنان و حماد [۱۴] اثر درون تنی افزودن نانو هیدروکسی آپاتیت (نانو-HA) به سیمان باندینگ ارتودنسی را بررسی کردند. این مطالعه، ریزش زیر باندهای ارتودنسی را که پس از ۶۰ روز توسط روش نفوذ رنگ متیلن بلو ارزیابی شد، بررسی کرد. باندهای ارتودنسی که با GIC معمولی سیمان شده بودند، در مقایسه با باندهایی که با GIC اصلاح شده با نانو-HA سیمان شده بودند، بالاترین امتیازات ریزش را نشان دادند [۱۴].

۲. ترکیب نانوذرات نقره و اکسید تیتانیوم در چسب‌های ارتودنسی

در تحقیقی نشان داده شد که چسب‌های ارتودنسی ظرفیت نگهداری بالاتری برای استرپتوکوک‌های پوسیدگی‌زا نسبت به مواد براکت دار می‌باشند [۱۵]. چسب‌های نانو پر شده با ذرات کوچکتر و توانایی توزیع بیشتر و یکنواخت ممکن است زبری سطح کمتری داشته باشند که چسبندگی باکتریایی را به خطر می‌اندازد [۱۶]. مطالعات برون تنی کوتاه مدت (۲۴ ساعت)، زمانی که از چسب‌های نانو پر شده برای باند براکت‌های ارتودنسی استفاده می‌شد، قدرت باند برشی قابل مقایسه یا کمتر و همچنان قابل قبول [۱۷] را گزارش کردند. در مقایسه با چسب‌های ارتودنسی معمولی، با استفاده از ترکیبات نانو زبری سطح چسب را کاهش داده [۱۶]، با این حال، این موضوع زمانی که نانوذرات نقره به این مخلوط اضافه شد، صادق نبود. با این وجود، اثر طولانی‌مدت چسب‌های پر شده توسط نانو ذرات بر پیشگیری از معدنی شدن مینای دندان در طول درمان ارتودنسی، به ویژه در اطراف براکت‌ها و زیر باندهای ارتودنسی، هنوز مورد بررسی قرار نگرفته است. نقره به دلیل فعالیت ضد میکروبی خود در برابر باکتری‌های گرم مثبت/ منفی، قارچ‌ها، پروتوزوا، برخی ویروس‌ها و سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک [۱۸] و همچنین استرپتوکوک موتانسها پوسیدگی‌زا [۱۹] بخوبی شناخته شده است. بر همین اساسا کامپوزیت‌های رزینی حاوی پرکننده‌های کاشته شده با یون نقره، ویژگی‌های ضد باکتریایی را در برابر استرپتوکوک‌های دهان نشان دادند [۲۰]. آن و همکاران [۱۶] اثر افزودن غلظت‌های مختلف نانو ذرات نقره را به یک چسب کامپوزیت آزمایشی حاوی نانو پرکننده‌های سیلیسی بررسی کردند. بر اساس این مطالعه، افزودن نانو ذرات نقره به طور قابل توجهی چسبندگی استرپتوکوک‌های پوسیدگی‌زا به چسب ارتودنسی در مقایسه با چسب‌های معمولی، بدون به خطر انداختن خواص فیزیکی (قدرت باند برشی) کاهش داد. به طور مشابه، پوستی و همکاران نیز [۲۱] نشان دادند که ترکیب (1% w/w) نانو ذره اکسید تیتانیوم در یک چسب ارتودنسی، اثرات ضد باکتریایی آن را بدون به خطر انداختن خواص فیزیکی افزایش می‌دهد. چسب‌های حاوی نانو ذره اکسید تیتانیوم فعالیت ضد باکتریایی را به طور قابل توجهی بالاتری نشان دادند [۲۱] که برای ۳۰ روز اول ثابت ماند. شمارش کلنی باکتریایی نیز هیچ تفاوت قابل توجهی در رشد باکتری بلافاصله و ۳۰ روز پس از شروع آزمایش، زمانی که از چسب‌های ارتودنسی با نانو ذره اکسید تیتانیوم اضافه شده استفاده شد، نشان نداد [۲۱].

۳. افزودن نانوذرات اکسید تیتانیوم و اکسید سیلیکون یا نقره به مواد ارتودنسی آکرلیک

رزین‌های آکرلیک که عمدتاً از پلی‌متیل متاکریلات (PMMA) ساخته می‌شوند، به طور گسترده برای ساخت دستگاه‌های ارتودنسی متحرک مانند منبسط‌کننده‌ها، نگهدارنده‌ها و دستگاه‌های عملکردی استفاده می‌شوند. در مقایسه با دندان‌های طبیعی، پلاک میکروبی با سطح چسبندگی وسیع‌تری به دستگاه‌های رزین آکرلیک می‌چسبد [۲۲] که می‌تواند منجر به توسعه فلور دهانی پوسیدگی‌زا شود. استوماتیت ناشی از کاندیدا نیز التهاب مخاط دهان را سبب شده که

با اریتمی به ویژه در مخاط کام مشخص می‌شود [۲۴ و ۲۳] که گاهی اوقات در زیر پروتزها، دستگاه‌های متحرک یا نگهدارنده‌ها رخ می‌دهد.

کاندیدا آلبیکنس یک پاتوژن فرصت‌طلب است که در ۲۵ تا ۷۵ درصد از افراد در جمعیت‌های مختلف مشاهده شده است [۲۵]. بنابراین طی تحقیقی ارتباط بین وجود یک دستگاه متحرک آکرلیک و وضعیت حمل کاندیدا و همچنین سطوح pH پایین بزاق پیشنهاد شده است [۲۶]. زیرا در مطالعه ایی، شیوع حاملان این ارگانیسم قبل از درمان با دستگاه متحرک ۳۹٪ و پس از ۹ ماه و بعد از درمان به ۷۹٪ افزایش یافت. به همین ترتیب، دستگاه‌های ارتودنسی که از بافت دندان منشأ می‌گیرند، در مقایسه با دستگاه‌هایی که از دندان منشأ می‌گیرند، تکثیر کاندیدا را بطور قابل توجهی تقویت کردند [۲۷]. افزایش تکثیر کاندیدا در افرادی که از دستگاه‌های متحرک استفاده می‌کنند، شاید به دلیل محافظت در برابر حذف طبیعی و مکانیکی بزاق و سیستم دفاعی باشد [۲۵]. کنترل تکثیر کاندیدا در زیر دستگاه‌های متحرک آکرلیک می‌تواند به طور بالقوه از ایجاد استوماتیت ارتودنسی جلوگیری کند. بر همین اساس یافتن درمان‌های جایگزین برای حذف کاندیدا که در برابر داروهای ضد قارچی معمولی تحمل نشان می‌دهد [۲۴]، نیز ضروری است. مطالعات خواص ضد میکروبی مواد آکرلیک حاوی نانو ذرات و استفاده از آنها در دستگاه‌های متحرک در مراحل اولیه است و محدود به مدل‌های برون تنی است. طی مطالعه ایی نشان داده شد که نمونه‌های PMMA با نانوذرات نقره کاهش قابل توجهی در چسبندگی کاندیدا نشان داده و رفتار زیست‌سازگاری داشتند به این معنا که بر متابولیسم/ تکثیر سلول تأثیر نمی‌گذاشتند یا آسیب ژنوتوکسیک به سلول‌ها وارد [۲۸].

مطالعات ذکر شده قبلی نیز محدودیت‌هایی دارند که باید شناخته شوند، بطوریکه برخی از آنها فعالیت ضد باکتریایی یا ایمنی مواد آکرلیک حاوی نانوذرات را ارزیابی نکردند [۲۹]، یا زیست‌سازگاری را برای مدت کوتاهی (۲۴-۷۲ ساعت) ارزیابی نمودند. اندازه نانوذرات نیز می‌تواند بر سمیت سلولی و پاسخ ایمنی تأثیر بگذارد. به عنوان مثال، گزارش شده است که نانوذرات نقره کوچکتر از ۳ نانومتر نسبت به ذرات بزرگتر از ۲۵ نانومتر سمیت سلولی بیشتری دارند [۳۰] که این عامل هنگام ارزیابی سمیت سلولی هر ماده حاوی نانوذرات باید مورد توجه دقیق قرار گیرد.

۴. نتیجه‌گیری:

امروزه، فناوری نانو فرصت‌های جدیدی را برای جامعه بشری طراحی نموده است. نانوذرات با استفاده از یون‌های فلزی مختلف از جمله نقره، طلا، روی، مس و غیره سنتز شده و خواص مشخصه آنها توسط انتخاب یون‌های فلزی تعیین می‌شود. امروزه با توجه به اینکه توانایی نانوذرات نقره در جلوگیری موفقیت آمیز از رشد میکروب‌ها از جمله باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است، فعالیت ضد میکروبی آنها را به آزاد شدن یون‌های نقره و اندازه کوچک آنها نسبت داده اند که می‌تواند با ساختار و عملکرد سلول‌های میکروبی تداخل داشته باشد. گرچه سنتز نانوذرات نقره می‌تواند از طریق روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی انجام شود، روش‌های بیولوژیکی با استفاده از منابع گیاهی یا میکروارگانیسم‌ها نسبت به روش‌های شیمیایی دارای مزایایی بوده که آنها را مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست معرفی نموده و کار با آنها آسان است. بنابراین از آنجاییکه پلاک‌دندانی تولید شده توسط بیوفیلم میکروبی سمومی تولید نموده که لته را تحریک می‌کند و منجر به التهاب، خونریزی و یا حتی تورم می‌شود، مطالعه نانوذرات به عنوان بخشی از ترکیباتی که قادر به کنترل جمعیت میکروبی خصوصاً در بیوفیلم‌هاست کمک شایانی به علم و سلامت افراد می‌نماید.

۵. مراجع

-] De Stoppelaar JD, van HJ, Backer DO. The relationship between extracellular polysaccharide-producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. *Caries Res* 1969;3:190–9.
- [1] Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 1986;50:353–80.
- [2] O'Reilly MM, Featherstone JDB. Demineralization and remineralization around orthodontic appliances: an in vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1987;92:33–40.
- [3] Ogaard B. Oral microbiological changes, long-term enamel alteration due to decalcification, and caries prophylactic aspects. In Brantley WA, Eliades T, editors. *Orthodontic materials. Scientific and clinical aspects*. Stuttgart: Thieme; 2001.
- [4] Sukontapattipark W, El-Agroudi MA, Selliseth NJ, Thunold K, Selvig KA. Bacterial colonization associated with fixed orthodontic appliances. A scanning electron microscopy study. *Eur J Orthod* 2001;23:475–84.
- [5] Baehni PC, Takeuchi Y. Anti-plaque agents in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *Oral Dis* 2003;9:23–9.
- [5] Kerbusch AE, Kuijpers-Jagtman AM, Mulder J, Sanden WJ. Methods used for prevention of white spot lesion development during orthodontic treatment with fixed appliances. *Acta Odontol Scand* 2012;70:564–8.
- [6] Geiger AM, Gerolick L, Gwinnet AJ, Benson BJ. Reducing white spot lesions in orthodontic populations with fluoride rinsing. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1992;101:403–7.
- [6] Schmit JL, Staley RN, Wefel JS, Kanellis M, Jakobsen JR, Keenan PJ. Effect of fluoride varnish on demineralization on adjacent to brackets bonded with RMGI cement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122:125–34.
- [7] Allaker RP. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. *J Dent Res* 2010;89:1175–86.
- [8] Luo ML, Zhao JQ, Tang W, Pu S. Hydrophilic modification of poly(ether sulfone) ultrafiltration membrane surface by self-assembly of TiO₂ nanoparticles. *Appl Surf Sci* 2005;249:76–84.
- [8] Allaker RP. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. *J Dent Res* 2010;89:1175–86.
- [9] Cao B, Wang Y, Li N, Liu B, Zhang Y. Preparation of an orthodontic bracket coated with an nitrogen-doped TiO₂-xNy thin film and examination of its antimicrobial performance. *Dent Mater J* 2013;32:311–16.

- [10] Vahid-Dastjerdie E, Borzabadi-Farahani A, Pourmo di-- Neistanak H, Amini N. An in-vitro assessment of weekly cumulative uoride release from three glass ionomer cements used for orthodontic banding. *Prog Orthod* 2012;13:49–56.
- [11] Cohen WJ, Wiltshire WA, Dawes C, Lavelle CL. Long-term in vitro uoride release and rerelease from orthodontic bond- ing materials containing uoride. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003;124:571–6.
- [12] Lin J, Zhu J, Gu X, Wen W, Li Q, Fischer-Brandies H, et al. Effects of incorporation of nano- uorapatite or nano- uorohydroxyapatite on a resin-modi ed glass ionomer cement. *Acta Biomater* 2011;7:1346–53.
- [13] Reynolds IR. A review of direct orthodontic bonding. *Br J Orthod* 1975;2:171–8.
- [14] Enan ET, Hammad SM. Microleakage under orthodontic bands cemented with nano- hydroxyapatite-modi ed glass ionomer. *Angle Orthod* 2013;doi:10.2319/022013–147.1.
- [15] Lim BS, Lee SJ, Lee JW, Ahn SJ. Quantitative analysis of adhesion of cariogenic streptococci to orthodontic raw mate- rials. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;133:882–6.
- [16] Ahn SJ, Lee SJ, Kook JK, Lim BS. Experimental antimicrobial orthodontic adhesives using nano llers and silver nanoparti- cles. *Dent mater* 2009;25:206–13.
- [17] Uysal T, Yagci A, Uysal B, Akdogan G. Are nano-composites and nano-ionomers suitable for orthodontic bracket bonding? *Eur J Orthod* 2010;32:78–82. Anti- caries/antimicrobial nanoparticles in orthodontics 5
- [17] Pai SS, Nagendra A, Pai VS, Neelima K, Vishwanath AE, Vinod P, et al. Evaluation of a new nano- lled bonding agent for bonding orthodontic brackets as compared to a conven- tional bonding agent: an in vitro study. *J Indian Orthod Soc* 2012;46:329–33.
- [18] Monteiro DR, Gorup LF, Takamiya AS, Ruvollo–Filho AC, de Camargo ER, Barbosa DB. Hanie, [Feb 2, 2025 at 22:30] The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. *Int J Antimicrob Agents* 2009;34:103–10.
- [19] Hernández-Sierra JF, Ruiz F, Pena DC, Martínez-Gutiérrez F, Martínez AE, Guillén Ade J, et al. The antimicrobial sensi- tivity of *Streptococcus mutans* to nanoparticles of silver, zinc oxide, and gold. *Nanomedicine* 2008;4:237–40
- [20] Yamamoto K, Ohashi S, Aono M, Kokubo T, Yamada I, Yamauchi J. Antibacterial activity of silver ions implanted in SiO2 ller on oral streptococci. *Dent Mater* 1996;12: 227–9.
- [21] Poosti M, Ramazanzadeh B, Zebarjad M, Javadzadeh P, Naderinasab M, Shakeri MT. Shear bond strength and anti- bacterial effects of orthodontic composite containing TiO2 nanoparticles. *Eur J Orthod* 2013;35:676–9.

- [22] Radford DR, Challacombe SJ, Walter JD. Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. *Crit Rev Oral Biol Med* 1999;10:99–116.
- [23] Monteiro DR, Gorup LF, Takamiya AS, de Camargo ER, Filho AC, Barbosa DB. Silver distribution and release from an antimicrobial denture base resin containing silver colloidal nanoparticles. *J Prosthodont* 2012;21:7–15.
- [24] Spampinato C, Leonardi D. *Candida* infections, causes, targets, and resistance mechanisms: traditional and alternative antifungal agents. *Biomed Res Int* 2013;2013:204237.
- [25] Hibino K, Wong RW, Hägg U, Samaranayake LP. The effects of orthodontic appliances on *Candida* in the human mouth. *Int J Paediatr Dent* 2009;19:301–8.
- [26] Arendorf TM, Addy M. Candidal carriage and plaque distribution before, during and after removable orthodontic appliance therapy. *J Clin Periodontol* 1985;12:360–8.
- [27] Pithon MM, dos Santos RL, Alviano WS, de Oliveira Ruellas AC, de Souza Araújo MT. Quantitative assessment of *S. mutans* and *C. albicans* in patients with Haas and Hyrax expanders. *Dental Press J Orthod* 2012;17:21.e1–6.
- [28] Acosta-Torres LS, Mendieta I, Nuñez-Anita RE, Cajero- Juárez M, Castaño VM. Cytocompatible antifungal acrylic resin containing silver nanoparticles for dentures. *Int J Nano-medicine* 2012;7:4777–86.
- [29] Sodagar A, Kassaei MZ, Akhavan A, Javadi N, Arab S, Kharazifard MJ. Effect of silver nanoparticles on exural strength of acrylic resins. *J Prosthodont Res* 2012;56:120–4.
- [30] Yen HJ, Hsu SH, Tsai CL. Cytotoxicity and immunological response of gold and silver nanoparticles of different sizes. *Small* 2009;5:1553–61.