Эмгэг төрөгч бактер болон ашигтай бактерт Остео кальци-5 биологийн идэвхт бэлдмэлийн үзүүлэх нөлөөг in vitro орчинд судалсан дүн

Б.Долгорсүрэн[1], С.Сээсрэгдорж[2], Б.Батбилэг[3], С.Ваанчигсүрэн[4], Я.Энхтуул[5], Ж.Энх-Амгалан[3]

[1]АШУҮИС, Ахисан түвшний сургууль
[2]АШУҮИС, МАУОУС, Дотор өвчин судлалын тэнхим
[3]ШУА, Биологийн хүрээлэн
[4]АШУҮИС, АУС, Радиологийн тэнхим
[5]Цэргийн төв эмнэлэг, Дүрс оношилгооны тасаг
Цахим шуудан: btd25e008@gt.mnums.edu.mn, Утас: 94860555

Түлхүүр үг:

Бактерийн эсрэг үйлдэл
Өсөлт саатуулах хамгийн бага тун
Уламжлалт анагаах ухаан

Товч утга:

Үндэслэл: Орчин үед антибиотикийн тэсвэржилт (AMR) нэмэгдэж, ясны эдийн идээт үрэвсэл зэрэг хүнд хэлбэрийн халдварын эмчилгээний үр дүн буурч буйгаас гадна өргөн хүрээний синтетик антибиотик нь микробиомын тэнцвэрт байдлыг алдагдуулж, эзэн биеийн дархлааны тогтолцоог сулруулж байна.[1,2] Иймд эмгэг төрөгчдийг дарангуйлахын зэрэгцээ ашигтай бичил биетний амьдрах чадварт сөрөг нөлөө үзүүлдэггүй байгалийн гаралтай биологийн идэвхт бэлдмэлийг судлах шаардлагын хүрээнд сорил туршилтын болон эмнэлзүй нь судалгаа хийгдсэн Остео кальци-5 бэлдмэлийн эмгэг төрөгч болон ашигтай бактерт үзүүлэх нөлөөг тогтоох нь энэхүү судалгааны ажлын үндэслэл болсон. **Зорилго:** Эмгэг төрөгч бактер болон ашигтай бактерт Остео кальци-5 биологийн идэвхт бэлдмэлийн үзүүлэх нөлөөг in vitro орчинд судлах. **Арга, аргачлал:** Судалгааг тоон судалгааны аргаар туршилтын судалгааны загвар ашиглан гүйцэтгэсэн ба эмгэг төрөгч бактерийн 2 стандарт омог болох S.aures ATCC 12600, MRSA ATCC 700699 ашигтай бактерийн 2 стандарт омог болох L.paracasei , S.thermophilus-ийг ашиглав. Остео кальци-5 бэлдмэлийг 70% этанол болон 0.1% HCl бүхий уусмалаар хандлан бактерийн эсрэг үйлчлэлийг тодорхойлохдоо шөлөн шингэрүүлэлтийн аргаар 0.78–12.5% концентрацийн хүрээнд өсөлт саатуулах хамгийн бага тун (MIC) болон бактерийг үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC)-г 3 давталттайгаар тодорхойлж, тэжээлт орчинд шингэрүүлгийн арга ашиглан, ариун бүсийн диаметрээр үнэлэв.[4] **Үр дүн:** Остео кальци-5 биологийн идэвхт бэлдмэлийн ханд нь эмгэг төрөгч бактер болон ашигтай бактерийн өсөлтөд сонгомол байдлаар нөлөөлдөг тогтоогдов. Тодруулбал, эмгэг төрөгч бактер болох MRSA омгийн өсөлт саатуулах хамгийн бага тун (MIC) 0.78%, бактерийг үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC) 1.56% байсан бол S.aureus омгийн хувьд MIC болон MBC утгууд 1.56% концентрацид колонийн өсөлт бүрэн дарангуйлагдан бактерийн эсрэг өндөр идэвх үзүүлэв. Харин L.paracasei болон S.thermophilus омгууд нь бэлдмэлийн бага концентрацид хэвийн өсөж, MIC нь 6.25%–12.5% байснаар эмгэг төрөгч омгуудаас хэд дахин өндөр тэсвэртэй болох нь батлагдаж, тэжээлт орчинд шингэрүүлгийн аргаар S.aureus (16.50±0.29 мм) болон MRSA (15.00±0.58 мм) бактерийн өсөлтийг ариун бүс үүсгэн идэвхтэй саатуулсан ба ашигтай бактерийн омог болох L.paracasei, S.thermophilus-ийн өсөлтөд ямар нэгэн сөрөг нөлөө үзүүлээгүй юм. **Дүгнэлт:** Остео кальци-5 бэлдмэлийн бактерийн өсөлтийг саатуулах хамгийн бага тун (MIC) MRSA-д 0.78%, S.aureus-д 1.56%, бактерийг үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC) хоёр омогт 1.56% тодорхойлогдож, тэжээлт орчинд шингэрүүлгийн аргаар S.aureus (16.50±0.29 мм) болон MRSA (15.00±0.58 мм) бактерийн өсөлтийг ариун бүс үүсгэн идэвхтэй саатуулж бактерийн эсийн хана, мембраныг гэмтээх болон хоруу чанарыг саармагжуулах замаар ясны идээт үрэвсэл (остеомиелит) үүсгэгчдийг бага концентрацид үр дүнтэй дарангуйлав. Ашигтай бактер болох L.paracasei, S.thermophilus омгуудын хувьд бэлдмэлийн хандны MIC утга 6.25–12.5% байж, бага концентрацид хэвийн өсөн ариун бүс үүсгээгүй нь уг бэлдмэлд эмгэг төрөгчдөөс илүү өндөр тэсвэртэй болохыг харуулж байгаа ба энэ нь хүний биеийн хэвийн микробиомын тэнцвэрийг алдагдуулахгүйгээр халдварыг сонгомлоор дарангуйлах өвөрмөц онцлогтойг нотолж байна.

Үндэслэл: Орчин үед антибиотикийн тэсвэржилт (AMR) эрчимтэй нэмэгдэж ясны эдийн идээт үрэвсэл (*остеомиелит*) зэрэг хүнд хэлбэрийн халдварын эмчилгээний үр дүнг эрс бууруулж байна.[1,5] Уг өвчний үндсэн үүсгэгч нь *Staphylococcus aureus* (нийт тохиолдлын 75–80%) байхаас гадна *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Hemolytic streptococcus*, *Pneumococcus* зэрэг өндөр хоруу чанартай эмгэг төрөгчид хавсран нөлөөлдөг. Тулгамдсан энэ томоохон асуудлын хүрээнд хийгдсэн судалгаагаар бактерийн тэсвэржилтийн улмаас жил бүр дэлхий дахинд 1.27 сая хүн нас барж байгаа бөгөөд цаашид энэ байдал үргэлжилбэл 2050 он гэхэд энэ тоо 10 сая хүрэхээр байгаа нь эмчилгээний шинэ стратеги боловсруулах зайлшгүй шаардлагатайг харуулж байна.[1] Иймд эмгэг төрөгч бактерийн өсөлтийг сонгомлоор дарангуйлахын зэрэгцээ ашигтай микробиотын амьдрах чадварт сөрөг нөлөө үзүүлдэггүй, байгалийн гаралтай биологийн идэвхт бэлдмэлийн нөлөөг судлан тогтоох хэрэгцээ байна. Уламжлалт анагаах ухаанд "Ясны тэжээл" хэмээн алдаршсан жонш болон 4 төрлийн эмийн ургамлаас (Ар үр, Давсан, Ажигцэрон, Мана) бүрдсэн Остео кальци-5 биологийн идэвхт бэлдмэлийн үрэвсэл дарах, дархлаа дэмжих, ясны нөхөн төлжилтийг идэвхжүүлэх үйлдэлтэй болохыг сорил туршилт, эмнэлзүйд нарийвчлан судалжээ.[6-10] Эмнэлзүйн практикт уг бэлдмэл ясны халдварт үрэвслийн үед хэрэглэхэд үр дүн илэрч байгаа ч түүний фармако-микробиологийн суурь механизм судлагдаагүй байна. Сүүлийн үед кальцийн гидроксид зэрэг нэгдлүүдийн үүсгэдэг шүлтлэг орчин нь бактерийн эсийн мембран болон ферментийг гэмтээх замаар *S.aureus* зэрэг эмгэг төрөгчдийн өсөлтийг саармагжуулдаг нь батлагдаад байгаатайхолбож үзвэл Остео кальци-5 бэлдмэлийн pH 10.53 бүхий өндөр шүлтлэг чанар нь хүчиллэг орчинд дасан зохицдог *S.aureus*-ийн амьдрах чадварыг хязгаарлах суурь нөхцөл байж болох юм.[4] Иймд тус бэлдмэлийн өндөр шүлтлэг орчин болон фитохимийн идэвхт нэгдлүүд нь эмгэг төрөгч бактерийн өсөлтийг сааруулах, ашигтай бактерийн амьдрах чадварыг алдагдуулахгүй байх боломжийг биологийн механизмыг туршилтаар нарийвчлан тогтоох нь энэхүү судалгааны ажлын үндэслэл болсон.

Зорилго: Эмгэг төрөгч бактер болон ашигтай бактерт Остео кальци-5 биологийн идэвхт бэлдмэлийн үзүүлэх нөлөөг in vitro орчинд судлах.

Зорилт:

1. Остео кальци-5 биологийн идэвхт бэлдмэлийн бактерийн өсөлтийг саатуулах хамгийн бага тун (MIC), бактерийг үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC) болон ариун бүсийн диаметрийг хэмжин бактерийн эсрэг идэвхийг тодорхойлох
2. Эмгэг төрөгч болон ашигтай бактерийн өсөлтөд Остео кальци-5 бэлдмэлийн үзүүлэх нөлөөг харьцуулан судалж, сонгомол идэвх болон тэсвэртэй байдлын түвшинг үнэлэх.

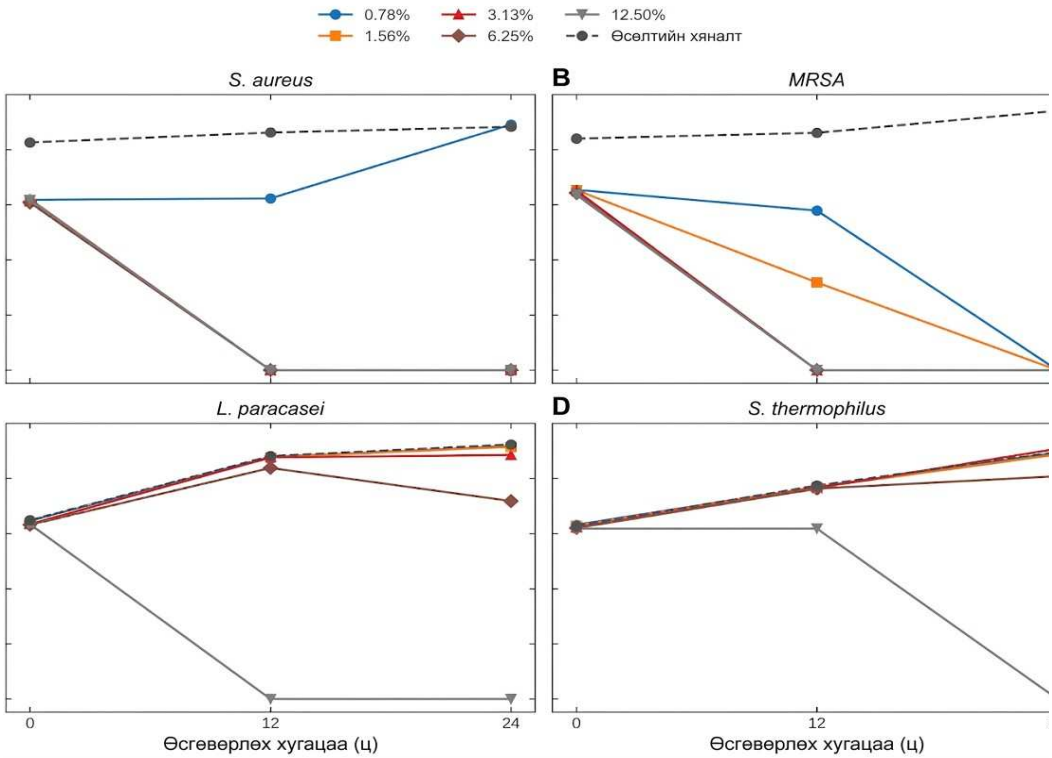
Арга, аргачлал: Судалгааг тоон судалгааны аргаар туршилтын судалгааны загвар ашиглан ШУА-ийн Биологийн хүрээлэнгийн лабораторийн материаллаг баазыг түшиглэн хийж гүйцэтгэсэн ба эмгэг төрөгч бактерийн 2 стандарт омог болох *S.aures* ATCC 2592, MRSA ATCC 700699 ашигтай бактерийн 2 стандарт омог болох *L.paracase*i, *S.thermophilus*-ийг ашиглав. Ургамлын хандны нөлөөг ашигтай бактерийн өсгөвөрт судлах зорилгоор ижил төстэй судалгааны арга зүйг сонгосон.[11,12] Судалгааны үндсэн эх хэрэглэгдэхүүнээр Остео кальци-5 (2025-2026 онд "Язгуур Увдис" ХХК-д үйлдвэрлэгдсэн, Цувралын дугаар: (№26.01, №26.03, №25.12, №26.05, №25.10, №26.07, №25.08) бэлдмэлийг санамсаргүй түүврийн аргаар сонгон авч судаллаа.

Тохиромжтой хандлах аргыг сонгохдоо усан болон 70%-ийн этанолд хандалсан бөгөөд хүчиллэгжүүлсэн 70%-ийн этанолын ханд (70% Этанол + 0.1% HCl) нь илүү үр дүнтэй байсан учир уг аргыг сонгон ашиглав. Судалгаанд Остео кальци-5 биологийн идэвхт бэлдмэлийн 600 ширхэг капсулыг механик аргаар задлан, аналитик жин дээр нарийвчлан хэмжиж 300 г нунтаг бэлтгээд аналитик зэрэглэлийн 99.7%-ийн этанол, нэрмэл ус болон HCl-оор 70%-ийн этанол ба 0.1% HCl бүхий 3000 мл хандлагч уусмал бэлтгэн 1:10 харьцаатайгаар хольсон. Уг хольцыг термостаттай усан ваннд (Biobase, BK-S4) 45 градуст 10 цаг хандласны дараа Whatman №1 шүүгч цаасаар шүүв. Шүүгдсэн хандыг вакум ууршуулагчаар ууршуулж (Eyela N1000) этанолоос нь бүрэн салгаж гарсан хандыг лиофилизатораар (Biobase, BK-FD 18P) 24 цагийн турш гүн хөлдөөсөн. Гарган авсан хуурай нунтаг хандны нийт цэвэр жин 15 г байв. Уг хуурай хандыг ариутгасан нэрмэл устай 1:2 харьцаагаар тооцон уусгаж туршилтад ашиглах ханд бэлтгэв. Хандны бактерийн эсрэг үйлчлэлийг тодорхойлохдоо шөлөн шингэрүүлэлтийн арга ашиглаж, туршилтад хэрэглэх бактерийн омгуудыг бэлтгэхдээ: *S.aureus* болон MRSA бактериудыг Nutrient Broth (NB) орчинд, *L.paracasei*-г de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) broth орчинд, *S.thermophilus*-ийг M17 broth орчинд тус тус тариалж 37°C-т 18-24 цагийн турш өсгөвөрлөв.[13] Өсгөвөрлөсөн бактерийн булинг оптик нягтралыг спектрофотометрээр хэмжин OD_{600}=0.5 (4×10^8CFU/мл) утгад тохируулан бактерийн харгалзах тэжээлт орчин болон Остео кальци-5 бэлдмэлийн хандны концентрацуудыг (0.78%, 1.56%, 3.12%, 6.25%, 12.5%) тус бүрийн тэжээлт орчноор бэлтгэж 96 нүхтэй бичил хавтангийн нүхэнд зохих эзлэхүүнээр хийж, 144 *rpm* эргэлтийн хурдтай сэгсрэгч дээр 37°C-т 18-24 цагийн турш өсгөвөрлөв.[17] Өсгөврийг харгалзах хатуу тэжээлт орчинд (Nutrient Agar, MRS Agar, M17 Agar) тараан тарьж 37°C-т 18-24 цагийн турш өсгөвөрлөн бактерийн өсөлтийг саатуулах хамгийн бага тун (MIC), бактерийг үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC)-г тодорхойлж, бактерийн эсрэг сонгомол идэвхийг тодорхойлоход Balouiri (2016) нарын аргачлалд үндэслэн тэжээлт орчинд шингэрүүлгийн аргыг (Agar Well Diffusion Method) ашиглан бактерийн булингаас хөвөн бамбараар авч тус бүрийн хатуу тэжээлт орчинд жигд тараан тарьсны дараа 6 мм голчтой нүх гарган, нүх тус бүрт бэлдмэлийн 1:1 харьцаатай бэлтгэсэн ханднаас 100 мкл-ийг хийж эерэг хяналтад Ванкомицин 30мг, сөрөг хяналтад тухайн ханданд ашигласан уусгагч

уусмал (70%-ийн этанол ба 0.1%-ийн HCl) хийж 37°C температурт 24 цаг өсгөвөрлөж үр дүнг ариун бүсийн диаметрийг хэмжиж байгалийн гаралтай хандны судалгааны олон улсын жишиг шалгуурын Ponce (2003) дагуу ZOI ≥15мм байвал идэвхтэй, 10-14мм байвал дунд зэрэг, <10мм эсвэл хэмжигдэх боломжгүй (NM) байвал сул/идэвхгүй гэж тус тус үнэлэв.[3] Бактерийн өсөлт болон өсөлт дарангуйлах динамикийг нарийвчлан үнэлэх зорилгоор туршилтын хугацааны 0 цаг (T_0), 12 цаг (T_{12}), 24 дэх цагуудад (T_{24}) (microplate reader) ашиглан оптик нягтралын хэмжилтийг гурван давталттайгаар гүйцэтгэв.

Ёс зүй: Судалгааг АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооны 2025 оны 06 сарын 24-ний өдрийн №2025/6-8 тоот хурлын зөвшөөрлөөр гүйцэтгэсэн.

Үр дүн: Остео кальци-5 биологийн идэвхт бэлдмэлийн бактерийн эсрэг MIC, MBC-г тодорхойлоход эмгэг төрөгч болон ашигтай бактерийн омгуудын өсөлтөд үзүүлэх нөлөө нь концентраци болон хугацааны хамааралтайгаар мэдэгдэхүйц ялгаатай, сонгомол шинж чанартай болох нь тогтоогдсон. (Зураг 1)



Зураг 1. Хандны ялгаатай концентрациар үйлчилсний дараах бактерийн амьд эсийн тооны хугацааны өөрчлөлт (log_{10} клони үүсгэх нэгж/мл)

Тайлбар: ***A.*** *S.aures* ***B****. MRSA* ***C****. L.paracasei* ***D****. S.thermophilus*

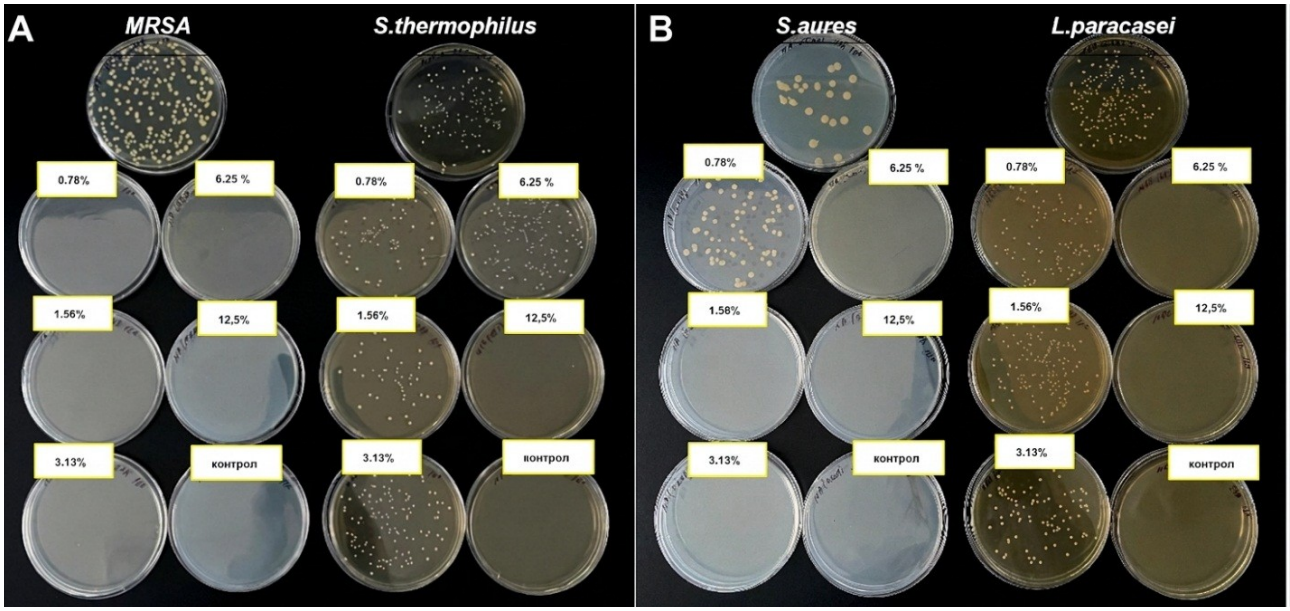
Судалгааны үр дүнгээс үзэхэд эмгэг төрөгч бактерийн омгууд болох *S.aureus* болон метицилинд тэсвэртэй *S.aureus* (*MRSA*)-ийн эсрэг бэлдмэлийн ханд өндөр идэвх үзүүлсэн бөгөөд тухайлбал, *MRSA* омгийн өсөлт саатуулах хамгийн бага тун (MIC) нь 0.78% (v/v) концентрацид, харин бактерийг үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC) нь 1.56% (v/v) концентрацид тус тус бактерицид үйлдэл үзүүлж буй нь илэрсэн. Мөн *Staphylococcus aureus* омгийн хувьд өсөлт саатуулах хамгийн бага тун (MIC) болон бактерийг үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC) утгууд нь мөн адил 1.56% (v/v) концентрацид хүрч, тэжээлт орчин дээрх колонийн өсөлт эрс багасан бүрэн дарангуйлагдсан үр дүн тогтоогдсон. Харин ашигтай бактерийн төлөөлөгч омгууд болох *L.paracasei* (*Kh2-5*) болон *S.thermophilus* (*21-1*)-ийн хувьд уг бэлдмэл нь харьцангуй сөрөг нөлөө багатай болох нь илэрсэн. (Хүснэгт 1)

Хүснэгт 1. Хандны концентраци тус бүрийн бактерийн эсрэг идэвхийг 24 цагийн дараах болон эхний хэмжилтийн OD-ийн зөрүүгээр тодорхойлсон дүн

Өсгөвөр нэр	Хандны концентрац					Сөрөг хяналт	Эерэг хяналт	MIC, %	MBC, %
	0.78	1.56	3.13	6.25	0.125				
L.paracasei	0.45±0.057	0.34±0.037	0.17±0.053	0.03±0.050	0.02±0.028	0.00±0.008	0.62±0.031	6.25	12.5
S.thermophilus	0.39±0.044	0.36±0.029	0.19±0.042	0.16±0.029	0.02±0.015	0.00±0.008	0.71±0.021	12.5	12.5
S.aures	0.37±0.029	0.06±0.034	0.04±0.037	0.03±0.016	0.02±0.008	0.00±0.016	0.37±0.016	1.56	1.56
MRSA	0.02±0.013	0.03±0.021	0.02±0.016	0.01±0.016	0.01±0.017	0.00±0.016	0.39±0.013	0.78	0.78

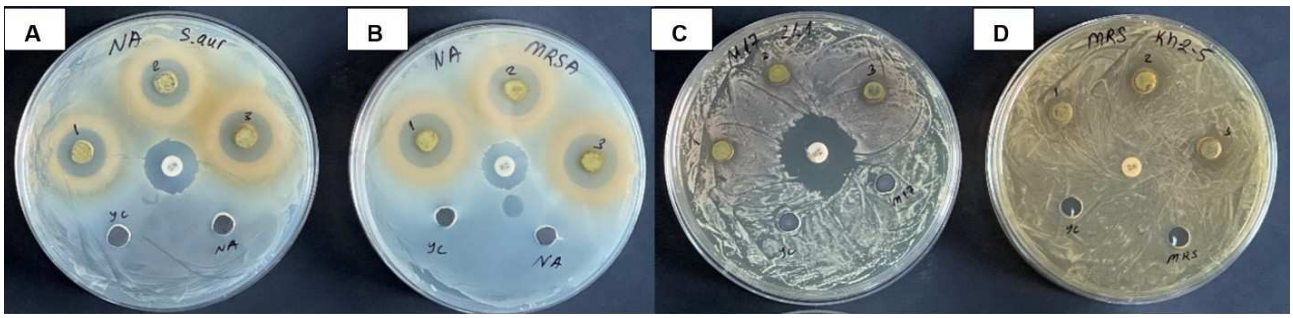
Тайлбар: *Утгууд нь өгөгдсөн хүснэгтийн ΔOD тооцооллыг харуулна.
Эерэг утга нь оптик нягт нэмэгдсэнийг, сөрөг утга нь буурсныг илэрхийлнэ.

Тухайлбал, бэлдмэлийн бага болон дунд концентрациудын үед (0.78- 3.13%) дээрх ашигтай бактериудын өсөлт ямар нэгэн саадгүй хэвийн үргэлжилж, колониуд олноороо хадгалагдаж байсан бөгөөд өсөлт саатуулах хамгийн бага тун (MIC) нь 6.25% (v/v), бактерийг үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC) нь 12.5% (v/v) концентрацид тус тус тогтоогдсон нь эмгэг төрөгч омгуудаас хэд дахин өндөр тэсвэртэй болохыг тоон үзүүлэлтээр тодорхой харуулж байна. (Зураг 2)



Зураг 2. Хандны ялгаатай концентраци бактерийн өсөлтийг дарангуйлсан байдал 24 цагийн дараах үр дүн
Тайлбар: * А.MRSA, S.thermophilus **В**. S.aures, L.paracasei

Туршилтаар Остео кальци-5 бэлдмэлийн ханд нь *S.aures* омогт 16.50±0.29 мм, *MRSA* омогт 15.00±0.58 мм диаметр бүхий өсөлт саатуулсан ариун бүс үүсгэв. Байгалийн гаралтай нийлмэл бэлдмэлийн бактерийн эсрэг идэвхийг үнэлэх олон улсын жишиг шалгуурын Ponce (2003) дагуу уг бэлдмэл эмгэг төрөгч болон антибиотикт тэсвэртэй омгийн эсрэг бактерийн эсрэг идэвхтэй болохыг харуулж байна.[14] Харин ашигтай бактерийн омог болох *L.paracasei* ба *S.thermophilus*-ийн өсгөвөр дээр ариун бүс үүсээгүй (хэмжигдэх боломжгүй / NM) буюу бэлдмэл нь бактерийн өсөлтөд сөрөг нөлөө үзүүлээгүй (идэвхгүй) болох нь тогтоогдов. Эерэг хяналтад ашигласан Ванкомицин 30 мг нь эмгэг төрөгч омгуудад 18.20-21.40 мм ариун бүс үүсгэсэн ба сөрөг хяналтад ашигласан уусгагч уусмал (70% этанол + 0.1 HCl) ариун бүс үүсгээгүй (0.00мм) тул туршилтын үр дүнд уусгагч бодисын саатуулах нөлөө гараагүй болох нь баталгаажлаа. (Зураг 3)



Зураг 3. Тэжээлт орчинд шингэрүүлгийн аргаар бэлдмэлийн хандны эмгэг төрөгч болон ашигтай бактерт үзүүлэх идэвхийг харуулсан байдал
Тайлбар: * А. S.aures **В**.MRSA **С**. S.thermophilus **D**. L.paracasei

Хэлцэмж: Бидний судалгаагаар Остео кальци-5 бэлдмэл нь эмгэг төрөгч бактер *S.aureus* болон *MRSA* омгийн өсөлтийг бага концентрацид (MIC: 0.78–1.56%) сонгомлоор дарангуйлах өндөр идэвхтэй болох нь тодорхойлогдлоо. Ясны идээт үрэвслийн (остеомиелит) үед эмгэг төрөгч бактериуд нь ясны гадаргууд (biofilm) буюу хамгаалалтын бүрхүүл үүсгэн, антибиотик болон эзэн биеийн дархлааны эсүүдийн үйлчлэлээс хамгаалдаг тул халдвар архагшиж, ясны бүтцийг гүнзгий гэмтээдэг болохыг Lew (2004) нар тэмдэглэжээ.[15] Энэхүү эмгэг жамын эсрэг уг бэлдмэл нь жоншны кальцийн нэгдлийн үүсгэх шүлтлэг орчин (pH 10.53) болон Ар үр, Мана, Ажигцэрон, Давсан зэрэг ургамлын найрлага дахь галлийн хүчил, аланталактон, изоаланкалактон, аукубин, флавоноид, хебулын хүчил зэрэг фитохимийн идэвхт нэгдлүүдийн хамтарсан үйлчлэлээр бактерицид нөлөө үзүүлдэг. Уг механизмыг Cushnie (2005) нарын судалгааны үр дүнтэй харьцуулахад, ургамалд агуулагдах фитохимийн нэгдлүүд нь бактерийн эсийн хана болон мембраныг гэмтээх замаар эмгэг төрөгчийн хоруу чанарыг үр дүнтэй саармагжуулдаг гэсэн дүгнэлттэй бидний үр дүн бүрэн тохирч байна.[16]

Синтетик антибиотикоос ялгаатай нь Остео кальци-5 биологийн идэвхт бэлдмэл нь хүний биеийн ашигтай сүүн хүчлийн бактериудад (*Lactobacillus paracasei*, *Streptococcus thermophilus*) харьцангуй өндөр тэсвэртэй (MIC: 6.25–12.5%) бөгөөд сонгомол идэвхтэй болох нь батлагдлаа. Ашигтай бактерийн энэхүү онцлог нь тэдгээрийн эсийн ханын зузаан пептидогликан бүтэц болон дотоод орчны pH зохицуулах ферментийн тогтолцоотой холбоотой юм. Энэ нь тухай Prakasita (2019) нар судалгаанд ургамлын ханд микробиомын тэнцвэрт байдалд сөрөг нөлөө үзүүлдэггүй хэмээн дурдсан байдаг.[17] Түүнчлэн, уг бэлдмэл нь ясны идээт үрэвслийн үед халдварыг дарангуйлахаас гадна эрдэсжилтийг дэмжих давхар үйлдэлтэй. Найрлага дахь CaO (45.85%), стронци, цайр, зэс зэрэг микроэлементүүд нь остеобластын үйл ажиллагааг идэвхжүүлж, лизил-оксидаза (LOX) ферментийн кофактор болсноор коллагены нийлэгжилтийг эрчимжүүлдэг. Энэхүү үр дүн нь стронци болон бусад эрдсийн синергист нөлөө нь ясны нөхөн төлжилтийг сайжруулдаг болохыг баталсан Bonnelye (2008), Grote (2005) нарын дүгнэлттэй дүйцэж байна. Мөн Miranda (2019) нар ургамлын фито антиоксидантууд нь эдгэрэлтийн явц дахь исэлдэлтийн стрессийг бууруулдгийг тэмдэглэжээ.[18-20] Цаашид уг бэлдмэлийн үйлдлийн механизмыг молекул биологийн түвшинд гүнзгийрүүлэн судлахын зэрэгцээ идээт үрэвслийн эмчилгээний үр дүн, бэлдмэлийн аюулгүй байдлыг харгалзан судалгааг өргөжүүлэх шаардлагатай юм.

Дүгнэлт:

1. Остео кальци-5 бэлдмэлийн бактерийн өсөлтийг саатуулах хамгийн бага тун (MIC) *MRSA*-д 0.78%, *S.aureus*-д 1.56%, бактерийг үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC) хоёр омогт 1.56% тодорхойлогдож, тэжээлт орчинд шингэрүүлгийн аргаар *S.aureus* (16.50±0.29 мм) болон *MRSA* (15.00±0.58 мм) бактерийн өсөлтийг ариун бүс үүсгэн идэвхтэй саатуулж бактерийн эсийн хана, мембраныг гэмтээх болон хоруу чанарыг саармагжуулах замаар ясны идээт үрэвсэл (остеомиелит) үүсгэгчдийг бага концентрацид үр дүнтэй дарангуйлав.
2. Ашигтай бактер болох *L.paracasei, S.thermophilus* омгуудын хувьд бэлдмэлийн хандны MIC утга 6.25–12.5% байж, бага концентрацид хэвийн өсөн ариун бүс үүсгээгүй нь уг бэлдмэлд эмгэг төрөгчдөөс илүү өндөр тэсвэртэй болохыг харуулж байгаа ба энэ нь хүний биеийн хэвийн микробиомын тэнцвэрийг алдагдуулахгүйгээр халдварыг сонгомлоор дарангуйлах өвөрмөц онцлогтойг нотолж байна.

Ном зүй:

1. *Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. Lancet. 2022;399(10325):629-655. doi:10.1016/S0140-6736(21)02724-0*
2. *Blaser MJ. Antibiotic overuse: Stop killing the good gut bacteria. Nature. 2014;509(7501):283-284. doi:10.1038/509283a*
3. *Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. J Pharm Anal. 2016;6(2):71-79. doi:10.1016/j.jpha.2015.11.005*
4. *Estrela C, Bammann LL, Estrela CRA, Silva RS, Pécora JD. Antimicrobial and chemical study of MTA, Portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal. Braz Dent J. 2000;11(1):3-9.*
5. *O›Neill J. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. London: Review on Antimicrobial Resistance, Wellcome Trust and UK Government; 2016.*
6. *Сээсрэгдорж С. Жоншноос эмийн уламжлалт технологийн аргаар биологийн идэвхт бэлдмэл гарган авах инновацын төслийн тайлан. Улаанбаатар; 2014:220-291.*

7. Баавгай Ч, Болдсайхан Б. Монголын Уламжлалт Анагаах Ухаан. Улаанбаатар; 1990:25-32.
8. Доржбат С. Уламжлалт эмийн технологийн аргаар жоншноос гаргаж авсан түүхий эдийн бүтцийн судалгаа [Магистрын зэрэг горилсон бүтээл]. Улаанбаатар: Эрүүл Мэндийн Шинжлэх Ухааны Их Сургууль; 2013.
9. Олдох С, Цэрэнцоо Б, Батхуяг П. Эмийн жор судлал. Улаанбаатар; 2010:148-150.
10. Цэнджав Д. Жоншны бэлдмэлийн ясны сийрэгжилтэд үзүүлэх үйлдлийг судалсан дүн [Анагаах ухааны докторын диссертаци]. Улаанбаатар: Эрүүл Мэндийн Шинжлэх Ухааны Их Сургууль; 2013
11. Meza-Gutiérrez NN, Magallón-Servín P, Balois-Morales R, Pérez-Ramírez LF, López-Guzmán GG, et al. Growth Promoting Activity of Annona muricata L. Leaf Extracts on Lactobacillus casei. Plants. 2022;11(5):581. doi:10.3390/plants11050581
12. Ziarno M, Kozłowska M, Ratusz K, Hasalliu R. Effect of the Addition of Selected Herbal Extracts on the Quality Characteristics of Flavored Cream and Butter. Foods. 2023;12(3):471. doi:10.3390/foods12030471
13. Fujisaka S, Watanabe Y, Toume K, Morinaga Y, Nawaz A, et al. Identification of herbal drug extracts that promote growth of Akkermansia muciniphila in high-fat diet fed mice. Diabetol Int. 2024;15(4):495-506. doi:10.1007/s13340-024-00713-w
14. Ponce AG, Fritz R, del Valle C, Roura SI. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LWT - Food Sci Technol. 2003;36(7):679-684. doi:10.1016/S0023-6438(03)00088-4
15. Lew DP, Waldvogel FA. Osteomyelitis. Lancet. 2004;364(9431):369-379. doi:10.1016/S0140-6736(04)16727-5
16. Cushnie TP, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. Int J Antimicrob Agents. 2005;26(5):343-356. doi:10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002
17. Prakasita VC, Asmara W, Widyarini S, Wahyuni AETH. Combinations of herbs and probiotics as an alternative growth promoter: An in vitro study. Vet World. 2019;12(4):614-620. doi:10.14202/vetworld.2019.614-620
18. Bonnelye E, Chabret C, Bassett JH, et al. Strontium ranelate improves osteoblast activity while inhibiting osteoclasts. J Bone Miner Res. 2008;23(4):532-540. doi:10.1359/jbmr.071107
19. Grote HJ, Hannig M, Buurman H, et al. Effects of calcium and trace elements on human osteoblast-like cells. Biomaterials. 2005;26(15):2523-2531. doi:10.1016/j.biomaterials.2004.07.031
20. Miranda LL, Guimarães-Lopes VP, Altoé LS, et al. Plant extracts in the bone repair process: A systematic review. Mediators Inflamm. 2019;2019:1296153. doi:10.1155/2019/1296153

In Vitro evaluation of the effects of the biologically active supplement Osteo calcium-5 on pathogenic and beneficial bacteria

Dolgorsuren B[1], Seesregdorj S[2], Batbileg B[3], Vaanchigsuren S[4], Enkhtuul Y[5], Enkh-Amgalan J[3]

[1]Graduate School, MNUMS
[2]Department of Internal Medicine, ISMM, MNUMS
[3]Institute of Biology, Mongolian Academy of Sciences
[4]Department of Radiology, School of Medicine, MNUMS
[5]Department of Radiology, The Central Military Hospital
E-mail: btd25e008@gt.mnums.edu.mn, Tel: +976-94860555

Abstract:

Background: Currently, the rise of antimicrobial resistance (AMR) has led to reduced therapeutic efficacy in severe infections such as osteomyelitis. Furthermore, broad spectrum synthetic antibiotics disrupt microbiome balance and weaken the host immune system. Therefore, given the need to investigate natural biologically active supplements that inhibit pathogens without adversely affecting the viability of beneficial microorganisms supported by experimental and clinical studies this study was grounded in determining the effects of the Osteo Calcium-5 supplement on pathogenic and beneficial bacteria

Aim: To investigate the in vitro effects of the biologically active supplement Osteo Calcium-5 on pathogenic and beneficial bacteria.

Objectives: To determine the antibacterial activity of the biologically active supplement Osteo Calcium-5 by measuring the minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC), and the diameter of the inhibition zone. To compare the effects of the Osteo Calcium-5 supplement on the growth of pathogenic and beneficial bacteria, and to evaluate the levels of selective activity and resistance.

Materials and Methods: The study was performed using a quantitative research approach with an experimental research design, utilizing two standard pathogenic bacterial strains Staphylococcus aureus ATCC 12600 and methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) ATCC 700699 along with two standard beneficial bacterial strains, Lactobacillus paracasei and Streptococcus thermophilus. The Osteo Calcium-5 supplement was extracted using a solution of 70% ethanol and 0.1% HCl. To determine its antibacterial efficacy, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were assessed in triplicate across a concentration range of 0.78% to 12.5% using the broth microdilution method, and evaluated via the agar well diffusion method based on the inhibition zone diameter.

Results: It was established that the extract of the biologically active supplement Osteo Calcium-5 exerts selective effects on the growth of pathogenic versus beneficial bacteria. Specifically, for the pathogenic MRSA strain, the minimum inhibitory concentration (MIC) was 0.78% and the minimum bactericidal concentration (MBC) was 1.56%, whereas for the S.aureus strain, both MIC and MBC values were 1.56%, demonstrating high antibacterial activity with complete inhibition of colony growth at this concentration. In contrast, L.paracasei and S.thermophilus strains grew normally at low concentrations of the supplement, with MIC values ranging from 6.25% to 12.5%, proving to be several fold more resistant than the pathogenic strains. Furthermore, the agar diffusion method showed active inhibition of S.aureus (16.50±0.29mm) and MRSA (15.00-0.58mm) bacterial growth through the formation of inhibition zones, while exhibiting no adverse effects on the growth of the beneficial bacterial strains L.paracasei and S.thermophilus.

Conclusions: The MIC of the Osteo Calcium-5 supplement was determined to be 0.78% for MRSA and 1.56% for S.aureus, with the MBC for both strains established at 1.56%. Through the agar well method, the supplement actively inhibited the growth of S.aureus (16.50±0.29mm) and MRSA (15.00±0.58mm) by forming inhibition zones, effectively suppressing osteomyelitis inducing pathogens at low concentrations via mechanisms including bacterial cell wall and membrane disruption and virulence neutralization. For the beneficial bacterial strains L.paracasei and S.thermophilus, the MIC values of the supplement extract ranged from 6.25% to 12.5%, allowing normal growth at low concentrations without forming inhibition zones. This indicates a significantly higher resistance to the supplement compared to pathogens, proving its unique capability to selectively inhibit infections without disrupting the balance of the human normal microbiome.

Keywords: Antibacterial activity, Minimum Inhibitory Concentration, Traditional Medicine