Republic of Iraq

Ministry of Higher Education

and Scientific Research

University of Baghdad

College of Dentistry

THE POTENTIAL ANTIBACTERIAL EFFECT OF *STEVIA REBAUDIANA (BERTONI)* ALCOHOLIC LEAVES EXTRACT AGAINST *STREPTOCOCCUS ORALIS* AND *STREPTOCOCCUS SANGUINIS*

(*In vitro study*)

A thesis submitted to the council of the College of Dentistry/ University of Baghdad in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Periodontics

Submitted by

Manar Ibrahim Ahmed

B.D.S

Supervised by

Assist. Prof. Hadeel Mazin Akram

B.D.S., MSC (Periodontics)

2022 A.D 1444 A.H

ABSTRACT

Introduction: Medicinal herbs have drawn the attention of many researchers due to their anti-microbial and health promoting properties, especially after the increase in the side effects of chemical mouthwashes. "*Stevia Raebaudiana Bertoni"*, a zero-calorie sweetener native to South America, has been used by people for about 200 years to sweeten their drinks and treat some diseases. The anti-bacterial properties of stevia extracts were studied by many researchers, but none of them adressed the effect of stevia extract on *Streptococcus oralis and Streptococcus sanguis*. The aim of this study which was to evaluate the antibacterial effect of *Stevia Rebudiana Bertoni* alcoholic leaves extract against the dental plaque primary colonizers bacteria (*S.oralis* and *S.sanguis*)) (*in vitro study*).

Materials and Methods: Sixteen supragingival plaque samples were collected from eight eople with gingivitis and cultured on mitis salivarius agar. For the identification and characterization of the isolated colonies, they were subjected to gram staining, hemolysis in blood agar plate, catalase test, optochin sensitivity and polymerase chain reaction test. The alcoholic extract of stevia leaves was prepared by maceration with 70% ethanol. The sensitivity of *Streptococcus Oralis* and *Streptococcus Sanguinis* to the study extract along with the determination of the minimum inhibitory concentration and the miniumu bactericidal concentration and the extract active component by High Performance Liquid Chromatography test were adressed in this study.

Results: There is a concentration dependent antibacterial activity of stevia extract against the study bacteria starting from 512 mg/ml to 16 mg/ml. 0.2% chlorhexidine revealed better antibacterial activity although the antibacterial

effect of 512mg/ml was somewhat closer to that of 0.2% chlorhexidine. The minimum inhibatory concentration and the minimum bactericidal concentration were 16 mg/ml and 32 mg/ml respectively. The high performance liquid chromatography analysis revealed the presence of: catechin in a relatively high concentration (30.25 ppm), rutin (28.1 ppm), naringenin (25.76 ppm), coumarin (25.47), quercetin (22.4 ppm), kaempferol (4.59), apigenin (4.45) and the least detected concentration was for dihydroxystreptomycin (0.86 ppm).

Conclusion: The anti-bacterial impact of the alcoholic *Stevia Rebaudiana Bertoni* leaves extract, in addition to containing rich anti-bacterial ingredients , were proven by this study, which could serve as a foundation for future researches into its use in oral hygiene measures. To justify its use as a threapeutic and preventative oral health intervention, more research on its antibacterial impact on periodontal pathogens is needed.

الخلاصة

المقدمة:

جذبت الأعشاب الطبية انتباه العديد من الباحثين بسبب خصائصها المضادة للميكروبات والمعززة للصحة ، خاصة بعد زيادة الآثار الجانبية لغسول الفم الكيميائي. يستخدم الناس " *Stevia Raebaudiana Bertoni*" ، وهو مُحلي خالٍ من السعرات الحرارية وموطنه الأصلي في أمريكا الجنوبية ، منذ حوالي 200 عام لتحلية مشروباتهم وعلاج بعض الأمراض. تمت دراسة الخصائص المضادة للبكتيريا لمستخلصات الستيفيا من قبل العديد من الباحثين ، ولكن لم يتناول أي منهم تأثير مستخلص الستيفيا على بكتيريا *Streptococcus Oralis* و *Streptococcus Sanguinis*. هدف هذه الدراسة كان لتقييم التأثير المضاد للبكتريا للمستخلص الكحولي لأوراق *Stevia Rebaudiana Bertoni* ضد المستعمرات الأولية للصفيحة الجرثومية (*Streptococcus Oralis* و *Streptococcus Sanguinis*).

المواد والأساليب:

تم استزراع عينات الصفيحة الجرثومية فوق انسجة ما حول الأسنان. لتحديد وتوصيف المستعمرات المعزولة ، تم إخضاعهم لتلطيخ الجرام ، تحلل الدم في صفيحة أجار الدم ، اختبار الكاتلاز ، حساسية البصريات واختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل. تم تحضير المستخلص الكحولي لأوراق الستيفيا بالنقع بنسبة 70٪ من الإيثانول. تمت معالجة حساسية *Streptococcus Oralis* و *Streptococcus Sanguinis* لمستخلص الدراسة مع تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط والحد الأدنى لتركيز القاتل للجراثيم والمكونات الفعاله للمستخلص بواسطة اختبار الكروماتوجرافيا السائلة عالي الأداء.

النتائج:

وجد هناك نشاط مضاد للبكتيريا يعتمد على تركيز مستخلص الستيفيا ضد بكتيريا الدراسة بدءًا من ٥١٢ مجم / مل إلى ١٦ مجم / مل. أظهر ٠,٢٪ من الكلورهيكسيدين نشاطًا مضادًا للبكتيريا أفضل على الرغم من أن التأثير المضاد للبكتيريا البالغ ٥١٢ مجم / مل كان أقرب إلى حد ما من تأثير الكلورهيكسيدين. كان الحد الأدنى للتركيز المثبط والحد الأدنى لتركيز القاتل للجراثيم و ١٦مجم/ مل و ٣٢ مجم / مل على التوالي.

كشف تحليل فصل السوائل الكروماتوغرافي عالي الكفاءة عن وجود العديد من المواد الكيميائية النباتية ذات النشاط المضاد للميكروبات في مستحضر الدراسة: كاتجين ٣٠,٢٥ جزء في المليون, روتين ٢٨,١ جزء في المليون, ناريجنين ٢٥,٧٦ جزء في المليون, كومارين ٢٥,٤٧ جزء في المليون, كورستين ٢٢,٤ جزء في المليون, كامفيرول ٤,٤٥ جزء في المليون و ثنائي هيدروكسي الستربتومايسين٠,٨٦ جزء في المليون).

الأستنتاج:

تم إثبات التأثير المضاد للبكتيريا لمستخلص الدراسة ، بالإضافة إلى احتوائه على مكونات غنية مضادة للبكتيريا ، من خلال هذه الدراسة ، والتي يمكن أن تكون بمثابة أساس للبحث في المستقبل حول استخدامه في تدابير نظافة الفم. لتبرير استخدامه كتدخل علاجي ووقائي لصحة الفم ، هناك حاجة إلى مزيد من البحث حول تأثيره المضاد للبكتيريا على مسببات أمراض ماحول الأسنان.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بغداد- كلية طب الأسنان

التأثير المحتمل المضاد للبكتريا لمستخلص اوراق *Stevia Rebaudiana (bertoni)* الكحولي ضد البكتريا العقدية (*Streptococcus Oralis* و *Streptococcus Sanguinis*)

(دراسة مختبرية)

رسالة مقدمة الى مجلس كلية طب الأسنان/جامعة بغداد كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في امراض وجراحة ماحول الأسنان

من قبل

منار ابراهيم احمد

بكالوريوس طب وجراحة الفم والأسنان

بأشراف

أ.م هديل مازن اكرم

بكالوريوس طب وجراحة الفم والأسنان

ماجستير امراض وجراحة ماحول الأسنان

٢٠٢٢ م ١٤٤٤هـ