Арилжааны ам зайлагч уусмалын *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-ийн эсрэг идэвхийг тодорхойлсон дүн

Э.Амгаланзаяа[1,2], Д.Золзаяа[2], М.Соёлмаа[3], Ч.Баттогтох[1,4]

[1]АШУҮИС, Био-Анагаахын сургууль, Бичил амь судлал, Халдварын сэргийлэлт, хяналтын тэнхим
[2]АШУҮИС-ийн Монгол-Япон эмнэлэг, Эмнэлзүйн Төв Лаборатори
[3]АШУҮИС, Нүүр ам судлалын сургууль, Нүүр амны эмчилгээний тэнхим
[4]АШУҮИС, Био-Анагаахын хүрээлэн
Цахим шуудан: amgalanzaya@mnums.edu.mn, Утас: 89033263

Түлхүүр үг:

Стандарт омог
Антисептик
Лейкотоксин
Шүдний тулгуур эд
Холбоос эд

Товч утга:

Үндэслэл: Шүдний тулгуур эд болон холбоос эдийн үрэвсэл (ШТХЭҮ) нь түгээмэл тохиолддог ба олон хүчин зүйлийн нөлөөгөөр үүсэж буйл, түүшин яс, холбоос эд, ясжмаг эд бүхлээр гэмтэж шүд хөдөлгөөнд орсноор шүдгүйдэлд хүргэдэг. ШТХЭҮ-ийн эмгэгтөрөгчийн нэг болох *Aggregatibacter actinomycetemcomitans нь* лейкотоксин (ltxA)-ыг нийлэгжүүлдэг, хоруу чанар ихтэй бактери юм. Манай оронд түгээмэл хэрэглэдэг ам зайлагч уусмалын *A.actinomycetemcomitans*-ийн эсрэг идэвхийг тодорхойлсноор ШТХЭҮ-ийн үеийн эмчилгээний үр дүнг нэмэгдүүлэх мөн урьдчилан сэргийлэх ач холбогдолтой. **Зорилго:** Монгол оронд түгээмэл хэрэглэж буй ам зайлах арилжааны уусмалын *A.actinomycetemcomitans* ATCC 43718 стандарт омгийн эсрэг идэвхийг тодорхойлох. **Арга, аргачлал:** Бид энэхүү судалгааг Аналитик судалгааны агшингийн загварыг ашиглан *A.actinomycetemcomitans* ATCC 43718 стандарт омог болон спиртийн агууламжтай, ургамлын гаралтай болон хлоргексидинтэй гурван өөр төрлийн түгээмэл ашигладаг ам зайлагч уусмалыг сонгосон ба АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хороо болон АШУҮИС-ийн Монгол-Япон эмнэлгийн Эмнэлзүйн судалгааны дэд хорооноос зөвшөөрөл авч хийж гүйцэтгэлээ (№2023/3-01, №13). *A.actinomycetemcomitans* стандарт омгийг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу сэргээж, антисептик уусмалын бактерийн эсрэг идэвхийг шөлөнд бичил шингэрүүлэлтийн шинжилгээгээр тодорхойлсон. Статистик боловсруулалтыг SPSS 22 программыг ашиглан боловсруулав. **Үр дүн:** *A.actinomycetemcomitans* ATCC 43718 *с*тандарт омгийг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу сэргээж цустай тэжээлт орчинд тунгалаг, гүдгэр, дугуй, наалдамхай, жижиг хэлбэртэй колони өсгөвөрлөсөн. Шөлөнд бичил шингэрүүлэтийн шинжилгээгээр дээр дурдсан ам зайлагчийг 1:4-1:128 шингэрүүлэхэд 15-30 секундэд бактерийн эсрэг идэвхи үзүүлж байгааг тогтоосон. **Дүгнэлт:** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-ийн стандарт омгийн эсрэг түгээмэл хэрэглээний ам зайлагч уусмалын идэвх сайн боловч найрлагаас хамаарч харилцан адилгүй үр дүн үзүүлж байна.

Үндэслэл: АНУ-д 2009-2014 оны Үндэсний эрүүл мэнд, хоол тэжээлийн хяналт судалгаанд 30 ба түүнээс дээш насны насанд хүрэгчдийн дунд шүдний тулгуур эд болон холбоос эдийн үрэвсэл (ШТХЭҮ)-ийн тархалт 42%, хүндэрсэн ШТХЭҮ тархалт 7.8% болохыг мэдээлсэн.[1] Мөн дэлхийн хүн амын тал хувьд шүдний цоорол болон ШТХЭҮ-тэй болох нь Дэлхийн хүн амын өвчлөл хүндрэлийн 2015 оны судалгаагаар тогтоогдсон.[2] Манай оронд ШТХЭҮ 18-20 насанд 67% тархалттай байсан бол шүдний тулгуур болон холбоос эдийн өвчин нас ахих тусам нэмэгдэж буйлны үрэвсэл даамжирч шүдний тулгуур эд болон холбоос эдийн

үрэвсэл болж хүндэрч байгааг тогтоожээ.[3]

ШТХЭҮ нь түгээмэл тохиолддог шүдний эмгэг юм. Олон хүчин зүйлийн нөлөөгөөр шүдний тулгуур болон эргэн тойрон дахь бүтцийг гэмтээдэг буйлны эдийн гаралтай өвчин нь үрэвсэл буйлны гүн рүү нэвчиж, гомеостазыг өөрчилснөөр шүд унахад хүргэдэг.[4] Буйлны үрэвслийн шалтгааны нэг болох шүдний өнгөр 700 гаруй төрлийн бактериас бүрддэг хэдий ч *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis* зэрэг хоруу чанартай цөөн эмгэгтөрөгч үрэвсэл үүсгэдэг.[5]

A.actinomycetemcomitans нь грам сөрөг, агааргүйтэн бактери нь ШТХЭҮ-ийн гол эмгэгтөрөгч, мөн халдварт эндокардит, ховор тохиолдолд тархины буглаа, остеомиелит зэрэг өвчин үүсгэдэг ба лейкотоксин (ltxA)-г ялгаруулдаг.[6]

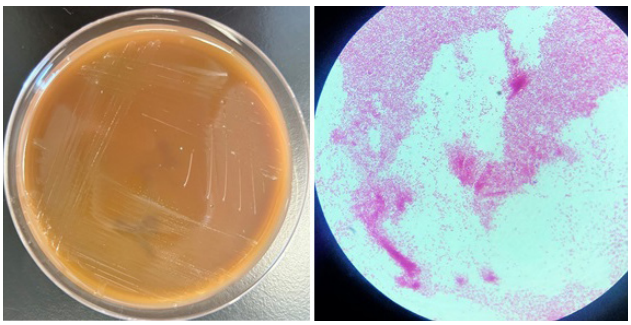
Манай оронд түгээмэл хэрэглэдэг ам зайлагч уусмалын *A.*actinomycetemcomitans-ийн эсрэг идэвхийг тодорхойлсноор ШТХЭҮ-ийн үеийн эмчилгээний үр дүнг нэмэгдүүлэх мөн урьдчилан сэргийлэх ач холбогдолтой.

Зорилго**:** Монгол оронд түгээмэл хэрэглэж буй ам зайлах арилжааны уусмалын *A.actinomycetemcomitans* ATCC 43718 стандарт омгийн эсрэг идэвхийг тодорхойлох.

Арга, аргачлал: *A.actinomycetemcomitans* ATCC 43718 *с*тандарт омгийг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу тархи-зүрхний шөл (BHI broth)-д 37 хэмд 5%-ийн CO_2-той нөхцөлд 24 цаг өсгөвөрлөж сэргээсэн. Өсгөвөрлөсөн стандарт омгоос МакФарландын 0.5 шингэрүүлэгтэй булинга бэлтгэсэн. Судалгаанд 100% ургамлын гаралтай А ам зайлагч, 0.09% хлоргексидинтэй Б ам зайлагч, болон 26.2% спиртийн агууламжтай В ам зайлагч уусмалыг туршив.

Арилжааны ам зайлагч уусмалын бактерийн эсрэг идэвхийг шөлөнд бичил шингэрүүлэх шинжилгээгээр бичил биетний өсөлт саатуулах хамгийн бага тун (MIC), үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC)-г тогтоож, бактери үхүүлэх хугацааг 0, 15, 30, 45, 60, 75 секундэд тодорхойлсон. U хэлбэрт 96 урвалын самбар тус бүрд 100 мкл тархи-зүрхний шөл (BHI broth) хийсний дараа ам зайлагч уусмалаас 100 мкл-г $D=1/2^n$ (D-шингэрүүлэлтийн фактор, n-урвалын самбарын 1-10 хүртэлх урвалын самбарын дугаар) шингэрүүлэлтээр нэмж хийсэн ба МакФарланд 0.5-аар бэлдсэн стандарт омгийн булингаас 10 мкл нэмсэн. Урвалын самбар тус бүрийн уусмалын хэмжээ 210 мкл байна. U хэлбэрт 96 урвалын самбарыг 5%-ийн CO_2-той, 37 хэмд 24 цагийн турш өсгөвөрлөсөн. Өсгөвөрийн дараа бактерийн өсгөврийг спектрофотометрийн аргаар 620 нм бичил шингэрүүлэлтийн хавтан уншигч ашиглан үнэлсэн. Судалгааны боловсруулалтыг SPSS 22 программ ашиглан хоёр бүлгийн ялгаатай эсэхийг үл хамааралт Т-тест ашиглан тодорхойлсон.

Үр дүн: *A.actinomycetemcomitans* ATCC 43718 стандарт омгийг сэргээхэд цустай тэжээлт орчинд тунгалаг, гүдгэр, дугуй, наалдамхай, жижиг хэлбэртэй колони өсгөвөрлөгдсөн (Зураг 1). Микроскопын шинжилгээгээр грам сөрөг коккобацил байсан ба МАЛДИ-ТОФ МС (MALDI-TOF MS System) автомат анализатораар зүйлийн ялган дүйлтийг хийж стандарт омгийн өсгөврийг баталсан.



Зураг 1. *A.actinomycetemcomitans* бактерийн өсгөвөр.

А. Цустай тэжээлт орчинд өсгөвөрлөсөн өсгөвөр.

В. Грамын будгийн аргаар грам сөрөг коккобацил (өсгөлт x100)

Бичил биетний өсөлт саатуулах хамгийн бага тун (MIC), үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC)-г тогтоох шөлөнд бичил шингэрүүлгийн шинжилгээний U хэлбэрт 96 урвалын самбараас гэрлийн долгионы уртаар хэмжсэн тоон утгын зөрүүтэй шингэрүүлэлтээс 10 мкл-г авч цустай тэжээлт орчинд тарьж, 5%-ийн CO_2-той, 37 хэмд 24 цагийн турш өсгөвөрлөж, бактери огт өсгөвөрлөгдөөгүй шингэрүүлэлт нь MBC утга, MBC утгын өмнөх шингэрүүлэлт MIC утга болохыг тогтоосон. Шөлөнд бичил шингэрүүлгийн шинжилгээний үр дүнд бактерийн өсөлтийг саатуулах хамгийн бага тун Б ам зайлагч 1:128, А ам зайлагч 1:16, В ам зайлагч 1:8 байсан бол бактерийг үхүүлэх бага тун 1:64, 1:8, 1:4 тус тус байлаа. А, В ам зайлагч уусмалыг харьцуулахад $p>0.05$ буюу статистик ач холбогдол бүхий ялгаагүй харин Б ам зайлагчийг А, В ам зайлагчтай харьцуулахад $p<0.05$ буюу статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай байсан (Хүснэгт 1). Б болон В ам зайлагч бактерийг хамгийн богино хугацаанд буюу 15 секунд, А ам зайлагч уусмал 30 секундэд бактерийг үхүүлж байв.

Хүснэгт 1. Ам зайлагч уусмалын бактерийн өсөлт саатуулах тун (MIC), үхүүлэх тун (MBC)

Ам зайлагч	А	Б	р утга	А	В	р утга	Б	В	р утга
MIC	1:16	1:128	0.03*	1:16	1:8	0.12	1:128	1:8	0.03*
MBC	1:8	1:64	0.03*	1:8	1:4	0.11	1:64	1:4	0.03*

Тайлбар: ** $p<0.05$ статистик ач холбогдол бүхий ялгаа*

Хэлцэмж: Судлаач Tien Lung Yi, Monali Shah нарын судалгаагаар 0.2% хлоргексидинтэй ам зайлагч *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Aggregatibacter actinomycetemcomitans* зэрэг эмгэгтөрөгчийн өсөлт саатуулсан ариун бүсийн диаметр хамгийн их байгаа нь бидний судалгааны үр дүнтэй ойролцоо байна.[7]

Charuta Sadanand Dabholkar, Mona Shah нарын судалгаагаар ургамлын найрлагатай болон анар жимсний хандтай ам зайлагчийн бага шингэрүүлэлтэнд *S. mutans, A. actinomycetemcomitans* бактерийн өсөлт дарангуйлах идэвх сул байгаа нь бидний судалгааны үр дүнтэй дүйж байна.[8]

Matteo Erriu, Francesca Maria нарын эфирийн тосны найрлагатай гурван төрлийн ам зайлагч уусмалын *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* бактерийн эсрэг идэвхийг харьцуулсан судалгааны үр дүн бидний судалгааны бичил биетний өсөлт саатуулах хамгийн бага тун (MIC), үхүүлэх хамгийн бага тун (MBC)-тай дүйж байлаа.[9]

Дүгнэлт: Ургамал, хлоргексидин болон спирт агуулсан гурван төрлийн ам зайлагч уусмалын *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* стандарт омгийн эсрэг идэвх сайн боловч найрлагаас хамаарч үр дүн харилцан адилгүй байв.

Ном зүй:

1. *Eke PI, Thornton-Evans GO, Wei L, Borgnakke WS, Dye BA, Genco RJ. Periodontitis in US Adults: National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2014. Journal of the American Dental Association (1939). 2018;149(7):576-588.e576.*
2. *Kassebaum NJ, Smith AGC, Bernabé E, et al. Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. Journal of dental research. 2017;96(4):380-387.*
3. *Ц.Батцэцэг нар. Шүдний тулгуур эдийн үрэвсэлт өвчний тохиолдох байдал, үүсгэгч хүчин зүйлүүд, эмчилгээний хэрэгцээ. 1996; 21-30*
4. *G. Orr`u, M. F. Marini, M. L. Ciusa et al., "Usefulness of real-time PCR for the differentiation and quantification of 652 and JP2 Actinobacillus actinomycetemcomitans genotypes in dental plaque and saliva," BMC Infectious Diseases, vol. 6, article 98, 2006.*
5. *Petersen PE, Baehni PC. Periodontal health and global public health. Periodontology 2000. 2012;60(1):7-14.*
6. *Chitsazha R, Faramarzi M, Sadighi M, et al. Evaluation of the antibacterial effect of concentrated growth factor on Aggregatibacter actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis. Journal of family medicine and primary care. 2022;11(6):2865-2869.*
7. *Tien Lung Yi, Monali Shah, Divyaraj Raulji, Deepak Dave. Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Coffee Extract and 0.2% Chlorhexidine Mouthwash on the Periodontal Pathogens Porphyromonas gingivalis, Prevotella Intermedia, Fusobacterium nucleatum and Aggregatibacter actinomycetemcomitans: An In Vitro Study, Advances in Human Biology, Volume 6, Issue 2, May-Aug 2016*
8. *Charuta Sadanand Dabholkar, Mona Shah, Rahul Kathariya, Monika Bajaj, Yogesh Doshi. Comparative Evaluation of Antimicrobial Activity of Pomegranate-Containing Mouthwash Against Oral-Biofilm Forming Organisms: An Invitro Microbial Study. Volume: 10, Issue: 03, 2016*
9. *Matteo Erriu, Francesca Maria, Giovanna Pili, Enrica Tuveri, et al., Oil Essential Mouthwashes Antibacterial Activity against Aggregatibacter actinomycetemcomitans: A Comparison between Antibiofilm and Antiplanktonic Effects. International Journal of Dentistry, Vol 2013, Article ID 164267, 5*

Comparison of the activity of commercial mouthwash solutions against Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Amgalanzaya E[1,2], Zolzaya D[2], Soyolmaa M[3], Battogtokh Ch[1,4]

[1]Department of Microbiology and Infection Prevention Control, School of Biomedicine, MNUMS
[2]Central clinical laboratory, Mongolia-Japan Hospital, MNUMS
[3]Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, MNUMS
[4]Institute of Biomedical Science, MNUMS
E-mail: amgalanzaya@mnums.edu.mn, Tel: +976-89033263

Background: Periodontal disease is one of the most common dental diseases. It is caused by many factors and causes damage to the gums, periodontal bone, conjunctive tissue, and osseous tissue, resulting in tooth loss due to tooth movement. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, one of the causative agents of periodontitis, is a highly virulent bacterium that synthesizes leukotoxin (ltxA). Determining the *A. actinomycetemcomitans* activity of commonly used in Mongolia mouthwash solution in our country is important to increase the therapeutic effect of periodontal disease and prevent it.
Aim: To determine the activity of commercial mouthwash solutions commonly used in Mongolia against *A. actinomycetemcomitans*, ATCC 43718 strain.
Materials and Methods: We used to study the *A. actinomycetemcomitans* ATCC 43718 strain and three different commonly used herbal and chlorhexidine mouthwash solutions with alcohol content. Ethical committee approval was obtained by protocol 2023/3-01. The *A. actinomycetemcomitans* strain was recultured according to the manufacturer's instructions, and the antibacterial activity of the antiseptic solution was determined by broth microdilution assay. Statistical processing was done using "SPSS 17.0" software.
Results: The *A. actinomycetemcomitans* ATCC 43718 strain was reconstituted according to the manufacturer's instructions and cultured clear, convex, round, small adherent colonies in blood media. A broth microdilution assay showed that the above-mentioned mouthwash had antibacterial activity in 15–30 seconds at a 1:4–1:128 dilution.
Conclusions: The activity of commonly used mouthwash solutions against standard strains of Aggregatibacter actinomycetemcomitans is acceptable, but results vary depending on the formulation.

Keywords: Strain, Antiseptic, Leukotoxin, Periodontitis