

## تأثیر بیوسورفکتانت‌های استخراج‌شده از لاکتوباسیلوس‌های کازی و روتری بر بیان ژن‌های *gtfB/C* و *ftf* در استرپتوکوکوس موتانس

دکتر امید صوابی<sup>۱</sup>، محمد کاظمی<sup>۲</sup>، دکتر رسول صالحی<sup>۳</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** تا کنون راه‌های متداول برای پیشگیری از شیوع پوسیدگی دندان مؤثر واقع نگردیده‌اند. در این مطالعه تأثیر بیوسورفکتانت‌های خالص‌سازی‌شده از سویه‌های لاکتوباسیلوس کازی (ATCC39392) و لاکتوباسیلوس روتری (DSM20016) بر روی بیان ژن‌های *gtfB/C* (Glucosyltransferase B/C) و *ftf* (Fructosyltransferase) از سوش استاندارد استرپتوکوکوس موتانس (ATCC35668) بررسی گردید.

**روش‌ها:** نمونه‌های لاکتوباسیلوس و استرپتوکوکوس موتانس از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه گردید. برای تشکیل بیوفیلم از روش میکروتیتر پلیت در حضور ۱ درصد سوکروز استفاده شد. تولید و استخراج بیوسورفکتانت با کشت لاکتوباسیلوس‌های کازی و روتری در محیط کشت MRS Broth و دیالیز و لیوفلیزه نمودن بیوسورفکتانت خالص‌سازی‌شده با دستگاه فریز درایر انجام شد. برای ارزیابی تأثیر بیوسورفکتانت بر فرایند اتصال باکتری، بیان نسبی ژن‌های *gtfB/C* و *ftf* در استرپتوکوکوس موتانس (ATCC35668) با استفاده از روش Quantitative real time PCR بررسی گردید.

**یافته‌ها:** بیان ژن‌های *gtfB/C* و *ftf* در استرپتوکوکوس موتانس تیمار شده با بیوسورفکتانت‌ها کاهش چشمگیری را نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار بود. اثر بیوسورفکتانت لاکتوباسیلوس کازی بر کاهش بیان ژن‌های مورد مطالعه چشمگیرتر از لاکتوباسیلوس روتری بود.

**نتیجه‌گیری:** باتوجه به کاهش بیان ژن‌های *gtfB/C* و *ftf* در استرپتوکوکوس موتانس‌های تیمار شده، مشخص می‌شود که بیوسورفکتانت‌های مورد استفاده در کنترل فرایند اتصال باکتری و در ادامه‌ی تشکیل پلاک دندانی بسیار موفق عمل کرده‌اند.

**واژگان کلیدی:** Glucosyltransferase B/C، بیوسورفکتانت، Real time quantitative RT-PCR

**ارجاع:** صوابی امید، کاظمی محمد، صالحی رسول. تأثیر بیوسورفکتانت‌های استخراج‌شده از لاکتوباسیلوس‌های کازی و روتری بر بیان ژن‌های *gtfB/C* و *ftf* در استرپتوکوکوس موتانس. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۶۰): ۱۸۳۵-۱۸۲۹

### مقدمه

باکتری ارتباط دارد. توانایی سنتز پلی‌ساکاریدهای غیر محلول خارج سلولی که باعث افزایش تجمع و بقای باکتری در سطح دندان می‌شود، اهمیت فوق‌العاده‌ای در افزایش قدرت پوسیدگی‌زایی این ارگانیسم دارد (۱-۶). یکی از مشخصات بارز این باکتری مصرف

بر مبنای شواهد موجود استرپتوکوکوس موتانس به عنوان عامل اتیولوژی عمده‌ی پوسیدگی دندان معرفی شده است. توانایی این باکتری در شروع فرایند پوسیدگی به چند عامل ویرولانسی عمده‌ی این

۱- دانشیار، گروه پروتزهای دندانی، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- دانشیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده‌ی مسؤؤل: دکتر رسول صالحی  
Email: r\_salehi@med.mui.ac.ir

فعالیت Emulsifying را نشان می‌دهند (۱۰). نشان داده شده است که بیوسورفکتانت‌ها قادر هستند از اتصال پاتوژن‌ها به سطوح سخت یا جایگاه عفونت ممانعت به عمل آورند. همچنین گزارش‌هایی مبنی بر ممانعت از تشکیل بیوفیلم توسط اس موتانس تحت تأثیر بیو سورفکتانت‌ها در دست می‌باشد (۱۱). در این مطالعه اثر دو بیو سورفکتانت استخراج شده از لاکتوباسیلوس‌های کازی و روتری را بر بیان ژن‌های gtf (Glucosyltransferase) و ftf (Fructosyltransferase) از سشوش اس‌تاندارد استرپتوکوکوس موتانس مورد بررسی قرار دادیم.

### روش‌ها

روش میکروتیتر پلیت یک روش رنگ‌سنجی می‌باشد که در حال حاضر در بیشتر آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی برای تعیین قدرت تشکیل بیوفیلم باکتری‌های مختلف و همچنین بررسی تأثیر عوامل ضد میکروبی مختلف بر بیوفیلم، مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش نیاز به محیط کشت بسیار کمی دارد و وقت‌گیر نیست (۱۲-۱۳).

در این تحقیق قدرت تشکیل بیوفیلم استرپتوکوک‌ها در محیط کشت‌های بدون قند، حاوی ۱ درصد گلوکز، حاوی ۱ درصد فروکتوز، مخلوط ۰/۵ درصد گلوکز و ۰/۵ درصد فروکتوز، ۱ درصد سوکروز و ۲ درصد سوکروز مورد بررسی قرار گرفت تا بهترین سوبسترا برای تشکیل بیوفیلم مشخص گردد.

به منظور بررسی تأثیر بیوسورفکتانت حاصل از لاکتوباسیل‌ها بر فرایند اتصال استرپتوکوک‌ها اقدام به تولید و استخراج این ماده از پروبیوتیک‌های مورد مطالعه گردید (۱۴-۱۵). برای این کار به

ساکارز به منظور تشدید کلونیزه کردن باکتری‌های درون دهان می‌باشد. تعداد این باکتری را در دهان با کاهش مصرف ساکارز می‌توان کاهش داد و بر عکس با افزایش مصرف ساکارز تعداد باکتری‌ها افزایش می‌یابد. تولید گلوکان از ساکارز توسط آنزیم‌هایی که این باکتری قادر به تولید آن‌ها است، یک فرایند مهم در شروع و پیشرفت پوسیدگی دندان می‌باشد.

گلیکوزیل ترانسفراز یکی از آنزیم‌های این باکتری می‌باشد که گلوکز موجود در ساکارز را به دکستران تبدیل می‌نماید. گلوکان تولیدشده باعث اتصال باکتری به سطوح می‌شود و تشکیل شبکه‌ای را می‌دهد و دکستران باعث تجمع باکتری‌ها و تشکیل بیوفیلم آن‌ها می‌گردد. به محض این که اتصال انجام شد، تولید اسید حاصل از تخمیر سبب تخریب مینای دندان می‌شود و سپس سایر باکتری‌ها در توسعه‌ی پوسیدگی مشارکت می‌نمایند (۷-۸).

استفاده از پروبیوتیک‌ها به منظور حفظ سلامت دهانی یکی از استراتژی‌های به کار گرفته شده در کنترل و پیشگیری مشکلات دهان و دندان می‌باشد. کمابیش همه‌ی اشخاص در طول زندگی خود بیماری‌های پریدنتال را تجربه خواهند کرد. برخی از این بیماری‌ها با این که گذرا هستند ولی بر استخوان حمایت‌کننده‌ی دندان تأثیر می‌گذارند. پروبیوتیک‌ها می‌توانند به عنوان ارگانسیم‌های زنده و مسؤول تأمین سلامت شخص دریافت‌کننده مورد استفاده قرار گیرند و برای حفظ سلامت دهان شخص مؤثر باشند (۹).

بعضی از پروبیوتیک‌ها محصولات ثانویه‌ای به نام بیوسورفکتانت تولید می‌کنند و در محیط آزاد می‌نمایند. بیوسورفکتانت‌ها ترکیبات بیولوژیکی می‌باشند که به طور اختصاصی فعالیت سطحی زیاد و

در این تحقیق استخراج Total bacterial RNA با استفاده از Pearl های شیشه‌ای - پلاستیکی یا سرامیکی و کیت HYBAID Ribolyser انجام پذیرفت (۱۸). سپس سنتز cDNA از روی RNA استخراج شده با استفاده از کیت فرمتاز و مطابق دستورالعمل آن انجام گرفت.

بررسی ژن‌ها توسط واکنش RT-PCR (Real time polymerase chain reaction) انجام شد. در این تحقیق از سه جفت پرایمر برای بررسی سه ژن استفاده شد (جدول ۱) (۱۹). پرایمرها به نحوی طراحی شدند که قطعات ۱۰۰ جفت بازی را که برای RT-PCR اندازه مناسبی می‌باشد، تکثیر نمایند.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای معنی دار بودن آزمون سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

سوکرز ۱ درصد بهترین سوبسترا برای تشکیل بیوفیلم توسط استرپتوکوک موتانس تشخیص داده شد. ژن‌های *gtfB* (Glucosyltransferase B) و *gtfC* (Glucosyltransferase C) و *ftf* از مهم‌ترین ژن‌هایی هستند که در فرایند اتصال استرپتوکوک‌های موتانس حائز اهمیت هستند.

۶۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت MRS Broth، ۱۵ میلی‌لیتر از کشت شبانه‌ی لاکتوباسیل تلقیح گردید و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباسیون قرار گرفت. سپس سانتریفوژ گردید و رسوب سلولی حاصل در ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول PBS حل شد و ۲ ساعت در دمای اتاق به آرامی با کمک میله‌ی مغناطیسی هم‌زن یا *Stirring bar* به هم زده شد تا بیوسورفکتانت توسط باکتری تولید گردد. بیوسورفکتانت خام با کمک دستگاه فریز درایر در سرما و خلأ در مدت زمان ۲۴ ساعت خشک گردید.

برای تأیید حضور بیوسورفکتانت از تست پخش قطره استفاده گردید. از آن جا که بیوسورفکتانت‌ها از عوامل فعال سطحی هستند و کشش سطحی را کاهش می‌دهند، صاف شدن قطره و انتشار آن نشان‌دهنده‌ی حضور بیوسورفکتانت می‌باشد. در این تست ۲۵ میکرولیتر از کشت یا مایع رویی حاصل از کشت یا بیوسورفکتانت تولیدشده بر پارافیلیم منتقل شد. انتشار قطره بر پارافیلیم در طی چند دقیقه تا چند ساعت اتفاق می‌افتد. سپس قطره‌ی خشک شده و قطر ناحیه‌ی خشک شده مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تسهیل در امر عکس برداری رنگ متیلن بلو به قطره اضافه شد. این ترکیب هیچ تأثیری بر کشش سطحی ندارد. به عنوان شاهد نیز از یک قطره آب مقطر استفاده گردید (۱۷-۱۶).

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده

Primer	Sequence (5'-3')	Fragment location
Ftf-F	AAATATGAAGGCGCTACAACG	1358-1379
Ftf-R	CTTCACCACTTATGATCCCTGAA	1435-1458
GtfB-F	AGCAATGCAGCCAATCTACAAAT	1150-1172
GtfB-R	ACGAACCTTTGCCGTTATTGTCA	1224-1245
GtfC-F	CTCAACCAACCGCCACTGTT	434-453
GtfC-R	GGTTTAAACGTCAAAATTAGCTGTATTAGC	496-524
16S-F	CCTACGGGAGGCAGCAGTAG	243-262
16S-R	CAACAGAGCTTTACGATCCGAAA	321-343

با توجه به توضیح فوق مشخص می‌شود که هر دو بیوسورفکتانت باعث کاهش بسیار محسوس بیان ژن‌های مورد مطالعه گردید. در مقایسه بین این دو بیوسورفکتانت، میزان اثر بیوسورفکتانت لاکتوباسیلوس کازی قذری بیشتر از بیوسورفکتانت لاکتوباسیلوس روتری مشاهده گردید.

### بحث

بیوسورفکتانت‌ها بر فرایند اتصال تأثیر دارند و آن را کاهش می‌دهند. در این تحقیق برای اولین بار به بررسی مکانیسم احتمالی تأثیر بیوسورفکتانت‌های حاصل از لاکتوباسیلوس کازی و روتری بر بیان ژن‌های دخیل در فرایند اتصال یعنی ژن‌های گلیکوزیل ترانسفراز و فروکتوزیل ترانسفراز به صورت کمی و با کمک تکنیک RT-PCR پرداخته شد، چرا که بر اساس مطالعات مختلف آنزیم‌های *GTFs* و *FTF* گذشته توسط این ژن‌ها در فرایند اتصال، تشکیل بیوفیلم و پوسیدگی دندان نقش حیاتی دارند (۲۰-۲۲).

از بین ایزوآنزیم‌های *GTF* نیز مطالعات بیشتر بر *GTFB* و *GTFC* متمرکز شده است، چرا که آن‌ها در تولید گلوکان‌های غیر محلول دخالت دارند و در اتصال وابسته به سوکروز سلول‌های استرپتوکوکوس موتانس به سطوح سخت لازم و ضروری هستند؛ در حالی که نقش *GTFD*، مولد گلوکان محلول در آب، در فرایند تشکیل بیوفیلم خیلی بارز نمی‌باشد (۲۳-۲۴). به همین دلیل در این تحقیق نیز تأثیر بیوسورفکتانت‌ها بر بیان ژن‌های *gtfB*، *gtfC* و *ftf* در استرپتوکوکوس موتانس شاهد، بررسی شد.

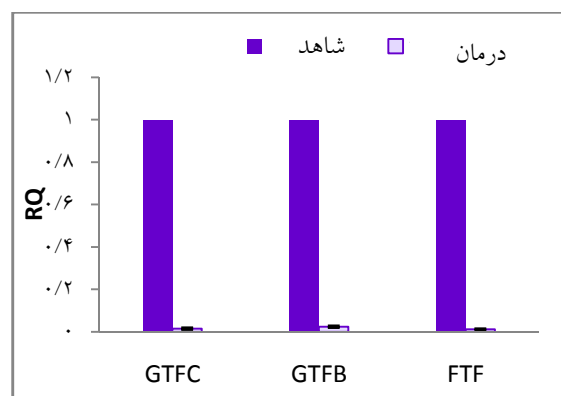
Huang و همکاران میزان بیان این ژن‌ها را در

تأثیر بیوسورفکتانت استخراج‌شده از لاکتوباسیلوس روتری بر بیان ژن‌های *gtfB*، *gtfC* و *ftf* معنی‌دار بود ( $P < 0/001$ ) (شکل ۱).

تأثیر بیوسورفکتانت استخراج‌شده از لاکتوباسیلوس روتری بر بیان ژن‌های گلیکوزیل و فروکتوزیل ترانسفراز استرپتوکوک موتانس در شکل ۲ نشان داده شده است. چنان چه مشهود است بیان ژن‌ها در باکتری‌های تیمار شده با بیوسورفکتانت نسبت به گروه شاهد به نحو چشمگیری کاهش معنی‌داری یافته است ( $P < 0/001$  برای ژن *gtfB*،  $P = 0/006$  برای ژن *gtfC* و ژن *ftf*).



شکل ۱. اثر بیوسورفکتانت استخراج‌شده از لاکتوباسیلوس کازی بر بیان ژن‌های مورد مطالعه



شکل ۲. اثر بیوسورفکتانت لاکتوباسیلوس روتری بر بیان ژن‌های مورد مطالعه

مقادیر pH یا حرارت‌های خاص (۲۶-۲۷). به طور کلی در مطالعه‌ی حاضر با بررسی تأثیر بیوسورفکتانت‌ها بر بیان ژن‌های مؤثر در تشکیل بیوفیلم مشخص شد که کنترل چسبندگی و ایجاد بیوفیلم توسط پروبیوتیک‌ها بر مبنای یک فرایند مولکولی مشخص اتفاق می‌افتد که تا کنون به وضوح به آن پرداخته نشده بود. این مواد با کاهش بیان ژن‌های فوق‌قادر به کاهش فرایند اتصال و تشکیل بیوفیلم هستند و می‌توانند به عنوان عوامل مؤثر، زیست‌سازگار و بدون عوارض جانبی مضر در پیشگیری از اتصال، تشکیل بیوفیلم دندان و در نهایت پیشگیری از پوسیدگی دندان مؤثر واقع گردند.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با شماره‌ی طرح‌های ۲۸۷۲۹۵، ۲۸۷۲۹۶، ۲۸۷۲۹۷ انجام پذیرفت که بدین وسیله از این معاونت تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

حالت بیوفیلم بررسی کردند و گزارش کردند که میزان بیان *gtfC*، *gtfB* و در نهایت *ftf* نسبت به حالت پلانکتونیک افزایش معنی‌داری داشت که نشان‌دهنده‌ی تأثیر مثبت این ژن‌ها در فرایند اتصال و تشکیل بیوفیلم می‌باشد (۲۵). ژن‌های *gtf* در فرایند تولید پلیمرهای گلوکان و اتصال باکتری به سطوح دارای اهمیت زیادی می‌باشند. افزایش مقدار بیان آن‌ها در حالت بیوفیلم نسبت به فرم پلانکتونی این موضوع را تأیید می‌کند. Yoshida و Kuramitsu نشان دادند که میزان بیان ژن *gtfB* در حالت بیوفیلم چهار برابر نسبت به حالت پلانکتونیک افزایش می‌یابد (۲۶).

Rodrigues و همکاران گزارش نمودند که برخی از بیوسورفکتانت‌ها کاندیداهای بسیار مناسبی برای سنتز داروها و عوامل ضد میکروبی ایمن و مؤثر، می‌باشند. آن‌ها همچنین اشاره نمودند که سورفکتانت‌های میکروبی مزایایی نسبت به سورفکتانت‌های شیمیایی دارند، از جمله: سمیت کمتر، قابلیت تجزیه‌پذیری زیستی بیشتر و تأثیر مناسب در

### References

1. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. *BMC Oral Health* 2006; 6(Suppl 1): S14.
2. Kuramitsu HK. Virulence factors of mutans streptococci: role of molecular genetics. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4(2): 159-76.
3. Matsui R, Cvitkovitch D. Acid tolerance mechanisms utilized by *Streptococcus mutans*. *Future Microbiol* 2010; 5(3): 403-17.
4. Burne RA. Oral streptococci... products of their environment. *J Dent Res* 1998; 77(3): 445-52.
5. Li Y, Burne RA. Regulation of the *gtfBC* and *ftf* genes of *Streptococcus mutans* in biofilms in response to pH and carbohydrate. *Microbiology* 2001; 147(Pt 10): 2841-8.
6. Yamashita Y, Bowen WH, Burne RA, Kuramitsu HK. Role of the *Streptococcus mutans gtf* genes in caries induction in the specific-pathogen-free rat model. *Infect Immun* 1993; 61(9): 3811-7.
7. Facklam R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15(4): 613-30.
8. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent Oral Epidemiol* 2005; 33(4): 248-55.
9. Marsh PD. Microbiology of dental plaque biofilms and their role in oral health and caries. *Dent Clin North Am* 2010; 54(3): 441-54.
10. Ajdic D, McShan WM, McLaughlin RE, Savić G, Chang J, Carson MB, et al. Genome sequence of *Streptococcus mutans* UA159, a cariogenic dental pathogen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(22): 14434-9.
11. Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy

- and probiotics' role on oral health. *Oral Dis* 2005; 11(3): 131-7.
12. Thomas JG, Nakaishi LA. Managing the complexity of a dynamic biofilm. *J Am Dent Assoc* 2006; 137(Suppl): 10S-5S.
  13. Arweiler NB, Lenz R, Sculean A, Al-Ahmad A, Hellwig E, Auschill TM. Effect of food preservatives on in situ biofilm formation. *Clin Oral Investig* 2008; 12(3): 203-8.
  14. Llana PC, Forner NL. Evidence concerning the medical management of caries. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008; 13(5): E325-E330.
  15. Scheie AA, Petersen FC. The biofilm concept: consequences for future prophylaxis of oral diseases? *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15(1): 4-12.
  16. Hillman JD, Brooks TA, Michalek SM, Harmon CC, Snoep JL, van Der Weijden CC. Construction and characterization of an effector strain of *Streptococcus mutans* for replacement therapy of dental caries. *Infect Immun* 2000; 68(2): 543-9.
  17. Marsh PD, Devine DA. How is the development of dental biofilms influenced by the host? *J Clin Periodontol* 2011; 38(Suppl 11): 28-35.
  18. Rodrigues L, van der Mei H, Banat IM, Teixeira J, Oliveira R. Inhibition of microbial adhesion to silicone rubber treated with biosurfactant from *Streptococcus thermophilus* A. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006; 46(1): 107-12.
  19. Cameotra SS, Makkar RS, Kaur J, Mehta SK. Synthesis of biosurfactants and their advantages to microorganisms and mankind. *Adv Exp Med Biol* 2010; 672: 261-80.
  20. Marco ML, Kleerebezem M. Assessment of real-time RT-PCR for quantification of *Lactobacillus plantarum* gene expression during stationary phase and nutrient starvation. *J Appl Microbiol* 2008; 104(2): 587-94.
  21. Kubista M, Andrade JM, Bengtsson M, Forootan A, Jonak J, Lind K, et al. The real-time polymerase chain reaction. *Mol Aspects Med* 2006; 27(2-3): 95-125.
  22. Yuan JS, Reed A, Chen F, Stewart CN. Statistical analysis of real-time PCR data. *BMC Bioinformatics* 2006; 7: 85.
  23. Shakeri S, Kermanshahi RK, Moghaddam MM, Emtiazi G. Assessment of biofilm cell removal and killing and biocide efficacy using the microtiter plate test. *Biofouling* 2007; 23(1-2): 79-86.
  24. Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabic-Vlahovic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods* 2000; 40(2): 175-9.
  25. Huang M, Meng L, Fan M, Hu P, Bian Z. Effect of biofilm formation on virulence factor secretion via the general secretory pathway in *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol* 2008; 53(12): 1179-85.
  26. Yoshida A, Kuramitsu H. *Streptococcus mutans* biofilm formation: utilization of a *gtfB* promoter-green fluorescent protein (*PgtfB::gfp*) construct to monitor development. *Microbiology* 2002; 148(Pt 11): 3385-94.
  27. Rodrigues L, Banat IM, Teixeira J, Oliveira R. Strategies for the prevention of microbial biofilm formation on silicone rubber voice prostheses. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2007; 81(2): 358-70.
  28. Rodrigues L, van Der Mei HC, Teixeira J, Oliveira R. Influence of biosurfactants from probiotic bacteria on formation of biofilms on voice prostheses. *Appl Environ Microbiol* 2004; 70(7): 4408-10.

## Effects of Biosurfactants Derived from *Lactobacillus Casei* and *Lactobacillus Reuteri* on Gene Expression Profile of *gtfB/C* and *ftf* Genes in *Lactobacillus Mutans*

Omid Savabi DDS<sup>1</sup>, Mohammad Kazemi MSc<sup>2</sup>, Rasoul Salehi PhD<sup>3</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Dental caries is a worldwide health problem involving almost all age groups in underdeveloped as well as developed countries. So far no considerable progress achieved in the disease prevention, so new preventive/therapeutic measures are urgently needed. Probiotic bacteria and their byproducts, like biosurfactants, are cost-effective with no considerable side effects for dental caries prevention. The aim of the present study was to evaluate the effects of biosurfactants purified from *Lactobacillus casei* (ATCC39392) and *Lactobacillus reuteri* (DSM20016) on *ftf* and *gtf B/C* gene expression level of the standard strains of streptococcus mutans (ATCC35668).

**Methods:** Lactobacillus species purchased from the bacterial collection center of Iran. For biofilm production, microtiter plate assay in presence of 1% glucose was used. For biosurfactant production, lactobacillus species were cultured in MRS broth medium, dialyzed and lyophilized using freeze-dryer. To evaluate the effects of biosurfactant on gene expression, bacterial cells were cultured in presence of the appropriate biosurfactant (2.5 mg/ml); after four hours incubation, total cellular RNA was then extracted and used for cDNA synthesis.

**Findings:** Expression of *ftf* and *gtf B/C* genes of the standard strains of *Streptococcus mutans* (ATCC35668) was considerably down regulated by the application of the biosurfactants. The reduction in gene expression was statistically significant ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Considerable down regulation of all genes in presence of biosurfactants was observed. Therefore, it is concluded that the biosurfactants prepared in this study is very successful in dental caries prevention.

**Keywords:** *gtfB/C* gene, *ftf* gene, Biosurfactant, Real time quantitative polymerase chain reaction

**Citation:** Savabi O, Kazemi M, Salehi R. Effects of Biosurfactants Derived from *Lactobacillus Casei* and *Lactobacillus Reuteri* on Gene Expression Profile of *gtfB/C* and *ftf* Genes in *Lactobacillus Mutans*. J Isfahan Med Sch 2014; 31(260): 1829-35

1- Associate Professor, Department of Dental Prosthetics, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran  
2- Pediatric Inherited Diseases Research Center AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran  
3- Associate Professor, Pediatric Inherited Diseases Research Center AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran  
**Corresponding Author:** Rasoul Salehi PhD, Email: r\_salehi@med.mui.ac.ir