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

The Mineralizing Activity of Aloe Vera Gel on the Enamel and its Effect against Oral *Enterococcus Faecalis* (An In Vitro Study)

A thesis submitted to
Council of College of Dentistry / University of Mosul
In partial Fulfillments of the Requirements
For the Degree of Master of Science
In

Dental Pharmacology

By
Mohammed Hadi Saeed
Supervised by

Professor **Maha Talal AL Safar**

Lecturer **Abdulsattar Salim Mahmood**

2023 AD **1444 AH**

Abstract

Dental caries, the most prominent dental disease in the world, occurs through a dynamic process of demineralization and remineralization. The carious process has been proven to be inhibited and reversed by fluoride. The Liliaceae family of plants includes the cactus-like aloe Vera plant, which has long been valued for its therapeutic properties. It has been investigated as a remineralizing agent and has antimicrobial properties. *Enterococcus faecalis* is a Gram-positive bacterium, non-spore-forming, catalase-negative, ferments glucose, and fermentative; it has been found in common dental diseases such as periodontitis, periimplantitis and dental caries.

Aims: - This study intends to evaluate the *in vitro* effects of the local application of AV gel to demineralized teeth and compare them with the new modulation of sodium fluoride solution and its antimicrobial effect against *E. faecalis* with the agar disc diffusion method.

Materials and methods: - 15 sound permanent molar teeth were extracted and collected from patients' whose age ranges (25-30 years). All teeth were cleaned, stored in a 37% formalin solution, and used for no more than 1 month after extraction**.** The area of treatment and evaluation was the cusps of the occlusal surface on the mesial side, and each tooth was enrolled in Teflon tape with only the occlusal surface exposed. To induce demineralizing the acid etch procedure. they were equally divided into three study groups: one for the solution of saturated Aloe vera gel, two for the sodium fluoride solution, and one with distal water. Each group consisted of five teeth, and enamel microhardness was measured by Vickers hardness test initially for normal enamel (control negative), and after induction of demineralization and remineralization effects, the

same steps were done with densometric analysis to measure enamel density. Each group was treated with the solutions of the selected agents by emerging each tooth separately in 20 ml of the selected agent solution for three minutes at 10 a.m. and 8 p.m. with manual shaking,and then restored in de-ionized water for the next day at a temperature of 37°C, This procedure was repeated daily for 10 days. and the samples were reexamined for microhardness and densometric analysis and compared between groups. The microbiological study was done by using Isolated *Enterococcus faecalis* cultivated on M-Enterococcus agar and identified by the gram staining technique and Vitek 2 system. An overnight culture of cultivated *Enterococcus faecalis* brain-heart broth was prepared to be used for an antimicrobial sensitivity test. The agar disc diffusion method was used to determine the antibacterial activity of Aloe Vera extract. Different concentrations of the plant extract were tested against *E. faecalis*. of different concentrations of Aloe Vera gel extract as fresh Aloe Vera (100 %) and (50 % and 25 %) diluted with de-ionized water. After that, the disc is distributed in a plate containing *E. faecalis*. Antibiotic discs of Augmentin (Amoxicillin and Clavulanic acid 30ug) were also poured into the same plate against *E. faecalis*. Plates were incubated for 24 hours, and the zone of inhibition of the antibiotic was measured for comparison with the zone of inhibition of filter paper saturated with AVG. Enamel ground sections were made for three teeth from the same patient. The sections were prepared buccolingually by using a low-speed headpiece with a diamond-perforated disk (0.25mm). When preparing a thinly ground section, a continuous spray of water is required as the tooth gets heated up due to the friction of grinding. Finally, the grounded section is cleaned in de-ionized water for one minute, dried, and then mounted on a microscopic slide using DPX and dried for 24-48 hours to remove any air bubbles. It is then viewed under a polarized light

microscope for a sound enamel surface after the induction of the demineralization procedure and following treatment with the solutions of the selected agent.

Result: A statistically highly significant reduction was found in the microhardness and density of the enamel surface after an indication of enamel demineralization and the initiation of a carious lesion, which was confirmed by comparison between groups of distal water, giving a statistically significant difference compared with normal enamel (the control negative group) that was also confirmed by microscopic examination. There was an elevation in the microhardness values and densometric analysis and this elevation was statistically highly significant for aloe Vera and sodium fluoride. Such an observation was not seen for samples treated with distal water. A microscopic examination showed remarkable remineralization of the outer enamel surface. For the teeth treated with aloe Vera, they showed a good mineralized enamel surface, but somewhat less than the sample treated with sodium fluoride. As regards the teeth treated with distal water, they showed less or no mineralized enamel surface, except demineralization areas that appeared to be organic material. The antibacterial effect of *Aloe vera* gel extract with different concentrations of *Aloe vera* gel extract showed no antibacterial activity against *E. faecalis,* where Augmentin Antibiotic (Amoxicillin and Clavulanic Acid, 30ug) showed antibacterial activity against *E. faecalis* with a zone of inhibition measure with calibration of 22 mm.

Conclusion: Aloe Vera gel significantly increased enamel density and surface hardness and could be considered an effective natural remineralizing agent as compared with the new modulation of sodium fluoride that greatly enhanced enamel density and surface hardness and

hence are regarded as efficient remineralizing agents, while the pure extract of Aloe Vera gel showed no significant activity against the investigated microbial strain *Enterococcus faecalis*.

وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية طب الاسنان

قياس تمعدن جل الصبار على المينا وتأثيره على Enterococcus faecalis(دراسة مختبريه)

رسالة مقدمة
الى
مجلس كلية طب الاسنان
جامعة الموصل
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير
في
أدوية الفم والاسنان
تقدم بها
محمد هادي سعيد
بإشراف

الاستاذ **د. مها طلال الصفار**
المدرس **د. عبد الستار سالم محمود**

1444 هـ **2023 م**

الخلاصة

مقدمة: تسوس الأسنان ، وهو أبرز أمراض الأسنان في العالم ، ويحدث من خلال عملية ديناميكية بين سحب المعادن وإعادة المعادن . وقد ثبت أن عملية التسوس يتم تثبيطها وعكسها بواسطة الفلورايد. تشمل عائلة نباتات Liliaceae نبات الصبار، والذي تم تقييمه منذ فترة طويلة لخصائصه العلاجية. تم التحقيق فيه كعامل إعادة تمعدن وله خصائص مضادة للميكروبات. المكورات المعوية البرازية هي بكتيريا موجبة الجرام، غير مكونة للجراثيم، سلبية الكاتلاز ، تخمر الجلوكوز ، وتختمر. وقد وجدت في أمراض الأسنان الشائعة مثل التهاب اللثة والتهاب ماحول الزرعات وتسوس الأسنان..

أهداف الدراسة: تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثيرات المختبرية للتطبيق الموضعي لجل الصبار على الأسنان المسحوبة المعادن ومقارنتها مع تعديل جديد لمحلول فلوريد الصوديوم وتأثيره المضاد للميكروبات ضد بكتيريا E. faecalis مع طريقة انتشار قرص أجار.

المواد وطرق العمل: تم قلع 15 ضرسًا ثابتًا سليمًا وجمعها من أعمار المرضى (30-25 سنة). تم تنظيف جميع الأسنان وتخزينها في محلول فورمالين بنسبة 37٪ واستخدامها لمدة لا تزيد عن شهر بعد قلعها. كانت منطقة العلاج والتقييم هي نتوءات السطح الإطباقي على الجانب االقريب لخط المنتصف ، وتم احاطة كل سن في شريط تفلون مع تعرض السطح الإطباقي فقط. للحث على إزالة المعادن من إجراء الحفر الحمضي. تم تقسيمهم بالتساوي إلى ثلاث مجموعات دراسية: واحدة لمحلول جل الصبار المشبع ، واثنتان لمحلول فلوريد الصوديوم ، وواحدة بالماء المعقم. تتكون كل مجموعة من خمسة أسنان ، وتم قياس الصلابة الدقيقة للمينا بواسطة اختبار صلابة فيكرز مبدئيًا للمينا الطبيعي (سلبي التحكم) ، وبعد تحريض تأثيرات التنقية وإعادة التمعدن ، تم إجراء نفس الخطوات مع تحليل الكثافة لقياس كثافة المينا. تمت معالجة كل مجموعة بمحلول العوامل المختارة عن طريق إخراج كل سن على حدة في 20 مل من محلول العامل المختار لمدة ثلاث دقائق في الساعة 10 صباحًا و 8 مساءً. مع الرج اليدوي ، ثم إعادة السن المعالج في ماء غير مؤين لليوم التالي عند درجة حرارة 37 درجة مئوية ، وتكرر هذا الإجراء يوميًا لمدة 10 أيام. وأعيد فحص العينات لتحليل الصلادة الدقيقة والكثافة ومقارنتها بين المجموعات. أجريت الدراسة الميكروبيولوجية باستخدام المعوية البرازية المعزولة المزروعة على M-Enterococcus agar وتم التعرف عليها بتقنية صبغ الجرام ونظام .Vitek 2 تم تحضير مزرعة ليلية من المكورات المعوية البرازية المزروعة لاستخدامها في اختبار الحساسية لمضادات الميكروبات وتم استخدام طريقة نشر قرص أجار لتحديد النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص الصبار. تم اختبار تراكيز مختلفة من المستخلصات النباتية ضد .E. faecalis بتركيزات مختلفة من مستخلص جل الصبار مثل الصبار الطازج (100٪) و (50٪

و 25٪) المخفف بالماء غير المتأين. بعد ذلك ، يتم توزيع القرص في طبق تحتوي على E. faecalis. تم سكب أقراص المضادات الحيوية من Augmentin (Amoxicillin و Clavulanic acid 30ug) في نفس اللوحة ضد E. faecalis. تم تحضين الصفائح لمدة 24 ساعة، وتم قياس منطقة تثبيط المضاد الحيوي للمقارنة مع منطقة تثبيط ورق الترشيح المشبع بجل الصبار .تم عمل مقاطع نسيجيه من المينا لثلاثة أسنان من نفس المريض وتم تحضير المقاطع بشكل جانبي من السن باستخدام أداة قطع منخفضة السرعة بقرص مثقب بالماس (0.25 مم).. عند تحضير مقطع النسيجي رقيق ، يلزم رش الماء باستمرار حيث يتم تسخين السن بسبب احتكاك الطحن. أخيرًا ، يتم تنظيف المقطع النسيجي في ماء غير مؤين لمدة دقيقة واحدة ، ثم تجفيفه ، ثم يتم تثبيته على شريحة مجهرية باستخدام DPX وتجفيفه لمدة 24-48 ساعة لإزالة أي فقاعات هواء.. ثم يُنظر إليه تحت مجهر ضوئي مستقطب لسطح مينا صوتي بعد تحريض إجراء التنقية وبعد العلاج بمحلول العامل المحدد.

النتائج: تم العثور على انخفاض ذو دلالة إحصائية في الصلادة الدقيقة وكثافة سطح المينا بعد الإشارة إلى إزالة المعادن من المينا وبدء آفة نخريه، والتي تم تأكيدها من خلال المقارنة بين مجموعات المياه المعقمه، مما يعطي فرقًا مهمًا إحصائيًا مقارنة بالمينا الطبيعية. (المجموعة السلبية الضابطة) والتي تم تأكيدها أيضًا من خلال الفحص المجهري.، كان هناك ارتفاع في قيم الصلادة الدقيقة وتحليل الكثافة. كان هذا الارتفاع ذو دلالة إحصائية عالية بالنسبة للصبار وفلوريد الصوديوم. لم تتم ملاحظة مثل هذه الملاحظة للعينات المعالجة بالمياه المعقمة. أظهر الفحص المجهري إعادة تمعدن ملحوظة لسطح المينا الخارجي. بالنسبة للأسنان المعالجة بالصبار، فقد أظهروا سطح مينا معدني جيد، ولكن أقل إلى حد ما من العينة المعالجة بفلوريد الصوديوم. بينما عولجت الأسنان بالمياه المعقمه ، أظهروا سطح مينا أقل معادن أو معدومًا ، فقط مناطق إزالة المعادن التي بدت وكأنها مادة عضوية. التأثير المضاد للبكتيريا لمستخلص جل الصبار الذي أظهر تراكيز مختلفة من مستخلص هلام الصبار عدم وجود نشاط مضاد للجراثيم ضد E. faecalis ، بينما أظهر المضاد الحيوي Augmentin (Amoxicillin and Clavulanic Acid ، 30 ug) نشاطًا مضادًا للبكتيريا ضد E. faecalis مع منطقة قياس تثبيط مع معايرة 22 مم.

الخلاصة: زاد جل الصبار بشكل كبير من كثافة المينا وصلابة السطح ويمكن اعتباره عامل إعادة تمعدن طبيعي فعال مقارنة بالتعديل الجديد لفلوريد الصوديوم الذي عزز بشكل كبير كثافة المينا وصلابة السطح وبالتالي يعتبر عوامل فعالة لإعادة التمعدن ، في حين لم يظهر مستخلص جل الصبار أي نشاط معنوي ضد السلالة الميكروبية المعوية البرازية التي تم فحصها.