

Assessment of the antimicrobial activity of Selol*

Ocena aktywności przeciwbakteryjnej Selolu*

Ewa Fitak, Leopold Wagner

Zakład Propedeutyki i Profilaktyki Stomatologicznej, Wydział Lekarsko-Dentystyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska
Department of Propaedeutics and Dental Prophylaxis, Faculty of Medicine and Dentistry, Medical University of Warsaw, Poland
Head: prof. L. Wagner

Abstract

Introduction. The modern techniques of caries prevention are multidirectional, focusing on the elimination or reduction of the influence of etiological factors. One of the commonly recommended methods is the use of chemical substances that limit the proliferation of acidogenic bacteria. **Aim of the study.** To assess the activity of 5% Selol on the standard strains of the *Streptococcus mutans* and the *Streptococcus sobrinus* bacteria. **Material and methods.** During the research the microbial susceptibility to Selol was assessed using the disc-diffusion method, the MIC level was established with the use of the double-dilution method. The assessment of the microbial survival rate of the bacteria exposed to MIC concentration of Selol was performed. **Results.** The obtained results indicate that Selol can inhibit the growth of the tested bacteria cultures, and the inhibiting reach is considerably bigger for the *Streptococcus sobrinus* ($p=0.001$) strain than for the *Streptococcus mutans* strain. It was established that 0.63% concentration is sufficient to inhibit the growth of *Streptococcus sobrinus*, and in the case of *Streptococcus mutans* the MIC value began at the concentration of 1.25%. During the assessment of the microbial survival rate, 10-times fewer colonies were observed in the Selol samples than in the control test tubes. **Conclusions.** Based on the conducted bacteriological examinations it was proven that Selol can inhibit growth of cariogenic *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* bacteria. The promising results presented in the article encourage further research and give hope for the possibility of using Selol in caries prevention in the future.

Streszczenie

Wprowadzenie. Współczesne działania w celu zapobiegania próchnicy są wielokierunkowe, związane z eliminacją lub ograniczeniem wpływu czynników etiologicznych. Jedną z powszechnie zalecanych metod jest stosowanie związków chemicznych, które ograniczają namnażanie drobnoustrojów kwasotwórczych. **Cel.** Celem badania była ocena działania 5% Selolu na wzorcowe szczepy bakterii *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sobrinus*. **Material i metody.** Do oceny wrażliwość bakterii na Selol zastosowano metodę krążkowo-dyfuzyjną, a poziom MIC określono przy użyciu metody podwójnych rozcieńczeń. Przeprowadzono także ocenę przeżywalności komórek bakterii badanych szczepów poddanych działaniu Selolu w stężeniu MIC. **Wyniki.** Uzyskane wyniki wskazują, że Selol może hamować wzrost badanych kultur bakteryjnych, a obszar hamowania wzrostu jest istotnie większy w przypadku *Streptococcus sobrinus* ($p = 0,001$) niż *Streptococcus mutans*. Dla zahamowania wzrostu *Streptococcus sobrinus* wystarczy stężenie Selolu 0,63% natomiast dla *Streptococcus mutans* 1,25%. W przypadku oceny przeżywalności kolonii bakteryjnych zaobserwowano 10-krotnie mniejszą liczbę kolonii w obecności Selolu niż w próbkach kontrolnych. **Podsumowanie.** Na podstawie przeprowadzonego badania bakteriologiczne stwierdzono, że Selol może hamować wzrost drobnoustrojów próchnicotwórczych *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sobrinus*. Przedstawione w artykule wyniki są obiecujące i zachęcają do przeprowadzenia dalszych badań. Dają także nadzieję na możliwość stosowania Selolu w profilaktyce próchnicy w przyszłości.

KEYWORDS:

cariogenic bacteria, Selol, antibacterial activity

HASŁA INDEKSOWE:

bakterie próchnicotwórcze, Selol, działanie antybakteryjne

* The study was financed from the statutory funds of the Department of Dental Propaedeutics and Prophylaxis, Medical University of Warsaw.
* Badania zostały sfinansowane z projektu statutowego Zakładu Propedeutyki i Profilaktyki Stomatologicznej WUM.

Introduction

The oral cavity is populated by around 700 known species of bacteria, including 140 dominating ones that create the multi-species biofilm.¹⁻³ It is characterized by the number of interactions between various species, and communication by way of gene and protein transfer.⁴ Dental plaque – the natural, dynamic environment upheld by its own ecosystem – also has a biofilm structure. Based on the conducted research it was observed that the same bacteria populate the plaque of healthy people, as well as those affected by caries.⁴⁻⁵ In the case of imbalance of the bacterial flora, the bacteria that are permanently present in the oral cavity become the etiological factors of the most common pathologies, like caries or soft tissue inflammation.⁴⁻⁵ The resulting increase in pathogen proliferation is enhanced by the environment changes, drop in the number of synergistic bacteria and defense mechanism deficiencies. *Streptococcus mutans* is playing a special role in the development of the dental plaque's biofilm and caries etiology, mainly due to the interaction with other streptococci,^{2,6} and the ability to produce glucosyltransferase (GTF) – an enzyme that participates in the synthesis of glucans that make the colonization of dental surfaces easier.² Most frequently isolated from dental plaque are the *Streptococcus mutans* (*c*, *e* and *f* serotypes) and *Streptococcus sobrinus* (*d* and *g* serotypes), categorized as bacteria that initiate the carious process in dental fissures and on smooth surfaces.⁷⁻⁸

The modern techniques of caries prevention are multidirectional, aiming at the elimination or reduction of the influence of etiological factors. One of the commonly recommended methods is the use of chemical substances that limit the proliferation of acid-forming bacteria. Apart from the well-known inhibitors used for years, such as bisbiguanides, amino alcohols, essential oils, phenols or metal ions (F, Mn, Mo, Sn, Sr), there are ongoing trials to use other substances as well. Selol – an organic compound containing selenium +IV in the form of a mixture of selenotriglycerides – can become one of such substances.⁹ Based on the conducted research it was established that this

Wprowadzenie

Jamę ustną zasiedla około 700 gatunków znanych bakterii, w tym powyżej 140 dominujących, tworzących wielogatunkowy biofilm.¹⁻³ Charakteryzuje się on licznymi oddziaływaniami pomiędzy poszczególnymi gatunkami oraz komunikacją za pomocą transferu genów i wydzielanych białek.⁴ Płytkę nazębną – naturalne, dynamiczne środowisko utrzymywane przez swój własny ekosystem ma również strukturę biofilmu. Na podstawie przeprowadzonych badań zaobserwowano, że te same drobnoustroje zasiedlają płytkę nazębną u osób zdrowych, jak i obciążonych próchnicą.⁴⁻⁵ W przypadku zachwiania równowagi flory bakteryjnej, drobnoustroje stale bytujące w jamie ustnej stają się czynnikami etiologicznymi najczęściej występujących tu patologii, takich jak próchnica czy stany zapalne tkanek miękkich.^{4,5} Następującemu wówczas zwiększonemu namnażaniu patogenów, sprzyjają zmiany środowiskowe, spadek liczby bakterii synergistycznych oraz upośledzenie mechanizmów obronnych. *Streptococcus mutans* pełni szczególną funkcję w rozwoju biofilmu i etiologii próchnicy, głównie poprzez interakcje z innymi paciorkowcami²⁻⁶ oraz zdolność do wytwarzania glukozylotransferazy (GTF) – enzymu, który uczestniczy w syntezie glukanów ułatwiających kolonizację powierzchni zębów.² Z płytki nazębnej najczęściej izolowane są *Streptococcus mutans* (serotyp *c, e* i *f*) i *Streptococcus sobrinus* (serotyp *d* i *g*), zaliczane do drobnoustrojów inicjujących proces próchnicy bruzd oraz powierzchni gładkich.^{7,8}

Współczesne działania w celu zapobiegania próchnicy są wielokierunkowe, związane z eliminacją lub ograniczeniem wpływu czynników etiologicznych. Jedną z powszechnie zalecanych metod jest stosowanie związków chemicznych ograniczających namnażanie drobnoustrojów kwasotwórczych. Oprócz znanych i od wielu lat stosowanych inhibitorów, takich jak np. bisbiguanidy, aminoalkohole, olejki eteryczne, fenole czy jony metali (F, Mn, Mo, Sn, Sr) próbuje się wykorzystywać inne substancje. Jedną z nich może być Selol – związek organiczny zawierający selen + IV w postaci mieszaniny selenotriglicerydów.⁹ Na podstawie przeprowa-

substance has antioxidant and cancer-preventive properties,¹⁰⁻¹³ has low toxicity and does not manifest mutagenic potential.¹⁴⁻¹⁶

The aim of the study was to assess the activity of 5% Selol on the *Streptococcus mutans* and the *Streptococcus sobrinus* bacteria.

Material and methods

The bacteriological examinations were carried out in the Microbiology Institute of Warsaw University on the standard strains of *Streptococcus mutans* Clarke ATCC-25175 and *Streptococcus sobrinus* ATCC-33478. The Selol used in the research was synthesized in the Drug Analysis Unit of the Medical University of Warsaw and contained 50 mg Se in 1 ml.

In the first stage of the research, the susceptibility of the standard strains to 5% Selol was established with the use of disc-diffusion method. The night-grown *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* were placed in 100 µl TSYEA (Tryptone Soy Yeats Extract Agar) growth medium on agar slides. Then, discs of 0.5 cm diameter soaked in Selol in the amount of 20 µl were placed on the agar slides with bacteria colonies. After 24-48 hours of incubation in the temperature of 37°C the diameter of growth inhibition was measured. The test was repeated 33 times. In the second stage, the double-dilution method was used to establish the MIC (Minimum Inhibitory Concentration) for Selol. Nine test tubes were prepared for each bacteria strain. Each contained 2 ml of liquid growth medium (TSYEA with 7.0 pH). Next, 2 ml of 5% Selol in decreasing concentrations was added to each of them. 5% Selol concentration was marked as 100% and it was later diluted to 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.56%, 0.78% and 0.39%. This corresponded to the content of 100 mg Se, 50 mg Se, 25 mg Se, 12.5 mg Se, 6.25 mg Se, 3.125 mg Se, 1.56 mg Se and 0.78 mg Se respectively. The test tube n° 9 was the control and did not contain Selol.

The prepared test tubes were supplemented with 50 µl of night-grown bacteria OD₆₀₀ – 0.8 (the amount in accordance with McFarland standard) and then were incubated in the temperature of 37°C. After 24 hours the MIC value was read for

dzonych badań stwierdzono, że substancja ta wykazuje właściwości antyoksydacyjne i przeciwnowotworowe¹⁰⁻¹³ ma niski potencjał toksyczności i nie wykazuje działania mutagennego.⁴⁻¹⁶

Celem pracy była ocena działania 5% Selolu na wzorcowe szczepy bakterii *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sobrinus*.

Material i metody

Badania bakteriologiczne przeprowadzono w Instytucie Mikrobiologii Uniwersytetu Warszawskiego na wzorcowych szczepach *Streptococcus mutans* Clarke ATCC-25175 i *Streptococcus sobrinus* ATCC-33478. Selol do badań został zsyntetyzowany w Zakładzie Analizy Leków Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego i zawierał 50 mg Se w 1ml.

W pierwszym etapie badań określono wrażliwość wzorcowych szczepów bakteryjnych na 5% Selol metodą krążkowo-dyfuzyjną. Hodowle nocne komórek *Streptococcus mutans* oraz *Streptococcus sobrinus* wysiewano po 100 µl na szalki z podłożem agarowym TSYEA (Tryptic Soy Agar Yeast Extract). Następnie na podłożach z wysianymi bakteriami umieszczano krążki o wymiarach 0,5 cm nasączone Selolem w ilości 20 µl. Po 24-48 godzinnej inkubacji, w temperaturze 37°C dokonywano pomiaru średnicy strefy zahamowania wzrostu bakterii. Badanie przeprowadzono w 33 powtórzeniach. W drugim etapie badań metodą podwójnych rozcieńczeń określono poziom MIC (minimalne stężenie hamujące) dla Selolu. Dla każdego szczepu bakterii przygotowano 9 probówek. Zawierały one po 2ml płynnego podłoża wzrostowego (TSYEB o pH 7.0). Następnie do każdej z nich dodano po 2ml 5% Selolu w malejących stężeniach. 5% stężenie Selolu przyjęto jako 100%, które następnie rozcieńczono do 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78% i 0,39%. Odpowiadało to kolejno zawartości: 100 mg Se, 50 mg Se, 25 mg Se, 12,5 mg Se, 6,25 mg Se, 3,125 mg Se, 1,56 mg Se i 0,78 mg Se. Probówka 9 stanowiła kontrolę i nie zawierała Selolu.

Do tak przygotowanych probówek dodano po 50µl nocnych hodowli bakterii OD₆₀₀ – 0,8 (ilość zgodna ze wzorcem Mc Farlanda), a następnie

the concentration of Selol in the first test tube where the growth of bacteria was not observed. The test tubes where the Selol concentration was less than MIC value, showed signs of clouding (bacteria growth). The test was repeated three times.

In the third stage of the experiment the assessment of bacteria survival rate was performed on the strains exposed to Selol in MIC concentration. The solid TSYEA growth medium was supplemented with 100 µl of bacteria cultures grown with the specific concentration of Selol. This was later incubated and after 24-48 hours the presence of bacteria colonies was verified.

The methods used in the experiment were determined by the microdilution method of the National Committee for Clinical Laboratory Standards.¹⁷

The results were then analyzed statistically with the use of STATISTICA 8.0 software. The descriptive statistics features: arithmetic mean and standard deviation were established for each parameter. The Student's t-test was used to compare the arithmetic means.

All the statistical calculations were performed within the confidence interval of 95%. In the process of testing statistical hypotheses the significance level was set at $\alpha=0.05$, and two-sided confidence intervals were established.

Results

The growth inhibition zones for the chosen standard strains of bacteria are presented in Fig. 1 and the mean, median, standard deviation, minimum and maximum growth inhibition zones are presented in Table 1. The MIC levels for different Selol concentrations after 24 hours of bacteria incubation are presented in Table 2.

After 24 hours of incubation, MIC for *Streptococcus mutans* amounted to 12.5% which equals 25 mg Se. This means that 1.25% concentration of Selol is sufficient for inhibiting the growth of that strain of bacteria. In the case of *Streptococcus sobrinus*, however, MIC amounted to 6.25%, which equals 12.5 mg Se; it means that a 0.63% solution of Selol is sufficient to inhibit the growth of that type of bacteria.

inkubowano je w cieplarnie w temp. 37°C. Po 24 godzinach odczytano wartość MIC, za którą uznano stężenie Selolu w pierwszej próbce, w której nie zaobserwowano wzrostu bakterii. W próbkach, w których stężenie Selolu było mniejsze od wartości MIC, zaobserwowano zmętnienie (wzrost bakterii). Test powtórzono trzy razy.

W trzecim etapie eksperymentu przeprowadzono ocenę przeżywalności komórek bakterii badanych szczepów poddanych działaniu Selolu w stężeniu MIC. Na podłoże stałe TSYEA wysiano po 100 µl hodowli pochodzących z próbek z danym stężeniem Selolu, następnie inkubowano je i po 24-48 godzinach oceniano obecność kolonii bakteryjnych.

Zastosowane w badaniu metody są zgodne z wytycznymi National Committee for Clinical Laboratory Standards.¹⁷

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, którą wykonano za pomocą programu komputerowego STATISTICA 8.0. Dla każdego parametru wyznaczano wskaźniki statystyki opisowej: średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe. Testem t-Studenta porównano średnie arytmetyczne.

Wszystkie obliczenia statystyczne przeprowadzono przy 95% poziomie ufności. W procesie testowania hipotez statystycznych przyjęto poziom istotności $\alpha = 0,05$ i dwustronny obszar krytyczny.

Wyniki

Strefy zahamowania wzrostu dla wybranych wzorcowych szczepów bakterii zaprezentowano na rycinie 1, a w tabeli 1 przedstawiono średnie, mediany, odchylenie standardowe oraz minimalne i maksymalne wartości stref zahamowania wzrostu. Natomiast tabela 2 przedstawia poziomy MIC dla różnych stężeń Selolu po okresie 24-godzinnej inkubacji bakterii.

MIC dla *Streptococcus mutans* po 24 godzinnej inkubacji wyniósł 12,5%, co odpowiada 25 mg Se. Oznacza to, że stężenie 1,25% Selolu jest wystarczające do zahamowania ich wzrostu. Natomiast w przypadku *Streptococcus sobrinus* MIC wyniósł 6,25%, co odpowiada 12,5 mg Se i oznacza, że 0,63% Selol jest wystarczający do hamowania wzrostu tych bakterii.

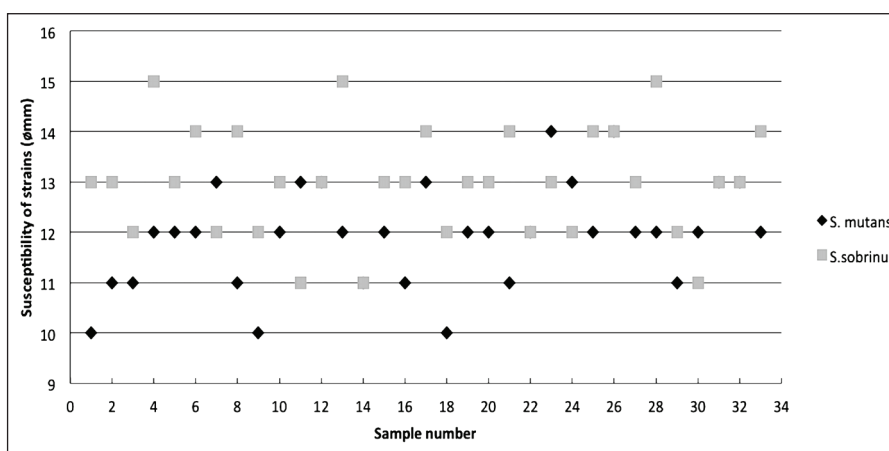


Fig. 1. Growth inhibition zones for chosen standard strains of bacteria.
Strefy zahamowania wzrostu dla wybranych wzorcowych szczepów bakterii.

Table 1. Susceptibility of strains to Selol by disc-diffusion method

Strain / ATCC	n	Mean	σ	Median	Min	Max
<i>S. mutans</i> / 25175	33	11.94	1.03	12.00	10.00	14.00
<i>S. sobrinus</i> / 33478	33	13.00	1.09	13.00	11.00	15.00

SD; n=33

Table 2. MIC levels for different Selol concentrations after 24 hours of bacteria incubation

Strain / ATCC	Selol Concentration (%)								
	Growth/OD ₆₀₀								
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0.39	0.0
<i>Streptococcus mutans</i> / 25175	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	-	-	-	1.288	1.299	1.362	1.387	1.405	1.592
<i>Streptococcus sobrinus</i> / 33478	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	-	-	-	-	0.773	1.424	1.448	1.463	1.496

SD; n=3

Based on the result of the Student's t-test ($t = -4.065$, $df = 64$, $p = 0.0001$) the hypothesis that arithmetic means are not different was rejected. The obtained results indicate that the inhibiting reach is significantly bigger for the *Streptococcus sobrinus* strain than for the *Streptococcus mutans* strain.

Na podstawie testu t-Studenta ($t = -4,065$, $df = 64$, $p = 0,0001$) odrzucono hipotezę, że średnie arytmetyczne nie wykazują różnic. Uzyskane wyniki wskazują, że hamowanie wzrostu drobnoustrojów *Streptococcus sobrinus* jest znacząco większe niż *Streptococcus mutans*.

In the case of microbial survival rate assessment, a 10-times smaller number of colonies were observed in the presence of Selol than in the control test tubes.

Discussion

At an early stage of caries development it is possible to modify the influence of acid with the simultaneous initiation of remineralization cycle. This approach, apart from using ions that accelerate remineralization, also includes the elimination of bacteria, mainly *Streptococcus mutans*. Of all routinely used substances, the highest number of tests pertained to the effect of fluoride ions. The use of organic substances containing selenium in caries prevention has not been assessed until now.

Selenium being an ingredient of selenoproteins plays an important structural and enzymatic role. Its most important role, however, is linked to the participation in detoxification of free radicals and peroxides.^{13,18-19} The highest antioxidant activity is linked to the substances that contain selenium at the +IV oxygenation level, as it builds in into the active center of selenoproteins in a specific way.¹³

The present study shows that Selol can inhibit the growth of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* bacteria. The results achieved by the growth inhibition zone method are statistically significant ($p=0.000$), and the growth inhibition zone is much bigger for *Streptococcus sobrinus* ($p=0.001$) than for *Streptococcus mutans*. To inhibit the growth of *Streptococcus mutans* a 1.25% concentration of Selol is sufficient, while for *Streptococcus sobrinus* the inhibiting concentration is much smaller and equals 0.63%. With those concentrations of Selol, the bacteria do not grow and/or have a longer regeneration time. The results of the microbial survival rate assessment of the chosen strains also show a bacteriostatic effect of Selol. After placing bacteria in a growth medium without addition of Selol, the bacteria proliferated again and formed colonies (had it been a bactericidal effect, the growth would not have been observed).

The research on the influence of selenium compounds on cariogenic bacteria was initiated many years ago. In the 70's, Luoma et al.²⁰ proved

W przypadku oceny przeżywalności kolonii bakteryjnych zaobserwowano 10-krotnie mniejszą liczbę kolonii w obecności Selolu niż w próbkach kontrolnych.

Dyskusja

Na etapie wczesnej zmiany próchnicowej możliwe jest modyfikowanie działania kwasu z jednoczesnym inicjowaniem cyklu remineralizacyjnego. Działanie to oprócz stosowania jonów przyspieszających remineralizację polega na wyeliminowaniu bakterii, głównie *Streptococcus mutans*. Ze stosowanych rutynowo środków najczęściej przeprowadzonych badań dotyczyło działania jonów fluorkowych. Zastosowanie w profilaktyce próchnicy związków organicznych zawierających selen nie było dotąd oceniane. Selen będąc składnikiem selenoprotein odgrywa rolę strukturalną oraz enzymatyczną. Najważniejsza jego funkcja związana jest jednak z udziałem w detoksykacji wolnych rodników i nadtlenu.^{13,18-19} Największą aktywność antyoksydacyjną posiadają związki zawierające selen na +IV stopniu utlenienia, wbudowuje się on bowiem specyficznie do centrum aktywnego selenobiałek.¹³

Obecnie przeprowadzone badanie wskazuje, że Selol może hamować wzrost bakterii *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sobrinus*. Wyniki uzyskane metodą stref zahamowania wzrostu są istotnie statystycznie ($p=0,000$), a obszar hamowania wzrostu jest znacznie większy dla *Streptococcus sobrinus* ($p=0,001$) niż dla *Streptococcus mutans*. Dla zahamowania wzrostu *Streptococcus mutans* wystarczającym stężeniem Selolu jest 1,25%, natomiast dla *Streptococcus sobrinus* stężenie hamujące jest znacznie mniejsze i wynosi 0,63%. Bakterie przy tych stężeniach Selolu nie wykazują wzrostu i/lub mają wydłużony czas regeneracji.

Wyniki badania przeżywalności komórek bakterii badanych szczepów świadczą również o bakteriostatycznym działaniu Selolu. Po wysianiu komórek na podłoże bez dodatku Selolu bakterie wznowiły podziały i utworzyły kolonie (jeżeli byłoby to działanie bakteriobójcze, nie zostałyby zaobserwowany wzrost).

Badania wpływu związków selenu na bakterie próchnicotwórcze rozpoczęto wiele lat temu. W la-

that this element present in Na_2SeO_3 reduces acid production by the cariogenic *Streptococcus K-1*. In the 1990's, Eisenberg et al.,²¹ while researching the impact of selenocysteine and Na_2SeO_3 on the *Streptococcus mutans GS-5*, showed that selenium present in those substances inhibits the growth of bacteria. In recent years, a special focus has been placed on the organic compounds of selenium. It has been established that those compounds added to various biomaterials and medical equipment (for example intravenous catheters, contact lenses) inhibit the growth of *Pseudomonas aeruginosa*. Low concentrations of organoselenium 0.1-0.2 are sufficient to inhibit proliferation of the bacteria added to those materials.²²⁻²⁶ Tran et al.²⁷ tested the influence of organoselenium on the *Streptococcus mutans* and *Streptococcus salivarius* biofilms. After adding organic selenium compounds to the SeLECT-Defense™ dental sealants an inhibition of bacteria growth on the biofilm was observed. It is assumed that the antimicrobial activity of the organic selenium compounds is linked to the oxidation stress, which leads to damage of bacterial cells and their DNA.²⁷ It was also proven that organoselenium in polymer form can generate superoxide radicals.²⁵

The results of the current research show that the organic selenium compounds present in Selol can also inhibit microbial activity. Along with extending the incubation period from 24 to 48 hours the MIC value decreases, which is a sign that Selol has bacteriostatic properties.

The results reached in the current research could not be compared to the works of other authors, as no research on selenium triacylglycerols in that context has ever been conducted.

Conclusions

In conclusion, based on the conducted bacteriological experiments it was proven that Selol can inhibit cariogenic *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* bacteria growth. The promising results presented in the article encourage further research and give hope for the possibility of using Selol in caries prevention in the future.

tach 70-tych Luoma i wsp.²⁰ udowodnili, że pierwiastek ten zawarty w Na_2SeO_3 zmniejsza produkcję kwasów przez próchnicotwórcze *Streptococcus K-1*. Natomiast w latach 90-tych XX w. Eisenberg i wsp.²¹ badając wpływ selenocysteiny i Na_2SeO_3 na bakterie *Streptococcus mutans GS-5* wykazali, że selen zawarty w tych związkach hamuje wzrost bakterii. W ostatnich latach szczególną uwagę poświęca się organicznym związkom selenu. Stwierdzono, że związki te dodane do różnych biomateriałów i urządzeń medycznych (jak np.: cewniki dożylnie, soczewki kontaktowe) blokują wzrost *Pseudomonas aeruginosa*. Niskie stężenia organoselenu 0,1-0,2 są wystarczające do hamowania namnażania się bakterii dodanych do tych materiałów.²²⁻²⁶ Tran i wsp.²⁷ badali wpływ organicznego związku selenu na biofilm *Streptococcus mutans* i *Streptococcus salivarius*. Po dodaniu organoselenu do materiału uszczelniającego bruzdy SeLECT-Defense™ zaobserwowano zahamowanie wzrostu bakterii w biofilmie. Przypuszcza się, że antybakteryjne działanie organicznych związków selenu jest związane ze stresem oksydacyjnym, w wyniku którego dochodzi do uszkodzenia komórek bakteryjnych i ich DNA.²⁷ Poza tym udowodniono, że organoselen w formie polimeru może generować rodniki nadtlenkowe.²⁵

Wyniki przeprowadzonego obecnie badania wskazują, że organiczne związki selenu zawarte w Selolu mogą również hamować aktywność bakteryjną. W miarę wydłużania czasu inkubacji z 24 na 48 godzin, wartość MIC malała, co świadczy o bakteriostatycznym działaniu Selolu.

Wyników uzyskanych w przeprowadzonych badaniach nie można było porównać z pracami innych autorów, ponieważ do tej pory nie prowadzono badań selenotriacylogliceroli w tym kierunku.

Podsumowanie

Na podstawie przeprowadzonego badania bakteriologicznego stwierdzono, że Selol może hamować wzrost drobnoustrojów próchnicotwórczych *Streptococcus mutans* i *Streptococcus sobrinus*. Przedstawione w artykule wyniki są obiecujące, zachęcają do przeprowadzenia dalszych badań oraz dają nadzieję na możliwość stosowania Selolu w profilaktyce próchnicy w przyszłości.

References

1. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE: Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5721-5732. DOI: 10.1128/JCM.43.11.5721-5732.2005.
2. Ogawa A, Furukawa S, Fujita S, Mitobe J, Kawarai T, Narisawa N, et al.: Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by *Streptococcus salivarius* FruA. *Appl Environ Microbiol* 2011; 77: 1572-1580. DOI: 10.1128/AEM.02066-10.
3. Paster BJ, Boches SK, Gavin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE: Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001; 183: 3770-3783. DOI: 10.1128/JB.183.12.3770-3783.2001.
4. Marsh PD, Moter A, Devine DA: Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontol* 2000 2011; 55: 16-35, DOI: 10.1111/j.1600-0757.2009.00339.x
5. He XS, Shi WY: Oral microbiology: past, present and future. *Int J Oral Sci* 2009; 1: 47-58. DOI: 10.4248/ijos.09029.
6. Kreth J, Merritt J, Shi W, Qi F: Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *J Bacteriol* 2005; 187: 7193-7203. DOI: 10.1128/JB.187.21.7193-7203.2005.
7. Köhler B, Bjarnason S: Mutans streptococci, lactobacilli and caries prevalence in 15 to 16-years olds in Göteborg. Part II. *Swed Dent J* 1992; 16: 253-259.
8. Li Y, Dasanayake AP, Caufield PW, Elliott RR, Butts JT: Characterization of maternal mutans streptococci transmission in an African American population. *Dent Clin North Am* 2003; 47: 87-101. DOI: 10.1016/S0011-8532(02)00058-7.
9. Fitak B, Grabowski M, Suchocki P: PL Patent Application. PL176530 (CIA61 K31/095). 1994.
10. Estevanato LL, Da Silva JR, Falqueiro AM, Mosiniwicz-Szablewska E, Suchocki P, Tedesco AC, Morais PC, et al.: Co-nanoencapsulation of magnetic nanoparticles and selol for breast tumor treatment: in vitro evaluation of cytotoxicity and magnetohyperthermia efficacy. *Int J Nanomedicine* 2012; 7: 5287-5299. DOI: 10.2147/IJN.S35279.
11. Książek I, Sitarz K, Rosłon M, Anuszevska E, Suchocki P, Dudkiewicz-Wilczyńska J: The influence of Selol on the expression of oxidative stress genes in normal and malignant prostate cells. *Cancer Genomics Proteomics* 2013; 10: 225-232.
12. Sochacka M, Giebułtowicz J, Remiszewska M, Suchocki P, Wroczyński P: Effects of Selol 5% supplementation on the activity or concentration of antioxidants and malondialdehyde level in the blood of healthy mice. *Pharmacol Rep* 2014; 66: 301-310.
13. Suchocki P, Misiewicz I, K Skupińska K, Waclawek K, Fijalek Z, Kasprzycka-Guttman T: The activity of Selol in multidrug-resistant and sensitive human leukemia cells. *Oncol Rep* 2007; 18: 893-899.
14. Jastrzębski Z, Czyżewska-Szafran H, Fijalek Z, Suchocki P, Fitak B: Toxicity studies of a new selenium compound, Selol, in rats. *Drugs Exp Clin Res* 1995; 21: 217-220.
15. Jastrzębski Z, Czyżewska-Szafran H, Remiszewska M, Fijalek Z, Fitak B, Suchocki P: Pharmacokinetics of selol, a new agent containing selenium in rats. *Drugs Exp Clin Res* 1997; 23: 7-11.
16. Zagrodzki P, Bik D, Fitak B, Suchocki P, Niemczuk K: Selenoenzymes in animal tissues after supplementation with selol. *Bull Vet Inst Pulawy* 2000; 44: 215-220.
17. CLSI document M7-A9: Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically; approved standard-ninth edition. Clinical and Laboratory Standards Institute 2012; 32: No 2.
18. Combs GF, Gray WP: Chemopreventive agents: selenium. *Pharmacol Ther* 1998; 79: 179-192.
19. Goldhaber SB: Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. *Regul Toxicol Pharmacol* 2003; 38: 232-242.
20. Luoma H, Ranta H, Turtola L: The potassium and phosphorus content of a cariogenic streptococcus modified by fluoride and selenium. *Caries Res* 1971; 5: 96-99.
21. Eisenberg AD, Curzon MEJ, Izaguirre-Fernandez EJ: Interactions of Selenium and Fluoride on Growth, Glycolysis and Survival of *Streptococcus mutans* GS-5. *Caries Res* 1990; 24: 306-311. DOI: 10.1159/000261288.
22. Low D, Hamood A, Reid TW, Mosley T, Tran P, Song L, et al.: Attachment of selenium to a reverse osmosis membrane to inhibit biofilm formation of *S. aureus*. *J Membr Sci* 2011; 378: 171-178, DOI: 10.1015/j.memsci.2011.04.041.
23. Mathews SM, Spallholz JE, Grimson MJ, Dubielzig RR, Gray T, Reid TW: Prevention of bacterial colonization of contact lenses with covalently

- attached selenium and effects on rabbit cornea. *Cornea* 2006; 25: 806-814. DOI:10.1097/01.ico.0000224636.57062.90.
24. Reid T, Tran P, Mosley T, Tran K, Jarvis C, Patel S, et al.: Biopolymers containing selenium: their synthesis and use. *Int J Medical Devices* 2010; 5: 23-36.
25. Tran PL, Hammond AA, Mosley T, Cortez J, Gray T, Colmer-Hamood JA, et al.: Organoselenium coating on cellulose inhibits the formation of biofilms by *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75: 3586-3592. DOI: 10.1128/AEM.02683-08.
26. Tran PL, Lowry N, Campbell T, Reid TW, Webster DR, Tobin E, et al.: An organoselenium compound inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm in hemodialysis catheters in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 972-978. DOI: 10.1128/AAC.05680-11.
27. Tran PL, Hamood AN, Mosley T, Gray T, Jarvis C, Webster DR, et al.: Organo-selenium-containing dental sealant inhibits bacterial biofilm. *J Dent Res* 2013; 92: 461-466, DOI: 10.1177/0022034513482141.

Address: 02-006 Warsaw, ul. Nowogrodzka
Tel.: +4822 6256602, Fax: +4822 8255855
e-mail zpips@wum.edu.pl

Received: 5th June 2017
Accepted: 31st December 2017