Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Baghdad
College of Dentistry

COMBINATION EFFECT OF HONEY WITH NICOTINE AND TEA EXTRACT ON THE GROWTH BIOFILM FORMATION AND ACID PRODUCTION OF SALIVARY MUTANS STREPTOCOCCI (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 Oral Microbiology

By

Abbas Nsaif Abbas

B.Sc. Biology

Supervised by

Prof. Dr. Abbas S. Al-Mizraqchi

B.Sc., M.Sc., Ph.D.

2023 A.D. 1444 A.H.

ABSTRACT

Introduction: The use of herbs and natural extracts to maintain oral health in recent times is widely spread because it has few side effects, as honey and green tea play an important role as antioxidants and have many benefits, including containing antibacterial substances, and smokers' consumption of nicotine affects the effectiveness of honey and green tea, especially as they prefer smoking after hot drinks that contain sweeteners.

Aim: This study was conducted to investigate the combination effect of honey, nicotine, and green tea on the growth, biofilm formation, and acid production of salivary mutans streptococci in vitro.

Methodology : 40 samples were taken, nine isolates of mutans streptococci from dental student saliva **,** honey is harvested from farms in Iraq, Baghdad, and Al-Madden in February 2022 and prepared in a range of concentrations by serially diluting in distilled water, It was acceptable for usage, the nicotine was purchased on American market, and contained a 200 mg/ml concentration that had been serially diluted with distilled water and sanitized using millipore filters (0.20 *M*m), the aqueous green tea extract prepared by infusion of commercial tea types .the test of antimicrobial activity to the extracts was done by well diffusion method , and by agar streaking method was used to determine the extract minimum bactericidal concentration and by congo red agar determine the qualitative of biofilm and in multitier plates determine the quantities of biofilm ,and measured the acidity by pH meter to detect the delta pH .

Results: Mutans streptococci isolates were sensitive to different concentration of honey, nicotine and green tea ,there was significant different in the antimicrobial activity ($P<0.05$) between the concentration of each extract. Minimum Bactericidal Concentration against *Mutans streptococci* was 90% for honey ,45 mg\ml for nicotine and 280 mg\ml for

green tea). A current study found that biofilm formation by mutans streptococci was markedly decreased in the presence of 1\2 Minimum Bactericidal Concentration of honey, nicotine and green tea with mean of O.D 590 nm = 0.49 in comparison with honey, nicotine and green tea alone O.D 590 nm = 0.27, 0.68 and 0.15 respectively , Also the nicotine have negative effect on honey and green tea activity on inhibition the acid product.

Conclusion: honey, nicotine and green tea extracts in different concentration effectively reduced the biofilm formation and acid generation of salivary *Mutans streptococci* . While the presence of nicotine has negative effect on the ability of honey and green tea extracts in the inhibition of biofilm formation and acid production by *Mutans streptococci* in vitro study **.**

الخلاصة

المقدمة: انتشر استخدام الأعشاب والمستخلصات الطبيعية للحفاظ على صحة الفم في الآونة الأخيرة على نطاق واسع لأن لها آثار جانبية قليلة ، حيث يلعب العسل والشاي الأخضر دورًا مهمًا كمضادات للأكسدة ولهما فوائد عديدة ، بما في ذلك احتوائه على مواد مضادة للبكتيريا ، ومضادات للبكتيريا. يؤثر تناول النيكوتين على فاعلية العسل والشاي الأخضر ، خاصة وأنهم يفضلون التدخين بعد المشروبات الساخنة التي تحتوي على مواد التحلية.

الهدف : أجريت هذه الدراسة لمعرفة التأثير المركب للعسل والنيكوتين والشاي الأخضر على نمو وتكوين الأغشية الحيوية وإنتاج الحمض من العقديات الطافرة اللعابية في المختبر.

المواد وطرق العمل: تسع عزلات من العقديات الطافرة من لعاب طلاب متطوعين . ، تم استخدام العسل المأخوذ من المزارع في العراق بغداد قضاء المدائن في فبراير وتحضيره في مجموعة من التراكيز عن طريق التخفيف المتسلسل في الماء المقطر ، وكان جاهزاً للاستخدام ، وتم شراء النيكوتين من السوق الأمريكية ، وكان يحتوي على تركيز 200 مجم. / مل بعدها تم تحضيره بتراكيز متسلسلة تخفيفه بالتسلسل بالماء المقطر وتعقيمه باستخدام ميليبور فلتر . تم تحضير الشاي الاخضر بطريقة النقع بالماء الحار وتعقيمه لكي يكون جاهز للاستخدام . تم إجراء اختبار النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات بطريقة الانتشار الجيد ، و تم استخدام طريقة تخطيط الأجار لتحديد الحد الأدنى للتركز القاتل للجراثيم ، وبواسطة أجارالكانكو الاحمر لتحديد الأغشية الحيوية وفي لوحة متعددة الطبقات تحديد كمية الاغشية الحيوية المتكونه بعد وقبل اضافة المستخلص ومعرفة تاثيرها من خلال القراءة بواسطة جهاز الاليزا القارء .وقياس درجة الحموضة من خلال جهاز قارء الاس الهيدروجيني وتحديد التغير في الحموضة.

النتائج :كانت عزلات المكورات المسبحية الميوتانس حساسة ضد تراكيز مختلفة من العسل والنيكوتين والشاي الاخضر وكان هنالك اختلاف معنوي في نشاط المضادات ضد الميوتانس بين تركيز كل مستخلص . وكانت نسبة تركيز الحد الادنى القاتل للبكتريا للعسل ($P<0.005$) وللنيكوتين 45 ملغم\مل وللشاي الاخضر 280ملغم\مل وتم استخدام نصف تركيز 90%

الحد الادنى القاتل للبكتريا لتحديد كمية الاغشية باستخدام طول موجي 590 نانوميتر في جهاز الايزا فكانت القراءة للبكتريا وحدها 0.49 مقارنة مع العسل والنيكوتين والشاي الاخضر 0.27 ، 0.68، 0.15)

على التوالي كما ان النتائج اظهرت تاثير عكسي للنيكوتين على العسل والشاي الاخضر كمثبط للاغشية الحيوية وكما لها تأثير على فعالية العسل والشاي الاخضر في تثبيط الحموضة

الاستنتاج : مستخلصات العسل والنيكوتين والشاي الأخضر بتراكيز مختلفة قللت بشكل فعال من تكوين الأغشية الحيوية وتوليد حمض اللعاب بينما أثر وجود النيكوتين سلبًا على قدرة مستخلصات العسل والشاي الأخضر في تثبيط تكوين الأغشية الحيوية وإنتاج الحمض بواسطة المكورات المسبحية الميوتانس في المختبر.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بغداد
كلية طب الاسنان

التأثير الخلطي للعسل والنيكوتين والشاي على نمو وتكوين الاغشية الحيوية وانتاج الحامض للمكورات المسبحية اللعابية الميوتانس (دراسة مختبرية)

رسالة مقدمة الى مجلس كلية طب الاسنان/ جامعة بغداد كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الاحياء المجهرية الفموية

من قبل الطالب
عباس نصيف عباس الشمري
بكالوريوس احياء مجهرية

بأشراف
الاستاذ الدكتور عباس المزرقجي
دكتوراه احياء مجهرية طبية
العراق- بغداد

2023 م **1444هـ**