

“ЭМГЭГ ТӨРӨГЧ *E. COLI*-ИЙН ХОРУУ ЧАНАРЫН ЗАРИМ СУДАЛГАА”

Н.Сэргэлэн¹, С. Лхагвасүрэн², Д.Алтангэрэл³, Х.Алтанцэцэг³

1-Глобал удирдагч дээд сургууль

2-ХААИС, Мал эмнэлэгийн хүрээлэн

3-ХААИС, Биологийн нөөцийн менежментийн сургууль

ХУРААНГУЙ

Манай оронд өргөн ~~өдгөр~~ тархсан (ундны ус, хүнс тэжээл, мал, ахуйд г.м) *E.coli* бүлгийн нянгийн эмгэг төрүүлэгч хэв шинжийг тодорхойлох, оношлогооны технологийг боловсронгуй болгох нь хүнсний халдвар хордлогоос сэргийлэх арга зам юм. Энэхүү судалгаагаар хүн, мал эмнэлэгийн лабораторийн шинжилгээ, судалгааны ажлын үр дүнгээр олдсон *E.coli*-ийн 24 өсгөвөрийн 79.1 % (19), *E.coli*-ийн *Mal B* генд эерэг, 7 % (5) нь *eae* генийн өвөрмөц дараалалд эерэг байна. Молекул эпидемиологийн судалгаагаар мах түүнд хамаарагдах гадаад орчноос ялгасан *E.coli*-ийн 16,7% хоолны хордлоготой өвчтнөөс ялгасан *E.coli*-ийн 25% нь *EHEC* байна.

СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ҮНДЭСЛЭЛ

Манай оронд хоол хүнсээр дамжсан халдвар, хордлогын эрсдэл нэмэгдсээр байна. Хүнсний халдвар, хордлогыг үүсгэгч нянгийн гол төлөөлөгч нь *E.coli* юм. *E.coli*-ийн халдварын тохиолдлуудаас дурьдвал; Өмнөговь аймаг дахь Зэвсэгт хүчний 167-р ангид хордлого гарсан (2005:11.05)⁶, Орхон аймгийн сурагчдын номноос гэдэсний савханцар илэрсэн байна. (2008.05.12)⁷, УБ хотын Төмөр замын 4,5-р цэцэрлэгийн хүүхдүүд хоолноосоо хордсон (2009-09-23)³, АНУ-аас импортлосон тахианы маханд *E.coli* 0157:H7 илрүүлснээс буцаах шийдвэр гаргасан байна. (2010.10.08)², Улсын МХЕГ-ын судалгаагаар голын усанд гэдэсний савханцрын бохирдол 5.8%, *E.coli* 35.8%д илэрсэн байна(2011.11.01)⁴. “Шинэ Шивээ” ХХК-ний хайгуулын түр сууринд (2012.10.5)¹⁰,

Баянзүрх дүүргийн оршин суугч Б-ийн 5 ам бүлийг хамарсан хордлогын үүсгэгч *E.coli* 0157:H7 байжээ (2013.04)¹¹. Энэ бүхэн *E.coli* нь манай оронд гарч байгаа хүнсний халдвар хордлогын гол төлөөлөгч болохыг баталж байгаагийн зэрэгцээ түүний хоруу шинж чанар, эпидемиологийн хамаарлыг судлах, хүн амыг энэхүү халдвар хордлогын эрсдлээс сэргийлэх шаардлагатайг харуулж байна.

Судалгааны ажлын зорилго нь Хүн, мал эмнэлгийн лабораторийн шинжилгээгээр ялган авсан *EHEC* (Enterohemorrhagic) ба *ETEC* (Enterotoxigenic) *E.coli*-ийн өсгөврийн хоруу чанар, молекул эпидемиологийн хамаарлыг судлах, оношлогооны дэвшилтэт арга боловсруулахад чиглэгдсэн болно.

ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

Судлаач Ж.Сарантуяа эмгэг төрүүлэгч *E.coli* дотор EAEC хамгийн их тархалттай буюу Монголд хүүхдийн диарийн гол шалтгаан болохыг тогтоож, молекул биологийн судалгаа хийсэн байна (2004 он)¹. Доктор С.Лхагвасүрэн үйлдвэрийн аргаар боловсруулсан махнаас *E.coli*-ийг илрүүлж молекул биологийн аргаар баталгаажуулсан (2005 он)³. С.Хүрэлбаатар нар

эмгэг төрөгч *E.coli*-ийн зарим хэвшлүүдийн хоруу чанарын генүүдийг молекул биологийн түвшинд судласан байна (2008 он)⁸. Л.Туяацацарал нар суулгалт өвчтэй хүүхдүүдээс ялгагдсан *E.coli*-ийн өвөрмөц хоруу шинжүүдийг молекул биологийн төвшинд судлан, эс хөөлгөн үхүүлэх хорыг тодорхойлсон (2011 он)⁹ байна.

МАТЕРИАЛ, АРГА ЗҮЙ

Судалгааны ажлыг МЭХ-ийн Ариун цэвэр, эрүүл ахуйн лаборатори, Молекулын генетикийн лаборатори, ХӨСҮТ-ийн Нян судлалын лавлагаа лабораторид хийж гүйцэтгэв.

Судалгаанд хүн, мал эмнэлгийн лабораторийн шинжилгээ, судалгааны ажлын дүнгээр олдсон *E.coli*-ийн 24 өсгөврийг ашиглав.(1-р хүснэгт).

Хүснэгт 1

<i>E.coli</i> -ийн өсгөврийн эх сурвалж			
№	Өсгөвөрийн нэр, код	Эх сурвалж	Лаборатори
1	<i>E.coli</i> 46	Малын гэжээл	МЭАЦГЛ
2	Ш1 <i>E.coli</i> Том	Өлөн гэдэс	МЭХ, ЭААЦЛ
3	<i>E.coli</i> 35.2	Ус	МЭХ, ЭААЦЛ
4	<i>E.coli</i> ш1	Ус	МЭХ, ЭААЦЛ
5	<i>E.coli</i> 68,6	Ус	МЭХ, ЭААЦЛ
6	<i>E.coli</i> 25	Лангууны арчдас	МЭХ, ЭААЦЛ
7	<i>E.coli</i> 63	Үхрийн мах	МЭХ, ЭААЦЛ
8	<i>E.coli</i> 10	Хонины мах	МЭХ, ЭААЦЛ
9	<i>E.coli</i> 50	Ямааны мах	МЭХ, ЭААЦЛ
10	<i>E.coli</i> 2	Агуулахын тавиурын арчдас	МЭХ, ЭААЦЛ
11	<i>E.coli</i> 29	Өлөн гэдэс	МЭХ, ЭААЦЛ
12	<i>E.coli</i> 24	Өлөн гэдэс	МЭХ, ЭААЦЛ
13-24	<i>E.coli</i> 1096 <i>E.coli</i> 1105	Хоолны хордлогоос	ХӨСҮТ, Нян судлалын лаборатори

Арга зүй: *E.coli* бүлгийн нянг илрүүлэх, ялган дүйхэд ISO 6579, MNS ISO 4891-99, MNS ISO 4840-99, ГОСТ 9958 зэрэг стандарт аргын зэрэгцээ олон улсын хэмжээнд хүлээн зөвшөөрөгдсөн (API-Analitical Profile Index) болон ДАЭМБ-ын (OIE Manual 2004) ПГУ, Multiplex ПГУ -ыг ашиглан явуулав.

***E.coli*-ийн биохимийн идэвхийг тодорхойлох API E 20 тестийн аргачлал:** 4 мл ариун нэрмэлд *E.coli* омгоос цийдмэг бэлдэн эргүүлэгт хольж тестийн ховилыг нэрмэл усаар дүүргэн, бактерийн цийдмэгээс тестийн ховилын хүзүүвч хүртэл, CIT,VT,Gel-ийг шууд дүүргэв. ADH,LDC,ODC, H₂S, URE- г эрдэс тосоор дүүргэн таглаад термостатад тавьж 36⁰С-д+-2⁰С-д 18-24 цаг өсгөвөрлөв. Шөнийн турш

инкубацлаж дараагийн өдөр үр дүнг уншихдаа зарим урвалжийг тус бүр 1 дусаав. TDA тестэнд: TDA 1 дусал, IND тестэнд :James 1 дусал,VP тестэнд: VP1 ба VP 2 тус бүр 1 дусал, NO₂ тестэнд Nit 1 1 дусал +Nit2 1 дусал урвалж тус тус нэмж урвалыг уншив. Үр дүнгийн хуудас дээр тестүүдийг гурав, гурваар нь бүлэглэн дугаарлаад бүлэг тус бүрээс гарсан тоогоор код үүсгэн кодоор урвалын дүнг унших хүснэгт ашиглан *E.coli*-г ялган дүйв.

ДНХ ялгах: Судалгаанд ашиглахаар цуглуулсан өсгөврөөс буцалгах аргаар ДНХ ялгав. 400 мкл өсгөврийг ПГУ-ын бичил тубенд хийж центрифугт 1000 эрг/минутад 30 минут хурилдуулав. Шинэ тубенд 200 мкл супернатант (шингэн хэсэг) авч центрифугт 8000 эрг/мин-д 15

минут хурилдуулав. Супернатантыг асгаж тунадас дээр 200 мкл нэрмэл ус нэмэн эргүүлэгт (vortex) холин буцалж буй усанд 15 минут халаан центрифугт 10000 эрг/мин-д 10 минут эргүүлэн темплайт (ялгасан бактерийн ДНХ)-ээс 2 мкл-ийг авав.

Полимеразын гинжин урвал (ПГУ)

E.coli-ийн эмгэг төрүүлэгч хэвшлээс дотоод хордлого төрүүлэгч *E.coli* (ETEC), дотоод цус задлагч (EHEC)-ийн mal B, хүрч бэхлэгдэн эмгэг үүсгэх ажиллагааг кодлогч eae генийг ПГУ-ын аргаар илрүүлэх шинжилгээг дараах праймеруудыг (3-р хүснэгт) ашиглан явуулав.

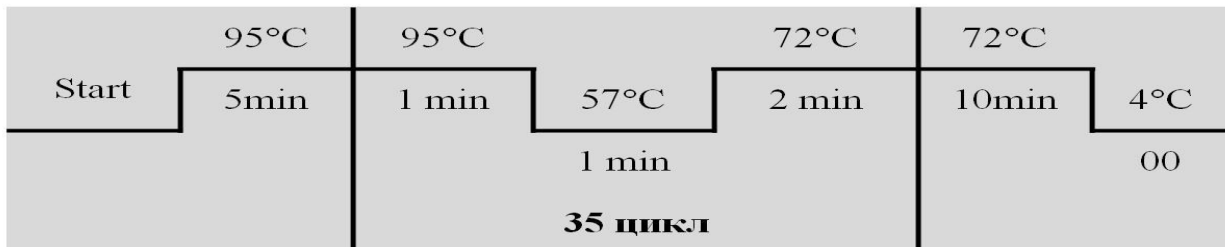
Хүснэгт 2

Ашигласан праймерийн мэдээлэл

Ген	дараалал	Бай ген	Олшруулалтын хэмжээ (хос)	Лавлагаа
mal B	GACCTCGGTTTAGTTCACAG A CAC ACG CTG ACG CTG ACCA CAGGTCGTCGTGTCTGCTAA	Мальтоз залдан, λ фаг адсорбцлох чанарыг кодлох	597	Candrian et all 1991
eae	A TCAGCGTGGTTGGATCAACC T	Хүрч бэхлэгдэн гэмтэл үүсгэх	1197	

Урвалын холимог: ПГУ-д Invitrogen-ийн PCR SuperMix (Cat.No.10572-014)-ийг ашиглан урвалын нэгж холимгийг нийт 25 мкл (SuperMix-20 мкл, праймер бүрээс 0.5 мкл, ДНХ 3 мкл)-ээр тооцов.

Олшруулалт: Нийт 35 мөчлөгөөр, урьдчилсан халаалт 95°C-т 5 мин, денатураци 95°C-т 1 минут, холболт 57°C-т 1 минут, уртасгалт 72°C-т 2 минут, төгсгөлийн олшруулалт 72°C-т 10 минутаар явуулав. 1-р бүдүүвч.



1-р зураг. Урвалын мөчлөг

Гель электрофорез: ПГУ-ын бүтээгдэхүүнээс 8 мкл-ыг 1 мкл ачаалагч буфертэй холиод гелийн үүрэнд хийж 1.5%-ийн агарозын гельд

гүйлгэнгелиэ этидиум бромидын уусмалд 10 минут тавиад ДНХ-ийн хэрчмүүдийг транслюминатор (320 нм) дээр харав.

СУДАЛГААНЫ ҮР ДҮН

Судалгаанд ашигласан 24 омгийг сонгодог орчинд ургуулах арга болон бактерийн биохимийн API E20 тестээр дахин ялган дүйхэд нийт өсгөврийн 50% хоолны хордлогод өртөгсдөөс, 25% нь малын гаралтай түүхий эд бүтээгдэхүүнээс, 12.5% нь уснаас, 8.3% арчдснаас, 4.1% нь малын тэжээлээс эх үүсвэртэй байна. Хүснэгт 1. Судалгаанд ашигласан 24 өсгөвөрөөс биохимийн идэвхээр 87.5% *E.coli* байгаа өсгөврийн хадгалалтаас

түүний биохимийн идэвх өөрчлөгдсөн байх магадлалтай байна.

E.coli-ийн зарим омгууд нь malB мужийг агуулдаг. Энэ нь мальтозыг задлан лямбда фагид адсорбц болоход оролцсоноор уг хэвшил эмгэг төрөгч чанарыг олдог (20). *E.coli*-ийн 24 өсгөвөрт ПГУ-аар malB генийн өвөрмөц дарааллыг олшруулахад нийт өсгөврийн 87.5% эерэг байгаа нь ялгасан өсгөврийн дийлэнх нь эмгэг төрөгч *E.coli* байна.

(3-р хүснэгт, 1, 2-р зураг) Дотуур цус задлах (EHEC) эмгэг үүсгэх, хүрч бэхлэгдэн гэмтэл үүсгэх чанар (Attaching effacing lesion) -ыг кодлогч eae генийн өвөрмөц дараалал нийт өсгөврийн 20.8% нь EHEC-ийн eae ген эерэг үүний 60% нь хоолны хордлого авсан хүнээс

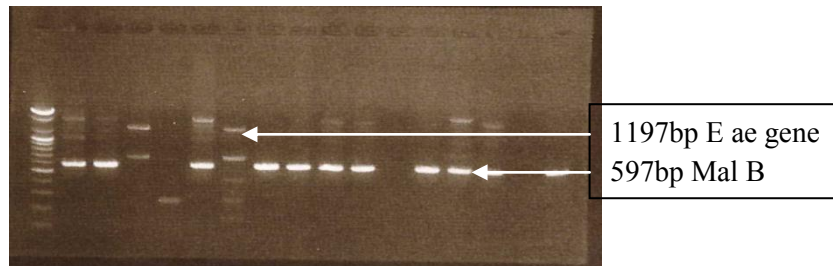
ялгасан дээжнээс, 20% нь түүхий мах, 20% өлөн гэдэснээс ялгасан *E.coli*-оос илрэв (1 ба 2-р зураг) Товчоор хэлэхэд 24 өсгөврийн 20 -д malB ген 5 өсгөвөрт EHEC -ийн eae генийн хэсэг илэрч байна.

Хүснэгт 3

E.coli -ийн молекул эпидемиологийн хамааралын судалгааны дүн

№	<i>E.coli</i> илэрсэн эх сурвалж	Илэрсэн өсгөврийн тоо	API E20 тестийн дүн	PCR-ын үр дүн malB	PCR-ын үр дүн eae
1	Малын гэжээлээс	1	1	1	
2	Уснаас	3	3	1	1
3	Түүхий махнаас	3	2	3	
4	Гадаргуугийн арчдас	2	2	2	1
5	Малын өлөн гэдэснээс	3	3	2	
6	Хоолны хордлогод өртөгсөдөөс	12	10	11	3
7	Бүгд	24	21	20	5

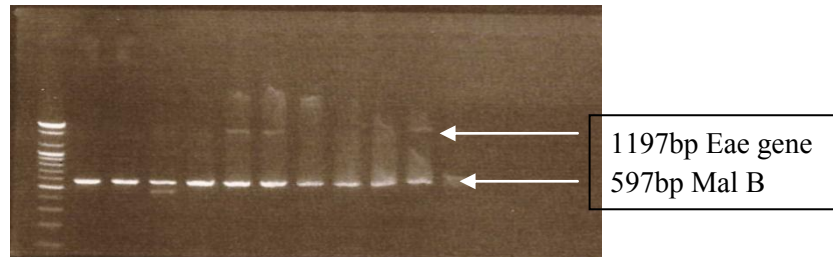
М 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12



М-маркер 1-р багана-малын гэжээл mal B (+), 2-өлөн гэдэс- mal B (+); 3.ус mal B (+) eae (+); 4.ус- бүгд сөрөг, 5.ус- mal B (+) eae (+); 6.арчдас - eae (+); 7-9-түүхий мах mal B (+); 10-агуулахын тавиурын арчдас mal B (+); 12-өлөн гэдэс mal B (+);

2-р зураг. Мах түүнд хамаарагдах орчноос ялгасан *E.coli*-ийн ПГУ-ын дүн

М 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24



М-маркерд 13-24 хоолны хордлого авсан хүнээс авсан дээж Mal B генд бүгд эерэг; 17,18, 22 баганууд eae gene (EHEC) - д эерэг байна.

3-р зураг. Хоолны хордлого авсан хүнээс ялгасан *E.coli*-ийн ПГУ-ын дүн

ДҮГНЭЛТ

1. Судалгаанд ашигласан, малын тэжээл, ус, лангууны арчдас, мах, өлөн гэдэс, өвчтөнөөс ялгасан *E.coli*-ийн нийт өсгөврийн 50% хоолны хордлогод өртөгсдөөс, 25% нь малын гаралтай түүхий эд бүтээгдэхүүнээс, 12.5% нь уснаас, 8.3% арчдаснаас, 4.1% нь малын тэжээлээс эх үүсвэртэй байна.
2. ПГУ-ын дүнгээр нийт өсгөврийн 87.5% нь эмгэг төрөгч *E.coli* байна. *eae* ген (хүрч бэхлэгдэн гэмтэл үүсгэгч хоруу чанарыг кодлогч ген)-ийн өвөрмөц дараалал 5 өсгөвөрт нь эерэг байгаа дотуур цус задлагч ЕНЕС нийт өсгөврийн 7%-ийг эзэлж байна.
3. Судалгааны дүн, малын гаралтай бүтээгдэхүүний үйлдвэрлэлд биологийн гаралтай эрсдэлд суурилсан хяналтад *E.coli* -ийг индикатор бактериар авч,, хүнсний аюулгүй байдлын тандалт, судалгаа, сэргийлэх арга хэмжээ, махны үйлдвэрийн эрүүл ахуйн хяналтыг оновчтой хийхэд анхаарах шаардлагатайг харуулж байна
4. *E.coli*-ийн хоруу чанарын судалгааг молекул биологийн аргаар хийсэн нь энэхүү ажлын дэвшилтэт тал юм.

АШИГЛАСАН ХЭВЛЭЛ

1. Jav.Sarantuya. “Typical enteroaggregative *Escherichia coli* are the most prevalent pathotype among diarrheagenic *E. coli* causing diarrhea in Mongolian children ” *Journal of Clinical Microbiology*, Jan.2004, p.133-139 American Society for Microbiology
2. Замын үүд дах Хилийн Мэргэжлийн Хяналтын Албаны Нэгдсэн Лабораторийн шинжилгээний тайлан 2010 он.
3. С.Лхагвасүрэн Махны *Salmonella*, *E.coli*-ийн бохирдолтыг молекул биологийн аргаар судалсан нь (докторын диссертаци) УБ. 2005 он
4. Мэргэжлийн хяналтын ерөнхий газар “Хот суурин газрын хүн амын дунд ахуйн ус хангамжийн усны чанар, аюулгүй байдалд хийсэн шалгалтын дүн “ 2012 оны 11.01. <http://inspection.gov.mn/index>
5. Ж.Нэрс ”Шинжилгээгээр гэдэсний савханцар болохыг тогтоожээ .” Үнэн сонин 2009.09.23. № 1160652
6. Д.Осор” Цэргийн хоолонд гэдэсний савханцартай гоймон нийлүүлжээ” Өдрийн сонин №276 2005.11.16.
7. Р.Вроам , Н.Хүрэлбаатар *Escherichia coli*-оор сэдээгдсэн суулга (*Diarrhea caused by Escherichia coli*) Халдварт өвчин судлалын Монголын сэтгүүл 2010, цуврал 8 х 33-34
8. Л.Туяацацрал, Ж.Сарантуяа , Я.Мөнхдэлгэр , Н.Имута , Ж.Ниши “ Суулгалт өвчтэй хүүхдүүдээс ялгагдсан *E.coli*-гийн өвөрмөц хоруу шинж Хүрэл тогоот -2011 он.
9. ХӨСҮТ мэдээ “ Шинэ Шивээ ХХК-ийн хайгуулын түр сууринд бүртгэгдсэн гэдэсний халдварын голомтын тайлан “<http://www.nccd.gov.mn/> 2012 .10.05.