

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 2, Number 326 (2018), 121 – 125

Nalin Wongkattiya¹, G. O. Nurtilieova^{1,2}, B. B. Tusupova²¹Maejo University, Chang-Mai, Thailand,²Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: nalin.wongkattiya@gmail.com, gul_28@mail.ru, baimuratovna78@mail.ru

**ANTI-BACTERIAL PROPERTY OF THE ESSENTIAL OILS
OF CLOVE AND PRONG FA AGAINST *STREPTOCOCCUS MUTANS*
AND *STREPTOCOCCUS SOBRINUS***

Abstracts. In the article there are shown the antibacterial activity of two plants against bacteria causing oral problems, and the minimum concentration of exposure to these plants has been identified. On the disk diffusion test the clove oil was received by traditional method, showed the highest anti-bacterial activity against to bacteria *streptococcus mutans* and *streptococcus sobrinus*, the average zone of growth inhibition is respectively 16.78 and 16.68 mm, also the MIC value of the essential oil that can inhibit the growth of both bacteria is 2µg/ml. However, in the MBC, the result indicates that the clove oil is more effective against *S. mutans*.

Keywords: essential oil of clove, essential oil of prong fa, disk diffusion assay, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration, streptococcus mutans, streptococcus sobrinus, anti-bacterial property.

ӘӨЖ 616.314.17-008.1-02: 616

Nalin Wongkattiya¹, Г. О. Нуртилеуова^{1,2}, Б. Б. Түсюпова²¹Маежо университеті, Чианг-Май, Таиланд,²Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан**ҚАЛАМПЫР МЕН PRONG FA ТАБИҒИ МАЙЛАРЫНЫҢ
STREPTOCOCCUS MUTANS ЖӘНЕ *STREPTOCOCCUS SOBRINUS*
МИКРОАҒЗАЛАРЫНА ҚАРСЫ АНТИБАКТЕРИАЛДЫҚ ҚАСИЕТИ**

Аннотация. Мақалада қалампыр мен prong fa өсімдіктерінің ауыз қуысының мәселелерін туғызатын бактерияларға қарсы белсенділігі қарастырылып, минималды әсер ету концентрациясы анықталды. Дисперсионды талдау кезінде, қалампыр және prong fa өсімдіктерінен дәстүрлі жолмен алынған табиғи майлардың ішінде, *streptococcus mutans* және *streptococcus sobrinus* микроағзаларына қарсы жоғары белсенділікті қалампыр табиғи майы көрсетті. Әсер ету аумағы орташа есеппен сәйкесінше 16.78 және 16.68 мм тең, ал екі бактерия үшін минималды ингибирлеу концентрациясы 2 мкг/мл мәнге ие, сонымен қатар минималды бактерицидті концентрациясын анықтау барысында, қалампыр табиғи майының *Str.mutans* микроағзасына әсері жоғары екені байқалды.

Түйін сөздер: қалампыр табиғи майы, prong fa табиғи майы, дисперсионды талдау, минималды концентрация, минималды бактерицидті концентрация, *streptococcus mutans*, *streptococcus sobrinus*, антибактериалдык қасиет.

Кіріспе. Ауыз қуысының ауруларынан бастап қатерлі ісікке дейінгі аурулардың барлығы кез келген адам өміріне қауіпті. Денсаулықтың басқа мәселелерімен байланысты болғандықтан, мысалы: диабет, жүрек аурулары секілді, ауыз қуысының саулығы денсаулықтың жалпы жағдайының негізгі белгісі болып табылады. Ауыз қуысы көптеген микроағзалардың тіршілігі үшін

өте қолайлы жер, осылайша 700 ден аса түрі кездеседі [1]. Адамның ауыз қуысында тіршілік ететін бактериялардың келесі доминанты формасын атап өтуге болады: *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *Staphylococcus spp*, *Eubacterium spp*, *Neisseria spp*, *Actinomyces spp*, *Peptostreptococcus spp*, *Micrococcus spp* және т.б. Ірі ассоциацияларының бірі стрептококкалар болып есептеледі [2]. *S. mutans* пен *sobrinus* стрептококктың ішіндегі ең кең тараған түрі. Бұл бактериялар сахарозаны сүт қышқылына айналдырып, жоғары минералданған тіс эмалінің сынуына әкеледі, осылайша тіс бұзылуына негізгі себепкер болып келеді. Осы бактериялардың себебінен туындаған тісжегі секілді ауыз қуысының аурулары, әсіресе балалардың ауруға шалдығуына, ал кейбір жағдайларда ауыр инфекция мен леталды жағдайға да әкелуі мүмкін [3]. Сондай-ақ ауру рефрактерлі болуы және биоқабықшаның бөлінуін алдын алу үшін жасалынатын тіс жуу секілді қарапайым әдістер әсер етпеуі мүмкін. Сол себептен бактерияның бұндай түрлерін жою немесе алдын алу мәселесі өзекті болып табылады.

Синтетикалық химиялық заттарды қолдану денсаулықтың нашарлауына, микроағзалардың бейімделуіне және қоршаған ортаға зиян келтіруі мүмкін, ал өсімдік сығындысы мен табиғи май қазіргі уақытта көп зерттелініп, оның патогенге қарсы белсенділігі практикада жиі қолданылады. Табиғи май төмен молекулалы байланыстар жиынтығынан тұратын қоспа [4]. Табиғи май әртүрлі химиялық санатқа жататын өсімдіктің 20-100 екіншілік метаболитінен құралады [5]. Негізінен белгіленген табиғи майдың биобелсенділігі құрамындағы негізгі құрам бөліктерінің бірімен анықталады [6]. Әрине, олардың белсенділігі құрамындағы заттардың концентрациясына, құрамы мен түріне, микроағзаның концентрациясы мен түріне, сондай-ақ субстраттың құрамына, өңдеу мен сақтау шартына тәуелді болып келеді [7]. Бүкіл әлемнің ғалымдары микробқа, вирусқа, мутагенге және тотығуға қарсы белсенділігі болатын табиғи майдың биологиялық қасиеттерін сипаттауға тырысып жүр [6].

Бұл жұмыста тай өсімдігінің табиғи майларының, *Myrtaceae* тұқымдасынан шыққан қалампыр (*Syzygium aromaticum*) және *Rutaceae* өсімдігінің тұқымдасы Prong fa (*Murraya siamensis*), ауыз қуысының ауруын туғызатын екі бактерияға *Streptococcus mutans* пен *Streptococcus sobrinus* қатысты антибактериалдық қасиеті анықталды.

Эксперименттік бөлім. Бұл жұмыста зерттеу нысаны ретінде Тайландық 2 өсімдігінен алынған табиғи май, қалампыр (*Syzygium aromaticum*) мен Prong fa (*Murraya siamensis*) қолданылды.

Өсімдік экстракциясының процедурасы. 100 г өсімдік бүршігі кептіріліп, 500 мл колбада 4-6 сағ. аралығында гидродистилляциядан бумен өңделді. Ұшқыш дистиллят май толығымен шыққанша жиналды. Кейін дистиллятты натрий хлоридімен қандырып, эфир қосылды. Эфирлі бөлігін құйғыш арқылы бөліп алып, натрий сульфатымен сусыздандырғаннан кейін, 60°C температурада су буында ысытылды. Бөлініп алынған май салқындатылды.

Қолданылған микроорганизмдер. Ауыз қуысының ауруларын туғызатын екі микроорганизмдер: оң гармм бактерия *Streptococcus mutans* (DMST 48777) мен *Streptococcus sobrinus* (DMST 35719). Бұл бактерия культурасы Тайланд Медициналық ғылым департаментінен алынды, Нонтабури, Таиланд.

Дисперсионды талдау. Бактерия суспензиясы бактерия культурасын түні бойы NaCl ерітіндісінде өсірілу арқылы алынды. Стерильденген жағынды бактериалды суспензияға батырылып, құрамында қаны бар Мюллер-Хинтон агарлы ортасына (МНВ ортасының 5%) жағылды. Алдын ала сұйытылған табиғи майы стерилді дискіге 10 мкл мөлшерінде қосылып, бактериясы бар аseptикалық ортаға салынды. Оң бақылау үшін эритромицин (15 мкл), ал теріс бақылау ретінде Tween20 (10 мкл) ерітіндісі қолданылды. Анаэробты жағдайда 24 сағ. бойы 37°C температурада инкубациядан кейін, ингибирлену аумағын мм-мен өлшенді. Барлық тәжірибелік жұмыстар 3 үлгіде жасалынып, жұмыс аяғында орташа мәні алынды.

Минималды ингибирлеу концентрация (МИК) мен минималды бактерицидті концентрацияны (МБК) анықтау. Бактериалды штамм қаны (7 рет мұздатылып, ерітілген) бар МНВ ортасына ауыстырылып, анаэробты жағдайда 24 сағ. бойы 37°C температурада инкубацияланды. Жасушаны культивирлеу үшін екі планшетте әр табиғи май үшін қоректік ортамен сұйытылған бактерия суспензиясы дайындалды. Ол үшін концентрациясы бір мл-де 10⁶ бактерия жасушасы болатын, зерттелініп отырған ағзадан 50 мкл. мөлшері қоректік ортаға көшірілді. 24 сағ. инкубациядан кейін, ол иоднитротетразолиен хлоридінің 50 мкл (0,2 мг/мл) ерітіндісімен өңделді, 30 мин. инкубациядан

өткен соң, бактериясы бар ұяшық түсі күлгін түске өзгереді. Ал МБК-ні жасау үшін, МНА қоректік ортасына планшеттен мазок алынып жасалынды. Келесі күні инкубациядан алынған соң, оптикалық бақылау жасалынды.

Нәтижелер мен оларды талдау. Таңдаланып алынған екі бактерияға қатысты табиғи майлардың антибактериалдық қасиеті бар екені, алайда Prong fa табиғи майының әсері тиімді емес екені анықталды.

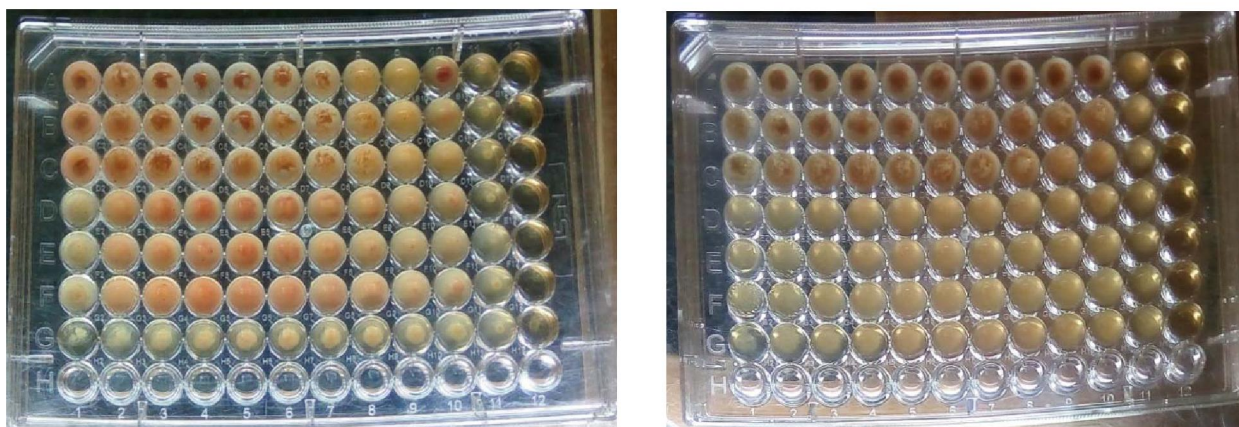
Дисперсионды талдау кезінде қалампыр өсімдігінің табиғи майы екі микроорганизм штаммына қарсы әсер ете алды.

Екі бактерия штаммын табиғи майлардың ингибирлеу аумағы

Табиғи май	Бактерия	Ингибирлеу аумағының диаметрі, мм	Ингибирлеу аумағы диаметрінің орташа мәні, мм	Антибактериалдық белсенділігі
Қалампыр табиғи майы	<i>Streptococcus mutans</i>	16.30	16.78	Орташа
		16.90		
		17.15		
	<i>Streptococcus sobrinus</i>	16.75	16.68	Орташа
		16.05		
		17.25		
Prong fa табиғи майы	<i>Streptococcus mutans</i>	0	0	Әсері жоқ
		0		
		0		
	<i>Streptococcus sobrinus</i>	0	0	Әсері жоқ
		0		
		0		

Анықтама: CLSI, 2013.

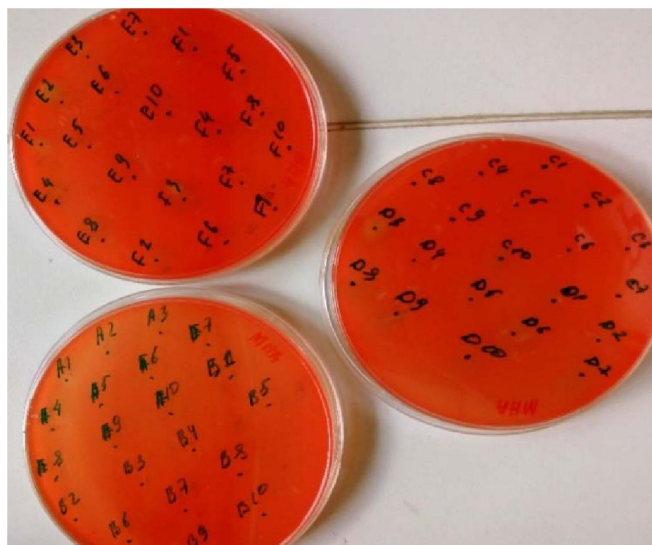
Кестеде екі өсімдіктің микроағзаларды ингибирлеу аумағы келтірілген. Қалампыр майының *S. mutans* микроағзасын орташа есеппен 16,78 мм, ал *S. sobrinus* микроағзасын 16,68 мм ингибирлейтінін байқадық. Ал Prong fa табиғи майының екі штаммға да әсер ертейтіндігі анықталды.



1-сурет – Минималды ингибирлеу концентрациясы (сол жақ) *Streptococcus sobrinus*; (оң жақ) *Streptococcus mutans*

Ескерту: А, В, С қатары қалампыр табиғи майы; D,E, F Prong fa табиғи майы; және G қатары tween 20.

МИК мен МБК нәтижелері 1 және 2-суреттерінде көрсетілген. Тек қалампыр табиғи майы ғана *S. mutans* мен *S. sobrinus* штамдарына антибактериалдық белсенділікті көрсетті. МИС үшін қолданылған табиғи майлардың бактерияға әсер еткен минималды концентрациясы 2 мг/мл.



a. *Streptococcus sobrinus*



b. *Streptococcus mutans*

2-сурет – Минималды бактерицидті концентрациясы (а) *Streptococcus sobrinus*; (б) *Streptococcus mutans*

Алайда, МБК нәтижесі *S. Sobrinus* микроорганизміне қарағанда *S. mutans* штаммына қалампыр майының әсері жақсы екенін көрсетті, өйткені біріншісінде минималды концентрациясында тек бактерия дақ түрінде өскен, ал соңғысында екі репликация концентрациясында да бактерия өскенін байқауға болады.

Тайландық қалампыр табиғи майының құрамында 99,16% дейін эвгенол бар, ол *S. mutans* микроағзасының қолайлы рН ортасын 6,3-тен төмен түсіреді, сондай-ақ оның түзетін ерімейтін глюкоза мөлшерін төмендетеді, соның нәтижесінде микроағзаның тіс бетіне жабысу мүмкіндігі азаяды [8]. Эвгенолдың антибактериалдық әрекеті ондағы α және β жеріндегі бүйір тізбегінің екі байланысының, ал γ -жерінде метокси-тобының болуымен түсіндіріледі. Эвгенол бактериалды ферментінің белсенділігіне, ион тасымалдануына, аденозинтрифосфат пен май қышқылдарына әсер етіп, бактерияның мембрана құрылысын өзгертуге бағытталған.

Тіс биоқабықшасында болатын ауыз қуысының микроағзалары тіс жегінің негізгі себепшісі болып табылады. Көмірсуды қолдану барасында, әсіресе сахарозаны, *streptococci mutans* және *sobrinus* секілді кариогенді микроорганизмдердің пайда болуына әкелетіні белгілі [9]. *Streptococci mutans* жасушадан тыс полисахаридтерді, көбіне глюкозды өндіру қабілеті, тіс жегінің негізгі патогендіктің критикалық факторы ретінде сипаталады [10]. Бұл жағдайда, тіс жегін алдын алу мақсатында *S. mutans* пен *S. Sobrinus* микроорганизмін жою негізгі мақсат болып саналады. Сол себептен қалампыр табиғи майының жоғарыда аталған бактерияларға қарсы белсенділігі тіс жегі мен тістік өңездің алдын алуда зор рөл ойнауы мүмкін.

Қорытынды. Қалампыр майы ауыз қуысының ауруларын туғызатын екі бактерияға да қарсы белсенділікке ие екені анықталды. Соған байланысты қалампырды стоматологиялық өнімдерге қосымша ретінде қолдану арқылы тістік өңездің жиналуы мен тісжегінің пайда болу мүмкіндігін азайтуға болады. Сондай-ақ химиялық және синтетикалық микробқа қарсы агенттерді табиғи өнімге ауыстыру мүмкіндігі туады.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Metwalli K.H., Khan S.A., Krom B.P., Jabra Rizk M.A. (2013) Streptococcus mutans, Candida albicans, and the Human Mouth: A Sticky Situation. PLOS Pathogens 9(10): 1-4.
- [2] Bhatia R., Ichhpurani R.L. (2003). Microbiology for Dental Students. 3rd ed. Jaypee Brothers.
- [3] Casamassimo P.S., Thikkurissy S., Edelstein B.L., Maiorini E. (2009). Beyond the dmft: the human and economic cost of early childhood caries. J Am Dent Assoc 140: 650-657.
- [4] Nakatsu T., Lupo A.T., Chinn J.W., Kang R.K.L. (2000). Biological activity of essential oils and their constituents. Stud Nat Prod Chem 21, 571-631.
- [5] Carson C.F., Hammer, K.A. (2011). Chemistry and bioactivity of essential oils. In: Thormar, H. (Ed.). Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents. John Wiley & Sons, UK, pp. 203-238.
- [6] Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils – a review. Food Chem. Toxicol. 46, 446-475.
- [7] Skandamis P.N., Nychas G.J.E. (2000). Development and evaluation of a model predicting the survival of Escherichia coli O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs, and oregano essential oil concentrations. Appl. Environ. Microbiol. 66, 1646-1653.
- [8] Jing-Shu Xu, Yao Li, Xue Cao, Yun Cui, Experimental and therapeutic medicine, 2013 Jun; 5(6): 1667–1670.
- [9] Hamada S., Koga T., Ooshima T. (1984). Virulence factors of Streptococcus mutans and dental caries prevention. J Dent Res 63: 407-411.
- [10] Loesche W.J. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. Microbiol Rev 50: 353-380, 1986.

Nalin Wongkattiya¹, Г. О. Нуртйлеуова^{1,2}, Б. Б. Тюсюпова²

¹ Университет Маежо, Чианг-Май, Таиланд,

² Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Алматы, Казахстан

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ ГВОЗДИКИ И PRONG FA ПРОТИВ *STREPTOCOCCUS MUTANS* И *STREPTOCOCCUS SOBRINUS*

Аннотация. В статье показана антибактериальная активность двух растений против бактерий, вызывающих оральные проблемы, а также была выявлена минимальная концентрация воздействий этих растений. При дисперсионном анализе, среди полученных традиционным способом, эфирное масло гвоздики и prong fa, высокую активность против штаммов *streptococcus mutans* и *streptococcus sobrinus* показало эфирное масло гвоздики. Средний масштаб воздействия, соответственно, равна 16.78 и 16.68 мм, а минимальная ингибирующая концентрация для двух бактерий является 2 мг/мл. Однако анализ минимальной бактерицидной концентрации показывает, что гвоздичное масло более эффективно против *S. mutans*.

Ключевые слова: эфирное масло гвоздики, эфирное масло prong fa, дисперсионный анализ, минимальная ингибирующая концентрация, минимальная бактерицидная концентрация, *streptococcus mutans*, *streptococcus sobrinus*, антибактериальное свойство.