Шээсний замын халдвар үүсгэгч E.Coli-н наалдах чадварт цангис жимсний хуурай хандны үзүүлэх нөлөөлийг судалсан дүн

Б.Ариунзаяа[1], Я.Мөнхдэлгэр[1], Ж.Жамбалдорж[1], Л.Пүрэвсүрэн[1], Г.Чимэдлхамсүрэн[1], Ж.Сарантуяа[1]

[1]АШУҮИС, БАС, Молекул биологи-Удам зүйн тэнхим
Email: ariunzaya.batt@gmail.com, Утас: 99864665

Түлхүүр үг:

E.coli
Эсиийн гадаргуугийн утаслаг уураг (curli)
Биофильм
Цангис жимсний хуурай ханд

Товч утга:

Үндэслэл: Шээсний замын халдвар (ШЗХ) нь бүх насны хүнд хамгийн өндөр хувьтай тохиолддог халдварт өвчин юм. Цангис жимсний найрлаган дахь проантоцианин болон антоцианин нь (полифенолын бүлэг, фланойдын дэд бүлэг) ШЗХ-аас сэргийлж, халдварын тохиолдолыг бууруулдаг учраас байгалийн антибиотик хэмээн нэрлэдэг. Мөн түүнчлэн энэ жимсний бүрэлдэхүүн бодисууд нь ШЗХ үүсгэгч E.coli–н хөдөлгөөнийг саатуулдаг байна.[2-6] Иймд ШЗХ-ын гол үүсгэгч болдог E.coli нянгийн биофильм үүсгэх шинжийг тодорхойлж, цангис жимсний ханд нь ШЗХ үүсгэгч E.coli-н наалдах чадварт хэрхэн нөлөөлж буйг тодорхойлох нь бидний судалгааны ажлын үндэслэл болно. **Материал арга зүй:** Нянгийн хуванцар гадаргууд адгези болж биофильм үүсгэх шинжийг тодорхойлохдоо 96 худагтай хавтгай ёроолтой тавганд 0.45%-ийн глюкоз бүхий DMEM агуулсан орчинд нянгийн булингаас хийж, нэмэлтээр цангис жимсний хуурай ханд хийж 18-24 цагийн турш 370С хэмд өсгөвөрлөн 0.5%-ийн кристал виолетоор будаад ELISA аппаратад уншуулж дүгнэсэн.[7] **Үр дүн:** Нийт 21 нянд биофильм шинж илэрч, цангис жимсний хуурай ханд нянгийн биофильм шинж бууруулж буйг үнэлэхэд сайн 62% (13), дунд 38% (8) бууруулж байна. **Дүгнэлт:** E.coli нянгийн биофильм шинжийг цангис жимсний хуурай ханд бууруулж (p=0.32) байна

Үндэслэл: Шээсний замын халдвар (ШЗХ) нь бүх насны эмэгтэйчүүдийн дунд хамгийн өндөр хувьтай тохиолддог бөгөөд уг халдварын эмчилгээнд жилд 25 тэрбум доллар зарцуулдаг байна.[1]

ШЗХ үүсгэгчид нь бэлгийн болон бэлгийн бус сормуус гэх мэт наалдах хоруу чанарын олон хүчин зүйлүүдийн тусламжтайгаар шээсний замын хучуур эсэд наалдаж, биофильм үүсгэн шээсний урсгалыг эсэргүүцэн халдвар үүсгэдэг. Эмгэгтөрөгч нянгийн 65% орчим нь биофильм үүсгэх чадвартай байдаг ба ингэж биофильм үүсгэснээр нянгийн антибиотикт тэсвэрт чанар нь 10-1000 дахин нэмэгддэг.[4-6] Судлаачдын судалснаар ШЗХ үүсгэгчдийн 70-90% нь E.coli, 10-20% K.pneumoniaeүлдсэн хэсгийг Pseudomonasspp, Acinetobacterspp, коагулаз сөрөг Staphylococci, Enterococcispp зэрэг үүсгэгчид эзэлж байна.6 Цочмог болон дахилтат халдвар үүсгэсэн ШЗХ үүсгэгч E.coli-н эмчилгээнд нийтлэг хэрэглэдэг эмүүдэд β-лактамын бүлгийн эмүүд, фторхинолин болон триметоприм / сульфаметаксазол зэрэг нь багтдаг боловч өвчтөний нас, хүйс, шээсний замын бүтцийн онцлог, өвчний явц болон өвчин үүсгэгчийн хоруу шинж зэргээс хамааран өөр өөр байдаг. Эмнэлгүүдэд эмгэгтөрөгч E.coli-н халдварын эмчилгээнд түгээмэл хэрэглэдэг эмүүдэд тэсвэржилт үүссэнээр өвчлөл болон нас баралтын тоо өссөн мэдээ байна.[5] 1990-ээд он хүртэл ШЗХ үүсгэгч E.coli нь эхний сонголтын эмүүдэд харьцангуй мэдрэг байсан боловч 2000 оны үеэр Европ болон Өмнөд Америкт хийгдсэн хэд хэдэн судалгааны дүнгээр цефалоспорин, фторхинолин болон триметаприм-сульфаметаксазол гэх мэт эхний сонголтын эмүүдэд 20–45% нь тэсвэржилт өссөн мэдээ байдаг байна.[7] Иймээс эмийн бус эмчилээг боловсронгуй болгох, халдвараас урьдчилан сэргийлэх аргад анхаарлаа хандуулах зайлшгүй шаардлага байна.[4]

Цангис жимсний найрлаган дахь проантоцианин болон антоцианин нь (полифенолын бүлэг, фланойдын дэд бүлэг) ШЗХ-аас сэргийлж, халдварын тохиолдолыг бууруулдаг учраас байгалийн антибиотик хэмээн нэрлэдэг. Мөн энэхүү жимсний бүрэлдэхүүн бодисууд нь ШЗХ үүсгэгч E.Coli–н хөдөлгөөнийг саатуулдаг байна.[6] Иймд цангис жимсний ханд нь ШЗХ үүсгэгч E.Coli-н наалдах чадварт хэрхэн нөлөөлж буйг тодорхойлох нь бидний судалгааны ажлын үндэслэл болно.

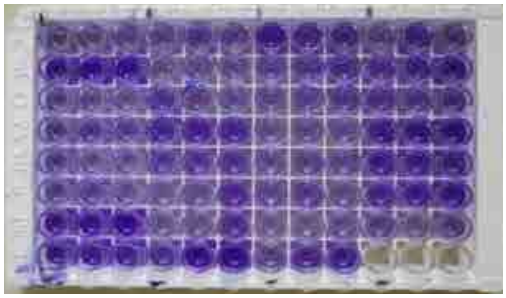
Судалгааны хэрэглэгдэхүүн: АШУҮИС, БАС, Молекул биологи Удамзүйн тэнхмийн өсгөврийн

санд -200С -н хэмд, сүүн тэжээлт орчинд хадгалагдаж буй дээжүүдээс ШЗХ үүсгэгч E.Coli-н 30 өсгөврийг сонгон авч судалгаанд ашигласан. Бактериологи, молекул биологийн шинжилгээнүүдийг АШУҮИС, БАС, Молекул биологи Удамзүйн тэнхмийн дэргэдэх сургалт, судалгааны лабораторийг түшиглэн хийж гүйцэтгэлээ.

Арга аргачлал: Биофильм үүсгэхэд оролцдог эсийн гадаргуугийн уургийг (curli) илрүүлэхдээ конго улаан будаг болон сахарозыг нэмэлтээр агуулсан тархи-зүрхний шөл бүхий тэжээлт орчин бэлтгэн нянг тарьж өсгөвөрлөн колонийг хүрээлэн тод хар өнгө өгсөнийг эерэг гэж үнэлэв.[4,6] Нянгийн хуванцар гадаргууд адгези болж биофильм үүсгэх шинжийг тодорхойлохдоо 96 худагтай хавтгай ёроолтой тавганд 0.45%-ийн глюкоз бүхий DMEM агуулсан орчинд нянгийн булингаас хийж, нэмэлтээр 5 мл цангис жимсний нунтаг ханд (Спиртэн өтгөн хандаа -800 С-ийн гүн хөлдөөгч дотор хийн хөлдөөн хатааж гарган авсан) хийж 18-24 цагийн турш 370С хэмд өсгөвөрлөн 0.5%-ийн кристал виолетоор будаад ELISA аппаратад уншуулж дүгнэсэн.[1]

Үр дүн: 96 худагтай хавтгай ёроолт тавгийг ашиглан нянгуудын биофильм үүсгэх шинжийг үнэлэхэд E.coli сөрөг 9 (30%), бага зэргийн биофильм 18 (60%), дунд зэргийн биофильм 3 (10%) үүсгэх шинж нь эмнэлзүйн оноштой статистик ач холбогдол бүхий хамааралгүй байлаа (P = 0.32).

E.coli нянг хуванцар гадаргууд наалдаж биофильм үүсгэх шинжийг 96 худагтай хавтгай ёроолт тавгийг ашиглан үнэлэхэд E.coli 70% (21/30) эерэг, эерэг тодорхойлогдсон. Нэг сорьцыг 3 худагт адил хэмжээтэй хийж өсгөвөрлөн ELISA reader аппратанд 630, 405 нм уншуулж түүний дунджаар шинжилгээний хариуг үнэлсэн. E.coli нянг биофильм үүсгэх шинжийг хүснэгт 1-д харуулав.



Зураг 1. 96 худагтай хавтгай ёроолт тавгийг ашиглан нянгуудын биофильм үүсгэх шинжийг үнэлж, цангис жимсний хуурай хандын нөлөөллийг үнэлсэн байдал

Нянгуудыг сөрөг болон <0.157, сул биофильм 0.157-0.314, бага биофильм 0.314-0.630, хүчтэй боифильм буюу >0.630 гэж үнэлэхэд E.coli сөрөг 30% (9/30), бага биофильм 60% (18/30), дунд биофильм 10% (3/30) хүчтэй биофильм илрээгүй. Нийт 21 нянд биофильм шинж илэрч, цангис жимсний хуурай ханд нянгийн биофильм шинж бууруулж буйг үнэлэхэд сайн 62% (13), дунд 38% (8) бууруулж байна.Үнэлгээг 3-н худагт хийсэн нэг сорьцын дундажыг spss 17 программын transform→ compute variable цэсийг ашиглан дундаж утгыг (OD meannegative) гаргасан. Дундаж утгаас стандарт хазайлтыг (sD)analyze→ descriptive statistics→ descriptive цэсийг ашиглан гаргаж дундаж утга дээр стандарт хазайлтыг нэмж босго хэмжээг (Odcut off) тооцож гаргасан. Нянгуудын сөрөг, сул биофильм, бага биофильм, хүчтэй биофильмыг transform→ recode into same variable цэсийг ашиглан гаргасан.

Хүснэгт 1. E.coli нянгийн биофильм үүсгэх шинж болон цангис жимсний хуурай хандийн нөлөөллийг үнэлсэн байдал

Биофильм	OD	E.coli		Цангис жимсний хуурай ханд OD	E.coli	
Сөрөг	<0.157	9	30%			
Сул биофильм	0.157-0.314	18	60%	0.107-0.218	13	62%
Бага биофильм	0.314-0.630	3	10%	0.218-0.430	8	38%
Нийт		30	100%		21	100%

Odcut off =OD meannegative +sD = 0.074+0.083=0.157

E.Coli нянг 96 худагтай хавтгай ёроолт тавгийг ашиглан биофильм үүсгэх шинжийг үнэлсэн үр дүнг spss 17 програмын analyze→ descriptive statistics→crosstabs цэсийг ашиглан 2*2 хүснэгт байгуулан тооцож үнэлэхэд хоёр нянгийн биофильм шинж ялгаагүй (P= 0.081) байна.

Хэлцэмж: Staphylococcus epidermidis, Enterococcus faecalis, E.Coli, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, K.pneumoniaeболон бусад грамм эерэг нянгууд голдуу биофильм үүсгэх шинж өндөр байдаг.4 Эмгэг төрөгч нянгийн 65% орчим нь биофильм үүсгэх чадвартай байдаг бөгөөд биофильм үүсгэснээрээ нянгийн антибиотикт тэсвэрт чанар нь 10-1000 дахин нэмэгддэг. Эдгээр биофильм-суурилсан халдварын эмчилгээнд жил бүр 1 тэрбум гаруй доллар зарцуулдаг байна.5 Эмнэлэгээс шалтгаалах халдвар нь дэлхий дахинд эрүүл мэндийн салбарт тулгамдсан асуудлын нэг болж байгаа ч манай оронд 1998-2007 оны хооронд эмнэлэгээс шалтгаалах халдварын нийт 2141 тохиолдол (нийт хэвтэн эмчлүүлэгчдийн 0.02%) бүртгэгдсэн нь бодит байдалтай үл нийцсэн тоо билээ. Энэ тоо баримт нь манай оронд уг нянгийн халдварын тархалт бага байгаа бус уг халдварыг илрүүлэх, оношлох, бүртгэх, тандалт мэдээллийн тогтолцоо сул байгааг харуулж байна. Иймд бид манай оронд тохиолдож буй цистит, нефрит гэсэн урьдчилсан оноштой шээсний ариун чанар тодорхойлойлох шинжилгээнд эерэг тодорхойлогдсон E.Coli нийт 30 сорьцыг хамруулж Биофильм үүсгэх шинжийг үнэлэхэд E.Coli 70%

эерэг, тодорхойлогдсон. Биофильм үүсгэх шинжийг ангилж үзэхэд E.coli сөрөг 30%, бага биофильм 60%, дунд биофильм 10% илэрч байхад Wojnicz.D (2013) нарын судалгаанд биофильм үүсэлтэд голлох үүрэгтэй оролцдог эсийн гадаргуугийн утаслаг уураг (curli)-ийг нийлэгшүүлдэг 10 омогт биофильм үүсгэх шинжийг ангилж үзэхэд сөрөг 30% бага биофильм 50% дунд биофильм 20%-д эерэг тодорхойлогдсон байгаа нь бидний судалгаааны дүнтэй ойролцоо байна.[8]

Цангис жимсний найрлаган дахь проантоцианин болон антоцианин нь(полифенолын бүлэг, фланойдын дэд бүлэг) ШЗХ-аас сэргийлж, халдварын тохиолдолыг бууруулдаг учраас байгалийн антибиотик хэмээн нэрлэдэг. Мөн түүнчлэн энэ жимсний бүрэлдэхүүн бодисууд нь ШЗХ үүсгэгч E.Coli–н хөдөлгөөнийг саатуулдаг.[2] Цангис жимсний ханд нь ШЗХ үүсгэгч E.Coli-ннаалдах чадварыг бууруулж буйг энэхүү судалгаагаар тодорхойллоо.

Талархал: Энэхүү судалгааны ажлыг хийж гүйцэтгэхэд үргэлж тусалж дэмжиж АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын Сургууль Молекул биологи Удамзүйн тэнхмийн хамт олон удирдагч багш АУ-ны доктор, профессор Ж.Сарантуяа багшдаа чин сэтгэлээсээ талархлал илэрхийлье.

Ном зүй:

1. *Hancock V, Ferrieres L, Klemm P. Biofilm formation by asymptomatic and virulent urinary tract infectious Escherichia coli strains. FEMS Microbiol Lett. Feb 2007;267(1):30-37.*
2. *Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic Escherichia coli. Clinical microbiology reviews. Jan 1998;11(1):142-201.*
3. *Tarchouna M, Ferjani A, Ben-Selma W, Boukadida J. Distribution of uropathogenic virulence genes in Escherichia coli isolated from patients with urinary tract infection. Int J Infect Dis. Jun 2013;17(6):e450-453.*
4. *Levine MM. Escherichia coli that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. The Journal of infectious diseases. Mar 1987;155(3):377-389.*
5. *Mah TF, O'Toole GA. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. Trends in microbiology. Jan 2001;9(1):34-39.*
6. *Subramanian P, Shanmugam N, Sivaraman U, Kumar S, Selvaraj S. Antiobiotic resistance pattern of biofilm-forming uropathogens isolated from catheterised patients in Pondicherry, India. Australas Med J. 2012;5(7):344-348.*

Detection of cranberry powder affecting in biofilm uropathogenic escherichia coli

Introduction: Urinary tractinfections (UTIs) are among the most common infectious diseases of humans and a major cause of morbidity. The ingredient of cranberry proanthocyanin and anthocyanin are preventing urinary tract infection, named natural antibiotic. The elements of cranberry products affecting expression in bacteria Escherichia coli.2-6 Therefore study aimed to detect biofilm of uropathogenic Escherichia coli and cranberry powder affecting in biofilm.
Materials and Methods: To detect biofilm formation by adhesion to surface of plastic plates, bacterial suspension pipetted into well with 0.45% DMEM solution, added 5 ml cranberry powder and cultured at 37oC degrees for 18-24 hours. Then staining performed with 0.5% crystal violet and the results assessed by ELISA reader.
Results: The biofilm was identified 21 samples. The detection result of cranberry powder affected decent 62% (13), middle 38% (8) reducing biofilm for E.coli.
Conclusion: The cranberry powder reducing affection of biofilm E.coli bacteria causing UTI.