

# “БОХИР УСАНД СУУРИЛСАН КОВИД-19 ХАЛДВАРЫН ТАРХВАР ЗҮЙН СУДАЛГАА”

2022 оны 06 сарын 08

Улаанбаатар хот

## (Судалгааны явцын тайлан)

Төслийн удирдагч:	Б.Ичинхорлоо, АУ-ы доктор, дэд профессор Б.Сувд, АУ-ы доктор, дэд профессор
Судалгааны зөвлөх:	Д.Нарантуяа, АУ-ы доктор, дэд профессор Ж.Оюунбилэг БШУ-ны доктор, анагаах ухааны академийн гишүүн
Гүйцэтгэгч:	Биотехнологи, инновацийн албаны ЭША-нууд Орчны эрүүл мэндийн албаны ЭША-нууд Ус сувгийн удирдах газрын мэргэжилтнүүд

## **Агуулга**

ТОВЧИЛСОН ҮГИЙН ЖАГСААЛТ.....	3
ЗУРГИЙН ЖАГСААЛТ .....	4
ХҮСНЭГТИЙН ЖАГСААЛТ .....	4
Нэг. ҮНДЭСЛЭЛ .....	5
Бохир усанд суурилсан тархвар зүйн тандалт (эпидемиологи) .....	5
Бохир усанд SARS-CoV-2 илрүүлэх.....	6
Хоёр. СУДАЛГААНЫ ЗОРИЛГО, ЗОРИЛТУУД.....	9
Гурав. СУДАЛГААНЫ ЭДИЙН ЗАСАГ, ШИНЖЛЭХ УХААН, НИЙГМИЙН АЧ ХОЛБОГДОЛ .....	9
Дөрөв. МАТЕРИАЛ АРГА ЗҮЙ.....	10
4.1 Судалгааны материал.....	10
4.2 Судалгааны ажлын арга зүй.....	10
4.2.1 Бохир усны сорьц боловсруулах .....	11
4.2.2 Соронзон бөмбөлгийн аргаар РНХ ялгах.....	12
4.2.3 Бодит хугацааны полимеразын гинжин урвал.....	13
Тав. СУДАЛГААНЫ ҮР ДҮН .....	14
ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ .....	20
ДҮГНЭЛТ .....	22
НОМ ЗҮЙ.....	23

## ТОВЧИЛСОН ҮГИЙН ЖАГСААЛТ

- PEG (Polyethylene glycol) - Полиэтилен гликол
- PBS (Phosphate Buffered saline) - Фосфатын буфержуулсан давсны уусмал
- CoVs (Coronavirus) - Коронавирус
- SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) - Амьсгалын замын цочмог хам шинжийн хүнд хэлбэрийн коронавирус
- MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome–related coronavirus) - Ойрхи Дорнодын амьсгалын замын хам шинжтэй холбоотой коронавирус
- WBE (Wastewater-Based epidemiology) - Бохир усанд суурилсан тархвар судлал
- ХДХВ (Хүний дархлал хомсдолын вирус)
- ПГУ (Полимеразын гинжин урвал)
- ACE2 (Angiotensin-converting enzyme 2) - Ангиотензин хувиргагч энзим 2

## **ЗУРГИЙН ЖАГСААЛТ**

- Зураг 1. Коронавирусийн ерөнхий бүтэц
- Зураг 2. Бохир усанд суурилсан тархвар зүйн тандалтын ерөнхий зарчим
- Зураг 3. Улаанбаатар хот.
- Зураг 4. бх-ПГУ-ын дотоод хяналт.
- Зураг 5. E генийн Ct утга
- Зураг 6. N генийн Ct утга
- Зураг 7. S генийн Ct утга
- Зураг 8. Төв цэвэрлэх байгууламжийн баруун сараалжийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт
- Зураг 9. Төв цэвэрлэх байгууламжийн UV ариутгалын өмнөх хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт
- Зураг 10. Морингийн цэвэрлэх байгууламжийн орох хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт
- Зураг 11. Морингийн цэвэрлэх байгууламжийн гарах хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт
- Зураг 12. Баянголын цэвэрлэх байгууламжийн орох хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт
- Зураг 13. Баянголын цэвэрлэх байгууламжийн гарах хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт
- Зураг 14. Биокомбинатын цэвэрлэх байгууламжийн орох хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт
- Зураг 15. Биокомбинатын цэвэрлэх байгууламжийн гарах хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт

## **ХҮСНЭГТИЙН ЖАГСААЛТ**

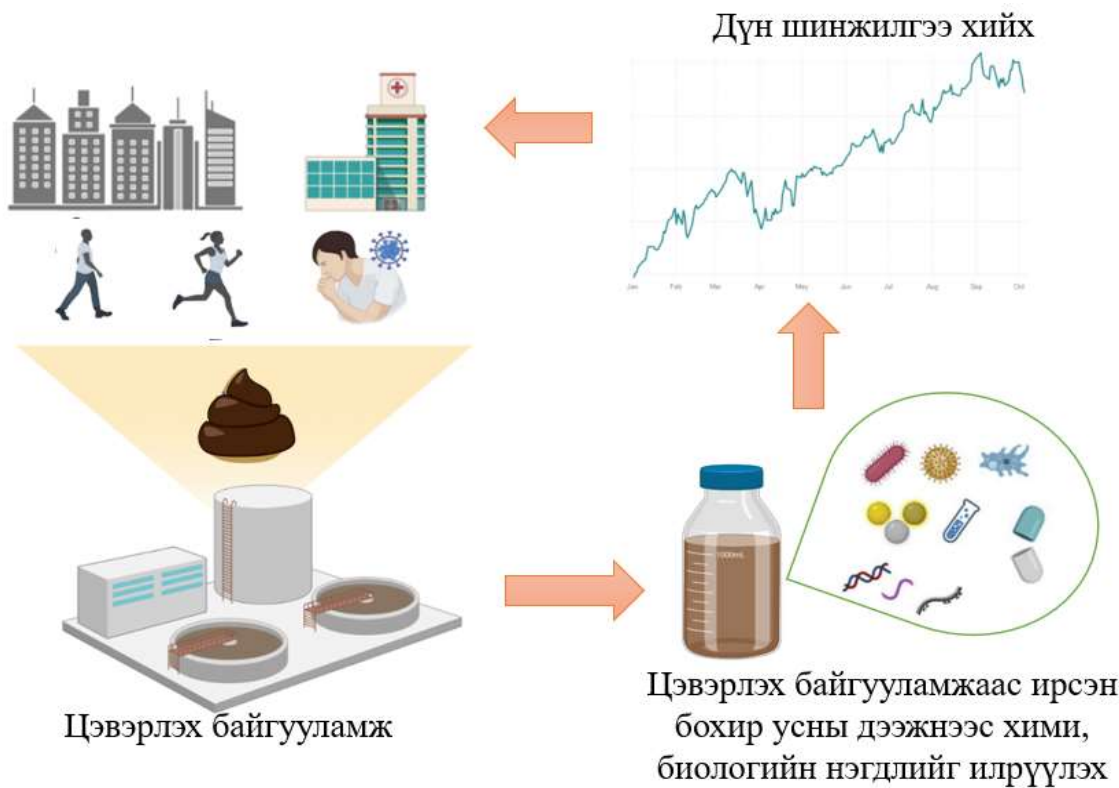
- Хүснэгт 1. Бохир усны дээж цуглуулсан сараар
- Хүснэгт 2. Бодит хугацааны ПГУ-ын машинд өгөх горим.
- Хүснэгт 3. Дээж цуглуулсан цэг бүрийн эерэг болон сөрөг сорьцын хувь.

## Нэг. ҮНДЭСЛЭЛ

### Бохир усанд суурилсан тархвар зүйн тандалт (эпидемиологи)

Халдварт өвчин бол өнөөдөр дэлхийн нийтийн эрүүл мэндэд учирч буй хамгийн том аюулын нэг юм. Уур амьсгалын өөрчлөлт, хүн амын хэт их өсөлт, бактерийн антибиотикт тэсвэртэй байдал зэрэг шалтгаанууд шинэ эмгэг төрүүлэгч микро-организмуудыг бий болгож, урьд өмнө нь хяналтдаа аваад байсан халдварт өвчнүүдийг дахин сэргэхэд хүргэж байна. Дэлхийн Эрүүл Мэндийн Байгууллагын 2019 онд гаргасан дэлхий нийтийн эрүүл мэндэд онц аюул учруулж буй 10 өвчний 4 нь томуу, ХДХВ, денге, эбола зэрэг эмгэг төрүүлэгчээр үүсгэгддэг халдварт өвчнүүд байна (*World Health Organisation, 2019*). Шинэ эмгэг төрүүлэгч микро-организмуудаас үүдэлтэй халдварт өвчнүүд маш их анхаарал татаж байгаа бөгөөд 1970-аад оноос хойш 1500 гаруй шинэ эмгэг төрүүлэгч, 40 орчим шинэ халдварт өвчнийг илрүүлжээ (*World Health Organisation, 2018*). Эдгээрийн ихэнх нь олон нийтэд ноцтой нөлөөлж сүүлийн 20 жилийн дотор SARS (2002–2003), H1N1 гахайн ханиад (2009–2010), Эбола вирус (2014-2016), Зика вирус (2015-2016) зэрэг хэд хэдэн халдварт өвчний томоохон дэгдэлтүүд гарсан. Хамгийн сүүлийн жишээ бол КОВИД-19 (2019–2022) цар тахал юм. Уур амьсгалын өөрчлөлт, хүн амын өсөлтөөс гадна аялал жуулчлал, олон улсын худалдааны замтай холбоотой, даяаршлын үр дүнд агаарын тээврийн дэлхийг бүрхсэн сүлжээ бий болсон. Тиймээс халдварт өвчний дэгдэлт нэг газарзүйн байршлаар хязгаарлагдахгүй, өөр өөр газар нэгэн зэрэг дэгдэх аюултай болжээ (*Frenk, et al. 2002*). Шинээр гарч ирж буй халдварт өвчний аюул заналхийлэл, бактерийн антибиотик тэсвэрлэх чанар нэмэгдэж байгаа нь халдварт өвчний тандалт судалгаа бол нийгмийн эрүүл мэндийн салшгүй нэг хэсэг байх ёстой гэдгийн баталгаа. Хүн амын хурдацтай өсөлт, уур амьсгалын өөрчлөлт зэрэг шалтгаануудаас үүдэн одоогийн ашигладаг тандалтын системээр халдварт өвчний тархалтыг хяналтдаа авахад маш хэцүү. Тандалт судалгааны систем нь шинэ халдварт өвчин гарч ирэх, хуучин өвчин дахин гарч ирэх, эмгэг төрүүлэгчийн аюул, олон төрлийн эмэнд тэсвэртэй микро-организмуудын судалгааны талаар мэдээлэл цуглуулах цогц системтэй байх шаардлагатай (*Nsubuga, P, et al. 2006*). Бохир усанд суурилсан тархвар зүйн тандалт судалгаа нь халдварт өвчний тандалтын өнөөгийн тогтолцоог сайжруулах, өвчний дэгдэлтийг

эрт илрүүлэх ач холбогдолтой шинэ арга юм. Энэ арга үндсэндээ химийн болон биологийн нэгдлүүдийг илрүүлэх, дараа нь дүн шинжилгээ хийж, тайлбарлахад үндэслэдэг (Kasprzyk-Hordern, et al. 2014). Шинжилгээ хийх боломжтой усны эх үүсвэрүүд нь хот суурин газрын ус цуглуулах бүсэд хамаарах аливаа усны эх үүсвэр бөгөөд гадаргын ус, ахуйн ундны ус, бохир ус байж болно баталгаа. Бохир уснаас тодорхойлогдсон хүний эндоген болон экзоген шээсний биомаркеруудад үндэслэн хүн амын эрүүл мэндийн байдлыг бодитоор, хурдан хугацаанд олж мэдэх боломжтой гэж үздэг (Sims, et al. 2020).



Зураг 2. Бохир усанд суурилсан тархвар зүйн тандалтын ерөнхий зарчим

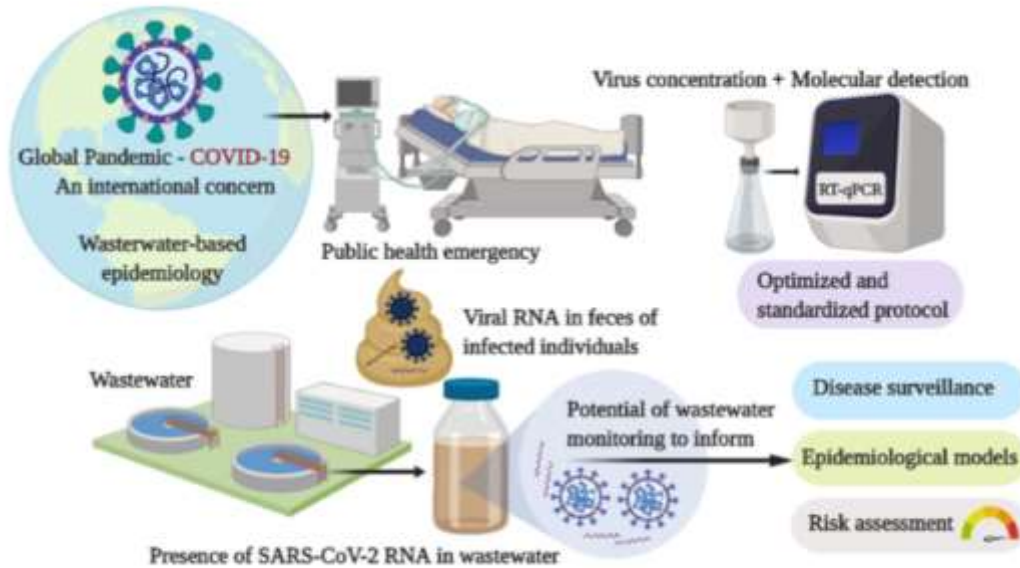
Олон нийтийн хэмжээнд мансууруулах бодисын хэрэглээ болон химийн бодисын хүчин зүйлсэд өртсөн байдлыг тооцоолоход хэцүү бөгөөд энэхүү арга нь маш үр дүнтэй. Жишээлбэл, бохир ус дахь эмийн болон хууль бус эмийн хяналтыг хийснээр тухайн бүс нутаг дахь хэрэглээг илрүүлэх боломжтой.

### **Бохир усанд SARS-CoV-2 илрүүлэх**

Бохир усанд суурилсан тархвар зүйн тандалт нь химийн бодисын хэрэглээ, өртөлт, полиовирус, гепатит А вирус зэрэг халдварт өвчний тархалтыг тооцоолоход олон

жилийн турш хүн амыг дундах тандалтын арга хэрэгсэл болгон боловсруулж хэрэглэж ирсэн. Бохир усанд суурилсан эпидемиологийн аргыг бохир усны янз бүрийн маркеруудад дүн шинжилгээ хийх замаар хүн амын дунд тархсан халдварт өвчин, өвчин үүсгэгч микроорганизмуудын талаар мэдээлэл цуглуулахад ашигладаг (*Choi, et al. 2018*). Харин КОВИД-19 цар тахал гарснаар хүн амын дундах халдварт өвчний тархалтыг дээд зэргээр хянах шаардлагатай болсон. Бохир усанд суурилсан эпидемиологийн аргаар өвчины шинж тэмдэг илэрсэн болон шинж тэмдэггүй хүмүүсийн өвчин үүсгэгчийг тодорхойлох боломжтой. Хүнд халдварладаг коронавирус, түүний дотор SARS-CoV, MERS-CoV нь уушгины хатгалгаанд хүргэхээс гадна хоол боловсруулах эрхтэн тогтолцоо түүн дотор ходоод гэдэсний үйл ажиллагаанд сөргөөр нөлөөлөг (*Leung, et al. 2003; Zhou, et al. 2017*). Коронавирус нь зөвхөн уушгины эсүүдээс гадна ходоод гэдэсний замд репликацид ордог болохыг зарим судалгааны үр дүнгүүд харуулсан байдаг. КОВИД-19-ийн өвчлөлөөс үүдэлтэй суулгах шинж тэмдэг ажиглагддаг ч чухам яагаад суулгах шинж тэмдэг илэрдэг талаарх нарийн механизм бүрэн тодорхой болоогүй байгаа. Харин сүүлийн үеийн судалгаагаар SARS-CoV-2 ходоод гэдэсний булчирхайн хучуур эдийн эсүүд рүү халдварладаг болох нь тогтоогдсон (*Xiao, et al. 2020*). SARS-CoV-2 эс рүү нэвтэрдэг гол зам болох ACE2 рецептор уушгины эсүүдээс гадна нарийн гэдэс, амны хөндийн салст бүрхэвчийн эсүүдэд маш их хэмжээгээр илэрдэг бөгөөд энэ нь ходоод гэдэсний замд SARS-CoV-2 репликацид орох бүрэн боломжтой гэдгийн баталгаа юм (*Kitajima, et al. 2020*). Хүмүүсийн дунд SARS-CoV-2-ын тархах зам нь амьсгалын замын био-аэрозол дуслуудаар дамжин халдварладаг ба шинж тэмдэг илэрсэн болон шинж тэмдэггүй халдвар авсан хүмүүсийн өтгөний дээжээс SARS-CoV-2-ын PHX илэрч байгаа. Өтгөний дээжид вирус илрэх нь өвчтөний ходоод гэдэсний эс рүү уг вирус халдварлахаас шалтгаалж болох учир ПГУ-ын шинжилгээнд үндэслэн тухайн хүний шинжилгээний хариу сөрөг гарсан ч өтгөний дээжээс вирус илэрнэ (*Ling, et al. 2020*). Шалтгаан нь SARS-CoV-2-ыг ходоод, улаан хоолой, арван хоёр нугалаа гэдэс, шулуун гэдэс мөн гэдэсний хучуур эдүүдээс илрэх бүрэн боломжтойг дээр дурдсан билээ. Нэмж дурдахад, халдвар авсан өвчтөнүүдийн 10.1%-аас 82.0%-д нь ялгас болон шулуун гэдэсний арчдаснаас SARS-CoV-2-ын PHX илэрч байгаа нь

тогтоогдоод байна (Zhang, et al. 2020). КОВИД-19-өөр өвчилсөн хүний өтгөнөөс уг өвчнийг үүсгэгч вирусийн РНХ-г илрүүлэх хугацаа нь харилцан адилгүй ч өвчтөнд анхны шинж тэмдэг илэрснээс хойш 33 дахь хоног хүртэл вирусийн РНХ илэрч байгаа нь олон судалгаагаар тогтоогджээ (Aguilar-Oliveira, et al. 2020). Ялгадсанд агуулагдах вирус идэвхгүй болсон шинж тэмдгийг үзүүлж байгаа ч одоогоор хараахан баталгаатай биш юм. Тиймээс Дэлхийн Эрүүл Мэндийн Байгууллагын зөвлөснөөр бохир уснаас SARS-CoV-2 илрүүлэх аргыг эмнэлзүйн бусад шинжилгээний өгөгдөлтэй хослуулах нь КОВИД-19-ийн халдварыг хянахад маш үр дүнтэй байх болно (Gonzalez, et al. 2020).



**Source:** Kitajima, M., Ahmed, W., Bibby, K., Carducci, A., Gerba, C.P., Hamilton, K.A., Haramoto, E. and Rose, J.B., 2020. SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs. *Science of The Total Environment*, p.139076.



## **Хоёр. СУДАЛГААНЫ ЗОРИЛГО, ЗОРИЛТУУД**

### **Зорилго**

Бохир уснаас молекул биологийн аргаар SARS-CoV-2 вирус илрүүлж, хүн амын дундах КОВИД-19 халдварын тархвар зүйн судалгаа хийх, хариу арга хэмжээний зөвлөмж боловсруулах

### **Зорилт**

1. Улаанбаатар хот, Дархан-Уул, Дундговь аймгийн цэвэрлэх байгууламжийн бохир усанд агуулагдаж байгаа SARS-CoV-2 вирусийн РНХ-ийн баримжаалсан концентрацийг тогтоох;
2. Халдварын тархалт, шинэ давалгаа, вирусийн хувилбаруудыг тооцоолох;
3. Бохир усанд суурилсан тархвар зүйн тандалтын аргачлалыг боловсруулж, цаашид авах арга хэмжээний зөвлөмж боловсруулах;

## **Гурав. СУДАЛГААНЫ ЭДИЙН ЗАСАГ, ШИНЖЛЭХ УХААН, НИЙГМИЙН АЧ ХОЛБОГДОЛ**

Бохир усан дахь SARS-CoV-2-ийн концентрацийг тодорхойлсноор шинж тэмдэггүй эсвэл хөнгөн хэлбэрийн халдвартай хүн амын тоог гаргаж, халдварын тархалтыг цар хүрээг таамаглан эрт сэрэмжлүүлэх арга хэмжээг төлөвлөхөд мэдээллээр хангах ач холбогдолтой. Хариу арга хэмжээг нотолгоонд суурилсан мэдээлэл, тоо баримтад үндэслэн авах нь өвчний тархалтыг хумих, хүн амын дунд их хэмжээгээр тархахаас сэргийлэх, халдварт өвчнийг хохирол багатайгаар даван туулах зэрэг нийгэм эдийн засгийн үр ашигтай.

Бохир усанд суурилсан эпидемиологийн шинэ аргазүйг хэрэглээнд нэвтрүүлснээр (Waste-water based epidemiology 'WBE') өвчний тархалт, вирусийн экологи, генетик олон янз байдлыг судлах, КОВИД-19 төдийгүй хүн амын дунд тархсан бусад халдвар тухайлбал норавирус, антибиотикт тэсвэртэй бактер, улмаар хүн амын дундах эм, мансууруулах бодисын хэрэглээг тандах нөхцөл бүрдэх шинжлэх ухааны ач холбогдолтой.

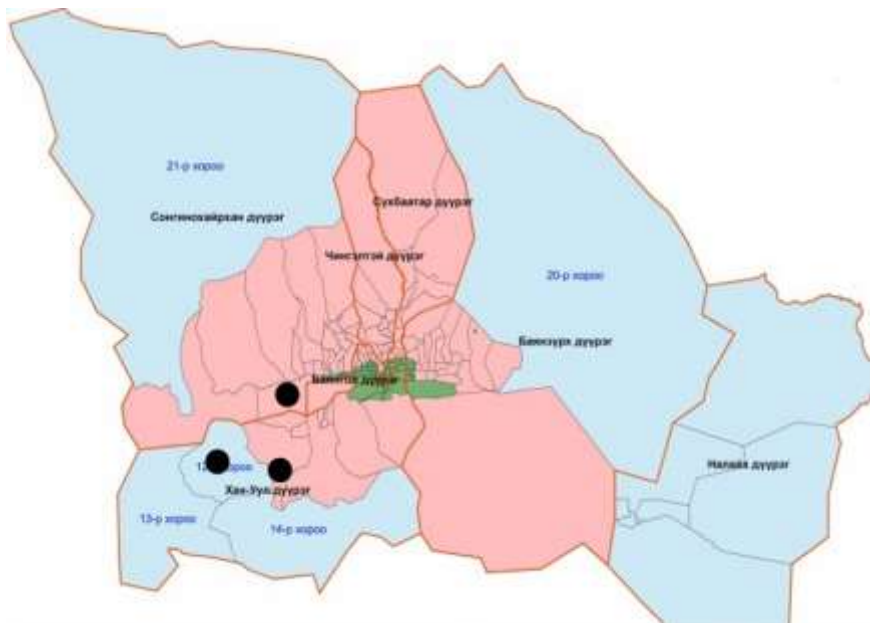
Судалгааны үр дүнг эрүүл мэндийн байгууллагууд, нийгмийн эрүүл мэндийн урьдчилан сэргийлэх чиглэлээр үйл ажиллагаа явуулж байгаа байгууллага, их дээд сургууль, лабораториуд ашиглана.

## Дөрөв. МАТЕРИАЛ АРГА ЗҮЙ

### 4.1 Судалгааны материал

Бид энэхүү ажлын хүрээнд Улаанбаатар хотын төв цэвэрлэх байгууламжийн баруун сараалжийн хэсэг, төв цэвэрлэх байгууламжийн UV ариутгалын өмнөх хэсгээс гадна төв цэвэрлэх байгууламжийн харьяа дэд цэвэрлэх байгууламжийн худгууд болох Морингийн давааны цэвэрлэх байгууламжийн орох гарах хэсэг, Биокомбинатын цэвэрлэх байгууламжийн орох гарах хэсэг, Баянголын цэвэрлэх байгууламжийн орох гарах хэсгээс 2022 оны 01 сараас 6 сар хүртлэх хугацаанд 7 хоног бүр 8 дээж нийт 107 дээжийг авч цуглуулсан (Зураг 3, Хүснэгт 1).

Бохир ус цэвэрлэх байгууламжийн орох болон гарах хэсгээс 1 литр багтаамжтай шилэн эсвэл хуванцар бат бөх саванд бохир ус авсан. 1 литр бохир усыг саванд цуглуулан сайтар битүүмжлэн, гадна талыг халдваргүйжүүлэх уусмалаар (хлорт нэгдэл, эсвэл 70% этанол) арчсаны дараа зөөвөрлөгч саванд хийн лабораторид авчирна. Лабораторид ирсэн бохир уснаас шинжилгээ хийхэд шаардагдах хэмжээгээр аваад үлдсэн хэсгийг нь  $-20^{\circ}\text{C}$ -д хадгална.



Зураг 3. Улаанбаатар хот. Хараар тэмдэглэсэн цэгүүдээс бохир усны дээж авсан.

Хүснэгт 1. Бохир усны дээж цуглуулсан сараар

	1 сар	2 сар	3 сар	4 сар	5 сар	Нийт
Төв цэвэрлэх байгууламж баруун сараалж	1	1	4	3	3	12
Төв цэвэрлэх байгууламж UV ариутгалын өмнөх	1	1	5	3	3	13
Биокомбинатын цэвэрлэх байгууламж орох	-	2	6	3	3	14
Биокомбинатын цэвэрлэх байгууламж гарах	-	2	6	3	3	14
Баянголын цэвэрлэх байгууламж орох	-	1	6	3	3	13
Баянголын цэвэрлэх байгууламж гарах	-	1	6	3	3	13
Морингийн цэвэрлэх байгууламж орох	-	2	6	3	3	14
Морингийн цэвэрлэх байгууламж гарах	-	2	6	3	3	14

## 4.2 Судалгааны ажлын арга зүй

Одоогоор SARS-CoV-2 шиг дугтуйтай вирусийг бохир усанд үр дүнтэй илрүүлэх талаар мэдээлэл хангалттай байхгүй байна. Өмнө нь бохир усанд аденовирус, норовирус, энтеровирус зэрэг дугтуйгүй вирусийг илрүүлэх зорилгоор боловсруулсан арга зүйг орчны тандалтын системд ашиглаж байсан. Дэлхийн олон орны судлаачид бохир уснаас SARS-CoV-2 илрүүлэх арга зүйг туршиж байгаа ба үр дүн өндөр байгаа гурван аргыг харьцуулан судалж байна. Үүнд, хоёр үе шатлалт урьдчилсан цэвэрлэгээ, ультрацентрифуг, сөрөг цэнэгтэй мембран фильтрийн арга орж байна (*Ahmed, et al.* 2020a).

Бид судалгаандаа хоёр үе шатлалт сеперацийн арга, соронзон бөмбөлгийн арга, бодит хугацааны ПГУ-ын аргуудыг тус тус ашиглалаа. Судалгааны аргачлалыг 2022 оны 01 сарын 11-ний өдрийн НЭМҮТ-ийн Эрдмийн зөвлөлийн хурлаар хэлэлцүүлж, батлуулсан.

### 4.2.1 Бохир усны сорьц боловсруулах

#### *Хоёр үе шатлалт сепераци*

Хэрэглэгдэх бодис, урвалж:

- 40% PEG - 8000 (Polyethylene glycol - 8000)
- 8% NaCl (5 нормаль концентрац)

- PBS (Phosphate Buffer Saline pH 7.4)
- Давхар нэрсэн ус

Арга зүй

Цэвэрлэх байгууламжаас ирсэн бохир усны дээжээс 200 мл авч 50 мл-ийн тюбенд хувааж хийнэ. Дээжийг 4300 g хурдаар, 4°C-д 30 минут центрифугдэнэ. Супернатантыг ариутгасан колбонд ялган авна. Дээж бүрт 1:3 харьцаатай 40% PEG-8000, 8% NaCl-ын уусмал нэмнэ. Колбоо эргүүлэн сайн холино. Дээжээ 4°C-д 14-18 цаг инкубац хийнэ. Инкубац хийсний дараа дээжээ 50 мл-ийн тюбенд хувааж хийн 4300 g хурдаар, 4°C-д 30 минут центрифугдэнэ. Супернатантыг асгаж тюбе болгонд 500 мкл PBS хийнэ. 15-20 секунд вортексдосноор РНХ ялгахад бэлэн болно. Боловсруулсан сорьцноос РНХ ялгахад шаардлагатай хэмжээгээ тусад нь тюбенд авна. Үлдсэн хэсгийг -80°C-д хадгална (*Farkas, et al.* 2021).

#### **4.2.2 Соронзон бөмбөлгийн аргаар РНХ ялгах**

Sansure Biotech компанийн РНХ ялган цэвэрлэх цомог (Multi-type Sample DNA/RNA Extraction-Purification Kit (Magnetic beads method)) ашиглан бохир усны боловсруулсан сорьцноос РНХ-г үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу ялгасан.

Арга зүй:

Бохир усны боловсруулсан 300 мкл сорьц дээр 15 мкл дотоод хяналт нэмэн эппендорф тюбенд хийнэ. Ялгах уусмал 1-ээс 600 мкл хийнэ. 10 секундийн хугацаанд вортексдэж сайн холино. 95°C-ийн усан ванн дотор 10 минут халааж, агшин зуур центрифугдэнэ. Ялгах уусмал 2-оос 100 мкл хийсний дараа 50 мкл соронзон бөмбөлөгтэй уусмал нэмнэ. 10 секунд вортексдэж холиод тасалгааны температурт 20 минутын турш байлгана. Агшин зуур центрифугдэж эппендорф тюбе-ийг соронз тусгаарлагч тавиур дээж тавина. 3 минутын дараа хийсэн уусмалуудаа удаанаар соруулж авна. Эппендорф тюбе рүү 600 мкл ялгах уусмал 3-ийг дараа нь 200 мкл ялгах уусмал 4-ийг нэмж 5 секунд вортексдэж холино. Агшин зуур центрифугдэж доош буулган соронз тусгаарлагч тавиур дээр дахин байрлуулна. 3 минутын дараа шингэн супернатант хоёр давхарга үүсгэнэ. Тюбены ёроолд пипеткийн хошууг тулгаж уусмалыг тюбенээс бүрэн соруулж авна. Нэг минут хүлээн тюбены ёроолд байгаа үлдсэн уусмалыг соруулж авна. Тюбенд 50 мкл салгах буфер нэмж 3-4 удаа пипеткээр холино. Тасалгааны температурт 10

минут байлгаад соронз тусгаарлагч тавиур дээр байрлуулаад 3 минут хүлээнэ. 3 минутын дараа РНХ ялгаж буй дээжээ шинэ эппендорф тубе рүү шилжүүлнэ. Бодит хугацааны ПГУ хийхэд зориулж 2-10 мкл-ийг микро тубенд хийнэ.

#### 4.2.3 Бодит хугацааны полимеразын гинжин урвал

Seegene компанийн SARS-CoV-2-ийн зорилтот генүүдийг (E, N, S) илрүүлэх Allplex™ (Allplex™ SARS-CoV-2 Mutation Assay) цомог ашиглан үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу бодит хугацааны ПГУ-ын шинжилгээг хийж гүйцэтгэсэн. Уг оношлуур нь SARS-CoV-2 вирусийн халдварыг илрүүлэх худалдааны кит тул генүүдийг олшруулахад ашигласан праймерийн дизайныг үйлдвэрлэгч олон нийтэд дэлгээгүй болно.

Арга зүй:

Мастер микс бэлтгэх (15 мкл): 5 мкл EM8 премикс, 5 мкл SARS2 MOM праймер, 5 мкл RNase-free ус нэмнэ. Мастер микс дээр ялгасан РНХ-ээс 5 мкл нэмэн, бодит хугацааны ПГУ-ын машинд (МА – 6000 Real-Time Quantitative Thermal Cycler) дараах горимоор урвалыг явуулсан. Шинжилгээ бүрт эерэг, сөрөг хяналтаар шинжилгээг баталгаажуулсан.

Хүснэгт 2. Бодит хугацааны ПГУ-ын машинд өгөх горим.

	Алхам	Температур	Хугацаа	Мөчлөг
1	Урвуу транскрипци	50°C	20 минут	1
2	кДНХ преденатураци	95°C	15 минут	1
3	Денатураци	95°C	10 секунд	45
4	Аннеалин	60 °C	15 секунд	
5	Экстинкшин	72°C	10 екунд	

## Тав. СУДАЛГААНЫ ҮР ДҮН

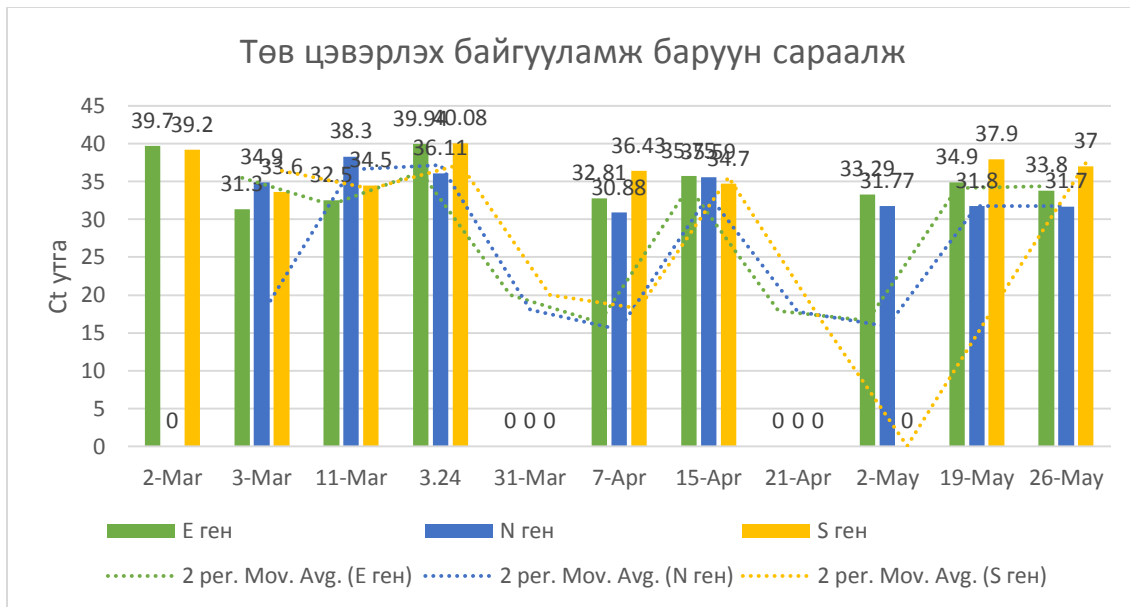
Нийтдээ 107 бохир усны дээжинд SARS-CoV-2 илрүүлэх шинжилгээ хийв. Нийт дээжийн 72.8% (n=78) –д нь SARS-CoV-2 вирус илэрсэн (Хүснэгт 3).

Хүснэгт 3. Дээж цуглуулсан цэг бүрийн эерэг болон сөрөг сорьцын хувь.

№	Дээж цуглуулсан цэг	Эерэг сорьцын эзлэх хувь	Сөрөг сорьцын эзлэх хувь
1	Төв цэвэрлэх байгууламж баруун сараалж	81	22
2	Төв цэвэрлэх байгууламж UV ариутгалын өмнөх	90	11
3	Биокомбинатын цэвэрлэх байгууламж орох	91	8
4	Биокомбинатын цэвэрлэх байгууламж гарах	66	33
5	Баянголын цэвэрлэх байгууламж орох	83	16
6	Баянголын цэвэрлэх байгууламж гарах	25	75
7	Морингийн цэвэрлэх байгууламж орох	100	0
8	Морингийн цэвэрлэх байгууламж гарах	33	66

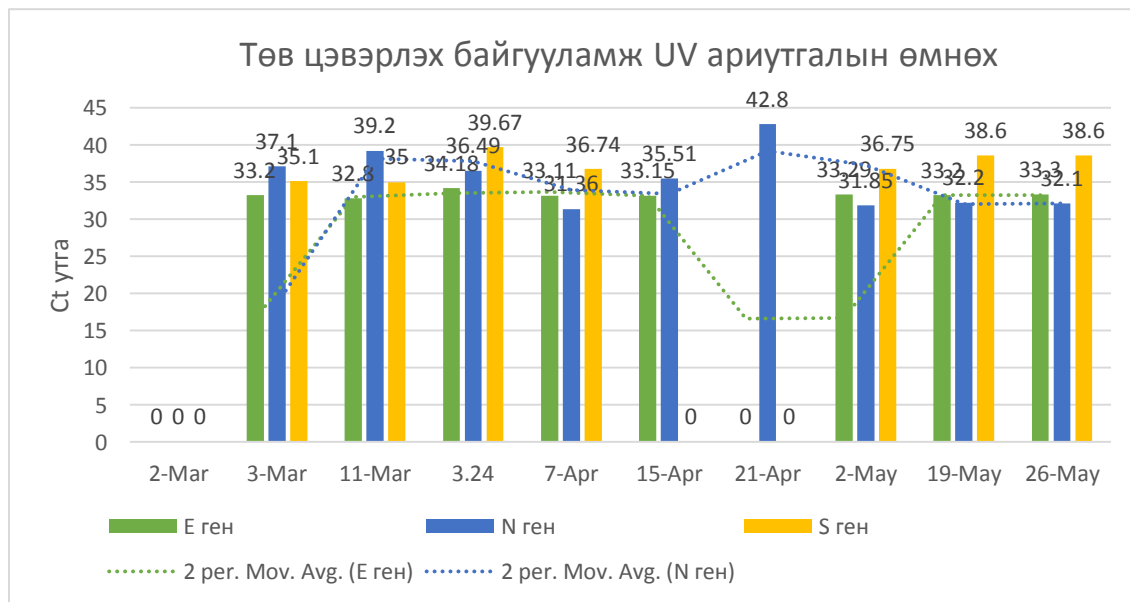
Нийт хийгдсэн бүх шинжилгээнээс Морингийн цэвэрлэх байгууламжийн гарах хэсгийн 04-р сарын 21-ны дээжийн N генийн Ct утга хамгийн өндөр байсан. Тус цэвэрлэх байгууламжийн орох хэсэгт судалгаа эхэлсэн цагаас эхлэн бүх сорьцод 100% эерэг хариу гарсан буюу SARS-CoV-2 хамгийн их илэрч буй цэг юм.

Төв цэвэрлэх байгууламжийн баруун сараалжийн хэсгээс авсан сорьцонд бх-ПГУ-ын шинжилгээ хийхэд 81% (n=9) нь эерэг гарсан үр дүн үзүүлсэн. Шинжилгээ бүрт ихэвчлэн S генийн Ct утга тогтмол өндөр гарч байна. (Зураг 4).



Зураг 8. Төв цэвэрлэх байгууламжийн баруун сараалжийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт

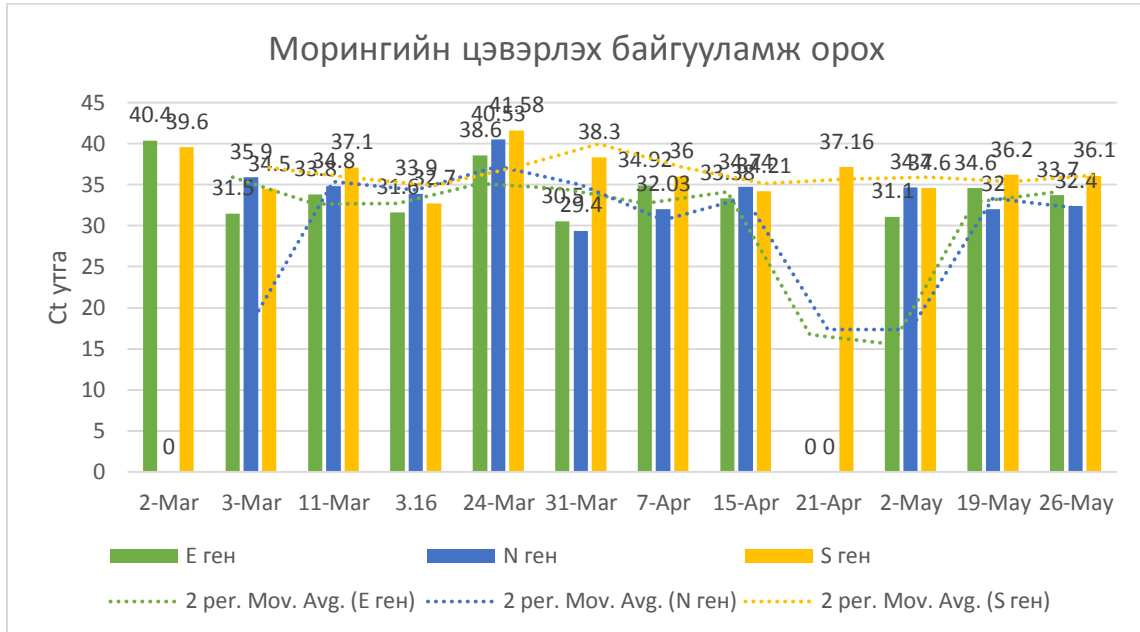
Төв цэвэрлэх байгууламжийн UV ариутгалын өмнөх хэсгээс авсан сорьцонд бх-ПГУ-ын шинжилгээ хийхэд 90% (n=9) эерэг хариу гарч байна. Шинжилгээ бүрт N генийн Ct утга өндөр гарсан үзүүлэлттэй байна (Зураг 5).



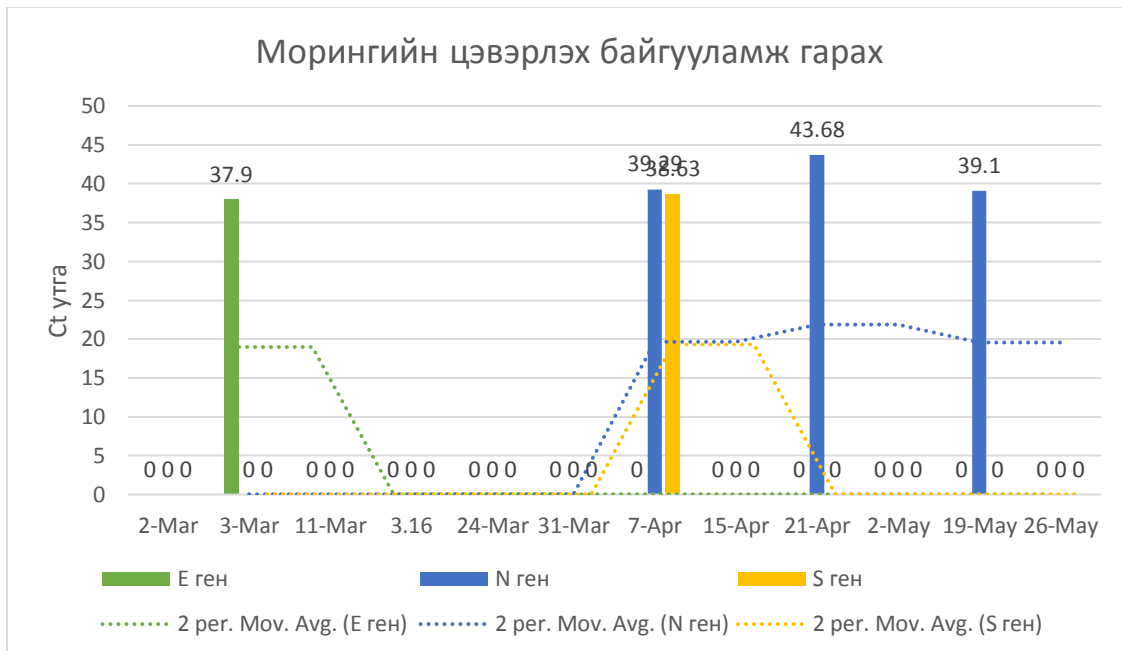
Зураг 9. Төв цэвэрлэх байгууламжийн UV ариутгалын өмнөх хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт

Морингийн цэвэрлэх байгууламжийн орох хэсгийн сорьцонд бх-ПГУ-ын шинжилгээ хийхэд 100% (n=12) эерэг, гарах хэсгийн сорьцонд 33% (n=4) нь эерэг

гарч байна. Орох хэсгийн 03 сарын 24-ны өдрийн сорьцны S генийн Ct утга хамгийн өндөр, 03 сарын 31-ны өдрийн сорьцны N генийн Ct утга хамгийн бага гарсан (зураг 6, 7).



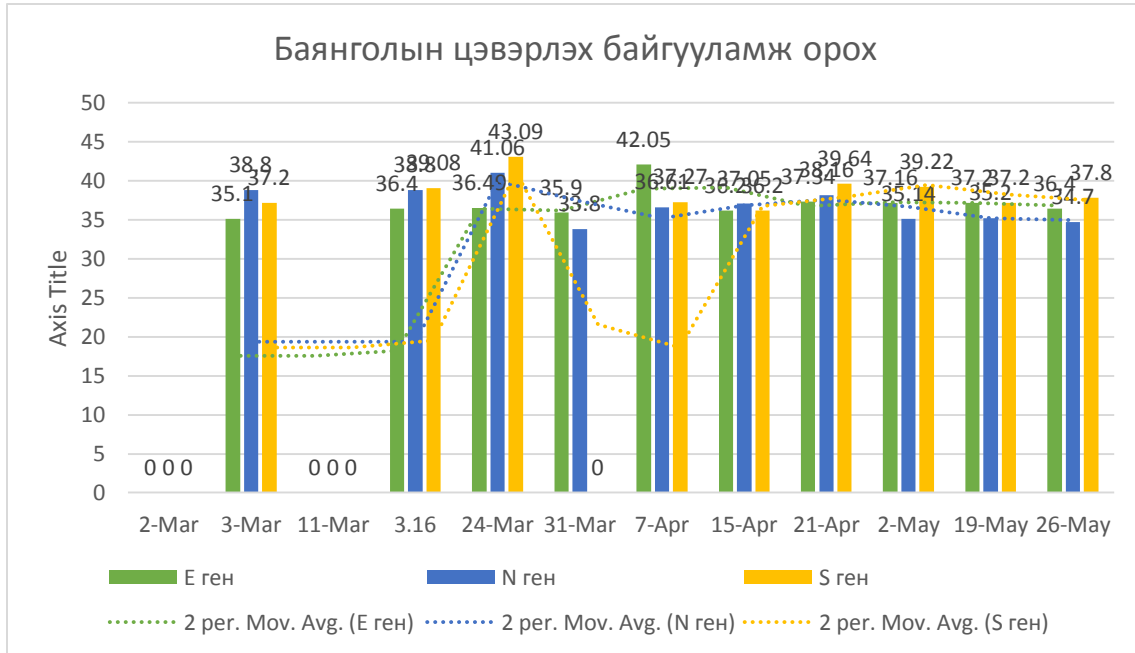
Зураг 10. Морингийн цэвэрлэх байгууламжийн орох хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт



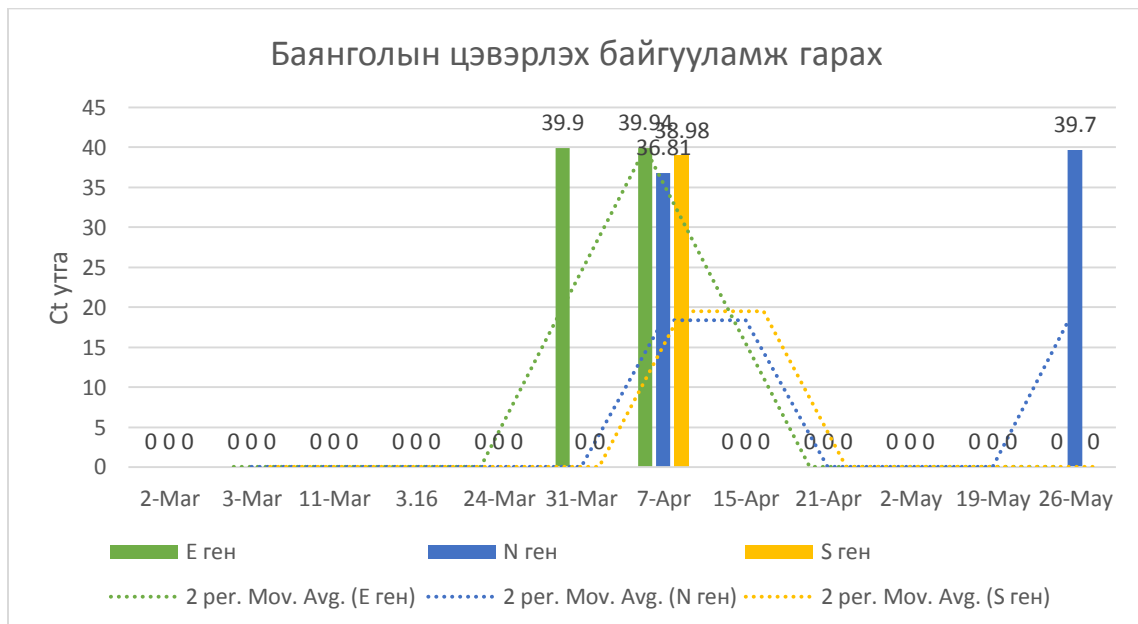
Зураг 11. Морингийн цэвэрлэх байгууламжийн гарах хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт



Баянголын цэвэрлэх байгууламжийн орох хэсгийн сорьцонд бх-ПГУ-ын шинжилгээ хийхэд 83.3% (n=10) эерэг, гарах хэсгийн сорьцонд 25% (n=3) нь эерэг гарч байна. Орох хэсгийн 03 сарын 24-ны өдрийн сорьцны S генийн Ct утга хамгийн өндөр, 03 сарын 31-ны өдрийн сорьцны N генийн Ct утга хамгийн бага гарсан (зураг 8, 9).

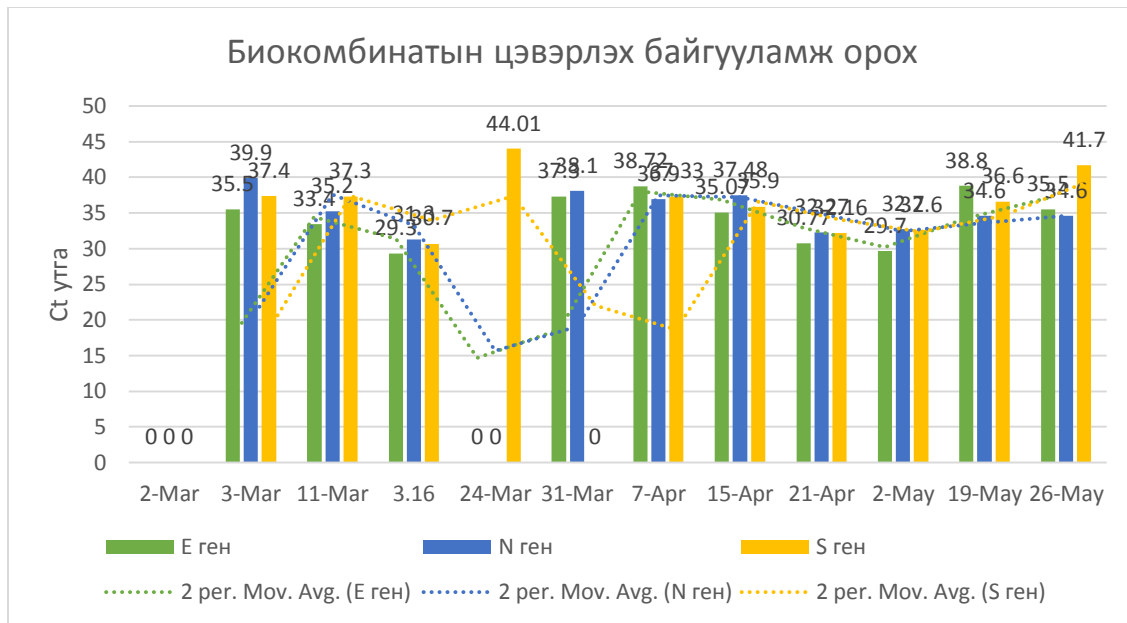


Зураг 12. Баянголын цэвэрлэх байгууламжийн орох хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт

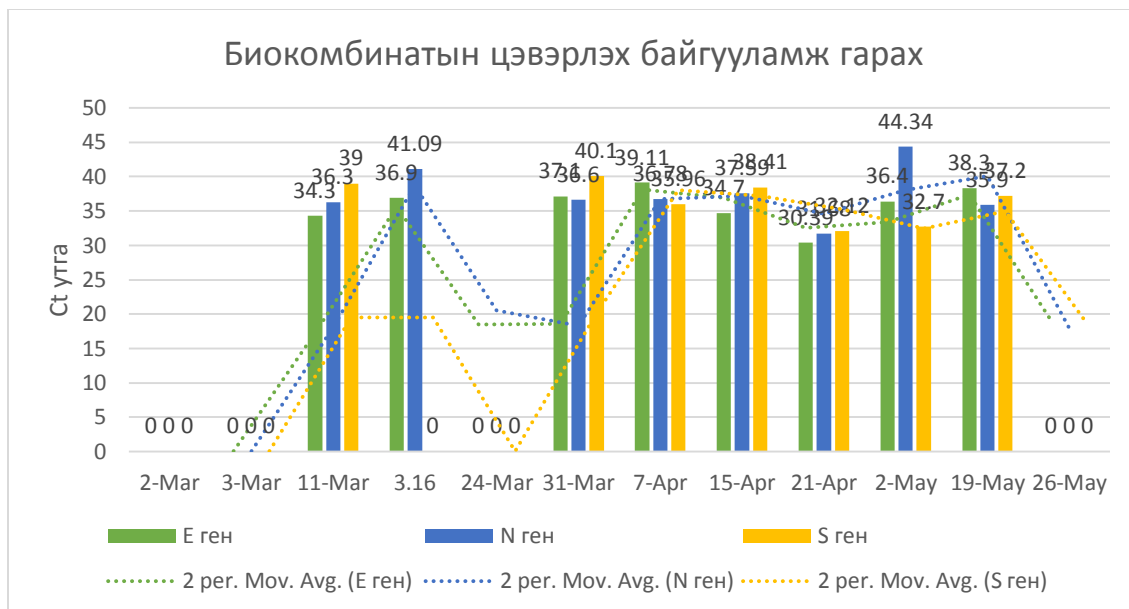


Зураг 13. Баянголын цэвэрлэх байгууламжийн гарах хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт

Биокомбинатын цэвэрлэх байгууламжийн орох хэсгийн сорьцонд бх-ПГУ-ын шинжилгээ хийхэд 91.6% (n=11) эерэг, гарах хэсгийн сорьцонд 66.6% (n=8) нь эерэг гарч байна. Орох хэсгийн 03 сарын 24-ны өдрийн сорьцны S генийн Ct утга хамгийн өндөр, 03 сарын 16-ны өдрийн сорьцны E генийн Ct утга хамгийн бага гарсан. Харин гарах хэсгийн 05 сарын 02-ны өдрийн N генийн Ct утга хамгийн өндөр, 4 сарын 21-ны өдрийн E генийн Ct утга хамгийн бага гарсан (зураг 9, 10).



Зураг 14. Биокомбинатын цэвэрлэх байгууламжийн орох хэсгийн E, N, S генийн Ct утгын харьцуулалт



Зураг 15. Биокомбинатын цэвэрлэх байгууламжийн гарах хэсгийн E, N, S генийн St утгын харьцуулалт

## ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

Өмнө нь Монгол улсад цэвэрлэх байгууламжийн бохир усны дээжид өвчин үүсгэгч илрүүлэх судалгаа дугтуйгүй вирус болох полио болон полио-бус энтеровирус дээр хийгдэж байсан (*T.Халиунаа, et al. 2021*) бөгөөд энэ удаад анх удаагаа дугтуйтай вирус болох SARS-CoV-2 дээр хийгдэж байгаа гэдгээрээ онцлог юм. Түүхий бохир ус, цэвэрлэх байгууламжийн оролтын, гаралтын бохир ус, лаг, бохирдсон гол мөрөн зэрэг олон газруудад SARS-CoV-2-ын PHX-г илрүүлснээр Австрали, Шинэ Зеланд, Нидерланд зэрэг улсууд хүрээлэн буй орчны тандалт судалгааг, КОВИД-19-ийн тандалт судалгааны үндсэн аргуудын нэг болгоод байна (*Medema, et al. 2020*). SARS-CoV-2-ын тархалт ихсэх үед ихэнх улс орнууд хатуу хөл хорио тогтоох арга хэмжээ авч бөгөөд хөл хорио тогтоосон үед халдвар авсан хүмүүсийг илрүүлэх нь хүндрэлтэй байсан. Харин бохир усанд суурилсан тархвар зүйн тандалтын арга нь хатуу хөл хорио тогтоосон үед халдвар авсан хүмүүсийг илрүүлэх өндөр ач холбогдолтой юм. Бохир уснаас SARS-CoV-2 илрүүлэх хамгийн үр дүнтэй аргыг боловсруулах шаардлагатай гэж Дэлхийн Эрүүл Мэндийн Байгууллага зарласан (*Ahmed, et al. 2020b*). Нэмж дурдахад үер, шороон шуурга, хур тунадас зэрэг цаг агаарын эрс тэс үзэгдэл бохир усны урсгалд нөлөөлөх мөн вирус илрүүлэлтийн түвшин зэрэг ямар нөлөө үзүүлэхийг судлах шаардлагатай байна. Судалгааны явцад цэвэрлэх байгууламж руу ирдэг бохир ус болон түүний макро бохирдуулагчийн хэмжээ, борооны усны нэвчилт, саарал усны оролт, гаралт, үйлдвэрлэлийн хог хаягдал зэрэг олон шалтгаануудыг харгалзан үзэх нь чухал юм (*Pillay, et al. 2021*). Бохир уснаас SARS-CoV-2 илрүүлэхэд шаардлагатай байгаа судалгаануудыг хийснээр тархвар судлаачид болон халдварт өвчний математик загварчлал гаргагчид SARS-CoV-2-ын халдварын цар хүрээг оновчтой таамаглаж, үр дүнтэй хариу арга хэмжээ авах боломжийг олгоно.

Хоёр үе шатлалт сепарацийн арга нь PEG – 8000, NaCl болон PBS ашигладаг бөгөөд өмнө нь бохир уснаас вирус илрүүлэх арга нь дугтуйгүй вирусүүдэд зориулагдсан PEG – 6000 ашигладаг байсан. Шинэ төрлийн SARS-CoV-2 бохир усанд илэрсэн нь дугтуйтай вирусийг бохир уснаас үр дүнтэй илрүүлэх стандарт арга зүйг боловсруулах шаардлага гарсан бөгөөд АНУ, Нидерланд, БНХАУ, Франц зэрэг олон оронд бохир уснаас дугтуйтай вирус илрүүлэх судалгаа хийгдэж

байна (*Ahmed, et al.* 2020a). Хоёр үе шатлалт сеперацийн аргад олон давуу тал бий мөн сул тал ч бий. Өндөр хүчин чадалтай лабораторийн тоног төхөөрөмж шаарддаггүй зөвхөн хөргөлттэй центрифуг хэрэглэгддэг. Өндөр үнэтэй урвалж бодис шаардахгүй мөн их хэмжээний бохир усыг (жишээ нь 1 л) боловсруулах боломж олгодгоороо давуу талтай. Сул талын хувьд бохир усны дээжийг боловсруулахад цаг хугацаа их шаарддаг дор хаяж 12-16 цаг шаардлагатай (*Ahmed, et al.* 2020a). Зарим судалгаануудад 4°C-д PEG-ээр 2-4 цаг инкубац хийхийг зөвлөсөн байдаг (*Farkas, et al.* 2017). Гэвч 12-16 цаг инкубац хийх нь вирусийн РНХ ялгарах гарцыг сайжруулдаг байна. Энгийн вирусийн РНХ нь бохир усанд хэдхэн минутын дотор задрах боломжтой (*Limsawat, et al.* 1997) тул бохир уснаас илрүүлсэн вирусийн РНХ нь халдварт эсвэл халдваргүй вирусүүдийн РНХ-ийн хэсгүүд байх магадлалтай юм.

Энэхүү судалгаа нь 2022 оны 02-р сард эхэлсэн бөгөөд үүнтэй зэрэгцэн Монгол улсад 03-р сараас эхлэн SARS-CoV-2-ын халдвар тасралтгүй буурсан билээ. Үүнтэй уялдан эерэг гарсан бохир усны дээж бүрийн бодит хугацааны ПГУ-ын Ct утга 30-40 хооронд байна. Ct утга 30-аас доош байвал тухайн дээж вирусийн концентрац өндөр байгааг илтгэдэг. Харин Ct утга 30-40 хооронд байвал тухайн дээж халдвартай ч вирусийн концентрац бага, Ct утга 40-өөс дээш байвал тухайн дээж халдваргүй байгааг илтгэнэ (*homage.com*). Манай судалгааны эерэг гарсан бохир усны дээжийн Ct утга 30-40 хооронд байгаа нь бохир усанд илэрч буй SARS-CoV-2-ын концентрац бага байгааг илтгэж байна. Бохир усанд вирус илрүүлэх судалгаа хийснээр SARS-CoV-2 эргэлдэж буй эсэхийг тандах, халдварын цар хүрээг таамаглах боломжийг олгох юм. Энэхүү судалгаа нь бохир усанд вирус илрүүлэх шинжилгээ хийх үндэсний лабораторийн хүчин чадлыг сайжруулах ач холбогдолтой.

## ДҮГНЭЛТ

Бид судалгаандаа Улаанбаатар хотын найман цэгээс бохир усны нийт 107 дээж цуглуулан SARS-CoV-2 илрүүлэх бхПГУ –ын шинжилгээг хийв. Нийт дээжийн 72.8% (n=78) –д нь SARS-CoV-2 вирус илэрсэн ба ген тус бүрээр авч үзвэл E ген 57% (n=61), N ген 65.4% (n=70), S ген 59.8% (n=64) илэрсэн бөгөөд N генийн илрэх хувь хамгийн өндөр байлаа.

Судалгааны дээж цуглуулсан саруудад Улаанбаатар хотод КОВИД-19 халдварын батлагдсан тохиолдлын тоо буурч байсан хэдий ч вирусийн бохир усанд илрэх хувь буураагүй нь хүн амын дунд КОВИД-19 халдварын шинж тэмдэггүй болон шинжилгээгээр баталгаажуулаагүй халдвар байсаар байгааг харуулж байна.

Цаашид Дифференциал тэгшитгэл бодох - 4-р эрэмбийн Рунге-Кутта арга ашиглан хүн амын дунд тархаж буй бодит тархалтын тоог тогтоох шаардлагатай.

## НОМ ЗҮЙ

1. Helena Jane Maier, Erica Bickerton, *et al.* (2015). Coronaviruses method and protocols. *Humana New York, NY*. P-2-17
2. John Ziebuhr. (2016). Coronaviruses. *Academic Press*. P-24-31
3. Bart L. Haagmans, Albert D.M.E. Osterhaus. (2009). Chapter 36 – SARS. *Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Diseases, Academic Press*. P-671-683
4. World Health Organization. (2018). *Managing epidemics: key facts about major deadly diseases*. World Health Organization.
5. Nsubuga, P., White, M. E., Thacker, S. B., Anderson, M. A., Blount, S. B., Broome, C. V., ... & Trostle, M. (2006). Public health surveillance: a tool for targeting and monitoring interventions. *Disease Control Priorities in Developing Countries. 2nd edition*.
6. Т.Халиунаа, Б.Анхмаа, Б.Төгөлдөр, Д.Сугаржав, Ц.Сайнбаяр, С.Ариунтөгс, Б.Ичинхорлоо. (2021). Цэвэрлэх байгууламжийн бохир усны дээжид полио болон полио-бус энтеровирус илрүүлсэн дүн. *Нийгмийн эрүүл мэнд шинжлэх ухааны сэтгүүл*.
7. Schoeman, D., Gordon, B., & Fielding, B. C. (2021). Pathogenic Human Coronaviruses. *Reference Module in Biomedical Sciences*
8. Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 19(3), 141-154.
9. Sims, N., & Kasprzyk-Hordern, B. (2020). Future perspectives of wastewater-based epidemiology: monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. *Environment international*, 139, 105689.
10. Gonzalez, R., Curtis, K., Bivins, A., Bibby, K., Weir, M. H., Yetka, K., ... & Gonzalez, D. (2020). COVID-19 surveillance in Southeastern Virginia using wastewater-based epidemiology. *Water research*, 186, 116296.
11. Ahmed, W., Bertsch, P. M., Bivins, A., Bibby, K., Farkas, K., Gathercole, A., ... & Kitajima, M. (2020a). Comparison of virus concentration methods for the RT-qPCR-based recovery of murine hepatitis virus, a surrogate for SARS-CoV-2 from untreated wastewater. *Science of the Total Environment*, 739, 139960. (a)

12. Farkas, K., Hillary, L. S., Thorpe, J., Walker, D. I., Lowther, J. A., McDonald, J. E., ... & Jones, D. L. (2021). Concentration and quantification of SARS-CoV-2 RNA in wastewater using polyethylene glycol-based concentration and qRT-PCR. *Methods and protocols*, 4(1), 17.
13. Ahmed, W., Angel, N., Edson, J., Bibby, K., Bivins, A., O'Brien, J. W., ... & Mueller, J. F. (2020b). First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Science of the Total Environment*, 728, 138764.
14. Aguiar-Oliveira, M. D. L., Campos, A., R Matos, A., Rigotto, C., Sotero-Martins, A., Teixeira, P. F., & Siqueira, M. M. (2020). Wastewater-based epidemiology (WBE) and viral detection in polluted surface water: A valuable tool for COVID-19 surveillance—A brief review. *International journal of environmental research and public health*, 17(24), 9251.
15. Kitajima, M., Ahmed, W., Bibby, K., Carducci, A., Gerba, C. P., Hamilton, K. A., ... & Rose, J. B. (2020). SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs. *Science of The Total Environment*, 739, 139076.
16. <https://covid19.mohs.mn/> Accessed 11 May 2021.
17. Deng, S. Q., & Peng, H. J. (2020). Characteristics of and public health responses to the coronavirus disease 2019 outbreak in China. *Journal of clinical medicine*, 9(2), 575.
18. Kampf, G., Todt, D., Pfaender, S., & Steinmann, E. (2020). Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *Journal of hospital infection*, 104(3), 246-251.
19. Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., ... & Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The lancet*, 395(10223), 497-506.
20. World Health Organisation, 2019. Ten Threats to Global Health in 2019. <https://www.who.int/>.
21. Frenk, J., & Gómez-Dantés, O. (2002). Globalization and the challenges to health systems. *Health Affairs*, 21(3), 160-165.



22. Kasprzyk-Hordern, B., Bijlsma, L., Castiglioni, S., Covaci, A., de Voogt, P., Emke, E., ... & Thomas, K. V. (2014). Wastewater-based epidemiology for public health monitoring. *Water and Sewerage Journal*, 4, 25-26.
23. Choi, P. M., Tschärke, B. J., Donner, E., O'Brien, J. W., Grant, S. C., Kaserzon, S. L., ... & Mueller, J. F. (2018). Wastewater-based epidemiology biomarkers: past, present and future. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105, 453-469.
24. Leung, W. K., To, K. F., Chan, P. K., Chan, H. L., Wu, A. K., Lee, N., ... & Sung, J. J. (2003). Enteric involvement of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection. *Gastroenterology*, 125(4), 1011-1017.
25. Zhou, J., Li, C., Zhao, G., Chu, H., Wang, D., Yan, H. H. N., ... & Yuen, K. Y. (2017). Human intestinal tract serves as an alternative infection route for Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Science advances*, 3(11), eaao4966.
26. Xiao, F., Tang, M., Zheng, X., Liu, Y., Li, X., & Shan, H. (2020). Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology*, 158(6), 1831-1833.
27. Zhang, W., Du, R. H., Li, B., Zheng, X. S., Yang, X. L., Hu, B., ... & Zhou, P. (2020). Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerging microbes & infections*, 9(1), 386-389.
28. Ling, Y., Xu, S. B., Lin, Y. X., Tian, D., Zhu, Z. Q., Dai, F. H., ... & Lu, H. Z. (2020). Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients. *Chinese medical journal*, 133(09), 1039-1043.
29. Medema, G., Been, F., Heijnen, L., & Petterson, S. (2020). Implementation of environmental surveillance for SARS-CoV-2 virus to support public health decisions: Opportunities and challenges. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 17, 49-71.
30. Farkas, K., Hassard, F., McDonald, J. E., Malham, S. K., & Jones, D. L. (2017). Evaluation of molecular methods for the detection and quantification of pathogen-derived nucleic acids in sediment. *Frontiers in Microbiology*, 8, 53.
31. Limsawat, S., & Ohgaki, S. (1997). Fate of liberated viral RNA in wastewater determined by PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(7), 2932-2933.
32. <https://www.homage.com.my/resources/covid-19-ct-value/>

33. Pillay, L., Amoah, I. D., Deepnarain, N., Pillay, K., Awolusi, O. O., Kumari, S., & Bux, F. (2021). Monitoring changes in COVID-19 infection using wastewater-based epidemiology: A South African perspective. *Science of The Total Environment*, 786, 147273.