ORIGINAL ARTICLE

Comparison of the Effect of Grape Seed Extract with and without Fluoride Varnish and their Synergistic Effects on Oral Lactobacillus acidophilus and Streptococcus mutans-an in-vitro Study

Azam Nahvi[1],
Ali Jafari[2],
Hamid Reza Goli[3],
Ali Davoodi[4],
Seyed Jaber Mousavi[5],
Mahnaz Nemati[2],
Banafsheh Soleimani[6]

[1] Associate Professor, Department of Pediatric Dentistry, Faculty of Dentistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Dentist, Sari, Iran
[3] Associate Professor, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Associate Professor, Department of Community Medicine, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[6] Pediatric Dentist, Sari, Iran

(Received October 17, 2023; Accepted November 5, 2023)

Abstract

Background and purpose: Fluoride varnish application is a successful approach in preventative dentistry. Considering the antimicrobial capabilities of Grape Seed Extract (GSE) and its impact on tooth re-mineralization, the current study was conducted to comparre the effect of this extract, with and without fluoride varnish, as well as their synergistic effects on the caries-causing bacteria *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*.

Materials and methods: In the current laboratory-analytical study, the disk agar diffusion (growth inhibition halo) and microbroth dilution tests were used to investigate the antibacterial properties and minimum inhibitory concentration (MIC) of the compounds. Ampicillin and Erythromycin discs were utilized for positive control, and sterile physiological serum was used for negative control. The collected data was analyzed using SPSS software (version 16) and analysis of variance (ANOVA), Kruskal-Wallis, U-Man-Whitney, and independent t-tests.

Results: The largest diameter of the growth inhibition halos in *S. mutans* and *L. acidophilus* were found in 2.5 mg/ml varnish (12.0±0.7 mm) and 5 mg/ml GSE (13.6±1.1 mm), respectively. Moreover, the smallest halo diameter was recorded in 2.5 mg/ml GSE (7.0±0.9 mm) and the combination of the two extracts at 2.5 mg/ml concentration (5.6±0.9 mm), respectively. Varnish had the lowest MIC in both bacterial species tested (1.8±0.7 mg/ml), and there was no evidence of a synergistic interaction between the two compounds; however, GSE performed comparatively similar to varnish at a dosage of 5 mg/ml.

Conclusion: Based on the findings of the present study, GSE can be considered an acceptable alternative to fluoride varnish in the early phases of dental caries treatment and prevention.

Keywords: fluoride varnish, grape seed extract, GSE, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus mutans*

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (Supple 1):48-58 (Persian).

Corresponding Author: Banafsheh Soleimani- Faculty of Dentistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: banafsheh.soleimani@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-26]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره ویژه نامه 1 آبان سال 1402 (58-48)

مقایسه‌ی تأثیر عصاره‌ی هسته‌ی انگور با و بدون وارنیش‌فلوراید و اثر سینرژیسم آن‌ها بر استرپتوکوکوس‌موتانس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دهانی؛ یک پژوهش آزمایشگاهی

اعظم نحوی[1]
علی جعفری[2]
حمیدرضا گلی[3]
علی داوودی[4]
سید جابر موسوی[5]
مهناز نعمتی[2]
بنفشه سلیمانی[6]

چکیده

سابقه و هدف: استفاده از وارنیش‌فلوراید رویکردی مؤثر در دندان‌پزشکی پیشگیرانه است. با توجه به خواص آنتی‌میکروبیال عصاره‌ی هسته‌ی انگور (GSE: Grape Seed Extract) و اثرگذاری آن بر رمینرالیزاسیون دندانی، مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی تأثیر این عصاره با و بدون وارنیش‌فلوراید و نیز اثر سینرژیسم آن‌ها بر باکتری های پوسیدگی زای *استرپتوکوکوس‌موتانس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در مطالعه آزمایشگاهی و تحلیلی حاضر، از تست‌های دیسک آگار دیفیوژن (قطر هاله‌ی مهار رشد) و میکروبراث دایلوشن برای بررسی خواص آنتی‌باکتریال و حداقل غلظت مهاری (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) ترکیبات استفاده شد. برای کنترل مثبت، از دیسک آمپی‌سیلین و اریترومایسین و برای کنترل منفی، از سرم فیزیولوژیک استریل استفاده شد. تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS ورژن 16 و آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و نیز آزمون‌های کروسکال‌والیس، یو من‌ویتنی و تی مستقل صورت گرفت. P<0/05 معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: بیشترین قطر هاله‌ی مهار رشد در *استرپتوکوکوس‌موتانس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به‌ترتیب، در وارنیش 2/5 (12/0±0/7mm) و 5 mg/ml GSE (13/1±6/1mm) و نیز کمترین قطر هاله به‌ترتیب، در GSE 2/5 (7/0±0/9mm) و ترکیب دو عصاره در غلظت 2/5 mg/ml (5/0±6/9mm) به ثبت رسید. وارنیش کمترین MIC را در هر دو گونه‌ی باکتریایی به ثبت رساند (1/0±8/7mg/ml) و هیچ گونه اثری از سینرژیسم میان دو ماده دیده نشد؛ بااین‌حال، GSE در غلظت 5 mg/ml عملکردی نسبتاً مشابه با وارنیش نشان داد.

استنتاج: GSE می تواند جایگزینی مناسب برای وارنیش‌فلوراید به‌منظور پیشگیری و کنترل پوسیدگی‌های دندانی در مراحل اولیه در نظر گرفته شود.

واژه های کلیدی: *استرپتوکوکوس‌موتانس*، عصاره‌ی هسته‌ی انگور، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، وارنیش‌فلوراید، GSE

مولف مسئول: بنفشه سلیمانی - ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی E-mail: banafsheh.soleimani@yahoo.com

1. دانشیار، گروه کودکان، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
2. دندان‌پزشک، ساری، ایران
3. دانشیار، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
4. استادیار، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
5. دانشیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
6. متخصص دندان‌پزشک اطفال، ساری، ایران

تاریخ دریافت : 1402/7/25 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1402/8/6 تاریخ تصویب : 1402/8/14

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-26]

مقدمه

پوسیدگی دندانی از بیماری‌های شایع مزمن کودکان و بزرگ‌سالان در سراسر جهان است(1). متابولیسم کربوهیدرات‌ها توسط باکتری‌های کلونیزه‌شده بر سطوح دندانی سبب تولید اسید، دمینرالیزاسیون و ایجاد حفره‌های پوسیدگی دندانی می‌شود(2). از گونه‌های مهم باکتریایی مؤثر در ایجاد پوسیدگی می‌توان به *استرپتوکوکوس‌موتانس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* اشاره کرد(3). امروزه، محققان بر این باورند که پوسیدگی‌های اولیه به‌خوبی بازگشت‌پذیر هستند و توقف دمینرالیزاسیون مینایی با مهار تشکیل پلاک و فاکتورهای حفاظتی بزاق ممکن خواهد بود(1). فلورایـد و ترکیبات حاوی آن از مواد مهم موجود در دندان‌پزشکی پیشگیرانه است. فلوراید مانع دمینرالیزاسیون و نیز سبب تحریک رمینرالیزسیون مینایی می‌شود. هم‌چنین، در متابولیسم باکتری‌های پوسیدگی‌زا مداخله می‌کند(4). استفاده از Minimally Invasive (MI) Varnish شیوه‌ی درمانی پیشگیرانه‌ای است که با آزادسازی ترکیبات کلسیم، فسفات و فلوراید، می‌تواند نقشی کلیدی در توقف پوسیدگی دندانی ایفا کند. این محصول بیش از سایر وارنیش‌های فلوراید موجود، بر سطوح دندانی باقی می‌ماند و مقادیر بالای فلوراید و کلسیم را در حفره‌ی دهان آزاد می‌کند(5). به‌طور کلی، وارنیش‌ها بیش از دیگر محصولات حاوی فلوراید، نظیر دهان‌شویه و خمیردندان‌ها، به سطوح دندانی می‌چسبند و لذا، به‌عنوان منابع آزادکننده‌ی آهسته عمل می‌کنند(6). غلظت یون فلوراید پس از استفاده از وارنیش، به بیش از ppm 12000 نیز می‌رسد. این غلظت برای برخی از باکتری‌ها، نظیر *استرپتوکوکوس‌موتانس*، سمی است. هم‌چنین، مهار رشد این باکتری تا هفته‌ها ادامه خواهد یافت(7). در سال‌های اخیر، توجه به خواص درمانی گیاهان دارویی و مواد طبیعی حاصل از آن‌ها، به‌منظور یافتن موادی با فعالیت ضدپوسیدگی در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) و بالینی (in vivo)، افزایش چشمگیری یافته است(8). از بین این فیتوکانستیتوئنت‌ها (Phytoconstituents)، چندین ماده‌ی پلی‌فنولیک، مانند تانین (کاتشین) و فلاوونوئیدها، قابل اعتمادتر از سایر مولکول‌های زیستی به نظر می‌رسند(8). پتانسیل ضدپوسیدگی درخور توجهی در آلکالوئیدها مشاهده شده است(8). تانین موجود در متابولیت‌های گیاهی می‌تواند از ایجاد پلاک میکروبی دندانی جلوگیری کند و باعث پیشرفت رمینرالیزاسیون مینای دندان شود(8). انگور (*Vitis vinifera L.*) از گیاهانی است که دارای ترکیبات پلی‌فنولیک، به‌خصوص تانین‌ها و فلاوونوئیدها است(8). انگور منبعی سرشار از ویتامین‌ها و فیبر است و پوست و هسته‌ی آن غنی از پلی‌فنول‌ها (Polyphenols) و به‌طور ویژه Proanthocyanidins است(9). هم‌چنین، عصاره‌ی هسته‌ی انگور (Grape Seed Extract: GSE) خواص دارویی درخور توجهی دارد که استفاده از آن برای درمان بسیاری از بیماری‌ها، از جمله سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی‌عروقی، زخم معده و التهابات پوستی مؤثر است(9). به‌علاوه، GSE به‌علت پتانسیل ترمیم دندان، پیشگیری از پوسیدگی و غنی بودن از مواد آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب، همواره شایسته‌ی توجه بوده است(1، 10). اتصال GSE به سوبسترای کربوهیدرات که برای پرولیفراسیون میکروارگانیسم‌ها ضروری است، مانع از تشکیل پلاک روی سطح دندان می‌شود(1). همچنین، آثار GSE علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی گزارش شده است(10).

با توجه به نقش مهم پیشگیری از پوسیدگی دندانی در بهبود سلامت عمومی جامعه و نیز وجود اثرهای آنتی‌باکتریال در عصاره‌ی هسته‌ی انگور (GSE)، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثرهای ضدمیکروبی GSE در مقایسه با وارنیش‌فلوراید MI و نیز ترکیب این دو و ارزیابی اثرهای سینرژیسم احتمالی علیه دو گونه‌ی باکتریایی پوسیدگی‌زای *استرپتوکوکوس‌موتانس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* انجام شد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-26]

مواد و روش‌ها

مطالعه‌ی تجربی و آزمایشگاهی (in vitro) حاضر با کد اخلاق IR.MAZUMS.REC.1399.005، به تصویب کمیته‌ی اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی مازندران رسید.

تهیه عصاره‌ی هسته‌ی انگور

ابتدا، نمونه‌ی هرباریومی انگور (*Vitis vinifera L.*) خریداری‌شده را هیئت‌علمی گروه فارماکوگنوزی دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران تأیید کرد (BE2-22-211) و هسته‌های انگور جداسازی شد. برای عصاره‌گیری از هسته‌های انگور، از روش پرکولاسیون استفاده شد و استانداردسازی بر اساس فنول تام و با روش فولین‌سیوکالتیو انجام شد. بدین منظور، عصاره‌ی تهیه‌شده با روتاری غلیظ شد و با فریزدرایر به‌صورت پودر خشک درآمد. همچنین، برای تعیین فنل تام، مقدار 1 میلی‌لیتر از محلول 1 میلی‌گرم بر میلی‌لیتری عصاره با 1 میلی‌لیتر محلول 3 برابر رقیق‌شده‌ی واکنشگر فولین ترکیب و به لوله‌ی آزمایش منتقل شد. سپس، برای مدت 5 دقیقه در دمای اتاق و محلی تاریک، انکوبه شد و مقدار 1 میلی‌لیتر محلول 10 درصد (W/W) سدیم‌کربنات به آن اضافه و برای مدت 60 دقیقه، در دمای اتاق انکوبه شد و در نهایت، در طول موج 765 نانومتر، با دستگاه اسپکتروفوتومتر، جذب آن خوانده شد. هم‌چنین، منحنی کالیبراسیون با استفاده از مقادیر استاندارد گالیک‌اسید و با انجام پروسه‌ی قبلی بر گالیک اسید، تهیه و تنظیم شد و مقدار تام ترکیبات فنلیک تعیین شد. این مراحل روی عصاره تا سه بار تکرار و نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد. هم‌چنین، به‌عنوان بلانک از محلولی استفاده شد که از ابتدا، بدون عصاره و حاوی بقیه‌ی اجزای واکنش بود(8،11،12).

کشت باکتریایی و تهیه‌ی غلظت‌های لازم

دو سویه‌ی استاندارد *استرپتوکوکوس‌موتانس* (*Streptococcus mutans PTCC 1683*) و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (*Lactobacillus acidophilus ATCC 4356*) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، به‌صورت لیوفیلیزه، خریداری شد. به‌منظور احیا و رشد باکتری‌های لیوفیلیزه، 1 میلی‌لیتر محیط کشت براث (مایع) به ماده‌ی خشک (باکتری لیوفیلیزه) اضافه و مخلوط شد تا به شکل سوسپانسیونی یکنواخت درآید. بدین صورت که از محیط کشت MRS براث برای کشت *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و از محیط کشت TSB (حاوی 5 درصد خون گوسفند) برای کشت *استرپتوکوکوس‌موتانس* استفاده شد. سپس، محتویات روی MRS آگار و بلاد آگار، به‌ترتیب برای رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *استرپتوکوکوس‌موتانس*، کشت داده شدند و به مدت 48 ساعت، در دمای 37 درجه‌ی سانتی‌گراد، در جار بی‌هوازی (در دستگاه whitley jar gassing system و در شرایط خلأ) و در 10 درصد CO_2(در انکوباتور CO_2دار شرکت Binder، آلمان)، به‌ترتیب برای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *استرپتوکوکوس‌موتانس*، انکوبه شدند و برای تأیید این سویه‌ها، تست‌های میکروب‌شناسی در آزمایشگاه میکروبی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شد. سپس، باکتری‌ها در فریزر با دمای 20- درجه‌ی سانتیگراد تا روز آزمایش نگهداری شدند.

در روز آزمایش، باکتری‌های مذکور روی محیط‌های کشت خود، کشت داده شدند و به مدت 48 ساعت، در شرایط مذکور انکوبه شدند. پس از رشد و مشاهده کلونی باکتری‌ها، سوسپانسیون میکروبی با کدورت نیم مک‌فارلند (معادل $1/5\times10^8$ CFU/ml) در سرم فیزیولوژیک استریل (نرمال سالین) تهیه شد و جذب نوری آن در 625 نانومتر، اندازه‌گیری شد. جذب نوری در محدوده‌ی 0/08 تا 0/13 ثبت شد و با استاندارد نیم مک‌فارلند از لحاظ کدورت، مقایسه شد. سپس، غلظت‌های متفاوتی از وارنیش‌فلوراید (V-Varnish، Vericom، Korea) و عصاره‌ی هسته‌ی انگور و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-26]

آنتی‌بیوتیک‌های حاضر در مطالعه تهیه شد. غلظت‌های 5 و 2/5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از وارنیش، GSE و نیز مخلوط دو عصاره در حلالی حاوی 90 درصد آب‌مقطر و 10 درصد دی‌متیل‌سولفواکسید (DMSO) تهیه شد. همچنین، از ترکیب آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و آمپی‌سیلین (سیگما، آلمان) برای کنترل مثبت یافته در غلظت‌های 128، 64، 32، 16، 8، 4، 2، 1 و 0/5 µg/ml استفاده شد.

آزمایش دیسک آگار دیفیوژن

ابتدا کدورت‌های استاندارد نیم مک‌فارلند تهیه‌شده از باکتری‌های مورد آزمایش با استفاده از سوآپ سرپنبه‌ای، روی محیط‌های کشت مذکور، به‌صورت چمنی (سفره‌ای)، کشت داده شد. سپس، دیسک‌های کاغذی بلانک (پادتن طب، ایران) به قطر 6 میلی‌متر در پلیت‌های حاوی محیط کشت، با فاصله‌ی 15 میلی‌متر از لبه‌ی پلیت و 25 میلی‌متر از یکدیگر قرار داده شدند و به آن‌ها 20 میکرولیتر از غلظت‌های متفاوت از GSE و وارنیش‌فلوراید و نیز ترکیب این دو، اضافه شد. در این آزمایش، دیسک 15میکروگرمی اریترومایسین و دیسک 10میکروگرمی آمپی‌سیلین و هم‌چنین، غلظت‌های متفاوت از هر دو آنتی‌بیوتیک، به‌عنوان کنترل مثبت، به مقدار 20 میکرولیتر به دیسک‌های بلانک اضافه شد و سرم فیزیولوژیک استریل نیز کنترل منفی در نظر گرفته شد. همچنین، حلال DMSO به‌عنوان شاهد، به یک دیسک بلانک در هر دو محیط کشت اضافه شد تا وجود اثر آنتی‌باکتریال را مشخص کند. سپس، محیط‌های کشت در انکوباتور 37 درجه‌ی سانتی‌گراد با شرایط بی‌هوازی (برای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) و در 10 درصد CO_2 (برای *استرپتوکوکوس‌موتانس*) قرار داده شدند و بعد از 48 ساعت، قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری‌ها برحسب میلی‌متر و با خط‌کش اندازه‌گیری و مقایسه شدند. هر آزمایش برای هر باکتری، پنج بار تکرار شد و میانگین و انحراف معیار هاله‌های عدم رشد محاسبه شد(13).

بررسی حداقل غلظت مهاری عصاره‌ها (Minimum Inhibitory Concentration (MIC))

به‌منظور تعیین MIC عصاره‌ی هسته‌ی انگور، وارنیش‌فلوراید و ترکیب آن‌ها، از غلظت 5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر ترکیبات و از روش Microbroth Dilution و میکروپلیت 96خانه‌ای Uشکل استریل استفاده شد. ابتدا، 100 میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث برای *استرپتوکوکوس‌موتانس* و MRS براث حاوی سیستئین برای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به تمام چاهک‌ها اضافه شد. سپس، رقت‌های سریالی از GSE، وارنیش‌فلوراید و ترکیب این دو در چاهک‌های میکروپلیت تهیه شد. میکروپلیت 96خانه‌ای Uشکل دارای 8 ردیف و 12 ستون است. ستون‌های 1 تا 10 حاوی غلظت‌های مختلف ماده‌ی مدنظر و سوسپانسیون میکروبی بود و ستون 11 به‌عنوان کنترل منفی تنها، حاوی محیط کشت و ترکیب مدنظر و ستون 12 نیز به‌عنوان کنترل مثبت تنها، حاوی محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی بود. بدین صورت که ابتدا 100 میکرولیتر از GSE با غلظت 5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به چاهک اول اضافه شد و سپس، غلظت‌های مختلف تا 9 شماره رقت از چاهک دوم به چاهک آخر (2/5، 1/25، 0/625، 0/312، 0/156 و...) افزوده شد. در مرحله‌ی بعد، 100 میکرولیتر از سوسپانسیون 0/5 مک‌فارلند 1/100 رقیق‌شده‌ی باکتری مدنظر به هریک از چاهک‌ها اضافه شد که در این حالت، تعداد باکتری‌ها در هر چاهک معادل 10^5 CFU/mL بود. در نهایت، میکروپلیت‌ها به مدت 24 تا 48 ساعت، در دمای 37 ° C و در شرایط مساعد هر باکتری، انکوبه شدند. با بررسی چشمی کدورت ایجادشده در چاهک‌ها، کمترین رقت از ماده‌ی مدنظر که در چاهک مربوط به آن رقت کدورتی مشاهده نمی‌شد، میزان MIC در نظر گرفته شد. مجدداً از پودر اریترومایسین و آمپی‌سیلین به‌عنوان کنترل استفاده شد(13, 14). به‌منظور تأیید نتایج، تمامی مراحل پنج بار تکرار شدند(13).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-26]

آنالیزهای آماری

داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی 16 آنالیز شدند. برای توصیف داده‌ها از شاخص‌های مرکزی (میانگین و میانه) و پراکندگی (انحراف معیار، دامنه‌ی میان چارکی و دامنه‌ی داده‌ها) استفاده شد. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیروویلک بررسی شد. تحلیل داده‌ها با آزمون‌های کروسکال‌والیس (Kruskal-Wallis) با پست هاک‌دان، تی مستقل و یو من‌ویتنی (U Mann-Whitney) انجام شد. سطح معنی‌داری کم‌تر از 0/05 در نظر گرفته شد($P<0/05$).

یافته‌ها

مقایسه‌ی قطر هاله‌ی عدم رشد در آزمایش Disk Agar Diffusion

در جدول شماره 1، بیش‌ترین، کم‌ترین و میانگین ± انحراف معیار قطر هاله‌های عدم رشد گروه‌های سه‌گانه در غلظت‌های مورد مطالعه در دو گونه‌ی باکتریایی ذکر شده است. بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری *استرپتوکوکوس موتانس* به‌ترتیب، در وارنیش 2/5 mg/ml و عصاره‌ی انگور 2/5 mg/ml دیده شد. در گونه‌ی باکتریایی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد به‌ترتیب، در عصاره‌ی وارنیش 5 mg/ml و ترکیب دو ماده در غلظت 2/5 mg/ml به ثبت رسید.

در مقایسه درون‌گروهی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها به‌تفکیک گونه‌ی باکتریایی، تنها در عصاره انگور تفاوت چشمگیری میان دو غلظت 2/5 و 5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد($P=0/004$). بااین‌حال، در گونه‌ی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، اختلاف چشمگیری میان غلظت‌های دوگانه در تمامی گروه‌ها به دست آمد ($P<0/05$). مقایسه‌ی قطر هاله عدم رشد عصاره‌ها در غلظت‌های یکسان نیز در *استرپتوکوکوس موتانس* نشان

جدول شماره 1: مقایسه قطر هاله عدم رشد (برحسب میلی متر) بر اساس شاخص های دوگانه به‌تفکیک نوع گونه‌ی باکتریایی

باکتری	شاخص	گروه / غلظت (mg/ml)	غلظت (mg/ml)/ گروه	تعداد	انحراف معیار ± میانگین	بیش‌ترین و کم‌ترین	سطح معناداری
استرپتوکوکوس موتانس	مقایسه‌ی درون‌گروهی ترکیبات	عصاره‌ی انگور	5	5	11/1± 1/4	13 10	T=4/00
			2/5	5	7/0±0/9	10 8	P=0/004
		وارنیش	5	5	10/5±8/5	14 1	Z=0/98
			2/5	5	12/0±0/7	13 11	P=0/421
		ترکیب	5	5	9/8±0/8	11 9	Z=0/57
			2/5	5	9/0±4/9	10 8	P=0/690
	مقایسه در غلظت‌های مساوی	5	عصاره‌ی انگور	5	11/1±4/1	13 10	χ^2=4/84
			وارنیش	5	10/5±8/5	14 1	P=0/089
			ترکیب	5	9/8±0/8	11 9	
		2/5	عصاره‌ی انگور	5	7/0±0/9	10 8	χ^2=10/15
			وارنیش	5	12/0±0/7	13 11	P=0/006
			ترکیب	5	9/0±4/9	10 8	
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	مقایسه‌ی درون‌گروهی ترکیبات	عصاره‌ی انگور	5	5	13/1±6/1	15 12	T=2/67
			2/5	5	12/0±0/7	13 11	P=0/029
		وارنیش	5	5	13/0±6/5	14 13	Z=2/69
			2/5	5	11/0±0/7	12 10	P=0/008
		ترکیب	5	5	9/0±2/8	10 8	Z=2/66
			2/5	5	5/0±6/9	7 5	P=0/008
	مقایسه در غلظت‌های مساوی	5	عصاره‌ی انگور	5	13/1±6/1	15 12	χ^2=9/84
			وارنیش	5	13/0±6/5	14 13	P=0/007
			ترکیب	5	9/0±2/8	10 8	
		2/5	عصاره‌ی انگور	5	12/0±0/7	13 11	χ^2=11/30
			وارنیش	5	11/0±0/7	12 10	P=0/004
			ترکیب	5	5/0±6/9	7 5	

T: نتیجه آزمون تی مستقل Z: نتیجه آزمون یو من‌ویتنی χ^2: نتیجه آزمون کروسکال‌والیس

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-26]

داد که تفاوت معنی‌داری بین ترکیبات گوناگون در غلظت 5 mg/ml وجود ندارد(P=0/089). بااین‌حال، قطر هاله‌ی عدم رشد گروه‌های سه‌گانه برای *استرپتوکوکوس‌موتانس* در غلظت 2/5 mg/ml و برای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در هر دو غلظت مورد مطالعه به‌صورت درخور توجهی متفاوت بود(P<0/05). هم‌چنین، در هیچ‌یک از غلظت‌های مطالعه‌شده در دو گونه باکتریایی، ترکیب عصاره‌ی انگور و وارنیش‌فلوراید سبب افزایش مؤثر قطر هاله مهار رشد نسبت به هریک از عصاره‌ها به‌تنهایی نشد.

نتایج بررسی حداقل غلظت مهاری عصاره‌ها (Minimum Inhibitory Concentration (MIC))

مقایسه میانگین حداقل غلظت مهاری عصاره‌ها در غلظت 5 mg/ml (جدول شماره 2) نشان داد که گروه‌های سه‌گانه در هر دو گونه‌ی باکتری، تفاوت چشمگیری با یکدیگر دارند(P<0/05). هم‌چنین، ترکیب دو ماده‌ی عصاره هسته انگور و وارنیش‌فلوراید سبب افزایش درخور توجه حداقل غلظت مهاری در هر دو گونه‌ی *استرپتوکوکوس‌موتانس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* شد.

جدول شماره 2: مقایسه MIC بین گروه ها به‌تفکیک گونه‌ی باکتریایی (برحسب mg/ml)

باکتری	گروه	تعداد	انحراف معیار ± میانگین	کم‌ترین بیش‌ترین	سطح معناداری (آزمون کروسکال‌والیس)
استرپتوکوکوس موتانس	عصاره‌ی انگور	5	3/1±5/4	5/0 2/5	χ^2=10/36 P=0/006
	وارنیش	5	1/0±8/7	2/5 1/3	
	ترکیب	5	5/0±0/0	5/0 5/0	
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	عصاره‌ی انگور	5	1/0±8/7	2/5 1/3	χ^2=10/61 P=0/005
	وارنیش	5	1/0±8/7	2/5 1/3	
	ترکیب	5	5/0±0/0	5/0 5/0	

بحث

این مطالعه‌ی آزمایشگاهی با هدف ارزیابی خواص آنتی‌باکتریال عصاره هسته انگور (GSE) در مقایسه با وارنیش‌فلوراید (V-Varnish) بر دو گونه‌ی باکتریایی پوسیدگی‌زای دندانی (*استرپتوکوکوس‌موتانس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) و نیز بررسی وجود سینرژیسم احتمالی ترکیب این دو ماده با یکدیگر انجام شد.

در این مطالعه، بیشترین میانگین هاله‌های عدم رشد *استرپتوکوکوس‌موتانس* در گروه وارنیش‌فلوراید با غلظت 2/5 mg/ml (12/0±0/7 mm) و با اختلافی اندک پس از آن، در گروه GSE با غلظت 5 mg/ml (11/1±4/1mm) و نیز کمترین قطر هاله در گروه GSE با غلظت 2/5 mg/ml (7/0±0/9 mm) مشاهده شد. هم‌چنین، افزایش اثر آنتی‌میکروبیال GSE با افزایش غلظت ماده بر *استرپتوکوکوس‌موتانس* دیده شد که با یافته‌های Zhao و همکاران همسو است. ایشان در مطالعه‌ی خود، اثربخشی غلظت‌های متفاوت GSE علیه بیوفیلم‌های *استرپتوکوکوس‌موتانس* را بررسی کردند و نشان دادند که این عصاره در غلظت 2mg/ml و 3 سبب مهار چشمگیر تشکیل کلونی‌های این باکتری می‌شود و این اثربخشی به دوز وابسته است(10). یافته‌های مطالعه‌ی Swadas و همکاران که در آن، اثرهای آنتی‌باکتریال کلرهگزیدین گلوکونات 2 درصد و غلظت‌های مختلف GSE را بر *استرپتوکوکوس‌موتانس* بررسی کردند، نشان داد که GSE برخلاف غلظت‌های پایین، در غلظت‌های 250mg/ml و 500mg/ml، دارای اثرهای مهاری چشمگیری نسبت به گروه کنترل منفی بر تعداد کلونی‌های این گونه‌ی باکتریایی است؛ بااین‌حال، هم‌چنان کلرهگزیدین تأثیرگذارتر بوده است(8). پژوهش ایشان از نقطه‌نظر وابستگی اثر آنتی‌باکتریال GSE به دوز، با مطالعه حاضر همسو است؛ با این‌حال، اختلاف درخور توجهی میان یافته‌های دو مطالعه در خصوص غلظت‌های بررسی‌شده وجود دارد. تفاوت در گروه کنترل مثبت در مطالعه ایشان و مطالعه حاضر و نیز تفاوت در چگونگی بررسی اثرهای مهاری GSE را می‌توان از علل احتمالی تفاوت در نتایج دو پژوهش دانست. در مطالعه حاضر، بیش‌ترین میانگین هاله‌های عدم رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در GSE و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-26]

وارنیش‌فلوراید 5 mg/ml (به‌ترتیب با 13/1±6/1 mm و 13/0±6/5mm) و کم‌ترین میانگین هاله‌ی مهار رشد در ترکیب دو عصاره در غلظت 2/5 mg/ml (5/0±6/9mm) دیده شد. اثرگذاری وابسته به دوز در هر سه گروه GSE، وارنیش و ترکیب دو عصاره دیده شد. همچنین، میانگین قطر هاله‌ی عدم رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در غلظت‌های دوگانه‌ی مورد مطالعه، در گروه‌های GSE و وارنیش، بزرگ‌تر از *استرپتوکوکوس موتانس* بود. در مطالعه‌ی Ramy و Rajasekar که به بررسی اثر آنتی‌باکتریال GSE تقویت‌شده با نانوذرات تیتانیوم دی‌اکساید بر باکتری‌های گرم مثبت پرداخته بودند، هاله‌ی عدم رشد بزرگ‌تری در گونه‌های لاکتوباسیلوس نسبت به *استرپتوکوکوس موتانس* مشاهده شد(15). یافته‌های مطالعه‌ی Tabasco و همکاران نیز بیانگر تأثیر چشمگیر GSE بر مهار رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بود(16)؛ لذا، یافته‌های این دو مطالعه با مطالعه‌ی حاضر همسو است. نتایج پژوهش Hervert-Hernández و همکاران، همچون مطالعه‌ی حاضر، حاکی از اثرهای مهاری GSE بر رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بود. ایشان همچنین، افزایش قطر هاله‌ی عدم رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را با افزایش غلظت GSE گزارش کردند که همسو با یافته‌های این مطالعه است(17). در بررسی رقت‌های سریالی از گروه‌های سه‌گانه در این پژوهش، وارنیش‌فلوراید در هر دو گونه‌ی باکتریایی بهترین عملکرد را نشان داد و میانگین کمترین حداقل غلظت مهاری (MIC) در این گروه به ثبت رسید (1/0±8/7 mg/ml). GSE در مهار رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* عملکرد مهاری مشابهی با وارنیش نشان داد؛ بااین‌حال، در مهار *استرپتوکوکوس موتانس* در غلظت‌های پایین موفق نبود. حداقل غلظت مهاری GSE علیه *استرپتوکوکوس موتانس* در مطالعه‌ی Zhao و همکاران، 2 mg/ml الی 3 گزارش شده است که از میانگین به‌دست‌آمده در مطالعه‌ی حاضر (3/1±5/4mg/ml) کم‌تر است(10).

بااین‌حال، Smullen و همکاران در پژوهش خود، یافته‌هایی کاملاً مغایر با مطالعه‌ی حاضر گزارش کرده‌اند. در مطالعه‌ی ایشان، حداقل غلظت مهاری عصاره‌ی هسته‌ی انگور قرمز (*Vitis vinifera*) در *استرپتوکوکوس موتانس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به‌ترتیب، 0/5 mg/ml و 8 به دست آمد(18). هسته‌ی انگور به‌طور چشمگیری غنی از ترکیبات فنولیک، نظیر فلاوونوئیدها، پروسیانیدین‌ها و آنتوسیانین‌ها است(19). با وجود این، تمام این محتوای فنولیک توسط فرایندهای مختلف عصاره‌گیری از هسته‌های انگور استخراج‌شدنی نیست(17)؛ در نتیجه، تفاوت در روش‌های عصاره‌گیری ممکن است ازعلل احتمالی تفاوت درنتایج مطالعات مذکور باشد. هم‌چنین، در مطالعه‌ی حاضر، از سویه‌های استاندارد دو گونه‌ی باکتریایی (*S. mutans PTCC 1683* و *L. acidophilus ATCC 4356*) استفاده شد. پژوهش Smullen و همکاران با استفاده از سویه‌هایی متفاوت با سویه‌های استفاده شده در مطالعه حاضر (نظیر *S. mutans 10499 and R9* و *L. acidophilus NCTC 1723*) انجام شد که احتمالاً در نتایج حاصل از مطالعه مؤثر است.

در این مطالعه، اثربخشی ضدمیکروبی و وجود سینرژیسم احتمالی ترکیب وارنیش‌فلوراید و GSE توسط آزمون‌های دیسک آگار دیفیوژن و میکروبراث دایلوشن بررسی شد. یافته‌ها هیچ‌گونه اثری از وجود هم‌افزایی در ترکیب این دو ماده نشان ندادند. به‌علاوه، ترکیب دو ماده به‌طور چشمگیری، سبب افزایش MIC در هر دو گونه‌ی باکتریایی مورد مطالعه شد. در مطالعه‌ی Furiga و همکاران، استفاده از GSE در ترکیب با نوعی آمین‌فلوراید به نام Fluorinol، به‌ترتیب با غلظت‌های 2 mg/ml و 10/2، باعث کاهش چشمگیر کلونی‌های باکتریایی در سویه‌های استرپتوکوکی و لاکتوباسیلی شد که با مطالعه‌ی حاضر مغایرت دارد(20). تفاوت در روش اجرا و مواد استفاده‌شده در دو مطالعه احتمالاً توجیه‌کننده‌ی مغایرت در نتایج است. تاکنون،

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-26]

مطالعه‌ی مشابهی با استفاده از وارنیش‌فلوراید و GSE روی دو گونه‌ی باکتریایی مذکور به‌منظور مقایسه با مطالعه‌ی حاضر انجام نشده است؛ بااین‌حال، در پژوهش‌های پیشین، GSE به‌عنوان عامل ضدپوسیدگی و عامل رمینرالیزه‌کننده‌ی بافت‌های دندانی، با موادی حاوی فلوراید، نظیر سیلوردی‌آمین‌فلوراید (SDF)، بررسی شده است. بر اساس یافته‌های Firouzmandi و همکاران، استفاده از SDF، بیش از GSE سبب افزایش میکروهاردنس در لایه‌ی عاج پوسیده‌ی داخلی (inner carious dentin layer) شد. هم‌چنین، هیچ‌گونه نشانه‌ای از سینرژیسم در استفاده‌ی هم‌زمان از SDF و GSE مشاهده نشد(21). ازآن‌جاکه *استرپتوکوکوس‌موتانس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به‌ترتیب، عوامل آغازگر و پیش‌برنده‌ی فرایند پوسیدگی دندانی شناخته می‌شوند(22)، می‌توان نتایج مطالعه Firouzmandi و همکاران را همسو با مطالعه‌ی حاضر در نظر گرفت؛ در نتیجه، بر اساس مطالعه‌ی مذکور و نیز یافته‌های پژوهش حاضر، بایستی فرضیه‌ی وجود اثرهای سینرژیسم در ترکیبات GSE و فلوراید را مردود دانست.

امروزه، در دندان‌پزشکی پیشگیرانه، به اثرهای ضدپوسیدگی فلوراید که ناشی از مهار دمینرالیزاسیون و تحریک رمینرالیزاسیون پوسیدگی‌های اولیه است، بسیار توجه شده است(4). V وارنیش استفاده‌شده در مطالعه‌ی حاضر، حاوی قند زایلیتول و CPP-ACP بود که نوعی پروتئین استخراج‌شده از شیر است که به یون‌های کلسیم و فسفات متصل شده است. زایلیتول عاملی مؤثر بر مهار رشد *استرپتوکوکوس‌موتانس* حفره‌ی دهان است. CPP-ACP نیز تقویت‌کننده چسبندگی یون‌های کلسیم و فلوراید در محیط دهان است و رمینرالیزاسیون پوسیدگی‌های اولیه را سرعت می‌بخشد(23-25).

به‌تازگی، بررسی خواص دارویی عصاره‌های گیاهی مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته و مطالعات بسیاری با هدف جایگزینی محصولات شیمیایی رایج و نیز بهبود خواص درمانی آن‌ها با بهره‌گیری از عصاره‌های طبیعی انجام شده است. در پژوهش حاضر، با وجود اینکه عصاره‌ی هسته‌ی انگور در مقایسه با وارنیش‌فلوراید، خواص آنتی‌میکروبیال نسبتاً مشابهی را نشان داد، هیچ‌گونه اثری از هم‌افزایی میان این دو ماده در ترکیب آن‌ها مشاهده نشد. ازآن‌جاکه به پیشگیری از پوسیدگی‌های دندانی بیش از پیش توجه می‌شود، به نظر می‌رسد که عصاره‌ی هسته‌ی انگور در غلظت مناسب بتواند جایگزینی پذیرفتنی برای وارنیش‌فلوراید در دندان‌پزشکی پیشگیرانه باشد. بااین‌حال، می‌بایست پژوهش‌ها برای دستیابی به ترکیبی مؤثرتر از وارنیش‌فلوراید با استفاده از دیگر عصاره‌های گیاهی ادامه یابد.

محدودیت‌ها

مطالعه آزمایشگاهی حاضر همچون تمامی پژوهش‌های in-vitro، بدون در نظر گرفتن شرایط و متغیرهای تأثیرگذار بالینی، همچون تغذیه، رعایت بهداشت، اسیدیته، حجم، خاصیت بافری و غلظت بزاق، اثرهای باکتری‌های موجود در فلور نرمال و نیز دیگر میکروارگانیسم‌های پوسیدگی‌زای کلونیزه‌شونده در حفره‌ی دهانی انجام گرفت. با توجه به یافته‌های این مطالعه و خواص آنتی‌باکتریال درخور توجه عصاره‌ی هسته‌ی انگور علیه دو گونه‌ی پوسیدگی‌زای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *استرپتوکوکوس‌موتانس*، توصیه می‌شود که پژوهش‌هایی بالینی هم‌راستا با این مطالعه صورت گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دانشجویی مصوب با کد 4113 از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران و همچنین دارای کد اخلاق از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران (کد اخلاق: IR.MAZUMS.REC.1399.005) می‌باشد. بدین‌وسیله، از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تشکر می‌شود.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-26]

References

1. Delimont NM, Carlson BN. Prevention of dental caries by grape seed extract supplementation: A systematic review. Nutr Health 2020; 26(1): 43-52.
2. Zajkani E, Zeighami H, Zaeefjou A. Comparision of the effect of fluoride 0.2% and a combination mouthwash (xylitol and fluoride) on streptococcus mutans and lactobacillus acidophilus growths. J Dent Med 2017; 30(1): 57-64 (Persian).
3. Nahvi A, Goli HR, Davoodi A, Hosseinnataj A, Sheydayee S, Jafari A, et al. Antimicrobial and Synergistic Effects of Garlic and Cinnamon Extract Compared with Fluoride Varnish on Oral Lactobacillus acidophilus and Streptococcus mutans in Laboratory Conditions. J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 32(217): 46-56 (Persian).
4. Jullien S. Prophylaxis of caries with fluoride for children under five years. BMC Pediatr 2021; 21(1): 1-11.
5. Cochrane NJ, Shen P, Yuan Y, Reynolds EC. Ion release from calcium and fluoride containing dental varnishes. Aust Dent J 2014; 59(1): 100-105.
6. Baik A, Alamoudi N, El-Housseiny A, Altuwirqi A. Fluoride varnishes for preventing occlusal dental caries: A review. Dent J (Basel) 2021; 9(6): 64.
7. Kamotsay K, Herczegh A, Rozgonyi F, Nász I, Gintner Z, Bánóczy J. Effect of fluoride on cariogenic oral microorganisms (an in vitro study). Acta Microbiol Immunol Hung 2002; 49(1): 47-58.
8. Swadas M, Dave B, Vyas SM, Shah N. Evaluation and comparison of the antibacterial activity against Streptococcus mutans of grape seed extract at different concentrations with chlorhexidine gluconate: An in vitro study. Int J Clin Pediatr Dent 2016; 9(3): 181.
9. Gupta M, Dey S, Marbaniang D, Pal P, Ray S, Mazumder B. Grape seed extract: Having a potential health benefits. J Food Sci Technol 2020; 57(4): 1205-1215.
10. Zhao W, Xie Q, Bedran-Russo AK, Pan S, Ling J, Wu CD. The preventive effect of grape seed extract on artificial enamel caries progression in a microbial biofilm-induced caries model. J Dent 2014; 42(8): 1010-1018.
11. Mirkarimi M, Amin-Marashi SM, Bargrizan M, Abtahi A, Fooladi I, Ali A. The antimicrobial activity of grape seed extract against two important oral pathogens. Zahedan J Res Med Sci 2013; 15(1): 43-46.
12. Mousavi F, Shirzadi Karamolah K, Mahmoudi H. Antimicrobial Effect of Extracts of Daphne Oleoides on Bacteria Isolated from Dental Plaque. J Mashhad Dent Sch 2019; 43(4): 387-400 (Persian).
13. Elgamily H, Safy R, Makharita R. Influence of Medicinal Plant Extracts on the Growth of Oral Pathogens Streptococcus Mutans and Lactobacillus Acidophilus: An In-Vitro Study. Open Access Maced J Med Sci 2019; 7(14): 2328-2334.
14. Zarei M, Rajabnia M, Moghadamnia AA, Khafri S, Khodadadi E. Effect of different Vitis vinifera seed extracts on lactobacillus acidophilus and casei bacteria. Caspian J Dent Res 2021; 10(1): 42-47.
15. Ramya G, Rajasekar A. Enhanced antibacterial effect of titanium dioxide nanoparticles mediated grape seed extract on oral pathogens-Streptococcus mutans and lactobacillus [Internet]. J Evol Med Dent Sci 2021; 10(22): 1656-1662.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-26]

16. Tabasco R, Sánchez-Patán F, Monagas M, Bartolomé B, Victoria Moreno-Arribas M, Peláez C, Requena T. Effect of grape polyphenols on lactic acid bacteria and bifidobacteria growth: resistance and metabolism. Food Microbiol 2011; 28(7): 1345-1352.
17. Hervert-Hernández D, Pintado C, Rotger R, Goñi I. Stimulatory role of grape pomace polyphenols on Lactobacillus acidophilus growth. Int J Food Microbiol 2009; 136(1): 119-122.
18. Smullen J, Koutsou G, Foster H, Zumbé A, Storey D. The antibacterial activity of plant extracts containing polyphenols against Streptococcus mutans. Caries Res 2007; 41(5): 342-329.
19. Krasteva D, Ivanov Y, Chengolova Z , Godjevargova T. Antimicrobial potential, antioxidant activity, and phenolic content of grape seed extracts from four grape varieties. Microorganisms 2023; 11(2): 395.
20. Furiga A, Roques C, Badet C. Preventive effects of an original combination of grape seed polyphenols with amine fluoride on dental biofilm formation and oxidative damage by oral bacteria. J Appl Microbiol 2014; 116(4): 761-771.
21. Firouzmandi M, Shafiei F, Jowkar Z, Nazemi F. Effect of silver diamine fluoride and proanthocyanidin on mechanical properties of caries-affected dentin. Eur J Dent 2019; 13(02): 255-260.
22. Salehi M, Molania T, Nemati N, Goli HR, Nahvi A. Antimicrobial Effect of Kids Dentifrices on Streptococcus mutans and Lactobacillus acidophilus: An In-Vitro Study. J Mazandaran Univ Med Sci 2022; 32(209): 24-32 (Persian).
23. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. J Dent Res 2010; 89(11): 1187-1197.
24. Vogel GL. Oral fluoride reservoirs and the prevention of dental caries. Monog Oral Sci 2011; 22: 146-157.
25. Attiguppe P, Malik N, Ballal S, Naik SV. CPP–ACP and fluoride: a synergism to combat caries. Int J Clin Pediatr Dent 2019; 12(2): 120.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-05-26]