Effect of methanolic extract of Zingiber officinale on expression of virulence genes of streptococcus mutans utilizing Real Time PCR

Seyed Reza Khosravani[1], Leila Azimi[2], Saeed Moghadam Zarandi[3], Narges Panahandeh[4,*]

1- Assistant Professor, Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Pediatric Infections Research Center, Research Institute for Children's Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Dentist, School of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4- Associate Professor, Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran; Member of Dental Research Center, Research Institute of Dental Sciences, School of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Article Info

Article type:
Research Article

Article History:
Received: 24 Apr 2025
Accepted: 4 Oct 2025
Published: 6 Oct 2025

Corresponding Author:
Narges Panahandeh

Department of Restorative Dentistry , School of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Email: nargespanahandeh@yahoo.com)

Abstract

Background and Aims: To prevent dental caries, investigations have focused on finding new antibacterial and anti-biofilm agents without the drawbacks of the currently used synthetic agents. This study aimed to assess the effect of methanolic extract of Zingiber officinale (Z. officinale) on expression of virulence genes of Streptococcus mutans (S. mutans) using real-time polymerase chain reaction (PCR).

Materials and Methods: In this in vitro study, which was conducted in the year 1402, at the Microbiology Department of the Faculty of Medicine and the Faculty of Dentistry at Shahid Beheshti University of Medical Sciences, the methanolic extract of Z. officinale was obtained by the maceration technique. 10 clinical isolates of S. mutans were obtained from the patients with dental infection. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the extract against S. mutans were determined by the microtiter plate technique. The effect of extract on the expression of relA, comDE, brpA, gtfC, and spaP virulence genes by the clinical isolates was evaluated by the real-time polymerase chain reaction (PCR) technique. Data were analyzed by the Wilcoxon and Mann-Whitney tests (alpha=0.05).

Results: The mean MIC and MBC of the methanolic extract of Z. officinale against S. mutans were 32±11.8 and 64±26.12 mg/mL, respectively. The extract caused down-regulation of relA, comDE, brpA, and gtfC by 50%, 40%, 70%, and 70%, respectively. It also caused 4 times reduction in expression of spaP gene.

Conclusion: The methanolic extract of Z. officinale caused significant down-regulation of gtfC, brpA, relA, comDE, and spaP genes, indicating its optimal efficacy to control the virulence of S. mutans.

Keywords: Streptococcus mutans, Zingiber officinale, Gene expression, Real-Time PCR

Cite this article as: Khosravani SR, Azimi L, Moghadam Zarandi S, Panahandeh N. Effect of methanolic extract of Zingiber officinale on expression of virulence genes of streptococcus mutans utilizing Real Time PCR. J Dent Med-TUMS. 2025;38:21. [Persian]

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-07]

Copyright © 2025 Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

بررسی اثر عصاره متانولی گیاه زنجبیل بر میزان بیان ژن های بیماری زا سویه‌های استرپتوکوکوس موتانس با استفاده از تکنیک Real Time PCR

سید رضا خسروانی[۱]، لیلا عظیمی[۲]، سعید مقدم زرندی[۳]، نرگس پناهنده[۴،*]

۱- استادیار گروه آموزشی دندانپزشکی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- دانشیار مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳- دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۴- دانشیار گروه آموزشی دندانپزشکی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران؛ عضو مرکز تحقیقات علوم دندانپزشکی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: برای پیشگیری از پوسیدگی دندان، تحقیقات بر یافتن عوامل ضد باکتری و ضد بیوفیلم جدید بدون معایب عوامل مصنوعی مورد استفاده فعلی متمرکز شده است. این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره متانولی زنجبیل بر بیان ژن‌های ویرولانس استرپتوکوکوس موتانس انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی که در سال ۱۴۰۲ در گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد، عصاره متانولی گیاه زنجبیل با روش خیساندن به دست آمد. ۱۰ سویه بالینی استرپتوکوکوس موتانس از بیماران مبتلا به عفونت دندانی به دست آمد. حداقل غلظت بازدارنده (MIC) و حداقل غلظت ضد باکتری (MBC) عصاره در برابر استرپتوکوکوس موتانس با استفاده از روش میکروتیتر پلیت تعیین شد. اثر عصاره بر بیان ژن‌های ویرولانس relA، comDE، brpA، gtfC و spaP توسط سویه‌های بالینی با تکنیک Real Time PCR ارزیابی شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های Wilcoxon و Mann-Whitney مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (alpha=۰/۰۵).

یافته‌ها: میانگین MIC و MBC عصاره متانولی زنجبیل در برابر استرپتوکوکوس موتانس به ترتیب ۱۱±۳۲/۸ و ۶۴/۱۲±۲۶ میلی گرم بر میلی لیتر بود. عصاره باعث کاهش بیان ژن‌های relA، comDE، brpA و gtfC به ترتیب به میزان ۵۰٪، ۴۰٪، ۷۰٪ و ۷۰٪ شد. همچنین این ترکیب باعث کاهش ۴ برابری بیان ژن spaP شد.

نتیجه‌گیری: عصاره متانولی زنجبیل باعث کاهش معنی دار ژن‌های بیماری زا gtfC، brpA، relA، comDE و spaP شد که نشان دهنده کارایی بهینه آن در کنترل بیماری زایی استرپتوکوکوس موتانس است.

کلید واژه‌ها: استرپتوکوکوسوس موتانس، زنجبیل، ژن‌های بیماری زا، Real-Time PCR

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۰۴
پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۱۲
انتشار: ۱۴۰۴/۰۷/۱۴

نویسنده مسؤول:
نرگس پناهنده

گروه آموزشی دندانپزشکی ترمیمی و زیبایی ، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

(Email: nargespanahandeh@yahoo.com)

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-07]

مقدمه

پوسیدگی دندان یک بیماری عفونی است که در اثر تجمع بیوفیلم پوسیدگی زا در سطح دندان ایجاد می شود (۱). بیوفیلم دندان مجموعه‌ای از سلول های باکتریایی است که محکم به سطح دندان می‌چسبند. از بین بردن آن دشوار و در برابر آنتی بیوتیک ها و مکانیسم های دفاعی میزبان مقاوم است (۲).

استرپتوکوکوس موتانس (S. mutans) یک میکروارگانیسم پوسیدگی زا مهم است که دارای چندین فاکتور بیماری زا برای افزایش تشکیل بیوفیلم بر روی سطح دندان است. سنتز گلوکان با آزاد سازی گلیکوزیل ترانسفرازها (GTFs) یک عامل ویرولانس مهم استرپتوکوکوس موتانس است که منجر به چسبندگی باکتری و تشکیل بیوفیلم می شود (۳). استرپتوکوکوس موتانس دارای سه ژن مختلف GTFبه نام‌های gtfB، gtfC و gtfD است که هر یک مسئول سنتز پلیمرهای گلوکان با نسبت‌های مشخصی از پلیمرهای محلول و نامحلول در آب می‌باشند (۴).

شواهد نشان می‌دهد که سروتیپ C ژن spaP استرپتوکوکوس موتانس یک پروتئین سطح سلولی اصلی، یعنی آنتی ژن I/II استرپتوکوکوس با Mr ۱۸۵۰۰۰ را کد می‌کند، که اعتقاد بر این است که نقش اساسی در چسبندگی باکتری ها به سطح دندان دارد (۵). پروتئین P1 مربوط به این ژن (SpaP) به عنوان یک مولکول چسبندگی چند منظوره بر روی سطح استرپتوکوکوس موتانس عمل می کند و نقش کلیدی در چسبندگی اولیه و کلونیزاسیون استرپتوکوکوس موتانس دارد (۶). نقش محوری این ژن در کلونیزاسیون باکتریایی در غیاب گلوکز قبلاً در مقالات تأیید شده است (۹-۷). سایر ژن های ویرولانس استرپتوکوکوس موتانس شامل GTFs، brpA، relA و comDE هستند که هر کدام نقش مهمی در کلونی سازی، تشکیل بیوفیلم و پاتوژنز استرپتوکوکوس موتانس دارند

برای جلوگیری از پوسیدگی دندان، تحقیقات بر روی یافتن عوامل ضد باکتری و ضد بیوفیلم جدید بدون عوارض عوامل مصنوعی فعلی (کلرهگزیدین و دهانشویه‌های با منشا غیر گیاهی) متمرکز شده است (۱،۱۰،۱۱). با توجه به فعالیت ضد میکروبی بهینه برخی از گیاهان دارویی، محققان بر روی یافتن داروهای گیاهی با اثرات ضد باکتریایی و ضد بیوفیلم برای کنترل پوسیدگی دندان تمرکز کرده‌اند. (Zingiber officinale) زنجبیل یک گیاه دارویی پرمصرف با فواید سلامتی متعدد است (۱۲). مطالعه قبلی اثر ضد باکتریایی بهینه عصاره متانولی زنجبیل را در برابر استافیلوکوکوس موتانس نشان داد که از طریق کاهش عوامل بیماری زا آن از جمله GTFs، brpA، relA و comDE اعمال شد. اگرچه چند مطالعه فعالیت ضد باکتریایی بهینه عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی زنجبیل را در برابر میکروارگانیسم‌های پوسیدگی زا دهان نشان داده‌اند (۱۵-۱۳)، لیکن با توجه به روند رو به افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی و نیاز به جایگزین های جدید، به نظر می‌رسد بررسی خاصیت ضد باکتریایی و اثر عصاره متانولی زنجبیل بر بیان ژن های بیماری زای استرپتوکوکوس موتانس در روشن شدن هرچه بیشتر نحوه و میزان تأثیر عصاره این گیاه نقش مؤثرتری ایفا نماید. بنابراین تحقیق حاضر به منظور دستیابی به این هدف انجام گردید.

روش بررسی

این مطالعه آزمایشگاهی که در سال ۱۴۰۲ در گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد بر روی ۱۰ ایزوله بالینی استرپتوکوکوس موتانس انجام شد و مورد تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (IR.SBMU.DRC.REC.1398.186) قرار گرفت.

نمونه برداری میکروبی (۱۶):

۱۰ نمونه سواب از پلاک دندانی بیماران مراجعه کننده به کلینیک دندانپزشکی دانشگاه جمع آوری شد. برای این منظور سواب های استریل را به مدت ۱ دقیقه روی سطح دندان مالیده و پس از ۳۰ ثانیه بر روی زبان فشار داده و در بزاق فرو برده و بلافاصله در ۱ میلی لیتر سالین بافر فسفات با pH ۷/۲ به آزمایشگاه فرستاده می شود. بیمارانی که تحت نمونه گیری قرار گرفتند، دارای عفونت‌های دهان و دندان، سابقه عدم مصرف آنتی‌بیوتیک در زمان مراجعه و بدون بیماری زمینه‌ای سیستمیک بودند. همه نمونه‌ها با هم روی آگار میتیس سالیواریوس و بلاد آگار کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۱۰ درصد CO2 به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شدند. سپس با آزمایشات استاندارد شناسایی شدند.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-07]

تهیه عصاره:

زنجبیل جمع آوری شده پس از شناسایی توسط موسسه بیوتکنولوژی دانشکده پزشکی شهید بهشتی به دور از نور خورشید خشک و برگ‌ها و ساقه‌ها آسیاب شد. سپس ۵۰۰ گرم پودر به مدت ۴۸ ساعت در حلال متانول- کلروفرم به نسبت ۳۰:۷۰ غوطه ور شد. محلول متعاقبا فیلتر شده و برای تبخیر حلال در خلاء به اواپراتور چرخشی منتقل شد. مواد باقی مانده در کمترین مقدار متانول ممکن برای چربی زدایی حل شد و سپس فیلتر شد. حلال دوباره تبخیر شد و مواد باقیمانده در مقدار کمی دی کلرومتان یا کلروفرم حل شد و با استفاده از سولفات سدیم آبزدایی شد. حلال تحت خلاء تبخیر شد و عصاره خالص جمع آوری گردید. سپس عصاره زنجبیل در دی متیل سولفوکسید ۴ درصد حل شد.

تعیین MIC و MBC عصاره:

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) و Minimum Bactericidal Concentration (MBC) عصاره با روش میکروتیتر پلیت با استفاده از معرف Resazurin تعیین شد. در این روش، غلظت‌های ۱۰۰ تا ۰/۳۹ میکروگرم بر میلی لیتر از عصاره به چاهک‌های شماره ۱ تا ۹ یک پلیت ۹۶ چاهکی استریل اضافه شد. به این معنا که رقت سازی سریالی به نسبت ۱/۲ انجام شد. غلظت چاهک اول تا نهم به ترتیب ذیل می‌باشد: ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲۵، ۱/۵۶، ۰/۷۸ و ۰/۳۹ (میکرو گرم بر میلی لیتر).

در ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مایع مولر هینتون به هر چاهک اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به چاهک اول اضافه شد. بر این اساس غلظت عصاره در چاه اول ۱۰۰ درصد بود. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از چاه اول جمع آوری و به چاه دوم منتقل شد. این فرآیند تا چاه نهم ادامه یافت و ۱۰۰ میکرولیتر از محتویات چاه نهم دور ریخته شد. سپس از کشت باکتریایی ۱۸ ساعته برای ایجاد سوسپانسیون میکروبی با غلظت استاندارد ۰/۵ مک فارلند حاوی $۱/۵\times۱۰^{۸}$ باکتری در میلی لیتر استفاده به مقدار ۱ میکرولیتر در چاهک به همه چاهک ها به جز چاهک‌های ۱۱ و ۱۲ اضافه شد تا به نسبت ۱:۱۰۰ رقیق گردد. کمترین غلظت عصاره ای که رشد باکتری را مهار کرد (بدون کدورت) به عنوان MIC ثبت شد. برای تعیین MBC، نمونه‌هایی از تمام چاهک‌هایی که رشد باکتری را نشان نمی‌دادند، بر روی مولر هینتون آگار کشت داده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. پلیت با کمترین غلظت عصاره که رشد باکتریایی را نشان نداد نشان دهنده MBC عصاره بود (۱۹-۱۷).

استخراج DNA:

سویه‌های بالینی استرپتوکوکوس موتانس روی محیط LB کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس DNA باکتری توسط کیت استخراج DNA (Cat. No. K-3000; Roche) طبق پروتکل استاندارد استخراج DNA باکتری (۲۰،۲۱) استخراج شد.

شناسایی ژن‌های بیماری زا

شناسایی ژن‌های gtfC، brpA، relA و spaP توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز معمولی (PCR) و comDE توسط Real-time PCR انجام شد. پرایمرهای مورد استفاده برای این منظور در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- پرایمرهای استفاده شده برای انجام تست‌های PCR و Real-time PCR

ژن	توالی نوکلئوتیدی پرایمر 5' to 3'	سایز محصول PCR (bp)	منابع
gtfC	Forward, ATGAGTGGTGTATGGCGTCA	۲۳۹	طراحی شده در این مطالعه
	Reverse, GTCACTGCTGCACCATCTTC		
brpA	Forward, CGTGAGGTCATCAGCAAGGTC	۱۴۸	A
	Reverse, CGCTGTACCCCAAAAGTTTAGG		
relA	Forward, TCTGCGCGAAGTAAAAGACG	۱۶۰	طراحی شده در این مطالعه
	Reverse, TTTGTATTCGGTCGGGTGGA		
comDE	Forward, ACAATTCCTTGAGTTCCATCCAAG	۸۱	B
	Reverse, TGGTCTGCTGCCTGTTGC		
spaP	Forward, AACGACCGCTCTTCAGCAGATACC	۱۹۲	C
	Reverse, AGAAAGAACATATCTAATTTCTTG		

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-07]

جدول ۲- زمان‌ها و شرایط انجام تست Real-time PCR

متغیر	واسرشت اولیه DNA	واسرشت DNA	دمای اتصال پرایمر	طویل سازی	طویل سازی نهایی
دما	۹۴°C	۹۴°C	۶۱°C	۷۲°C	۷۲°C
زمان	۱۰ دقیقه	۶۰ ثانیه	۶۰ ثانیه	۱۰ ثانیه	۵ دقیقه
سیکل	۱		۴۰		۱
دمای ذوب			۹۵-۷۲ °C		

ارزیابی بیان ژن‌های gtfC، brpA، relA، comDE و spaP:

برای ارزیابی سطح بیان ژن، RNA با استفاده از کیت استخراج RNA کامل (شرکت سیناژن، ایران) استخراج گردید. از DNase I برای حذف DNA از نمونه استفاده گردید.

مقدار RNA استخراج شده با استفاده از NanoDrop و محاسبه نسبت‌های OD ۲۶۰/۲۸۰ و ۲۶۰/۲۳۰ مورد ارزیابی قرار گرفت. کیفیت RNA توسط الکتروفورز ژل آگارز تأیید شد (۲۲).

سنتز cDNA با استفاده از کیت (Takara, Cat. No. RRO37Q) انجام گرفت و میزان نیمه کمی بیان ژن های مورد نظر در مقایسه با سویه استاندارد باکتری انجام گرفت و از ژن 16srRNA به عنوان ژن خانه دار و نرمالایز کننده نیز استفاده شد (۲۳). نمونه های کنترل که در معرض هیچ ماده‌ای قرار نگرفتند به عنوان کنترل ارزیابی فاکتورهای بیماری زا در سویه ها نیز استفاده شدند (۲۴).

Real-Time PCR:

برای این منظور ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس سایبرگرین با غلظت ۱۰ پیکومول از پرایمرها استفاده گردید (۲۵). Real-Time PCR میکروتیوب در Rotor Gene 6000 (Corbette Rsearch) قرار گرفت و Real-Time PCR انجام شد. یک ویال بدون ماده ژنتیکی نیز به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد و تمام مراحل بر روی یخ (۲۹-۲۶) انجام شد. پروتکل انجام Real-Time PCR در جدول ۲ نشان داده شده است (۳۰).

بیان نیمه کمی ژن های مورد مطالعه با استفاده از ΔΔCt مورد ارزیابی قرار گرفت. نرم افزار ابتدا ΔCt را برای نمونه کنترل و سپس برای نمونه آزمایش محاسبه کرد. سپس از فرمول ΔΔCt به صورت زیر استفاده شد (۳۰):

$$\Delta\Delta C_T = \Delta C_{T(test)} - \Delta C_{T(calibrator)}$$

$$\Delta C_{T(test)} = C_{T(target,\ test)} - C_{T(ref,\ test)}$$

$$\Delta C_{T(calibrator)} = C_{T(target,\ calibrator)} - C_{T(ref,\ calibrator)}$$

$$\text{Normalized expression ratio} = 2^{-\Delta\Delta C_T}$$

سپس از نرم افزار Rest برای محاسبه بیان ژن و رسم منحنی‌های مربوطه استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری:

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۵ (SPSS Inc., IL, USA) تجزیه و تحلیل شد. آزمون کولموگروف اسمیرنوف توزیع غیر نرمال داده ها را نشان داد. بنابراین، مقایسه‌ها با آزمون‌های Wilcoxon و Mann-Whitney در سطح معنی داری ۰/۰۵ انجام شد. PRISM نسخه ۸ برای ترسیم منحنی های مربوط به تغییرات بیان ژن ها استفاده شد.

یافته‌ها

MIC و MBC:

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره زنجبیل می‌تواند بر روی سویه‌های استرپتوکوکوس موتانس اثر آنتی باکتریال داشته باشد. جدول ۳ نتایج MIC و MBC عصاره متانولی زنجبیل را در برابر سویه‌های بالینی استرپتوکوکوس موتانس نشان می‌دهد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-07]

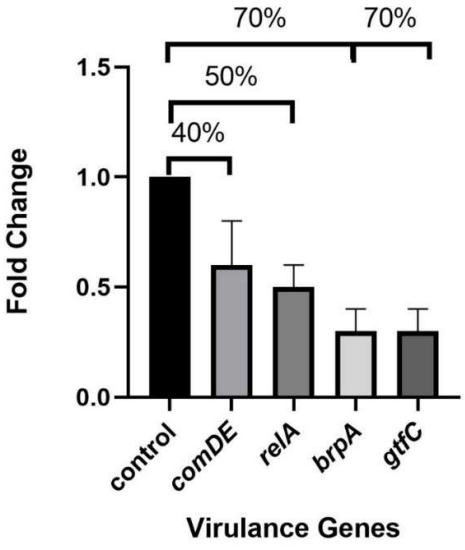
جدول ۳- MIC و MBC عصاره متانولی زنجبیل در برابر سویه های بالینی استرپتوکوکوس موتانس

متغیرها	انحراف معیار (mg/mL)	حداقل	حداکثر
MIC	۰/۳۲ ± ۸۰/۱۱	۱۶	۶۴
MBC	۰/۶۴ ± ۱۲/۲۶	۳۲	۱۲۸

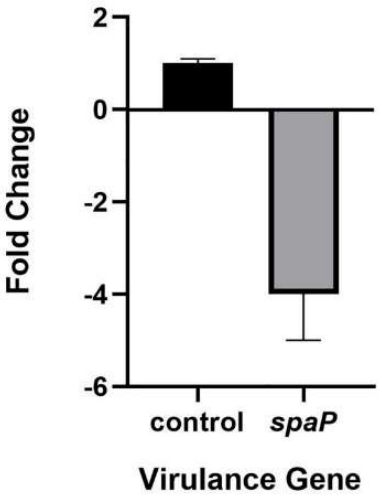
ارزیابی حضور ژن های بیماری زا با PCR:

نتایج تست مولکولی PCR حضور ژن های بیماری زا gtfC، brpA، relA، comDE و spaP را در تمام سویه‌های مورد مطالعه نشان داد. مثبت بودند.

ارزیابی تغییرات بیان ژن‌های مربوطه، در مقایسه با شاهد، نشان داد که عصاره متانولی زنجبیل به طور متوسط باعث کاهش ۵۰ درصدی بیان relA، ۴۰ درصدی در بیان comDE و ۷۰ درصدی در بیان ژن‌های brpA و gtfC شد (شکل ۱). همچنین باعث کاهش ۴ برابری بیان spaP شد (شکل ۲). در این مطالعه آزمون Mann-Whitney برای مقایسه تغییرات بیان ژن‌ها با نمونه شاهد مورد استفاده قرار گرفت، که نشان‌دهنده کاهش بیان بیشتر spaP نسبت به سایر ژن‌ها بود و اختلاف آن با نمونه شاهد معنی دار می باشد (P=۰/۰۰۱). البته کاهش بیان ژن‌های relA , brpA و gtfC, comDE نیز در مقایسه با شاهد نیز معنی دار بود (P≤۰/۰۵).



شکل ۱- تغییرات در بیان ژن های ویرولانس استرپتوکوکوس موتانس به دنبال قرار گرفتن در معرض عصاره متانولی زنجبیل



شکل ۲- تغییرات در بیان ژن ویروس زایی spaP به دنبال قرار گرفتن در معرض عصاره متانولی زنجبیل

بحث و نتیجه گیری

اخیراً علاقه فزاینده‌ای به محصولات گیاهی با فعالیت ضد میکروبی بهینه قابل مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌ها اما با سمیت سلولی کمتر مشاهده شده است (۳۱). این مطالعه به بررسی اثر عصاره متانولی زنجبیل بر بیان ژن‌های ویرولانس استرپتوکوکوس موتانس پرداخت. نتایج نشان داد که میانگین MIC و MBC عصاره متانولی زنجبیل در برابر استرپتوکوکوس موتانس به ترتیب ۱۱/۸±۳۲ و ۲۶/۱۲±۶۴ میلی گرم بر میلی لیتر بود. عصاره باعث کاهش relA، comDE، brpA و gtfC به ترتیب ۵۰٪، ۴۰٪، ۷۰٪ و ۷۰٪ شد. همچنین باعث کاهش ۴ برابری بیان ژن spaP شد.

Hasan و همکاران (۱۵) اثر عصاره متانولی زنجبیل بر فاکتورهای ویرولانس استرپتوکوکوس موتانس از جمله GTFs، brpA، relA و comDE را ارزیابی کردند. آن‌ها MIC و MBC را ۰/۲۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر گزارش کردند و نشان دادند که عصاره باعث کاهش تنظیم relA، gtfC، brpA، و comDE به ترتیب به میزان ۴۸، ۵۹، ۶۸ و ۵۴

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-07]

درصد شد. نتایج آن‌ها با یافته‌های حاضر مطابقت داشت. در تحقیقی دیگر Guan و همکاران (۳) نشان داد که روبوسوزید از چسبندگی، تجمع و تولید اسید توسط استرپتوکوکوس موتانس جلوگیری می کند. همچنین از تجمع بیوفیلم جلوگیری کرد و تولید پلی ساکاریدهای خارج سلولی را کاهش داد. این اثر مهاری بیشتر از زایلیتول بود. آن‌ها همچنین نشان دادند که روبوسوزید و زایلیتول باعث کاهش تنظیم ژن spaP می‌شوند وکه با کاهش بیان ژن های بیماری زا به عنوان یک استراتژی جدید برای کاهش بیوفیلم و کنترل پوسیدگی میتواند کاربرد داشته باشد.

Sheikhinejad و شیخ نژاد و همکاران (۳۲) اثرات عصاره متانولی و استونی زنجبیل را بر استرپتوکوکوس موتانس ارزیابی کردند. آن ها اثر بازدارندگی عصاره متانولی آن را بر استرپتوکوکوس موتانس تایید کردند. Azizi و همکاران (۱۳) MIC و MBC عصاره اتانولی زنجبیل را به ترتیب ۰/۰۲ و ۰/۰۴ میلی گرم بر میلی لیتر نشان دادند. El-Sherbiny (۳۳) نشان داد که غلظت ۱/۲ میلی گرم در میلی لیتر عصاره آبی و غلظت ۱ میلی گرم در میلی لیتر عصاره متانولی زنجبیل اثر مهاری بر استرپتوکوکوس موتانس دارد. تفاوت نتایج آن‌ها با یافته های حاضر می‌تواند ناشی از تکنیک‌های مختلف استخراج باشد.بدین معنی که آن‌ها از زنجبیل موجود در بازار استفاده کردند در حالی که در مطالعه حاضر عصاره را بلافاصله پس از جمع آوری زنجبیل به دست آوردند.

عصاره زنجبیل باعث کاهش متوسط ژن‌های بیماری زا در مطالعه حاضر شد. از آنجایی که این ژن ها نقش برجسته‌ای در القای چسبندگی باکتری ها ایفا می‌کنند، تنظیم کاهشی آن‌ها می‌تواند به عنوان یک رویکرد موثر کنترل پوسیدگی دندان عمل کند (۳۴). همانگونه که نتایج مطالعه حاضر و سایر مطالعات (۳۴-۳،۱۳،۱۵،۳۲) نشان می‌دهد عصاره متانولی زنجبیل می‌تواند بر روی بیان زن های بیماری زا استرپتوکوکوس موتانس اثر مهاری داشته و باعث کاهش بیان آن‌ها شوند. در مطالعه Hasan و همکاران (۳۴)، بیان برخی از ژن‌های تشکیل‌دهنده بیوفیلم از قبیل com DE، gtf C، vic R و gbp B با عصاره خام و اتانولی E. officinalis تعیین شد. داده‌ها، کاهش بیان این ژن‌های بیماری زا را در بیوفیلم نشان داد. عصاره خام کاهش فوق‌العاده‌ای در بیان ژن‌ها (تا ۹۰٪) نشان داد. در نتیجه به نظر می‌رسد که استفاده از عصاره های گیاهی مختلف از قبیل زنجبیل در بالین می تواند باعث مواجهه شدن با کاهش پوسیدگی دندان شود.

بر خلاف نتایج حاضر، Mathai و همکاران (۳۵) نشان داد که زنجبیل در ترکیب با عصاره لیمو کمترین اثر بازدارندگی را بر روی استرپتوکوکوس موتانس در روش انتشار دیسک آگار داشت. تفاوت بین نتایج آن‌ها با یافته‌های حاضر می تواند ناشی از عدم ارزیابی عصاره متانولی زنجبیل باشد.

مطالعات آتی برای به کارگیری روش‌های پیشرفته‌تر استخراج مانند کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا برای به دست آوردن نتایج قابل اعتمادتر مورد نیاز است. همچنین عوارض جانبی احتمالی و سمیت سلولی عصاره متانولی زنجبیل باید در مطالعات بعدی نیز بررسی شود.

محصولات طبیعی و گیاهی منبع مهم و مقرون به صرفه‌ای جهت کنترل بیماری زایی میکروب‌ها می‌باشند. این تحقیق نشان داد عصاره متانولی زنجبیل می تواند باعث کاهش قابل توجه بیان ژن‌های gtfC، brpA، relA، comDE و spaP شود که این امر نشان‌دهنده کارایی بهینه آن برای کنترل بیماری زایی استرپتوکوکوس موتانس است. از این رو، می‌توان آن را به عنوان یک عامل ضد پوسیدگی احتمالی قویاً پیشنهاد کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه دانشجویی دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، به شماره پایان نامه ۴۰۳۷ می‌باشد.

References:

1- Zhang Z, Liu Y, Lu M, Lyu X, Gong T, Tang B, et al. Rhodiola rosea extract inhibits the biofilm formation and the expression of virulence genes of cariogenic oral pathogen Streptococcus mutans. Arch Oral Biol. 2020;116:104762.

2- Benzaid C, Belmadani A, Tichati L, Djeribi R, Rouabhia M. Effect of Citrus aurantium L. Essential Oil on Streptococcus mutans Growth, Biofilm Formation and Virulent Genes Expression. Antibiotics (Basel). 2021;10(1):58.

3- Guan C, Che F, Zhou H, Li Y, Li Y, Chu J. Effect of Rubusoside, a Natural Sucrose Substitute, on Streptococcus mutans Biofilm Cariogenic Potential and Virulence Gene Expression In Vitro. Appl Environ Microbiol. 2020;86(16):e01012-20.

4- Mazhab Jafari S, Yazdian F, Hosseini F, Rasekh B. Evaluation of the effect of carbon-based nanocomposites containing Trachyspermum on gtf gene expression in Streptococcus mutans. New Cellularand Molecular Biotechnology J. 2022;12(48):23-36.

5- Bedoya-Correa CM, Rincón Rodríguez RJ, Parada-Sanchez

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-07]

MT. Genomic and phenotypic diversity of Streptococcus mutans. J Oral Biosci. 2019;61(1):22-31.

6- Durso SC, Vieira LM, Cruz JNS, Azevedo CS, Rodrigues PH, Simionato MR. Sucrose substitutes affect the cariogenic potential of Streptococcus mutans biofilms. Caries Res. 2014;48(3):214-22.

7- Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The Biology of Streptococcus mutans. Microbiol Spectr. 2019;7(1):10.

8- Brady LJ, Maddocks SE, Larson MR, Forsgren N, Persson K, Deivanayagam CC, et al. The changing faces of Streptococcus antigen I/II polypeptide family adhesins. Mol Microbiol. 2010;77:276-86.

9- Larson MR, Rajashankar KR, Crowley PJ, Kelly C, Mitchell TJ, Brady LJ, et al. Crystal Structure of the C-terminal Region of Streptococcus mutans Antigen I/II and Characterization of Salivary Agglutinin Adherence Domains. J Biol Chem. 2011;286(24):21657-66.

10- Lin Y, Chen J, Zhou X, Li Y. Inhibition of Streptococcus mutans biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides. Crit Rev Microbiol. 2021;47(5):667-77.

11- Çakır A, Şahin TN. Evaluation of the impact of fluoride in drinking water and tea on the enamel of deciduous and permanent teeth. BMC Oral Health. 2023;23(1):565.

12- Ali BH, Blunden G, Tanira MO, Nemmar A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (Zingiber officinale Roscoe): a review of recent research. Food Chem Toxicol. 2008;46(2):409-20.

13- Azizi A, Aghayan S, Zaker S, Shakeri M, Entezari N, Lawaf S. In Vitro Effect of Zingiber officinale Extract on Growth of Streptococcus mutans and Streptococcus sanguinis. Int J Dent. 2015;2015:489842.

14- Jain I, Jain P, Bisht D, Sharma A, Srivastava B, Gupta N. Use of traditional Indian plants in the inhibition of caries-causing bacteria--Streptococcus mutans. Braz Dent J. 2015;26(2):110-5.

15- Hasan S, Danishuddin M, Khan AU. Inhibitory effect of zingiber officinale towards Streptococcus mutans virulence and caries development: in vitro and in vivo studies. BMC Microbiol. 2015;15(1):1.

16- Khosravani SR, Azimi L, Rahimi Nahoji M, Panahandeh N. Anti-bacterial and Anti-biofilm Effects of the Methanolic Extract of Zingiber Offcinale on Streptococcus Mutans Clinical Isolates: Effect of the Methanolic Extract of Zingiber Offcinale on Streptococcus Mutans. Regeneration, Reconstruction & Restoration (Triple R). 2025;10:e2.

17- Mahmoudi R, Amini K, Fakhri O, Alem M. Aroma profile and antimicrobial properties of alcoholic and aqueous extracts from root, leaf and stalk of nettle (Urtica dioica L.). J Microbiol Biotechnol Food Sci. 2014;4(3):220-4.

18- Selvan SA, Ghalsasi VV, Bandyopadhyay A, Pal T. Commercial utilization of bacteriocins: tackling challenges and exploring their potential as alternatives to antibiotics. Future Microbiol. 2025;20(10):681-93.

19- Gulluce M, Sahin F, Sokmen M, Ozer H, Daferera D, Sokmen A, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. ssp. longifolia. Food Chemistry. 2007;103(4):1449-56.

20- Brevnov MG, Pawar HS, Mundt J, Calandro LM, Furtado MR, Shewale JG. Developmental validation of the PrepFiler Forensic DNA Extraction Kit for extraction of genomic DNA from biological samples. J Forensic Sci. 2009;54(3):599-607.

21- Phillips K, McCallum N, Welch L. A comparison of methods for forensic DNA extraction: Chelex-100® and the QIAGEN DNA Investigator Kit (manual and automated). Forensic Sci Int Genet. 2012;6(2):282-5.

22- Babouee B, Frei R, Schultheiss E, Widmer AF, Goldenberger D. Comparison of the DiversiLab repetitive element PCR system with spa typing and pulsed-field gel electrophoresis for clonal characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. J Clin Microbiol. 2011;49(4):1549-55.

23- Church DL, Chow BL, Lloyd T, Gregson DB. Comparison of automated repetitive-sequence-based polymerase chain reaction and spa typing versus pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011;69(1):30-7.

24- Imbeaud S, Graudens E, Boulanger V, Barlet X, Zaborski P, Eveno E, et al. Towards standardization of RNA quality assessment using user-independent classifiers of microcapillary electrophoresis traces. Nucleic Acids Res. 2005;33(6):e56.

25- Dieffenbanch C, Dveksler GS. PCR primer: a laboratory manual. USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press; ISBN 0-87969-653-2; 2003:61.

26- Bachman J. Reverse-transcription PCR (rt-PCR). Methods Enzymology. 2013;530:67-74.

27- Bitoun JP, Liao S, Yao X, Ahn SJ, Isoda R, Nguyen AH, et al. BrpA is involved in regulation of cell envelope stress responses in Streptococcus mutans. Appl Environ Microbiol. 2012;78(8):2914-22.

28- Kaur G, Balamurugan P, Princy SA. Inhibition of the Quorum Sensing System (ComDE Pathway) by Aromatic 1,3-di-m-tolylurea (DMTU): Cariostatic Effect with Fluoride in Wistar Rats. Front Cell Infect Microbiol. 2017;7:313.

29- Allaker RP, Seddon SV, Tredwin C, Lynch E. Detection of Streptococcus mutans by PCR amplification of the spaP gene in teeth rendered caries free. J Dent. 1998;26(5-6):443-5.

30- Dorak M. Real-time PCR. Taylor & Francis Group Press; 2007. p. 24.

31- Wu J, Fan Y, Wang X, Jiang X, Zou J, Huang R. Effects of the natural compound, oxyresveratrol, on the growth of Streptococcus mutans, and on biofilm formation, acid production, and virulence gene expression. European J Oral Sci. 2020;128(1):18-26.

32- Sheikhinejad S, Babaeekhou L, Barzin G. Zingiber officinale; An anti-Streptococcus mutans herbal drug: Which is more suitable? J Res Dent Sci. 2017;14(3):162-9.

33- EL-Sherbiny GM. Antimicrobial susceptibility of bacteria detected from the root canal infection (before and after) root-filled teeth: An in vitro study. Int J Det Sci Res. 2015;3(1):4-9.

34- Hasan S, Danishuddin M, Adil M, Singh K, Verma PK, Khan

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-07]

AU. Efficacy of E. officinalis on the cariogenic properties of Streptococcus mutans: a novel and alternative approach to suppress quorum-sensing mechanism. PLoS One. 2012;7(7):e40319.

35- Mathai K, Anand S, Aravind A, Dinatius P, Krishnan AV, Mathai M. Antimicrobial Effect of Ginger, Garlic, Honey, and Lemon Extracts on Streptococcus mutans. J Contemp Dent Pract. 2017;18(11):1004-8.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2026-04-07]