

МОНГОЛ УЛС
БОЛОВСРОЛ ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ЯАМ
МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ХҮРЭЭЛЭН

**ТӨСЛИЙН НЭР: “ХҮНСЭЭР ДАМЖИН ХАЛДВАРЛАДАГ ЭМГЭГ
ТӨРҮҮЛЭГЧ ИЛРҮҮЛЭХ ДЭВШИЛТЭТ АРГЫГ НЭВТРҮҮЛЖ, ХҮНСНИЙ
АЮУЛГҮЙ БАЙДЛЫН ЭРСДЭЛИЙГ ҮНЭЛЭХ” МОНГОЛ-ХЯТАД УЛСЫН
ХАМТАРСАН СУДАЛГААНЫ ТӨСЛИЙН ТАЙЛАН**

Төслийн удирдагч: Б. Баттөр. Профессор, Доктор (Ph.D)

Улаанбаатар хот
2021 он

ГАРЧИГ

“

Зооноз шимэгч токсоплазмийг маханд молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт аргын судалгаа”-ны тайлан.....	3
“Зооноз шимэгч трехнеллийг маханд молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт аргын судалгаа” сэдэвт ажлын тайлан.....	19
“Хүнсээр дамжин халдварладаг үхэр, гахайн цистицеркозийг молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт (LAMP- PCR) аргын судалгаа, эрсдэлийн үнэлгээ” сэдэвт судалгааны ажлын тайлан.....	36
“Хүнсээр дамжин халдварладаг 2 төрлийн бактерийг (Salmonella, E.coli O157) молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт (LAMP-PCR) аргыг нэвтрүүлэх” сэдэвт ажлын тайлан	52
“E.coli илрүүлэх түргэвчилсэн оношлуурын загвар боловсруулах нь” дэд сэдэвт ажлын тайлан.....	66
DETECTION OF FOOD-BORNE PATHOGENS IN ANIMAL PRODUCTS AND EVALUATION OF SAFETY RISK.....	83
Хавсралт	91

МОНГОЛ УЛС
БОЛОВСРОЛ ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ЯАМ
МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ХҮРЭЭЛЭН

**ТӨСЛИЙН НЭР: “ХҮНСЭЭР ДАМЖИН ХАЛДВАРЛАДАГ ЭМГЭГ
ТӨРҮҮЛЭГЧ ИЛРҮҮЛЭХ ДЭВШИЛТЭТ АРГЫГ НЭВТРҮҮЛЖ, ХҮНСНИЙ
АЮУЛГҮЙ БАЙДЛЫН ЭРСДЭЛИЙГ ҮНЭЛЭХ” МОНГОЛ-ХЯТАД УЛСЫН
ХАМТАРСАН СУДАЛГААНЫ ТӨСӨЛ**

**Сэдвийн нэр: “Зооноз шимэгч токсоплазмийг маханд молекул биологийн аргаар
илрүүлэх дэвшилтэт аргын судалгаа”-ны тайлан**

Төслийн удирдагч: Б. Баттөр. Профессор, Доктор (Ph.D)

Гүйцэтгэгч: Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан П. Мягмарсүрэн Доктор (Ph.D)

Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан М. Золжаргал магистр

Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан Ч. Мөнгөнсар магистр

Улаанбаатар хот
2021 он

НЭГ. СЭДВИЙН ҮНДЭСЛЭЛ

Манай орны мал сүргийн тоо толгой жил ирэх тусам өсөж буй хэдий ч үхэр сүргийн тоо төдийлөн нэмэгдэхгүй байна. Таван хошуу малаас хамгийн их эдийн засгийн ач холбогдолтой амьтан болох үхэр сүрэг нь мах, сүүний гарцаар хамгийн өндөр жилд бэлтгэж буй сүүний 62,6 хувийг, жилд бэлтгэж буй махны 21 хувийг зөвхөн үхрээс бэлтгэдэг байна. Сүүлийн жилийн улсын мал тооллогын жилийн эцсийн дүнгээс харахад үхэр сүргийн тоо толгой 4.753.192 үхэртэй болсон байна. Дэлхий нийтэд хүнсний аюулгүй байдал хурц асуудал болж байгаа өнөө үед сүү, сүүн болон мах махан бүтээгдэхүүний гол нөөц болсон үхэр сүргийн эрүүл мэнд, үржлийн асуудал нэлээд чухлаар тавигдаж байна. Мах махан бүтээгдэхүүний экспортын нэг гол үзүүлэлт бол маханд тавигдах эрүүл бүтээгдэхүүний шаардлага бөгөөд энэ өвчний үүсгэгч нь маханд (тахизоит эсвэл ооцист) хадгалагддаг тул ихээхэн анхаарал татах өвчнүүдийн нэг юм. Сүүлийн жилүүдэд дэлхийн хүн ам, малын гаралтай бүтээгдэхүүний хүнсний аюулгүй байдлыг хангах үүднээс дэлхийн олон орон мал амьтны эрүүл мэндийн асуудалдаа ихээхэн анхаарах болжээ. 2012 оны эхний хагаст хээлтэгч малын 12,4% (2.3 сая) мал хээл хаяж, сувайрсан байна. Хээл хаяж, сувайрсан хээлтэгч малын тоо өмнөх оныхоос 1.9 дахин буюу 1,1 сая толгойгоор нэмэгдсэн байна. (2012 оны статистикийн дүн мэдээнээс). Токсоплазмоз нь харах тогтолцоо гэмтэх, хээл хаях, амьдрах чадваргүй төл гарах зэрэг шинж тэмдэг илэрдэг зооноз өвчин юм. Бруцеллёз, неоспороз зэрэг хүнсний аюулгүй байдалд хурцаар нөлөөлөх өвчнөөс ялгаварлан оношлох арга боловсруулах нь дээрх өвчнөөс үүсэх эрсдэлийг бууруулахад ач холбогдолтой.

Үүсгэгч: Токсоплазмоз нь Апикомплексийн (Apicomplexa) хүрээнд хамаарах эгэл биетнээр үүсгэгддэг *Toxoplasma gondii* зүйл паразит юм. Эдгээр үндэслэлээр токсоплазмозийн халдварыг маханд илрүүлэн тогтоох, токсоплазмозийг оношлох шинэ үеийн оношлуурын технологи боловсруулах, үүсгэгчийн молекул генетикийн судалгаанд үндэслэн тэдгээрийг оношлох молекул биологийн арга боловсруулах зорилт тавьж байгаа бөгөөд эдгээр зорилтууд нь шинжлэх ухаан, практикийн асар их ач холбогдолтой. LAMP- ПГУ-н арга нь ДНХ полимераза фермент болон 3 хос праймераар нуклейн хүчлийн 6 өвөрмөц дарааллыг таньж тогтмол хэмд нуклейн хүчлийг нийлэгжүүлдэг. Энэ аргын тусламжтайгаар 1 цагийн дотор нуклейн хүчлийг 200- 300 дахин давталтаар нийлэгжүүлэх ба зарим эрдэмтдийн тэмдэглэснээр ПГУ- аас илүү мэдрэг, өвөрмөц чанар өндөр гэжээ.

ХОЁР. СУДЛАГДСАН БАЙДАЛ

1908 онд, Чарлес Никол, Лоуйс Манкоукс нар Тунис дэх Пастерийн хүрээлэнд ажиллаж байх үедээ мэрэгчийн эдээс эгэл биетэн организм илрүүлжээ. Эдгээр эрдэмтэд тэрхүү олж нээсэн микро-организоо анх *Leishmania* төрөлд хамаарна гэж үзэж байсан боловч удалгүй шинэ организм болохыг тогтоон *Toxoplasma gondii* гэж дахин нэрлэжээ. Мөн тус эрдэмтэд тухайн ондоо Бразилд туулайнаас дахин үүсгэгчийн илрүүлсэн байна. 1938 онд Америкийн нэгдсэн улсын Нью-Йорк хотын нэгэн эмнэлгээс нярай хүүхдээс *Toxoplasma gondii*-г

илрүүлэхдээ түүний эмч нь 2 нүдэнд толбо үүссэн байдал, гэмтэл зэрэгт үндэслэн оношилсон байна. Ингээд халдвар тээгч хүүхэд 1 сар насалсан бөгөөд *Toxoplasma gondii*-г тухайн хүүхдийн нүд болон тархины эдээс эсийн дотор болон гадна байх үүсгэгчийг хулгана, туулай халдаах замаар гарган авч байжээ. Энэ нь хүнээс анх удаа үүсгэгч гаргаж авсан явдал байв. 1954 онд Weinman D болон Chandler A.Н нар *Toxoplasma gondii* нь дутуу болгосон махнаас болж дамждаг болохыг анх мэдээлжээ. Токсоплазмоз нь *Toxoplasma gondii* зүйлийн эгэл биетнээр үүсгэгддэг. Энэхүү өвчнөөр бүх л халуун цуст амьтан өвчлөх боловч манай оронд хүнд халдварласан гэсэн мэдээлэл одоогоор байхгүй байна. Уг паразитыг үхэр, хонь, ямаа, буга, тэмээ, зарим төрлийн далайн гахай, сармагчин зэрэг хэд хэдэн зүйлийн амьтнаас үүсгэгчийг илрүүлсэн. Өнөөдөр дэлхий нийтэд токсоплазмоз нь үхэрт хээл хаялтын гол шалтгаан болж байгаа өвчнүүдийн нэг бөгөөд сүү, сүүн бүтээгдэхүүн болон сүүний гарцад нэлээд хор хөнөөл учруулж байгаа мөн үхэрт зулбалтын гол шалтгаан болж байгаа нь үхэр сүргийн тоо толгойд ихээр нөлөөлж байгаа юм. Токсоплазмозийн жинхэнэ эзэн болох муур хурц халдварын үед баасаар ооцист ихээр гадагшилж, гадаад орчинд ялгарсан ооцист нь 1-5 хоногт споржин гадаад орчныг амьдрах бүрэн чадвартай болох бөгөөд үүсгэгчээр бохирлогдсон ус, хөрс, ургамал, шувуу, мэрэгчид мөн бүх бүлээн цуст амьтад халдварыг тээгч болж халдварыг дамжуулж байдаг. 1994 онд монголд анх эрдэмтэн Г. Батцэцэг нар токсоплазмозын үүсгэгчийг муурын бааснаас гарган авсан бөгөөд хонь токсоплазмозоор $7.87\% \pm 0.86$ халдварласныг ХХУ-аар илрүүлжээ. Манай оронд Б. Баярмаа нар *T.gondii*-ийн гадаргуугийн рекомбинант уураг (rTgSAG2/GST буюу P22)-г ашиглаж токсоплазмозыг оношлох аргыг боловсруулсан. Б. Баттөр нар 2008 онд “Хачиг шавж эгэл биетнээр үүсгэгддэг өвчинтэй тэмцэх арга” сэдэвт шинжлэх ухааны төслийн тайлан-д Хэнтий аймгийн Дадал сумын 88 үхэрт ШБИФУ-аар шинжлэхэд 4.5%-ийн халдварлалттай гарсан гээд цаашид энэ өвчний талаарх судалгааг хийх шаардлагатай гэжээ. Б. Баттөр нар 2008 онд Хачиг шавж эгэл биетнээр үүсгэгддэг өвчинтэй тэмцэх арга сэдэвт шинжлэх ухааны төслийн тайлан-д Токсоплазмозын rTgP22 антигенийг ашиглан ФХЭБУ-аар 11 аймгийн 499 ямаанд оношилгоо хийхэд 6.4% халдварлалттай гарсан төдийгүй зарим аймгуудад халдварлалт Булган (30%), Увс (60%), Дархан-Уул (40%) халдварлалттай буюу халдварлалт өндөр байгаа нь аймаг бүр харилцан адилгүй байна цаашид бүсчилсэн тандалт хийх хэрэгтэй байна гэжээ.

Судлаач Т. Буяннэмэх нар рекомбинант rTgMAG1 антиген ашиглан 175 хонины ийлдэсний дээжид ФХЭБУ-аар шинжилгээ хийхэд 24%, ЛАТЕКС урвалаар 16.5% халдвартай байжээ. Монгол орны 20 аймгаас цуглуулсан 1438 үхрийн ийлдэсний дээжийг шинжлэхдээ токсоплазмозын оношлогоонд рекомбинант (rTgGRA7) антиген, неоспорозын оношлогоонд рекомбинант (rNcSAG1) антиген ашиглан ФХЭБУ-аар шинжлэхэд 18.7 болон 26.2%-ийн халдварлалттай байжээ (Pagsmadulam B *et al.*, 2018).

Манай орны хувьд өнөөдрийн байдлаар буюу 2017 оны эхний хагас жилд токсоплазмоз өвчний хүний өвчний тохиолдол бүртгэгдээгүй байгаа хэдий ч 2012 онд хийгдсэн тандалт судалгааны явцад Архангай, Булган, Баянхонгор, Говь-Алтай, Дундговь, Өмнөговь, Сэлэнгэ, Сүхбаатар, Хэнтий зэрэг 9 аймгийн 26 сум,

Нийслэлийн 4 дүүргийн хүн амаас 703 хүнээс цусны ийлдэс цуглуулж, ЗӨСҮТ-д фермент холбоот болон шууд бус дархан туяарах урвалаар шинжлэхэд Архангай, Говь-Алтай, Дундговь аймгийн 4 хүний цусны ийлдсэнд токсоплазмоз өвчний үүсгэгчийн эсрэг бие IgM, IgG тодорхойлогдож, халдварт өртсөн болохыг тогтоон ажилласан байна. 2009 онд Сэлэнгэ аймгийн нутгаас цуглуулсан 19 цусны шинжлэгдэхүүн, Дорнод аймгийн Халхгол сумын нутгаас цуглуулсан 25 бор хархны цусны шинжлэгдэхүүнийг иммуно-ферментийн аргаар шинжлэхэд үр дүн сөрөг гарсан.

2015 онд Архангай, Баян-Өлгий, Булган, Дархан-Уул, Дундговь, Орхон, Өмнөговь, Сэлэнгэ, Хэнтий, Хөвсгөл, Увс, Төв, Ховд, Улаанбаатараас цуглуулсан нийт 218 хүний цусны ийлдсийг ЗӨСҮТ-д ДТУ, ФХУ-аар шинжлэхэд токсоплазмозын эерэг сорьц илрээгүй гэсэн дүн мэдээтэй байна. 2016 онд ЗӨСҮТ-д хийгдсэн тандалт судалгаагаар 195 хүний цусны ийлдэс цуглуулан шинжлэхэд Дундговь аймгийн Эрдэнэдалай, Баян-Өлгий аймгийн Буянт, Өмнөговь аймгийн Гурвантэс, Нийслэлийн Өлзийт тосгон зэрэг газраас эерэг сорьц илэрчээ (ЗӨСҮТ мэдээлэл).

2018 онд судлаач Пагмадулам нар монгол орны 20 аймгийн үхрийн ийлдсэнд токсоплазмозын халдварлалт, тархалтыг тогтооход 18,7% байжээ.

Харин 2020 оны судалгааны үр дүнгээр бог малд токсоплазмозын халдвар 32-34,8% хүртэл халдварлалттай байгааг тогтоожээ.

Одоогоор хэдийгээр мал амьтны ийлдсэнд токсоплазмоз өвчний эерэг бием илэрч байгаа ч мал, амьтны маханд токсоплазмын халдварыг илрүүлэх, халдварлалтын судалгаа хийгдээгүй байна.

Халдварлалт, тархалт: Халдвар дамжих үндсэн 2 хэлбэрээр дамжина. Хэвтээ халдварлалт буюу (horizontal transmission): Энэ нь 3 хэлбэрээр явагдана. Хүрээлэн буй орчноос халдварлах чадвар бүхий ооцист залгих, -Цист эсвэл тахизоит агуулсан мах идэх, -Цусан бүтээгдэхүүн, эрхтэн шилжүүлэн суулгах, ариутгаагүй сүү уух замаар халдвар авдаг.

Босоо халдварлалт буюу (vertical transmission) аар халдвар дамжих нь хээлтэй үед үр хөврөлд дамжин тархи, нугасны үрэвсэл, зулбалт эсвэл үр хөврөлийн дутуу хөгжлийг үүсгэх төдийгүй төрөлхийн өвчтэй үр төл гардаг байна.

Халдварын шат: Жинхэнэ эзний бааснаас споргүйжсэн ооцист ялгарна. Тэдгээр ооцист нь 1-2 долоо хоног ялгараад, ооцист нь 1-5 хоногт споржин гадаад орчинд халдварлуулах чадвартай болдог. Байгаль дээрх хөрс, ус, ургамал болон үүсгэгчээр бохирлогдсон зүйлсээр завсарын эзэд (шувуу, мэрэгч) ооцистээр дамжуулан халдвар авдаг. Халдварласны дараа ооцист нь богино хугацаанд тахизоитын шат руу шилжинэ. Эдгээр тахизоит нь мэдрэл, булчингийн эдэд байрлан эдэд брадизоит болно.

Хээлтэй амьтанд халдвар тархах дамжих эмгэг жам нь (дараалал нь): 1. Хээл болон үр хөврөлийн зулбалт, 2. Амьдрах чадвар муу давжаа, сул дорой төл төллөх, 3. Клиник шинж тэмдгээр эрүүл төл төллөх боловч далд халдвар тээж байдаг байна. Халдвартай эх малаас эхэсээр дамжин халдвар дамжсанаар төрөлхийн халдвартай төл гаргах. Жинхэнэ эзний оролцоогүйгээр мал амьтанд

олон жил халдвар дамжсаар байдаг байна. Европ, Америкид төллөсөн тугалын 78-95% нь халдвартай төллөж бөгөөд үхэрт халдварын гол зам нь эхэсээр халдвар дамжих гол зам болж байна гэж үзжээ (Elisabeth. A. Innes, нар 2002).

Энэ өвчний үүсгэгч нь эгэл биетнээр үүсгэгддэг токсоплазмоз өвчний үүсгэгчтэй үүсгэгчийн биологи, эмгэг төрүүлэх шинж чанар мөн хоруу чанарын хувьд маш төстэй. 1988 оноос өмнө неоспорозыг токсоплазмозтой нэлээд их андуурч оношилдог байсан байх магадлалтай.

Оношлогоо, эмчилгээ: Токсоплазмозын оношилгоог хийхдээ мэдрэмтгий мал амьтнаас ийлдсэнд Наалдуулах урвал, ХХУ, ФХЭБУ, ИФУ зэрэг сериологийн аргуудаар оношилгоог хийж халдварлалтыг тодорхойлохоос гадна ПГУ- аар үүсгэгчийн ДНХ- г илрүүлэх боломжтой. Үүсгэгчийн биологийн хувьд ижил зарим өвчнөөс ялгаварлан оношлохдоо эмгэгт эд, эрхтнээс дээж бэлтгэн патологийн шинжилгээ иммуногистохимийн шинжилгээгээр оношилгоо хийж тахизоит болон ооцист илрүүлж ялгаварлан оношлоно. Эмчилгээнд Тоховах, Neoguard зэрэг эмийн бэлдмэлийг хэрэглэж байгаа ч сүүлийн үед рекомбинант вакцины туршилт нилээд эрчимтэй хийгдсээр байна.

Рекомбинант Tg SAG2t болон Nc SAG1t антиген нь токсоплазмоз болон неоспорозын халдварыг хооронд нь ялгаж, сөөлжих урвал өгөхгүй байгаа нь оношилгооны өндөр ач холбогдолтой байна.

Харин маханд тохоплазмозыг илрүүлэх оношилгооны арга монгол улсад боловсрогдоогүй байна.

ГУРАВ. АЖЛЫН ЗОРИЛГО

Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз шимэгч токсоплазмийг LAMP (loop-mediated isothermal amplification) болон ПГУ-ын аргаар илрүүлэх илрүүлэх зорилгын хүрээнд дараах зорилтуудыг тавьж ажиллана. Үүнд:

1. Судалгаанд тулгуурлан хамгийн оновчтой праймер сонгох, захиалах
2. Стандарт ПГУ болон LAMP ПГУ-г нөхцөлийг тодорхойлж арга зүйг тогтворжуулах
3. Тухайн арга зүйг практикт туршин, хэрэглээнд нэвтрүүлэх

ДӨРӨВ. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ХЭМЖЭЭ, АРГА ЗҮЙ

1. **Шинжлэх дээж авах(зорилтот):** Махны худалдааны төвүүд болон нядалгааны үед хяналтын лабораторитой хамтран ажиллаж үхэр, гахайн элэг, өрц, булчин мах, тархи дээж цуглуулах:

2. **Дээж цуглуулах(түүвэр):** 2019-2020 онуудад Орхон, Сэлэнгэ, Улаанбаатар хот орчмын зах нядалгааны буюу мах бэлтгэлийн газруудаас (Налайх, Эмээлт) таван хошуу мал болон гахайн махны дээжийг цуглуулж мах худалдаалах төвүүдийн лабораториудтай хамтран дээжид үзлэг хийж санамсаргүй түүврийн аргаар махны дээж цуглуулсан.

1. ДНХ ялгах арга зүй:

Мах болон эдээс ДНХ ялгах.

1. Мах болон эдээс гадар хальс, судас шөрмөснөөс салгасны дараа 1г мах зүсэж авсан
2. Махныхаа дээжийг уур нухуурт хийж бэлтгэн дээр нь 3 мл орчин шингэн азот хийж нухав.
3. Нухсан мах болон эдийн дээж тус бүрийг шинэ тьюбэнд хийв.
4. 450 мкл хайлуулагч уусмал /0.1M Tris-HCl pH =8.0, 1% SDS, 0.1M NaCl, 10Mm EDTA/ нэмсэн.
5. 5 мкл (10мг/мл) протейназа К-н уусмал нэмэв.
55° С-д дулаан тогтоогуурт 2цаг тавина. 30 минут тутамд зайлж сэгсэрнэ.
6. 500 мкл фенол/хлороформ-н холимог нэмлээ.
2 мин vortex дээр холив.
15'000 rpm хурдаар тасалгааны хэмд 5 минут центрифүгдэв.
500 мкл дээд шингэнийг аажим соруулж шинэ тьюбэнд авлаа.
7. 40 мкл 3M NaCl нэмэв.
8. 1 мл хүйтэн 100% этанол нэмсэн.
-20°С-д 30 мин тавина. Шаардлагатай үед хугацааг сунгаж тавина.
4°С-д 15'000 rpm хурдаар 20 мин хугацаатайгаар центрифүгдэв.
9. Дээд шингэнийг болгоомжтой, тунадсыг хөдөлгөлгүйгээр соруулж хаяна тунадас дээр 100мкл 70% этанол нэмнэ. 4°С-д 15'000 rpm хурдаар 5 мин хугацаатайгаар центрифүгдэнэ. Агаарт хатаасан.
10. Ялгаж авсан ДНХ-г 20мкл TE/10Mm Tris HCl pH=8.0, 1mM EDTA/ буфер уусмалд уусгав.
11. Ялгасан ДНХ-ийн гарц ба цэвэршилтийг спектофотометр ашиглан 260/280 нм-ийн гэрлийн долгионы уртад хэмжиж шалгав.

2. Нуклейн хүчлийн концентраци тодорхойлох

Ялгасан нуклейн хүчлийг уусгагч уусмалд (нэрмэл ус) гүйцэт ууссаны дараагаар спектрометр Nanodrop 1000 багажаар концентраци болон цэвэршилтийг тодорхойлов. Дээжийг хэмжихээс өмнө уусгасан уусмалаар (нэрмэл ус) бланклаж уусгасан уусмалын концентрацитай тэнцүүлсэн. Ялгасан дээжээс 1 мкл – г хэмжиж аван 280/260 нм–ын гэрлийн долгионы уртад харьцуулж шингээлтийг хэмжиж шалгасан. ПГУ–ын шинжилгээнд шаардлага хангасан ДНХ-ийн дээжийг -30°С хэмд хадгалав.

3. ЭНГИЙН ПГУ- ИЙН АРГА ЗҮЙ

Хүснэгт 1

Урвалын холимог:		Урвалын нөхцөл	
		Урвалын нөхцөл	
Урвалын буфер	– 2.5 мкл		
dNTP	– 2.5 мкл	94°C	7 минут
Праймер TOX4	– 1 мкл (10 pmol)	94°C	1 минут
TOX5	– 1 мкл (10 pmol)	55°C	1 минут
		} 35 цикл	
Тақ полимераза	– 0.1 мкл	72°C	1 минут
ДНХ	– 1 мкл	72°C	10 минут
H ₂ O	– 16.9 мкл		
Нийт	- 25 мкл		

Гель электрофорез: 1 х ТАЕ буферт найруулж бэлдсэн 1.5 %-ийн агарозын гельд ПГУ-ын бүтээгдэхүүнээс 10 мкл –ээр хийж, электрофорезын аппаратаар 100 вольт-д 30 минут гүйлгэв.

Хүснэгт 2

Урвалын праймерийн мэдээлэл

Үүсгэгч	Ген	Праймер	Нуклеотидын дараалал (5' – 3')	Бүтээгдэхүүн (хос суурь)
<i>T. gondii</i>	repetitive gene	TOX4	CGCTGCAGGGAGGAAGACGAAAG TTG	529 х.с
		TOX5	CGCTGCAG ACACAGTGCATCTGGATT	

Урвалын үр дүнг тооцохдоо ПГУ-ын үр дүнд олшруулсан ДНХ-ээс 5мкл, ачаалагч буферээс 1 мкл соруулан авч холиод 1хТАЕ буфер бүхий 1,5%-н агарын гель дээр электрофорезын (Mupid, Advance Co Ltd.) аппаратын 100 вт-д 25 минут гүйлгэнэ. Гелийг этидиум бромидын уусмалд 30минут будаад, нэрмэл усанд 5 минут угаасны дараа хэт ягаан туяаны гэрэлтүүлэгчээр (АЕ- 6932, ATTD Co Ltd.) харж урвалын үр дүнд олширсон өвөрмөц толбыг ДНХ-ийн жишиг урттай харьцуулах замаар өвөрмөц толбо илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ-ын үр дүнг тооцов.

4. ЛАМП ПГУ -ийн арга зүй

T. gondii-ын repetitive 529 хос суурь генийн өвөрмөц хэсгийг (Zhang, H *et al.* 2009) илрүүлэхэд гадна праймер 2, гогцооны праймер 2, дотор праймер 2 нийт 3 хос праймерийг ашиглав (Хүснэгт 3).

Хүснэгт 3

ЛАМП ПГУ-д ашигласан праймер

Праймер	Дараалал (5'-3')
F3	CCACAGAAGGGACAGAAGTC
B3	TCCGGTGTCTCTTTTTCCAC
FIP	TCCTCACCCCTCGCCTTCATCTAGGACTACAGACGCGATGC
BIP	TGGTTGGGAAGCGACGAGAGTTCCAGGAAAAGCAGCCAAG
LF	TCCAAGACGGCTGGAGGAG
LB	CGGAGAGGGAGAAGATGTTTCC

Хүснэгт 4

ЛАМП-ПГУ-ын холимог

Д/д	Урвалж	1 х
1.	ПГУ буфер (2X- 1.6M betaine)	5 ul
2.	dNTP (1.4mM)	1 ul
3.	Tris-HCl (pH8.8)	2 ul
4.	Праймер F3 (5pmol)	5 ul
5	Праймер B3 (5 pmol)	1 ul
6	Праймер FIP (40 pmol)	1 ul
7.	Праймер BIP (40 pmol)	5 ul
8	Праймер LF (20pmol)	1 ul
9	Праймер LB (20pmol)	1 ul
10.	Bst Полимераза (8U/ul)	1 ul
11	KCl (20 mM)	1 ul
12	(NH ₄) ₂ SO ₄ (20mM)	1 ul
13	MgSO ₄ (16mM)	1 ul
14	0.2% tween20	1 ul
15	Эх ДНХ	25 ul
	Нийт эзэлхүүн	50 ul

Урвалын холимгийг бэлтгэн ЛАМП-ПГУ-н машинд доорх нөхцөлөөр олшруулалт хийв. Урвалын нөхцөл нь *T. gondii* –ын repetitive 529 bp генийн дарааллын өвөрмөц хэсгийг олшруулахад 95°C 10 сек денатураци хийж (хос суурийг салгаж) 2 минут мөсөн дээр тавьсан. Үүний дараа 8 U Bst *Bacillus stearothermophilus* ДНХ полимеразаг нэмж 63°C – д 60 мин дулаан тогтоогуурт (Looramp LP 100) олшруулав.

Урвалын үр дүнг тооцохдоо ПГУ-ын үр дүнд олшруулсан ДНХ-ээс 5мкл, ачаалагч буферээс 1 мкл соруулан авч холиод 1xTAE буфер бүхий 2%-н агарын гель дээр электрофорезын (Mupid, Advance Co Ltd.) аппаратын 100 вт-д 30 минут гүйлгэв. Гелийг этидиум бромидын уусмалд 30минут будаад, нэрмэл усанд 5 минут угаасны дараа хэт ягаан туяаны гэрэлтүүлэгчээр (AE- 6932, ATTD Co Ltd.) харж урвалын үр

дүнд олширсон өвөрмөц толбыг ДНХ- ийн жишиг урттай харьцуулах замаар өвөрмөц толбо илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ- ын үр дүнг тооцлоо.

- LAMP –ын дайвар бүтээгдэхүүнүүд буюу пирофосфатын ($P_2O_7^{4-}$) ионууд нь магнийн (Mg^{2+}) ионтой урвалд орж магнийн пирофосфатын цагаан тунадсыг үүсгэдэг (Mori et al., 2001). Магнийн пирофосфат үүсэхэд уусмал булингартай болдог ба энгийн нүдээр үр дүнг мөн уншив. (Зураг 3)
- SYBR Green I dye ашиглах: Урвал дууссаны дараа LAMP –ын бүтээгдэхүүн SYBR Green нэмж хийхэд урвалын өнгө өөрчлөгдөж ногоон болно. Үр дүнг транслюминаторт харж үнэлэв.

5. Нуклеотидын дараалал тогтоох арга зүй

ПГУ–ын дүнд *T. gondii* – ийн TOX4/5 праймерийг ашиглан 529 х.с урттай бүтээгдэхүүнүүдийг тус тус үүсгэсэн. Агарозын гельнээс ПГУ– ын бүтээгдэхүүнийг “Wizard SV Gel and PCR Clean Up System” зориулалтын цомог ашиглаж цэвэршүүлэн авч өвөрмөц гений хэсэгчлэн нуклеотидын дарааллыг уншуулав хэсэгчилсэн сэквенсинг хийв. Дээжүүдийг 96 үүртэй хавтанд шилжүүлж, сэквенсинг машинд (ABI Genetic analyzer 3130xl) азотлог суурийн дарааллыг тогтоосон. Уншигдсан гений дарааллыг NCBI системийн өгөгдлүүдээс хайлт хийж бусад судлаачдын бүртгүүлсэн дараалалтай харьцуулалт хийсэн бөгөөд гарсан өгөгдөл дээр үндэслэж филогенетикийн модыг байгуулав. Удам зүйн хамаарлыг Kimura 2 [10] өгөгдлийн загварт суурилсан Maximum Likelihood [11] аргаар MEGA7 программ дээр 1000 удаа bootstrap хийж тогтоов.

ТАВ. СУДАЛГААНЫ ҮР ДҮН

Судалгаанд хамрагдсан дээж. 2019-2020 онуудад Орхон, Сэлэнгэ, Улаанбаатар хот орчмын зах нядалгааны буюу мах бэлтгэлийн газруудаас (Налайх, Эмээлт) үхэр, адуу, хонь зэрэг амьтны нийт 477 махны дээжүүдийг цуглуулж судалгаанд хамруулсан. Судалгаанд хамрагдсан дээжийн мэдээллийг хүснэгт 5-д харуулав.

Хүснэгт 5		
Байршил	Махны төрөл	Дээжийн тоо
Улаанбаатар	Адуу	133
Сэлэнгэ/Орхон	Үхэр	279
Улаанбаатар	Хонь	65

1. ДНХ-н мэдээлэл: Дээрх дээжүүдийг эрхтэн тус бүрээр ялгав.

Төрөл	Зажлуур	Булчин	Өрц	Зүрх	Элэг	Уушги	Нийт
Үхэр				279			279
Адуу	18	10	23	37	31	14	133
Хонь		15	17	2	7	24	65

2. Нуклейн хүчлийн концентрацийг тодорхойлсон үр дүн

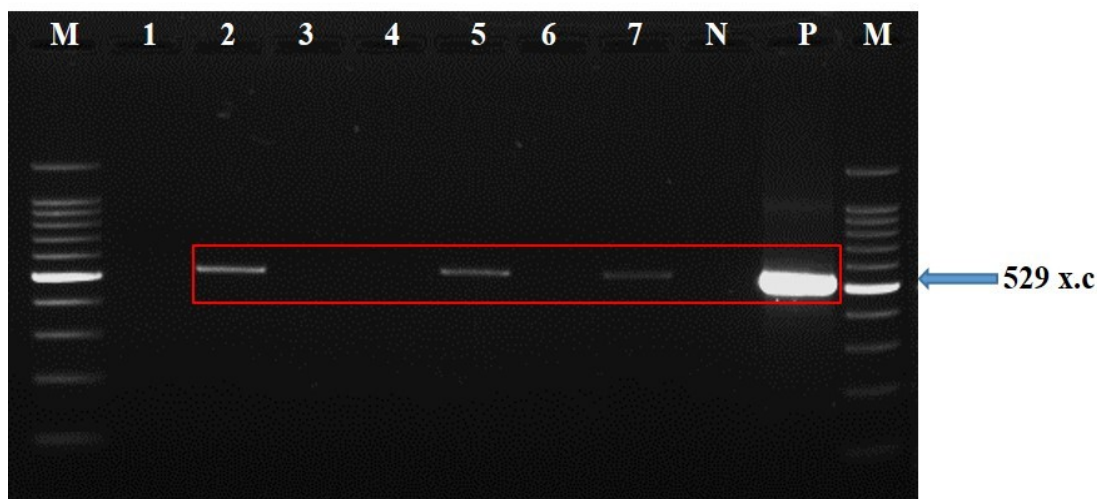
Зураг 1

Sample ID	User ID	Date	Time	ng/ul	A260	A280	260/280	260/230	Constant	Cursor Pos.	Cursor abs.	340 raw
2(O)x1	Default	10/21/2020	5:05 AM	3657.29	73.146	40.098	1.82	1.15	50.00	230	63.768	8.341
3A x2	Default	10/21/2020	5:06 AM	3882.77	77.655	52.645	1.48	1.13	50.00	230	68.975	1.668
4A x3	Default	10/21/2020	5:08 AM	2556.62	51.132	33.161	1.54	0.77	50.00	230	66.245	0.943
8A x4	Default	10/21/2020	5:09 AM	4176.26	83.525	50.821	1.64	1.63	50.00	230	51.209	4.399
9A x5	Default	10/21/2020	5:09 AM	3061.13	61.223	41.517	1.47	0.96	50.00	230	63.719	2.950
10A x6	Default	10/21/2020	5:11 AM	3329.38	66.588	42.241	1.58	1.17	50.00	230	57.084	5.684
16A x7	Default	10/21/2020	5:13 AM	2197.90	43.958	24.349	1.81	1.87	50.00	230	23.482	28.740
25A x8	Default	10/21/2020	5:14 AM	548.78	10.976	6.073	1.81	1.38	50.00	230	7.978	28.308
26A x9	Default	10/21/2020	5:15 AM	1252.10	25.042	14.417	1.74	0.99	50.00	230	25.336	0.579
28A x10	Default	10/21/2020	5:16 AM	2221.58	44.432	25.077	1.77	0.96	50.00	230	46.435	0.375
31A x11	Default	10/21/2020	5:18 AM	2729.40	54.588	36.008	1.52	0.87	50.00	230	62.667	1.577
32A x12	Default	10/21/2020	5:19 AM	2734.07	54.681	33.186	1.65	0.88	50.00	230	62.488	1.214
33A x13	Default	10/21/2020	5:21 AM	2341.95	46.839	30.897	1.52	0.83	50.00	230	56.646	0.635
36A x14	Default	10/21/2020	5:22 AM	2007.05	40.141	23.940	1.68	0.75	50.00	230	53.773	0.763
37A x15	Default	10/21/2020	5:23 AM	1989.95	39.799	22.043	1.81	1.16	50.00	230	34.400	1.116
40A x16	Default	10/21/2020	5:24 AM	2146.29	42.926	22.729	1.89	1.01	50.00	230	42.455	2.545
41A x17	Default	10/21/2020	5:25 AM	2607.30	52.146	29.276	1.78	0.93	50.00	230	56.188	0.617
42A x18	Default	10/21/2020	5:27 AM	2527.11	50.542	30.336	1.67	0.82	50.00	230	61.837	0.643
43A x19	Default	10/21/2020	5:28 AM	2658.99	53.180	30.384	1.75	1.10	50.00	230	48.545	1.153
47A x20	Default	10/21/2020	5:29 AM	2852.43	57.049	31.646	1.80	1.09	50.00	230	52.573	0.694
1.1 uushig	Default	10/21/2020	5:32 AM	1152.02	23.040	11.810	1.95	2.29	50.00	230	10.076	0.005
1.2 eleg	Default	10/21/2020	5:33 AM	815.81	16.316	8.070	2.02	1.62	50.00	230	10.075	0.449
1.3 uushig	Default	10/21/2020	5:33 AM	250.52	5.010	2.508	2.00	0.90	50.00	230	5.566	0.121
2.1 uushig	Default	10/21/2020	5:34 AM	300.30	6.006	3.228	1.86	1.00	50.00	230	5.985	0.222
2.2 uushig	Default	10/21/2020	5:35 AM	1112.41	22.248	11.408	1.95	2.33	50.00	230	9.548	0.180

Судалгаанд хамрагдсан дээжний концентраци 300 ng/μl – 4000 ng/μl хооронд, цэвэршилт 1.48 – 2 байлаа.

3. *T. gondii* –ыг илрүүлэх ПГУ-ын үр дүн

Токсоплазмозын үүсгэгч *T. gondii* зүйлийн (repetitive 529 bp) генийг илрүүлэхийн тулд ТОХ4, 5 праймерийг ашиглав. Адуу, үхэр, хонины зүрхний дээж 318, зажлуур 18, өрц 40, элэг 38, уушги 38, булчин 25 дээж нийт 477 дээжид шинжилгээ хийллээ. (Хүснэгт 7).



Зураг 2. *T. gondii* –ын өвөрмөц дарааллыг илрүүлсэн ПГУ-ын үр дүн
 Нийт шинжилгээ хийсэн дээжээс 10 нь буюу 2% нь эерэг илэрсэн бөгөөд уг дүнг 2 удаа давтан шинжилгээ хийснийг зураг 2-д харуулав.

Хүснэгт 7

Илэрсэн эх сурвалж	Махны төрөл	Нийт дээжийн тоо (%)	<i>T.gondii</i> - ПГУ (529bp ген)	
			Эерэг дээжийн тоо (%)	Сөрөг дээжийн тоо (%)
Адуу	Зүрх	37 (100)	7 (19)	30 (81)
	Зажлуур	18 (100)	- (0)	18 (100)
	Өрц	23 (100)	- (0)	23 (100)
	Гуяны булчин	10 (100)	- (0)	10 (100)
	Уушиг	14 (100)	- (0)	14 (100)
	Элэг	31 (100)	- (0)	31 (100)
Үхэр	Зүрх	279 (100)	2 (0.7)	279 (100)
Хонь	Зүрх	2 (100)	1 (50)	1 (50)
	Өрц	17 (100)	- (0)	17 (100)
	Уушиг	24 (100)	- (0)	24 (100)
	Элэг	7 (100)	- (0)	7 (100)
	Булчин	15 (100)	- (0)	15 (100)
Нийт дүн		477 (100)	10 (2)	467 (98)

Энэ судалгаагаар адуу, үхэр, хонины махны зүрх, уушги, элэг, өрц, гуяны булчингийн хэсгүүдээс цуглуулсан нийт 477 дээжийг ПГУ-аар шинжлэхэд 10 дээж эерэг буюу 2% нь токсоплазмозын үүсгэгч *T.gondii*-н ТОХ4, 5 генийн өвөрмөц хэсэг илэрч халдвартай буюу эерэг дүн үзүүлэв. Энэ эерэг буюу халдвартай гарсан дээж буюу адууны зүрхний дээж 19% нь, үхрийн зүрхний дээжийн 0.7%, хонины зүрхний дээжийн 50% нь халдвартай гарч байна. Харин бусад мал, амьтны дээж болон бусад төрлийн махны дээжээс *T.gondii*-ын халдвар илрээгүй болно.

БНХАУ-д өмнө хийгдсэн судалгаагаар *T.gondii*-ын халдвар бүх төрлийн мал амьтны маханд 20 орчим хувийн халдварлалтай болохыг тогтоосон байдаг.

Харин Монгол улсад махан дахь *T.gondii*-ын халдварыг судалгаа одоогоор байхгүй байна.

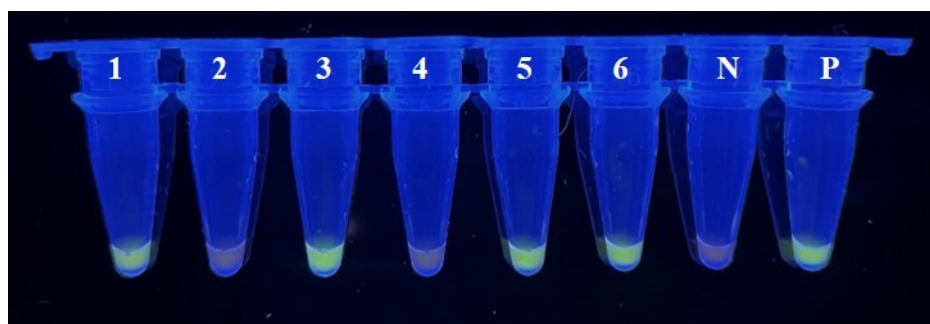
Хүснэгт 8

Хятад болон Монгол улсын <i>T.gondii</i> -ын халдварын харьцуулалт %			
Махны төрөл	Хятад	Монгол 2020 оноос өмнө	Монгол (одоо)
Адуу	? %	? %	5.2%
Үхэр	<20%	? %	2%
Хонь	<20%	? %	1.5 %

Энэхүү хүснэгтээс харахад Монгол улсад одоогоор *T.gondii*-ын халдвар адуу, үхэр, хонины махны дээжээс илэрсэн байгаа бол харин Хятадад адууны махнаас илрүүлсэн судалгаа алга байна.

4. *T. gondii* –ыг илрүүлэх ЛАМП ПГУ-ын үр дүн

T. gondii–ын repetitive 529 bp генийн өвөрмөц хэсгийг (Zhang, H *et al.* 2009) илрүүлэхэд гадна праймер 2, гогцооны праймер 2, дотор праймер 2 нийт 3 хос праймерыг ашиглав. Стандарт ПГУ –ын үр дүнд эерэг 10, сөрөг 10 дээжийг сонгон авч ЛАМП ПГУ –ын шинжилгээг хийхэд стандарт ПГУ –ын шинжилгээгээр эерэг дүн үзүүлсэн 10 дээжний 6 дээж эерэг гарч, 4 дээж сөрөг үр дүн үзүүлэв.



Зураг 3. *T. gondii* –ын ЛАМП ПГУ-аар илрүүлсэн үр дүн

Бид стандарт ПГУ-н аргаар эерэг гарсан 10-н дээж болон зарим харьцуулалт хийх зорилгоор уушги, зүрх, өрц, зажлуур, гуяны булчингийн нийт 10 дээжийг оролцуулан нийт 20 дээжид ЛАМП- ПГУ- ийн шинжилгээг хийхэд энгийн ПГУ- ийн шинжилгээгээр эерэг гарсан 10 дээжний 6 дээж эерэг дүнтэй гарч баталгаажсан.

Аливаа оношилгооны аргыг үйлдвэрлэлд нэвтрүүлэхэд түүний мэдрэг болон өвөрмөц чанарыг стандарт ПГУ болон ЛАМР ПГУ-ын өвөрмөц болон мэдрэг чанар хамгийн чухал үзүүлэлт билээ. Бид энэхүү үзүүлэлтийг дээрх 2 урвал дээр гаргаж доорх хүснэгтээр үзүүллээ.

Хүснэгт 9

Стандарт ПГУ болон Ламп ПГУ-ын хэрэглэх байдлын харьцуулалт

Арга	Стандарт ПГУ	Ламп ПГУ
Цаг	180-240 мин	120-180 мин
Багаж төхөөрөмж	ПГУ машин, Электрофорезын аппарат	Ламп ПГУ машин эсвэл усан ванн болон дулаан баригч
Шалгах арга	электрофорез	Энгийн нүдээр болон уншигч, электрофорез

Бид токсоплазмозыг маханд илрүүлэх Стандарт ПГУ болон ЛАМР-ПГУ-н аргын нөхцөлийг тогтоож бүрэн тогтворжуулсан бөгөөд Мал эмнэлгийн үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийн төслийг боловсруулан МЭЭСБУЛ-д оношлуурын аргыг шалгуулан баталгаажуулж дүгнэлтийг хүлээн авсан.

Хүснэгт 10

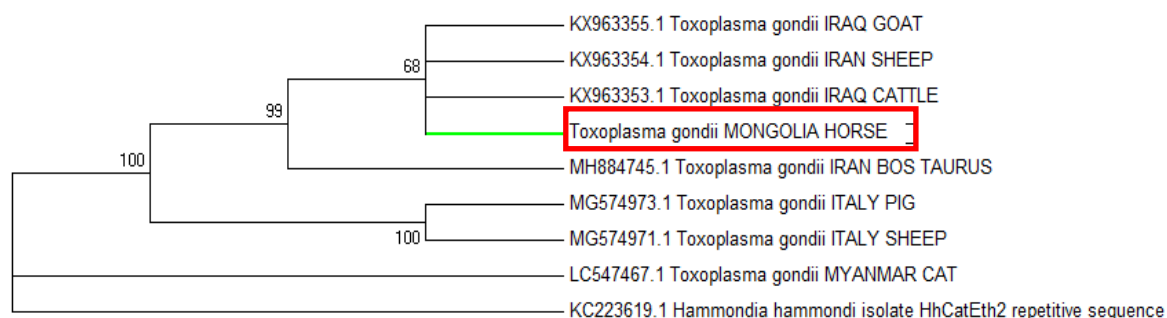
Харьцуулсан зардлын тооцоо:

	ЛАМР урвалж (100 дээж)		Энгийн ПГУ (100 дээж)	
1	Праймер (6 хос)	36 000 төг	Праймер (2 хос)	12 000 төг
2	Урвалын бусад Холимог (20мкл)	450 000 төг	Урвалын холимог (20 мкл)	600 000 төг
3	Vst-полимераза	270 000 төг	Тақ полимераза	240 000 төг
4	Магнийн Пирофосфат	60 000 төг	Агароз гель	100 000 төг
	Нийт зардал	816 000 төг	Нийт зардал	952 000 төг

ЛАМР-ПГУ-ын шинжилгээний 100 дээжийн урвалын холимогт нийт зардал нь 816000 төгрөг болж байгаа бөгөөд 1 дээж шинжлэхэд 8160 төгрөгийн зардлаар шинжилгээг хийх бол энгийн ПГУ-ийн шинжилгээнд 100 дээж шинжлэх урвалжийн зардал 952000 төгрөг бөгөөд 1 дээж шинжлэхэд 9520 төгрөгийн зардал гарч байна. Мөн бүх төрлийн ПГУ тавихын өмнө тухайн шинжлэгдэх дээжийн төрлөөс хамааран худалдааны цомог болон урвалж ашиглан ДНХ ялгадаг бөгөөд нэг дээж 10000–18000 төгрөгийн зардал гардаг.

5. Нуклеотидын дараалал тогтоосон үр дүн

T. gondii –ын 529 х.с урттай өвөрмөц фрагмент илэрсэн дээжүүдээс 20-р дээж буюу адууны зүрхний булчингийн эдээс ялгасан ДНХ-г ПГУ- аар олшруулж нуклеотидын дараалал тогтоож илрүүлсэн дарааллаар NCBI-BLAST системээс хайлт хийж, хамгийн төстэй илэрцүүдийг сонгон авч MEGA7 программ ашиглан филогенетикийн мод байгууллаа.



Зураг 4. Удам төрлийг харуулсан мод

Бидний судалгаагаар адууны зүрхний булчингийн эдээс ялгаж цэвэршүүлсэн ДНХ-ийн дээжээс *T. gondii* –ын давтагдах 529 х.с нуклеотидын дараалал нь өмнө Ирак улсын ямаа, үхэр болон Иран улсын хониноос илрүүлсэн *T. gondii*–ын нуклеотидын дараалалтай нэг бүлэгт хамаарагдаж байна.

ЗУРГАА. ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

Малын халдварт өвчин, эрүүл ахуй, чанарын хяналтын тогтолцоог чадавхжуулах, нийгмийн эрүүл мэндийг хамгаалахад мөн шинэ арга технологиудыг нэвтрүүлэн илүү аюулгүй, ээлтэй, чанартай бүтээгдэхүүний үйлдвэрлэлийг бий болгохын тулд, хөдөө аж ахуйн үйлдвэрлэлийн цогц сүлжээ бүхий хяналт, шинжилгээг хийж байх нэн шаардлагатай юм.

T. gondii- ийн халдвар нь хүн ба мал, амьтанд аль алинд нь халдварладаг сүүлийн үед ихээхэн анхаарал татаж буй өвчин бөгөөд эзэн амьтны дархлааг бууруулах, хээл хаях болон сувайрах шинж тэмдгүүдээр илэрдэг.

Монгол оронд Мал эмнэлгийн салбарт ажиллаж байгаа ямар ч лабораторид Токсоплазмозын оношилгоог хийхгүй байгаа бөгөөд бид тодорхой судалгааны ажлын хүрээнд ПГУ-ын аргыг ашиглан шинжилгээ хийгдэж байна.

Энэхүү судалгааны ажлын хүрээнд бид мал эмнэлгийн салбарт бүх төрлийн дээжийн Токсоплазмозын оношилгоонд ПГУ-г ашиглан боломжтой боллоо.

Мөн ЛАМП- ПГУ-н аргын тусламжтайгаар 1 цагийн дотор нуклейн хүчлийг 200- 300 дахин давталтаар нийлэгжүүлэх ба зарим эрдэмтдийн тэмдэглэсэнээр ПГУ-аас илүү мэдрэг, өвөрмөц чанар өндөр арга юм.

Иймээс ЛАМП- ПГУ-н аргыг мал эмнэлгийн ариун цэврийн шинжилгээний лабораториудад нэвтрүүлэх бүрэн боломжтой.

Манай оронд *Toxoplasma gondii*-ийн халдвар нь мал, хүн амд багагүй тархалттай байдаг. Манай оронд токсоплазмозын халдварын 2017 оны эхний хагас жилд токсоплазмоз өвчний хүний өвчлөлийн тохиолдол бүртгэгдээгүй байгаа хэдий ч 2012 онд хийгдсэн тандалт судалгааны дүнгээр 703 хүнээс цусны ийлдэс цуглуулж, фермент холбоот болон шууд бус дархан туяарах урвалаар шинжлэхэд 3 аймгийн 4 хүний цусны ийлдсэнд токсоплазмоз өвчний үүсгэгчийн эсрэгбие IgM, IgG тодорхойлогдсон.

Одоогоор хүн эмнэлгийн салбарт TORCH-ийн шинжилгээг хийж байгаа боловч цөөн тооны лабораториуд нэлээд өндөр өртөгтэйгөөр хийж байна. Уг шинжилгээнд хамрагдах хүний тоо ч цөөн байдаг байна.

Иймд эдгээр өвчнүүдийн оношилгооны шинэ арга технологийг оношилгоонд нэвтрүүлэх, дээрх өвчнүүдтэй тэмцэх шинэ шийдлийг бий болгон малын хорогдол, давжааралыг бууруулах замаар мал аж ахуйгаас авах эдийн засгийн үр ашгийг нэмэгдүүлэх замаар Монгол улсын ХАА-н салбарын хөгжлийг дэмжих нь ихээхэн чухал байна.

ДОЛОО. ДҮГНЭЛТ

1. Бидний судалгаагаар адуу, үхэр, хонины махны зүрх, уушги, элэг, өрц, гуяны булчингийн хэсгүүдээс цуглуулсан нийт 477 дээжийг ПГУ-аар шинжлэхэд 10 дээж эерэг буюу 2% нь токсоплазмозын үүсгэгч *T.gondii*-н ТОХ4, 5 генийн өвөрмөц хэсгийг агуулж байгааг тогтоов.
2. ПГУ болон ЛАМП- ПГУ-н арга ашиглан токсоплазмозын халдварыг хүнсэнд хэрэглэхээр бэлтгэгдсэн адуу болон хонины зүрхний булчингийн дээжид илрүүлэв.
3. Энэхүү судалгааны ажлын үр дүнд мал эмнэлгийн ариун цэврийн лабораториуд маханд токсоплазмозыг илрүүлэхэд ПГУ болон ЛАМП-ПГУ-ийн аргыг махны шинжилгээнд хэрэглэх боломж бүрдлээ.
4. Манай оронд мал амьтны эдээс токсоплазмозын үүсгэгчийг илрүүлэх судалгаа хараахан хийгдээгүй ба бидний судалгаа нь анх удаа адуунд *T. gondii*-н генийн өвөрмөц хэсгийг илрүүлэн, нуклеотидын дараалал тогтоон баталгаажууллаа.

ЗУРГАА. НОМ ЗҮЙ

1. “Монгол орны мал, амьтдын паразиттах өвчин, тэдгээрийг оношлох, эмчлэх сэргийлэх арга” Б. Бямбаа, 2003он, хуудас 310-312.
2. Asian parasitology- Toxoplasmosis and Babesiosis in Asia, vol.4, Akiko Yano, Ho-Woo Nam, Khairul Anuar A, Jilong Shen, Atsuko Saito, Ikuo Igarashi, 2005,
3. Lin Z¹, Zhang Y, Zhang H, Zhou Y, Cao J, Zhou J. Comparison of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and real-time PCR method targeting a 529-bp repeat element for diagnosis of toxoplasmosis. [Vet Parasitol.](#) 2012 Apr 30;185(2-4):296-300. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.10.016. Epub 2011 Oct 18.
4. Zhang H¹, [Thekiso O M](#), [Aboge G O](#), [Kyan H](#), [Yamagishi J](#), Inoue N, Nishikawa Y, [Zakimi S](#), [Xuan X](#). Toxoplasma gondii: sensitive and rapid detection of infection by

- loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method. [Exp Parasitol.](#) 2009 May;122(1):47-50. doi: 10.1016/j.exppara.2009.01.012. Epub 2009 Feb 1.
5. [Warnekulasuriya MR¹](#), Johnson JD, Holliman RE. Detection of *Toxoplasma gondii* in cured meats. [Int J Food Microbiol.](#) 1998 Dec 22;45(3):211-5.
 6. [Berger-Schoch AE¹](#), Herrmann DC, [Schaes G](#), Müller N, [Bernet D](#), Gottstein B, Frey CF. Prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* in feline faeces (oocysts) and meat from sheep, cattle and pigs in Switzerland. [Vet Parasitol.](#) 2011 May 11;177(3-4):290-7. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.11.046. Epub 2010 Dec 4.
 7. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination- Elisabeth A.Innes, Aurelie G. Andrianarivo, Camilla Bjorkman, Diana J.L. Williams and Patricia A.Conrad- *Parasitology* vol.18№11 Nov 2002
 8. “Хачиг шавж эгэл биетнээр үүсгэгддэг өвчинтэй тэмцэх арга” сэдэвт шинжлэх ухаан технологийн төслийн тайлан 2009.
 9. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* Antibodies in Northern Egypt” Hany M. Ibrahim , Penglong Huang , Tarek A. Salem , Roba M. Talaat , Mahmoud I. Nasr , Xuenan Xuan , and Yoshifumi Nishikawa, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 80(2), 2009, pp. 263–267
 10. “Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*”J. P. Dubey, G. Schares, L. M. Ortega-Mora, *clinical microbiology reviews*, apr. 2007, p. 323–367
 11. Comparison between immunohistochemistry and two PCR methods for detection of *Neospora caninum* in formalin-fixed and paraffin-embedded brain tissue of bovine fetuses” G.F.D. Sarnchez, R.V.M. Banda, R.A. Sahagun, M.N. Ledesma, S.E. Morales *Veterinary Parasitology* 164 (2009) 328–332.
 12. “Detection by pcr of *neospora caninum* in fetal tissues from spontaneous bovine abortions” Timothy v. Baszler, Lawrence J.C.Gay, Maureen T. Long, Bruce A. Mathison, *Journal of clinical microbiology*, Dec. 1999, p. 4059–4064
 13. Risk factors associated with *Neospora caninum* infections in cattle in Argentina D.P. Moore, A. Pe´ rez, S. Agliano, M. Brace, G. Canto´n, D. Cano, M.R. Leunda, A.C. Odeo´n , E. Odriozola , C.M. Campero, *Veterinary Parasitology* 161 (2009) 122–125.
 14. “Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*” Alexander J. Trees and Diana J.L. Williams, *Parasitology* Vol.21 No.12 December 2005
 15. Монгол улсын үндэсний статистикийн мэдээ, 2019. //www.1212.mn/
 16. “Монгол орны мал, амьтдын паразитгах өвчин, тэдгээрийг оношлох, эмчлэх сэргийлэх арга” Б. Бямбаа, 2003он, хуудас 310-312.
 17. Asian parasitology- *Toxoplasmosis and Babesiosis in Asia*, vol.4, Akiko Yano, Ho-Woo Nam, Khairul Anuar A, Jilong Shen, Atsuko Saito, Ikuo Igarashi, 2005,

МОНГОЛ УЛС
БОЛОВСРОЛ, СОЁЛ, ШИНЖЛЭХ УХААН, СПОРТЫН ЯАМ
МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ХҮРЭЭЛЭН

ТӨСЛИЙН НЭР: “ХҮНСЭЭР ДАМЖИН ХАЛДВАРЛАДАГ ЭМГЭГ ТӨРҮҮЛЭГЧ
ИЛРҮҮЛЭХ ДЭВШИЛТЭТ АРГЫГ НЭВТРҮҮЛЭХ” МОНГОЛ-ХЯТАД УЛСЫН
ХАМТАРСАН СУДАЛГААНЫ ТӨСӨЛ

“Зооноз шимэгч трехнеллийг маханд молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт аргын
судалгаа” сэдэвт ажлын тайлан

Төслийн удирдагч: Б. Баттөр. Профессор, Доктор (Ph.D)
Гүйцэтгэгч: Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан Д. Мөнхгэрэл магистр
Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан Б. Даваасүрэн Доктор (Ph.D)
Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан Т. Амгаланбаатар магистр
Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан Б. Давхарбаяр магистрант
Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан Ч. Мөнгөнсар магистр

Улаанбаатар 2021

1. Сэдвийн үндэслэл

Trichinellidae овгийн *Trichinella* spp төрлийн нематод мал амьтан болон хүнд шимэгчлэн үүсгэдэг өвчнийг трихинелтэх буюу трихинеллэз гэнэ. Гахай, нохой, чоно, баавгай, харх, хулгана зэрэг битүү туурайтан, мэрэгчид болон хүн трихинеллэзоор өвчилдөг бөгөөд бие гүйцсэн трихинелл ходоод гэдсэнд, харин авгалдай нь хөндлөн судалт булчинд цист үүсгэн эзэн амьтныг үхэх хүртэл шимэгчилдэг. Дэлхийд *Trichinella* төрлийн 8 зүйлийн нематод бүртгэгдсэнээс хамгийн түгээмэл тархалттай нь *Trichinella spiralis* зүйл байна (Б. Бямбаа, 2003). *Trichinella spiralis* зүйл нь Европ, Евроази, Африкийн баруун хойд бүс нутгаар, Азийн баруун өмнөд бүс нутгийн улсуудад тархалт өндөр ба Хятад болон Японд эндемик зүйлд тооцогддог. Гахайн махнаас трихинеллэзын халдвар гарж байсан тохиолдол бусад завсрын эзэн амьтадын халдвараас харьцангуй их байна. Монгол оронд трихинеллийн тархалт харьцангуй бага боловч Сүхбаатар аймгийн Түмэнцогт сумын нутагт тал хээрийн бүсэд чононоос трихинеллийг судлаач Г.Шархүү 1990 онд илрүүлсэн байна. Халдвартай гахайн махны булчингийн ширхгийн хэвийн байдал өөрчлөгдөж гэмтэн, авгалдай байрласан хэсэгт бүдүүрч хөндлөн судал өөрчлөгдсөн байна. Трихинеллийн авгалдайг илрүүлэхийн тулд гахайн махны дээжид MNS 5813:2007 стандартын дагуу шинжилгээг хийдэг. Үүнд энгийн микроскопын шинжилгээний арга болон трихинеллоскопын шинжилгээний арга багтана (Мал эмнэлгийн ерөнхий газрын даргын А/43 дугаар тушаал). Эдгээр аргууд үнэ өртөг хэдий хямд ч ялгаварлан оношлох тал дээр үр дүн муутай юм. LAMP ПГУ (Loop Mediated Isothermal Amplification) нь энгийн ПГУ (Полимеразийн Гинжин Урвал) –ыг бодоход, хямд зардалтай, мэдрэг болон өвөрмөц чанар нь өндөр, хэрэглэхэд хялбар, тусгай тоног төхөөрөмж шаардагдахгүй, үр дүн нь хурдан найдвартай гарах учир илүү давуу талтай. Мөн дулааны үечлэл шаардахгүй учраас усан ванн болон дулаан тогтоогуурын аль нэгийг ашиглах боломжтой. Иймээс маханд трихинеллийн авгалдайг илрүүлж, тодорхой нэг аж ахуй нэгжид нэвтрүүлэхэд хамгийн тохиромжтой шинжилгээний арга юм. Анх японы эрдэмтэн Нотоми LAMP аргыг 2000 онд бий болгосон бөгөөд үндсэн зарчим нь *Bst* полимераза энзимээр ДНХ -ийн хос гинжийг салган энэ гинжний 6 өөр хэсгийг таньж холбогдох нийт 4 праймер гогцоо хэлбэрийн бүтэц үүсгэх замаар холбогддог. 2002 онд японы эрдэмтэн Нагамине гогцоо хэлбэрийн бүтцийг таних чадвартай нэмэлт праймер нэмсэн (Nagamine, T.,2002).

Энэ судалгаагаар хүнсний аюулгүй байдалд нөлөөлөх трихинеллэзын халдварлалт болон тархалтыг Улаанбаатар, Дархан, Сэлэнгэ, Төв аймгуудад түшиглэн үйл ажиллагаа явуулдаг гахайн фермүүдэд байгаа эсэх нь тогтоогдоно. Мөн гахайн фермүүд, анхан шатны нядалгаа хийдэг мах нядалгааны газар болон худалдааны газруудад худалдаалагдаж буй гахайн махнаас трихинеллийн авгалдай илрүүлэх шинжилгээг хийх, тухайн газруудад стандарт арга зүйг нэвтрүүлэх зэрэг ихээхэн ач холбогдолтой юм.

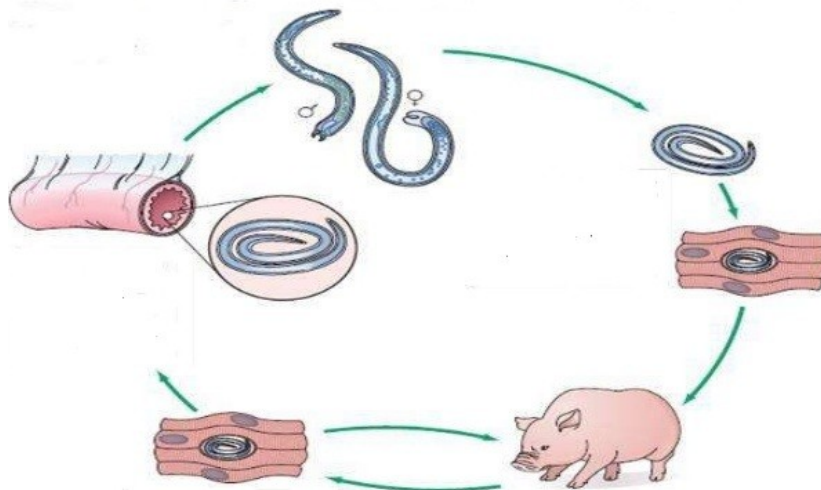
2. Судлагдсан байдал

1835 онд Лондон дахь анагаах ухааны их сургуулийн оюутан Жеймс Пагет нь хүний булчингийн эдэд байх трихинеллийн авгалдайг анх олж харжээ (Pozio, 2007). Трихинеллэз нь ДМАЭМБ-аас дэлхий даяар түгээмэл тархалтай гэж тэмдэглэгдэж

байгаа зоонозын хурц халдварт өвчин юм. Трихинеллёзоос урьчилан сэргийлэх, тэмцэх, оношлогоо эмчилгээний зааварыг ДМАЭМБ нь хуурай газрын амьтны эрүүл мэндийн тухай хуулинд тусгаж өгсөн байдаг (ОИЕ/<http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/trichinellosis/>). Хүний трихинеллёзын халдвар дэлхийн 55 оронд харин гахайн трихинеллёзын халдвар 43 оронд тус тус тархсан байна (Xuelian li et al., 2012). АНУ –д трихинеллёзын халдварлалт 1940 оноос хойш жилийн хугацаанд 400 орчим тохиолдол бүртгэгддэг байсан бол 2000 оноос хойш 20% -иар буурсан. Гэвч 2008 оны 10 сард Калифорни мужид нийт 38 хүнд трихинеллёзын хүнд халдвар илэрсэн байна. Хятадын судлаачдын судалгаагаар Хятад улсад 1964 оноос 2009 оныг хүртэл нийт 580 трихинеллёзын халдвар бүртгэгдсэний ихэнх нь гахайн трихинеллёзын халдвар байсан (Xuelian li et al., 2012). *Trichinella spiralis* зүйл нь Япон, Хятадын баруун болон зүүн хойд хэсгийн бүс нутгаар эндемик тархалттай гэж ДМАЭМБ-аас мэдээллэсэн. Мөн албан бус мэдээгээр Солонгос улсад гахайн махнаас трихинеллёзын халдвар гарсан 1 тохиолдол бүртгэгдээд байна. Харин Орос улсад 1995 оноос 1997 он хүртэл 1383 тохиолдол бүртгэгдсэн ба *T.spiralis* (ISSO534), *T.nativa* (ISSO10), *T.britovi*, *T.pseudospiralis* (ISS13) зүйлүүд нь ОХУ-ын Алтайн бүс нутаг, Казакстаны зүүн урагшаа, Сибирын баруун хэсгийн бүс нутгуудад өргөн тархалттай (Pozio, 2009; Gottstein et al., 2009; Krivokapich et al., 2012).

Монгол оронд трихинеллийн тархалт судалгаа хийгдээгүй боловч Сүхбаатар аймгийн Түмэнцогт сумын нутагт тал хээрийн бүсэд чононоос трихинеллийг судлаач Г.Шархүү 1990 онд илрүүлсэн байна (Б. Баттөр нар, 2019). Уг өвчний тандалт судалгаа шинжилгээ хийгдээгүй учраас трихинеллёзын дэгдэлтийн талаар нэгдсэн мэдээлэл байхгүй ч МЭЭ газрын даргын А/43 дугаар тушаалаар уг өвчнөөс урьдчилан сэргийлэх болон тэмцэх заавар боловсрогдсон.

Халдварлалт. Трихинеллийн хөгжлийн мөчлөгийн онцлог нь нэг эзний биед нэгэн зэрэг буюу бие гүйцсэн хорхой нь маш олон төрлийн амьтад болон хүний гэдсэнд харин авгалдай нь тэдгээрийн булчинд шимэгчилдэг өөрөөр хэлбэл, тэдгээр нь нэгэн зэрэг жинхэнэ ба завсрын эзэд нь болно. Трихинелтэх өвчний эх үүсвэр нь халдвартай харх болон бусад мэрэгчид байна. Гахай *Trichinella spp* -ээр халдварласан мэрэгчийг идсэнээр трихинелл авгалдайг хамт залгих ба амаар орсон авгалдай гахайн ходоод, гэдсэнд 4 хоногт бие гүйцсэн трихинелл хорхой болж шимэгчлэхдээ авгалдай төрүүлж эхэлдэг. (Зураг 1)



Зураг 1. Трихинеллийн хөгжлийн мөчлөг

Трихинеллийн авгалдай гахайн нарийн гэдэсний ханаар нэвтэрч цус, тунгалгийн урсгалаар булчингийн эдэд хүрч, тэндээ бүрээсжсэн авгалдай болон хөгжиж, эзэн амьтныг үхтэл шимэгчилдэг. Хүн трихинеллтэй гахайн махнаас халдварладаг. *Trichinella spp*-ээр халдварласан үед булчингийн гр тутамд хэдэн зуун тооны авгалдай үүсч болох ба бүрээсжсэн авгалдай эзэн амьтны хүүр, сэгэнд удаан хугацаад амьдрах чадвараа хадгалдаг нь трихинеллтэй сэг зэмээс харх зэрэг мэргч амьтад халдвар авах, тараах нөхцөл болдог.

Эмгэг бие бүтцийн хувиралт: Булчингийн ширхгийн хэвийн байдал өөрчлөгдөж гэмтсэн, авгалдай байрласан хэсэгт бүдүүрч хөндлөн судал аажмаар өөрчлөгдөн устаж бөөм нь томорч булчингийн ширхэг уусаж мөхлөгждөг. Араг ясны булчинд гинжилсэн үрлэн мөхлөгүүд бий болж хатууран цагаан өнгөтэй болно.

Лабораторийн оношилгоо. Трихинелтэх өвчний тархвар зүйн байдал, эмнэл зүйн шинж тэмдэг, бичил харуур, ийлдэс судлал болон молекул биологийн шинжилгээ ашиглан оношилно.

Монгол улсад Гахай, адууны махны дээжинд MNS 5813:2007 стандартын дагуу шинжилгээ хийж байна. Гахай ба адууны махны дээжийг шилэн хавтанд хавчуулан, микроскопоор дурандаж, нимбэг хэлбэртэй, бүрээстэй, дотроо эрчлээтсэн 1-2 трихинелл авгалдай илрүүлнэ. Шинжилгээнд өрц болон гулуузны зарим хэсэг, холбоос шөрмөсний залгаа булчингаас дээж авч, ферментэд уусган, тунадаст нь трихинелл авгалдай илрүүлэх шинжилгээг хийдэг сонгомол арга боловч илрүүлэлт маш бага үр дүн багатай арга юм.

Ийлдэс судлалын шинжилгээгээр трихинеллийн эсрэгбие илрүүлэн, халдварыг тандах шинжилгээнд ашиглаж байна. Гэхдээ зарим үүсгэгчийн зүйлийн онцлогоос хамаарч адууны трихинелтэхийг халдварын эрт үед нь ийлдэс судлалын аргааг оношлох боломжгүй байдаг байна.

Молекул биологийн шинжилгээгээр *Trichinella spp* үүсгэгчийн зүйл, тархалтыг мөн өвөрмөц эзнийг тогтоох боломжтой юм.

2. Судалгааны материал ба арга зүй

Судалгааны ажлын зорилго

- Бид энэхүү судалгаагаар хүнсээр дамжин халдварладаг эмгэг төрүүлэгч болох, *Trichinella spp.*-ийг LAMP (loop-mediated isothermal amplification) ПГУ-ын аргаар илрүүлэх зорилгын хүрээнд дараах зорилтуудыг тавьж ажиллав.
- Микроскоп болон трихинеллескопын судалгааг хийж, *Trichinella spp.*-ийн авгалдайг тодорхойлох;
- LAMP ПГУ-ын аргаар трихинеллийн авгалдайн генийн өвөрмөц хэсгийг гахайн маханд илрүүлэх
- Стандарт ПГУ болон LAMP ПГУ-г нөхцлийг тодорхойлж арга зүйг тогтворжуулах, үйлдвэрлэлд нэвтрүүлэх;
- Судалгаанд хамрагдсан махны дээжинд трихинеллэзын тандан судалгаа хийх

3. Судалгааны материал ба арга зүй

Судалгааны дээж, материал

2019-2020 онуудад Орхон, Сэлэнгэ, Говьалтай, Архангай, Дундговь, Дархан, Булган, Улаанбаатар хот орчмын зах нядалгааны буюу мах бэлтгэлийн газруудаас (Налайх, Эмээлт) таван хошуу мал болон гахайн махны дээжийг цуглуулж Молекул биологийн судалгааг Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн молекул генетик лабораторид (геномын ДНХ ялгах, ПГУ-ын олшруулалт, LAMP ПГУ-ын олшруулалт) хийж гүйцэтгэсэн.

Дээж авсан газар

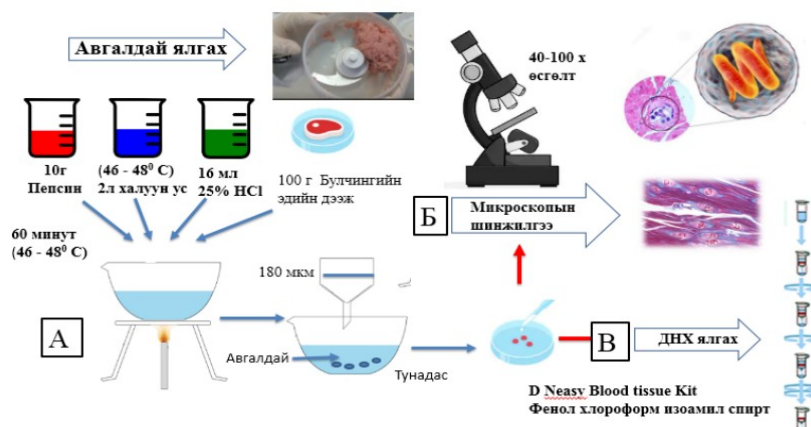
Улаанбаатар хотын Амгалан зах, Эмээлт захын мал нядалгааны газруудаас (Саян -Уул, Дун Фан, Үүлэнгөү ххк), Меркури худалдааны төв, Налайхын мал нядалгааны газруудаас (Шижирзул, Ундрамхайрхан, MSKVN ххк) Орхон аймгийн Хүлэг худалдааны төв, Таванэрдэнэ зах зэрэг газруудаас гахай, адуу зэрэг амьтадаас нийт 243 дээжийг цуглуулсан.

Дээжийн мэдээлэл:

Зэрлэг гахайн (1), тэжээвэр гахайн махны дээж болон адууны мах, дотор эрхтний нийт 243 дээж цуглуулсан байна. Энэ цуглуулсан дээжид Архангай, Өвөрхангай, Төв, Булган, Өмнөговь, Хэнтий, Дорнод, Сүхбаатар, Дорноговь, Дархан, Хөвсгөл, Архангай, Говь-сүмбэр, Төв, Өвөрхангай аймгуудаас ирсэн малын мах хамрагдсан.

Авгалдай ялгах арга зүй.

Уусмал бэлтгэх: 2 л бүлээн усанд (46-48⁰ C) 25% -ийн 16 мл давсны хүчлийн уусмал болон 10 г пепсин нэмж уусмалыг бэлтгэнэ (Бүдүүвч1: А). -20⁰ C -д хадгалсан эдийн дээжээс 100 г –ийг авч бутлагч машинаар жижиглэв. Энэхүү эдийн дээжин дээр урьдчилан бэлтгэсэн хүчиллэг уусмалыг нэмж 60 минутын турш 46-48⁰ C -д инкубацлаж, 180 мкм хэмжээтэй фильтрээр шүүлээ. Үүний дараа шүүгдсэнд микроскопын (NIKON ECLIPSE TS100: 40-100x) шинжлэв.



Схем 1. А: Махнаас трихнеллийн авгалдай ялгах дараалал Б: Микроскопын шинжилгээний арга

Геномын ДНХ ялгах

Цуглуулсан махны дээж тус бүрийг шингэн азот ашиглан уур нүдүүрт нухаж бэлтгэв. Геномын ДНХ-ийг бэлтгэж жижиглэсэн дээж тус бүрээс фенол: хлороформ: изоамил спирт (25: 24:1, v/v) ашиглан ялгасан (Sambrook and Russell, 2001). Бэлтгэсэн махны дээжээс 1 г– г зүсэж электрон жин дээр хэмжиж аваад шингэн азот ашиглан нухна. (махны шөрмөс, хальс зэргийг оруулахгүй). 450 мкл хайлуулагч уусмал /0.1M Tris-HCl pH =8.0, 1% SDS, 0.1M NaCl, 10Mm EDTA/ к нэмнэ. 5 мкл (10мг/мл) протейназа К-н уусмал нэмнэ. 55⁰ C-д дулаан тогтоогуурт 2цаг тавина. 30 минут тутамд зайлж сэгсэрнэ. 500 мкл фенол/хлороформ-н холимог нэмнэ. 2 мин vortex дээр холино. 15'000 rpm хурдаар тасалгааны хэмд 5 минут центрифүгдэнэ. 500 мкл дээд шингэнийг аажим соруулж шинэ тюүбэнд авна. 40 мкл 3M NaCl нэмнэ. 1 мл хүйтэн 100% этанол нэмнэ. -20⁰C-д 30 мин тавина. Шаардлагатай үед хугацааг сунгаж тавина. 4⁰C-д 15'000 rpm хурдаар 20мин хугацаатайгаар центрифүгдэнэ. Дээд шингэнийг болгоомжтой, таньцыг хөдөлгөлгүйгээр соруулж хаяна тунац дээр 100 мкл 70% этанол нэмнэ. 4⁰C-д 15'000 rpm хурдаар 5 мин хугацаатайгаар центрифүгдэнэ. Агаарт хатаана. Ялгаж авсан ДНХ-г 20мкл нэрмэл усанд уусгана. Ялгасан ДНХ –ийн цэвэршилтийг хэмжихдээ спектрофотометр (Nanodrop 1000, Thermo Scientific) гэрлийн шингээлтийн багажийг тус тус ашиглана.

Стандарт ПГУ-ын арга зүй. ПГУ-д . *T. spiralis*-ийн (TS43, TS53 Vassilatis *et al.* 1992) генийг илрүүлэхийн тулд TS43, TS53 праймерыг ашиглав. Урвалын холимог: буфер (10 x Ex buffer) , MgCl 2 , dNTP (10 uM), праймер бүрээс (5 uM), Ex Taq полимераза (5u/ ul) , H₂O бэлтгэж ПГУ-ыг (Thermo scientificTM, Arktik Thermal cycler) явуулна. ПГУ-ийн бүтээгдэхүүнийг 1.5% агароз гель бэлтгэж электрофорезийн арга зүйг ашиглан үр дүнг тодорхойлсон.

LAMP ПГУ-ын арга зүй. *T. spiralis* –ын авгалдайн TS2 генийн өвөрмөц хэсгийг (De Vos *et al.*, 1988) илрүүлэхэд (Хүснэгт № 1) гадна праймер 2, гогцооны праймер 2, дотно праймер 2 нийт 3 хос праймерийг (Генбанкийн бүртгэлийн дугаар X06625/http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/) ашиглав.

Хүснэгт 1

LAMP полимеразын гинжин урвалд ашигласан праймеруудын дараалал

Прайме	Нуклеотидын дараалал (5'-3')
р	
TS2F3	TGGCTATTTATTTTGCAACCTA
TS2B3	AAAATTGGTAAGAAGAACCCTTA
TS2FIP	GGTGTTACAGACATGGCGGTTTTTCAATTTTACACATTCAT ACSTATGC
TS2BIP	TACTCGTGAAGCTTTGCTAATCATTTTTAGTTTACACATCGA CAAACC
TS2LF1	GCGATTAATACCATTCCCGGTGG
TS2LB1	GCGCCCTAACGAATATGAGC

ПГУ –ын холимгийн нийт эзлэхүүнийг 25 мкл хэмжээтэй байхаар бэлдэнэ. Үүнд: Мастер холимгийг 20 ммоль Tris-HCl (pH 8.8), 10 ммоль KCl, 10 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0.1% Tween-20, 0.8 моль ПГУ буфер (2X- 1.6M betaine), 8 ммоль MgSO₄, 1.4 ммоль dNTP, 40 пмоль TS2FIP болон TS2BIP, 20 пмоль TS2LF1 болон TS2LB1, 5 пмоль TS2F3 болон TS2B3 праймер мөн олшруулах ДНХ -г нэмж бэлдэнэ. (Нийт холимгийн хэмжээнээс 8U/ul Bst полимераз энзимийн эзлэх хэмжээг хасах). Урвалын нөхцөл нь *T. spiralis* –ын авгалдайн давтагдсан TS2 генийн дарааллын өвөрмөц хэсгийг олшруулахад 95⁰ C 10 сек денатураци хийж (хос суурийг салгаж) 2 минут мөсөн дээр тавина. Үүний дараа 8 U Bst *Bacillus stearothermophilus* днх полимеразг нэмж 65⁰C –д 70 мин дулаан тогтоогуурт (Looramp LP 100) олшруулна. Урвалж бодисын холимгийн хэмжээг 2-р хүснэгтээр үзүүлэв.

Хүснэгт 2

LAMP полимеразын гинжин урвалд ашигласан урвалжийн мэдээлэл

№	Урвалж	1х
1.	ПГУ буфер (2X- 1.6M betaine)	2.5 мкл
2.	dNTP (1.4 ммоль)	3.5 мкл
3.	MgSO ₄ (pH8.8)	1.5 мкл
4.	Bst Полимераза (8нэгж/мкл)	1 мкл
5.	FIP/BIP (40 пмоль)	4 мкл
6.	F3/B3 (5 пмоль)	0.5 мкл
7.	LF/LB (20 пмоль)	2 мкл
8.	DDW	1.5 мкл
9.	ДНХ	1 мкл

4. Судалгааны ажлын үр дүн

Трихинелёзийн үүсгэгч *T. spiralis* –ыг маханд шинжилсэн үр дүн

Судалгааны дээж

2019-2020 онуудад Орхон, Сэлэнгэ, Улаанбаатар хот орчмын мах бэлтгэлийн газруудаас нийт 110 гахайн мах болон 133 адууны махны дээж нийт 243 дээжийг цуглуулсан. Судалгаанд ашигласан дээж материалыг хүснэгт 3-т харуулав.

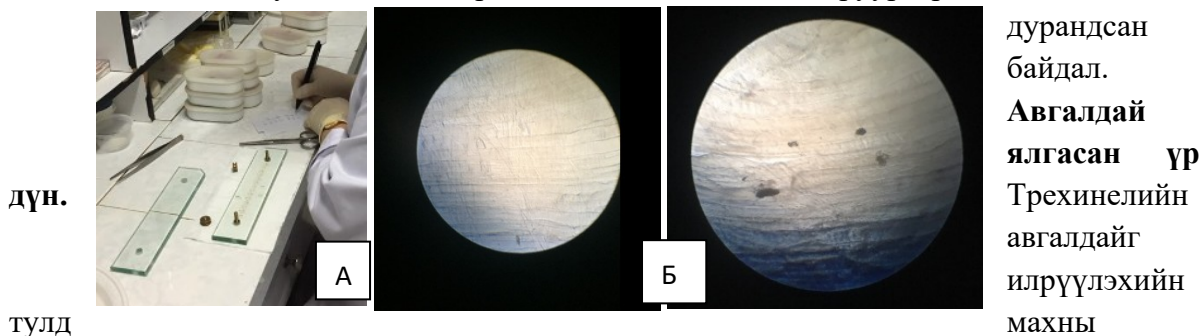
Хүснэгт 3.

Судалгаанд цуглуулсан дээжийн мэдээлэл		
Малын төрөл	Махны төрөл	Нийт дээжийн тоо
Адуу	Зүрх	37
	Зажлуур	18
	Өрц	23
	Булчин	10
	Уушги	14
	Элэг	31
	Зүрх	8
Гахай	Өрц	7
	Уушги	6
	Элэг	3
	Булчин	84
Нийт дүн		243

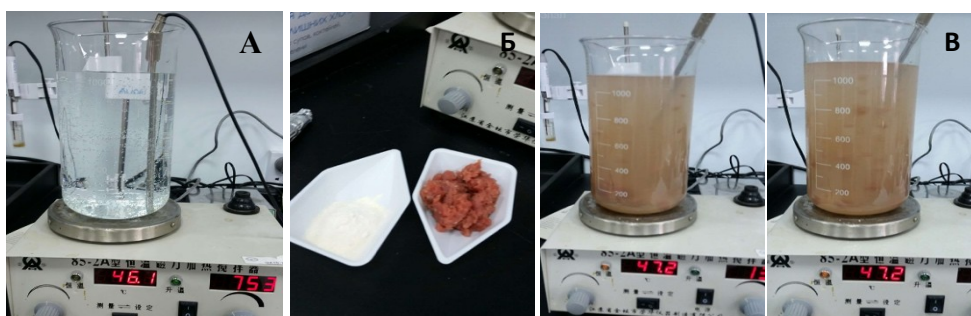
ДНХ ялгасан үр дүн: Судалгаанд цуглуулсан нийт 243 булчингийн дээжээс шууд ДНХ ялгахдаа бид фенол-хлороформын аргаар ялгасан. Ялгасан ДНХ-ийн гарц ба цэвэршилтийг спектрофотометр (Nanodrop 1000, Thermo Scientific) ашиглан 260/280 нм-ийн гэрлийн долгионы уртад хэмжиж шалгахад 100 нг/мкл – 2500 нг/мкл концентрацитай байсан.

Трихинелоскопийн шинжилгээний үр дүн. Судалгаанд цуглуулсан нийт булчингийн болон дотор эрхтний нийт дээжээс ширхгийн дагуу 2x10 мм зүсмэг авч шахуурга дээрх дугаарын дагуу байрлуулаад шахуургыг таглаж, эргийг чангалсан. Шахуурга дахь булчингийн дээжийг трихинелоскоп буюу бичил харуураар 100х дахин өсгөж дурандсан боловч одоогоор сэжигтэй дээж хараахан олоогүй байна.

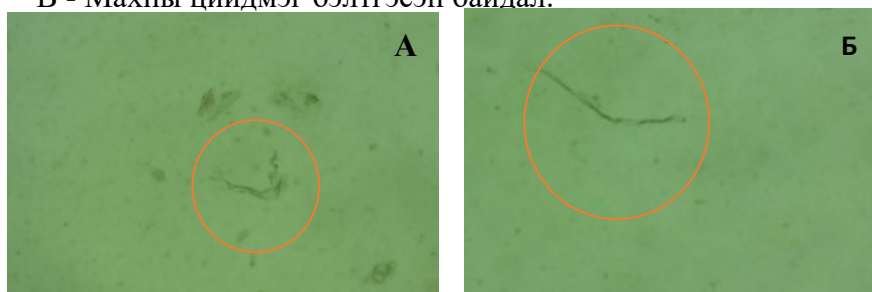
Зураг 2: А Трихинелоскопоор махны ширхэг хэмжиж жигт шахаж буй байдал, Б Гахайн махны булчингийн ширхгийн дээжийг бичил харуураар 100 дахин өсгөж



дээжийг пепсинээр ялгав. Нийт дээжээс 100 г ходоодны хүчлийн уусмал бэлдэж задалсан. Бэлэн болсон шүүдэснээс микроскопын шинжилгээг хийхэд булчингийн ширхгээс өөр зүйлийг хараахан олоогүй. Үүний дараагаар шүүгдэс тус бүрээс ДНХ ялгаж концентрацийг хэмжихэд 45.5 – 439.7 ng/μl концентрацитай байсан. Нийт цуглуулсан 243 махны дээжнээс булчингийн ширхгийн дагуу зүсэлт хийхэд булчингийн ширхэг гэмтсэн 10 дээжнээс 2 дээжийг дахин пепсин ашигласан ходоодны хүчлийн уусмалаар задалж микроскопын шинжилгээ хийхэд сэжиг бүрээсжээгүй авгалдай төст биед илэрсэн ч морфологийн хувьд төсгүй байсан. А. Гахайн махны дээжний мэдээлэл: Хөвсгөл аймгийн Тариалан суманд 2019 оны 11 сарын 28,29 нд нядалгаанд орж 11 сарын 29 ны өдөр Меркури худалдааны төвд худалдаалагдаж байсан махнаас дээж авсан. Б. Адууны махны дээжний мэдээлэл: Хэнтий аймгийн Хэрлэн суманд 2019 оны 12 сарын 21 нд нядалгаанд орж 12 сарын 21 ны өдөр Меркури худалдааны төвд худалдаалагдаж байсан махнаас дээж авсан.



Зураг 3. А- Ходоодны хүчлийн уусмалыг халааж бэлтгэсэн байдал.
 Б - Пепсин болон гахайн махны дээжийг хэмжиж бэлтгэсэн байдал.
 В - Махны цийдмэг бэлтгэсэн байдал.



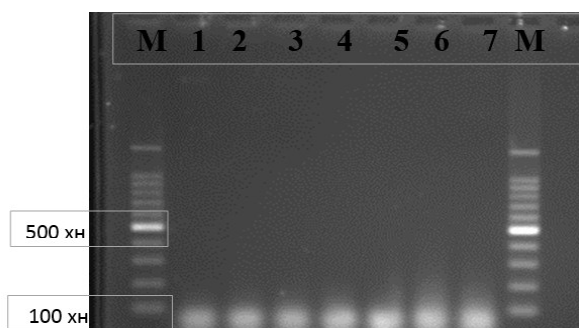
Зураг 4. А. Гахайн махны цийдмэгээс гэрлийн микроскопоор 100х өсгөж харахад бүрээсжээгүй тунгалаг хэлбэрийн цагаан хорхойн авгалдай төст биет илэрсэн.
 Б. Гахайн махны суспенз уусмалыг гэрлийн микроскопоор 100х өсгөж харахад бүрээсжээгүй дугариг хорхойн авгалдай төст биет илэрсэн.

Өмнөх судалгаануудад 1 г булчингийн эдэд байх авгалдайн нягтаршил 3-5 lpg байвал уг арга зүйгээр 100 % трехинелийн авгалдайг илрүүлж болох ба авгалдайн нягтаршил 1 lpg –с багасвал аргазүйн мэдрэг чанар 40 % хувь хүртлээ буурна гэж дурдсан байдаг. Үүнээс гадна дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллагаас 1 lpg агуулсан булчингийн эдийг хүнсний аюулгүй байдалд аюултай гэж үздэг. Тиймээс бид уг арга зүйгээр 30 – 100 гр хүртэл дээжийн хэмжээг нэмэгдүүлж задалж үзсэн бөгөөд трехинелийн авгалдайгаар халдварласан дээж олдоогүй. Пепсинээр задалсны дараа

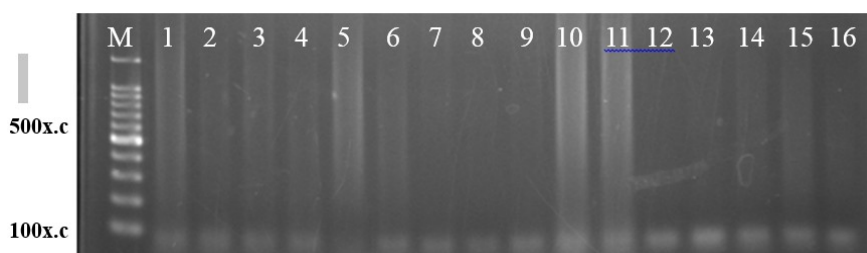
халдвартай булчингийн авгалдай хэлбэр нь янз бүр байж болох тул танихад төвөгтэй (Mayer – Scholl. A *et al.*2017). Ердийн хэлбэрүүд нь нягт ороомог, цагираг хагас дугуй хэлбэртэй, эсвэл в хэлбэртэй байдаг. Трихинеллийн авгалдай нь 0.7-1.5 мм урт, ойролцоогоор 0.3 мм өргөн байдаг. Трихинеллийн авгалдайн улаан хоолой нь нарийн бөгөөд төгсгөл нь бага зэрэг бөөрөнхий байдаг гэж тэмдэглэгдсэн байдаг. Судалгаанд хамрагдсан гахайн зарим сэжиг бүхий дээжинд шинжилгээ хийхэд трихнелл төст биетийг илрүүлсэн бөгөөд дээрх дээжүүдэд ПГУ тавьж баталгаажуулах шинжилгээг хийв.

Стандарт ПГУ-н шинжилгээний үр дүн

Бид уг судалгаанд ПГУ-аар *T. spiralis*- ийн (TS43 Vassilatis *et al.*1992) генийг илрүүлэхийн тулд TS43, TS53 праймерыг ашиглан нийт адуу болон гахайн махны 243 дээжийг шинжилж үзэхэд одоогоор хараахан *Trichinella spiralis* зүйлийн генийн өвөрмөц хэсэг олоогүй буюу илрээгүй байна.



Зураг 5: М 100 хн алхамт молекул маркер, 1 Хөвсгөл аймгийн Тариалан сумын гахай, 2 Хэнтий аймгийн Хэрлэн сумын гахай, 3 - 7 Меркури захаас цуглуулсан гахайн махны дээж, М 100 хн алхамт молекул маркер



Зураг 6. ПГУ –ын үр дүн

Цаашид бид *T. spiralis*- ийн нийтлэг генийн хэсгийг сонгон үүрэн ПГУ тавьж үр дүнд харьцуулалт хийж баталгаажуулалт хийхээр төлөвлөн ажиллаж байна.

ЛАМП (LAMP) ПГУ-ын судалгааны үр дүн

ЛАМП ПГУ: *T. spiralis* – ын авгалдайн TS2 генийн өвөрмөц хэсгийг (De Vos *et al.*, 1988) илрүүлэх 3 хос праймер (LAMP ПГУ) ашиглаж нийт гахай болон адууны 243 дээжийг LAMP ПГУ–аар шинжилж үзэхэд одоогоор хараахан *Trichinella spiralis*- ын TS2 генийн өвөрмөц хэсэг илрээгүй байна.

Бидний судалгааны дүнгээр шинжилгээнд хамрагдсан нийт 243 дээж бүгд сөрөг дүнтэй буюу эерэг дээж илрээгүй.

5. Шүүн хэлэлцэхүй

Бид судалгаандаа нийт 243 гахай болон адууны малын мах, дотор эрхтний дээжийг цуглуулсан. Олон улсын өгүүлэл болон хэвлэлийн тоймоос шүүж үзэхэд гахай болон адуунд илэрсэн тохиолдлуудыг жишиг болгож адуу болон гахайн махнаас трихинеллийг илрүүлэхийг зорьлоо. Манай оронд трихинеллийн тархалт судалгаа хийгдээгүй боловч судлаач Г.Шархүү (1990) чононоос трихинеллийг илрүүлсэн байна. Түүнээс хойш бусад судлаачид уг үүсгэгчийг илрүүлээгүй бөгөөд бидний хийсэн судалгаагаар трехнеллаг мөн илрүүлсэнгүй.

Сэлэнгэ, Хөвсгөл, Хэнтий, Булган, Архангай, Төв, Говьсүмбэр, Дорноговь, Дундговь, Говь-алтай, Булган, Сонгинохайрхан дүүргүүдээс нийт гахайн махны 60 дээж цуглуулсан. Үүнээс Говь-алтай аймгийн Цээл, Дорноговь аймгийн Айраг, Сэлэнгэ аймгийн Орхонтуул, Цагааннуур, Төв аймгийн Угтаал, Сонгинохайрхан дүүргийн Аргүнт, Хэнтий аймгийн Хэрлэн, Мийт хиам импорт ОХУ, Хөвсгөл аймгийн Тариалан зэрэг газруудаас Меркури худалдааны төвд нийлүүлэгдсэн гахайн махны нийт дээжүүдэд булчингийн ширхэгийн дагуу зүсэлт хийхэд булчингийн ширхэг гэмтсэн, бүтэц өөрчлөгдсөн байсан тул авгалдай ялгах арга зүйг ашиглан суспенз уусмал бэлтгэсэн. Тус уусмалыг гэрлийн микроскопоор 100х өсгөж харахад Хөвсгөл аймгийн Тариалан, Хэнтий аймгийн Хэрлэн зэрэг газруудаас ирсэн гахайн махны суспенз уусмалд бүрээсжээгүй тунгалаг тууз хэлбэрийн трихинелл авгалдай төст биет илэрсэн.

Трихинеллийн авгалдай ихэвчлэн нимбэг хэлбэрийн бүрээс дотор мушгиралдсан хэлбэртэй харагддаг. Гэхдээ трихинелл нь хөгжлийнхөө янз бүрийн шатанд эзэн амьтанд шимэгчилдэг бөгөөд бүрээстэй, бүрээсгүй, сөнөрсөн байж болно. Булчингийн ширхэг завсар трихинеллийн бүрээсжээгүй залуу авгалдай тохиолддог учир бидний илрүүлсэн дээжүүд нь трихинеллийн халдвартай байж болно гэсэн таамаглалд хүрсэн боловч бид тухайн дээжүүдийг стандарт ПГУ болон LAMP ПГУ – аар шинжлэхэд одоогоор хараахан *Trichinella spiralis* болох нь батлагдаагүй болно.

6. Судалгааны ажлын дүгнэлт

1. Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз шимэгч Трехнелл (*Trichinella*)-ийг молекул биологийн аргаар маханд илрүүлэх, дэвшилтэт ПГУ-ын аргыг нэвтрүүлэх судалгааны ажлууд хийгдэж байгаа бөгөөд адуу болон гахайн маханд шинжилгээ хийхэд дээрх үүсгэгчийн генийн өвөрмөц хэсэг илрээгүй байна.

2. Авгалдайн нягтаршил дээж авч буй амьтны булчингийн хэсэг бүрд харилцан адилгүй тархсан байдаг бөгөөд дээж авч буй амьтны өөр өөр булчингийн эдийн хэсэг бүрээс дээж авах нь үр дүнтэй байх боломжтой.

3. Мөн бидний дээж цуглуулсан бүсэд трихинелёзын халдвар илрээгүй бөгөөд цаашид бид уг судалгааг нарийвчлан далайцтай судалгаа хийж гүйцэтгэх боломжтой бөгөөд тухайн үр дүнг бататгах шаардлагатай.

4. Цаашид зэрлэг амьтдад трихинелл илрүүлэх судалгаа шинжилгээг хийх нь зүйтэй байна.

7. Ном зүй

1. Н.Батсуурь. нар., 2016, Мал эмнэлгийн тархвар зүйн үндэс, практик хэрэглээ. Мөнхийн үсэг. 150-151
2. Yogesh Kumar & Sangita Bansal., 2017, Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP): A Rapid and Sensitive Tool for Quality Assessment of Meat Products, Institute of food technologist
3. Michael McPherson & Simon moler., 2006, PCR second edition, MPG BOOKS Limited, Bodmin, Cornwall, UK
4. Anne Mayer – Scholl *et al.*, 2017, Magnetic Stirrer Method for the Detection of Trichinella Larvae in Muscle Samples. Journal of Visualized Experiments
5. Mori, Y., Nagamine, K., Tomita, N., Notomi, T., 2001. Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. Biochem. Biophys. Res. Commun. 289, 150–154
6. Nagamine, T., 2002. Accelerated reaction by loop mediated isothermal amplication using loop primers. Mol. Cell. Probes. 16, 223-229
7. Nago, T.T., Tokashiki, Y.T., Kisanuki, K., Nakasone, I., Yamane, N., 2010. Laboratorybased evaluation of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) to detect
8. Cryptosporidium oocyst and Giardia lamblia cyst in stool specimens. Rinsho byori 58, 765–771.
9. Xuelian li at all., 2012, Rapid detection of *Trichinella spiralis* larvae in muscles by loop mediated isothermal amplification, Australian Society for Parasitology inc. published by Elsevier Ltd

Хүснэгт 4. Судалгаанд цуглуулсан гахайн махны дээжийн жагсаалт

№	Амьтны төрөл	Дээж махны нэр	Гарал үүсэл	Дээж авсан Худалдааны төв	Он сар өдөр	ДНХ конци ng/μl
1	Гахай	Хаа	Хөвсгөл, Тариалан	Орхон Хүлэг Х/Т	06.01	2584.56
2	Гахай	Намилхай	Булган, Хутагөндөр	Орхон Хүлэг Х/Т	06.01	401.56
3	Гахай	Булчин	Булган, Хутагөндөр	Орхон Хүлэг Х/Т	06.01	480.74
4	Гахай	Булчин	Булган, Хутагөндөр	Орхон Хүлэг Х/Т	06.01	936.84
5	Гахай	Булчин	Булган, Хутагөндөр	Орхон Хүлэг Х/Т	06.01	976.9
6	Гахай	Нуруу	ОХУ импорт	Отгонсаран ххк Амгалан зах	09.13	1248.67
7	Гахай	Цорой	Амархан ХХК	Амгалан зах	09.13	210.66
8	Гахай	Өрцний хөхөнцөр	Төв Угтаал	Меркури ХТ	9/11/2019	116.71
9	Гахай	Гуяны дунд чөмгийн хэсэг	Сэлэнгэ Орхонтуул	Меркури ХТ	9/13/2019	600
10	Гахай	Гуяны сүүжний хэсэг	Сэлэнгэ Мандал	Меркури ХТ	9/13/2019	120.08
11	Гахай	Хүзүүний хэсэг	Булган Рашаант	Меркури ХТ	9/14/2019	657
12	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Орхонтуул	Меркури ХТ	9/14/2019	239
13	Гахай	Гуяны хэсэг	Архангай Эрдэнэбулган	Меркури ХТ	9/14/2019	384
14	Гахай	Хүзүүний хэсэг	Говьсүмбэр Шивээ Овоо	Меркури ХТ	9/14/2019	500.04
15	Гахай	Гуяны хэсэг	Хэнтий Бор-	Меркури ХТ	11/2/2019	200.71

өндөр						
16	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Баянгол	Меркури ХТ	11/9/2019	288.7
17	Гахай	Гуяны хэсэг	Архангай Эрдэнэбулган	Меркури ХТ	11/10/2019	299.87
18	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Мандал	Меркури ХТ	11/14/2019	792.3
19	Гахай	Хавирганы хэсэг	Сэлэнгэ Цагааннуур	Меркури ХТ	11/14/2019	925
20	Гахай	Гуяны хэсэг	Хэнтий Хэрлэн	Меркури ХТ	11/14/2019	807
21	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Цагааннуур	Меркури ХТ	11/14/2019	657
22	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Цагааннуур	Меркури ХТ	11/21/2019	75
23	Гахай	Гол махны хэсэг	Төв Баянхангай	Меркури ХТ	11/21/2019	698
24	Гахай	Гуяны хэсэг	Төв Жаргалант	Меркури ХТ	11/22/2019	345
25	Гахай	Гуяны хэсэг	Архангай Эрдэнэбулган	Меркури ХТ	11/22/2019	433
26	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Мандал	Меркури ХТ	11/27/2019	223
27	Гахай	Гуяны хэсэг	Хөвсгөл Тариалан	Меркури ХТ	11/30/2019	621
28	Гахай	Гуяны хэсэг	Дундговь Сайнцагаан	Меркури ХТ	12/4/2019	234
29	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Мандал	Меркури ХТ	12/5/2019	534
30	Гахай	Гуяны хэсэг	Булган Хишиг-Өндөр	Меркури ХТ	12/5/2019	355
31	Гахай	Гуяны хэсэг	Архангай Эрдэнэбулган	Меркури ХТ	12/1/2019	567
32	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Мандал	Меркури ХТ	12/5/2019	455
33	Гахай	Зүрх	Хэнтий Хэрлэн	Меркури ХТ	12/1/2019	432
34	Гахай	Хавирганы хэсэг	Архангай Эрдэнэбулган	Меркури ХТ	12/1/2019	456

/толгой/

35	Гахай	Өрцний хөхөнцөр	УБ-Налайх 2-р хороо	Меркури ХТ	12/5/2019	654
36	Гахай	Гуяны хэсэг	Дундговь Сайнцагаан	Меркури ХТ	12/8/2019	786
37	Гахай	Хавирганы хэсэг /хаа/	Сэлэнгэ Мандал	Меркури ХТ	12/6/2019	532
38	Гахай	Цоройн хэсэг	Сэлэнгэ Баянгол	Меркури ХТ	12/6/2019	1245
39	Гахай	Гуяны хэсэг	Хэнтий Хэрлэн	Меркури ХТ	12/10/2019	56
40	Гахай	Хавирганы хэсэг /хаа/	Сэлэнгэ Мандал	Меркури ХТ	12/10/2019	567
41	Гахай	Гуяны хэсэг	Төв Баянчандмань	Меркури ХТ	12/10/2019	432
42	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Орхонтуул	Меркури ХТ	12/15/2019	56
43	Гахай	Гуяны хэсэг	СХД Аргүнт Дрийм Пиг ХХК	Меркури ХТ	12/15/2019	3543
44	Гахай	Гуяны хэсэг	Төв Угтаал	Меркури ХТ	12/18/2019	987
45	Гахай	Гуяны хэсэг	СХД Аргүнт Дрийм Пиг ХХК	Меркури ХТ	12/19/2019	177
46	Гахай	Гуяны хэсэг	Хэнтий Хэрлэн	Меркури ХТ	12/20/2019	211
47	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Цагааннуур	Меркури ХТ	12/20/2019	445.5
48	Гахай	Гуяны хэсэг	Хэнтий Хэрлэн	Меркури ХТ	12/21/2019	222.4
49	Гахай	Далны хэсэг /хаа/	Дорноговь Айраг	Меркури ХТ	12/22/2019	211.4
50	Гахай	Гуяны хэсэг	Хэнтий Хэрлэн	Меркури ХТ	12/22/2019	314
51	Гахай	Далны хэсэг /хаа/	Төв Угтаал	Меркури ХТ	12/22/2019	16
52	Гахай	Далны хэсэг /хаа/	Дорноговь Айраг	Меркури ХТ	12/22/2019	175
53	Гахай	Гуяны хэсэг	ОХУ Мийт	Меркури ХТ	12/22/2019	160

хиамХХК						
54	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Цагааннуур	Меркури ХТ	12/27/2019	180.5
55	Гахай	Гуяны хэсэг	Дундговь Сайнцагаан	Меркури ХТ	12/27/2019	111.3
56	Гахай	Гуяны хэсэг	Архангай Эрдэнэбулган	Меркури ХТ	1/3/2020	200.2
57	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Мандал	Меркури ХТ	1/10/2020	100.6
58	Гахай	Гуяны хэсэг	Төв Баян Гранд Пиглет ХХК	Меркури ХТ	1/10/2020	221
59	Гахай	Гуяны хэсэг	СХД 32-р хороо Хурган	Меркури ХТ	1/12/2020	54
60	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Цагааннуур	Меркури ХТ	12/14/2020	43
61	Гахай	Гуяны хэсэг	Говь-Алтай Цээл	Меркури ХТ	12/14/2020	65
62	Гахай	Гуяны хэсэг	Говь-Алтай Цээл	Меркури ХТ	12/15/2020	45
63	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Цагааннуур	Меркури ХТ	12/15/2020	55
64	Гахай	Зүрх	СХД Алтан тариа ХХК	Меркури ХТ	2/8/2020	44
65	Гахай	Зүрх	СХД 32-р хороо Эмээлт	Меркури ХТ	2/8/2020	700
66	Гахай	Элэг	Төв Угтаал	Меркури ХТ	4/3/2020	465
67	Гахай	Уушиг	Төв Угтаал	Меркури ХТ	5/9/2020	800
68	Гахай	Элэг	Төв Цээл	Меркури ХТ	2/19/2020	554
69	Гахай	Зүрх	Төв Угтаал	Меркури ХТ	5/9/2020	334
70	Гахай	Зүрх	Төв Цээл	Меркури ХТ	2/19/2020	552
71	Гахай	Өрцний хөхөнцөр	Төв Угтаал	Меркури ХТ	4/18/2020	443
72	Гахай	Өрцний хөхөнцөр	Төв Цээл	Меркури ХТ	2/19/2020	112
73	Гахай	Өрцний хөхөнцөр	Төв Угтаал	Меркури ХТ	4/18/2020	334

74	Гахай	Уушиг	Налайх 3-р хороо	Меркури ХТ	4/28/2020	445
75	Гахай	Уушиг	Налайх 3-р хороо	Меркури ХТ	4/28/2020	26
76	Гахай	Уушиг	Налайх 3-р хороо	Меркури ХТ	4/28/2020	334
77	Гахай	Уушиг	Налайх 3-р хороо	Меркури ХТ	4/28/2020	223.4
78	Гахай	Уушиг	Налайх 3-р хороо	Меркури ХТ	4/14/2020	443.6
79	Гахай	Элэг Зүрх !!!	Төв Угтаал	Меркури ХТ	5/18/2020	443.7
80	Гахай	Гуяны хэсэг	Сэлэнгэ Мандал	Меркури ХТ	5/9/2020	445
81	Гахай	Гол махны хэсэг	Булган Сансар	Меркури ХТ	5/10/2020	1003.3
82	Гахай	Гуяны хэсэг	Хэнтий Хэрлэн	Меркури ХТ	5/10/2020	331
83	Гахай	Гуяны хэсэг	ХУД 13-р хороо	Меркури ХТ	5/11/2020	33.3
84	Гахай	Хавирга далны хэсэг	Сэлэнгэ Мандал	Меркури ХТ	5/20/2020	432
85	Гахай	Хүзүүний хэсэг	Сэлэнгэ Мандал	Меркури ХТ	5/20/2020	865
86	Гахай	Гуяны хэсэг	Төв Угтаал	Меркури ХТ	5/21/2020	454
87	Гахай	Зүрх	Төв Жаргалант	Меркури ХТ	5/22/2020	356
88	Гахай	Далны хэсэг /хаа/	ОХУ Мийт хиаМХХК	Меркури ХТ	5/25/2020	353

МОНГОЛ УЛС
ХҮНС, ХӨДӨӨ АЖ АХУЙ ХӨНГӨН ҮЙЛДВЭРИЙН ЯАМ
БОЛОВСРОЛ СОЁЛ ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ЯАМ
МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ХҮРЭЭЛЭН

**ТӨСЛИЙН НЭР: “ХҮНСЭЭР ДАМЖИН ХАЛДВАРЛАДАГ ЭМГЭГ ТӨРҮҮЛЭГЧ
ИЛРҮҮЛЭХ ДЭВШИЛТЭТ АРГЫГ НЭВТРҮҮЛЖ, ХҮНСНИЙ АЮУЛГҮЙ
БАЙДЛЫН ЭРСДЭЛИЙГ ҮНЭЛЭХ” МОНГОЛ-ХЯТАД УЛСЫН ХАМТАРСАН
СУДАЛГААНЫ ТӨСӨЛ**

**Сэдвийн нэр: “Хүнсээр дамжин халдварладаг үхэр, гахайн цистицеркозийг молекул
биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт (LAMP- PCR) аргын судалгаа, эрсдэлийн үнэлгээ”
сэдэвт судалгааны ажлын тайлан**

Төслийн удирдагч: Б. Баттөр. Профессор, Доктор (Ph.D)

Гүйцэтгэгч: Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан О. Банзрагчгарав Доктор (Ph.D)

Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан С. Наранцацрал магистр

Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан Б. Энхтайван магистр

Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан Т. Амгаланбаатар магистр

Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан Б. Давхарбаяр магистрант

Эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан Ч. Мөнгөнсар магистр

Улаанбаатар хот, 2021 он

НЭГ. СЭДВИЙН ҮНДЭСЛЭЛ

Мал аж ахуйн салбарын бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэл 2016 оны гүйцэтгэлээр 3,5 их наяд төгрөгт хүрч, нийт экспортын орлогын 6,6 хувь тус салбарын гол нэрийн бүтээгдэхүүн эзэлж байна. Гэвч дэлхийн уур амьсгалын өөрчлөлт, ган, зудын давтамж, газрын доройтол, бэлчээрийн хомсдол, даац хэтрэлт, малын тооны хэт өсөлт зэрэг нь нөөцийн хязгаарлагдмал байдлыг үүсгэж, мал аж ахуйн үйлдвэрлэлийг явуулах арга барилд өөрчлөлт оруулах, боловсронгуй болгох эрэлт хэрэгцээ, шаардлага өдрөөс өдөрт нэмэгдэж байна.

Манай улс 1950-аад оноос эхлэн мах, ашиг шимт үүлдрийн, гахайг гадаад орноос авчирч, өсгөн үржүүлж байгаа ч мал аж ахуйн үйлдвэрлэлийн эрчимжүүлэлтийн талаарх ойлголт харьцангуй өөр өөр байна. Тухайн чиглэлийн мал, амьтны онцлогоос хамаарч энэ төрлийн аж ахуйн хөгжил, үйлдвэрлэл, технологи, шийдвэрлэх асуудлууд мөн харилцан адилгүй төвшинд байгаа болно. 2016 оны жилийн эцсийн статистик мэдээгээр эрчимжүүлсэн чиглэлээр өрхөд 35,7 мянган гахай, 1309 аж ахуйн нэгж, өсгөн үржүүлж, төвлөрсөн хүн амын хүнсний хэрэгцээнд түүхий эд, бүтээгдэхүүнээ нийлүүлж байна. Гахайн аж ахуйн үйлдвэрлэл эрхлэгчдийг томоохон (500-аас дээш толгой), дунд (150-500 хүртэл толгой), өрхийн (150-аас доош толгой) гэж гурав ангилж, цэвэр үүлдрийн үржлийн өсвөр хээлтэгч, хээлтүүлэгчээр хангах үржлийн аж ахуйн үйлчилгээ явуулж байна.

Гахайн цистицеркоз Сэлэнгэ, Төв, Архангай, Өвөрхангай, Булган, Увс, аймагт болон Дархан, Улаанбаатар хотын үйлдвэр албан газрын туслах аж ахуйн гахайд илэрч байна. Манай улсад 1980 он хүртэл оношлогдоогүй байсан гахайн цистицеркоз цөөн жилийн дотор ихээхэн тархаж халдварлалтын эрчимжил ихсэж байна. Цистицеркозын халдварын эх үүсвэр хүн бөгөөд паразитын амьдралын хугацаанаас шалтгаалж халдвар их хэмжээний газар нутагт тархана. Өндөг салхи, шавж, хүн малын хөлөөр дамжин бэлчээр ус бохирдуулна. Гахай уул өвчний үүсгэгчийн үе агуулсан хүний өтгөн ялгадсаар бохирлогдсон ус, тэжээл идэж халдвар авна.

Үүсгэгч: хүний гэдсэнд шимэгчлэгч *Taenia solium* хэмээх бие гүйцсэн хорхойн *Cysticercus cellulosae* зүйлийн авгалдайгаар үүснэ. Цистицерк нь янз бүрийн эд, эрхтэнд шимэгчлэх ба ихэвчлэн гахайны булчин, зүрх, тархи, нүд, элэг, уушгинд тохиолдохоос гадна хүний тархи, нүдэнд байрлана.

ХОЁР. СУДЛАГДСАН БАЙДАЛ

Цистоцеркоз өвчин нь *Cysticercus cellulosae* зүйлийн авгалдайгаар үүсгэгддэг. Цистицерк нь зууван хэлбэртэй, дотроо тунгалаг шингэнээр дүүрсэн мм урт, 5-10 мм өргөн, 2 давхар хальстай уулинхай. Толгой нь дотор талын хальснаас үүсэн гарах ба гадна талаасаа цагаан толбо мэт гэрэлтэн харагдана. Бие гүйцсэн туузан хорхой урт нь

гурван метрээс хэтрэхгүй. Толгой нь 2 эгнээ. 22-32 дэгээтэй. Том дэгээ 0.110-0.120 мм урт байна. Бэлгийн сув нь буруу байрлалтай, хос бэлэгт үеийн өндгөвчний нэмэлт 3 дахь далбаа нь үеийн урд хагаст байрладаг онцлогтой. Бие гүйцсэн туузан хорхой хүнд шимэгчилнэ.

Эцгийн эзэн хүний ялгадасны хамт бэлэг боловсорсон үе гарна. Гадаад орчин унасан үе идэвхтэй хөдөлж өндгийг булт түлхэн гаргана. Завсрын эзэд өндгийг булт түлхэн гаргана. Завсрын эзэд өндгийг тэжээл устай залгиж халдварлана. Гахайн гэдсэнд өндөгнөөс онкосфер гарч цусны болон тунгалгийн судсаар нэвтрэн орж цусны урсгалаар булчингийн холбогч эд, тархи, нүд бусад эрхтэнд очиж 20 хоноход онкосфер үр хөврөлийн толгой, 40-50 хоноход үр хөврөлийн толгойд соруул, хошуу дэгээ бий болно. Гахайн цистицерк 3-6 жил хиртэй амьдрах ба үүний дараа үхэж үрчийн шохойжно. Энэ өвчнөөр гэрийн ба зэрлэг гахай, баавгай, тэмээ, нохой, муур, туулай болно.

Манай орны хувьд цистицеркоз өвчний талаарх судалгааг төдийлөн өргөн хүрээнд хийж байсангүй.

Халдварлалт, тархалт: *Taenia saginata* буюу хүний Тения сагинатус хүний туузан хорхойг анх 1782 онд эрдэмтэн Гоезе нээсэн бөгөөд манай оронд И. Самышкина ба В. Лебедев нар 1931 онд үхрээс авгалдай (цистицерк)- ыг илрүүлсэн байна. Е. Довдон нар 1975 онд үхэр болон хүн амын халдварлалтын судалгааг хийжээ. 2005 онд Т. Эрдэнэсайхан нар 21 аймгийн үхрийн ийлдсэнд ФХЭБУ- ын аргаар шинжилгээг хийхэд 30.8% халдварлалттай байсан бөгөөд халдварлалт хамгийн өндөр Дорнод, Архангай аймгийн үхэр сүрэгт 50% хүртэл халдвартай байгааг тогтоосон байна. Д. Ану (2014) нарын судалгаагаар нийт хүн амын дунд Тианазизийн халдварыг ПГУ-аар шинжлэхэд 60%- ийн халдварлалттай байгааг тогтоожээ.

Ё. Довдонгийн судалгаагаар үхэрт тал хээрийн бүсэд 5-18.6%, хээрийн бүсэд 2.7- 7.8%, говийн бүсэд 0.01-0.4% халдварлалттай байжээ.

Гахайн цистицерк буюу финноз өвчний үүсгэгч нь *Taenia solium* бөгөөд 1758 онд Линниаус нээсэн. Манай оронд У. Чойжоо 1981 онд тэмдэглэж мэдээлсэн ба түүний гаралт, тархалтыг Д. Дияанжав судалжээ. Гахай бүхий аж ахуйд тархсан Д. Дияанжавын судалгаагаар (1986- 1990) онуудад манай орны Төв, Сэлэнгэ, Архангай, Өвөрхангай, Булган, Увс аймгууд ба Дархан, Зүүнхараа, Улаанбаатар хотын гахайн аж ахуй болон үйлдвэр, байгууллагуудын туслах аж ахуйн гахайд нилээд хэмжээгээр тархсаны зэрэгцээ цаашид нэмэгдэх хандлагатай байгааг тэмдэглэсэн байна.

Оношлогоо, эмчилгээ: Амьд гахайд дархлаа судлалын шинжилгээний ХАХУ, иммуноферментийн урвалаар оношилно. Үхсэн ба нядалсан гахайн дотоод эрхтэн ба булчинд цистицеркоз илрүүлж оношилно.

Үүсгэгчийн хэлбэр зүй, биологи: *Taenia saginata* үүсгэгчийн бие нь нэлээд урт байх бөгөөд толгой, хүзүү ба олон тооны (1000 хүртэл) үеүд нь толгойноосоо холдох тусам улам өргөснө. Энэ цистодын онцлог шинж нь дөрвөн хүчирхэг том соруултай ба

хошуундаа эвэр дэгээ байдаггүй онцлогтой. Толгойн өргөн 1.5мм ба соруулын диаметр нь 0.8мм байна. Бэлгийн эрхтнүүд нь барагцаалбал хоёр зуу дахь үеэс эхлэн бүрэлдэнэ. Туузан хорхойн дунд хэсгийн үенүүдэд умай хөгжсөн байдаг. Үений хажуу талаар бэлгийн сувгууд тахирлан цуварч оршино. Сүүлчийн буюу боловсорсон үенүүдийн өргөн нь 4-7 мм ба урт 16-20 мм байх бөгөөд бэлэг боловсорсон үеүүд нь байнга тасарч баасны хамт гадагш хаягдаж байдаг байна. Умай нь үений гол хэсгийг дагасан салаа улмаар жижиг цүлхэн болж хуваагдана. Боловсорсон үений умайд нь 0.03-0.04мм урт болон 0.02- 0.03мм өргөн хэмжээтэй 100- 150 мянган боловсорч гүйцсэн өндөг оршино.

Боловсорч гүйцсэн өндөг нь бөөрөнхийдүү буюу бага зэрэг зууван хэлбэртэй, гадна талын бүрхүүл нь нэг буюу хоёр утаслаг сэртэнтэй бөгөөд тунгалаг, зөөлөн байдаг. Энэ бүрхүүл нь гадаад орчинд түргэн задарна. Иймд боловсорсон өндөг гадаад орчинд гармагц гадна талын бүрхүүлгүй болж дотроо зургаан тооны эвэр дэгээтэй, үр хөврөл агуулсан, 3 давхар бүрхүүлтэй онкосфер болж хувирдаг.

Үхрийн цистицеркозын үүсгэгч нь *Cysticercus bovis* бөгөөд 1866 онд Кобболд нээсэн бөгөөд үхрийн цистицеркийг үхрийн финн гэж мөн нэрлэдэг.

Энэ нь шар будааны үр буюу буурцгийн чинээ (урт нь 5- 9 мм, өргөн нь 3-6 мм)хэмжээтэй, шингэн зүйлээр дүүргэгдсэн уулинхай юм. Уулинхай дотор ирээдүйн туузан хорхойн толгой (сколекс) бээлийний хуруу шиг урваж эргэсэн байдалтай оршино. Толгойг бүрхсэн бүрхүүлийг хагалж микроскопоор харахад дөрвөн соруул нь тод үзэгдэнэ.

Жинхэнэ эзэн нь хүн ба зарим тохиолдолд хүн өөрөө өөрөөсөө халдварлах замаар нэгэн зэрэг жинхэнэ ба завсрын эзэн болдог өвөрмөц онцлогтой. Голлон нарийн гэдсэнд шимэгчилдэг бөгөөд эрүүний зажлуурын булчин, өрцний булчинлаг хэсэг, зарим тохиолдолд буюу үүсгэгчийн эрчимжил их байгаа тохиолдолд цуллагийн зарим эрхтэнд шимэгчилнэ.

Гахайн цистицерк буюу финноз өвчний үүсгэгчийн хэлбэр зүй, гадаад шинж төрх: Бэлгийн хөгжил дөнгөж гүйцсэн хорхойн биеийн урт 60- 80 см хэмжээтэй ба цаашид 2-3 метр хүрнэ. Үхэр, гахайн цистицеркийн үүсгэгчийн хэлбэр зүйн хэмжээс ялгааг 1-р хүснэгтээр харьцуулан үзүүлэв.

Хүснэгт 1. Үүсгэгчийн хэлбэр зүй, гадаад шинж төрх

	<i>Taenia solium</i>	<i>Taenia saginata</i>
Эх бие		
Урт (м)	1-5	4-12
Өргөн (м)	7-10	12-14
Сигмент (тоо)	700 - 1000	1000 – 1500
Толгойн диаметр (мм)	0.6 – 1.0	1.5 – 2.0
Sucker (тоо)	4	4
Дэгээ (ширхэг)	22-32	Байхгүй
Уулинхай		
Хэмжээ (мм)	8-15	6-10
Шингэний агуулама (мл)	<0.5	-
Дэгээ	Байна	Байхгүй
Өндөг		
Хэмжээ (мкм)	26-34	26-34
Дэгээ (ширхэг)	6	6

Хүн нь гахай туузан хорхойн цорын ганц жинхэнэ эзэн бөгөөд хүний хүний өтгөн ялгадасны хамт туузан хорхойн үе хэсэг ба өндөг гадагшлан орчныг бохирдуулна. Завсрын эзэд нь мөн өндгийг тэжээл, устай хамт залгиж халдварлана. Гахайн цистицеркийн амьдрах хугацаа 3-6 жил ба улмаар үхэж үржлийн хорчийж шохойждог. Хүний цистицеркээр халдварласан гахайн махыг дутуу боловсруулж шүүрхийгээр нь идсэнээс болж мөн халдвар дамжина. Хүний гэдсэнд уулинхайн бүрхүүл хайлахад толгой нь эргэж соруул дэгээнүүдээрээ хүний гэдэсний салст бүрхүүлд бэхлэгдэн шимэгчлэн хөгжсөөр 2-3 сарын дараа бэлэг боловсорч гүйцнэ.

Халдвартай хүн бөөлжих үед гэдэсний эсрэг хөдөлгөөний улмаас тэнд байсан *T. solium* нь чөлөөлөгдөн гарч гэдэсний ханаар нэвтрэн цус, тунгалгийн судсанд орж нүүдэллэн эмгэг учруулах онцгой аюултай байдгийг анхаарах нь чухал юм.

ГУРАВ. СУДАЛГААНЫ МАТЕРИАЛ, АРГА ЗҮЙ

Судалгааны дээж цуглуулах, бэлтгэх: Сэлэнгэ аймаг, Төв аймаг, Дархан-Уул аймаг, Улаанбаатар хотын томоохон худалдааны төвүүд болон Налайх дүүрэг, Эмээлт болон Мах импекс мах нядлах газраас судалгааны дээжүүдийг цуглуулав.

ДНХ ялгасан арга зүй: 10%-ийн формалинд хадгалсан эдийн дээжээс ДНХ ялгахдаа дээжээс 10 мм зузаантай (15 мг) хэмжээтэйгээр 2 хэсэг авна. Дээжээ 1,5 мл тубэнд хийгээд 100 мл ксилол мөн 100% этанол нэмээд 12000 эрг/мин хурдаар 10 минут центрифугдэв. Ялгарсан дээд шингэнийг (супернатант) асгаад, тунац (пеллет) дээр Tris-HCL (50nM, pH-8.3) нэмж уусгана. 50 мл протейназ К (20 mg/ml) нэмж сайтар хольсны дараа 37°C- т усан баннанд хонуулав. 95°C-т 10 минут тавина, энэ инкубацийн дараа ДНХ-г фенол хлороформ болон изоамилийн спиртээр цэвэршүүлэв. Ялгасан ДНХ- г хэт цэвэр нэрмэл усанд уусган тасалгааны температурт 30 минут байлгасны дараа 4°C-т хэрэглэх хүртлээ хадгалав.

Taenia spp – ийг илрүүлэх ПГУ -ын шинжилгээ хийсэн арга зүй: Ашиглах урвалын холимгийн нийт хэмжээ нь 10 мкл Premix бэлэн холимог нь (Promega M7502, 2 x 1250µL PCR master mix, 2X, 2 x 1250 мкл Nuclease free Water, Taq DNA Polymerase, dNTPs, MgCl2 and reaction Buffers) агууламж бүхий бэлэн холимгоос 7.5 мкл, праймерууд T1-F 10 µM- ээс 0.5 мкл, T1-R 10 µM ээс 0.5 мкл, 100 ng/µl концентраци бүхий 1.5 мкл ДНХ- г нэмж урвалын холимгийг бэлтгэв. ПГУ-ыг (1-р хүснэгт-д үзүүлсэн) праймеруудыг ашиглан гүйцэтгэв. ПГУ – ыг (Thermo scientificTM, Arktik Thermal cycler) нийт 40 цикл-ээр явуулав.

Урвалыг явуулахдаа дээрх урвалжийг 94°C-н хэмд 3 минут, 94°C-н хэмд 1 минут, 52°C-н хэмд 1 минут, 72°C-н хэмд 1 минут, 72°C-н хэмд 10 минутын горимоор тохируулан явуулав. ПГУ-ийн бүтээгдэхүүнийг (агароз гель) электрофорезийн арга зүйг ашиглан тодорхойлсон. Уг урвалд ашигласан праймерын урт болон бусад мэдээллийг 2-р хүснэгтээр үзүүлээ.

Хүснэгт 2. Судалгаанд ашигласан праймер (Utuk, A. E *et al.* 2012)

Зүйлийн нэр	Ген	Праймер	Нуклеотидын дараалал (5' – 3')	Бүтээгдэхүүн (хос суурь)
		T1-F	ATATTTACTTTAGATCATAAGCGG	
<i>Taenia spp</i>	COX1	T1-R	ACGAGAAAATATATTAGTCATAAA	491 х.с

LAMP-ПГУ-ын арга зүй: *T. solium* болон *T. saginata* –н халдварын үед LAMP-ПГУ-аар оношлох боломжтой ба митохондрын COX1 генийг F3, B3, FIP, BIP (хүснэгт- 4)

праймерууд кодлоно. Митохондрын ДНХ- ийн цитохром оксидаза 1 (cytochrome oxidase 1) өвөрмөц генийг кодлодог дээрх праймеруудыг ашиглан LAMP-ПГУ-г тавилаа. Урвалын дүнд 179 хс, 217 хс, 255 хс (хос суурь) урт бүхий урвалын бүтээгдэхүүн үүснэ.

Хүснэгт 3. LAMP-ПГУ холимог

LAMP урвалж (25 мкл)		
1	40 пмоль (pmol)	FIP; VIP
2	5 пмоль (pmol)	F3; B3
3	20 ммоль (mM)	Tris-HCl (pH 8.8)
4	10 ммоль (mM)	KCl
5	8 ммоль (mM)	MgSO ₄
6	10 ммоль (mM)	(NH ₄) ₂ SO ₄
7	0.1%	Tween 20
8	0.8 моль (M)	Betaine
9	1.4 мкмоль (uM)	dNTP

ЛАМП- ПГУ-ын нөхцөл ба мэдээлэл:

1. 20 мкл ДНХ дээр 25 мкл LAMP-урвалжийг (хүснэгт) нэмэв.
2. *Урвал эхлэх*: дээрх урвалжийг 95°C-д 5 минут халаана, үүний дараа 3 минут мөсөн дээр тавьсан.
3. *Урвалын бүтээгдэхүүн олирох*: Урвалж дээр 8U (нэгж) *Bst* ДНХ полимеразаг нэмж 60°C-д 60 минут (*T. solium*), 60°C-д 60 минут (*T. saginata*) инкубацлана.
4. *Урвал дуусах*: Урвалжийг 80°C 5 минут халаав.
5. *Илрүүлэх*: ПГУ-ийн бүтээгдэхүүнийг электрофорезийн анализ (Урвалын дүнд 179 хс, 217 хс, 255 хос суурь урт бүхий урвалын бүтээгдэхүүн үүснэ.) эсвэл флуоресцентийн будаг (SYBR green) нэмж илрүүллээ.

Урвалын үр дүнг тооцохдоо ПГУ- ын үр дүнд олшруулсан ДНХ- ээс 5мкл, ачаалагч буферээс 1 мкл соруулан авч холиод 1хТАЕ буфер бүхий 1%-н агарын гель дээр электрофорезын (Mupid, Advance Co Ltd.) аппаратын 100 ВТ-д 25 минут гүйлгэнэ. Гелийг этидиум бромидын уусмалд 30 минут будаад, нэрмэл усанд 5 минут угаасны дараа хэт ягаан туяаны гэрэлтүүлэгчээр (AE- 6932, ATTD Co Ltd.) харж урвалын үр дүнд олширсон өвөрмөц толбыг ДНХ- ийн жишиг урттай харьцуулах замаар өвөрмөц толбо илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ- ын үр дүнг тооцов(5).

Хүснэгт 4. LAMP PCR-ын праймерын дарааллууд

Зүйлийн нэр	Праймер		
	Нэр		Дараалал (5' – 3')
<i>T. solium</i> (Cox 1 ген)	F3	Forward primer	CCTATTTTAATTGGAGGTTTGG
	B3	Backward primer	CTACCCCACTTCCTCTTGA
	FIP	Forward inner primer	CAACCATGCACTTAAAGCATTCAA ATTCCATTGATAAGAGGATTACGG
	BIP	Backward inner primer	GGATGTGTTTAGGCGCTGGTACAA CGAAGATGATAAGGTG
<i>T. saginata</i> (Cox 1 ген)	F3	Forward primer	TCGGCAAATATTTAATTCCTTTG
	B3	Backward primer	AAATTCTAGACGCACCCG
	FIP	Forward inner primer	GCCATCGAAGGAATCAATAACCAA TCTGATTTGAATTTACCCCG
	BIP	Backward inner primer	GACTTTTTATCCGCCTTTGTCGTCA ATGCAACGAAAACATCAAGA

ЛАМП- ПГУ- ын арга нь 6 хос праймер ашиглан ДНХ-г олшруулахдаа аннелингийн шатанд олширсон ДНХ-н төгсгөлд гогцоо үүсгэн үргэлжлүүлэн уг генийн хэсгийн олшруулдаараа өвөрмөц, мэдрэг чанар өндөртэй оношилгооны арга.

Бидний сонгон авсан дээрх 2 үүсгэгчдийн генийн өвөрмөц хэсгийг олшруулах праймер нь 2 хос нь тухайн үүсгэгчийн өвөрмөц генийг нийлэгжүүлэх праймер, харин нөгөө 4 хос праймер нь өвөрмөцөөр холбогдон нийлэгжиж буй өвөрмөц генийн төгсгөлд гогцоо үүсгэх праймер юм.

ДӨРӨВ. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ҮР ДҮН

Судалгааны дээж: 2019- 2020 онуудад Орхон, Сэлэнгэ, Улаанбаатар хот орчмын зах, зарим мал нядалгааны буюу мах бэлтгэлийн газруудаас (Налайх, Эмээлт) үхэр, гахайн махны нийт 732 дээжүүдийг цуглуулсан. Түүнээс 622 нь үхрийн дээж, 110 гахайн махны дээжийг цуглуулан уг судалгаанд ашигласан байна. Судалгаанд ашигласан дээж материалын дэлгэрэнгүй мэдээллийг хүснэгт 5, 6-д харуулав.

Хүснэгт 5. Судалгааны дээж материал цуглуулсан цэг

	Үхэр	Гахай
Налайх	71	-
Эмээлт	38	-
Улаанбаатар	16	-
Атгалан Х/Төв	5	81
Меркури ХТ	2	6
Орхон	943	-
Сэлэнгэ	1075	87
Нийт	1075	87

Сэлэнгэ аймгаас цуглуулсан махны бүх дээжийг Улаанбаатар хот руу хүнсний хэрэгцээнд бэлтгэж буй махнаас дээж цуглуулсан бөгөөд гахайн 87 дээжийг Меркури хүнсний худалдааны төвд худалдаалагдаж байсан махны дээжүүдийг цуглуулсан.

Хүснэгт 6. Судалгаанд цуглуулсан дээжийг эрхтэн тус бүрээр ялгасан

	Булчин	Өрц	Зүрх	Элэг	Уушги	Нийт
Үхэр	877	37	116	31	14	1075
Гахай	70	2	7	2	6	87

Дээрх махны дээжүүдийг цуглуулахдаа маханд ерөнхий үзлэг хийж MNS5812:2007 стандартын дагуу дээжид үзлэг хийж санамсаргүй түүврийн аргаар гахай, үхрийн махны дээжийг цуглуулан -20⁰С-т хэрэглэх хүртэл хадгалав.

Цуглуулсан махны дээжнээс ДНХ ялгасан дүн

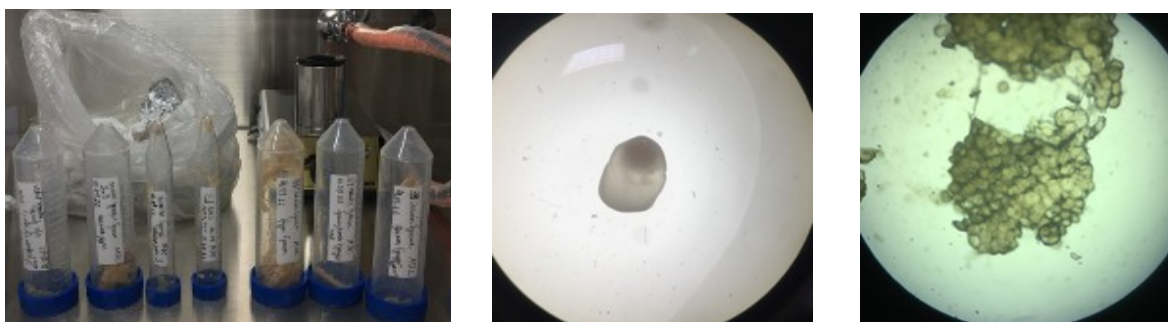
Үхэр, гахайн булчингийн эдийн 1162 дээжийн гадар хальс, судсыг салгасны дараа 1 гр мах зүсч авсан. Дээжийг уур нухуурт хийж жижиглэн дээр нь 3 мл орчим шингэн азот хийж нухаж жижиглэв. Бэлтгэсэн эдийн дээж тус бүрийг эппиндорфын түбэнд хийсэн. 450 мкл хайлуулагч уусмал /0.1M Tris-HCl pH =8.0, 1% SDS, 0.1M NaCl, 10Mm EDTA/, 5 мкл (10мг/мл) протейназа К-н уусмал нэмж 55⁰ С-д дулаан тогтоогуурт 30 минут тутам хуралдуулан хонуулсан. Үүний дараагаар 500 мкл фенол/хлороформ-н холимог нэмж 2 мин холигчид 15'000 эрг/мин хурдаар тасалгааны хэмд 5 минут центрфүгдэн 500 мкл супернантаныг аажим соруулж шинэ түбэнд авсан. 40 мкл 3M NaCl, 1мл хүйтэн 100% этанол нэмэн -20⁰С-д 30 мин тавьсны дараагаар 4⁰С-д 15'000 эрг/мин хурдаар 20 мин хугацаатайгаар центрфүгдсэн. Супернантаныг болгоомжтой, тунацийг хөдөлгөлгүйгээр соруулж хаяан тунац дээр 100мкл 70% этанол нэмж 4⁰С-д 15'000 эрг/мин хурдаар 5 мин хугацаатайгаар центрфүгдэн тасалгааны хэмд агаарт хатаасан. Ялгасан нуклейн хүчлийн концентрац болон цэвэршилтийг спектрометр (Nanodrop 1000) багажаар 260 нм – ыг долгионы уртад шингээлтийг хэмжиж шалгаж цэвэршилт болон концентрацийн хувь шаардлага хангасан ДНХ- ийн дээжийг хэрэглэх хүртэл - 30⁰С хэмд хадгалсан.

Илрүүлэх шинжилгээний дүн (MNS 5812:2007)

Өнөөдөр Монгол улсад баримталж буй “Үхэр, гахайн маханд цистицерк илрүүлэх шинжилгээний арга” нэртэй энэ стандарт нь үхэр, гахайн түүхий маханд паразит судлал, мал эмнэлэг, ариун цэврийн шинжилгээний аргаар буюу микроскопын шинжилгээгээр цистицерк илрүүлэх арга юм.

Иймээс бид шинжилгээнд зориулан санамсаргүй түүврийн аргаар цуглуулсан бүх дээжээ уг MNS- ийн дагуу урьдчилан шинжилсэн болно. Ингэхэд гахайн махны дээжид цистицерк илрээгүй боловч үхрийн дээжид цистийн дээжид авгалдай илрүүлснийг 1-р зургаар үзүүлэв.

Үхрийн цистыг микроскопоор харсан байдал



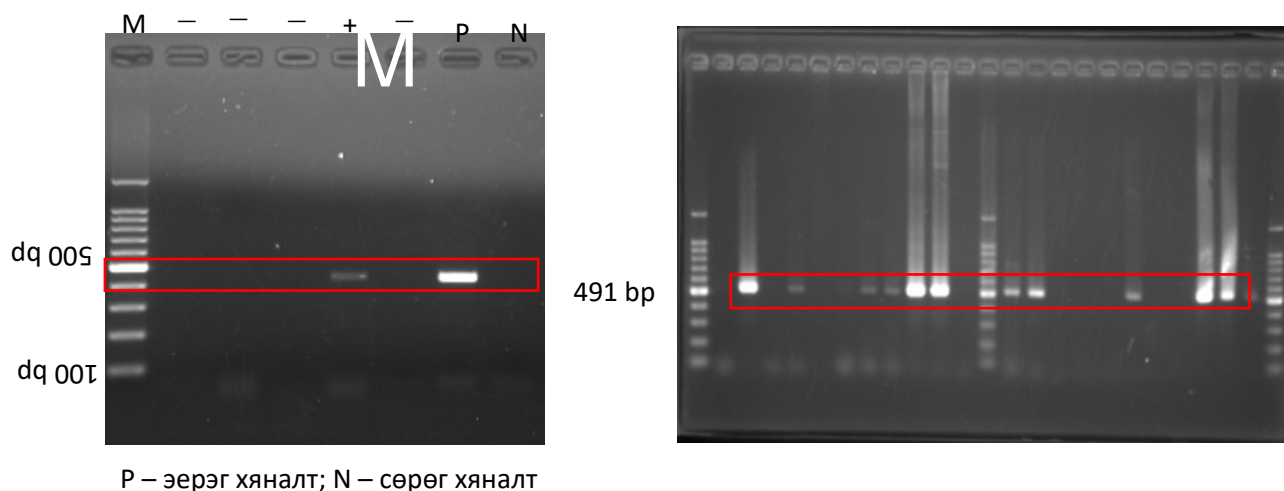
Зураг 1. Цуглуулсан хадгалагдаж буй үхрийн цист В. Цист 10х өсгөлт бүхий микроскопоор харагдах байдал

Хүнсний зориулалтаар хэрэгцээлж буй үхрийн махны зарим дээжинд цист бүхий эд эрхтнүүд илэрсэн бөгөөд эдгээр дээжийг микроскопоор шинжлэн илрүүлэв.

ПГУ-аар *Taenia spp*-г шинжилсэн дүн

Бид үхрийн зүрх, зажлуур, өрц, эрээн булчингийн нийт 622 дээжинд, гахайн 110 булчингийн дээжид цистицеркозын үүсгэгч *Taenia spp* –н COX1 генийн өвөрмөц хэсгийг илрүүлэх энгийн ПГУ –ыг явуулав.

Мөн түүнчлэн үхрийн махнаас олдсон цист дээр ПГУ тавьж, *T. saginata* өвөрмөц хэсгийг илрүүлсэн бөгөөд зураг 2-т үзүүлэв.



Зураг 2. *Taenia spp*–ын өвөрмөц дарааллыг илрүүлэх ПГУ-ын үр дүн

Бид үхрийн зүрх, зажлуур, өрц, гуяны булчингийн дээжид *Taenia saginata*–ын COX1 генийн дараалалд тулгуурласан T1-F, T1-R праймер ашиглаж ПГУ–г нийт 622 дээжид шинжлэхэд 28 дээж эерэг (4.5%) дүнтэй байлаа. Харин гахайн махны 110 дээжид T1-F, T1-R праймер ашиглаж ПГУ-р явуулахад халдвартай дээж илэрсэнгүй (0%). ПГУ-н шинжилгээний дэлгэрэнгүй мэдээллийг 7-р хүснэгтээс харна уу.

Хүснэгт 7. Нийт дээжид *Taenia spp*–ыг илрүүлэх шинжилгээ хийсэн мэдээлэл

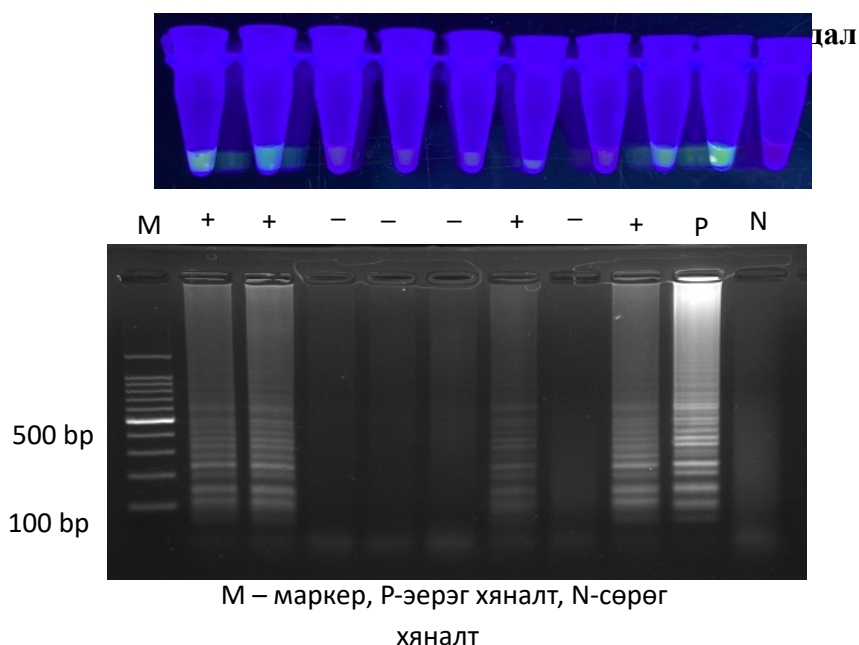
Эх үүсвэр	Махны төрөл	Нийт дээжийн тоо	Эерэг дээжийн тоо	Халдварлалт, %
Үхэр	Зүрх	178	18	10.11
	Зажлуур	98	4	4.08
	Өрц	66	1	1.51
	Гуяны булчин	280	5	1.78
Нийт		622	28	4.5
Гахай	Зүрх	8	-	-

Өрц	7	-	-
Уушги	6	-	-
Элэг	3	-	-
Булчин	84	-	-
Нийт	110	-	-

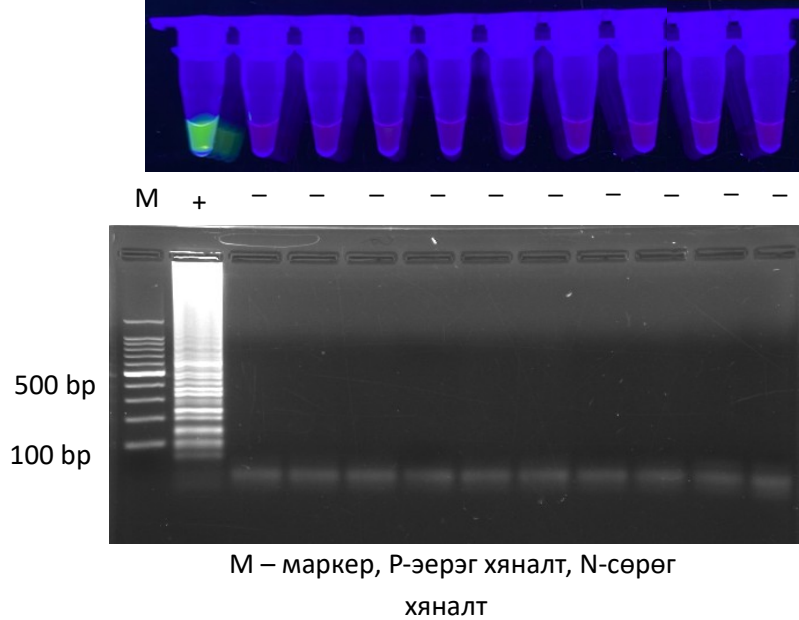
Нийт шинжилсэн үхрийн дээжний 28 нь буюу 4.5 % (n = 622) нь *Taenia saginata* халдвар илэрлээ (хүснэгт 12, зураг 4). Зүрхний булчинд 10.11%, зажлуурын булчинд 4.08%, өрцний булчинд 1.51%, гуяны булчинд 1.78%-ийн халдвар илэрлээ. Харин гахайнд булчингийн дээжид халдвар илэрсэнгүй.

LAMP ПГУ- ын судалгааны дүн

Бид *T. saginata* болон LAMP ПГУ-г лабораторийн нөхцөлд тогтворжуулах зорилгоор эерэг хяналт болон энгийн ПГУ-аар эерэг гарсан дээжүүд дээр LAMP ПГУ-ийг явуулсан. Энгийн ПГУ-аар эерэг гарсан үхрийн 28 дээжийг LAMP ПГУ-аар шинжлэхэд, уг дээжүүд бүгд эерэг дүн үзүүлсэн. Судалгааны үр дүнг зураг 3, 4-өөс харна уу.



Зураг 3. *T. saginata*-ийн ЛАМП- ПГУ- ийн шинжилгээний үр дүнг гель электрофорез болон будагч бодис нэмэн UV гэрэл ашиглан үр дүнг уншив.

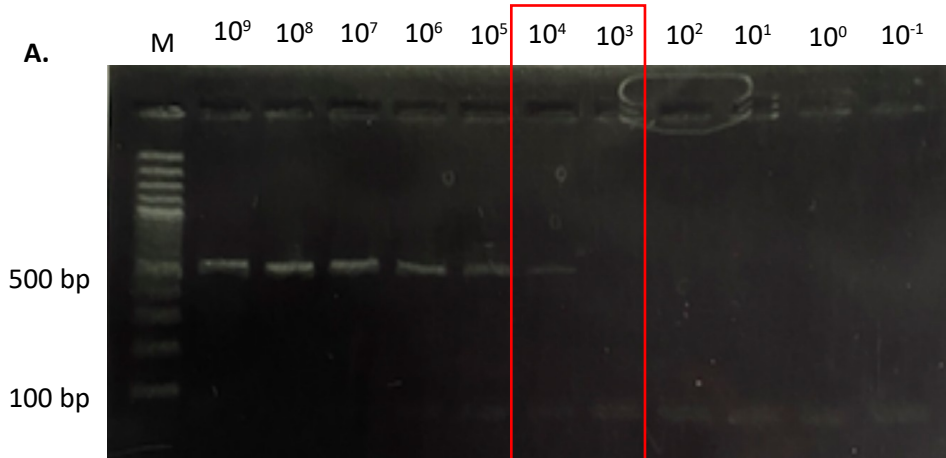


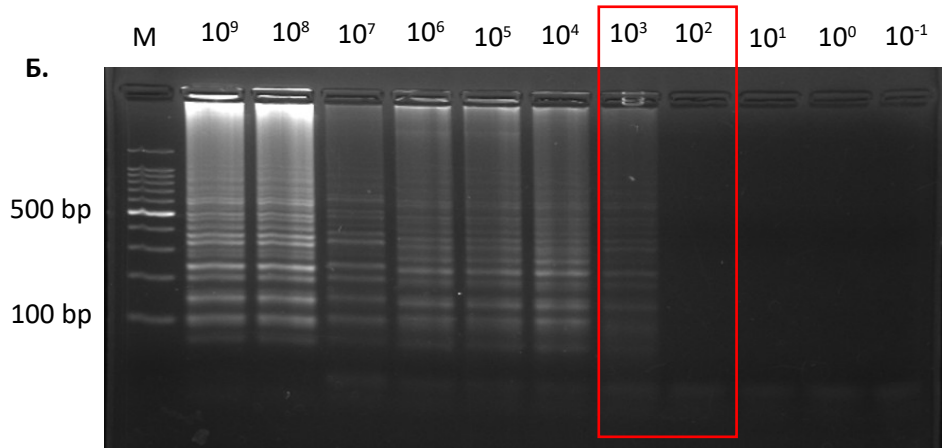
Зураг 4. *T. solium*-ийн ЛАМП- ПГУ- ийн шинжилгээний үр дүнг гель электрофорез болон будагч бодис нэмэн UV гэрэл ашиглан үр дүнг уншив.

Хяналтын эерэг, сөрөг дээжүүдийг ашиглан ЛАМП-ПГУ- ийн нөхцөлийг тогтворжуулав. Энэхүү боловсруулсан арга зүйг Мал эмнэлгийн үйлдвэрлэлийн фармакопейн өгүүлийн төсөл бичиж Мал эмнэлгийн эмийн сорилт баталгаажуулалтын улсын лабораторид шалгуулан баталгаажилт хийлгүүлсэн.

ПГУ болон ЛАМП-ПГУ-ын мэдрэг чанарын харьцуулалт

Бид судалгааны явцад үхрийн булчингийн дээжээс цист илрүүлж (Зураг 1), цистийн ДНХ-г ялгасан. Уг ДНХ-г аравтын шингэрүүлгээр 10^9 -оос 10^{-1} зэрэгт сору number ДНХ болтол шингэлж энгийн ПГУ болон LAMP ПГУ-аар шинжилсэн. Үүний дүнд энгийн ПГУ-аар 10^4 зэрэгт сору number ДНХ байхад *T. saginata*-ийн COX1 генийн хэсэг илэрч байсан бол LAMP ПГУ-аар 10^3 зэрэгт сору number ДНХ байхад *T. saginata* илэрч байв. Энэ нь LAMP ПГУ нь энгийн ПГУ-тай харьцуулахад 10 дахин мэдрэг байгааг харуулж байна. Үр дүнгийн харьцуулалтыг зураг 5-аас харна уу.

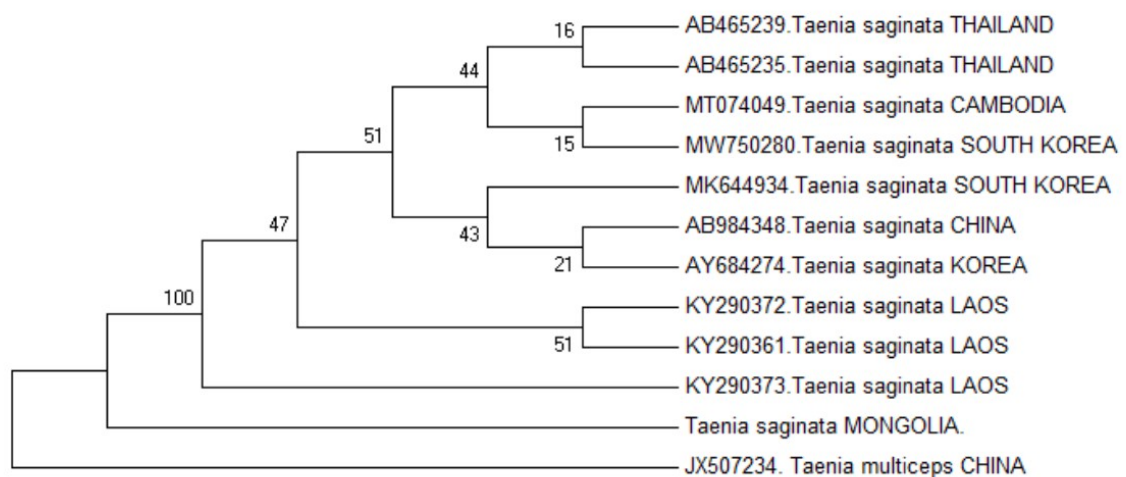




Зураг 5. ПГУ болон ЛАМП-ПГУ-ын мэдрэг чанарын харьцуулалт. **А.** ПГУ-ын үр дүнг гель электрофорез ашиглан уншсан байдал. **Б.** ЛАМП ПГУ үр дүнг гель электрофорез ашиглан уншсан байдал

Удам зүйн мод

Бид үхрийн цистээс ялгасан ДНХ-г ПГУ-аар олшруулж, урвалын бүтээгдэхүүн дээр sequencing хийж, үүн дээрээ тулгуурлан удам зүйн модыг байгууллаа. Үүний дүнд бидний ялгасан *T. saginata* азийн орнууд буюу Лаос, Солонгос, Хятад, Тайланд зэрэг орнуудаас илрүүлсэн *T. saginata*-тай нэг бүлэгт хамаарагдаж байгааг тогтоолоо (зураг 6).



Зураг 6. Үхрийн цистээс ялгасан *T. saginata*-ийн удам зүйн мод

ТАВ. ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

Судлаач S. Abuseir нарын судалгаанд үхрийн махны гулуузд хийсэн ерөнхий үзлэгээр 0,48%-1,08% байсан [8]. Бидний судалгаандаа ашигласан “Үхэр, гахайн махнаас цистоцеркозыг илрүүлэх MNS5812:2007” арга нь шууд үзлэгээр илрүүлэх аргачлал мэдрэг чанар муутайг харуулж байна.

Монгол орны нөхцөлд хүнсний хэрэглээнд нийлүүлэгдэж буй маханд үхрийн цистицеркозын халдварыг *T. saginata* –н үүсгэгчийн генийн өвөрмөц хэсэг болох цитохром оксидаза 1 (cytochrome oxidase 1) өвөрмөц генийг кодлох СОХ-1 генийг ашиглан ПГУ- аар илрүүллээ. М. Наранхажид (2007), Д. Ану (2014) нар судалгаандаа мөн СОХ-1 генийг ашиглан ПГУ- аар шинжилгээ хийж хүн амын дундах халдварыг тодорхойлж байжээ.

Манай оронд анх Т. Үдэв (1961) нар мах комбинатад нядалсан үхрийн 6.8-11.7% нь цистицеркийн халдвартай хэмээн мэдээлсэн бол Ё. Дондов (1975) БНМАУ- д *T. saginata*- ийн халдварлалт $5.5 \pm 0.1\%$ байна.

Бидний судалгааны үр дүнд цистицеркозын халдвар 4.5% байсан нь хүнсэнд бэлтгэгдэж буй маханд халдварлалтын хувь өмнөх судалгаатай ойролцоо байгааг тогтоолоо.

ЗУРГАА. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ДҮГНЭЛТ

1. Үхрийн маханд MNS 5813:2007 стандартын дагуу микроскопын шинжилгээ хийхэд судалгаанд хамрагдсан 298 дээжид цистицеркийн цист илрээгүй. Энэ арга үнэ өртөг хэдий хямд ч ялгаварлан оношлох тал дээр үр дүн муутай юм.
2. Үхрийн махны булчингийн дээжид ПГУ-аар *T. saginata*–н СОХ1 генийн өвөрмөц хэсгийг олшруулах шинжилгээ хийсэн. Үүний дүнд судалгаанд хамрагдсан нийт 622 дээжийн 28 нь буюу 4.5%-н халдварлалттай байв. Мөн түүнчлэн *T. saginata*–н СОХ1 генийн өвөрмөц хэсгийг илрүүлэх LAMP ПГУ лабораторийн нөхцөлд тогтворжуулж, ПГУ-аар эерэг гарсан 28 дээжийг дахин LAMP ПГУ-аар шинжилж, үр дүнг баталгаажуулсан.
3. Гахайн махны булчингийн дээжид ПГУ-аар *T. solium*–н СОХ1 генийн өвөрмөц хэсгийг олшруулах шинжилгээ хийсэн. Үүний дүнд судалгаанд хамрагдсан нийт 110 дээжид *T. solium*–н халдварлалт илрээгүй болно. Мөн түүнчлэн *T. solium*–н СОХ1 генийн өвөрмөц хэсгийг илрүүлэх LAMP ПГУ лабораторийн нөхцөлд тогтворжуулсан.
4. Хүнсэнд хэрэглэгдэж буй үхрийн маханд ПГУ-аар *T. saginata*- ийн цистицеркийг илрүүлсэн нь уг үүсгэгчээр хүн халдварлах, хүн амын дунд халдвар тархах өндөр эрсдэлтэй төдийгүй халдвартай үхрийн мах нь хүнд халдвар тархах эх үүсвэр болж байна.
5. Цаашид үхрийн цистицеркоз буюу финнозыг махны бусад эдийн дээжид илрүүлэх судалгааг хийж, молекул биологийн аргаар хялбар, богино хугацаанд халдварыг илрүүлэх дэвшилтэд аргыг боловсруулан анхан шатны лабораториудад нэвтрүүлэх шаардлагатай байна.

ДОЛОО. НОМ ЗҮЙ

1. Б. Баттөр, Н. Дамбий, Б. Батцэцэг, Монгол орны мал амьтдын даразитын нэгдсэн атлас, 2019, 241-245хуудас
2. Б. Бямбаа. Монгол орны мал, амьтдын паразитлах өвчин, тэдгээрийг оношлох, эмчлэх, сэргийлэх арга. Улаанбаатар-2003. х81-83, 105-106.
3. Д. Мэнджаргал. Монгол орны мал, амьтдын цагаан хорхойтох өвчнүүд, оношлох, эмчлэх, сэргийлэх аргууд. Улаанбаатар – 1999. х102 – 106.
4. Д. Диянжав, “Гахайн шувууны паразиттай тэмцэх арга хэмжээ боловсруулах”. 1990 онд гүйцэтгэсэн эрдэм шинжилгээний ажлын тайлан. УБ 1990, х 120.
5. Т. Эрдэнэсайхан, “Үхрийн цистициркозын тархалтыг судлах”. Магистрын зэрэг горилсон бүтээл. УБ 2005, х 26.
6. Р. Одбилэг. “Шинэ болон дахин сэргэж буй мал, амьтаны өвчний тандалт, тархвар судлал, эрт сэрэмжлүүлэх хариу арга хэмжээний судалгаа”. ШУ технологийн төслийн тайлан. УБ 2013, х 226.
7. Davaasuren A., Recent situation of *Taeniasis* in Mongolia Korean J Parasitol. 2014. 52(2), 211-214.
8. OIE Terrestrial animal health standards commission/ February 2013. The report of the meeting of the OIE electronic AD HOS group on the listing of *Taenia solium*. Annex XXXIII. p363-365.
9. Dirk Geysen et al, Validation of meat inspection results of *Taenia saginata* cysticercosis by PCR-restriction fragment length polymorphism. J. Food Prot. 70, 2007, pp 237-240
10. Agathe Nkouawa et al., Loop-Mediated Isothermal Amplification method for differentiation and rapid detection of *Taenia species*. J Clin Microbiol. 2009, 47(1), 168-174
11. Tsugunori Notomi et al, Loop-mediated isothermal amplification of DNA. Nucleic Acids Research, 2000, 28, No12
12. Nkouaka A et al., Evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method using specimens for differential detection of *Taenia species* from humans. J. Clin. Microbiol. 2010. 48(9), p3350-3352.
13. Pratibha Singhi, Pediatric neurocysticercosis: current challenges and future prospects. *Pediatric Health Med. Therapeutic*, 2016, 7, p5-16.
14. *Taenia solium* taeniasis/cysticercosis diagnostic tools. Report of a stakeholder meeting. WHO and TDR. Geneva, Switzerland. 2015. p2

МОНГОЛ УЛС
БОЛОВСРОЛ, ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ЯАМ
МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ХҮРЭЭЛЭН

“ХҮНСЭЭР ДАМЖИН ХАЛДВАРЛАДАГ ЭМГЭГ ТӨРҮҮЛЭГЧ ИЛРҮҮЛЭХ
ДЭВШИЛТЭТ АРГЫГ НЭВТРҮҮЛЖ, ХҮНСНИЙ АЮУЛГҮЙ БАЙДЛЫН
ЭРСДЭЛИЙГ ҮНЭЛЭХ” НЭРТЭЙ МОНГОЛ УЛС, БНХАУ-ЫН ХАМТАРСАН
СУДАЛГААНЫ ТӨСӨЛ

“Хүнсээр дамжин халдварладаг 2 төрлийн бактерийг (Salmonella, E.coli O157) молекул
биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт (LAMP-PCR) аргыг нэвтрүүлэх” сэдэвт ажлын тайлан

Төслийн удирдагч:
Гүйцэтгэгч:

Б. Баттөр, доктор (Ph.D), профессор
Ж. Энхтуяа, доктор (Ph.D)
Д. Болорцэцэг, магистр (MSc)
Т. Ганцэцэг, магистр (MSc)
Ч. Мөнгөнсар, магистр (MSc)

Улаанбаатар хот

2021 он

1. Сэдвийн үндэслэл

Дэлхий дахинд хоол хүнсээр дамжих халдварт хордлого нийгмийн эрүүл мэндийн тулгамдсан асуудал болоод байна. Сүүлийн 20 жилд олон оронд хүнсний гаралтай өвчин (FBD)-өөс үүдэлтэй хүний эрүүл мэнд, амь нас болон эдийн засгийн хохирол ихээр учрах боллоо [13]. Дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллагын судалгаагаар хүн амын өвчлөлийн 80 гаруй хувь нь хоол хүнснээс үүдэлтэй болохыг нь нотолсон байна. Иймээс хүнсний аюулгүй байдал гэдэг нь тухайн улсын Үндэсний аюулгүй байдалд нөлөөлдөг чухал хүчин зүйлсийн нэг мөн юм. Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз (FBZ) өвчний үүсгэгчийг байгаль дээр мал, сээр нуруутан амьтан тээж хадгалдаг бөгөөд хүнсээр дамжин хүнд халдвар дамжиж байна [6]. Хүнсээр дамжин халдварладаг өвчин нь сүүлийн жилүүдэд дэлхий нийтийн өвчлөл, нас баралтын томоохон шалтгаан болж байгаа ба улс орнуудад эдгээр өвчний гаралт ихсэж нийгмийн эрүүл мэндийн болон эдийн засгийн тулгамдсан асуудал болж байна [13]. Улс орнуудад гарч буй хүнсээр дамжин халдварладаг өвчний гаралтууд нь ихэвчлэн мах, махан бүтээгдэхүүн, шувууны мах, өндөг, өндгөн бүтээгдэхүүний хэрэглээтэй холбоотойгоор гарсан байна [7]. Дэлхий даяар хүнсний гаралтай өвчний тархалтыг тооцоход төвөгтэй байдаг, харин CDC 2011-ийн мэдээллээр АНУ-д 6 сая хүн тутмын 1 (буюу 48 сая хүн) өвчилж, 128000 хүн эмнэлэгт хэвтэж эмчлүүлж, 3000 хүн нас бардаг гэж тооцоолжээ. Эдгээр тохиолдлын ихэнх хувийг бохирдсон хоол хүнс, ундны усанд хамааруулж болохоор байна. Түүнээс гадна, суулгалт нь нярай, бага насны хүүхдүүдэд хоол тэжээлийн дутагдлын гол шалтгаан болдог [13]. ОХУ-ын эрүүл ахуйч-малын эмч, ДЭМБ-ын хянан магадлах комиссын гишүүн А. В. Куликовский (1990) “Хүнсний экологийн цэвэр бүтээгдэхүүн нь хүн төрөлхтөнд үзүүлэх ач холбогдлоороо зэвсэглэлээр хөөцөлдөхөөс илүү бөгөөд бүтээгдэхүүний чанарын асуудал тодорхой цаг хугацааны дараа тоо хэмжээнээсээ илүү чухал болно” хэмээн тодорхойлсон байна [5].

Монголд хүнсээр дамжин халдварлах өвчний талаар НЭМҮТ-ийн 2008 онд хийсэн судалгаагаар, судалгаанд хамрагдсан хүн амын 21.4% буюу дунджаар 5 хүн тутмын 1 нь жилдээ ходоод гэдэсний цочмог хямралаар өвчилдөг, өвчилсөн 5 хүн тутмын 2 нь эмчид ханддаг гэсэн судалгаа байна [2]. Ихэнх тохиолдолд хүнсээр дамжин халдварладаг өвчний өвчлөл дутуу бүртгэгдэх, оношилгооны асуудал хүндрэлтэй, өвчилсөн хүн нь тэр бүр эмнэлгийн байгууллагад хандахгүй байх зэргээс хүнсээр дамжин халдварладаг өвчний бодит өвчлөлийг тооцох, хүн амын эрүүл мэндэд үзүүлж буй үр нөлөөг тооцоход хүндрэлтэй байгаа хэвээр байна.

Мал, амьтны гаралтай хүнсний бүтээгдэхүүний үйлдвэр эрхлэх уламжлалт тогтолцоо, үйлдвэрлэлийн бус аргаар мах бэлтгэж буй өнөөгийн байдал нь хүнсний үйлдвэрлэлийн хяналтын тогтолцоо төгөлдөршөөгүй, мах бэлтгэлийн үйлдвэрүүдийн техник, технологи, чанарын хяналтын тогтолцоо харилцан адилгүй байгаа нь Монгол улсад хүнсний гаралтай халдварт өвчин тэр дундаа мал, амьтнаас хүнд дамжин халдварладаг зооноз өвчний халдвар дамжих эрсдэлийг нэмэгдүүлж байна. Үүнд: (1) Үйлдвэрийн бус аргаар мах бэлтгэл давамгайлсан байдалтай байгаа, (2) Үйлдвэрлэлийн аргаар мах бэлтгэж буй жижиг мал нядалгааны цэгт халдвар, хамгаалал хүйтэн хэлхээний тогтолцоо байхгүй, (3) Мах, махан бүтээгдэхүүнд хийгдэж буй мал эмнэлгийн ариун цэврийн хяналт шинжилгээ муу, (4) Мах, махан бүтээгдэхүүн

боловсруулах үйлдвэрүүдийн махны хяналтыг хийдэг мал эмнэлэг ариун цэврийн лабораториудад хүнсээр дамжин халддаг өвчний оношилгоо, шинжилгээ бүрэн хийгддэггүй, орчин үеийн оношилгооны дэвшилтэт арга нэвтрээгүй зэрэг болно.

Эдгээрээс үзэхэд хүнсээр дамждаг халдварыг бүртгэх, мэдээлэх тогтолцоог боловсронгуй болгох орчин үеийн хугацаа хэмнэсэн молекул биологийн дэвшилтэт оношилгоо, шинжилгээний аргуудыг нэвтрүүлэх шаардлага зүй ёсоор тавигдаж, хүн амыг тэдгээрийн эрсдэлээс сэргийлэх шаардлагатай байна.

Манай улсад хоолны хордлого, хордлогот халдварын бүртгэл мэдээлэл цэгцтэй бус зөвхөн олныг хамарсан хордлого, хордлогот халдваруудыг оношлон мэдээлж байдгаас уг өвчний тухай мэдээлэл дутмаг байдаг. Тиймээс хүн амыг баталгаат хүнсээр хангах, эрсдэлд суурилсан хяналтыг оновчтой болгох, хүнсээр дамжсан халдвар, хордлого үүсгэгчдийг найдвартай түргэн илрүүлэх, тэдгээрийг бүртгэх, мэдээлэх тогтолцоотой болох, эмчилгээ, урьдчилан сэргийлэлтийн арга техникийг зөв сонгох нь чухал асуудал болсоор байна [1].

Хүн, малд дамжин халдварладаг зооноз өвчний болон хүнсний гаралтай хордлогот өвчний тандалт, судалгааг хийх нь махны хяналтын тогтолцоог оновчтой, боловсронгуй болгох, олон улсын стандарт шаардлагад нийцүүлэх суурь үндэс болно.

Хүнсээр дамжин халдах зооноз үүсгэгчдийг хурдан хугацаанд найдвартай аргаар илрүүлэх шаардлага хүн, мал эмнэлэг, мэргэжлийн хяналтын лабораториудад өдөр тутам тулгарч байна. Өнөөдөр манай хил залгаа ОХУ болон БНХАУ Монгол улсаас мал, мах импортлох сонирхолтой байгаагаар илэрхийлж байгаа, манай улс ч мах экспортлох сонирхолтой байгаа бөгөөд гагцхүү Монгол улс малын гоц халдварт өвчнөөр тайван бус байгаа, манай улсын мах боловсруулах үйлдвэрүүдийн малын маханд хийж буй мал эмнэлэг ариун цэврийн хяналт шинжилгээ сул, оношилгооны дэвшилтэт арга нэвтрээгүй, хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз өвчний шинжилгээ, эрсдэлийн үнэлгээ судалгаа хийгдээгүй байгаа нь махны экспортод хориг тавигдах бас нэг шалтгаан болж байна.

Ийнхүү хүнсний халдвар хордлогыг хурдан хугацаанд оношлох, оношилгооны технологийг боловсронгуй болгох, Монгол орны лабораторийн сорилт, шинжилгээний практикт орчин үеийн аргыг гадаадын судлаачидтай хамтран туршин сорьж нэвтрүүлэхэд энэ төслийн үндэслэл, шаардлага оршино.

3. Судлагдсан байдал

Escherichia coli-ийг анх 1886 онд Австрийн эмч Т. Эшери хүний ялгадаснаас илрүүлж *Escherichia Coli* гэж нэрлэсэн. Колийн савханцар нь хор ялгаруулан гэдэсний халдварт өвчний шалтгаан болдгийг 1894 онд Г.Н.Габричевский туршилтаар нотолсон байна. Эрдэмтэн А. Адам 1922 онд биохимийн аргаар гэдэсний савханцрын шинж чанарыг гүнзгийрүүлэн судалж, эмгэг төрүүлэгч хүрээнүүдийг ялгасан. *E. coli* O157:H7 серотипийг enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) гэж нэрлэдэг [12]. *E. coli* нь хүн ба халуун цуст амьтны гэдсэнд байнга оршдог, гадаад орчинд их тархсан, их биеийн, шилбүүрийн, капсулын антигений 700 гаруй хэвшилтэй. Сүүлийн үед *E. coli*-ийг түүний хор, хоруу чанар, ийлдэсний хэвшлээр нь ETEC, EPEC, EHEC (VTEC гэх ч бий), EAEC, EIEC, EDEC гэсэн үндсэн 6 хэв шинжид ангилж байна. Эдгээрээс EHEC илүү хор ялгаруулах, эс эмгэгшүүлэх чанартай [17]. *E. coli* O157: H7-ийн халдварын

улмаас дэлхийн өнцөг булан бүрээс хүнсний хордлогын дэгдэлт үүсэж, улам нэмэгдэж байгааг мэдээлж байна [10]. Үхэр бол *E. coli* O157:H7-ийн хамгийн том эх үүсвэр бөгөөд бохирдсон үхрийн мах, сүү нь хүний халдварын хамгийн түгээмэл эх үүсвэр болдог [7]. *E. coli* O157:H7 нь махан бүтээгдэхүүний гаралтай [16], ялангуяа үхрийн махан хүнсээр дамжин халдварладаг [9] *E. coli* O157:H7-ийн дэгдэлтийн 52% нь үхрийн махан бүтээгдэхүүнтэй холбоотой байсан [118]. ЕНЕС-д багтах *E. coli* O157:H7 анх 1975 онд бүртгэгдсэн, түүнээс 7 жилийн дараа 1982 онд гэдэсний халдварын болон бөөрний дутагдлын гол шалтгаан болж, хэд хэдэн удаа хүчтэй эрсдэл авчирсан хамгийн хоруу чанартай хэвшил юм [15]. АНУ-д ойролцоогоор жил бүр 70.0 мянга орчим тохиолдол бүртгэгдэн, 2000 хүн-эмнэлэгт хэвтэн, 60 хүн хүндрэлийн улмаас нас барсан байдаг [15, 19]. 1996 онд Японд *E. Coli*-ийн O157:H7-р үүсгэгдсэн дэгдэлт гарч, 6300 сурагч өвчлөн, 2 сурагч нас барсан нь уг эмгэг төрөгчөөр үүсгэгдсэн хамгийн том дэгдэлт болж бүртгэгдсэн байдаг.

Манай оронд судалгаанд хамрагдсан хүнсний захуудын байрны нянгийн бохирдолт; 1м³ агаарт 136132 үүний 9.9% нь мөөгөнцөр, 0.9% гемолитик, 0.3% гэдэсний савханцрын бүлгийн нян, вандан ширээний 1см²-д 296586, хутганы 1см²-д 35978, хувин савны 1см²-д 1126123, худалдагчийн гарын 1см² талбайд 133395 нян илэрч байна [1].

Эрүүл мэндийн яамны тайлангийн дүнгээс үзэхэд нийт халдварт өвчний 30 гаруй хувийг хоол хүнс, орчны бохирдолт, ариун цэврийн шаардлага хангаагүйтэй холбоотой гэдэсний халдварт өвчин, хордлогот халдвар эзэлж байна [4]. Лабораторийн клиник шинжилгээгээр 2015 онд ходоод гэдэсний замын өвчлөлийн 1850 тохиолдлын 17.8% нь мах, махан бүтээгдэхүүнээр дамжсан халдвар байсан байна [3].

3. Судалгааны ажлын зорилго, зорилт

Хүнсний халдварт хордлого үүсгэгч *Salmonella*, *E coli* 0157 – г молекул биологийн дэвшилтэт аргаар маханд илрүүлэх зорилгын хүрээнд дараах зорилтуудыг тавив.

1. Малын махны дээж цуглуулж, нян судлалын шинжилгээ хийх
2. Нян судлалын шинжилгээгээр илрүүлсэн *Salmonella* spp, *E.coli* O157-г ПГУ-аар баталгаажуулав
3. Маханд *Salmonella* spp, *E coli* 0157 илрүүлэх LAMP ПГУ-ын аргыг (Махны худалдааны төв- Хүчит шонхор зах, “Мах маркет” ХХКомпани, хүнсний зах худалдааны төвүүдэд) нэвтрүүлэх

4. Судалгааны материал ба арга зүй

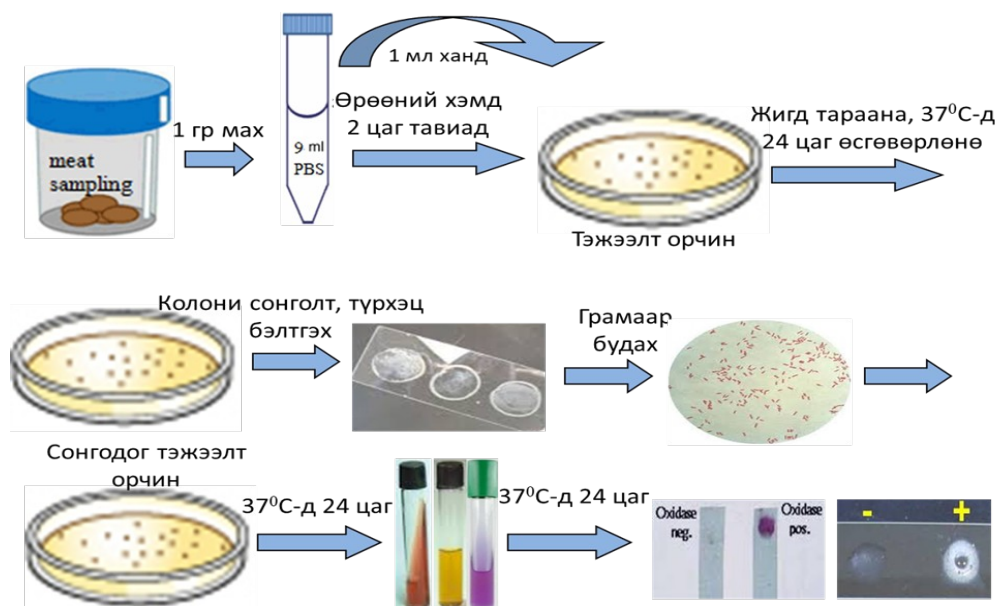
4.1 Материал бэлтгэх.

2019-2020 онуудад Улаанбаатар хот орчмын зах нядалгааны буюу мах бэлтгэлийн газруудаас (Налайх, Эмээлт) Сэлэнгэ аймгаас малын махны дээжийг цуглуулж судалгааг Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн хүнсний аюулгүй байдал эрүүл ахуйн лабораторид (ДНХ ялгах, ПГУ-ын олшруулалт, ЛАМП ПГУ-ын олшруулалт) хийж гүйцэтгэсэн

4.2.1 Судалгааны арга

Нянгийн төрөл, зүйл тодорхойлохдоо нян судлалын шинжилгээний доорхи схемийн дагуу шинжилсэн:

Схем 1



Бактериас ДНХ ялгах

Энгийн буцалгах аргаар болон бактерийн ДНХ ялгах кит (InstaGene matrix /Bio-Rad Laboratories AG, Glattbrugg, Switzerland/; QIAamp DNA Mini Kit /Qiagen, Germany/) ашиглан, үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу хэрэглэнэ.

Буцалгах арга. Бактерийн ДНХ-ийг энгийн буцалгах аргаар ялгахдаа түүний геномын ДНХ-ийг ашиглах зорилгоор ялгана.

Хүснэгт 1

Шөлөн өсгөвөрөөс	Хатуу тэжээлт орчинд ургасан колониос
<ul style="list-style-type: none"> - Бактерийн суспензээс 100 - 200 мкл-ийг эппендорфийн цодон (1.5 мкл)-д хийж; - Центрифугийн 8000 эрг/минутад 5 минут хурилдуулна; - Супернатантыг асгаж, тунадас дээр 100 мкл давхар нэрмэл ус нэмнэ; 	<ul style="list-style-type: none"> - Эппендорфийн цодон (1.5 мкл)-д 100 - 200 мкл давхар нэрмэл усанд; - Бактерийн колониос 1 дэгээг хийж, цийдмэг бэлтгээд; - Вортексоор сайн холино; - Центрифугийн 8000 эрг/минутад 5 минут хурилдуулна; - Супернатантыг асгаж, тунадас дээр 100 мкл давхар нэрмэл ус нэмнэ;
<ul style="list-style-type: none"> - Буцалж буй усанд 10 - 15 минут буцалгана; - Центрифугийн 10000 эрг/минутад 10 минут хурилдуулна; - Супернатантыг ариун цодонд авна. 	

Махнаас шууд ДНХ ялгах бол фенол-хлороформын аргаар ялгана. Ялгасан ДНХ-ийн гарц ба цэвэршилтийг спектофотометр ашиглан 260/280 нм-ийн гэрлийн долгионы уртад хэмжинэ.

Фенол-хлороформын аргаар эдээс ДНХ ялгах (PCI)

1. Шингэн азотоор нухаж бэлтгэсэн дээжээс ойролцоогоор 50 мг-ыг 1.5 мл-ын тьюбэнд хэмжиж хийсэн.
2. Лизис буфер (0.1M Tris-HCl pH=8, 1% SDS, 0.1M NaCl, 10mM EDTA)-ээс 450 мкл-ийг нэмсэн.
3. 5 мкл (10мкг/мл) протейназа К-н уусмал нэмсэн.
 - a. 55°C-д усан баннд 2 цаг тавина. 30 минут тутамд сэгсэрсэн.
4. 500 мкл фенол/хлороформын холимог нэмсэн.
 - a. 2 минут вортексдож холив.
 - b. 15000 эрг/мин хурдаар тасалгааны хэмд 5 минут центрифугдсэн.
 - c. 500 мкл дээд шингэнийг аажим соруулж шинэ тьюбэнд авав.
5. 500 мкл фенол/хлороформын холимог нэмсэн.
 - a. 2 минут вортексдож холив.
 - b. 500 мкл дээд шингэнийг аажим соруулж шинэ тьюбэнд авав.
6. 40 мкл 3M натри хлор нэмсэн.
7. 1 мл хүйтэн 100% этанол нэмэв.
 - a. -20°C-д 30 минут тавьсан. Шаардлагатай үед хугацааг сунгаж болно.
 - b. 4°C-д 15000 эрг/мин хурдаар 20 минут центрифугдсэн.
8. Дээд шингэнийг болгоомжтой, тунадсыг хөдөлгөлгүйгээр соруулж хаяв. Тунадас дээр 100 мкл 70%-ийн этанол нэмсэн.
 - a. 4°C-д 15000 эрг/мин хурдаар 5 минут центрифугдсэн.
9. Ялгаж авсан ДНХ-ийг 20 мкл TE (10mM Tris-HCl pH=8, 1mM EDTA) буфер уусмалд уусгав.
10. ДНХ-ийн гарц болон цэвэршилтийг спектрофотометрийн 260/280 долгионы уртад хэмжиж гаргасан.

Aj Roboscreen компаний китээр ДНХ ялгах

1. Эдээс 30-50 мг-ыг хэмжиж аван, 1.5 мл-ын тьюбэнд хийсэн.
2. 400 мкл TLS буфер болон 25 мкл (10мкг/мл) протейназа К-н уусмал нэмэв.
 - a. 5 секунд вортексдож хольсон.
 - b. 50°C-д усан баннд 10-15 минут тавив.
 - c. 12000 эрг/мин хурдаар тасалгааны хэмд 1 минут центрифугдсэн.
 - d. Дээд шингэнийг шинэ тьюбэнд авсан.
3. 400 мкл TBS буфер нэмсэн.
 - a. 15 секунд вортексдож холив.
 - b. Спинфильтертэй тьюбэнд хийгээд, 12000 эрг/мин хурдаар тасалгааны хэмд 2 минут центрифугдсэн.
4. 500 мкл HS буфер нэмээд, 12000 эрг/мин хурдаар тасалгааны хэмд 1 минут центрифугдэв.

5. 750 мкл MS буфер нэмээд, 12000 эрг/мин хурдаар тасалгааны хэмд 1 минут центрифугдэв.
6. Спинфильтертэй тьюбыг дангаар нь 12000 эрг/мин хурдаар тасалгааны хэмд 2 минут центрифугдэж, үлдэгдэл спиртийг зайлуулсан.
7. Шууд фильтр рүү 200 мкл уусгагч буфер хийж, цуглуулагч тьюбэнд байрлуулан, тасалгааны хэмд 1 минут байлгаад, 8000 эрг/мин хурдаар тасалгааны хэмд 1 минут центрифугдсэн.
8. ДНХ-ийн гарц болон цэвэршилтийг спектрофотометрийн 260/280 долгионы уртад хэмжиж гаргасан.

4.2.2 Полимеразын гинжин урвал ПГУ

Нийт ялгасан төст өсгөврүүдээс *Salmonella*, *Ecoli 0157* –г илрүүлэхийн тулд скрининг ПГУ–г тавьж, эерэг илэрсэн дээжүүдийг түүж урвалыг дахин тавьж баталгаажуулсан.

***Salmonella*, *Ecoli 0157* – ийг илрүүлэх ПГУ -ын шинжилгээ**

ПГУ-аар *Salmonella*, *Ecoli 0157* -ийн (*sal.spp*, ЕАЕ Seon de Red et al.1999) генийг илрүүлэхийн тулд доорхи праймеруудыг ашиглав. Урвалын холимог: буфер (10 x Ex buffer), MgCl₂, dNTP (10 μM), праймер бүрээс (5 μM), Ex Taq полимеразыг (μ/μl), H₂O бэлтгэж ПГУ-ыг (Thermo scientificTM, Arktik Thermal cycler) явуулна. ПГУ-ийн бүтээгдэхүүнийг 1.5% агароз гель бэлтгэж электрофорезийн арга зүйг ашиглан үр дүнг тодорхойлсон.

Хүснэгт 2

Стандарт ПГУ-ын хувьд ашигласан праймер

Өвчин үүсгэгч	Праймерын дараалал	Ген	ПГУ-ын бүтээгдэхүүний хэмжээ	Эх сурвалж
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	GAGCGAAATAATTTATATATGTG TGATGATGGCAATTCAGTAT	<i>Stx1</i> , <i>stx2</i>	518	Toma et al. 2003
<i>Salmonella spp.</i>	ACAGTGCTCGTTTACGACCTGAAT AGACGACTGGTACTGATCGATAAT	<i>invA</i>	284	Rahn et al. 1992

4.2.3 ГЕЛЬ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ

Электрофорезийн аппаратыг угсарч, хүчдэл үүсгэгчид залган асаахад бэлдээд гель цутгах хавтан болон самыг угсарна. Самны шүд гелиний суурийн доод гадаргуугаас 2–3 мм өндөр байхаар самыг байрлуулна. Гель электрофорез гүйлгэх ДНХ ийн уртын хэмжээнээс хамааруулан агарозын гелийн концентрацийг тодорхойлсон. 1x TAE 100 мл – т 1.5 гр агароз хийнэ гэж тооцсон. Гелиний нүхэнд дээж дусаахдаа ачааллагч буфер (loading buffer) 2 мкл, ПГУ –ын бүтээгдэхүүнээс 5 мкл, маркер ДНХ 5 мкл– ыг тус тус дусааж электрофорезийн аппаратны тагийг тавиад хүчдэл үүсгэгчийг залгасны дараа гүйдэл гүйж буй эсэхийг шалгасан. Дээжийг гелийн

уртын 2/3–тэй тэнцэх хэмжээнд хүртэл гүйлгээд хүчдэлийг салгах ба гелийг авч этидийн бромидын (0.5 мкг/мл) уусмалд хийн, 25–30 мин сэгсэрч будав. Будсан гелийг нэрсэн усаар 5–10 минут угааж хэт ягаан туяаны үүсгүүр дээр тавьж үр дүнг шалгав.

4.2.4 LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) ПГУ

Salmonella –н *invA* генийн өвөрмөц хэсгийг (Rahn et al. 1992) илрүүлэхэд гадна праймер 2, гогцооны праймер 2, дотно праймер 2 нийт 3 хос праймерийг,

E coli 0157 *rfbE* генийн өвөрмөц хэсгийг (Xihong Zhao et al. 2013) илрүүлэхэд гадна праймер 2, гогцооны праймер 1, дотно праймер 2 нийт 3 хос праймерийг тус тус ашиглав.

ПГУ–ын холимгийн нийт эзлэхүүнийг 25 мкл хэмжээтэй байхаар бэлдэнэ. Үүнд: мастер холимогийг 20 ммоль Tris–HCl (pH 8.8), 10 ммоль KCl, 10 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0.1% Tween-20, 0.8 ммоль ПГУ буфер (2X - 1.6M betaine), 8 ммоль MgSO₄, 2.5 ммоль dNTP, 1 ммоль 8 U/μl Bst полимераза энзим, 40 пмоль *invA*FIP болон *invA*BIP, 20 пмоль *invA*LF1 болон *invA*LB1, 5 пмоль *invA*F3 болон *invA*B3 праймер мөн олшруулах ДНХ-г нэмж бэлдэнэ. Урвалын нөхцөл нь *salmonella*-н давтагдсан *invA* генийн дарааллын өвөрмөц хэсгийг олшруулахад 61°C–д 60 мин дулаан тогтоогуурт (Loopamp LP 100) олшруулна.

Хүснэгт 3

LAMP ПГУ-ын хувьд ашигласан праймер				
Өвчин үүсгэгч	Праймерын дараалал	Ген	ПГУ-ын бүтээгд эхүүний хэмжээ	Эх сурвал ж
<i>Escherichia coli</i> O157:	F3 (5'-3') TCCCTTTAGGGATATATATA CCTT B3 (5'-3') ATAACTGATATTTTCATTTTCG TGAT FIP (F1c+F2) TTCCCAGCCACTAAGTA TTGCAATA- TGAAAAAAACCCATAGCT CGA BIP (B1c+B2) TGCATCGGCCTTCTTTTT TGG-AACGTATCATGCAATAAGATCA LF (5'-3') ATAATGATATATGAATAGAAT GCCG	<i>wzy</i>	206	Fei Wang et al. 2012
<i>Salmonella spp.</i>	F3 (5'-3') GAACGTGTCGCGGAAGTC B3 (5'-3') CGGCAATAGCGTCACCTT FIP(F1c+F2;5'-3') GCG CGG CAT CCG CAT CAA TA-T CTG GAT GGT ATG	<i>invA</i>	284	Rahn et al. 1992

CCC GG
 BIP(B1c+B2;5'-3') GCG AAC GGC GAA
 GCG TAC TG-T CGC ACC GTC AAA
 GGA AC
 LF(5'-3') TCA AAT CGG CAT CAA TAC
 TCA TCT G
 LB (5'-3') AAA GGG AAA GCC AGC
 TTT ACG

4.3. LAMP ПГУ- ын шинжилгээний үр дүнг унших:

1. LAMP бүтээгдэхүүнийг 2% агарозын гельд гүйлгэн этидиум бромидоор будаж транслюминаторт харж урвалын үр дүнг уншиж болно.

2. LAMP –ын дайвар бүтээгдэхүүнүүд буюу пирофосфатын ($P_2O_7^{4-}$) ионууд нь магнийн (Mg^{2+}) ионтой урвалд орж магнийн пирофосфатын цагаан тунадасыг үүсгэдэг (Mori et al., 2001). Магнийн пирофосфат үүсэхэд уусмал булингартай болдог ба энгийн нүдээр үр дүнг унших боломжтой. (Зураг №6: Б)

3. SYBR Green I dye ашиглах: Урвал дууссаны дараа LAMP –ын бүтээгдэхүүн SYBR Green нэмж хийхэд урвалын өнгө өөрчлөгдөж ногоон болно. Үр дүнг транслюминаторт харж дүгнэлт хийнэ.

Тав. ҮР ДҮН

5.1 Судалгааны дээж

2019-2020 онуудад Улаанбаатар хот орчмын мах бэлтгэлийн газруудаас мөн Сэлэнгэ аймгаас малын 1007 дээж нийт цуглуулсан. Судалгаанд ашигласан дээж материалыг хүснэгт д харуулав.

Хүснэгт 4

	Булчин	Өрц	Зүрх	Элэг	Уушги	Нийт
Үхэр	677	37	16	31	14	775
Адуу	28	23	37	5	9	102
Хонь	15	7	2	7	24	55
Ямаа	-	24	17	25	5	71
Сарлаг	1	1	1	1	-	4
Нийт						1007

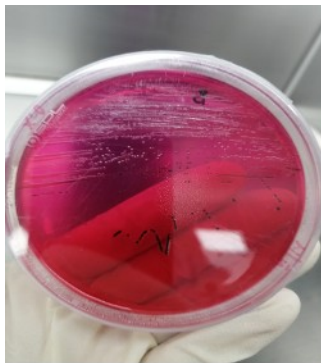
5.2 нян судлалын шинжилгээний дүн

Нян судлалын шинжилгээгээр *Salmonella*-н төст өсгөвөр адуу, хонины булчингаас 4, *Ecoli 0157* –н төст өсгөвөр сарлагаас 1 илэрсэн болно.

Зураг 1

Зураг 2

Зураг 3



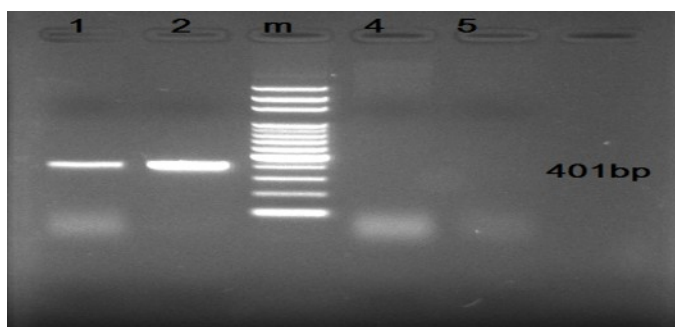
XLD агар дээр хар төвтөй колони ургасан байна



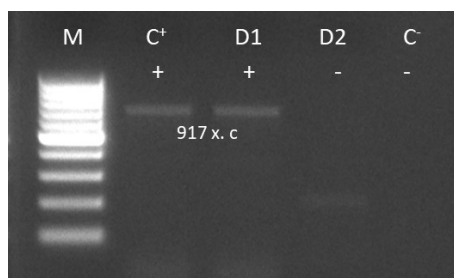
5.3 *Salmonella* –ыг ПГУ болон ЛАМП ПГУ -аар шинжилсэн үр дүн

ПГУ-аар *Salmonella* spp - ын (*invA*) генийн өвөрмөц дарааллыг илрүүлэх шинжилгээг 3, *Ecoli 0157* (Eae) генийн өвөрмөц дарааллыг илрүүлэх шинжилгээг нийт 1, дээжинд хийсэн. Мөн тэдгээр дээжээс концентраци болон цэвэршилтийг харгалзан үзэж 2 дээжийг сонгон ЛАМП ПГУ –ын шинжилгээг хийсэн.

Зураг 4

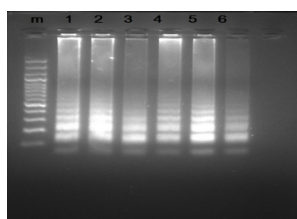


M – marker , 1,2 – Salmonella spp,

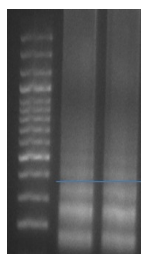


Зураг 2. *E. coli* – Eae генийн олшруулалт
 M – маркер (100 x. c); C⁺ – эерэг хяналт;
 D1, D2 – дээж; C – сөрөг хяналт;

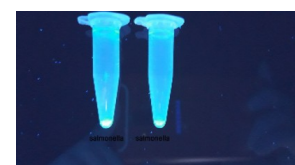
Зураг 5



Salmonella spp дээжийг
 1 – 65 хэм
 2 – 64 хэм
 3 – 63 хэм
 4 – 62 хэм
 5 – 61 хэм
 6 – 60 хэмийн нөхцөлд 1 цаг
 урвал явуулахад 61 хэмд илүү тод
 олширлоо.



1-р зураг. Salmonella spp илрүүлэх LAMP ПГУ-ын үр дүн. 100 х.н хэмжээт маркер ДНХ дээж Salmonella Бактерийн ДНХ, 284 х.н хэмжээтэй бүтээгдэхүүний тооцоо дотуур чанар урвасар тэмдэглэж.



SYBR Green-ээр харахад

Хүснэгт 5

Стандарт ПГУ болон Ламп ПГУ-ын өвөрмөц болон мэдрэг чанар (*Salmonella* spp)

Арга	Lamp PCR			
	Salmonel Эерэг дээж n =	Salmonella Сөрөг дээж n = 20	Мэдрэг чанар (%)	Өвөрмөц чанар (%)
Стандарт ПГУ	2	10	100	100
Ламп ПГУ	2	10	100	100

Бидний судалгаагаар Стандарт ПГУ-тай харьцуулахад Ламп ПГУ маань мэдрэг чанарын хувьд 100 хувь, өвөрмөц чанарын хувьд 100 хувь байна.

Нян илрүүлэх аргуудыг харьцуулан судлахад орчин үеийн дэвшилтэт Ламп ПГУ аргыг хэрэглээнд нэвтрүүлэх хэрэгцээ шаардлага байна гэж үзэж байна. (Хүснэгт 6)

Хүснэгт 6

Арга	Стандарт ПГУ	Ламп ПГУ	Нян судлал
Цаг	120-180 мин	60 мин	24-72 цаг
Багаж төхөөрөмж	ПГУ машин, Электрофорезын аппарат	Ламп ПГУ машин эсвэл усан ванн болон дулаан баригч	Электрон жин, термостат, автомат пипетка, автоклав, Микроскоп,
Шалгах арга	Электрофорез	Энгийн нүдээр болон уншигч, электрофорез	Микроскоп
Сул тал	өртөг өндөр	Хэрэглээ байхгүй	Цаг хугацаа шаардсан
Давуу тал	Генийн түвшинд ашигладаг	Генийн түвшинд ашигладаг, мэдрэг чанар өндөр	Эсийн түвшинд ашигладаг сонгодог арга
Хэрэглээ	Сорилтын аль ч түвшний лаборатори, генийн түвшний оношилгоо	Сорилтын аль ч түвшний лаборатори, генийн түвшний оношилгоо	Сорилтын аль ч түвшний лаборатори болон микробиологийн,
Өртөг	20000	Дундаж тогтооно	10000

Зургаа. ДҮГНЭЛТ

1. Бидний судалгааны үр дүнд холимог болон нөхцөлийн дагуу *Salmonella* spp. илрүүлэх LAMP ПГУ-ыг явуулахад 284 х.н хэмжээтэй бүтээгдэхүүн үүссэн. Урвал тогтворжсон.
2. *E.coli 0157* үүсгэгчийг илрүүлэх LAMP ПГУ-ын хувьд 585 х.н бүтээгдэхүүн үүсэх ёстой боловч одоогоор илрээгүй. Гогцоо үүсгэгч праймер дахин захиалж, урвалын нөхцөлийг тогтворжуулан, дээжинд турших шаардлагатай.

Долоо. Хэвлэлийн жагсаалт

1. МЭХ-ийн ШУТ-ийн төслийн тайлан. 2010. Махны чанар, аюулгүй байдлын зарим судалгаа. *Улсын бүтгэлийн дугаар: 201000143.*
2. НЭМХ-ийн мэдээллийн эмхтгэл. 2008. “Хүнс импортлолт ба эрүүл мэнд” ЭМЯ. ДЭМБ. 2-8
3. ХӨСҮТ-ийн мэдээ. 2013. “Баянзүрх дүүрэгт бүртгэгдсэн гэдэсний халдварын голомтын тайлан. “<http://www.nccd.gov.mn/>.”
4. ХӨСҮТ-ийн мэдээ. 2014. “Төв аймгийн Сэргэлэн сумын нутагт баригдаж байгаа Олон улсын нисэх онгоцны буудлын байгууламжинд ажиллагсдын дунд гэдэсний савханцраар бүртгэгдсэн хоолны хордлогот гэдэсний халдварын голомтын тайлан. “<http://www.nccd.gov.mn/>.”
5. Куликовский А.В. 1992. Некоторые ветеринарные и гигиенические аспекты производства экологически чистых мясных продуктов. *М-1992 стр 8-9*
6. Anonymous. 1999. Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedstuffs, food and man in the European Union in 1997. *Part 1. Document No. VI/8495/ 98-Rev. 2 of the European Commission, Community Reference Laboratory on the Epidemiology of Zoonoses, BgVV, Berlin, Germany*
7. Armstrong, G.L., et al. 1996. Emerging foodborne pathogens: E. coli O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiol. Rev.*, 18: 29-51.
8. Cindy Shuan Ju The, Kek Heng Chua, Yvonne Ai Lian Lim, Soo Ching Lee, and Kwai Lin Thomg. 2014. Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Detection of Generic and Verocytotoxin-Producing Escherichia coli among Indigenous Individuals in Malaysia. *Hindawi Publishing Corporation. The Scientific World Journal. Article ID 457839, 6 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/457839>.*

9. Doyle, M.P. 1991. Escherichia coli O157:H7 and its significance in foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 12: 289-302.
 10. Jo, M.Y., et al. 2004. Prevalence and characteristics of Escherichia coli O157 from major food animals in Korea. *Int. J. Food Microbiol.*, 95: 41-49.
 11. Jodi Woan-Fei Law^{1,2}, Nurul-Syakima Ab Mutalib³, Kok-Gan Chan⁴ and Learn-Han Lee^{1*}. 2015. Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations. *Frontiers in Microbiology. Review article published: doi: 10.3389/fmicb.2014.00770.*
 12. Oksuz, O., Arici, M., Kurultay, S. and Gumus, T. 2004. Incidence of Escherichia coli O157:H7 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. *Food Control.*, 15: 453-456.
 13. Oliver, S.P., Jayarao, B.M., and Almeida, R.A. 2005. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathog. Dis.* 2, 115–129. doi:10.1089/fpd.
 14. Qianru Yang, Kelly J. Domesle, and Beilei Ge. 2018. Loop-Mediated Isothermal Amplification for Salmonella Detection in Food and Feed: Current Applications and Future Directions. *Foodborne pathogens and disease. Volume 15, Number 6. Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089/fpd.2018.2445.*
 15. Scholz HC, Amold I, Mary H, Rosler U, Lensel A, "Improvement of an inv-A based PCR for the specific detection of Salmonella typhimurium in organs of pigs" Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2001. Sep - Oct; 114(9-10) 401-3 Enter ez Pub Med
 16. Sivapalasingam, S., et al. 2004. Fresh produce: a growing cause of outbreaks of foodborne illness in the United States, 1973 through 1997. *J. Food Prot.* 67: 2342-2353.
 17. Todar, K. "[Pathogenic E. coli](#)". *Online Textbook of Bacteriology. University of Wisconsin–Madison Department of Bacteriology. Retrieved 2007-11-30.*
 18. WHO. 1997. Prevention and control of enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC) infections. *Report of a WHO consultation, Geneva, Switzerland, 28-April-1-May.*
 19. World Health Organization 1998 WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications 15th Report 1995-99 Institute of Vet Med Berlin
 20. Xihong Zhao^{1,2,3}, Chii-Wann Lin³, Jun Wang², and Deog Hwan Oh^{2*}. 2014. Advances in Rapid Detection Methods for Foodborne Pathogens. *J. Microbiol. Biotechnol.* 24(3), 297–312 <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1310.10013>.
- Tsugunori Notomi,^{1,3,a} Hiroto Okayama,² Harumi Masubuchi,¹ Toshihiro Yonekawa,¹ Keiko Watanabe,¹ Nobuyuki Amino,³ and Tetsu Hase¹ . 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res*:2000 Jun 15,28 (12):E6

МОНГОЛ УЛС
ХҮНС, ХӨДӨӨ АЖ АХУЙ ХӨНГӨН ҮЙЛДВЭРИЙН ЯАМ
БОЛОВСРОЛ СОЁЛ ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ЯАМ
МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ХҮРЭЭЛЭН

ТӨСЛИЙН НЭР: “ХҮНСЭЭР ДАМЖИН ХАЛДВАРЛАДАГ ЭМГЭГ ТӨРҮҮЛЭГЧ
ИЛРҮҮЛЭХ ДЭВШИЛТЭТ АРГЫГ НЭВТРҮҮЛЖ, ХҮНСНИЙ АЮУЛГҮЙ
БАЙДЛЫН ЭРСДЭЛИЙГ ҮНЭЛЭХ” МОНГОЛ-ХЯТАД УЛСЫН ХАМТАРСАН
СУДАЛГААНЫ ТӨСӨЛ

Сэдэв: “*E.coli* илрүүлэх түргэвчилсэн оношлуурын загвар боловсруулах нь” дэд сэдэвт ажлын
тайлан

Төслийн удирдагч :
Гүйцэтгэгч:

ЭШТА, Доктор , профессор Б. Баттөр
Ж. Энхтуяа, доктор (Ph.D)
Д. Болорцэцэг, магистр (MSc)
Т. Ганцэцэг, магистр (MSc)
Ч. Мөнгөнсар, магистр (MSc)

Улаанбаатар
2021 он

АЖИЛ ГҮЙЦЭТГЭХ ХУГАЦАА: 2018 -2020 он

АЖИЛ ГҮЙЦЭТГЭХ ГАЗАР: МЭХ-ийн Хүнсний аюулгүй байдал, эрүүл ахуйн лаборатори

Нэг. СЭДВИЙН ҮНДЭСЛЭЛ

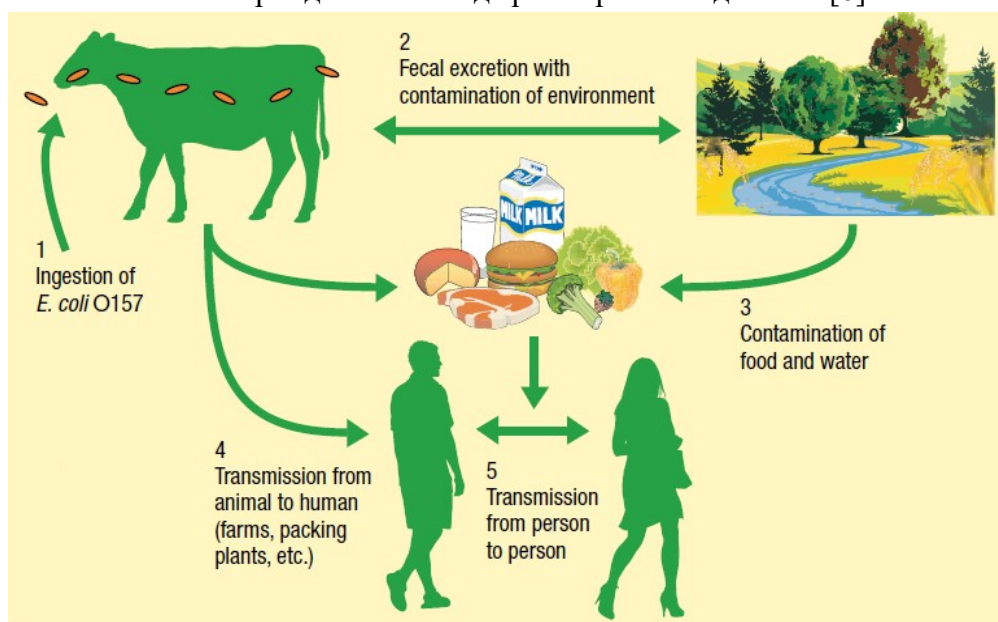
Escherichia coli нь бүлээн цуст амьтдын гэдсэнд тохиолдоно. *Enterobacteriaceae* овгийн, Грам сөрөг, аэроб, факультатив анаэроб, 1.1-1.5 х 2.0-6.0 μм хэмжээтэй савханцар бактер юм. Хүнд гэдэсний эмгэг үүсгэгч *E.coli* омгуудыг тархварын (эпидемиологийн) байдал, фенотип, өвчин үүсгэх эмнэлзүйн онцлог, вирулент хүчин зүйл гэсэн хэв шинжээр зургаа ангилдаг. Үүнээс хамгийн түгээмэл тохиолддог *E.coli* O157 хэвшил нь *enterohemorrhagic E.coli* (ЕНЕС) ангилалд багтах, Шига хор ялгаруулагч бөгөөд бохирдсон хоол хүнсээр дамжин халдварладаг. Голдуу үхрийн ялгадсаар дамжин орчинд тарах ба хүнд халдах эрсдэлтэй. [1]

Монгол улсын хэмжээнд 2008 онд хийсэн ‘хүнсээр дамжин халдварлалт судалгаагаар, жилд нийт хамрагдсан хүний 21,4% нь ходоод гэдэсний цочмог хямралаар өвчилдөг ба 5 хүний 2 нь л эмчид ханддаг судалгаа байна [2]. Жил бүр дэлхий дахинд хоол хүнсээр дамжин халдвар авсан тохиолдол 600 сая бүртгэгддэг ба 420000 хүн нас бардаг ба үүнээс 30% нь 5-аас доош насны хүүхэд байдаг байна [3].

Иймээс эмгэг төрүүлэгчийг бохирдсон хоол хүнс, усанд илрүүлэх, хяналт тавих, халдварыг цааш тараахгүй байх нөхцөлийг хангах нь нэн чухал юм.

Хоёр. СУДЛАГДСАН БАЙДАЛ

Эмгэг төрүүлэгч *E. coli* омгууд нь хүрээлэн буй орчинд, тухайлбал, өөрт тэжээл болох хэсэгт наалдах замаар амьдрах чадвартай. *E. coli* O157:H7 мал амьтны баас, хөрс, ус, мөн ургамлын үрэнд байх ба зарим навчит ногоон дотор хэсэгт тохиолддог. Хоолны гинжинд бохирдсон хөрснөөр борооны болон усалгааны усаар тархдаг [4]. *E. coli* рН 4,5-9 хооронд амьдрах чадвартай [5]. Хөрсний дулаан 0.4°C-15.6°C үед хамгийн багадаа 5-6 сар байсан ба энэ хооронд малын биед эргэн орох магадлалтай [6].



Зураг 1. *E. coli* тархах, халдварлах гинж. 1. *E. coli* O157:H7 тэжээл болон усаар тээгчид орох. 2. Тээгчийн ялгадас орчныг бохирдуулах. 3. Орчноос хоол хүнс, ус бохирдох. 4. Тээгчээс хүнд халдварлах; хоол хүнс бохирдох. 5. Хүнээс хүнд халдварлах [7].

E. coli нь хүрээлэн буй орчны хөрс, ус бохирдсон эсэхийг хэмжих нэг индикатор болдог [8]. Эмгэг төрүүлэгч организмыг хурдан бөгөөд энгийн аргаар илрүүлэх нь эрүүл хоол хүнсийг хадгалах, урьдчилан сэргийлэх арга хэмжээг хөнгөвчилдөг [9]. Түүнийг илрүүлэх уламжлалт аргууд болох биохимийн шинж чанарт тулгуурласан аргууд нь молекул болон иммунологийн шинж дээр тулгуурласан аргуудыг бодвол цаг их зарцуулагдахаас гадна илрүүлэх хязгаар бага байдаг (Хүснэгт 1) [10].

Хүснэгт 1. *Escherichia coli* O157:H7 илрүүлэх аргууд

Арга	Илрүүлэх хугацаа	Илрүүлэх хязгаар	Эшлэл авсан:
Тэжээлт орчин тарих	1-7 хоног	КҮН цөөн	Silk, Donnelly (1997)
Биохимийн тест	1-с хэдэн өдөр	КҮН цөөн	Adams, Moss (1995)
ELISA	12-48 цаг	10-100 КҮН/мл	Gehring et al. (1999)

PCR	2-24 цаг	10^2 - 10^5 КҮН/мл	Uyttendaele et al. (1999)
Multiplex PCR	24 цаг	1-2 КҮН/мл	Hu et al. (1999)
RT-PCR	6-12 цаг	10^7 КҮН/мл	Yaron, Matthews (2002)
Laser-induced fluorescence	2-4 цаг	Нэг организм	Johnson et al. (2001)
Fiber optic biosensor	30 минут	5.2×10^2 КҮН/мл	Demarco, Lim (2002)
SPR biosensor	1 цаг	5×10^7 КҮН/мл	Fratamico et al. (1997)
Microarrays	1 цаг орчим	55 КҮН/мл	Call et al. (2001)
Integrated systems (lab-on-a-chip)	16-45 минут	10^2 - 10^4 организм/мл	Belgrader et al. (1998)

Эмгэг төрүүлэгчдийг тодорхойлох зорилгоор ПГУ-ын аргуудыг боловсруулсан байдаг. ПГУ нь янз бүрийн хоол хүнснээс нянгийн эмгэг төрүүлэгч генийг илрүүлэхэд үр дүнтэй, хурдан, найдвартай, мэдрэг арга юм [11]. Тодорхойлоход төвөгтэй удаан өсөлттэй болон өсгөвөрлөгддөггүй нянг илрүүлэхэд үр дүнтэй байдаг. Сул тал нь электрофорез дээр тулгуурладаг аргууд (mPCR, RAPD, RELP, AFLP, PFGE) цаг их зарцуулдаг, ажиллагаатай. RELP системд бактерийг зүйлийн түвшинд тодорхойлдог, үүнд цэвэр эсийн өсгөвөр ашиглана. RAPD гол сул тал нь олшруулсан бүтээгдэхүүн дахин ашиглаж болохоор ч праймер болон ДНХ-ийн концентрацийн агууламж стандартчлалын дагуу байх хэрэгтэй. AFLP шинжилгээнд геномийн ДНХ-г бүхэлд нь энзимээр хэрчин, олшруулалт хийдэг ба энзим дутуу хэрчсэн тохиолдолд буруу үр дүн гардаг. PFGE нь хоолны хордлого үүсгэдэг организмыг тодорхойлоход ихээр ашиглагддаг үр дүнтэй арга юм. Хэдийгээр энэ арга нь найдвартай, үнэн зөв гардаг боловч дээж бэлтгэл, шинжилгээ хийхэд хугацаа их шаарддагаас удаан байдаг [10].

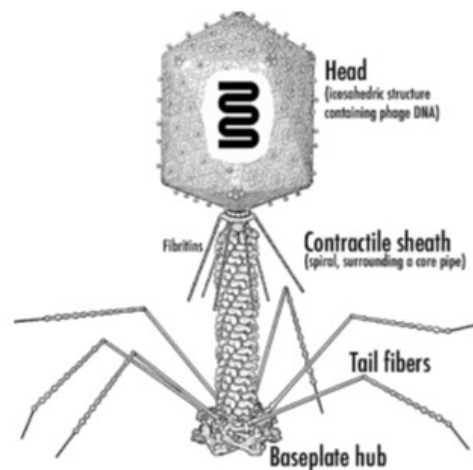
Real-time PCR хурдан, гель электрофорез хийх шаардлагагүй учир ажлыг хялбаршуулдаг. Microarray төхөөрөмжийн хувьд үнэтэй, хэрэглэгдэх хэмжээ бага, мөн хэрэгтэй мэдээллээ боловсруулахын тулд мэдлэг, туршлага шаардлагатай. Биомэдрэгчийн судалгаа 20 гаруй жил хийгдэж байгаа боловч худалдаанд цөөн төрөл байдаг. Үүний гол шалтгаан нь биологийн бүрэлдэхүүн хэсгийн нарийн шинж чанар, аппаратын жижигрүүлэлт, хөгжүүлэлт, цахилгааны бүрэлдэхүүн хэсгүүд зэрэг хүндрэлүүд багтана. Дээр дурдсан аргууд нь маш мэдрэг, нарийвчлал өндөр боловч хүнсний дээжээс эмгэг төрүүлэгчийн ДНХ ялгах стандарт аргыг баримтлан, болгоомжтой ажиллах шаардлагатай. Үхсэн нян дээр ажиллах учраас энэ нь олширч, худал-ээрэг хариу өгдөг. [10].

Бактериофаг буюу фаг нь бактерийн вирус бөгөөд эзэн эсэд өвөрмөцөөр таньж холбогдоно. *E.coli* -н фагуудаг үзүүлэв (Хүснэгт 2). Фагийг эмчилгээ, вакцин зөөвөрлөгч, ген оруулах, биофилм болон бактерийн өсөлтийн хяналт, халдваргүйжүүлэлт, хүнсний бүтээгдэхүүний био-хадгалалт болон аюулгүй байдал зэрэгт өргөн хэрэглэдэг [16]. Анх 1900-д оны эхээр хүний гэдэсний хөндийгөөс нээсэн [12] бол анх Scarpino 1930-д онд гэдэсний эмгэг төрүүлэгч бактер байгааг мэдэх зорилгоор фагийг модел болгон ашиглаж байжээ. Уг ажилд фаг болон бохирдлын түвшний шууд харилцан холбоог тэмдэглэсэн байна [13].

Хүснэгт 2. Гол колифаг индикатор бүлгүүд [13]

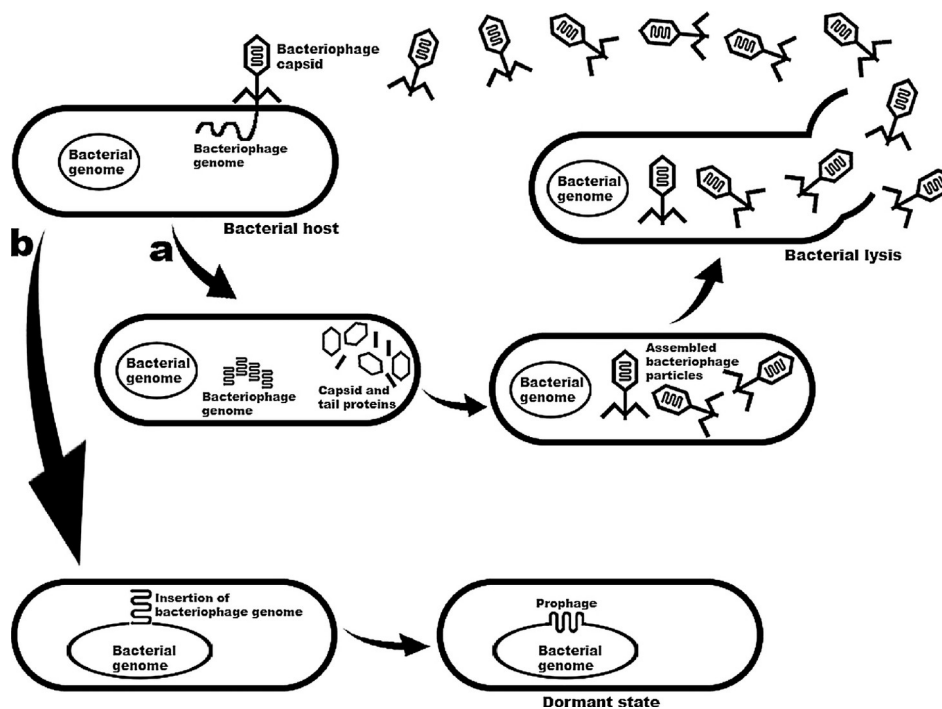
Омог	Нуклейн хүчил	Сүүлний хэлбэр	Довтлох байрлал	Фагийн жишээ	Хэмжээ (nm)
<i>Myoviridae</i>	dsDNA	Агшилттай	эсийн хана	T2, T4, T6 (тэгш тоот)	95 x 65
<i>Siphoviridae</i>	dsDNA	урт, агшилтгүй	эсийн хана	λ, T5	54
<i>Podoviridae</i>	dsDNA	богино, агшилтгүй	эсийн хана	T7, T3	47
<i>Microviridae</i>	ssDNA	том капсомеүүд	эсийн хана	φX174, S13	30
<i>Leviviridae</i>	ssDNA	жижиг капсомерүүд	F + pili	Бүлэг 1: MS-2, f2, R-17, JP501 Бүлэг 2: GA, DS, TH1, BZ13 Бүлэг 3: Qβ, VK, ST, TW18 Бүлэг 4: SP, F1, TW19, TW28	20-30
<i>Inoviridae</i>	ssDNA	толгой хэсэггүй, уян филамент	F + pili	SJ2, fd, AF-2, M13	810 x 6

Зураг 2. Фагийн ДНХ икосаэдр/icosahedral хэлбэрийн капсидаар хамгаалагдан оршино. Энэ нь агшилттай бүрээс бүхий хүзүү хэсэгтэй холбогдох ба энэ хэсэг нь эзэн эсэд халдварлахад онцгой үүрэг гүйцэтгэнэ. Хүзүү хэсгийн төгсгөлд зургаан талт ёзоор хэсэг байна. Уг ёзоор хэсэг утаслаг сүүл хэсгийн хөдөлгөөнийг зохицуулах ба сүүл нь эзэн эсийг таньж мэдэрдэг байна. Богино утаслаг сүүл ёзоор хэсгийн дороос эзэн эсийн гадаргууд холбогдоно. Гол хоолойг тойрсон агшилттай бүрээс нэвтрэн ДНХ-г эзэн эс рүү оруулна [14].



Зураг 2. Фагийн бүтцийн бүдүүвч

Фагийн халдварлах процесс эзэн эсийн гадаргууд диффузын болон Брауны хөдөлгөөнөөр холбогдохоос эхэлнэ. Холбогдсоны дараа тодорхой хэсгээрээ нэвчин, генетик материалаа эзэн эсэд оруулна. Фагийн төрлөөс хамааран халдварлалт хоёр янз байна. Үүнд литик буюу эсийг задалдаг (а), лизогенны буюу бактерийн геномд мэдээллээ оруулан хуваагдах хугацаанд хамт дамждаг (b) гэж хоёр хуваадаг Зураг 3 [15].



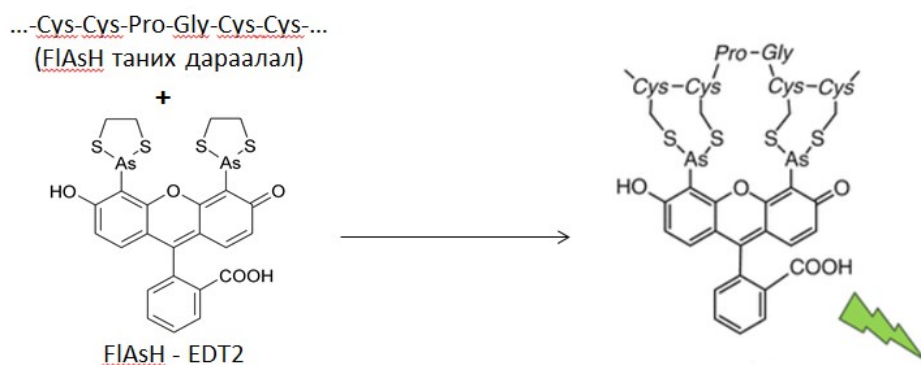
Зураг 3. Фагийн литик (а) болон лизоген (b) мөчлөг [15]

Хүнсний био-хяналт, хадгалалт, аюулгүй байдалд лизоген фаг зохимжгүй, литик фаг зохимжтой байдаг. Фагийг олшруулан ашиглах нь хүнсэнд эмгэг төрүүлэгч илрүүлэх хамгийн энгийн, эзэн эсийг таних өвөрмөц шинж дээр тулгуурласан арга юм. Дээжид фаг нэмснээр, бай эстэй холбогдон, литик фаг эсэд олширсноор эзэн эсийг халдварлуулна. ПГУ болон бусад аргыг бодвол фагаар илрүүлэлт нь зөвхөн амьд эсийг таньдаг гол давуу талтай. Мөн эзэн эс фагийн нөлөөгөөр задрахдаа аденилат киназа нийлэгжүүлэх ба уг нэгдэл катализад орсноор АТФ үүсгэнэ. Үүний дүнд биолуминесценц урвал явагдана. Гэрлийн үүсгэлт болон бактерийн тоо пропорциональ байна. Уг аргаар Kannan (2010) нар *E. coli* O157:H7 -г машиндсан үхрийн маханд амжилттай хурдан илрүүлсэн байна [16].

Био-илрүүлэлтийн өөр нэг арга бол биолуминесценц ген агуулсан фагаар илрүүлэх бөгөөд амьд эзэн эсэд орж экспресслэгдсэнээр гэрэл үүсгэдэг. Бригати, Рипп нарын pp01 фаг ашиглан *E. coli* O157:H7 илрүүлэх туршилт амжилттай болсон байна [19].

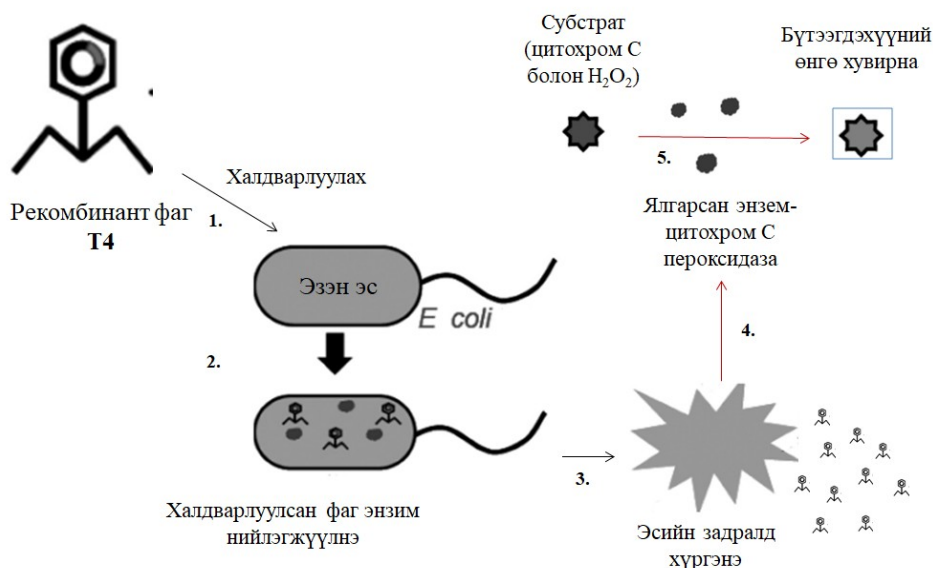
Тэмдэгтэй /prelabeled/ рекомбинант фаг эзэн эсэд холбогдон ‘дохио’ өгөх илрүүлэлтийн арга мөн ашиглагддаг ба фагийг люминесценц энзимээр шошгололох арга /Фазим арга/-д тулгуурлана. Willford (2011) нарын эрдэмтэд дээжээс арчдас аван иммуномагнет бүхий ЕНЕС -д зориулсан шариктай 8 цаг инкубацлан илрүүлсэн [16].

Уг аргазүйд орсон тетрацистейнээр шошголох арга нь жижиг флуоресцеин нэгдэл (fluorescein arsenical hairpin binder буюу FAsH), богино пептид дараалал (Cys-Cys-Хах-Хах-Cys-Cys) холбогдон гэрэл үүсгэх зарчимд тулгуурлана. Үүнд: Хах -‘Х’ дурын амин хүчил. FAsH - этанедитиол (EDT) комплекс флуоресцент бус байх ба уг амин хүчлийн дараалалтай холбогдсоноор флуоресцент гэрэл үүсгэдэг байна [20] (Зураг 4). Уг арга дээр тулгуурлан Бу, Сонг нар рекомбинант pp01 фаг ашиглан *E. coli* O157-г ус, алимны шүүсэд илрүүлжээ [21].



Зураг 4. Тетрацистеин дараалал болон FIAsh-EDT2 холбогдон гэрэл үүсгэх

Дээрх аргуудад люминесценц хэмжих багаж шаардлагатай. Хоанг зэрэг эрдэмтэд *Saccharomyces cerevisiae* -ийн цитохром ц пероксидаза генийг литик Т4, PP01 фагт оруулан, халдварлалтын дүнд орчны өнгө өөрчлөгдөх аргыг боловсруулжээ. Өнгийг өнгө хэмжигч багаж /спектрофотометр/ -ийн тусламжтай илрүүлэх боломжтой юм [8] [17].



Зураг 5. Рекombинант Т4 фагаар *E. coli* илрүүлэх аргын бүдүүвч. Рекombинант фаг Т4-ийг эзэн эс *E. coli*-д халдварлуулахад фаг эзэн эсэд орж олшрон, энзим цитохром ц пероксидаза нийлэгжүүлэх ба эзэн эс задрахад энзим орчинд ялгарна. Уг орчинд субстрат болох цитохром ц болон устөрөгчийн гидроксидын нэмэхэд орчны өнгө хувирна [8].

Гурав. АЖЛЫН ЗОРИЛГО

Энэхүү судалгааны ажлын зорилго нь гэдэсний савханцар *Escherichia coli* -ийг хүнсний дээжид хурдан, энгийн аргаар илрүүлэх арга боловсруулах.

Дөрөв. АЖЛЫН ХЭМЖЭЭ, АРГА ЗҮЙ

Эмгэг төрүүлэгч - *E. coli* ба түүнд сонгомол литик Т4 фаг

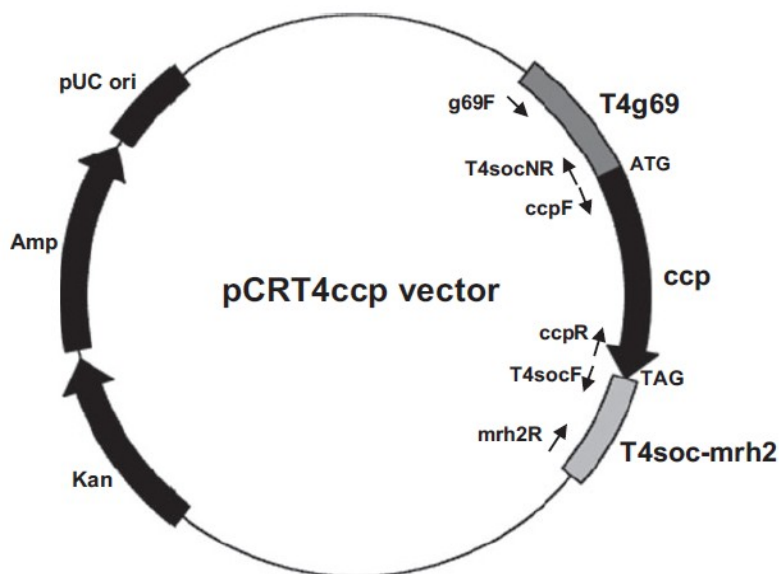
Конструкци хийх

1. Т4 фагийн *soc* болон *mrh2* генийн N-төгсгөлийн дараалалд харгалзах ДНХ фрагмент (Т4*soc*-*mrh2*)-ийг Т4*soc*F/*mrh2*R праймераар олшруулах ба wild-type Т4 фагийг темплэтээр сонгоно.

Хүснэгт 3. ПГУ олшруулалтад ашиглах олигонуклеотид праймерууд болон проб

Праймер, проб	Дараалал (5'→3')	Ишлэл
Т4 <i>soc</i> F (EcoRI)	TTCCGGAATTCATGGCTAGTACTCGCGG TTAGGGCCCGGTTTAATCCAACGATTTAAC	Tanji et al. (2004)
<i>mrh2</i> R (ApaI)	АТ	Tanji et al. (2004)
<i>g69F</i> (KpnI)	CGGGGTACCAGAAAAATCATATGAAGTTGA	Tanji et al. (2004)
Т4 <i>soc</i> NR (SacI)	TTGCGAGCTCCTCCTTTATTTAAATTACATG	Tanji et al. (2004)
<i>ccp</i> F (SacI)	TTGCGAGCTCATGACACCGCTCGTTCATGT	Iffland et al. (2000)
<i>ccp</i> R (SacI)	TTCCGGAATTCCTATAAACCTTGTTCCCTC	Iffland et al. (2000)
<i>ccp</i> проб	GGGACTCTAAGAGCGGCTACATGA	Hoang et al (2014)

2. Олшруулсны дараа бүтээгдэхүүнийг EcoRI/ApaI энзимээр таслан, pCR2.1-ТОРО (Invitrogen компаний) векторт оруулж, pCR*mrh2* плазмид вектор үүсгэнэ.
3. *S. cerevisiae* IAM 4178-н геномийн ДНХ-г китээр ялгах. Ялгасан геномийн ДНХ *ccp* генийг *ccp*F/*ccp*R праймераар олшруулах.
4. Олшруулсан ПГУ бүтээгдэхүүнийг SacI/EcoRI -р таслан, pCR*mrh2*-н SacI/EcoRI хэсэгт оруулан pCR*ccp**mrh2* плазмид вектор үүсгэх.
5. ДНХ фрагмент Т4*g69F*-г wild-type Т4 фагийн геном ашиглан *g69F*/Т4*soc*NR праймер ашиглан олшруулах. Бүтээгдэхүүнийг KpnI/SacI -р таслан, pCR*ccp**mrh2*-т оруулан pCRT4*ccp* вектор үүсгэнэ.



Зураг 6. pCRT4ccp векторын конструкци

6. T4wt геномд ccp генийг гомолог рекомбинацийн аргаар оруулав.
7. *E.coli* K12 -д pCRT4ccp векторыг электрофорезийн аргаар оруулах (1.8 kV, 25 μ F8 200 Ω).
8. Вектортой *E.coli* K12 -г 50 мг/л⁻¹ ампициллин агуулсан LB орчинд өсгөвөрлөн, OD_{600nm}-т 0.1 байхад T4wt MOI (multiplicity of infection) 0.01 хэмжээтэй байхаар нэмнэ. 37°C-т 120 грм-д 4 цаг өсгөвөрлөн, 0.45 μ м мембран филтерээр шүүнэ. Үүссэн фагийн лизатыг SM буффер (100 мМ NaCl, 10 мМ MgSO₄, 0.01% желатин, 50 мМ Tris-HCl, pH 7.5)-т уусгав.
9. Уусгасан фагаа 0.7%-ийн агарт бэлтгэсэн *E.coli* K12-той петрийн аяганд тарина.
10. Ccp ген агуулсан рекомбинант T4 (T4ccp) фагийг дигоксигенин (DIG) -р пробоор тэмдэглэн плак гибридизациар ялгав.

***T4ccp* -ийн ccp идэвхийг хэмжих**

E.coli K12 -г 37°C-т OD_{600nm} 0.5 байхаар өсгөвөрлөв. Гурван хэсэгт хуваан, эхний хэсэгт фаг нэмэхгүй, дараагий хоёр хэсгийн нэгэнд T4ccp, нөгөөд T4wt фаг нэмнэ. Фаг тус бүрийн хэмжээ MOI 0.5 байна. Гурван хэсгийг 37°C-т нэг цаг өсгөвөрлөн, 0.45 нм мембран филтерээр шүүв. Шүүгдэс дээр субстрат болох адууны зүрхнээс ялган авсан цитохром ц -г нэмсэн. Цитохром ц-ийн хэмжээ $\Delta\epsilon = 18.5 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$. Шүүгдэс буюу LB орчинд фосфат буффер (50 мМ KH₂PO₄, pH 6.0), цитохром ц, H₂O₂ -г нэмэн 10 дахин шингэрүүлнэ. Ингэснээр цитохром ц, H₂O₂ харгалзан 0.7 ба 360 μ М байсан. Үр дүнг уусмалыг 30°C-т байлган, A_{550nm} байхаар минут тутамд спектрофотометрээр хэмжлээ. Бүх энзимт урвалыг 3 удаагийн давтамжтай хийв.

Тетрацистейн - тэмдэгт (TGCTGTCCGGGCTGTTGC) PP01 бактериофаг гарган авах

Эмгэг төрүүлэгч: *E. coli* O157:H7 ба түүнд сонгомол литик PP01 фаг

Конструкция хийх

PP01 фагийн геномийн ДНХ-н SOC (small outer capsid) уураг кодлогч хэсэгт тетрацистейн-шошго оруулна. Үүний тулд PP01 фагийн SOC уураг кодлогч хэсэг болон PP01 SOC N-төгсгөл дээр тетрацистейн шошго бүхий хэсгийг праймераар (SOCUPs-SOCUPa болон TCSOCs - TCSOCa) олшруулна. Тэмплэтээр pp01 фагийн геном.

Хүснэгт 4

Праймер	Дараалал (5'→3')
SOCUPs (<i>EcoRI</i>)	GTGGAATTTCGAAGAAATCTTTAAAC
SOCUPa (<i>BamHI</i>)	GCCGGATCCTCTCCTTTTATTTA
TCSOCs (<i>BamHI</i>)	TTGGATCCTTCCTGAACTGTTGTCCCGGCTGCTGCATGGAGCCT ATGGCTAGTACTCGCGGTTATGT
TCSOCa (<i>PstI</i>)	GCCCTGCAGTTAACATAGTACTCTCCTC

ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг *BamHI/EcoRI* болон *BamHI/PstI* энзимүүдээр хэрчин, pUC118 плазмидын *EcoRI/BamHI* болон *BamHI/PstI* хэсэгт оруулан pUC-TCSOC плазмид бүтээнэ.

E.coli O157 омогт pUC-TCSOC вектороо трансформаци хийн оруулна.

Трансформаци хийсэн *E.coli* O157 омгоо pp01 фагаар халдварлуулан гомолог рекомбинаци хийнэ. Ампициллин агуулсан LB (1л LB -д 50мг ампициллин байхаар) орчинд нянгаа OD600 = 0.1 болтол өсгөвөрлөн, pp01 фагаа MOI=0.01 байхаар нэмнэ. 5 цаг өсгөвөрлөсний дараа хлороформ нэмж центрифугдэнэ. Эсийн задралыг SM буферээр шингэлэх ба фагийн концентраци 10⁴ пүн/мл байхаар тооцно. Шингэлсэн фагийн лизатаа *E.coli* O157:H7-той 0,7%-ийн агартай холин LB агар дээр тараан хийж өсгөвөрлөн плак үүсгэлтийг үзнэ.

Фаг халдварлуулж баяжуулах

1. *E.coli* O157-г 500 мл лабораторын колбод 250 мл LB орчинд 37°C-т өсгөвөрлөнө.
2. PP01 фагийг бактерийн өсгөвөрт 1 PFU/мл байхаар тооцон хийнэ. Хяналтын өсгөвөрт хийхгүй.
3. 37°C-т 9 цаг 250 грт-д өсгөвөрлөнө.
4. 250 мл өсгөвөрт 2.5 мл хлороформ болон 10.5 г NaCl буюу хлороформын эцсийн концентраци 1%.
5. 37°C-т 30 минут 250 грт-д үргэлжлүүлэн өсгөвөрлөнө.
6. Өсгөврийг 250 мл шилэнд шилжүүлэн, 10000 грт-д 5 минут 4°C-т центрифугдэнэ.
7. Супернатантыг аван шинэ шилэнд хийнэ.
8. Супернатантыг 0.22 µm зүүн-филтерээр шүүн, шинэ шилэнд хийнэ.

9. Ойролцоогоор 15 мл фагийн супернатантыг Amicon шүүлтүүрийн дээд хэсэгт шилжүүлнэ.
10. 10000 rpm-д 3 минут центрифугдэнэ. Супернатантын хэмжээг Amicon шүүлтүүрээс тэмдэглэн авна. Хэрэв үлдэгдэл байвал 1-2 минут центрифугдэнэ.
11. Шүүгдэсийг хаягдал сав руу болгоомжтой хийнэ. Дээж шүүх аяганд фагийн супернатантаас хийн 10000 rpm-д 3 минут центрифугдэнэ.
12. Фагийн супернатант 10мл орчим болох хүртэл давтана.
13. 15 мл орчим SM буффер фагийн супернатант агуулсан дээд хэсэгт хийн 4000x g -д 5 минут центрифугдэж угаана.
14. Угаах шатыг давтан, 10 мл орчим угаасан фагийн супернатант болтол давтана.
15. Пипетка ашиглан фагийн супернатантыг дээд хэсгээс эвтэйхэн авна.
16. 10 мл орчим цэвэршүүлсэн фагийн супернатантыг авч титерлэн, PFU-г тооцно.

Фагаар халдварлуулж илрүүлэлт хийх - FIAsh-EDT₂

1. Бактерийн өсгөвөр бэлдэх
E.coli O157, *E.coli* омгууд болон тест нян сонгон LB орчинд 37°C-т шөнийн өсгөвөр бэлдэх.
2. Тус бүр 200 мл-ийг авч өсгөвөрлөн, эрчимтэй өсөх шатанд нь 1.5 мл тубэд шилжүүлнэ.
3. Spin down 12000 rpm, 3 минут хийж LB орчинг хаяна.
4. 1 мл HBSS хийн бактерийн пеллетиийг уусгана. Зөөлөн вортексдоно.
5. Spin down 12000 rpm, 3 минут
6. 1 мл HBSS хийн бактерийн пеллетиийг уусгана. Зөөлөн вортексдоно.
7. PP01 фагийг HBSS-т шингэрүүлэлт- шалгах аргаар хийнэ.
8. 25 μл HBSS бэлдэхдээ:
- PP01 фагийг 1 μл
- FIAsh-EDT₂ 10 μM
9. Тасалгааны температурт 30 мин инкубацална.
10. Spin down 10000 rpm, 1 минут. Супернатантыг хаяна.
11. Бактерийн пеллет дээр 25 μл HBSS хийн уусган, 10-р шатыг давтана.
12. Шат 11-г давтана.
13. 25-50 μл HBSS нэмэн микроскопоор харна.

Тав. ГАРСАН ҮР ДҮН

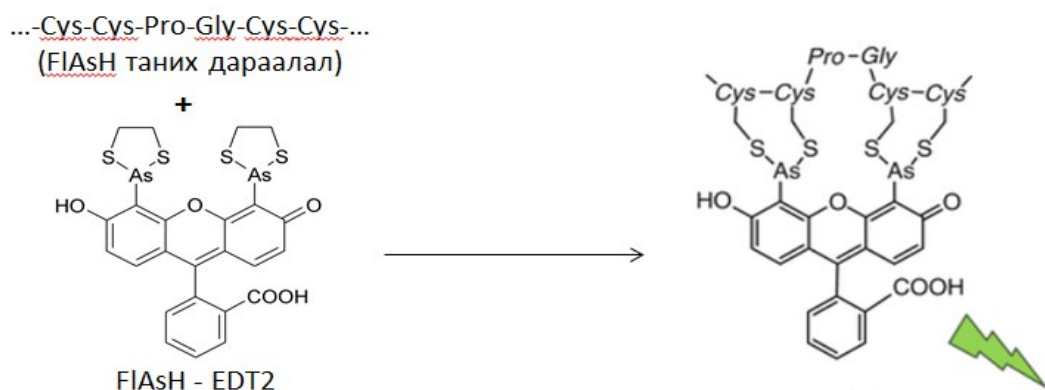
Хоруу чанартай гэдэсний савханцарт өвөрмөцөөр халдварлуулсан үр дүнг танилцуулж байна.

ТС-пептид таг хэрэглэх болсон шалтгаан:

- i. GFP уурагтай фаг бэлтгэхэд тодорхойгүй шалтгаанаар ажиллахгүй байсан. Туршлагажиж, шинээр бэлтгэх шаардлагатай байсан, хугацаа хангалтгүй байсан тул өөр арга судалсан. Боломжит шалтгааныг конструкц дээр ямар нэг алдаа байж магадгүй, эсвэл эх үүсвэрээ болгосон Японы э. Ш. Өгүүлэл дээрх аргазүйг хангалттай учрыг нь олоогүй буюу тухайн арга зарим нэг техник шийдлийг тодорхой тайлбарлаагүй байх боломжтой. Тэдний амжилттай гэж харуулсан, фаг үүсгэх ДНХ конструкц нь -

- ii. Мөн ижил колориметрийн арга тул лабораторид хэрэглэх аргачлал ижил тул вирус халдаасан өсгөвөр дээр шинжилгээ хийхэд микроскоп хэрэглээд хялбар хийнэ гэж үзсэн.
- iii. ТС-пептид буюу тетра-цистеин аминхүчлийн дараалал бүхий таг нь бусад өргөн хэрэглэдэг репортер уурагтай харьцуулбал маш богино хэмжээтэй (6-12 аминхүчилт) тул эсэд халдан нийлэгжих фагийн тоо ширхэг буюу бүтээмж маш өндөр байдаг. Өргөн хэрэглэдэг GFP нь 239 аминхүчилт, люцифераз нь 463 аминхүчилт хэмжээтэй байх жишээтэй.
- iv. Тус аргын дутагдалтай тал нь хэт хүчтэй дохио өгдөг, дам дохио өгөх гээд байдаг, мөн 1 нэр төрлийн нэмэлт бодис хэрэглэх шаардлагатай байдаг (FAsH).
- v. Тус аргыг Хятадын Шиамены их сургуулийн хими, химийн инженерийн сургуулийн судалгааны баг 2016 онд амжилттай туршсан байсан ба, гүйцэтгэсэн мэргэжилтний нэгтэй шууд холбогдож зөвлөгөө авсан.

Уг аргазүйд орсон тетрацистеинээр шошголох арга нь жижиг флуоресцеин нэгдэл (fluorescein arsenical hairpin binder буюу FAsH) болон пептид дараалал (Cys-Cys-Хах-Хах-Cys-Cys) холбогдон гэрэл үүсгэх зарчимд тулгуурлана /Хах -‘X’ дурын амин хүчил/. FAsH - этанедитиол (EDT) комплекс уг амин хүчлийн дараалалтай холбогдсоноор флуоресцент гэрэл үүсгэдэг.



Зураг 7. Тетрацистеин дараалал болон FAsH-EDT2 холбогдон гэрэл үүсгэх Тетрацистеин - тэмдэгт (TGCTGTCCGGGCTGTTGC) PP01 бактериофаг гарган авах:

1. Өсгөвөрлөлт

Шига хор ялгаруулдаггүй *E. coli* O157:H7 ATCC 43888 ба түүнд сонгомол литик PP01 фаг ашигласан. *E. coli* O157:H7 болон PP01 халдварлахгүй омгууд *E. coli* BL21, *E. coli* MG1655, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhirium*, *Bacillus cereus* -г LB шөлөнд 37°C-д сэгсрэгчтэй өсгөвөрлөн, экспоненциал өсөлтийн үе дээр ашигласан.

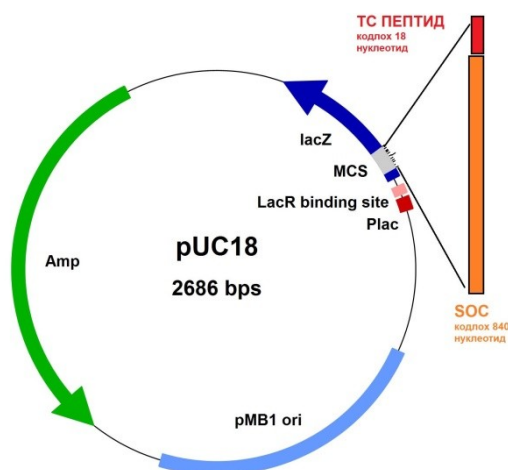
2. Конструкци хийх

PP01 фагийн геномийн ДНХ-н SOC (small outer capsid) уураг кодлогч хэсэгт тетрацистеин-шошго оруулахын тулд PP01 фагийн SOC уураг кодлогч хэсэг болон PP01 SOC N-төгсгөл дээр тетрацистеин шошго бүхий хэсгийг праймераар (SOCUPs-SOCUPa болон TCSOCs - TCSOCa) олшруулсан. Тэмплэтээр pp01 фагийн геном.

Хүснэгт 5

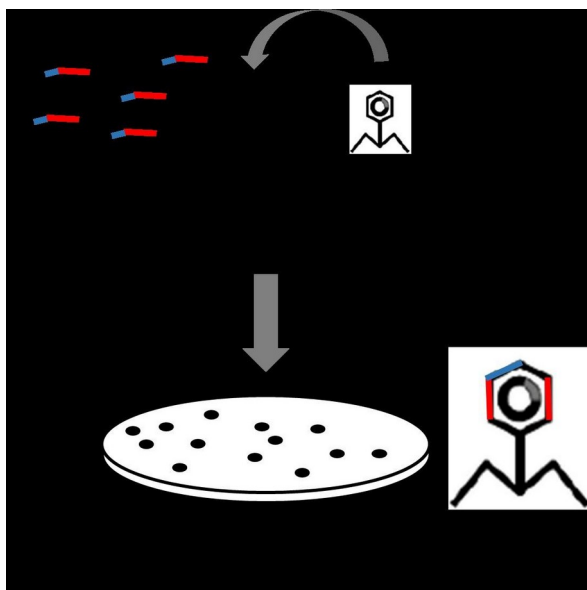
Праймер	Дараалал (5'->3')
SOCUPs (<i>EcoRI</i>)	GTGGAATTCTGAAGAAATCTTTAAAC
SOCUPa (<i>BamHI</i>)	GCCGGATCCTCTCCTTTTATTTA
TCSOCs (<i>BamHI</i>)	TTGGATCCTTCCTGAACTGTTGTCCC GGCTGCTGCATGGAGCCT ATGGCTAGTACTCGCGGTTATGT
TCSOCa (<i>PstI</i>)	GCCCTGCAGTTAACATAGTACTCTCCTC

ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг *BamHI/EcoRI* болон *BamHI/PstI* энзимүүдээр хэрчин, pUC118 плазмидын *EcoRI/BamHI* болон *BamHI/PstI* хэсэгт оруулан pUC-TCSOC плазмид бүтээсэн.



Зураг 8. PP01 фагт оруулах векторын конструкцйн зураглал

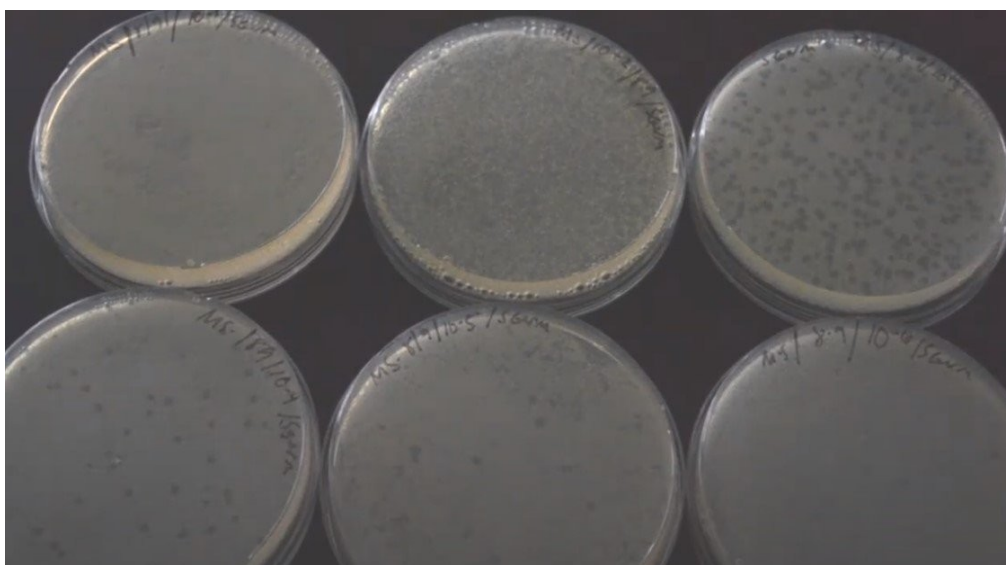
E.coli O157 омогт pUC-TCSOC вектороо трансформаци хийн оруулсан. Трансформаци хийсэн *E.coli* O157 омгоо pp01 фагаар халдварлуулан гомолог рекомбинаци хийсэн. Ампициллин агуулсан LB (1л LB -д 50мг ампициллин байхаар) орчинд нянгаа OD600 = 0.1 болтол өсгөвөрлөн, pp01 фагаа MOI=0.01 байхаар нэмэн 5 цаг өсгөвөрлөсний дараа хлороформ нэмж центрифугдсэн. Эсийн задралыг SM буферээр шингэлж фагийн концентраци 10^4 пүн/мл байхаар тооцон фагийн лизатыг *E.coli* O157:H7-той 0,7%-ийн агартай холин LB агар дээр хэвшил болсон double agar overlay ажилбар хийж өсгөвөрлөж, плак үүсгэлтийг үзсэн.



Зураг 9. Фаг халдварлалтын үр дүнд плак үүсгэх ерөнхий зураглал

Үр дүн шалгасан дүн

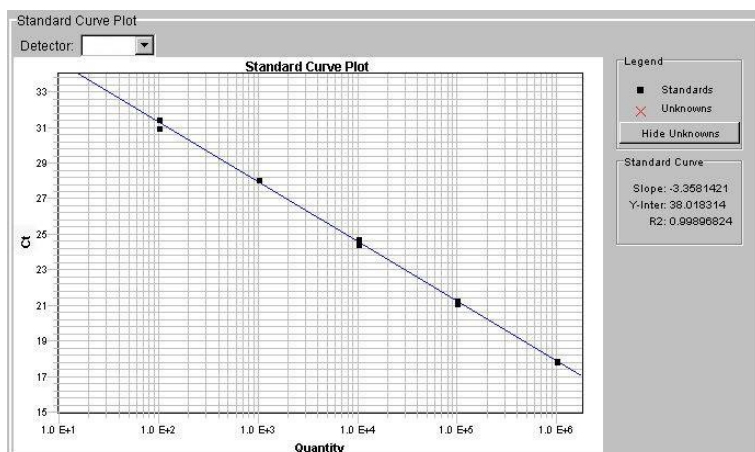
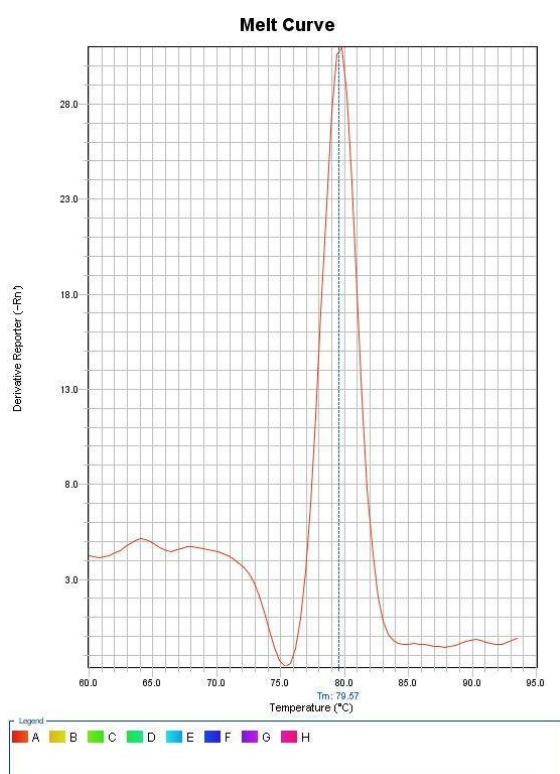
Ялгаж авсан фагийг баталгаажуулахын тулд мөн ижил нянгийн өсгөвөрт (шига токсин нийлэгжүүлэх чадваргүй *E. coli* O157:H7: ATCC 43888) халдааж шалгасан.



Зураг 10. *E. coli* O157:H7 ATCC 43888 плак үүссэн байдал

Мөн фагд өвөрмөц хос праймераар SYBR Green I будагтай рийлтайм ПГУ тавьж шалгасан: **ЗУРАГ 10.** Ингэхдээ рекомбинант фаг дээрх 131 нуклеотид богино хэсгийг олшруулж шалгасан (CTGGACTGCTGTCCGGGC болон AATAAATTCAAGGACTCC праймераар). Эсэд баяжих фагийн ДНХ-г тооцоолсон тоон хэмжээ нь хяналтын урвалынх (халдаагаагүй) байхгүй, бактерийн 10^6 дахин шингэлсэн өсгөвөр дээр 10^8 - 10^9

тоотой байгаа тооцоо харагдав. Тус тоон дүн нь фаг эзэн эсэд хангалттай бий болж байна гэж үзсэн. Мөн бактерийн ургалт огцом удааширсан байв.



Зураг 11. Рийлтайм ПГУ-н үр дүн

Үр дүн

1. *E.coli O157:H7*: ATCC43888-ийн өвөрмөц бактериофаг PP01-д Тетрацистейн – ген (TGCTGTCCGGGCTGTTGC) шилжүүлэн суулгаж рекомбинант фаг гарган авах конструкци хийлээ.
2. Рекомбинант фагийг Real time PCR-аар шалгаж үзэхэд конструкци зөв угсрагдсан байна.
3. Рекомбинант фаг нь *E.coli O157:H7*: ATCC43888-ийг өвөрмөцөөр таныц үхүүлэн өнгө үзүүлэх туршилтыг үргэлжлүүлэх шаардлагатай байна.

1. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd edition. Volume 2, Part B, 607-611.
2. НЭМХ-ийн мэдээллийн эмхэтгэл. 2008. "Хүнс импортлолт ба эрүүл мэнд" ЭМЯ. ДЭМБ. 2-8.
3. <https://www.who.int/activities/estimating-the-burden-of-foodborne-diseases>
4. Chekabab SM, Paquin-Veille J, Dozois CM & Harel J. (2013.) The ecological habitat and transmission of *Escherichia coli* O157:H7. FEMS Microbiol Lett 341: 1-12.
5. Wilks JC & Slonczewski JL (2007). pH of the cytoplasm and periplasm of *Escherichia coli*: Rapid measurement by green fluorescent protein fluorimetry. Journal of Bacteriology. 189: 5601-5607.
6. Avery SM, Moore A & Hutchison ML (2004) Fate of *Escherichia coli* originating from livestock faeces deposited directly onto pasture. Lett Appl Microbiol 38: 355–359.
7. A guide to *E.coli* O157 in cattle. Pfizer Animal Health. SPR technology. P6.
8. Hoang HA, Abe M, Nakasaki K (2014). A novel colorimetric method for the detection of *Escherichia coli* using cytochrome c peroxidase-encoding bacteriophage. FEMS Microbiol Lett 352: 97-103.
9. Feng, P. 1992. Commercial assay systems for detecting food-borne *Salmonella*: a review. J. Food Prot .55: 927–934.
10. Khan JA, Rathore RS, Ahmad I, Khan Shaheen (2011). Molecular strategies: detection of foodborne bacterial pathogens. Springer. Microbes and Microbial technology. 189-206.
11. Park, Y.S., Lee, S.R. and Kim, Y.G. (2006). Detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Kimchi by multiplex polymerase chain reaction (mPCR). J. Microbiol. 44 (1): 92–97.
12. Ashbolt NJ, Grabow WOK, Snozzi M. Indicators of microbial water quality. (2001). WHO. Water quality: guidelines, standards and health.
13. Leclerc H, Edberg S, Pierzo V, Delattre JM (2000). Bacteriophages as indicators of enteric viruses and public health risk in groundwaters. J. Appl. Microbiol. 88:5-21.
14. Rossmann, M.G., Morais, M.C., Leiman, P.G., Zhang, W., 2005. Combining X-ray crystallography and electron microscopy. Structure 13, 355–362.
15. Harada LK, Silva EC, Campos WF, Del Fiol FS, Vila M, Dabrowska K, Krylov VN, Balcao VM (2018). Biotechnological applications of bacteriophages: State of the art. Microbiol. Res. 212-213:38-58.
16. O'Sullivan L, Bolton D, McAuliffe O, Coffey A (2019). Bacteriophages in food applications: from foe to friend. ANNU REV FOOD SCI T.10:151-72.
17. Hoang HA, Dien LT (2015). Rapid and simple colorimetric detection of *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice using a novel recombinant bacteriophage-based method. Biocontrol Sci. 2:99-103.
18. Birge EA (2006). Bacterial and Bacteriophage Genetics. 5th edition. 177-218.
19. Brigati JR, Ripp SA, Johnson CM, Iakova PA, Jegier P (2007). Bacteriophage-based Bioluminescent bioreporter for the detection of *Escherichia coli* O157:H7. J. Food. Prot. 6:1386-1392.

20. Hoffmann C, Gaietta G, Zurn A, Adams SR, Terillon S, Ellisman AH, Tsein RG, Lohse MJ (2010). Fluorescent labeling of tetracysteine-tagged proteins in intact cells. *Nat Protoc.* 5(10):1666-1677.
21. Wu L, Luan T, Yang X, Wang Sh, Zheng Y, Huang T, Zhu Sh, Yan X (2014). Trace Detection of specific viable bacteria using tetracysteine-tagged bacteriophages. *Anal. Chem.* 86:907-912.
22. Wu L, Song Y, Luan T, Ma L, Su L, Wang Sh, Yan X (2016). Specific Detection of Live *Escherichia coli* O157:H7 using tetracysteine-tagged PP01 bacteriophage. *Biosens. Bioelectron.* 86:102-108.

DETECTION OF FOOD-BORNE PATHOGENS IN ANIMAL PRODUCTS AND EVALUATION OF SAFETY RISK

Key Laboratory of Animal Parasitology of Ministry of Agriculture, Shanghai Veterinary Research
Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 200241, China

Houshuang Zhang et al.

This project grants from the National Key Research and Development Program of China
(No.2017YFE0108600)

1. Construction of ELISA method for detection of *Toxoplasma gondii*

To develop a toxoplasma ELISA detection technology using the antigen. By gene amplification and sequencing, *Toxoplasma gondii* tachyzoite stage specific antigen SAG2 and bradyzoite stage specific antigen SAG4 genes were cloned into PET-28a and PET-30a expression vectors respectively, and the recombinant protein expression vectors were constructed. An ELISA method was developed to detect *T. gondii* infection by using SAG2 and SAG4 mixed proteins as coated antigens. The conditions of the detection method were investigated by using serum of *T. gondii* infection prepared in vivo, and compared with the single protein coated method. Meanwhile, the established method was used to detect serum samples from clinical animals. The results showed that a highly sensitive and specific ELISA method for *T. gondii* detection was successfully constructed, which can be used for clinical detection.

Results

1.1 Gene amplification

The SAG2 gene was amplified by PCR using DNA extracted from *T. gondii* RH strain as template. The extracted RNA was reversely transcribed into cDNA as a template, and the SAG4 gene was amplified by PCR method. The amplified products were analyzed by 1% agarose gel electrophoresis with single bands SAG2 and SAG4 at 499bp and 469bp respectively (Figure 1 and Figure 2).

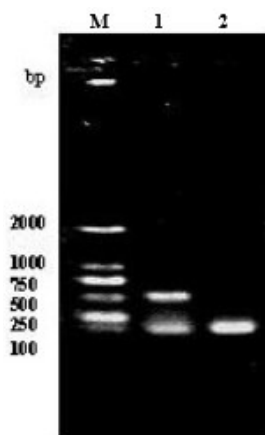


Fig. 1 PCR amplification of SAG2 gene.

1. *T. gondii* DNA; 2. H₂O.

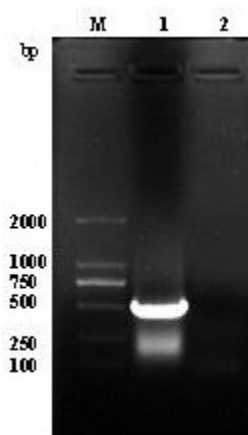


Fig. 2 RT-PCR amplification of SAG4 gene.

1. *T. gondii* cDNA; 2. H₂O.

Purification of recombinant proteins

After expression, the collected bacterial solution was centrifuged at 4°C, 12000 rpm/min for 10 min, the supernatant was discarded, and washed with Tris-HCl for 2-3 times. After purification with His-Bind Resin purification kit, 10 ml Binding buffer was first added and ultrasonic was performed on the ice water mixture for 5 min, followed by centrifugation at 12000 rpm/min for 10 min to collect the supernatant. His resin was prepared, 500 µL of the resin was put into the purification column, and the column was

washed with PBS for 3 times. The supernatant was combined with Ni-MTA His resin and rotated at 4°C for 1-2 h or overnight at 4°C. Wash the solution 1-3 times with Wash buffer, then add 200 μL Elution buffer. The Elution buffer was used for dialysis with PBS, and the purified target proteins was obtained (Figure 3). The proteins concentration were determined by BCA method.

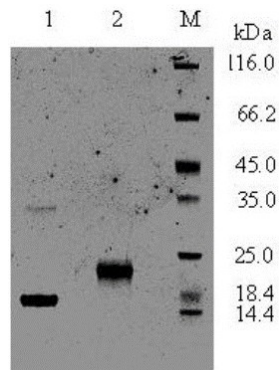


Fig. 3 SDS-PAGE analysis of purified SAG2 and SAG4 recombinant proteins.

1. Purified SAG2; 2. Purified SAG4.

1.2 ELISA sensitivity comparison test

The 15 clinical serum positive samples for *T. gondii* were used for ELISA using SAG2 alone and SAG2 and SAG4 mixed protein (SAG2+SAG4). The sensitivity of the detection was observed under the condition of the same sample quantity. ELISA results are shown in Figure 4. SAG2 and SAG2+SAG4 have similar curve trends. It can be seen from the curve in the figure that SAG2+SAG4 has higher sensitivity as an antigen than SAG2 alone.

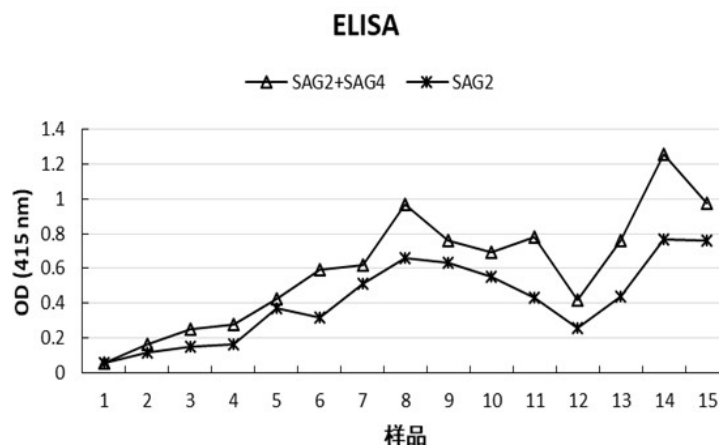


Fig. 4 SAG2 or SAG2+SAG4 proteins as coated antigens were used for ELISA detection of samples.

2. Real-Time PCR for the detection of *Taenia saginata*

To solve the detection methods are poor low sensitivity and specificity of technical problems for widespread in the cows with *Taenia saginata*, to design the primers and probes of *T. saginata*, and detected by using the real-time fluorescent quantitative PCR (Real - time PCR) primers and probe, it can be used to detect the accurately and rapidly *T. saginata* infection with high sensitivity and strong specificity.

Results

2.1 Construction of standard plasmid

DNA was extracted from the collection of *T. saginata* in vitro and was used as template, the PCR was performed using the gene specific primers of COX1, the DNA control of healthy tissue was no amplified fragment (Figure 5), the PCR fragment was inserted into T gene vector, and constructed the recombinant plasmid containing 513 bp gene, sequencing results showed that the construction is correct.

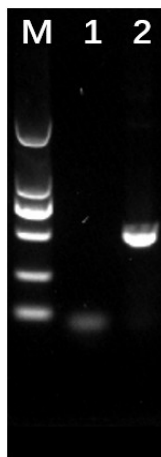


Figure 5 PCR amplification of *T. saginata* DNA.

1. Healthy tissue DNA: 2. *T. saginata* DNA.

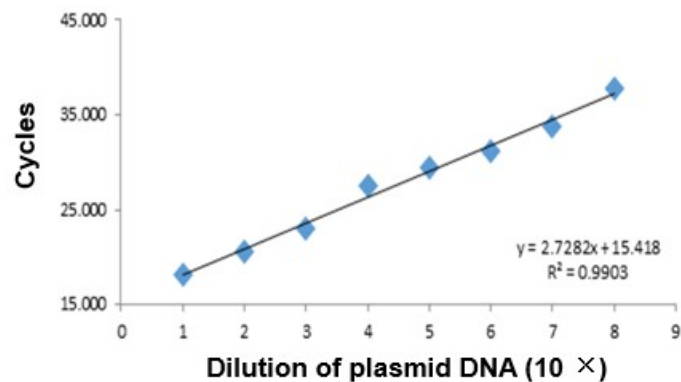


Figure 6 Real-time PCR standard curve.

2.2 Construction of standard curve

The standard curve of Real-Time PCR was obtained by using different concentrations of the constructed plasmids as templates (Figure 6). The correlation parameter $R^2=0.9903$ and the amplification efficiency $E=1.02$ of the standard curve were better.

2.3 The specificity analysis of the Real - time PCR

The specificity analysis of Real-time PCR for DNA from a variety of parasites, the results showed that only the *T. saginata* DNA has a strong specificity, with no other parasite specific amplification.

2.4 The sensitivity analysis of Real - time PCR

The Real-time PCR detection results showed in Figure 7, the initial concentration of 0.1 ng, 10-fold dilution of 8 gradients (0.1ng, 10 pg, 1pg, 100fg, 10 fg, 1 fg, 0.1 fg and 0.01

fg), the detection limit was 1fg (Fig. 7, 6 replicates per sample), while the detection limit of conventional PCR was 100fg (Fig. 8). It can be seen that the sensitivity of real-time PCR is 100 times that of conventional PCR.

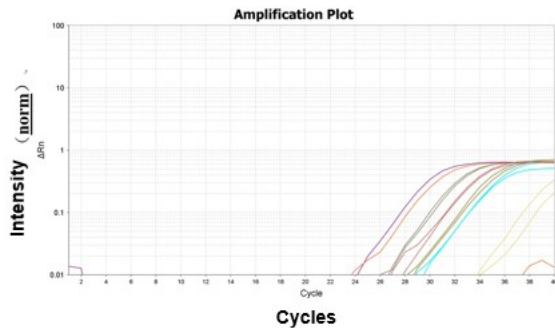


Figure 7 The sensitivity comparison test of Real-time PCR. 1, 2: 0.1 ng; 3, 4: 10 pg; 5, 6: 1 pg; 7, 8: 100 fg; 9, 10: 10 fg; 11, 12: 1 fg; 13:0.1fg of *T. saginata* DNA.

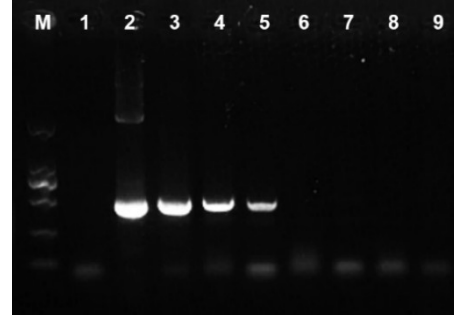


Figure 8 The sensitivity comparison test of conventional PCR. 1: H₂O; 2-9:0.1ng, 10 pg, 1pg, 100fg, 10fg, 1fg, 0.1fg and 0.01fg of *T. saginata* DNA, respectively.

2.5 Clinical detection of *T. saginata* infection in animals

Real-time PCR method was used to detect *T. saginata* infection from low-concentration templates by comparing the conventional PCR positive samples with the real-time PCR method (Figure 9). All curves in Figure 9 were randomly selected samples with different degrees of positivity.

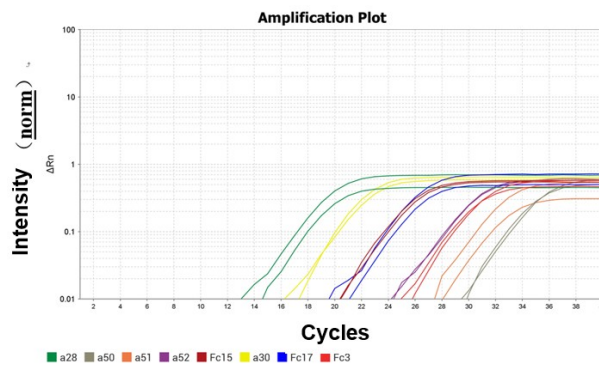


Figure 9 Clinical samples detection by Real-time PCR.

3. Echinococcosis in cattle: development of time-resolved fluorescence immunochromatography

Based on the bioinformatics analysis of 13320 proteins in the alternative splicing data, GPI anchored surfaceglyco protein, hypothetical protein EGR_01530, Kunitz protease

inhibitor protein, Kazal-type serine protease inhibitor domain-containing protein and hypothetical protein EgrG_000438700 were selected. We selected serpins B9, Headcase protein, hypothetical protein EgrG_000438700, hypothetical protein EgrG_000417500 and Eg-H1 from bioinformatics analysis of peptide antigens based on transcriptomics. Based on bioinformatics analysis of multiple epitope antigens, Serpins B9, Headcase protein, hypothetical protein EgrG_000438700 and hypothetical protein EgrG_000417500 were spliced as candidate diagnostic antigens. These antigen combinations were then used to establish time-resolved fluorescence immunochromatography.

The results show that recombinant protein EG-H1 and recombinant protein EGR_01530 have good immunogenicity and can be used as diagnostic antigens. The result show that the concentration of T-line coated hypothetical protein EGR_01530 to be 2 mg / ml, the concentration of anti mouse IgG of C-line goat to be 2 mg / ml, and the concentration of binding pad labeled Eg-H1 was 50 μ g / ml, the reaction time is 15 min, sample size is 75 μ L, with best results. In order to evaluate the accuracy of this method, compared with two different commercial ELISA kits, the positive rate of TSZ ELISA kit was 80% and the negative rate was 84%; the positive rate of GTX ELISA kit was 76% and the negative rate was 84%; the test results of time-resolved fluorescent microsphere immunochromatographic strip based on this subject were as follows The positive rate was 94% and the negative rate was 92%. And there was no cross reaction between this method and other positive sera of non bovine *echinococcosis*, the results were still positive when the dilution ratio of positive sera was 1:3200.

Conclusion: The time-resolved fluorescence immunoassay for echinococcosis of cattle established in this study has good specificity, sensitivity and accuracy, which can be preliminarily applied to the field diagnosis of echinococcosis of cattle.

4. Detection of trichinosis: Establishments of time-resolved fluorescence immunochromatography and a real-time fluorescent quantitative PCR assay

In this study, two specific diagnostic antigens of the serine protease family (putative

trypsin (Tsp_07356), putative trypsin (Tsp_00436)) and five specific diagnostic antigens of the DNaseII family (dult-specific DNaseII-3, newbornlarvae-specific DNaseII-5, adult-specific DNaseII-10, newborn larvae specific DNaseII-11, deoxyribonuclease II family protein) were successfully screened. At the same time, based on the previous genomic data analysis of our group, a specific conservative gene (Scfld4 gene with unknown chromosome) was screened out for the establishment of a real-time fluorescent quantitative PCR assay for the detection of T1-type *Trichinella spiralis*.

4.1 Detection results by time-resolved fluorogenic immunochromatography assay

The recombinant protein were successfully purified and the predicted values confirmed by Western blot were the same. Detection results of recombinant protein putative trypsin (Tsp_00436) antigen: The binding pad was labeled with putative trypsin (Tsp_00436). The concentration of putative trypsin (Tsp_00436) coated from T line was 1 mg/mL, and the concentration of goat anti-mouse IgG coated from C line was 1 mg/mL. Moreover, when the loading volume was 42 μ Ls, and the reaction time was 20 mins, the detection effect was the best. It responded to the positive serum 48 h, 11 d, 21 d, 32 d, 48 d, and 60 d after worm attack, but did not respond to the negative serum, proving that putative trypsin (Tsp_00436) could be used as the diagnostic antigen in three stages of serological diagnosis of sheep (adult stage, neonatal stage, and muscular larva stage). Mutual combination tests result of recombinant protein putative trypsin (Tsp_00436) antigen and recombinant protein new born larvae-specific DNaseII-11 antigen: labeled new born larvae-specific DNaseII-11 and coated from putative trypsin (Tsp_00436), which only reacted with serum for 11 and 21 days, proved that New Born Larvae-specific DNase II-11 labeled and coated from putative trypsin (Tsp_00436) could be used for the serum diagnosis of sheep infected with *Trichinella spiralis* in the neonatal period. The serum samples coated from Newborn Larvae-specific DNaseII-11 and labeled putative trypsin (Tsp_00436) were reacted with serum for 48 hs, 11 d and 21 d, respectively, proving that the coated Newborn Larvae-specific DNaseII-11 and labeled putative trypsin (Tsp_00436) could be used for the serum diagnosis of adult and newborn larva stages of sheep.

4.2 Detection results of *Trichinella spiralis* in muscle tissues of sheep by real-time fluorescent quantitative PCR

Scfld4 gene with unknown *Trichinella spiralis* chromosome was used to design specific primers, the length was 106bp, and then DNA of *Trichinella spiralis* body was extracted and standard curve was established. The results showed that DNA of the body extracted by this method was diluted with 5¹, 5², 5³, 5⁴, 5⁵, 5⁶ and 5⁷, and the detection concentration of DNA diluted with 5⁷ was 0.002630 ng/ μ Ls. The established standard curve fitted well, the correlation coefficient was R²=0.999, and the amplification efficiency was 102.7%. In the specificity test, only DNA extracted from *Trichinella spiralis* showed a peak and specific

signal appeared. No non-specific signal was detected for DNA such as mouth-feeding nematodes, sheep inverted mouth nematodes, hairy tail nematodes and blood twirling nematodes; In sensitivity test , one worm was added into 1 mg, 5 mg, 10 mg and 20 mg sheep diaphragm tissues respectively to extract DNA, and then one, five, 10, 20 and 40 worms were added into 5 mg sheep diaphragm muscles respectively to extract DNA and conduct real-time fluorescent quantitative PCR, the results show that all the worms can be detected 100%. For the same muscle tissue, different insect numbers and more insect numbers, the detection rate is higher and the sensitivity is higher. For the muscle tissue with the same insect number and different qualities, the detection result is that the smaller the quality is, the higher the detection rate is and the higher the sensitivity is. The DNA extracted from 73 sheep diaphragm samples sent for inspection was detected. Compared with microscopic examination, all the samples were negative under microscopic examination, and five samples were positive by real-time fluorescent quantitative PCR.

Conclusion The time-resolved fluorogenic immunochromatographic assays for the diagnosis of *Trichinella spiralis* in sheep established in this study was able to diagnose the serum of *Trichinella spiralis* in different stages by using the recombinant protein putative trypsin (Tsp_00436) antigen as the diagnostic antigen. The mutual combination detection of the recombinant protein putative trypsin (Tsp_00436) antigen and the recombinant protein new born larvae-specific DNaseII-11 antigen can be used for the serum detection of the adult stage and the newborn larva stage of *Trichinella spiralis* infection in sheep. The real-time fluorescent quantitative PCR method established in this study for the detection of *Trichinella spiralis* in sheep meat products has good specificity, sensitivity and accuracy, and can be initially applied to the diagnosis of T1-type trichinosis in sheep meat products.

Хавсралт 1

Хүнс, хөдөө аж ахуй, хөнгөн
үйлдвэрийн яамын сайдын
2021 оны . . . –р сарын . . .

өдрийн дугаар
тушаалаар батлав.

ҮЙЛДВЭРЛЭГЧИЙН ФАРМАКОПЕЙН ӨГҮҮЛЭЛИЙН ТӨСӨЛ

Үйлдвэрлэгчийн нэр: Мал эмнэлгийн хүрээлэн	МЭҮФӨ-
Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийн нэр: <i>T. gondii</i> үүсгэгчийг маханд илрүүлэх Полимеразын Гинжин Урвалын цомог	

Мөрдөж эхэлсэн хугацаа: 2021 оны . . . –р сарын . . . өдөр

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан байгууллагын нэр:
Мал Эмнэлгийн Хүрээлэн

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан хүний нэр, албан тушаал, зэрэг:

1. П. Мягмарсүрэн, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул

генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан, Молекул генетикийн лабораторийн эрхлэгч

2. М. Золжаргал, магистр (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
3. Б. Баттөр, доктор (Ph.D), профессор, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний тэргүүлэх ажилтан
4. Б. Батцэцэг, доктор (Ph.D), профессор, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний тэргүүлэх ажилтан, Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн захирал
5. Б. Даваасүрэн, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
6. С. Наранцацрал, (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
7. О. Банзрагчгарав, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
8. Т. Амгаланбаатар, магистр (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
9. Б. Давхарбаяр, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний ажилтан
10. Д. Мөнхгэрэл Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний ажилтан

Боловсруулсан огноо: 2021.01.08

Нэмэлт өөрчлөлт оруулсан огноо:

Үзлэг хийх огноо:

Анхны үзлэг 2026 он дараа нь 5 жил тутам

***T. gondii* үүсгэгчийг маханд илрүүлэх Полимеразын Гинжин Урвалын цомог**

Тодорхойлолт

Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*-ын ТОХ 4, 5 генийн давтагдсан 529 хос суурь бүхий генийн өвөрмөц хэсгийг олшруулан илрүүлэх молекул биологийн аргаар оношлох цомог юм.

Нэршил

Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз өвчин бөгөөд мал эмнэлэг болон хүнсний захуудын дэргэдэх лабораторийн шинжилгээнд хэрэглэгдэх тул “Мал амьтны токсоплазмозыг оношлох Полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-ын цомог” гэж нэрлэв.

1. Оршил

1.1. Энэхүү фармакопейн өгүүлэл (ФӨ)-ийн зорилго нь Токсоплазмоз нь харах тогтолцоо гэмтэх, хээл хаях, амьдрах чадваргүй төл гарах зэрэг шинж тэмдэг илэрдэг зооноз өвчин бөгөөд молекул биологийн аргаар оношлох “Мал амьтны токсоплазмозыг оношлох Полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-ын цомог”-т тавигдах шаардлагыг тогтооход оршино.

1.2. Энэхүү ФӨ нь мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*-ын генийн өвөрмөц хэсэг болох ТОХ генийн хэсгийг олшруулан илрүүлэх ПГУ-ын цомгийн оношлогоонд чанарын хяналт хийх, савлах, шошголох, хадгалах, тээвэрлэх үйл ажиллагаанд хамаарна.

1.3. Энэ ФӨ-д иш татсан суурь стандарт болон бусад холбогдох бичиг баримтанд өөрчлөлт орсон тохиолдолд тэдгээрийн хамгийн сүүлийн албан ёсны хэвлэлээс иш татаж хэрэглэнэ. Үүнд: [Lin Z¹](#), [Zhang Y](#), [Zhang H](#), [Zhou Y](#), [Cao J](#), [Zhou J](#). Comparison of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and real-time PCR method targeting a 529-bp repeat element for diagnosis of toxoplasmosis. [Vet Parasitol.](#) 2012 Apr 30;185(2-4):296-300. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.10.016. Epub 2011 Oct 18.

2. *T. gondii* үүсгэгчийг маханд илрүүлэх Полимеразын Гинжин Урвалын цомгийн чанарын үзүүлэлт

2.1. Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*-ын ТОХ генийн өвөрмөц хэсгийг олшруулан илрүүлэх ПГУ-ын цомог дараах хүснэгтэд заасан үзүүлэлтэй байна.

Оношлуурын гадаад үзүүлэлт, бүтэц

1-р дүгээр хүснэгт

	Үзүүлэлт	Утга
1	Оношлуурын цомог	ПГУ-ын цомог
2	Оношлуурын гадаад байдал	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн.
3	Оношлуурын бүрдэл	ПГУ –ын холимгийн нийт эзлэхүүнийг 50 мкл хэмжээтэй байхаар бэлдэнэ. Үүнд: Урвалын буфер – 2.5 мкл dNTP – 2.5 мкл Праймер ТОХ4 – 1 мкл (10 pmol)

		<p>ТОХ5 – 1 мкл (10 pmol)</p> <p>Тақ полимераза – 0.1 мкл</p> <p>ДНХ – 1 мкл</p> <p>H₂O – 16.9 мкл</p> <p>Нийт - 25 мкл хомимогийг бэлдэнэ.</p>
4	Үр дүн (529 хос суурь)	<ul style="list-style-type: none"> 1хТАЕ буфер бүхий 2%-н агарозын гель дээр электрофорезын (Mupid, Advance Co Ltd.) аппаратын 100 вт-д 30 минут гүйлгэнэ. Гелийг этидиум бромидын уусмалд 30 минут будаад, нэрмэл усанд 5 минут угаасны дараа хэт ягаан туяаны гэрэлтүүлэгчээр (АЕ- 6932, ATTD Co Ltd.) харж урвалын үр дүнд олширсон өвөрмөц толбыг ДНХ- ийн жишиг урттай харьцуулах замаар өвөрмөц толбо илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ- ын үр дүнг тооцно.

3. *T. gondii* үүсгэгчийг маханд илрүүлэх Полимеразын Гинжин Урвалын цомгийн шинжилгээний арга

3.1. Үйлдвэрлэлийн нэг удаагийн дамжлагаар бэлтгэсэн Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*- н ТОХ генийг олшруулан оношлох ПГУ-ын цомгийг нэг цуврал гэнэ. Нэг цувралын оношлуурын бүрдэлээс хүрэлцэхүйц хэмжээгээр сорилд авна.

3.2. Мэдэрхүйн үзүүлэлт: Гадаад байдал, бүтцийг мэдрэхүйн эрхтнээр тодорхойлно. Мал амьтны токсоплазмозыг оношлох ПГУ-ын цомог нь Урвалын буфер – 2.5 мкл, dNTP чөлөөт нуклеотид 2.5 мкл, праймер ТОХR -10 pmol буюу пикомоль, ТОХF- 10 pmol буюу пикомоль, Тақ полимераза фермент 1 нэгж мөн ПГУ-н ус зэргийг агуулсан цодонгууд доторх тодорхой хэмжээний өнгөгүй, шингэн харагдана.

3.3. Савлалтын хэмжээ: Урвалын буфер – 2.5 мкл, dNTP чөлөөт нуклеотид 2.5 мкл, праймер ТОХR -10 pmol буюу пикомоль, ТОХF- 10 pmol буюу пикомоль, Тақ полимераза фермент 1 нэгж мөн ПГУ-н ус зэрэг оношлуурын бүрдэлүүд нь тус тусдаа цодонд савлагдсан байх ба хяналтын эерэг ДНХ 1 цодон, хяналтын сөрөг ДНХ 1 цодон зэргийг агуулсан хайрцагтай байна.

3.4. Оношлогооны праймерууд: ТОХ-4-F 5'-CGCTGCAGGGAGGAAGACGAAAGTTG-3' болон ТОХ-5-R 5'-CGCTGCAG ACACAGTGCATCTGGATT -3' праймер дараалал бүхий 1 хос праймерийг ашиглан ПГУ тавина.

3.5. Мал амьтны токсоплазмозыг оношлох ПГУ-ын цомгийг шалгах:

- ПГУ буфер – 5 мкл

- dNTP (1.4mM) - 1 мкл
- Праймер ТОХ4 (10 pmol) - 1 мкл
- Праймер ТОХ 5 (10 pmol) - 1 мкл
- Таq полимераза- 0.1 мкл
- ПГУ- н ус- 16.9 мкл
- Шинжлэх ДНХ – 1 мкл
- Урвалын холимгийг бэлтгэн ПГУ-н машинд доорх нөхцөлөөр олшруулалт хийнэ
- Урвалын нөхцөл нь *T. gondii* –ын ТОХ4,5 генийн өвөрмөц давтагдсан 529 хос суурь генийн дараалалын өвөрмөц хэсгийг олшруулахад 94°C 7 минут денатураци хийж ДНХ- ийн хос суурийг салгана.
- Үндсэн ПГУ- н нөхцөл нь 94°C-т 1 минут, 55°C-т 1 минут нийт 35 циклийн давталттайгаар олшруулна. 72°C-т 1 минут, 72°C-т 10 минут байлгаж олшруулна.
- Урвалын үр дүнг тооцохдоо ПГУ- ын үр дүнд олшруулсан ДНХ- ээс 5мкл, ачаалагч буферээс 1 мкл соруулан авч холиод 1хТАЕ буфер бүхий 2%-н агарозын гель дээр электрофорезын (Mupid, Advance Co Ltd.) аппаратын 100 вт-д 30 минут гүйлгэнэ. Гелийг этидиум бромидын уусмалд 30минут будаад, нэрмэл усанд 5 минут угаасны дараа хэт ягаан туяаны гэрэлтүүлэгчээр (АЕ-6932, АТТD Со Ltd.) харж урвалын үр дүнд олширсон өвөрмөц толбыг ДНХ-ийн жишиг урттай харьцуулах замаар өвөрмөц толбо илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ- ын үр дүнг тооцно.

4. Савлалт, хаяглалт, тээвэрлэлт болон хадгалалт

4.1 “Мал амьтны токсоплазмозыг оношлох ПГУ”– ын цомог нь Урвалын буфер – 2.5 мкл, dNTP чөлөөт нуклеотид 2.5 мкл, праймер ТОХR -10 pmol буюу пикомоль, ТОХF- 10 pmol буюу пикомоль, Таq полимераза фермент 1 нэгж мөн ПГУ-н ус зэрэг оношлуурын бүрдэлүүд нь тус тусдаа цодонд савлагдсан байх ба хяналтын эерэг ДНХ, хяналтын сөрөг ДНХ оношлуурын бүрдэлүүд нь тус тусдаа нэг нэг цодонд савлагдсан байх ба бүгд ус үл нэвтрэх уутанд савлан хайрцагласан байна. Тус цомгийг тээвэрлэх болон хадгалах нөхцөл -20°Cдээш хүйтэнд байлгана.

4.2 “Мал амьтны токсоплазмозыг оношлох ПГУ”– ын цомгийг шаардагдах бусад урвалжуудын хамт хайрцагт савлаад, дараах заалт бүхий шошго наана.

Үүнд:

- Үйлдвэрлэгчийн нэр эсвэл худалдааны тэмдэг
- Оношлуурын нэр
- Цувралын дугаар
- Савлалтын хэмжээ
- Үйлдвэрлэсэн огноо
- Хүчинтэй хугацаа
- МЭҮФӨ-ийн дугаар

4.3 Оношлуурыг үйлдвэрлэсэн өдрөөс хойш цельсийн -20°C хэмд 1 жил хүртэлх хугацаанд хадгална.

4.4 Оношлуурыг хайрцагт савлаж тээвэрлэнэ.

4.5 “Зөвхөн мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэнэ” гэсэн заалт бичсэн байна.
Төгсөв.

Хавсралт 2

Хүнс, хөдөө аж ахуй, хөнгөн үйлдвэрийн яамын сайдын 2021 оны . . . –р сарын . . . өдрийн дугаар тушаалаар батлав.

ҮЙЛДВЭРЛЭГЧИЙН ФАРМАКОПЕЙН ӨГҮҮЛЭЛИЙН ТӨСӨЛ

Үйлдвэрлэгчийн нэр: Мал эмнэлгийн хүрээлэн	МЭҮФӨ-
Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийн нэр: <i>T. gondii</i> үүсгэгчийг маханд илрүүлэх ЛАМШ-ПГУ-ын цомог	

Мөрдөж эхэлсэн хугацаа: 2021 оны . . . –р сарын . . . өдөр

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан байгууллагын нэр:
Мал Эмнэлгийн Хүрээлэн

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан хүний нэр, албан тушаал, зэрэг:

1. М. Золжаргал, магистр (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
2. Б. Баттөр, доктор (Ph.D), профессор, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний тэргүүлэх ажилтан
3. Б. Батцэцэг, доктор (Ph.D), профессор, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний тэргүүлэх ажилтан, Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн захирал
4. П. Мягмарсүрэн, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан, Молекул генетикийн лабораторийн эрхлэгч
5. Б. Даваасүрэн, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
6. С. Наранцацрал, (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
7. О. Банзрагчгарав, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
8. Т. Амгаланбаатар, магистр (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
9. Б. Давхарбаяр, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний ажилтан
10. Д. Мөнхгэрэл Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний ажилтан

Боловсруулсан огноо: 2020.12.12

Нэмэлт өөрчлөлт оруулсан огноо:

Үзлэг хийх огноо:

Анхны үзлэг 2025 он дараа нь 5 жил тутам

***T. gondii* үүсгэгчийг маханд илрүүлэх ЛАМП-ПГУ-ын цомог**

Тодорхойлолт

Мал амьтны *Toxoplasma gondii*-ын давтагдсан 529 хос суурь генийн өвөрмөц хэсгийг илрүүлэхэд гадна праймер 2, гогцооны праймер 2, дотор праймер 2 нийт 3 хос праймерийг ашиглан молекул биологийн аргаар оношлох цомог юм.

Нэршил

Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз өвчин бөгөөд мал эмнэлэг болон хүнсний захуудын дэргэдэх лабораторийн шинжилгээнд хэрэглэгдэх тул “Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*-ыг оношлох ЛАМП-ПГУ-ын цомог” гэж нэрлэв.

1. Оршил

1.1. Энэхүү фармакопейн өгүүлэл (ФӨ)-ийн зорилго нь Токсоплазмоз нь харах тогтолцоо гэмтэх, хээл хаях, амьдрах чадваргүй төл гарах зэрэг шинж тэмдэг илэрдэг зооноз өвчин бөгөөд молекул биологийн аргаар оношлох “Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*-ыг оношлох ЛАМП-ПГУ-ын цомог”-т тавигдах шаардлагыг тогтооход оршино.

1.2. Энэхүү ФӨ нь мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*-ыг илрүүлэх ЛАМП-ПГУ-ын цомгийн оношилгоонд чанарын хяналт хийх, савлах, шошголох, хадгалах, тээвэрлэх үйл ажиллагаанд хамаарна.

1.3. Энэ ФӨ-д иш татсан суурь стандарт болон бусад холбогдох бичиг баримтанд өөрчлөлт орсон тохиолдолд тэдгээрийн хамгийн сүүлийн албан ёсны хэвлэлээс иш татаж хэрэглэнэ. Үүнд: Lin Z¹, Zhang Y, Zhang H, Zhou Y, Cao J, Zhou J. Comparison of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and real-time PCR method targeting a 529-bp repeat element for diagnosis of toxoplasmosis. [Vet Parasitol.](#) 2012 Apr 30;185(2-4):296-300. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.10.016. Epub 2011 Oct 18. Zhang H¹, [Thekisoe OM](#), [Aboge GO](#), [Kyan H](#), [Yamagishi J](#), Inoue N, Nishikawa Y, [Zakimi S](#), [Xuan X](#). *Toxoplasma gondii*: sensitive and rapid detection of infection by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method. [Exp Parasitol.](#) 2009 May;122(1):47-50. doi: 10.1016/j.exppara.2009.01.012. Epub 2009 Feb 1.

2. *T. gondii* үүсгэгчийг маханд илрүүлэх ЛАМП-ПГУ-ын цомгийн чанарын үзүүлэлт

2.1. Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*-ыг илрүүлэх ЛАМП-ПГУ-ын цомог дараах хүснэгтэд заасан үзүүлэлтэй байна.

Оношлуурын гадаад үзүүлэлт, бүтэц

1-р дүгээр хүснэгт

	Үзүүлэлт	Утга
1	Оношлуурын цомог	ЛАМП-ПГУ-ын цомог
2	Оношлуурын гадаад байдал	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн.
3	Оношлуурын бүрдэл	ПГУ –ын холимгийн нийт эзлэхүүнийг 50 мкл

		<p>хэмжээтэй байхаар бэлдэнэ. Үүнд: 2х Мастер холимогийг 40 ммоль Tris–HCl (pH 8.8), 10 ммоль KCl, 20 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0.1% Tween-20, 0.2 моль ПГУ буфер (2X- 1.6M betaine), 16 ммоль MgSO₄, 1.4 ммоль dNTP, 40 пмоль FIP болон VIP, 20 пмоль LF1 болон LB1, 5 пмоль F3 болон B3 праймер мөн олшруулах ДНХ-г нэмж бэлдэнэ. (Нийт холимгийн хэмжээнээс 8 U/μl Bst полимераза энзимийн эзлэх хэмжээг хасах) зэргээс бүрдэнэ</p>
4	Үр дүн (529 хос суурь)	<ul style="list-style-type: none"> • 1хТАЕ буфер бүхий 2%-н агарозын гель дээр электрофорезын (Mupid, Advance Co Ltd.) аппаратын 100 вт-д 30 минут гүйлгэнэ. Гелийг этидиум бромидын уусмалд 30минут будаад, нэрмэл усанд 5 минут угаасны дараа хэт ягаан туяаны гэрэлтүүлэгчээр (AE- 6932, ATTD Co Ltd.) харж урвалын үр дүнд олширсон өвөрмөц толбыг ДНХ- ийн жишиг урттай харьцуулах замаар өвөрмөц толбо илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ- ын үр дүнг тооцно. • LAMP–ын дайвар бүтээгдэхүүнүүд буюу пирофосфатын (P₂O₇⁴⁻) ионууд нь магнийн (Mg²⁺) ионтой урвалд орж магнийн пирофосфатын цагаан тунадсыг үүсгэдэг (Mori et al., 2001). Магнийн пирофосфат үүсэхэд уусмал булингартай болдог ба энгийн нүдээр үр дүнг унших боломжтой. (Зураг №3) • SYBR Green I dye ашиглах: Урвал дууссаны дараа LAMP –ын бүтээгдэхүүн SYBR Green нэмж хийхэд урвалын өнгө өөрчлөгдөж ногоон болно. Үр дүнг транслюминаторт харж дүгнэлт хийнэ.

3. *T. gondii* үүсгэгчийг маханд илрүүлэх ЛАМП-ПГУ-ын цомгийн шинжилгээний арга

3.1. Үйлдвэрлэлийн нэг удаагийн дамжлагаар бэлтгэсэн Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*- ыг оношлох ЛАМП-ПГУ-ын цомгийг нэг цуврал гэнэ. Нэг цувралын оношлуурын бүрдлээс хүрэлцэхүйц хэмжээгээр сорилд авна.

3.2. Мэдэрхүйн үзүүлэлт: Гадаад байдал, бүтцийг мэдрэхүйн эрхтнээр тодорхойлно. Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*- ыг оношлох ЛАМП-ПГУ-ын цомог нь 40 ммоль Tris–HCl (pH 8.8), 10 ммоль KCl, 20 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0.1% Tween-20, 0.2 моль ПГУ буфер (2X- 1.6M betaine), 16 ммоль MgSO₄, 1.4 ммоль dNTP, 40

пмоль FIP болон VIP, 20 пмоль LF1 болон LB1, 5 пмоль F3 болон B3 праймер зэргийг агуулсан хайрцагтай байна.

3.3. Савлалтын хэмжээ: 40 ммоль Tris-HCl (pH 8.8), 10 ммоль KCl, 20 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0.1% Tween-20, 0.2 моль ПГУ буфер (2X- 1.6M betaine), 16 ммоль MgSO₄, 1.4 ммоль dNTP, 40 пмоль FIP болон VIP, 20 пмоль LF болон LB, 5 пмоль F3 болон B3 праймер зэрэг оношлуурын бүрдлүүд нь тус тусдаа цодонд савлагдсан байх ба хяналтын эерэг ДНХ 1 цодон, хяналтын сөрөг ДНХ 1 цодон зэргийг агуулсан хайрцагтай байна.

3.4. Оношлогооны праймерууд: F3 5'- CCACAGAAGGGACAGAAGTC -3' болон B3 5'- TCCGGTGTCTCTTTTCCAC -3' праймер бүхий гадна 2 праймер, FIP 5'- TCCTCACCCCTCGCCTTCATCTAGGACTACAGACGCGATGC -3' болон VIP3 5'- TGGTTGGGAAGCGACGAGAGTTCCAGGAAAAGCAGCCAAG -3' праймер бүхий гогцоо 2 праймер, LF 5'- TCCAAGACGGCTGGAGGAG -3' болон LB 5'- CGGAGAGGGAGAAGATGTTTCC -3' праймер бүхий дотор 2 праймер, ашиглан ЛАМП-ПГУ тавина.

3.5. Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*- ыг оношлох ЛАМП-ПГУ-ын цомгийг шалгах:

- ПГУ буфер (2X- 1.6M betaine) – 5 мкл
- dNTP (1.4mM) - 1 мкл
- Tris-HCl (pH8.8) - 2 мкл
- Праймер F3 (5pmol) - 5 мкл
- Праймер B3 (5 pmol) - 5 мкл
- Праймер FIP (40 pmol) - 1 мкл
- Праймер FIB (40 pmol) - 1 мкл
- Праймер LF (20pmol) - 1 мкл
- Праймер LB (20pmol) - 1 мкл
- KCl (20 mM) - 1 мкл
- (NH₄)₂SO₄ (20mM) - 1 мкл
- MgSO₄ (16mM) - 1 мкл
- 0.2% tween20 - 1 мкл
- Шинжлэх ДНХ - 24 мкл
- Урвалын холимогийг бэлтгэн ЛАМП-ПГУ-н машинд доорх нөхцөлөөр олшруулалт хийнэ
- Урвалын нөхцөл нь *T. gondii* –ын TOX4,5 генийн өвөрмөц давтагдсан 529 хос суурь генийн дараалалын өвөрмөц хэсгийг олшруулахад 95⁰C 10 сек денутараци хийж (хос суурийг салгана)
- Урьдчилан бэлтгэсэн мөсөн дээр 2 минут тавина.
- Үүний дараа 8 U Bst *Bacillus stearothermophilus* ДНХ полимерзаг - 1 мкл нэмж 63⁰C –д 60 мин дулаан тогтоогуурт (Looramp LP 100) олшруулна.
- Урвалын үр дүнг тооцохдоо ПГУ- ын үр дүнд олшруулсан ДНХ- ээс 5мкл, ачаалагч буферээс 1 мкл соруулан авч холиод 1xTAE буфер бүхий 2%-н агарозын гель дээр электрофорезын (Mupid, Advance Co Ltd.) аппаратын 100 вт-

д 30 минут гүйлгэнэ. Гелийг этидиум бромидын уусмалд 30 минут будаад, нэрмэл усанд 5 минут угаасны дараа хэт ягаан туяаны гэрэлтүүлэгчээр (AE-6932, ATTD Co Ltd.) харж урвалын үр дүнд олширсон өвөрмөц толбыг ДНХ-ийн жишиг урттай харьцуулах замаар өвөрмөц толбо илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ-ын үр дүнг тооцно.

- LAMP –ын дайвар бүтээгдэхүүнүүд буюу пирофосфатын ($P_2O_7^{4-}$) ионууд нь магнийн (Mg^{2+}) ионтой урвалд орж магнийн пирофосфатын цагаан тунадсыг үүсгэдэг (Mori et al., 2001). Магнийн пирофосфат үүсэхэд уусмал булингартай болдог ба энгийн нүдээр үр дүнг унших боломжтой. (Зураг №3)
- SYBR Green I dye ашиглах: Урвал дууссаны дараа LAMP –ын бүтээгдэхүүн SYBR Green нэмж хийхэд урвалын өнгө өөрчлөгдөж ногоон болно. Үр дүнг транслюминаторт харж дүгнэлт хийнэ.

4. Савлалт, хаяглалт, тээвэрлэлт болон хадгалалт

4.1 “Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*-ыг оношлох ЛАМП-ПГУ”–ын цомог нь 40 ммоль Tris-HCl (pH 8.8), 10 ммоль KCl, 20 ммоль $(NH_4)_2SO_4$, 0.1% Tween-20, 0.2 моль ПГУ буфер (2X- 1.6M betaine), 16 ммоль $MgSO_4$, 1.4 ммоль dNTP, 40 пмоль FIP болон VIP, 20 пмоль LF болон LB, 5 пмоль F3 болон B3 праймер зэрэг оношлуурын бүрдэлүүд нь тус тусдаа цодонд савлагдсан байх ба хяналтын эерэг ДНХ 1 цодон, хяналтын сөрөг ДНХ 1 цодон зэргийг агуулсан ба бүгд ус үл нэвтрэх уутанд тус тус савласан хайрцагтай байна. Тус цомгийг тээвэрлэх болон хадгалах нөхцөл $-20^{\circ}C$ байна.

4.2 “Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*-ыг оношлох ЛАМП-ПГУ”–ын цомгийг шаардагдах бусад урвалжуудын хамт хайрцагт савлаад, дараах заалт бүхий шошго наана.

Үүнд:

- Үйлдвэрлэгчийн нэр эсвэл худалдааны тэмдэг
- Оношлуурын нэр
- Цувралын дугаар
- Савлалтын хэмжээ
- Үйлдвэрлэсэн огноо
- Хүчинтэй хугацаа
- МЭҮФӨ-ийн дугаар

4.3 Оношлуурыг үйлдвэрлэсэн өдрөөс хойш цельсийн $-20^{\circ}C$ хэмд 1 жил хүртэлх хугацаанд хадгална.

4.4 Оношлуурыг хайрцагт савлаж тээвэрлэнэ.

4.5 “Зөвхөн мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэнэ” гэсэн заалт бичсэн байна.

Төгсөв.

Хавсралт 3

Хүнс, хөдөө аж ахуй, хөнгөн үйлдвэрийн яамны сайдын

2021 оны . . . –р сарын . . .
өдрийн дугаар
тушаалаар батлав.

ҮЙЛДВЭРЛЭГЧИЙН ФАРМАКОПЕЙН ӨГҮҮЛЭЛИЙН ТӨСӨЛ

Үйлдвэрлэгчийн нэр: Мал эмнэлгийн хүрээлэн	МЭҮФӨ-
Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийн нэр: Үхэр болон гахайн цистицеркийн үүсгэгч (<i>Taenia spp.</i>)- ийг маханд илрүүлэх Полимеразын Гинжин Урвалын цомог	

Мөрдөж эхэлсэн хугацаа: 2021 оны . . . –р сарын . . . өдөр

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан байгууллагын нэр:
Мал Эмнэлгийн Хүрээлэн

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан хүний нэр, албан тушаал, зэрэг:

11. П. Мягмарсүрэн, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан, Молекул генетикийн лабораторийн эрхлэгч
12. О. Банзрагчгарав, (PhD), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
13. Б. Баттөр, доктор (Ph.D), профессор, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний тэргүүлэх ажилтан
14. Б. Батцэцэг, доктор (Ph.D), профессор, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний тэргүүлэх ажилтан, Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн захирал
15. Б. Даваасүрэн, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
16. С. Наранцацрал (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
17. М. Золжаргал, магистр (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
18. Т. Амгаланбаатар, магистр (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
19. Д. Мөнхгэрэл (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний ажилтан
20. Б. Давхарбаяр, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний ажилтан
21. Г. Бадамчимэг, судлаач, Магистр, Докторын сургууль, Хөдөө аж ахуйн их сургууль

Боловсруулсан огноо: 2021.01.09

Нэмэлт өөрчлөлт оруулсан огноо:

Үзлэг хийх огноо:

Анхны үзлэг 2026 он дараа нь 5 жил тутам

**Үхэр болон гахайн цистицеркийн үүсгэгч (*Taenia spp.*)- ийг маханд илрүүлэх
Полимеразын Гинжин Урвалын цомог**

Тодорхойлолт

Хүнсээр дамжин халдварладаг үхэр болон гахайн цистицеркозийг молекул биологийн аргаар арга болох полимеразын гинжин урвал (ПГУ-PCR)- аар *Taenia saginata* (үхэр), *Taenia solium* (гахай) зүйлийн эгэл биетнүүдийн генийн өвөрмөц хэсэг болох цитохром оксидаза 1 (cytochrome oxidase 1) өвөрмөц генийг кодлох COX-1 генийг ашиглан *Teana spp*-ийг тодорхойлох молекул биологийн арга юм.

Нэршил

Үхэр болон гахайн цистицеркозийг оношлох шинжилгээнд оношилгооны төв лабораториудад хэрэглэгдэх тул “Үхэр болон гахайн цистицеркозийг оношлох ПГУ цомог” гэж нэрлэв.

1. Оршил

1.1. Энэхүү фармакопейн өгүүлэл (ФӨ)-ийн зорилго нь *Taenia saginata* (үхэр), *Taenia solium* (гахай) зүйлийн эгэл биетнээр үүсгэгдэн, ус, хүнсээр дамжин халдварладаг халдварт өвчин болох үхэр, гахайн цистицеркийн үүсгэгч (*Taenia spp.*)-ийн генийн өвөрмөц хэсэг болох цитохром оксидаза *COX-1*-ийг олшруулан ПГУ-аар оношлох “Үхэр болон гахайн цистицеркозийг оношлох ПГУ цомог”-т тавигдах шаардлагыг тогтооход оршино.

1.2. Энэхүү ФӨ нь үхэр болон гахайн цистицеркозийн оношилгоонд хэрэглэгдэх цомогт чанарын хяналт хийх, савлах, шошголох, хадгалах, тээвэрлэх үйл ажиллагаанд хамаарна.

1.3. Энэ ФӨ-д иш татсан суурь стандарт болон бусад холбогдох бичиг баримтад өөрчлөлт орсон тохиолдолд тэдгээрийн хамгийн сүүлийн албан ёсны хэвлэлээс иш татаж хэрэглэнэ. Үүнд:

- *OIE Terrestrial animal health standards commission/ February 2013. The report of the meeting of the OIE electronic AD HOS group on the listing of Taenia solium. Annex XXXIII. p363-365.*
- Dirk Geysen et al, Validation of meat inspection results of *Taenia saginata* cysticercosis by PCR-restriction fragment length polymorphism. *J. Food Prot.* 70, 2007, pp 237-240
- *Teania solium* taeniasis/cysticercosis diagnostic tools. Report of a stakeholder meeting. WHO and TDR. Geneva, Switzerland. 2015. p2

2. Үхэр болон гахайн цистицеркозийн үүсгэгч (*Taenia spp.*)-ийг маханд илрүүлэх ПГУ-ын цомгийн чанарын үзүүлэлт

2.1. Үхэр болон гахайн цистицеркозийг оношлох ПГУ цомог дараах хүснэгтэд заасан үзүүлэлтэй байна.

Оношлуурын гадаад үзүүлэлт, бүтэц

1-р дүгээр хүснэгт

	Үзүүлэлт	Утга
1	Оношлуурын цомог	ПГУ-ын цомог
2	Оношлуурын гадаад байдал	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн.
3	Оношлуурын бүрдэл	ПГУ –ын холимгийн нийт эзлэхүүнийг 25 мкл хэмжээтэй байхаар бэлдэнэ. Урвалын холимог 2 x 1250µL (PCR master mix), 2X, 2 x 1250 мкл Nuclease free Water, Taq DNA Polymerase, dNTPs, MgCl ₂ and reaction Buffers агууламж бүхий бэлэн холимогоос 7.5 мкл, праймерууд T1-F 10 µM-ээс 0.5 мкл, T1-R 10 µM ээс 0.5 мкл, 100 ng/µl концентраци бүхий 1.5 мкл ДНХ- г нэмж урвалын холимгийг бэлтгэнэ.
4	Үр дүн	1xTAE буфер бүхий 2%-н агарозын гель дээр электрофорезын аппаратын 100 вт-д 30 минут гүйлгэнэ. Гелийг этидиум бромидын уусмалд 30 минут будаад, нэрмэл усанд 5 минут угаасны дараа хэт ягаан туяаны гэрэлтүүлэгчээр харж урвалын үр дүнд олширсон өвөрмөц толбуудыг ДНХ- ийн жишиг урттай харьцуулах замаар өвөрмөц толбууд илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ- ын үр дүнг тооцно

3. Үхэр болон гахайн цистицеркозийн үүсгэгч (*Taenia spp.*)- ийг маханд илрүүлэх ПГУ-ын оношлох ПГУ цомгийн шинжилгээний арга

3.1. Үйлдвэрлэлийн нэг удаагийн дамжлагаар бэлтгэсэн үхэр, гахайн цистицеркозийг оношлох ПГУ цомгийг нэг цуврал гэнэ. Нэг цувралын оношлуурын бүрдлээс хүрэлцэхүйц хэмжээгээр сорилд авна.

3.2. Мэдрэхүйн үзүүлэлт: гадаад байдал, бүтцийг мэдрэхүйн эрхтнээр тодорхойлно. Үхэр гахайн цистицеркозийг оношлох ПГУ-ын цомог нь Урвалын холимог 2 x 1250µL (PCR master mix), 2X, 2 x 1250 мкл Nuclease free Water, Taq DNA Polymerase, dNTPs, MgCl₂ and reaction Buffers агууламж бүхий бэлэн холимогоос 7.5 мкл, праймерууд T1-F 10 µM- ээс 0.5 мкл, T1-R 10 µM ээс 0.5 мкл, 100 ng/µl зэрэг оношлуурын бүрдлүүд нь тус тусдаа цодонд савлагдсан байх ба хяналтын эерэг ДНХ 1 цодон, хяналтын сөрөг ДНХ 1 цодон зэргийг агуулсан хайрцагтай байна.

3.4. Оношлогооны праймерууд: *Taenia spp.*- ийн COX1 генийн өвөрмөц хэсгүүдийг олшруулах T1 праймерийг ашигласан F3 5'- ATATTACTTTAGATCATAAGCGG -3', R3 5'- ACGAGAAAATATATTAGTCATAAAA -3' праймаруудаас бүрдэнэ.

3.5. Үхэр, гахайн цистицеркозийг оношлох ПГУ-ийн цомгийг шалгах:

1. Урвалын холимгийг бэлтгэн ПГУ-н машинд доорх нөхцөлөөр олшруулалт хийнэ

2. Урвалын нөхцөл нь *Taenia spp*–ын COX1 генийн дараалалын өвөрмөц хэсгийг олшруулахад 94°C 3 мин денутараци хийж (хос суурийг салгана)
3. 94°C-н хэмд 1 минут, 52°C-н хэмд 1 минут нийт 40 цикл 72°C-н хэмд 1 минут, 72°C-н хэмд 10 минутын горимоор тохируулан явуулна.
4. Урвалын үр дүнг тооцохдоо ПГУ-ийн бүтээгдэхүүнийг (агароз гель) электрофорезийн арга зүйг ашиглан урвалын үр дүнг уншина.

4. Савлалт, хаяглалт, тээвэрлэлт болон хадгалалт

4.1 “Үхэр болон гахайн цистицеркозийг оношлох ПГУ”– ын цомог нь урвалын холимог, праймерууд, ПГУ-н ус, Таq полимераза фермент зэрэг оношлуурын бүрдэлүүд нь тус тусдаа цодонд савлагдсан байх ба хяналтын эерэг ДНХ, сөрөг ДНХ тус бүрдээ цодонд хийсэн бөгөөд бүгд ус үл нэвтрэх уутанд тус тус савласан хайрцагтай байна. Тус цомгийг тээвэрлэх болон хадгалах нөхцөл -20°C байна.

4.2 “Үхэр болон гахайн цистицеркозийг оношлох ПГУ”– ын цомгийг шаардагдах бусад урвалжуудын хамт хайрцагт савлаад, дараах заалт бүхий шошго наана.

Үүнд:

- Үйлдвэрлэгчийн нэр эсвэл худалдааны тэмдэг
- Оношлуурын нэр
- Цувралын дугаар
- Савлалтын хэмжээ
- Үйлдвэрлэсэн огноо
- Хүчинтэй хугацаа
- МЭҮФӨ-ийн дугаар

4.3 Оношлуурыг үйлдвэрлэсэн өдрөөс хойш цельсийн -20 хэмд 1 жил хүртэлх хугацаанд хадгална.

4.4 Оношлуурыг хайрцагт савлаж тээвэрлэнэ.

4.5 “Зөвхөн мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэнэ” гэсэн заалт бичсэн байна.

Төгсөв.

Хавсралт 4

Хүнс, хөдөө аж ахуй, хөнгөн үйлдвэрийн яамын сайдын 2021 оны . . . –р сарын . . . өдрийн дугаар тушаалаар батлав.

ҮЙЛДВЭРЛЭГЧИЙН ФАРМАКОПЕЙН ӨГҮҮЛЭЛИЙН ТӨСӨЛ

Үйлдвэрлэгчийн нэр: Мал эмнэлгийн хүрээлэн	МЭҮФӨ-
Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийн нэр: Үхэр болон гахайн цистицеркийн үүсгэгч (<i>Taenia spp.</i>)- ийг маханд илрүүлэх ЛАМП-ПГУ цомог	

Мөрдөж эхэлсэн хугацаа: 2021 оны . . . –р сарын . . . өдөр

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан байгууллагын нэр:
Мал Эмнэлгийн Хүрээлэн

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан хүний нэр, албан тушаал, зэрэг:

1. О. Банзрагчгарав, (PhD), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
2. Б. Баттөр, доктор (Ph.D), профессор, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний тэргүүлэх ажилтан
3. Б. Батцэцэг, доктор (Ph.D), профессор, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний тэргүүлэх ажилтан, Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн захирал
4. П. Мягмарсүрэн, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан, Молекул генетикийн лабораторийн эрхлэгч
5. Б. Даваасүрэн, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
6. С. Наранцацрал (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
7. М. Золжаргал, магистр (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
8. Т. Амгаланбаатар, магистр (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
9. Д. Мөнхгэрэл (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний ажилтан
10. Б. Давхарбаяр, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний ажилтан

Боловсруулсан огноо: 2021.01.06

Нэмэлт өөрчлөлт оруулсан огноо:

Үзлэг хийх огноо:

Анхны үзлэг 2026 он дараа нь 5 жил тутам

**Үхэр болон гахайн цистицеркийн үүсгэгч (*Taenia spp.*)- ийг
маханд илрүүлэх ЛАМП-ПГУ цомог**

Тодорхойлолт

Хүнсээр дамжин халдварладаг үхэр болон гахайн цистицеркозийг молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт арга бөгөөд (LAMP- PCR) *Taenia saginata* (үхэр), *Taenia solium* (гахай) зүйлийн эгэл биетнүүдийг *Bst* ДНХ полимераза болон 2 хос буюу 4 төрлийн өвөрмөц праймер ашиглан *COX1* генийн хэсгийг тодорхойлох молекул биологийн арга юм.

Нэршил

Үхэр болон гахайн цистицеркозийг оношлох шинжилгээнд хэрэглэгдэх тул “Үхэр болон гахайн цистицеркозийг оношлох ЛАМП-ПГУ цомог” гэж нэрлэв.

1. Оршил

1.1. Энэхүү фармакопейн өгүүлэл (ФӨ)-ийн зорилго нь *Taenia saginata* (үхэр), *Taenia solium* (гахай) зүйлийн эгэл биетнээр үүсгэгдэн, ус, хүнсээр дамжин халдварладаг халдварт өвчин болох үхэр, гахайн цистицеркозийг ЛАМП-ПГУ-аар оношлох “Үхэр болон гахайн цистицеркозийг илрүүлэх ЛАМП-ПГУ цомог”-т тавигдах шаардлагыг тогтооход оршино.

1.2. Энэхүү ФӨ нь үхэр болон гахайн цистицеркозийн оношилгоонд хэрэглэгдэх цомогт чанарын хяналт хийх, савлах, шошголох, хадгалах, тээвэрлэх үйл ажиллагаанд хамаарна.

2. Үхэр болон гахайн цистицеркийн үүсгэгч (*Taenia spp.*)- ийг илрүүлэх ЛАМП-ПГУ цомгийн чанарын үзүүлэлт

2.1. Үхэр болон гахайн цистицеркозийг илрүүлэх ЛАМП-ПГУ цомог дараах хүснэгтэд заасан үзүүлэлтэй байна.

Оношлуурын гадаад үзүүлэлт, бүтэц

1-р дүгээр хүснэгт

	Үзүүлэлт	Утга
1	Оношлуурын цомог	ЛАМП-ПГУ-ын цомог
2	Оношлуурын гадаад байдал	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн.
3	Оношлуурын бүрдэл	ПГУ –ын холимгийн нийт эзэлхүүнийг 25 мкл хэмжээтэй байхаар бэлдэнэ. Үүнд: 20 ммоль Tris-HCl (pH 8.8), 10 ммоль KCl, 10 ммоль (NH ₄) ₂ SO ₄ , 0.1% Tween-20, 0.2 моль ПГУ буфер (2X- 1.6M betaine), 8 ммоль MgSO ₄ , 1.4 ммоль dNTP, 40 пмоль FIP болон VIP, 5 пмоль F3 болон B3 праймер мөн олшруулах ДНХ-г нэмж бэлдэнэ. (Нийт холимгийн хэмжээнээс 8 U/μl <i>Bst</i> полимераза эзлэх хэмжээг хасах) зэргээс бүрдэнэ
4	Үр дүн	• 1xTAE буфер бүхий 2%-н агарозын гель дээр электрофорезын аппаратын 100 вт-д 30 минут гүйлгэнэ.

		<p>Гелийг этидиум бромидын уусмалд 30 минут будаад, нэрмэл усанд 5 минут угаасны дараа хэт ягаан туяаны гэрэлтүүлэгчээр харж урвалын үр дүнд олширсон өвөрмөц толбуудыг ДНХ-ийн жишиг урттай харьцуулах замаар өвөрмөц толбууд илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ-ын үр дүнг тооцно.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SYBR Green I dye ашиглах: Урвал дууссаны дараа LAMP –ын бүтээгдэхүүн 1 мкл SYBR Green I (1000x) нэмнэ. Хэрэв бүтээгдэхүүн эерэг бол транслюминаторт ногоон өнгө үүсгэнэ
--	--	--

3. Үхэр цистицеркозийн үүсгэгч *Taenia saginata* болон гахайн цистицеркозийн үүсгэгч *Taenia solium* генийн өвөрмөц хэсгийг олшруулан илрүүлэх ЛАМП-ПГУ цомгийн шинжилгээний арга

3.1. Үйлдвэрлэлийн нэг удаагийн дамжлагаар бэлтгэсэн үхэр, гахайн цистицеркозийг оношлох ЛАМП-ПГУ цомгийг нэг цуврал гэнэ. Нэг цувралын оношлуурын бүрдлээс хүрэлцэхүйц хэмжээгээр сорилд авна.

3.2. Мэдэрхүйн үзүүлэлт: гадаад байдал, бүтцийг мэдрэхүйн эрхтнээр тодорхойлно. Үхэр гахайн цистицеркозийг оношлох ЛАМП-ПГУ-ын цомог нь 40 ммоль Tris-HCl (pH 8.8), 10 ммоль KCl, 20 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0.1% Tween-20, 0.2 моль ПГУ буфер (2X-1.6M betaine), 16 ммоль MgSO₄, 1.4 ммоль dNTP, 40 пмоль FIP болон VIP, 5 пмоль F3 болон B3 праймер зэргийг агуулсан хайрцагтай байна.

3.3. Савлалтын хэмжээ: 20 ммоль Tris-HCl (pH 8.8), 10 ммоль KCl, 10 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0.1% Tween-20, 0.2 моль ПГУ буфер (2X-1.6M betaine), 8 ммоль MgSO₄, 1.4 ммоль dNTP, 40 пмоль FIP болон VIP, 5 пмоль F3 болон B3 праймер, 8U (нэгж) *Bst* полимераза зэрэг оношлуурын бүрдэлүүд нь тус тусдаа цодонд савлагдсан байх ба хяналтын эерэг ДНХ 1 цодон, хяналтын сөрөг ДНХ 1 цодон зэргийг агуулсан хайрцагтай байна.

3.4. Оношилгооны праймерууд: *Taenia saginata*-ийн COX1 генийг өвөрмөц хэсгүүдийг ашигласан F3 5'-TCGGCAAATATTTAATTCCTTTG-3', B3 5'-AAATTCTAGACGCACCCG-3', FIP 5'-GCCATCGAAGGAATCAATAACCAATCTGATTTGAATTTACCCCG-3', VIP 5'-GACTTTTTATCCGCSTTTGTCTCAATGCAACGAAAACATCAAGA-3' праймерууд,

Taenia solium-ийн COX1 генийг өвөрмөц хэсгүүдийг ашигласан F3 5'-CSTATTTTAATTGGAGGTTTTGG-3', B3 5'-CTACCCCACTTCCTCTTGA-3', FIP- 5'-CAACCATGCACTTAAAGCATTCAAATTCCATTGATAAGAGGATTACGG-3', VIP- 5'-GGATGTGTTTAGGCGCTGGTACAACGAAGATGATAAGGTG-3' праймеруудаас бүрдэнэ.

3.5. Үхэр болон гахайн цистицеркийн үүсгэгч (*Taenia spp.*)-ийг илрүүлэх ЛАМП-ПГУ цомгийг шалгах:

5. Урвалын холимгийг бэлтгэн LAMP-ПГУ-н машинд доорх нөхцөлөөр олшруулалт хийнэ

LAMP урвалж (25 мкл)		
1	40 пмоль (pmol)	FIP; VIP
2	5 пмоль (pmol)	F3; B3
3	20 ммоль (mM)	Tris-HCl (pH 8.8)
4	10 ммоль (mM)	KCl
5	8 ммоль (mM)	MgSO ₄
6	10 ммоль (mM)	(NH ₄) ₂ SO ₄
7	0.1%	Tween 20
8	0.8 моль (M)	Betaine
9	1.4 мкмоль (μM)	dNTP

6. Урвалын нөхцөл нь *Taenia spp*-ын COX1 генийн дарааллын өвөрмөц хэсгийг олшруулахад 95°C 5 мин денутараци хийж (хос суурийг салгана)
7. Урьдчилан бэлтгэсэн мөсөн дээр 2-3 минут тавина.
8. Үүний дараа 8 U *Bst Bacillus stearothermophilus* ДНХ полимерзаг 1 мкл нэмж 63°C –д (*T. saginata*), 60°C –д (*T. solium*), 60 мин дулаанд инкубацлана.
9. 80°C 5 минут халааж урвалыг зогсооно.
10. Урвалын үр дүнг тооцохдоо ПГУ-ийн бүтээгдэхүүнийг электрофорезийн анализ (Урвалын дүнд 6 төрлийн урт бүхий урвалын бүтээгдэхүүн үүснэ.) эсвэл флуоресцентийн будаг (SYBR green I), эсвэл нэмж илрүүлэнэ.

4. Савлалт, хаяглалт, тээвэрлэлт болон хадгалалт

4.1 “Үхэр болон гахайн цистицеркозийг оношлох ЛАМП-ПГУ”–ын цомог нь 20 ммоль Tris-HCl (pH 8.8), 10 ммоль KCl, 10 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0.1% Tween-20, 0.2 моль ПГУ буфер (2X- 1.6M betaine), 8 ммоль MgSO₄, 1.4 ммоль dNTP, 40 пмоль FIP болон VIP, 5 пмоль F3 болон B3, 8U *Bst* полимерзага зэрэг оношлуурын бүрдэлүүд нь тус тусдаа цодонд савлагдсан байх ба хяналтын эерэг ДНХ 1 цодон, хяналтын сөрөг ДНХ 1 цодон зэргийг агуулсан ба бүгд ус үл нэвтрэх уутанд тус тус савласан хайрцагтай байна. Тус цомгийг тээвэрлэх болон хадгалах нөхцөл -20°C байна.

4.2 “Үхэр болон гахайн цистицеркозийг оношлох ЛАМП-ПГУ”–ын цомгийг шаардагдах бусад урвалжуудын хамт хайрцагт савлаад, дараах заалт бүхий шошго наана.

Үүнд:

- Үйлдвэрлэгчийн нэр эсвэл худалдааны тэмдэг
- Оношлуурын нэр

- Цувралын дугаар
 - Савлалтын хэмжээ
 - Үйлдвэрлэсэн огноо
 - Хүчинтэй хугацаа
 - МЭҮФӨ-ийн дугаар
- 4.3 Оношлуурыг үйлдвэрлэсэн өдрөөс хойш цельсийн -20 хэмд 1 жил хүртэлх хугацаанд хадгална.
- 4.4 Оношлуурыг хайрцагт савлаж тээвэрлэнэ.
- 4.5 “Зөвхөн мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэнэ” гэсэн заалт бичсэн байна.

Төгсөв.

Хавсралт 5.

Хүнс, хөдөө аж ахуй, хөнгөн үйлдвэрийн яамын сайдын 2019 оны . . . –р сарын . . . өдрийн дугаар тушаалаар батлав.

ҮЙЛДВЭРЛЭГЧИЙН ФАРМАКОПЕЙН ӨГҮҮЛЭЛИЙН ТӨСӨЛ

Үйлдвэрлэгчийн нэр: Мал эмнэлгийн хүрээлэн	МЭҮФӨ-
Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийн нэр: Салмонелла, <i>E Коли 0157</i> -ийг илрүүлэх ЛАМП ПГУ –ын цомог	

Мөрдөж эхэлсэн хугацаа: 2020 оны . . . –р сарын . . . өдөр

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан байгууллагын нэр:

Мал Эмнэлгийн Хүрээлэн

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан хүний нэр, албан тушаал, зэрэг:

1. Д.Болорцэцэг, (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Хүнсний аюулгүй байдал, эрүүл ахуйн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
2. Б. Баттөр, доктор (Ph.D), профессор, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний тэргүүлэх ажилтан
3. Ж.Энхтуяа, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Хүнсний аюулгүй байдал, эрүүл ахуйн лабораторийн эрхлэгч
4. Т.Ганцэцэг, (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Хүнсний аюулгүй байдал, эрүүл ахуйн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
5. Ч.Мөнгөнсар, (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Хүнсний аюулгүй байдал, эрүүл ахуйн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан

Боловсруулсан огноо:

2021.01.06

Нэмэлт өөрчлөлт оруулсан огноо:

Үзлэг хийх огноо:

Анхны үзлэг 2023 он дараа нь 5 жил тутам

“Салмонелла, *E Коли 0157* -ийг илрүүлэх ЛАМП ПГУ –ын цомог”

Тодорхойлолт

Салмонелла, *E Коли 0157* -ийг илрүүлэх ЛАМП ПГУ –ын цомог нь хүнсний халдвар хордлогын шалтгааныг хурдан хугацаанд зөв оношлох ЛАМП ПГУ-ыг шууд явуулах урвалжууд, праймер, хяналтын эерэг, сөрөг ДНХ бүхий цомог юм.

Нэршил

Хүнсний халдварын гол төлөөлөгчид халдварт хордлого үүсгэгч Салмонелла, *E коли 0157*-ийг молекул биологийн дэвшилтэт аргаар илрүүлэх учраас “Салмонелла, *E коли 0157*-ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх цомог” гэж нэрлэв.

1. Оршил

1.1. Энэхүү фармакопейн өгүүлэл (ФӨ)-ийн зорилго нь хүнсээр дамжин халдварладаг Салмонелла, *E коли 0157*-ийг молекул биологийн аргаар оношлох учраас “Салмонелла, *E коли 0157*-ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх цомог” -т тавигдах шаардлагыг тогтооход оршино.

1.2. Энэхүү ФӨ нь хүнсний халдварт хордлогын оношилгоонд хэрэглэгдэх ЛАМП ПГУ-ын урвалжуудыг бэлтгэх үйлдвэрлэх, чанарын хяналт хийх, савлах, шошголох, хадгалах, тээвэрлэх үйл ажиллагаанд хамаарна.

1.3. Энэ ФӨ-д иш татсан суурь стандарт болон бусад холбогдох бичиг баримтад өөрчлөлт орсон тохиолдолд тэдгээрийн хамгийн сүүлийн албан ёсны хэвлэлээс иш татаж хэрэглэнэ.

2. Салмонелла, *E коли 0157* -ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх цомгийн чанарын үзүүлэлт

2.1. Салмонелла, *E коли 0157* -ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх урвалжууд, праймер, хяналтын эерэг болон сөрөг ДНХ -ийг баталсан технологийн дагуу бэлтгэнэ.

2.2. Салмонелла, *E коли 0157* -ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх цомог нь дараах хүснэгтэд заасан үзүүлэлтэй байна.

Оношлуурын гадаад үзүүлэлт, бүтэц

1-р дүгээр хүснэгт

	Үзүүлэлт	Утга
1	Оношлуурын цомог	Салмонелла, <i>E коли 0157</i> -ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх цомог
2	Оношлуурын гадаад байдал	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн.
3	Оношлуурын бүрдэл	Гадна праймер 2, гогцооны праймер 2, дотно праймер 2 нийт 3 хос, тус тусдаа 2 төрлийн нянгийн 6 праймер (Xihong Zhao et al. 2013), мастер микс, MgSO ₄ , Bst полимераза, dNTP, хяналтын эерэг сөрөг ДНХ зэргээс бүрдэнэ

4	Оношлуурын праймер	Салмонеллй	F3 (5'-3') GAACGTGTTCGCGGAAGTC B3 (5'-3') CGGCAATAGCGTCACCTT FIP(F1c+F2;5'-3') GCG CGG CAT CCG CAT CAA TA-T CTG GAT GGT ATG CCC GG BIP(B1c+B2;5'-3') GCG AAC GGC GAA GCG TAC TG-T CGC ACC GTC AAA GGA AC LF(5'-3') TCA AAT CGG CAT CAA TAC TCA TCT G LB (5'-3') AAA GGG AAA GCC AGC TTT ACG
		<i>E коли 0157</i>	F3 (5'-3') TCCCTTTAGGGATATATATACCTT B3 (5'-3') АТААСТГАТАТТТТСАТТТСГТГАТ FIP (F1c+F2) TTCCCAGCCACTAAGTA TTGCAATA-TGAAAAAAACCCATAGCTCGA BIP (B1c+B2) TGCATCGGCCTTCTTTTT TGG-AACGTATCATGCAATAAGATCA LF (5'-3') АТААТГАТАТАТГААТАГААТГСГС

3. Салмонелла, *E коли 0157* -ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх цомгийн шинжилгээний арга

3.1. Үйлдвэрлэлийн нэг удаагийн дамжлагаар бэлтгэсэн Салмонелла, *E коли 0157* -ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх цомог бүхий бүрдэл урвалжууд, хоёр төрлийн нянгийн тус тусдаа 6 праймер, хяналтын эерэг сөрөг ДНХ бүхий бүрдлийг нэг цуврал гэнэ. Нэг цувралын урвалж бодис, мастер микс, праймер, эерэг сөрөг хяналтын ДНХ-ийг сорилд авна.

3.2. Мэдэрхүйн үзүүлэлт: гадаад байдал, бүтцийг мэдрэхүйн эрхтнээр тодорхойлно. Салмонелла, *E коли 0157* -ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх цомог нь эффендорфын цодонд савлагдсан гадна праймер 2, гогцооны праймер 2, дотно праймер 2 нийт 3 хос праймер, (хоёр тусдаа нянгийн нийт 6 хос) мастер микс, MgSO₄, Bst полимераза, dNTP, хяналтын эерэг болон сөрөг ДНХ зэрэг бүрдлийг агуулсан хайрцагтай байна.

3.3. Савлалтын хэмжээ: Гадна праймер 2, гогцооны праймер 2, дотно праймер 2 нийт 3 хос (хоёр тусдаа нянгийн нийт 6 хос) праймер , мастер микс, Bst полимераза, хяналтын эерэг сөрөг ДНХ нь эффендорфын цодонд, гадуураа шингэн нэвтрүүлэхгүй ууттай байна. 1.5 мл агуулсан гадна праймер 2, гогцооны праймер 2, дотно праймер 2 нийт 3 хос (хоёр тусдаа нянгийн нийт 6 хос) праймерийг 12 ширхэг цодонд, мастер микс 1 цодон, MgSO₄ 1 цодон, Bst полимераза 1.5 мл агуулсан 1 цодон болон dNTP 1 цодон, хяналтын эерэг ДНХ 1 цодон, хяналтын сөрөг ДНХ 1 цодон зэргийг агуулсан хайрцагтай байна.

3.4. Оношлогооны праймер: Гадна праймер 2, гогцооны праймер 2, дотно праймер 2 нийт 3 хос (Xihong Zhao et al. 2013) 6 төрлийн праймер хэрэглэдэг. Үүнд: FIP /forward inner primer/ нь F1c, TTTT тусгаарлагч болон F2c-тэй комплементар дараалал (F2)-г

агуулна. VIP /backward inner primer/ нь В1-тэй комплементар В1с дараалал, ТТТТ тусгаарлагч болон В2-н дараалал агуулна. ДНХ-ийн дээж нь бай дараалал болон 4 праймерыг агуулсан байх бөгөөд ДНХ-г задралд оруулаад маш хурдан мөсөн дээр тавьж хөргөнө. LAMP ПГУ-ыг *Bst* ДНХ полимераза нэмж эхлүүлээд 65 хэмд 1 цаг байлгана. Доторх праймер FIP бай ДНХ дэх F2с-тэй холбогдоно эндээс нийлэгжил эхэлнэ. Гаднах праймер F3 нь FIP праймераас цөөхөн суурьтай богино, концентраци багатай, бай ДНХ-ийн F3с-тэй удаанаар холбогдоно, эндээс дахин ДНХ гинж нийлэгжинэ ингэснээр FIP-тэй холбогдсон комплементар гинж салаад нэг төгсгөлдөө гогцоо /loop/ үүсгэнэ. Энэ дан гинжтэй ДНХ-д VIP праймераар ДНХ нийлэгжил эхэлнэ, дараа нь В3 праймераар дахин ДНХ гинж нийлэгжинэ, энэ нь гантель хэлбэрийн ДНХ-ийн бүтцийг үүсгэнэ, нийлэгжсэн ДНХ өөрийн праймераар ДНХ нийлэгжиж буй чиглэлийн эсрэг маш хурдан гогцоо үүсгэж хадгалагддаг. Ийнхүү нийлэгжиж буй чиглэлийн эсрэг үүссэн гогцоотой ДНХ нь LAMP ПГУ-ын 2 дох шат LAMP циклийн эхлэл болдог

3.5. *Bst* полимераза энзим : урвалыг эхлүүлж өгнө

3.6. Хяналтын эерэг ДНХ: урвалыг зөв явж байгааг батлахын тулд хяналтаар ДНХ бэлтгэн тусгайлан савлаж, цомогт оруулсан.

3.7. Салмонелла, *E коли 0157*-ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх цомгийг шалгах:

- ПГУ–ын холимгийн нийт эзлэхүүнийг 25 мкл хэмжээтэй байхаар бэлдэнэ.
 Үүнд: мастер холимгийг 20 ммоль Tris–HCl (pH 8.8), 10 ммоль KCl, 10 ммоль (NH₄)₂SO₄, 0.1% Tween-20,
 8 ммоль MgSO₄
 1.4 ммоль dNTP,
 0.8 моль ПГУ буфер (2X - 1.6M betaine),
 40 пмоль TS2FIP болон TS2VIP,
 20 пмоль TS2LF1 болон TS2LB1
 5 пмоль TS2F3 болон TS2B3 праймер
 8 U *Bst Bacillus stearothermophilus*
 1 ммоль олшруулах ДНХ
- Урвалын нөхцөл нь **Салмонелла, *E коли 0157* -ийн** давтагдсан InvA, Wzy генийн дарааллын өвөрмөц хэсгийг олшруулахад 61⁰C–д 60 мин дулаан тогтоогуурт (Looramp LP 100) олшруулна.
- Шинжилгээний үр дүнг доорх 3 аргаар унших боломжтой.
 1. LAMP бүтээгдэхүүнийг 2% агарозын гельд гүйлгэн этидиум бромидоор будаж транслюминаторт харж урвалын үр дүнг уншиж болно
 2. LAMP –ын дайвар бүтээгдэхүүнүүд буюу пирофосфатын (P₂O₇⁴⁻) ионууд нь магнийн (Mg²⁺) ионтой урвалд орж магнийн пирофосфатын цагаан тунадасыг үүсгэдэг (Mori et al., 2001). Магнийн пирофосфат үүсэхэд уусмал булингартай болдог ба энгийн нүдээр үр дүнг унших боломжтой.
 3. SYBR Green I dye ашиглах: Урвал дууссаны дараа LAMP –ын бүтээгдэхүүн SYBR Green нэмж хийхэд урвалын өнгө өөрчлөгдөж ногоон болно. Үр дүнг транслюминаторт харж дүгнэлт хийнэ.

4. Савлалт, хаяглалт, тээвэрлэлт болон хадгалалт

4.1 “Салмонелла, *E коли 0157* -ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх цомог” –ийн урвалжуудыг ус нэвтрэхгүй уутанд савлана. Гадна праймер 2, гогцооны праймер 2, дотно праймер 2 нийт 3 хос (хоёр тусдаа нянгийн нийт 6 хос) праймеруудыг 1.5 мл –ын хэмжээтэй хуванцар цодонд тус тус, хяналтын эерэг болон сөрөг ийлдийг 1.5 мл-ын хэмжээтэй хуванцар цодонд тус тус савласан. Тус цомгийг тээвэрлэхдээ + 4⁰С-ээс ихгүй хэмд байлгах бөгөөд цомгийг хүлээн авсны дараагаар урвалын урвалжууд, праймер, эерэг болон сөрөг өсгөврийг -20⁰С-д хадгална.

4.2 “Салмонелла, *E коли 0157* -ийг ЛАМП ПГУ –аар илрүүлэх цомог” –ийг шаардагдах бусад урвалжуудын хамт хайрцагт савлаад, дараах заалт бүхий шошго наана.

Үүнд:

- Үйлдвэрлэгчийн нэр эсвэл худалдааны тэмдэг
- Оношлуурын нэр
- Цувралын дугаар
- Савлалтын хэмжээ
- Үйлдвэрлэсэн огноо
- Хүчинтэй хугацаа
- МЭҮФӨ-ийн дугаар

4.3 Оношлуурыг үйлдвэрлэсэн өдрөөс хойш цельсийн -20 хэмд 1 жил хүртэлх хугацаанд хадгална.

4.4 Оношлуурыг хайрцагт савлаж тээвэрлэнэ.

4.5 “Хүнсний зах худалдааны төв болон хүнсний лабораториудад” гэсэн заалт бичсэн байна.

Төгсөв.

Хавсралт 6.

Хүнс, хөдөө аж ахуй, хөнгөн
үйлдвэрийн яамын сайдын
2021 оны . . . –р сарын . . .
өдрийн дугаар
тушаалаар батлав.

ҮЙЛДВЭРЛЭГЧИЙН ФАРМАКОПЕЙН ӨГҮҮЛЭЛИЙН ТӨСӨЛ

Үйлдвэрлэгчийн нэр: Мал эмнэлгийн хүрээлэн	МЭҮФӨ-
Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийн төслийн нэр: Мал амьтны трихинеллёзийг оношлох Полимеразын Гинжин Урвалын цомог	

Мөрдөж эхэлсэн хугацаа: 2021 оны . . . –р сарын . . . өдөр

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан байгууллагын нэр:

Мал Эмнэлгийн Хүрээлэн

Үйлдвэрлэгчийн фармакопейн өгүүллийг боловсруулсан хүний нэр, албан тушаал, зэрэг:

1. Д. Мөнхгэрэл, магистр (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний ажилтан
2. П. Мягмарсүрэн, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан, Молекул генетикийн лабораторийн эрхлэгч
3. М. Золжаргал, магистр (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
4. Б. Баттөр, доктор (Ph.D), профессор, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний тэргүүлэх ажилтан
5. Б. Батцэцэг, доктор (Ph.D), профессор, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний тэргүүлэх ажилтан, Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн захирал
6. Б. Даваасүрэн, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
7. С. Наранцацрал, (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
8. О. Банзрагчгарав, доктор (Ph.D), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
9. Т. Амгаланбаатар, магистр (MSc), Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний дэд ажилтан
10. Б. Давхарбаяр, Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Молекул генетикийн лабораторийн эрдэм шинжилгээний ажилтан

Боловсруулсан огноо: 2021.05.12

Нэмэлт өөрчлөлт оруулсан огноо:

Үзлэг хийх огноо: Анхны үзлэг 2026 он дараа нь 5 жил тутам

“Мал амьтны трихинеллёзийг оношлох Полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-ын цомог”

Тодорхойлолт

Мал амьтны трихинеллёзийн үүсгэгч *Trichinella spiralis*-ийн TS43 генийн өвөрмөц хэсгийг олшруулан илрүүлэх, молекул биологийн аргаар оношлох цомог юм.

Нэршил

Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз өвчин бөгөөд мал эмнэлэг болон хүнсний захуудын дэргэдэх лабораторийн шинжилгээнд хэрэглэгдэх тул “Мал амьтны трихинеллёзийг оношлох Полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-ын цомог” гэж нэрлэв.

1. Оршил

1.1. Энэхүү фармакопейн өгүүлэл (ФӨ) нь мал амьтны трихинеллёз өвчнийг молекул биологийн аргаар оношлох Полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-ын цомогт тавигдах шаардлагыг тогтооход оршино.

1.2. Энэхүү ФӨ нь мал амьтны трихинеллёзийн үүсгэгч *Trichinella spiralis*-ын (E-S гликопротеинийг кодог сDNA) өвөрмөц хэсэг болох TS43 генийн хэсгийг олшруулан илрүүлэх ПГУ-ын цомгийн оношлогоонд чанарын хяналт хийх, савлах, шошголох, хадгалах, тээвэрлэх үйл ажиллагаанд хамаарна.

1.3. Энэ ФӨ-д иш татсан суурь стандарт болон бусад холбогдох бичиг баримтанд өөрчлөлт орсон тохиолдолд тэдгээрийн хамгийн сүүлийн албан ёсны хэвлэлээс иш татаж хэрэглэнэ. Үүнд: [Wu Z¹](#), [Nagano Y.](#), [Takahashi Y.](#) The detection of *Trichinella* with polymerase chain reaction (PCR) primers constructed using sequences of random amplified polymorphic DNA (RAPD) or sequences of complementary DNA encoding excretory-secretory (E-S) glycoproteins *Parasitology* 117 (Pt 2)(2):173-83 DOI: 10.1017/S0031182098002881

2. Мал амьтны трихинеллёзийг оношлох ПГУ-ын цомгийн чанарын үзүүлэлт

2.1. Мал амьтны трихинеллёзийг үүсгэгч *Trichinella spiralis* -ын TS43 генийн өвөрмөц хэсгийг олшруулан илрүүлэх ПГУ-ын цомог дараах хүснэгтэд заасан үзүүлэлтэй байна.

Оношлуурын гадаад үзүүлэлт, бүтэц

1-р дүгээр хүснэгт

	Үзүүлэлт	Утга
1	Оношлуурын цомог	ПГУ-ын цомог
2	Оношлуурын гадаад байдал	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн.
3	Оношлуурын бүрдэл	ПГУ –ын холимог Праимерууд
4	Үр дүн (529 хос суурь)	Өвөрмөц толбо илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ-ын үр дүнг тооцно.

3. Мал амьтны трихинеллэцийг оношлох ПГУ-ын цомгийн шинжилгээний арга

3.1. Үйлдвэрлэлийн нэг удаагийн дамжлагаар бэлтгэсэн Мал амьтны трихинеллэцийн үүсгэгч *Trichinella spiralis* - н TS43 генийг олшруулан оношлох ПГУ-ын цомгийг нэг цуврал гэнэ. Нэг цувралын оношлуурын бүрдлээс хүрэлцэхүйц хэмжээгээр сорилд авна.

3.2. Мэдрэхүйн үзүүлэлт: Гадаад байдал, бүтцийг мэдрэхүйн эрхтнээр тодорхойлно. Мал амьтны трихинеллэцийг оношлох ПГУ-ын цомог нь Урвалын буфер – 2 мкл, dNTP чөлөөт нуклеотид 2 мкл, праймер TS43 F -10 pmol буюу пикомоль, TS43 R- 10 pmol буюу пикомоль, Таq полимераза фермент 0.8 нэгж мөн ПГУ-н ус зэргийг агуулсан цодонгууд доторх тодорхой хэмжээний өнгөгүй, шингэн харагдана.

3.3. Савлалтын хэмжээ: Урвалын буфер – 2 мкл, dNTP чөлөөт нуклеотид 2 мкл, праймер TS43 F -10 pmol буюу пикомоль, TS43 R - 10 pmol буюу пикомоль, Таq полимераза фермент 0.8 нэгж мөн ПГУ-н ус зэрэг оношлуурын бүрдэлүүд нь тус тусдаа цодонд савлагдсан байх ба хяналтын эерэг ДНХ 1 цодон, хяналтын сөрөг ДНХ 1 цодон зэргийг агуулсан хайрцагтай байна.

3.4. Оношлогооны праймерууд: TS43F 5'- GGC AAA TGA TGG AGC AAATA -3' болон TS43 R 5'- GGG ATG AAG ATG TTT TGG AAT -3' праймер дараалал бүхий 1 хос праймерийг ашиглан ПГУ тавина.

3.5. Мал амьтны трихинеллэцийг оношлох ПГУ-ын цомгийг шалгах:

- ПГУ буфер – 2 мкл
- dNTP (1.4mM) - 2 мкл
- Праймер TS43 F (10 pmol) - 1 мкл

- Праймер TS43 R (10 pmol) - 1 мкл
- Таq полимераза- 0.8 мкл
- ПГУ- н ус- 16.2 мкл
- Шинжлэх ДНХ – 2 мкл
- Урвалын холимогийг бэлтгэн ПГУ-н машинд доорх нөхцөлөөр олшруулалт хийнэ
- Урвалын нөхцөл нь *T. gondii* –ын TS 43 F,R генийн өвөрмөц давтагдсан 521 хос суурь генийн дарааллын өвөрмөц хэсгийг олшруулахад 94⁰С 7 минут денатураци хийж ДНХ- ийн хос суурийг салгана.
- Үндсэн ПГУ- н нөхцөл нь 95⁰С-т 2 минут, 94⁰С-т 10 сек, 55⁰С-т 30 сек нийт 45 циклийн давталттайгаар олшруулна. 72⁰С-т 20 сек байлгаж олшруулна.
- Урвалын үр дүнг тооцохдоо ПГУ- ын үр дүнд олшруулсан ДНХ- ээс 5мкл, ачаалагч буферээс 1 мкл соруулан авч холиод 1хТАЕ буфер бүхий 2%-н агарозын гель дээр электрофорезын аппаратын 100 вт-д 30 минут гүйлгэнэ. Гелийг этидиум бромидын уусмалд 30минут будаад, нэрмэл усанд 5 минут угаасны дараа хэт ягаан туяаны гэрэлтүүлэгчээр харж урвалын үр дүнд олширсон өвөрмөц толбыг ДНХ- ийн жишиг урттай харьцуулах замаар өвөрмөц толбо илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ- ын үр дүнг тооцно.

4. Савлалт, хаяглалт, тээвэрлэлт болон хадгалалт

4.1 “Мал амьтны трихинеллёзийг оношлох ПГУ”– ын цомог нь Урвалын буфер – 2 мкл, dNTP чөлөөт нуклеотид 2 мкл, праймер TS43 F -10 pmol буюу пикомоль, TS43 R- 10 pmol буюу пикомоль, Таq полимераза фермент 0.8 нэгж мөн ПГУ-н ус зэрэг оношлуурын бүрдлүүд нь тус тусдаа цодонд савлагдсан байх ба хяналтын эерэг ДНХ, хяналтын сөрөг ДНХ оношлуурын бүрдлүүд нь тус тусдаа нэг нэг цодонд савлагдсан байх ба бүгд ус үл нэвтрэх уутанд савлан хайрцагласан байна. Тус цомгийг тээвэрлэх болон хадгалах нөхцөл -20⁰Сдээш хүйтэнд байлгана.

4.2 “Мал амьтны трихинеллёзийг оношлох ПГУ”– ын цомгийг шаардагдах бусад урвалжуудын хамт хайрцагт савлаад, дараах заалт бүхий шошго наана.

Үүнд:

- Үйлдвэрлэгчийн нэр эсвэл худалдааны тэмдэг
- Оношлуурын нэр
- Цувралын дугаар

- Савлалтын хэмжээ
- Үйлдвэрлэсэн огноо
- Хүчинтэй хугацаа
- МЭҮФӨ-ийн дугаар

4.3 Оношлуурыг үйлдвэрлэсэн өдрөөс хойш цельсийн -20°C хэмд 1 жил хүртэлх хугацаанд хадгална.

4.4 Оношлуурыг хайрцагт савлаж тээвэрлэнэ.

4.5 “Зөвхөн мал эмнэлгийн зориулалтаар хэрэглэнэ” гэсэн заалт бичсэн байна.

Төгсөв.

Хавсралт 7.

12/16/21, 4:06 PM

МЭЭСБУЛ v1.2

МЭЭСБУЛ УТУГ-ын Захирлын 2020 оны 03-р сарын 16-ны өдрийн
А/36 тоот тушаалаар батлав. Маягт №11/01



**"МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЭМИЙН
СОРИЛТ БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН
УЛСЫН ЛАБОРАТОРИ" УТУГ**

Монгол улс, УБ хот, Хан-Уул дүүрэг, 12-
р хороо, Сонгино

Уяриулах, утас: 7049-2942, Факс:7049-2942



**СОРИЛТЫН ДҮН
CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Бүртгэлийн дугаар/Registration number/: 21-721

Шинжилгээ хийлгэх хүсэлт гаргасан газрын нэр: Хөдөө аж ахуйн их сургууль
/The name of customer's request for analysis/

Дэжгийн тодорхойлолт /Sample description/					
Дэжгийн дугаар Sample number	Дэжгийн нэр Name of sample	Цувралын дугаар Batch number	Үйлдвэрлэсэн улс The country of original manufacturer	Хүчинтэй хугацаа Expire date	Дэжгийн тоо хэмжээ Quantity of the sample
722	Салмонелла, E Коли 0157-ийг илрүүлэх ЛАМП ПГУ-ын цомог	001-р	Монгол Улс / МУ/	2021/03/10 - 2022/03/10	1 цомог

Хүлээн авсан өгнөө Date of receipt	Шинжилгээ дууссан өгнөө Date of test completion	Хэвлэсэн өгнөө Date of issue of the report
2021 он 11 сар 22 өдөр	2021 он 12 сар 07 өдөр	2021 он 12 сар 16 өдөр

Дэжгийн дугаар Sample number	Шинжилгээний аргын стандарт Method of analysis	Шинжилсэн үзүүлэлтийн нэр, хэмжих нэгж Test parameter, unit	Шаардлага Test specification, unit	Шинжилгээний дүн Test results
722	МЭУФӨ-ийн төсөл- Салмонелла, E Коли 0157-ийг илрүүлэх ЛАМП ПГУ-ын цомог	Оношлуурын цомог	Салмонелла E Коли 0157-ийг ЛАМП ПГУ-аар илрүүлэх цомог	Salimonella, E. Coli 0157-ийг ЛАМП ПГУ-аар илрүүлэх цомог
	МЭУФӨ-ийн төсөл- Салмонелла, E Коли 0157-ийг илрүүлэх ЛАМП ПГУ-ын цомог	Оношлуурын гадаад байдал	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн	Зориулалтын хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн
	МЭУФӨ-ийн төсөл- Салмонелла, E Коли 0157-ийг илрүүлэх ЛАМП ПГУ-ын цомог	Оношлуурын бүрдэл	Урвалын холимог-1 цодон, праймеруудын багц, Bst полимераз-1 цодон, эерэг болон сөрөг хяналт-2 цодон	Урвалын холимог-1 цодон Праймеруудын багц Bst полимераз 1 цодон Эерэг болон сөрөг хяналт-2 цодон

d:\ms.shinjilgee.mn\seeTestResult\199e0fb76af0f86ff147ead0ea60d7d25cdd681

1/2

Дээжийн дугаар Sample number	Шинжилгээний аргын стандарт Method of analysis	Шинжилсэн үзүүлэлтийн нэр, хэмжих нэгж Test parameter, unit	Шаардлага Test specification, unit	Шинжилгээний дүн Test results
	МЭҮФӨ-ийн төсөл-Салмонелла, E Коли 0157-ийг илрүүлэх ЛАМП ПГУ-ын цомог	Оношлуурын үр дүн	Эерэг дээж агарозын гель дээр өвөрмөц толбо илэрнэ, сөрөг бол толбо илрэхгүй. Пирофосфатын ионууд нь магнийн ионтой урвалд орж эерэг бол цагаан тунадас үүснэ, сөрөг бол тунадас үүсэхгүй. SYBR Green I dye нэмэхэд эерэг тохиолдолд ногоон өнгө үүснэ.	6 дээж шинжлэхэд 4 дээжинд магнийн пирофосфатын цагаан тунадас үүсч, 2 дээжинд тунадас үүсээгүй ба эерэг үр дүн гарсан 4 дээжинд SYBR Green 1 dye нэмж транслуминаторт хархад ногоон өнгө үүсэв. Идэвхтэй

Санал тайлбар:
Opinions and interpretation

Шинжилгээ гүйцэтгэсэн:

лабораторийн эрхлэгч:

Хянаж баталгаажуулсан:

Чанарын менежер:



/С.Бямбаа /

/Б.Мөнхцэцэг /

гарын үсэг/signature/

Энэ шинжилгээний дүн нь зөвхөн шинжилгээ хийсэн дээжинд хамаарна.

Шинжилгээний дүнг лабораторийн зөвшөөрөлгүй хэсэгчилэн болон бүхэлд нь хуулбарлахыг хориглоно.

Хавсралт 8.

16/21, 4:07 PM

МЭЭСБУЛ и.2

МЭЭСБУЛ УТҮГ-ын Захирлын 2020 оны 03-р сарын 16-ны өдрийн
А36 тоот тушаалаар батлав.



**"МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЭМИЙН
СОРИЛТ БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН
УЛСЫН ЛАБОРАТОРИ" УТҮГ**

Монгол улс, УБ хот, Хан-Уул дүүрэг, 12-
р хороо, Сонгино
Харилцах утас: 7049-2942, Факс: 7049-2942



MNAS
Accreditation
system
PC 02
MNS ISO/IEC 17065

**БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН АЛБАНЫ
ЭКСПЕРТИЙН ДҮГНЭЛТ
CONCLUSION OF CERTIFICATION EXPERT**

Бүртгэлийн дугаар /Registration number/ : 21-721 **Олгосон : 2021 он 12 сар 16 өдөр**
Зориулалт: /Purpose/ : Бүртгэлд бүртгүүлэх **/Date of issue/**

"Хөдөө аж ахуйн их сургууль" ААН-ийн үйлдвэрлэсэн "Салмонелла, Е Коли 0157-ийг илрүүлэх
LAMP ПГУ-ын цомог" оношлуур-ийн/ын - цомог бүхий 001-р цувралын дээж нь сорилтын
лабораторийн 21-721 тоот дүнгээр МЭҮФӨ-ийн төсөл -ийн шаардлагыг хангаж байна.

Сорилтын 21-721 дугаартай дүнг хавсаргав.

Фармакопейн өгүүлэл батлуулах шаардлагатай.

Дүгнэлт гаргасан:
Чанарын баталгаажуулалтын эксперт:

О.Оюунбадам
гарын үсэг/signature /М. Оюунбадам /



dims.shinjilgee.mn/seeTestResult/199e0ffb76af0f86ff147ead0ea60d7d25cdd681

1/1

12/16/21, 4:13 PM

МЭЭСБУЛ v1.2

МЭЭСБУЛ УТУГ-ын Захирлын 2020 оны 03-р сарын 16-ны өдрийн
А/36 тоот тушаалаар батлав. Маягт №11/01

"МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЭМИЙН
СОРИЛТ БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН
УЛСЫН ЛАБОРАТОРИ" УТУГ

Монгол улс, УБ хот, Хан-Уул дүүрэг, 12-
р хороо, Сонгино

Уяарлиах, утас: 7049-2942, Факс: 7049-2942.



СОРИЛТЫН ДҮН
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Бүртгэлийн дугаар /Registration number/ : 21-720

Шинжилгээ хийлгэх хүсэлт гаргасан газрын нэр : Хөдөө аж ахуйн их сургууль
/The name of customer's request for analysis/

Дэжгийн тодорхойлолт /Sample description/					
Дэжгийн дугаар Sample number	Дэжгийн нэр Name of sample	Цувралын дугаар Batch number	Үйлдвэрлэсэн улс The country of original manufacturer	Хүчинтэй хугацаа Expire date	Дэжгийн тоо хэмжээ Quantity of the sample
721	Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч Toxoplasma gondii-ыг илрүүлэх ЛАМП-ПГУ-ын цомог	001-р	Монгол Улс / МУ/	2021/03/10 - 2022/03/10	1 цомог

Хүлээн авсан өгнөө Date of receipt	Шинжилгээ дууссан өгнөө Date of test completion	Хэвлэсэн өгнөө Date of issue of the report
2021 он 11 сар 22 өдөр	2021 он 11 сар 30 өдөр	2021 он 12 сар 16 өдөр

Дэжгийн дугаар Sample number	Шинжилгээний аргын стандарт Method of analysis	Шинжилсэн үзүүлэлтийн нэр, хэмжих нэгж Test parameter, unit	Шаардлага Test specification, unit	Шинжилгээний дүн Test results
721	МЭУФО-ийн төсөл- Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч Toxoplasma gondii-ыг илрүүлэх ЛАМП-ПГУ-ын цомог	Оношлуурын цомог	ЛАМП-ПГУ-ын цомог	ЛАМП-ПГУ-ын цомог
	МЭУФО-ийн төсөл- Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч Toxoplasma gondii-ыг илрүүлэх ЛАМП-ПГУ-ын цомог	Оношлуурын гадаад байдал	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн

d:\ms.shinjiilee.mn\seeTestResult\0ec4332b42ebfadca2fbbc6134a750f567086ece

1/2



"МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЭМИЙН
СОРИЛТ БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН
УЛСЫН ЛАБОРАТОРИ" УТУГ

Монгол улс, УБ хот, Хан-Уул дүүрэг, 12-
р хороо, Сонгино

Харилцах утас: 7049-2942, Факс:7049-2942



**БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН АЛБАНЫ
ЭКСПЕРТИЙН ДҮГНЭЛТ
CONCLUSION OF CERTIFICATION EXPERT**

Бүртгэлийн дугаар /Registration number/ : 21-720

Олгосон : 2021 он 12 сар 16 өдөр

/Date of issue/

Зориулалт: /Purpose/ : Бүртгэлд бүртгүүлэх

"Хөдөө аж ахуйн их сургууль" ААН-ийн үйлдвэрлэсэн "Мал амьтны токсоплазмозын үүсгэгч *Toxoplasma gondii*-ыг илрүүлэх ЛАМГ-ПГУ-ын цомог" оношлуур-ийн/ын - цомог бүхий 001-р цувралын дээж нь сорилтын лабораторийн 21-720 тоот дүнгээр МЭУФӨ-ийн төсөл -ийн шаардлагыг хангаж байна.

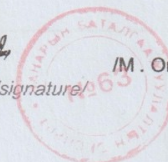
Сорилтын 21-720 дугаартай дүнг хавсаргав.

Фармакопейн өгүүлэл батлуулах шаардлагатай.

Дүгнэлт гаргасан:

Чанарын баталгаажуулалтын эксперт:

М. Оюунбадам /
гарын үсэг/signature

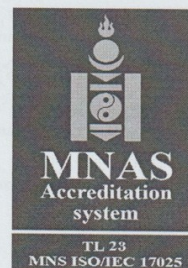


МЭЭСБУЛ УТУГ-ын Захирлын 2020 оны 03-р сарын 16-ны өдрийн
А/36 тоот тушаалаар батлав. Маягт №11/01



"МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЭМИЙН
СОРИЛТ БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН
УЛСЫН ЛАБОРАТОРИ" УТУГ

Монгол улс, УБ хот, Хан-Уул дүүрэг, 12-р хороо, Сонгино
Харилцах утас: 7049-2942, Факс: 7049-2942



СОРИЛТЫН ДҮН
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Бүртгэлийн дугаар /Registration number/ : 21-51

Шинжилгээ хийлгэх хүсэлт гаргасан газрын нэр : Хөдөө аж ахуйн их сургууль
/The name of customer's request for analysis/

Дээжийн тодорхойлолт /Sample description/					
Дээжийн дугаар Sample number	Дээжийн нэр Name of sample	Цувралын дугаар Batch number	Үйлдвэрлэсэн улс The country of original manufacturer	Хүчинтэй хугацаа Expire date	Дээжийн тоо хэмжээ Quantity of the sample
51	Мал амьтны токсоплазмыг илрүүлэх полимеразын гинжин урвалын цомог	001-р	Монгол Улс / МУ/	2021/03/10 - 2022/03/10	1 цомог

Хүлээн авсан огноо Date of receipt	Шинжилгээ дууссан огноо Date of test completion	Хэвлэсэн огноо Date of issue of the report
2021 он 11 сар 22 өдөр	2021 он 12 сар 08 өдөр	2022 он 01 сар 03 өдөр

Дээжийн дугаар Sample number	Шинжилгээний аргын стандарт Method of analysis	Шинжилсэн үзүүлэлтийн нэр, хэмжих нэгж Test parameter, unit	Шаардлага Test specification, unit	Шинжилгээний дүн Test results
51	МЭҮФӨ төсөл-Мал амьтны токсоплазмыг илрүүлэх полимеразын гинжин урвалын цомог	Оношлуурын цомог	ПГУ-ын цомог	ПГУ-ын цомог
	МЭҮФӨ төсөл-Мал амьтны токсоплазмыг илрүүлэх полимеразын гинжин урвалын цомог	Оношлуурын гадаад байдал	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн
	МЭҮФӨ төсөл-Мал амьтны токсоплазмыг илрүүлэх полимеразын гинжин урвалын цомог	Оношлуурын бүрдэл	Урвалын холимог-5 цодон, праймер ТОХ4-1 цодон, ТОХ5-1 цодон, эерэг болон сөрөг хяналт 2 цодон,	Урвалын холимог-5 цодон Праймер ТОХ4-1 цодон ТОХ5-1 цодон Эерэг болон сөрөг хяналт -2 цодон
	МЭҮФӨ төсөл-Мал амьтны токсоплазмыг илрүүлэх полимеразын гинжин урвалын цомог	Үр дүн	Өвөрмөц толбо илэрнэ.	10 дээж шинжилснээс 9 дээж эерэг, 1 дээж сөрөг үр дүн үзүүлэв

Санал тайлбар:
Opinions and interpretation

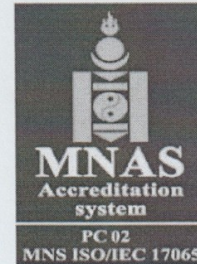
Хавсралт 12.

МЭЭСБУЛ УТУГ-ын Захирлын 2020 оны 03-р сарын 16-ны өдрийн
А36 тоот гушаалаар батлав.



"МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЭМИЙН
СОРИЛТ БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН
УЛСЫН ЛАБОРАТОРИ" УТУГ

Монгол улс, УБ хот, Хан-Уул дүүрэг, 12-р хороо, Сонгино
Харилцах утас: 7049-2942, Факс: 7049-2942



БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН АЛБАНЫ
ЭКСПЕРТИЙН ДҮГНЭЛТ
CONCLUSION OF CERTIFICATION EXPERT

Бүртгэлийн дугаар /Registration number/ : 21-51

Олгосон : 2022 он 01 сар 03 өдөр
/Date of issue/

Зориулалт: /Purpose/ : Бүртгэлд бүртгүүлэх

"Хөдөө аж ахуйн их сургууль" ААН-ийн үйлдвэрлэсэн "Мал амьтны токсоплазмыг илрүүлэх полимеразын гинжин урвалын цомог" оношлуур-ийн/ын - цомог бүхий 001-р цувралын дээж нь сорилтын лабораторийн 21-51 тоот дүнгээр МЭУФӨ төсөл -ийн шаардлагыг хангаж байна.

Сорилтын 21-51 дугаартай дүнг хавсаргав.

Фармакопейн өгүүлэл батлуулах шаардлагатай.

Дүгнэлт гаргасан:

Чанарын баталгаажуулалтын эксперт:


гарыг үсэг/signature/

/М . Оюунбадам /

12/16/21, 4:02 PM

МЭЭСБУЛ v1.2

МЭЭСБУЛ УТУГ-ын Захирлын 2020 оны 03-р сарын 16-ны өдрийн
А/36 тоот тушаалаар баглав. Маягт №11/01

"МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЭМИЙН
СОРИЛТ БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН
УЛСЫН ЛАБОРАТОРИ" УТУГ

Монгол улс, УБ хот, Хан-Уул дүүрэг, 12-
р хороо, Сонгино

Харилцах утас: 7049-2942, Факс:7049-2942



СОРИЛТЫН ДҮН
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Бүртгэлийн дугаар /Registration number/ : 21-718

Шинжилгээ хийлгэх хүсэлт гаргасан газрын нэр : Хөдөө аж ахуйн их сургууль

/The name of customer's request for analysis/

Дэжгийн тодорхойлолт /Sample description/					
Дэжгийн дугаар Sample number	Дэжгийн нэр Name of sample	Цувралын дугаар Batch number	Үйлдвэрлэсэн улс The country of original manufacturer	Хүчинтэй хугацаа Expire date	Дэжгийн тоо хэмжээ Quantity of the sample
719	Үхэр болон гахайн цистицеркозийг илрүүлэх ЛАМП-ПГУ цомог	001-р	Монгол Улс / МУ/	2021/03/10 - 2022/03/10	1 цомог

Хүлээн авсан огноо Date of receipt	Шинжилгээ дууссан огноо Date of test completion	Хэвлэсэн огноо Date of issue of the report
2021 он 11 сар 22 өдөр	2021 он 11 сар 30 өдөр	2021 он 12 сар 16 өдөр

Дэжгийн дугаар Sample number	Шинжилгээний аргын стандарт Method of analysis	Шинжилсэн зүүлэлтийн нэр, хэмжих нэгж Test parameter, unit	Шаардлага Test specification, unit	Шинжилгээний дүн Test results
719	МЭУФӨ-ийн төсөл-Үхэр болон гахайн цистицеркозийг илрүүлэх ЛАМП- ПГУ цомог-1	Оношлуурын цомог	ЛАМП-ПГУ-ын цомог	Ламп-ПГУ-ын цомог
	МЭУФӨ-ийн төсөл-Үхэр болон гахайн цистицеркозийг илрүүлэх ЛАМП- ПГУ цомог-1	Оношлуурын гадаад байдал	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн
	МЭУФӨ-ийн төсөл-Үхэр болон гахайн цистицеркозийг илрүүлэх ЛАМП- ПГУ цомог-1	Оношлуурын бүрдэл	ПГУ-ын холимогууд-5 цодон, праймеруудын багц-4 цодон, Bst ДНХ полимераза-1 цодон, эерэг болон сөрөг хяналт-2 цодон	ПГУ-ын холимогууд-5 цодон Праймеруудын багц- 4 цодон Bst ДНХ полимераза-1 цодон Эерэг болон сөрөг хяналт-2 цодон

d:\ms.shinjilgee.mn\seeTestResult\93b4be82c35ec7c98e2c942c82e41517c4d4f3f9

1/2

Дээжийн дугаар Sample number	Шинжилгээний аргын стандарт Method of analysis	Шинжилсэн үзүүлэлтийн нэр, хэмжих нэгж Test parameter, unit	Шаардлага Test specification, unit	Шинжилгээний дүн Test results
	МЭҮФӨ-ийн төсөл-Үхэр болон гахайн цистицеркоз-ийг илрүүлэх ЛАМП-ПГУ цомог-1	Үр дүн	Эерэг дээж агарозын гель дээр электрофорезын өвөрмөц зургаан толбо илэрнэ.Сөрөг бол толбо илрэхгүй. SYBR Green I dye нэмж хийсэд эерэг тохиолдолд урвалын өнгө өөрчлөгдсөнийг транслюминаторт харж ногоон өнгө үүснэ.	11 дээжнээс 3 дээжинд агарозын гель дээр толбо буюу банд үүсч, 8 дээжинд толбо үүсээгүй

Санал тайлбар:

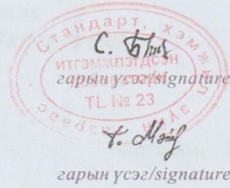
Opinions and interpretation

Шинжилгээ гүйцэтгэсэн:

лабораторийн эрхлэгч:

Хянаж баталгаажуулсан:

Чанарын менежер:



/С.Бямбаа /

/Б.Мөнхцэцэг /

Энэ шинжилгээний дүн нь зөвхөн шинжилгээ хийсэн дээжинд хамаарна.

Шинжилгээний дүнг лабораторийн зөвшөөрөлгүй хэсэгчилэн болон бүхэлд нь хуулбарлахыг хориглоно.

Хавсралт 14.

16/21, 4:04 PM

МЭЭСБУЛ v1.2

МЭЭСБУЛ УТУГ-ын Захирлын 2020 оны 03-р сарын 16-ны өдрийн А36 тоот тушаалаар батлав.



"МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЭМИЙН СОРИЛТ БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН УЛСЫН ЛАБОРАТОРИ" УТУГ

Монгол улс, УБ хот, Хан-Уул дүүрэг, 12-р хороо, Сонгино

Харилцах утас: 7049-2942, Факс: 7049-2942



БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН АЛБАНЫ ЭКСПЕРТИЙН ДҮГНЭЛТ CONCLUSION OF CERTIFICATION EXPERT

Бүртгэлийн дугаар /Registration number/: 21-718

Олгосон : 2021 он 12 сар 16 өдөр
/Date of issue/

Зориулалт: /Purpose/: Бүртгэлд бүртгүүлэх


"Хөдөө аж ахуйн их сургууль" ААН-ийн үйлдвэрлэсэн "Үхэр болон гахайн цистицеркозийг илрүүлэх ЛАМГ-ПГУ цомог" оношлуур-ийн/ын - цомог бүхий 001-р цувралын дээж нь сорилтын лабораторийн 21-718 тоот дүнгээр МЭҮФӨ-ийн төсөл -ийн шаардлагыг хангаж байна.

Сорилтын 21-718 дугаартай дүнг хавсаргав.

Фармакопейн өгүүлэл батлуулах шаардлагатай.

Дүгнэлт гаргасан:

Чанарын баталгаажуулалтын эксперт:


гарын үсэг/signature /М. Оюунбадам /



Хавсралт 15.

12/16/21, 4:16 PM

МЭЭСБУЛ v1.2

МЭЭСБУЛ УТҮГ-ын Захирлын 2020 оны 03-р сарын 16-ны өдрийн А/36 тоот тушаалаар баглав. Маягт №11/01



**"МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЭМИЙН
СОРИЛТ БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН
УЛСЫН ЛАБОРАТОРИ" УТҮГ**

Монгол улс, УБ хот, Хан-Уул дүүрэг, 12-р хороо, Сонгино

Харилцах утас: 7049-2942, Факс: 7049-2942



**СОРИЛТЫН ДҮН
CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Бүртгэлийн дугаар /Registration number/ : 21-719

Шинжилгээ хийлгэх хүсэлт гаргасан газрын нэр : Хөдөө аж ахуйн их сургууль
/The name of customer's request for analysis/

Дээжийн тодорхойлолт /Sample description/					
Дээжийн дугаар Sample number	Дээжийн нэр Name of sample	Цувралын дугаар Batch number	Үйлдвэрлэсэн улс The country of original manufacturer	Хүчинтэй хугацаа Expire date	Дээжийн тоо хэмжээ Quantity of the sample
720	Мал амьтны трихинеллезийг оношлох полимеразын гинжин урвалын цомог	001-p	Монгол Улс / МУ/	2021/03/10 - 2022/03/10	1 цомог

Хүлээн авсан огноо Date of receipt	Шинжилгээ дууссан огноо Date of test completion	Хэвлэсэн огноо Date of issue of the report
2021 он 11 сар 22 өдөр	2021 он 11 сар 30 өдөр	2021 он 12 сар 16 өдөр

Дээжийн дугаар Sample number	Шинжилгээний аргын стандарт Method of analysis	Шинжилсэн үзүүлэлтийн нэр, хэмжих нэгж Test parameter, unit	Шаардлага Test specification, unit	Шинжилгээний дүн Test results
720	МЭҮФӨ төсөл-Мал амьтны трихинеллезийг оношлох полимеразын гинжин урвалын цомог	Оношлуурын цомог	ПГУ-ын цомог	ПГУ-ын цомог
	МЭҮФӨ төсөл-Мал амьтны трихинеллезийг оношлох полимеразын гинжин урвалын цомог	Оношлуурын гадаад байдал	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн	Тусгай хайрцагт савлагдан битүүмжлэгдсэн
	МЭҮФӨ төсөл-Мал амьтны трихинеллезийг оношлох полимеразын гинжин урвалын цомог	Оношлуурын бүрдэл	ПГУ-ын холимог праймерууд	ПГУ-ын холимог Праймерууд
	МЭҮФӨ төсөл-Мал амьтны трихинеллезийг оношлох полимеразын гинжин урвалын цомог	Оношлуурын үр дүн	Өвөрмөц толбо илэрсэн дээжийг эерэг, илрээгүй дээжийг сөрөг гэж үзэн ПГУ-ын үр дүнг тооцно.	10 дээж шинжилсэнээс 1 дээжинд өвөрмөц банд үүсч, 9 дээжинд сөрөг үр дүн үзүүлэв

Санал тайлбар:

Opinions and interpretation

Шинжилгээ гүйцэтгэсэн:
лабораторийн эрхлэгч:



/С.Бямбаа /

dlims.shinjilgee.mn/seeTestResult/bc1c41b6efdcff4ce85576b28189a3cd3c8d6ae1

1/2

12/18/21, 4:18 PM

МЭЭСБУЛ v1.2

МЭЭСБУЛ УТУГ-ын Захирлын 2020 оны 03-р сарын 16-ны өдрийн А36 тоот тушаалаар батлав.



**"МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ЭМИЙН
СОРИЛТ БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН
УЛСЫН ЛАБОРАТОРИ" УТУГ**

Монгол улс, УБ хот, Хан-Уул дүүрэг, 12-р хороо, Сонгино
Харилцах утас: 7049-2942, Факс: 7049-2942



**БАТАЛГААЖУУЛАЛТЫН АЛБАНЫ
ЭКСПЕРТИЙН ДҮГНЭЛТ
CONCLUSION OF CERTIFICATION EXPERT**

Бүртгэлийн дугаар /Registration number/ : 21-719 **Олгосон : 2021 он 12 сар 16 өдөр**
Зориулалт: /Purpose/ : Бүртгэлд бүртгүүлэх **/Date of issue/**

"Хөдөө аж ахуйн их сургууль" ААН-ийн үйлдвэрлэсэн "Мал амьтны трихинеллэзийг оношлох толимеразын гинжкин урвалын цомог" оношлуур-ийн/ын - цомог бүхий 001-р цувралын дээж нь сорилтын лаборат орийн 21-719 тоот дүнгээр МЭУФӨ төсөл -ийн шаардлагыг хангаж байна.

Сорилтын 21-719 дугаартай дүнг хавсаргав.

Фармакопейн өгүүлэл батлуулах шаардлагатай.

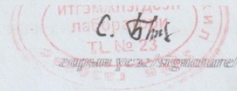
Дүгнэлт гаргасан:
Чанарын баталгаажуулалтын эксперт:

М. Оюунбадам /
гарын үсэг/signature



dims.shinjilgee.mn/seeTestResult/bc1c41b6efdcff4ce85576b28189a3cd3c8d6ae1

1/1



Хягаж баталгаажуулсан:

Чанарын менежер:

Y. Naif

/Б.Мөнхцэцэг/

гарын үсэг/signature/

Энэ шинжилгээний дүнг лабораторийн захирал эзэмшсэн дээд зиндаанд хамгаарна.
Шинжилгээний дүнг лабораторийн захирал эзэмшсэн дээд зиндаанд хамгаарна.



МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ХҮРЭЭЛЭН
ЭРДМИЙН ЗӨВЛӨЛИЙН ХУРЛЫН ПРОТОКОЛ

2021 оны 12 сарын 09 өдөр

Дугаар 21/07/01

Улаанбаатар хот

ХЭЛЭЛЦСЭН НЬ: Өргөтгөсөн хуралдааныг эрдмийн зөвлөлийн гишүүдийн 77.7%-ийн ирцтэйгээр 2021 оны 12 сарын 09-ний өдрийн 11:30 цагт танхим ба цахимаар хослуулан хийв. Зүүм линк: <https://us02web.zoom.us/j/3361479956?pwd=V1qzbGs4VHozejlzQUxFWnVPL0pDZz09> Хуралдааныг Эрдмийн зөвлөлийн дарга, профессор Б.Батцэцэг удирдан явуулав. 2018-2021 онд хэрэгжүүлсэн "Хүнсээр дамжин халдварладаг эмгэг төрүүлэгч илрүүлэх дэвшилтэт аргыг нэвтрүүлж, хүнсний аюулгүй байдлын эрсдэлийг үнэлэх" монгол-хятад улсын хамтарсан судалгааны төсөлийн "Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз шимэгч токсоплазмыг молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт (LAMP- PCR) аргын судалгаа" сэдэвт ажлын тайлан.

СОНССОН НЬ: Тайланг ЭШДэд ажилтан М. Золжаргал танилцуулав. Дэлхий нийтэд хүнсний аюулгүй байдал хурц асуудал болж байгаа өнөө үед сүү, сүүн болон мах махан бүтээгдэхүүний гол нөөц болсон үхэр сүргийн эрүүл мэнд, үржлийн асуудал нилээд чухлаар тавигдаж байна. Иймээс токсоплазмозийн халдварыг маханд илрүүлэн тогтоох, токсоплазмозийг оношлох шинэ үеийн оношлуурын технологи боловсруулах, үүсгэгчийн молекул генетикийн судалгаанд үндэслэн тэдгээрийг оношлох молекул биологийн арга боловсруулах зорилт тавьж ажиллаа. Эдгээр зорилтууд нь шинжлэх ухаан, практикийн асар их ач холбогдолтой. Молекул биологийн LAMP- PCR -н арга нь ДНХ полимераза фермент болон 3 хос праймераар нуклейн хүчлийн 6 өвөрмөц дарааллыг таньж тогтмол хэмд нуклейн хүчлийг нийлэгжүүлдэг. Энэ аргын тусламжтайгаар богино хугацаанд нуклейн хүчлийг 200- 300 дахин давталтаар нийлэгжүүлэх ба зарим эрдэмтэдийн тэмдэглэснээр ПГУ-аас илүү мэдрэг, өвөрмөц чанар өндөр байдаг. Иймд бид дээрх аргуудыг ашиглан маханд токсоплазмыг илрүүлэх, махны худалдааны төв, махны зарим үйлдвэрүүдэд нэвтрүүлэх зорилгоор боловсруулан баталсан арга зүйн дагуу хийж гүйцэтгэв. Токсоплазмозын үүсгэгч *T. gondii*- ийн геномд давтагдсан 529 х.с урттай уураг кодологгүй дарааллын өвөрмөц хэсгүүдийг илрүүлэх зорилгоор ТОХ4, 5 праймерийг ашиглан адуу, үхэр, хонины зүрхний дээж 318, зажлуур 18, өрц 40, элэг 38, булчин 25 дээж нийт 477 дээжид ПГУ болон LAMP- PCR – ын аргаар бүх дээжийг шинжлэн баталгаажуулав. Мөн *T. gondii* – ын 529 х.с урттай өвөрмөц фрагмент илэрсэн адууны зүрхний булчингийн эдээс ялгасан ДНХ-г ПГУ- аар олшруулж нуклеотидын дараалал тогтоож NCBI-д бүртгэлтэй хамгийн төстэй илэрцүүдийг сонгон авч харьцуулсныг тэмдэглэж байна.

Уг төслийн үр дүнгээр "Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз шимэгч токсоплазмийг молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт (LAMP- PCR) аргын судалгаа" сэдвээр ХААИС, Магистр, Докторын сургуулиас зохион байгуулсан ХААИС-ийн магистрант, докторантын шилдэг бүтээл шалгаруулах Эрдэм шинжилгээний нэгдсэн бага хурал 2021- д оролцож, Хөдөө аж ахуйн шинжлэх ухааны сэтгүүлд хэвлүүлэхэд бэлэн болгосон байна.

АСУУЛТ ХАРИУЛТ

Асуулт. Доктор Ч. Буянтогтох: Бүх илтгэгч нараас асуух 1 асуулт байна. Энэ LAMP-PCR - аар нэг дээж шинжлэх өртөг нь хэд болох вэ? Тэр тооцооллыг хийж үзэв үү?

Хариулт. Доктор О. Банзрагчгарав: Бид яаг нарийн тооцооллыг хийж үзээгүй, учир нь бид дээрх аргуудыг боловсруулан тогтворжуулах зорилгоор хийж гүйцэтгэсэн гэхдээ худалдаанд байдаг LAMP- PCR - ын цомог нь 220.000 доллар орчим үнэтэй байдаг харин



МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ХҮРЭЭЛЭН
ЭРДМИЙН ЗӨВЛӨЛИЙН ХУРЛЫН ПРОТОКОЛ

2021 оны 12 сарын 09 өдөр

Дугаар 21/07/02

Улаанбаатар хот

ХЭЛЭЛЦСЭН НЬ: Өргөтгөсөн хуралдааныг эрдмийн зөвлөлийн гишүүдийн 77.7%-ийн ирцтэйгээр 2021 оны 12 сарын 09-ний өдрийн 11:30 цагт танхим ба цахимаар хослуулан хийв. Зүүм линк: <https://us02web.zoom.us/j/3361479956?pwd=V1qzbGs4VHozejlzQUxFWnVPL0pDZz09>
Хуралдааныг Эрдмийн зөвлөлийн дарга, профессор Б.Батцэцэг удирдан явуулав. 2018-2021 онд хэрэгжүүлсэн "Хүнсээр дамжин халдварладаг эмгэг төрүүлэгч илрүүлэх дэвшилтэт аргыг нэвтрүүлж, хүнсний аюулгүй байдлын эрсдэлийг үнэлэх" монгол-хятад улсын хамтарсан судалгааны төсөлийн "Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз шимэгч трихинеллийг молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт (LAMP- PCR) аргын судалгаа" сэдэвт ажлын тайлан.

СОНССОН НЬ: Тайланг ЭШДэд ажилтан Д. Мөнхгэрэл танилцуулав Нематодын хүрээний *Trichinella spiralis* зүйлийн дугариг хорхой нь хүн, мал, амьтдын трихинеллээс үүсгэнэ. Дэлхийд нийт 8 зүйл бүртгэгдсэнээс хамгийн түгээмэл тархалттай нь *T. spiralis* зүйл байдаг. Уг өвчин нь дэлхийн бүх бүс нутагт тархсан боловч халдварын түвшинг гаргахад хүндрэлтэй байдаг. Тиймдээ ч манай орны хувьд трихинеллийн тархалтийн мэдээлэлгүй орны тоонд орсон. Гэхдээ 1990 онд судлаач Г. Шархүү чононоос илрүүлжээ. Халдварын замын хувьд мэргэчид болон дутуу болгосон махнаас халдвар дамжина. Халдварласан авгалдайн тооноос хамаарч шинж тэмдэг илрэхгүй байхаас авхуулаад халуурах, хавагнах булчин саажих цаашлаад зүрх судас амьсгалын замын хүндрэлээс болж үхэлд хүрэх аюултай байдаг. Тиймээс энэхүү судалгаагаар хүнсээр дамжин халдварладаг эмгэг төрүүлэгч болох трихинеллийг LAMP- PCR - аар илрүүлэх зорилгын хүрээнд доорх зорилтуудыг тавьж ажилласан. Бид монгол орны 9 аймгийн нутгын мал нядалгааны газар болон мах махан бүтээгдэхүүн худалдаалах төвүүдээс 133 адуу, 110 гахайн махны дээжийг цуглуулсан. Нийт цуглуулсан дээжийг фенол хлороформ изо амил спирт ашиглан ялгаж хэрэглэх хүртэл -40° С хадгалсан. Стандарт шинжилгээний хувьд трихинеллийн авгалдайг илрүүлэх пепсин ашиглаж ходоодны хүчлийн уусмал бэлтгэж микроскопын шинжилгээг хийж гүйцэтгэсэн. Мөн булчингийн ширхэг бүрээс зүсэлт хийж трихинеллескопын шинжилгээг хийсэн. Үүний дараагаар TS43 генийн өвөрмөц дарааллыг илрүүлэх зорилгоор энгийн ПГУ хийсэн. Мөн TS2 генийн өвөрмөц хэсгийг илрүүлэх зорилгоор LAMP- PCR - ыг хийж үр дүнг 2 өөр аргаар шалгасан. Үр дүнгийн хувьд бидний судалгаагаар адуу болон гахайн махны булчингийн дээжний ширхэгт трихинеллескопын шинжилгээгээр бүрээсжсэн авгалдай болон трихинеллеес үүдэлтэй булчингийн гэмтэл ажиглагдаагүй. Мөн боловсруулалт хийсэн махны дээжинд трихинеллийн авгалдай илэрсэнгүй. Судалгаанд ашигласан нийт 243 дээжинд ПГУ болон LAMP- PCR- аар үүсгэгчийн генийн өвөрмөц хэсэг олшроогүй. Үүнээс үзэхэд Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз шимэгч Трехнелл (*Trichinella*)-ийг молекул биологийн аргаар маханд илрүүлэх, дэвшилтэт ПГУ-ын аргыг нэвтрүүлэх судалгааны ажлуудыг хийсэн бөгөөд адуу болон гахайн маханд LAMP- PCR, ПГУ- ын шинжилгээ хийхэд дээрх үүсгэгчийн генийн өвөрмөц хэсэг илрээгүй байна. Монгол улсад батлагдсан MNS 5813: 2007 стандартын дагуу авгалдай илрүүлэх микроскопын болон трихинеллескопын шинжилгээгээр трихинелл тест

авгалдай илрээгүй. Авгалдайн нягтаршил дээж авч буй амьтны булчингийн хэсэг бүрд харилцан адилгүй тархсан байдаг бөгөөд дээж авч буй амьтны өөр өөр булчингийн эдийн хэсэг бүрээс дээж авах нь үр дүнтэй байх боломжтой. Цаашид чоно зэрэг зэрлэг амьтдад трихинелл илрүүлэх судалгаа шинжилгээг хийх нь зүйтэй байгааг тэмдэглэж байна.

АСУУЛТ ХАРИУЛТ

Асуулт. Доктор Ч. Буянтогтох: Бүх илтгэгч нараас асуух 1 асуулт байна. Энэ LAMP- PCR- аар нэг дээж шинжлэх өртөг нь хэд болох вэ? Тэр тооцооллыг хийж үзэв үү?

Хариулт. Доктор О. Банзрагчгарав: Бид яг нарийн тооцооллыг хийж үзээгүй, учир нь бид дээрх аргуудыг боловсруулан тогтворжуулах зорилгоор хийж гүйцэтгэсэн гэхдээ худалдаанд байдаг LAMP- PCR - ын цомог нь 220.000 доллар орчим үнэтэй байдаг харин бидний LAMP- PCR - д ашиглаж буй праймерууд болон урвалж бодисуудыг нийт үнэ өртгийг бодож үзвэл 1 дээжид 3 – 4 доллар буюу 12.000 төгрөг орчим болно.

Доктор, дэд профессор А. Алтанчимэг: Бүх судлаачдаас асууя. Төслийн хүрээнд тавьсан гарах үр дүндээ бүрэн хүрсэн гэж үзэж байна уу?

Хариулт. Доктор О. Банзрагчгарав: Гарах үр дүнгээ бүрэн биелүүлсэн гэж үзэж байгаа. Жишээлбэл арга зүй батлуулах үед гахайн 100 дээж, үхрийн 150 дээж дээр тандан судалгаа хийнэ гэж байсан. Харин бид энэ удаа гахайн 110 дээж, үхрийн 622 дээжинд шинжилгээ хийсэн.

Хариулт. Доктор Б. Баттөр: Бүх дэд сэдвүүд гарах үр дүнгээ 100% биелүүлсэн. Үүнээс гадна нэмэлтээр 2 хуралд илтгэл хэлэлцүүлсэн, 2 өгүүлэл хэвлэлтэнд ороход бэлэн болоод байна. Мөн түүнчлэн нэг судлаач Шанхайд нэг жилийн хугацаатайгаар мэргэжил дээшлүүлсэн.

САНАЛ

Санал: Доктор, дэд профессор А. Алтанчимэг: Сайхан үр дүн танилцуулсан дэд сэдвийн гүйцэтгэгч нартаа баярлалаа. LAMP- PCR гэж нэг бичээд LAMP- ПГУ гэж бичээд эсвэл ЛАМП- ПГУ гэж өөр өөрөөр бичээд байна. Энэ бичиглэлийг нэг болгох хэрэгтэй гэж үзэж байна. Тайланг дэмжиж байна. Амжилт хvсье.

Эрдмийн зөвлөлийн дарга, профессор Б.Батцэцэг: Эрдмийн зөвлөлийн гишүүд тайланг дэмжих саналтай байна. Тайлангаа хугацаанд нь хүлээлгэж өгөхийг анхааруулья.

ШИЙДВЭРЛЭСЭН НЬ: 1. Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз шимэгч трихинеллийг молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт (LAMP- PCR) аргын судалгаа” сэдэвт ажлын тайланг хүлээн авахаар тогтов.

2. Эрдмийн зөвлөлийн гишүүдийн хэлсэн саналыг тайлан болон цаашдын судалгааныхаа ажилд хэрэгжүүлж ажиллахыг гүйцэтгэгч нарт үүрэг болгов.

ЭРДМИЙН ЗӨВЛӨЛИЙН ДАРГА, ПРОФЕССОР

Б.БАТЦЭЦЭГ

НАРИЙН БИЧГИЙН ДАРГА, ДОКТОР

Ц.БЯМБАЖАВ



МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ХҮРЭЭЛЭН
ЭРДМИЙН ЗӨВЛӨЛИЙН ХУРЛЫН ПРОТОКОЛ

2021 оны 12 сарын 09 өдөр

Дугаар 21/07/03

Улаанбаатар хот

ХЭЛЭЛЦСЭН НЬ: Өргөтгөсөн хуралдааныг эрдмийн зөвлөлийн гишүүдийн 77.7%-ийн ирцтэйгээр 2021 оны 12 сарын 09-ний өдрийн 11:30 цагт танхим ба цахимаар хослуулан хийв. Зүүм линк: <https://us02web.zoom.us/j/3361479956?pwd=V1gzOGs4VHozejlzQUxFWnVPL0pDZz09> Хуралдааныг Эрдмийн зөвлөлийн дарга, профессор Б.Батцэцэг удирдан явуулав. 2018-2021 онд хэрэгжүүлсэн “Хүнсээр дамжин халдварладаг эмгэг төрүүлэгч илрүүлэх дэвшилтэт аргыг нэвтрүүлж, хүнсний аюулгүй байдлын эрсдэлийг үнэлэх” монгол-хятад улсын хамтарсан судалгааны төсөлийн “Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз шимэгч үхэр болон гахайн цистицеркозийг молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт (LAMP- PCR) аргын судалгаа” сэдэвт ажлын тайлан.

СОНССОН НЬ: Тайланг доктор О. Банзрагчгарав танилцуулав. Манай орон экспортлогч орон болон зорилго тавьж ирсэн. 67 сая толгой малтай боловч мах, махан бүтээгдэхүүний экспорт хангалтгүй байна. Мах, махан бүтээгдэхүүний экспортийг нэмэгдүүлэхийн тулд хяналт, шинжилгээний аргуудыг сайжруулах зайлшгүй шаардлагатай юм. Иймд бид энэ дэд сэдвээр үхрийн цистицеркозын үүсгэгч *Taenia saginata*, гахайн цистицеркозийн үүсгэгч *Taenia solium*-ийг ПГУ болон LAMP ПГУ-г лабораторийн нөхцөлд тогтворжуулж, гахай болон үхрийн дээжинд шинжлэх зорилго тавин ажиллаа. Судалгааны материалыг 622 үхрийн 110 гахайн махны дээжийг 2019-2020 оны хооронд махны худалдааны төвүүд болон мах нядалгааны газруудаас цуглуулсан. Цуглуулсан үхэр болон гахайн дээжинд ПГУ-н шинжилгээ хийсэн бөгөөд туршилтын дүнд үхрийн маханд *T. saginata* 4.5%-ийн (28/622), гахайн маханд *T. solium* 0% (0/110) халдварлалттай байгааг тогтоов. ПГУ-р эерэг гарсан дээжинд LAMP- PCR тавьж, судалгааны үр дүнг баталгаажуулсан. ПГУ-р эерэг гарсан дээжийг цэвэршүүлж, sequencing хийж *T. saginata* мөн болохыг тодорхойллоо. Үхрийн цистээс ДНХ ялгаж, ПГУ болон LAMP-PCR -ын мэдрэг чанарыг харьцуулсан. COX1 ген 104 copy number хэмжээтэй байхад ПГУ-аар тухайн дээж эерэг гарч байсан бол LAMP- PCR -аар 103 copy number хэмжээтэй байхад эерэг гэж гарсан. Энэ нь LAMP- PCR нь ПГУ-аас 10 дахин мэдрэг болохыг харуулж байна. Мөн түүнчлэх “Үхэр болон гахайн цистицеркозийг илрүүлэх LAMP- PCR”, “Үхэр болон гахайн цистицеркозийг илрүүлэх полимеразийн гинжин урвалын цомог” нэртэй фармакопейн өгүүлэлийн төслүүдийг боловсруулж МЭЭСБУЛ-аар шалгуулсан. Сэдвийн хүрээнд тавьсан гарах үр дүнгүүдээ бүрэн биелүүлжээ. Нэмэлтээр магистрант Бадамчимэг уг сэдвээр ХААИС, Магистр, Докторын сургуулиас зохион байгуулсан ХААИС-ийн магистрант, докторантын шилдэг бүтээл шалгаруулах Эрдэм шинжилгээний нэгдсэн бага хурал 2020-д оролцсон, мөн Хөдөө аж ахуйн шинжлэх ухааны сэтгүүлд нэг эрдэм шинжилгээний өгүүлэл хэвлүүлэхэд бэлэн болгосон байна.

АСУУЛТ ХАРИУЛТ

Асуулт. Доктор Ч. Буянтогтох: Бүх илтгэгч нараас асуух 1 асуулт байна. Энэ LAMP-PCR - аар нэг дээж шинжлэх өртөг нь хэд болох вэ? Тэр тооцооллыг хийж үзэв үү?

Хариулт. Доктор О. Банзрагчгарав: Бид яаг нарийн тооцооллыг хийж үзээгүй, учир нь бид дээрх аргуудыг боловсруулан тогтворжуулах зорилгоор хийж гүйцэтгэсэн гэхдээ худалдаанд байдаг LAMP- PCR - ын цомог нь 220.000 доллар орчим үнэтэй байдаг харин

бидний LAMP- PCR- д ашиглаж буй праймерууд болон урвал бодисуудыг нийт үнэ өртгийг бодож үзвэл 1 дээжид 3 – 4 доллар буюу 12.000 төгрөг орчим болно.

Асуулт. Доктор С. Лхагвацэрэн: Цистицеркозын тархалт 5% гэж мэдээлж болж байна уу? Урвалын мэдрэг болон өвөрмөц чанараа дахин нягтлах хэрэгтэй гэж бодож байна.

Хариулт. Доктор О. Банзрагчгарав: Бидний энэхүү төсөл нь тархалтыг тогтоох биш арга зүй боловсруулахад илүүтэйгээр анхаарсан. Харин бидний шинжилсэн үхрийн махны дээжинд *T. saginata* 4.5%-ийн халдвартай гарсан. Энэ нь тархалтын мэдээ биш юм. Монгол улсын махан дах *T. saginata*-ийн халдварыг тогтоохын турш илүү өргөн цар хүрээтэйгээр судалгааг явуулах нь зөв гэж бодож байна. Цаашдаа энэ тал дээр анхааран ажиллах болно.

Доктор, дэд профессор А. Алтанчимэг: Бүх судлаачдаас асууя. Төслийн хүрээнд тавьсан гарах үр дүндээ бүрэн хүрсэн гэж үзэж байна уу?

Хариулт. Доктор О. Банзрагчгарав: Гарах үр дүнгээ бүрэн биелүүлсэн гэж үзэж байгаа. Жишээлбэл арга зүй батлуулах үед гахайн 100 дээж, үхрийн 150 дээж дээр тандан судалгаа хийнэ гэж байсан. Харин бид энэ удаа гахайн 110 дээж, үхрийн 622 дээжинд шинжилгээ хийсэн.

Хариулт. Доктор Б. Баттөр: Бүх дэд сэдвүүд гарах үр дүнгээ 100% биелүүлсэн. Үүнээс гадна нэмэлтээр 2 хуралд илтгэл хэлэлцүүлсэн, 2 өгүүлэл хэвлэлтэнд ороход бэлэн болоод байна. Мөн түүнчлэн нэг судлаач Шанхайд нэг жилийн хугацаатайгаар мэргэжил дээшлүүлсэн.


САНАЛ

Доктор, дэд профессор А. Алтанчимэг: Сайхан үр дүн танилцуулсан дэд сэдвийн гүйцэтгэгч нартаа баярлалаа. ЛАМП ПГУ гэж нэг бичээд LAMP PCR гэж бичээд эсвэл LAMP ПГУ гэж өөр өөрөөр бичээд байна. Энэ бичиглэлийг нэг болгох хэрэгтэй гэж үзэж байна. Тайланг дэмжиж байна. Амжилт хүсье.

Эрдмийн зөвлөлийн дарга, профессор Б.Батцэцэг: Эрдмийн зөвлөлийн гишүүд тайланг дэмжих саналтай байна. Тайлангаа хугацаанд нь хүлээлгэж өгөхийг анхааруулья.

ШИЙДВЭРЛЭСЭН НЬ: 1. Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз шимэгч үхэр болон гахайн цистицеркозийг молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт (LAMP- PCR) аргын судалгаа" сэдэвт ажлын тайланг хүлээн авахаар тогтов.

2. Эрдмийн зөвлөлийн гишүүдийн хэлсэн саналыг тайлан болон цаашдын судалгааныхаа ажилд хэрэгжүүлж ажиллахыг гүйцэтгэгч нарт үүрэг болгов.

ЭРДМИЙН ЗӨВЛӨЛИЙН ДАРГА, ПРОФЕССОР  Б.БАТЦЭЦЭГ

НАРИЙН БИЧГИЙН ДАРГА, ДОКТОР 

Ц.БЯМБАЖАВ



МАЛ ЭМНЭЛГИЙН ХҮРЭЭЛЭН
ЭРДМИЙН ЗӨВЛӨЛИЙН ХУРЛЫН ПРОТОКОЛ

2021 оны 12 сарын 09 өдөр

Дугаар 21/07/04

Улаанбаатар хот

ХЭЛЭЛЦСЭН НЬ: Хуралдааныг эрдмийн зөвлөлийн гишүүдийн 77.7%-ийн ирцтэйгээр 2021 оны 12 сарын 09-ний өдрийн 11:30 цагт танхим ба цахимгаар хослуулан хийв.

Зүүм

<https://us02web.zoom.us/j/3361479956?pwd=V1gzbnGs4VNozejlzQUxFWnVPL0pRDZz09>

Хуралдааныг Эрдмийн зөвлөлийн дарга, профессор Б.Батцэцэг удирдан явуулав. 2018-2021 онд хэрэгжүүлсэн "Хүнсээр дамжин халдварладаг эмгэг төрүүлэгч илрүүлэх дэвшилтэт аргыг нэвтрүүлж, хүнсний аюулгүй байдлыг эрсдэлийг үнэлэх" монгол-хятад улсын хамтарсан судалгааны төсөлийн "Хүнсээр дамжин халдварладаг хоёр төрлийн бактерийг (*Salmonella spp*, *E. coli* O157) молекул биологийн дэвшилтэт (LAMP ПГУ) аргаар илрүүлэх" сэдэвт ажлын тайлан.

СОНССОН НЬ: Тайланг ЭШДА Д.Болорцэцэг танилцуулав. Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз (FBZ) өвчний үүсгэгчийг байгаль дээр мал, сээр нуруутан амьтан тээж хадгалдаг бөгөөд хүнсээр дамжин хүнд халдвар дамжиж байна. Хүнсээр дамжин халдварладаг өвчин нь сүүлийн жилүүдэд дэлхий нийтийн өвчлөл, нас баралтын томоохон шалтгаан болж байгаа ба улс орнуудад эдгээр өвчний гаралт ихсэж нийгмийн эрүүл мэндийн болон эдийн засгийн тулгамдсан асуудал болж байна. Ийнхүү хүнсний халдвар хордлогыг хурдан хугацаанд оношлох, оношлогооны технологийг боловсронгуй болгох, Монгол орны лабораторийн сорилт, шинжилгээний практикт орчин үеийн аргыг гадаадын судлаачидтай хамтран туршин сорьж нэвтрүүлэхэд энэ төсөл ач холбогдолтой юм. Молекул биологийн LAMP-ПГУ-н арга нь ДНХ полимераза фермент болон 3 хос праймераар нуклейн хүчлийн 6 өвөрмөц дарааллыг таньж тогтмол хэмд нуклейн хүчлийг нийлэгжүүлдэг. Энэ аргын тусламжтайгаар богино хугацаанд нуклейн хүчлийг 200- 300 дахин давталтаар нийлэгжүүлэх ба зарим эрдэмтдийн тэмдэглэснээр ПГУ-аас илүү мэдрэг, өвөрмөц чанар өндөр байдаг тул энэ аргыг ашиглан маханд дээрх 2 бактерийг илрүүлэх, махны худалдааны төв, махны зарим үйлдвэрүүдэд нэвтрүүлэх зорилгоор хийж гүйцэтгэжээ. Уг төслийн үр дүнгээр "Хүнсэнд бэлтгэгдэж буй малын мах, зарим цуллагын эрхтэнд *Salmonella spp*, *E. coli* O157 нянгийн халдварыг илрүүлэхэд LAMP ПГУ-ыг ашиглах боломж" сэдвээр ХААИС, Магистр, Докторын сургуулиас зохион байгуулсан ХААИС-ийн магистрант, докторантын шилдэг бүтээл шалгаруулах Эрдэм шинжилгээний нэгдсэн бага хурал 2021- д оролцож, Хөдөө аж ахуйн шинжлэх ухааны сэтгүүлд хэвлүүлэхэд бэлэн болоод байна. Мөн "*Salmonella spp*, *E. coli* O157 илрүүлэх LAMP- PCR цомог", "Үхэр болон гахайн цистицеркозийг илрүүлэх полимеразийн гинжин урвалын цомог" нэртэй фармаколейн өгүүллтийн төслүүдийг боловсруулж МЭЭСБУЛ-аар шалгуулан дүгнэлт гаргуулснаар сэдвийн хүрээнд үр дүнг бүрэн биелүүлэн ажилласан байна.

АСУУЛТ ХАРИУЛТ

Асуулт. Доктор Ч. Буянтогтох: Бүх илтгэгч нараас асуух 1 асуулт байна. Энэ LAMP-PCR - аар нэг дээж шинжлэх өртөг нь хэд болох вэ? Тэр тооцооллыг хийж үзэв үү?

Хариулт. Доктор О. Банзрагчгарав: Бид яаг нарийн тооцооллыг хийж үзээгүй, учир нь бид дээрх аргуудыг боловсруулан тогтворжуулах зорилгоор хийж гүйцэтгэсэн гэхдээ худалдаанд байдаг LAMP- PCR - ын цомог (100 дээж шинжлэх) нь 220.000 доллар орчим үнэтэй байдаг харин бидний LAMP- PCR - д ашиглаж буй праймерууд болон урвалж бодисуудыг нийт үнэ өртгийг бодож үзвэл 1 дээжид 3 – 4 доллар буюу 12.000 төгрөг орчим болно гэж бодож байна.

Асуулт. Доктор С. Лхагвацэрэн: Цистицеркозын тархалт 5% гэж мэдээлж болж байна уу? Урвалын мэдрэг болон өвөрмөц чанараа дахин нягтлах хэрэгтэй гэж бодож байна.

Хариулт. Доктор О. Банзрагчгарав: Бидний энэхүү төсөл нь тархалтыг тогтоох биш арга зүй боловсруулахад илүүтэйгээр анхаарсан. Харин бидний шинжилсэн үхрийн махны дээжинд *T. saginata* 4.5%-ийн халдвартай гарсан. Энэ нь тархалтын мэдээ биш юм. Монгол улсын махан дах *T. saginata*-ийн халдварыг тогтоохын тулд илүү өргөн цар хүрээтэйгээр судалгааг явуулах нь зөв гэж бодож байна. Цаашдаа энэ тал дээр анхааран ажиллах болно.

Асуулт. Доктор, дэд профессор А. Алтанчимэг: Бүх судлаачдаас асууя. Төслийн хүрээнд тавьсан гарах үр дүндээ бүрэн хүрсэн гэж үзэж байна уу?

Хариулт. Доктор О. Банзрагчгарав: Гарах үр дүнгээ бүрэн биелүүлсэн гэж үзэж байгаа. Жишээлбэл арга зүй батлуулах үед гахайн 100 дээж, үхрийн 150 дээж дээр тандан судалгаа хийнэ гэж байсан. Харин бид энэ удаа гахайн 110 дээж, үхрийн 622 дээжинд шинжилгээ хийсэн.

Хариулт. Доктор, профессор Б. Баттөр: Бүх дэд сэдвүүд гарах үр дүнгээ 100% биелүүлсэн. Үүнээс гадна нэмэлтээр 2 хуралд илтгэл хэлэлцүүлсэн, 2 өгүүлэл хэвлэлтэнд ороход бэлэн болоод байна. Мөн түүнчлэн нэг судлаач Шанхайд нэг жилийн хугацаатайгаар мэргэжил дээшлүүлсэн.

САНАЛ

Санал: Доктор, дэд профессор А. Алтанчимэг: Сайхан үр дүн танилцуулсан дэд сэдвийн гүйцэтгэгч нартаа баярлалаа. LAMP- PCR гэж нэг бичээд LAMP- ПГУ гэж бичээд эсвэл ЛАМП- ПГУ гэж өөр өөрөөр бичээд байна. Энэ бичиглэлийг нэг болгох хэрэгтэй гэж үзэж байна. Тайланг дэмжиж байна. Амжилт хүсье.

Эрдмийн зөвлөлийн дарга, профессор Б.Батцэцэг: Эрдмийн зөвлөлийн гишүүд тайланг дэмжих саналтай байна. Тайлангаа хугацаанд нь хүлээлгэж өгөхийг анхааруулья.

ШИЙДВЭРЛЭСЭН НЬ: 1. “Хүнсээр дамжин халдварладаг зооноз шимэгч үхэр болон гахайн цистицеркозийг молекул биологийн аргаар илрүүлэх дэвшилтэт (LAMP- PCR) аргын судалгаа” сэдэвт ажлын тайланг хүлээн авахаар тогтов.

2. Эрдмийн зөвлөлийн гишүүдийн хэлсэн саналыг тайлан болон цаашдын судалгааныхаа ажилд хэрэгжүүлж ажиллахыг гүйцэтгэгч нарт үүрэг болгов.

ЭРДМИЙН ЗӨВЛӨЛИЙН ДАРГА, ПРОФЕССОР  Б.БАТЦЭЦЭГ

НАРИЙН БИЧГИЙН ДАРГА, ДОКТОР  Ц.БЯМБАЖАВ

Хавсралт 21.

Хэлэлцүүлсэн илтгэлийн мэдээлэл			
№	Сэдвийн нэр	Хаана хэлэлцүүлсэн	Илтгэгчийн нэр
1	Detection of food-borne	Veterinary science- sustainable	Myagmarsuren P,

	pathogens in meat in Mongolia”	cooperation international conference 2021	Battur В.
2	Хүнсэнд бэлтгэгдэж буй махнаас <i>T. saginata</i> -г ПГУ- аар илрүүлсэн нь	ХААИС 2020 оны магистрантын эрдэм шинжилгээний шилдэг бүтээл шалгаруулах хурал. 2020.12.24	Г. Бадамчимэг П. Мягмарсүрэн
3	“Үхэр, гахайн цистицеркозыг молекул биологийн аргаар илрүүлсэн судалгаа”	ХААИС- ийн МДС, МЭС- ийн магистрантын семинар, 2021.01.22	Г. Бадамчимэг П. Мягмарсүрэн
4	“Molecular detection of <i>Toxoplasma gondii</i> from <i>Ixodes persulcatus</i> ticks in Mongolia”	New generation towards agricultural sustainable development-2020	Munkhgerel D, Myagmarsuren P.
5	“Монгол орны зэрлэг хөхтөн амьтдаас <i>Toxoplasma gondii</i> -ийг илрүүлсэн нь”	Хүрэл тогоот 2021 эрдэм шинжилгээний хурал	Д. Мөнхгэрэл Б. Баттөр
6	“Зоонозын шимэгч <i>Trichinella spirallis</i> – г LAMP PCR – ын аргаар илрүүлэх нь”	МУИС – ын ШУС – ын Биологийн тэнхимийн семинар 2019 он	Д. Мөнхгэрэл Б. Баттөр
7	“Хүнсэнд бэлтгэгдэж буй маханд <i>Toxoplasma gondii</i> илрүүлсэн нь”	ХААИС 2021 оны докторантын эрдэм шинжилгээний шилдэг бүтээл шалгаруулах хурал. 2021.11.29	М. Золжаргал Б. Батцэцэг
8	“Хүнсэнд бэлтгэгдэж буй малын мах, зарим цуллагын эрхтэнд Salmonella, E.Coli O157 нянгийн халдварыг илрүүлэхэд LAMP PCR –ын ашиглах боломж”	ХААИС 2021 оны докторантын эрдэм шинжилгээний шилдэг бүтээл шалгаруулах хурал. 2021.11.29	Д. Болорцэцэг Б. Баттөр
9	“Цистицеркозыг Хүнсэнд хэрэглэгдэж буй маханд оношлосон судалгаа”	“Хүнсний аюулгүй байдал-Тогтвортой үйлдвэрлэл” эрдэм шинжилгээний бага хурал. 2022.10.14	Г.Бадамчимэг П. Мягмарсүрэн
Хэвлүүлсэн өгүүлэлийн мэдээлэл			
1	“Detection of food-borne pathogens in meat in Mongolia”	Монголын мал эмнэлгийн шинжлэх ухаан, технологийн сэтгүүл, цуврал 05, Дугаар1, 2021 он хуудас 30	Myagmarsuren.P, Zoljargal.M, Banzragchgarav.O, Battsetseg.B, Zang houshuang, Battur.B,
2	“Хүнсэнд бэлтгэж буй үхрийн махнаас <i>Taenia saginata</i> -г полимеразын гинжин урвалаар илрүүлсэн дүн”	ХААШУ сэтгүүл 2022 оны 03 сард хэвлэгдэнэ	Г. Бадамчимэг, Д. Мөнхгэрэл, Б. Давхарбаяр, О. Банзрагчгарав, М.

			Золжаргал, С. Наранцацрал, Т.Амгаланбаатар, Б. Даваасүрэн, Б. Батцэцэг, Б. Баттөр, П. Мягмарсүрэн
3	“Монгол орны зэрлэг хөхтөн амьтдаас <i>Toxoplasma gondii</i> -ийг илрүүлсэн нь”	Хүрэл тогоот 2021 эрдэм шинжилгээний хурал эмхэтгэл	Д. Мөнхгэрэл, Б. Баттөр
4	“Хүнсэнд бэлтгэгдэж буй маханд <i>Toxoplasma gondii</i> илрүүлсэн нь”	ХААИС ногоон сэтгүүлд хэвлэлтэнд	М. Золжаргал, Б. Батцэцэг
5	“Хүнсэнд бэлтгэгдэж буй малын мах, зарим цуллагын эрхтэнд <i>Salmonella</i> , <i>E.Coli</i> O157 нянгийн халдварыг илрүүлэхэд LAMP PCR –ын ашиглах боломж”	ХААИС ногоон сэтгүүлд хэвлэлтэнд	Д.Болорцэцэг, Б. Баттөр

ТӨГСӨВ.