

## **АДУУНЫ ХАЛДВАРТ ЦУС БАГАДАХ ӨВЧНИЙ ҮҮСГЭГЧИЙГ ИЛРҮҮЛСЭН ДҮНГЭЭС**

**Г.Түвшинсайхан<sup>1\*</sup>, С.Ундармаа<sup>1</sup>, Г.Отгонтуяа<sup>1</sup>, С.Коннай<sup>2</sup>, Ч.Тунгалаг<sup>1</sup>,  
Ш. Түмэнжаргал<sup>1</sup>,**

1- Мал эмнэлгийн сургууль, ХААИС  
2-Хоккайдогийн мал эмнэлгийн сургууль

\*Email: g\_tuvshinsaikhan@yahoo.com

### **ХУРААНГУЙ**

*Адууны халдварт цус багадах өвчин (АХЦБӨ) нь монгол орны гол мөрний ай сав, ялаа шумуул ихтэй нутгуудын адуунд серологийн тандалтаар илэрч байсан боловч өвчний үүсгэгч вирусыг өнөөг хүртэл илрүүлж тодорхойлоогүй байна. Бид монгол орны адуунд АХЦБӨ-ний үүсгэгчийг илрүүлэх зорилго тавин ажилсан. Судалгааны ажлын хүрээнд Хөвсгөл, Сэлэнгэ, Төв, Булган аймгуудаас санамсаргүй тандалтаар нийт 752 дээжийг нэвчин тунадасжих урвалаар шинжилж түүнийгээ үүрэн “нестед” полимеразын гинжин урвалаар буюу EIA vitr-1F, EIA vitr-1R, EIA vitr-2F, EIA vitr-2R праймер ашиглан баталгаажуулсан. Нэвчин тунадасжих урвалаар шинжлэхэд 10 дээж буюу 1.3%-д нь эерэг үр дүн гарсан бөгөөд түүнийгээ үүрэн “нестед” полимеразын гинжин урвалаар шинжлэхэд 2 дээж буюу 0.2% -д нь эерэг үр дүн үзүүлсэн. АХЦБӨ-ний халдвартай адуу дээж авах үед ил шинж тэмдэггүй байв. Сэлэнгэ аймгийн адуунд АХЦБӨ-ний тархалттай байна. Монгол адуунаас АХЦБӨ-ний үүсгэгчийг үүрэн “нестед” полимеразын гинжин урвалаар илрүүлэв. Сүүлийн үед АХЦБӨ монгол адуунд ил шинж тэмдэггүй илэрч байна. Цаашид монгол адууны адууны халдварт цус багадах өвчний үүсгэгчийн генийн дараалалыг тогтоож бусад орны адууны халдварт цус багадах өвчний үүсгэгчтэй харьцуулах шаардлагатай байна.*

**Түлхүүр үг:** Сэлэнгэ, Цус, Нестед ПГУ, Праймер, Лентивирус,

### **ОРШИЛ**

Адууны халдварт цус багадах өвчнөөр бүх үүлдэр, насны адуу, тахь, илжиг, луус өвчилдөг. Илжиг нь адууг бодвол арай тэсвэртэй байх ба өвчлөхдөө цочмогдуу эсвэл архаг хэлбэрээр өвчилдөг. Өвчин үүсгэгч нь *Ретровирусийн* язгуур, *Лентивирусийн* төрлийн 3-р дэд төрөлд хамаарах рибонуклейн хүчил агуулсан вирус юм. Үүсгэгчийн халдварын эх булаг нь өвчтэй адуу.

Ялангуяа өвчний цочмог үед, эсвэл архаг өвчин сэдэрсэн үед өвчтэй адуунд вирус ихээр хуримтлагдана. Өвчилсөн адуу нь 7-10 жил, бүр 18 жил ч вирус тээгч болдог. Уг өвчний вирус ихэнхдээ адууны нийлүүлэг, цус авах, тарилга хийх үеэр, эсвэл цус сорогч ялаа, шумуулаар халдварлахаас гадна унага өвчтэй эхийнхээ хэвлийд байхдаа болон сүүгээр халдвар авах,

эрүүл адуу өвчтэй адуутай хамт маллагдаж байгаа нөхцөлд уг өвчний вирусээр халдварлах нь бий. АХЦБӨ 20-зууны эхэн үед Европын зарим улс, АНУ, Япон, Энэтхэг зэрэг улсад ихээхэн тархсан өвчний нэг байжээ. Энэ өвчин нь дэлхийн I ба II дайны үед ихээхэн тархаж үхэл нь 80% хүрч байжээ. Манай улсад 1950-иад оноос Булган, Сэлэнгэ зэрэг аймгийн адуунд гарч эхэлсэн ба 1957 онд уг өвчнийг эцэслэн оношилж, тэмцэх арга хэмжээг хэрэгжүүлж эхлэв. 1980 оноос ийлдсийн шинжилгээгээр оношилж эхэлсэн байна. Сүүлийн үед манай орны Булган, Сэлэнгэ, Хөвсгөл, Орхон, Дархан-Уул, Улаанбаатар хотод уг өвчний гаралт тархалтыг дурдсан мэдээ байна. Дэлхийн халдварлалтын сүүлийн үеийн мэдээнд уг өвчин нь АНУ, Австрали, Япон, Энэтхэг, Африкийн ба Европын орнуудад тархсан талаар мэдээлсэн байна. Өвчнийг шинж тэмдгээр нь цочмог, цочмогдуу, архаг гэж хуваадаг. Цочмог, цочмогдуу явцтай үед биеийн халуун 40-42<sup>0</sup>C хүрч өвчтэй адуу тэжээл усандаа дуртай ч унаж эдлэхэд амархан эцэж ядрах, ижлээ гүйцэхгүй хоцрох, шогшуулах төдийд зүрхний цохилт огцом түргэсэх, хэвлийн хэсэг, хойд хөлийн бэрэвхий орчмоор хавагнах, турах, явахдаа гуйвж дайвах, хэвтэх шинж ажиглагдана. Нүдний салст бүрхүүл цагаан өнгөтэй болж цэгэн цус харвах бөгөөд налхи, хэлний хажуу талаар цус харвасан байх нь нэлээд онцлог шинэ тэмдэг юм. Өвчилсөн адууны 70 гаруй хувь нь архаг явцтай өвчилнө. Энэ явцын үед өвчилсөн адуу үе үе халуурах, хөлрөх төдий

шинж тэмдэг илэрнэ. Ийм адуу тээгч байж жил гарам болох бөгөөд гаднын нөлөөгөөр хүндэрч үхнэ (1, 2). Монгол адуу нь байгалийн эрс тэс уур амьсгалд дасан зохицсон онцгой тэсвэртэй мал юм. Манай орны адуу сонирхогч иргэд өөр улсаас сайн угшлын хурдны адуу оруулж ирж, үүлдэр угсаа сайжруулах зэргээр адуутай холбоотой хөгжлийн шинэ үе эхэлсэн байна. Шинжлэх ухаан, техник технологийн дэвшлийн дагуу монгол орны мал эмнэлгийн практикт оношлогооны шинэ арга, шинэ бэлдмэлүүдийг туршин нэвтрүүлэх шаардлага зүй ёсоор тавигдаж байгаа билээ. Байгаль орчны тэнцвэрт байдлын алдагдлаас улбаатай уур амьсгалын өөрчлөлт, хүн мал амьтны амьдралын хэв маяг, шилжилт хөдөлгөөнтэй холбоотой сүүлийн жилүүдэд шинэ шинэ өвчнүүд бүртгэгдэх болсны зэрэгцээ устаж үгүй болох шатандаа явсан зарим өвчнүүд дахин сэргэх, тэдгээрийн гаралт, давтамж улам ойртох зэрэг сөрөг үзэгдэлүүд ажиглагдах болов. Ийм учраас аливаа халдварт өвчний оношлогоог хурдан шуурхай хийх асуудал чухлаар тавигдсаар байна. Манай оронд 1990 оны дундаас эхлэн 2011 онд жил бүр дараалан хийсэн ийлдэс судлалын тандалтаар энэ өвчний халдварлалтын зарим аймагт өндөр гарч байсан боловч өвчний үүсгэгч вирусыг өнөөг хүртэл илрүүлээгүй байсан учраас бид энэхүү судалгааны ажлаараа Монгол адуунд АХЦБӨ-ний үүсгэгчийг илрүүлэх зорилго тавьсан болно.

## СУДАЛГААНЫ ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН, АРГА ЗҮЙ

Бид адууны халдварт цус багадаа өвчний (АХЦБӨ) үүсгэгчийг илрүүлэх зорилгоор 2016 оны зун, намар Хөвсгөл, Сэлэнгэ, Төв, Булган аймгийн нийт 752 адуунаас цусны ийлдсийг цуглуулсан. Нэвчин тунадасжих урвалаар (НТУ) эерэг гарсан адуунаас вирусны геном ялгах зорилгоор ЭДТА бүхий вакуумдсан хуруу шилэнд цусны дээжийг бүлэгнүүлэлгүй авч шинжлэв. НТУ-ыг “NISSEIKEN CO.,LTD. OME TOKYO JAPAN” Япон улсад үйлдвэрлэсэн эсрэгтөрөгч,

эерэг сөрөг хяналтын ийлдэс бүхий шууд хэрэглэхэд бэлэн “Eai antigen for immune diffusion test antigen and reference antiserum” цомог ашиглан Петрийн аяганд цутгасан агарын гелд зааврын дагуу хийв. Геном ялгахад зориулсан Promega компаний “Wizard Genomic DNA Purification kit” цомог ашиглан бүлэгнээгүй цуснаас геномыг ялгаж Thermo Scientific компаний “Dream Tag PCR Master Mix” мастер холимог ашиглан үүрэн “нестед” ПГУ тавив.

Хүснэгт 1

Үүрэн “нестед” ПГУ-ын праймер

Нэр	Дараалал	Уртсах температур (°C)	Олшрох хэмжээ bp
EIA vitr-1F EIA vitr-1R	5 <sup> </sup> GACAGTTGGGCACTCAGATT 3 <sup> </sup> 5 <sup> </sup> CAGGAACACCTCCAGAAGAC 3 <sup> </sup>	52	246 bp
EIA vitr-2F EIA vitr-2R	5 <sup> </sup> ATTCTGCGGTCTGAGTCCCT 3 <sup> </sup> 5 <sup> </sup> TAAGTTCTCCTCTGGTGTCC 3 <sup> </sup>	58	200 bp

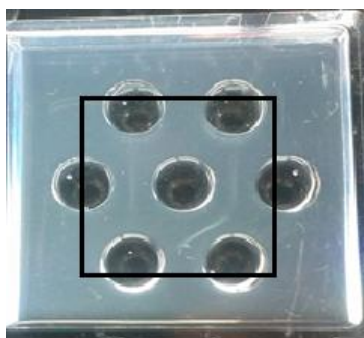
Дараа нь EIA vitr-1F, 1R праймерыг ашиглан мастер холимог бэлтгэн түүнээс 23 мкл, дээр нь 2 мкл дээж нэмж холин нийт 25 мкл болгон үүрэн “нестед” ПГУ-ын эхний шатыг явуулав. Үүрэн “нестед” ПГУ-ын эхний шатыг явуулахад 94<sup>0</sup>С-т 5 минут байлгасны дараа, 94<sup>0</sup>С-т 30 секунд, 52<sup>0</sup>С-т 30 секунд, 72<sup>0</sup>С-т 40 секунд гэсэн дарааллаар 35 цикл явуулж, 72<sup>0</sup>С-т 10 минут байлгаж олшруулна. EIA vitr-2F, 2R праймерыг ашиглан

мастер холимог бэлтгэн түүнээс 23 мкл, дээр нь 2 мкл дээж нэмж холин нийт 25 мкл болгоод үүрэн “нестед” ПГУ-ын хоёрдогч шатыг явуулав. Үүрэн “нестед” ПГУ-ын хоёрдогч шатыг явуулахад 94<sup>0</sup>С-т 5 минут байлгасны дараа, 94<sup>0</sup>С-т 30 секунд, 58<sup>0</sup>С-т 30 секунд, 72<sup>0</sup>С-т 40 секунд гэсэн дарааллаар 35 цикл явуулж, 72<sup>0</sup>С-т 10 минут байлгаж олшруулна.

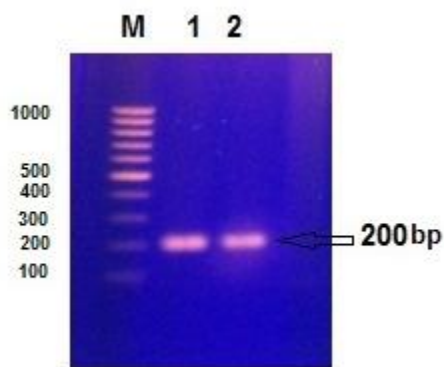
### СУДАЛГААНЫ ҮР ДҮН

Судалгаанд Булган, Хөвсгөл, Төв, Сэлэнгэ аймгийн нийт 752 адуунаас цусны дээж цуглуулж нэвчин тунадасжих урвалаар (НТУ) шинжлэхэд 11 дээж буюу 1.46% нь эерэг үр дүн үзүүлэв. Дээж авах үед АХЦБӨ ний ямар нэг ил шинж

тэмдэг илрээгүй байв (турж эцэх, халуурах гм). НТУ-ын шинжилгээгээр эерэг дүн үзүүлсэн 11 дээжийг үүрэн “нестед” полимеразын гинжин урвалаар (ПГУ) шинжлэхэд 2 дээж эерэг үр дүн үзүүлсэн



1-р Зураг. Нэвчин тунадасжих урвалын үр дүн



2-р зураг. Үүрэн “нестед” полимеразын гинжин урвалын үр дүн  
М-маркер, 1 багана - дээж №9, 2 багана - дээж №50, bp – хос суурь,

Хүснэгт 2.

Дээжний шинжилгээний үр дүн (аймгаар)

	Аймаг	Шинжилсэн дээжний тоо	Эерэг дээжний тоо (НТУ)	Үүсгэгч илэрсэн дээж (ПГУ)
1	Булган	55	-	-
2	Хөвсгөл	20	-	-
3	Сэлэнгэ	655	11	2
4	Төв	22	-	-
	нийт	752	11	2

## ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

Дэлхий дахинд НТУ-ыг АХЦБӨ-ний оношлогооны үндсэн аргаар хэрэглэж байна. Ихэнх вирус тээгч адуу ил шинж тэмдэг үзүүлэхгүй ч сүрэгтээ халдвар тараагч болдог, нөгөө талаар уг өвчнөөс сэргийлэх вакцин байдаггүй учир НТУ-аар эерэг гарсан адууг тусгаарлан нядалгаанд оруулдаг заавартай байдаг байна [1,2]. АХЦБӨ нь манай орны Хөвсгөл, Булган, Дархан-Уул, Орхон, Сэлэнгэ, Төв, Улаанбаатар хотод оношлож байсан байна [1,3]. 2011 онд хийсэн тандах шинжилгээгээр Сэлэнгэ аймагт АХЦБӨ-ний халдвар 25% хүрч байсан боловч Монгол адуун дахь уг өвчний үүсгэгч вирусыг өнөөг хүртэл илрүүлээгүй байна [3]. Энэхүү судалгааны хүрээнд 2016 оны зун Хөвсгөл, Булган, Төв болон Сэлэнгэ аймгийн 700 гаруй адуунд ийлдэс судлалын тандалт хийхэд 11 адуу АХЦБӨ тэй гарсан нь уг өвчний тархалт харьцангуй бага байгааг харууллаа. Энэ нь өмнөх жилүүдэд тандалтаар эерэг гарсан адууг устгалд оруулж байсантай холбоотой юм. НТУ аар зөвхөн Сэлэнгэ аймгийн адуу эерэг гарсан нь дээжний тоогоос шалтгаалснаас гадна уг бүсийн чийглэг орчин болон ялаа шумуул ихтэй байдалтай холбоотой. Дээж авах үед эерэг гарсан адуунд ямарваа нэг ил шинж тэмдэг (турах, халуурах) илрээгүй нь сүүлийн үед Монгол оронд АХЦБӨ ний илэрхий шинж тэмдэггүй хэлбэр байгааг анхааруулж байна. 1990 ээд онуудад ОХУ ын манай хойд хил дагуух адууны фермүүдэд гарсан

уг өвчин хил дамжин орж ирж байсан тул НТУ аар тандалт явуулан эерэг дүн үзүүлсэн их хэмжээний адууг нядлан устгаж байсан байна. Үүний үр дүнд уг өвчин нэлээд хумигдсан боловч сүүлийн үед гадаадаас эрлийз адууг хяналтгүйгээр оруулж ирж буй нь уг өвчний шинэ дэгдэлтэнд нөлөөлж болзошгүй. Түүнчлэн серологийн урвал нь солбицон танигдах магадлал ихтэй учир үүсгэгчийг ПГУ аар илрүүлэн тогтоож баталгаажуулах нь зөв оношлоход зайлшгүй юм. ОЕ ийн заавар дахь ПГУ ын праймер нь уг өвчний үүсгэгчийн лабораторийн омгуудыг илрүүлэхэд таардаг боловч байгаль дахь үүсгэгчийн вирусыг илрүүлэн тогтооход тэр бүр таардаггүйг бусад судлаачид тэмдэглэсэн байна [8]. Бид уг судлаачдын хэрэглэсэн праймерийг ашиглан монгол адууны захын цусанд үүсгэгчийг илрүүлэн тогтоолоо. Уг праймер нь вирусын 5'-long terminal repeat (LTR) хэсгээс trans-activator (*tat*) ген хүртэлх консервед буюу тогтмол нуклеотидын дараалалтай хэсгийг өвөрмөцөөр таньдаг юм. Мөн халдварын эхний шатанд эсрэгбием хараахан үүсээгүй үед НТУ-аар сөрөг гарч болох бөгөөд энэ тохиолдолд ПГУ-аар үүсгэгчийг илрүүлэх гол арга болох юм. Лентивирус нь мутаци ихтэй учир зарим НТУ-аар эерэг гарсан дээжнүүд бидний сонгосон праймерээр танигдахгүй байхыг үгүйсгэхийн аргагүй [9].

## ДҮГНЭЛТ

Ийлдэс судлалын шинжилгээгээр Хөвсгөл, Булган, Сэлэнгэ, Төв аймгийн адуун сүргийг шинжлэхэд Сэлэнгэ аймагт АХЦБӨ илүү тархалттай байгаа нь харагдлаа. НТУ аар эерэг гарсан дээжинд АХЦБӨ-ний үүсгэгчийг полимеразын гинжин урвалаар (ПГУ) илрүүлэв. АХЦБӨ ний шинжилгээгээр эерэг гарсан адуунд

дээж авах үед ямар нэгэн ил шинж тэмдэг илрээгүй байсан нь монгол оронд уг өвчний ил шинж тэмдэггүй хувилбар байгаа нь харагдлаа. Цаашид монголын АХЦБӨ-ний үүсгэгчийн генийн дараалалыг тогтоож бусад орны АХЦБӨ-ний үүсгэгчтэй харьцуулах шаардлагатай байна.

## ТАЛАРХАЛ

Адуунаас дээж авахад тусласан Сэлэнгэ аймгийн Хилийн Цэргийн ХХХХ дугаар ангийн байлдагч нар, Булган, Сэлэнгэ аймгийн МЭГ, урвалж

цомгоор хангасан Хоккайдогогийн мал эмнэлгийн сургуулийн профессор С.Коннайд талархал илэрхийлье.

## **АШИГЛАСАН ХЭВЛЭЛ**

1. ХХААХҮЯ, Мал амьтны өвчнүүдтэй тэмцэх, журам зааврууд, 2010 ОИЕ (2008)
2. Equine infectious anemia: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Paris, p 866-870
3. Ochir Pagamjav, Keiko Kobayashi, Hironobu Murakami, Yuji Tabata, Yasuo Miura, Bazartseren Boldbaatar and Hiroshi Sentsui, Serological survey of equine viral diseases in Mongolia, Microbiol Immunol 2011; 55: 289–292
4. Coggins L., Norcross NL., Nusbaum SR (1972) Diagnosis of equine infectious anemia by immunodiffusion test. Am J Vet Res 33:11-18
5. Cheevers, W.P., and T.C. McGuire. 1985. Equine infectious anemia virus: immunopathogenesis and persistence. Rev. Infect. Dis 7:83-88
6. Cook RF, CJ Issel and RC Montelaro, 1996. Equine infectious anemia, vol.6 Elsevier, Amsterdam, Netherlands
7. Sellon DC 1993. Equine infectious anemia. Vet Clin North Am Equine Pract 9:321-336
8. Dong, Jian-bao; Zhu, Wei; Cook, Frank R; Goto, Yoshitaka; Horii, Yoichiro; et al. Development of a nested PCR assay to detect equine infectious anemia proviral DNA from peripheral blood of naturally infected horses, Archives of Virology 2012, 157: 2105-11
9. Dorn P. et al., 1990, Equine infectious anemia virus tat: insights into the structure, function and evolution of lentivirus trans-activator proteins. J Virol 64:1616-1624

## **DETECTION OF EQUINE INFECTIOUS ANEMIA VIRUSES IN INFECTED MONGOLIAN HORSES**

*Equine infectious anemia (EIA) is caused by a retrovirus transmitted by bloodsucking insects which is prevalent mostly in northern part of Mongolia but the virus was never detected in Mongolia until now. The blood samples from local horses of Selenge, Khovsgol, Tov and Bulgan provinces were collected and tested by agar gel immunodiffusion test (AGID) as first screening. Two samples were PCR positive out of 11 seropositive samples from total 752 horses. The partial sequence analysis of PCR products evaluated as EIAV. When we were take a sample all horses not showing any clinical sign with EIAV. Selenge province most common with EIAV in Mongolia. We identified EIAV by agar gel immunodiffusion test (AGID). Furthermore we analyze and determine sequence of genotype.*

**Key words:** Animal *lentivirus*, Blood, Nested PCR, Selenge, Primer