



## Бог малын лентивирус илрүүлсэн дүнгээс

Н.Даваасүрэн, Ц.Амартүвшин, С.Ундармаа, Б.Нямгарав, Л. Цэрэннадмид, Т.Умемура,  
Ц.Эрдэнэ-Очир, Г.Нямдаваа, Ч.Тунгалаг, Ш.Түмэнжаргал\*

Мал эмнэлгийн сургууль, ХААИС, Улаанбаатар, Монгол Улс

\*Холбоо барих хаяг: tumee@muls.edu.mn

### ХУРААНГУЙ

Адууны халдварт цус багадах өвчин (АХЦБӨ), Бог малын лентивирус(БМЛВ) -ээр үүсгэгддэг халдварт өвчнүүд манай оронд өргөн тархалттай байгаа нь серологийн шинжилгээгээр тогтоогдсон байна. Гэвч вирусийг өнөөг хүртэл илрүүлэн тодорхойлоогүй байгаа нь вирусийн халдварыг үнэн зөв оношлох, эрт илрүүлэн тэмцэх арга хэмжээг зохион байгуулахад учир дутагдалтай байгаа юм. Бид Төвийн бүсийн (БМЛВ)-ийн халдварыг шинэчлэн тогтоохын зэрэгцээ (12%), өвчилсөн, уушиг хэржигнэсэн шуугиантай, нядалсан хонины уушигны эдийн дээжинд эмгэг бие бүтцийн шинжилгээгээр архаг үрэвсэлийн шинж тэмдэгийг оношлов. Мөн архаг үрэвсэлтэй хоёр уушигны эдийн дээжинд (БМЛВ)-ийн gag бүтцийн 536 хос суурь урттай хэсгийг ПГУ-аар илрүүлэн нуклеотидын дарааллыг секвенсингээр баталгаажуулав.

**ТҮЛХҮҮР ҮГ:** gag, полимеразын гинжин урвал, нуклеотидын дараалал, уушигны архаг үрэвсэл

### ОРШИЛ

Хонь, ямааны уушигны аденоматоз, маеди-висна, ямааны үе тархины үрэвсэл, адууны халдварт цус багадах өвчин (АХЦБӨ) зэрэг малын халдварт өвчнүүдийн үүсгэгч нь ретровирус бөгөөд бүтцийн хувьд хүний дархлал хомсдолын вирустэй (ДОХ) адил gag, pol, env болон long terminal repeat (ltr) гэсэн хэсгүүдээс бүрддэг. Ретровирус нь лимфоцит, моноцит, макрофаг, сэртэнт эс зэрэг дархлааны эсүүдэд халдварлан эсийн геномд нэгдэн орсноор эзэн биемахбодын вирусийн эсрэг дархлааны хариу урвалыг дарангуйлж, хоёрдогч халдварт амархан нэрвэмтгий болж, турж эцэн аажмаар хорогддог. Маеди-висна өвчний үүсгэгч вирус болон ямааны үе тархины үрэвсэл үүсгэгч вирус нь удам зүйн хувьд ижил төстэй бөгөөд *Retroviridae* язгуурын *Lentivirus* бүлэгт ордог бөгөөд эдгээр вирусийг нийтэд нь бог малын лентивирус (БМЛВ) гэж нэрлэж заншсан байна[1,2]. АНУ-д хонины уушигны архаг үрэвсэл гэж маеди-висна өвчнийг

(МВВ) нэрлэдэг. Тус улсын нийт хонин сүргийн 40% хүртэл, ОХУ болон Европын орнуудад 10-70% хүртэл БМЛВ-ийн халдварлалттай нь серологийн урвалаар илэрсэн[3]. Манай оронд 2007 онд хийгдсэн тандалт судалгаагаар Сэлэнгэ аймгийн Ерөө, Хүдэр, Түшиг, Зүүнбүрэн Булган аймгийн Бүрэгхангай, Хөвсгөл аймгийн Тариалан, Их-Уул, Төв аймгийн Алтанбулаг, Хэнтий аймгийн Цэнхэрмандал сумдын малд эсрэгбием илэрч, хонь, ямааны 9,2-14,6% халдвартай байсан байна[4]. БМЛВ нь уушиг, тархи, үе мөч, дэлэнгийн эдэд халдварладаг бол, маеди-висна өвчин нь хонь, ямааны уушигны цулцангийн эдийн болон тархины эдэд аажим удаан явцтай архаг үрэвсэл үүсгэдэг байна. Ялангуяа малын тамир тэнхээ болон дархлаа сульдсан хаврын улиралд эмнэлзүйн шинж тэмдэг (хамраас салслаг шингэн тасралтгүй гоожих, үе үе ханиалгах, амьсгал хүндрэх, турж эцэх) ихээр илэрдэг байна[5]. Бид энэхүү судалгаагаар Төвийн

бүсийн бог малд БМЛВ-ийн тандалт хийхийн зэрэгцээ уг өвчнийг Монгол оронд молекул биологийн аргаар оношлох арга зүйг боловсруулах, вирусийн зарим хэсгийн

нуклеотидийн дарааллыг тогтоон удам зүйг нь бусад орны омогтой харьцуулах зорилго тавьж ажилласан.

### ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН, АРГА ЗҮЙ

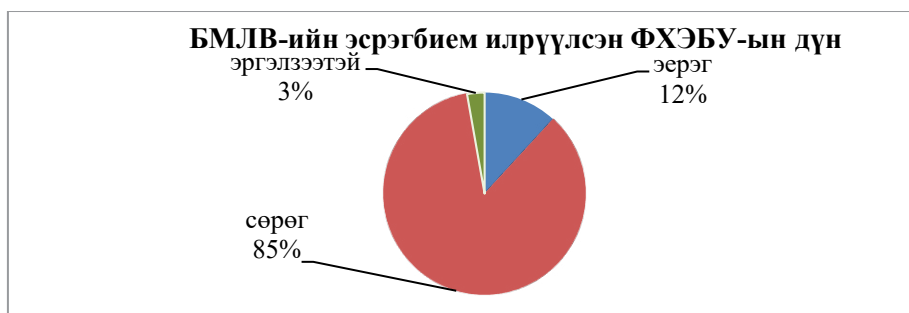
Бид 2016-2018 онуудад Төвийн бүс (Төв, Сэлэнгэ, Булган)-ийн бог малаас нийт 287 цусны дээж, хонины уушигны дээж, хамрын арчдас зэргийг цуглуулсан. Маеди-висна вирус болон ямааны үе тархины үрэвсэл үүсгэгч вирусийн эсрэгбием илрүүлэх шууд биш (ФХЭБУ)-ыг (ID.VET, ID Screen® MVV/CAEV Competition, Франц) цомгийн зааврын дагуу ашиглан 287 бог малын цусны ийлдсэнд шинжилгээ хийв. Урвалын үр дүнг оношлуурын зааврын дагуу 450 нм долгионы уртад уншуулж, Excel программд мэдээллийг боловсруулан OD-г дээжийн  $\geq 50\%$  сөрөг,  $60\% \leq$  эерэг,  $50\%-60\%$ -ийн хооронд эргэлзээтэйд тооцож үр дүнг зургаар илэрхийлэв (Зураг1). Эерэг гарсан дээжийг давтан урвалаар баталгаажуулсан болно. Хамраас шингэн гоожсон, уушиг хэржигнэсэн шуугиантай 50 бог малын цуснаас ДНХ –г (INVITROGEN, PureLink genomic DNA mini kit, North America) цомгийн зааврын дагуу ялгасан. Ялгасан ДНХ-г ПГУ-аар шалгахад БМЛВ-ийн судал огт илрээгүй бөгөөд үхсэн болон зориудаар нядалсан 8 хонины уушигны эдээс ДНХ ялгаж, 1,5 мл хэмжээтэй цодонд жинлэн

бутлаж (Omni TH), (Wizard ,Genomic DNA Purification kit, Germany) цомгийн зааврын дагуу ажиллав. БМЛВ-ийн gag хэсгийн 536 хос суурь урттай хэсгийг MVV-gag1F 5'-RCATGTTTGAGAGCTACAACACCCAG-3';MVV-gag1R 5' CCAGGGCAAGTCTGG-AAGAGTGC -3' хос праймерууд ашиглан 94 хэмд 30 секунд, 56 хэмд 30 секунд, 72 хэмд 1 минутаар нийт 35 мөчлөгтэйгээр ПГУ- аар олшруулав. ПГУ-аар эерэг гарсан дээжийг (THERMO SCIENTIFIC, Gene Jet Gel Extraction kit, Lithuania ) цомгийн зааврын дагуу ялгасан. Мөн шууд болон pGEM T easy векторт (Promega) ТА клонингоор оруулах замаар Зенгер секвенсингд (Macrogen) бэлтгэсэн. Үр дүнг MEGA 7.0 программ ашиглан генбанктай харьцуулалт хийн удам зүйн зураглал гаргав. Мөн үхсэн болон зориудаар нядалсан хонины уушиганд эмгэг анатомийн задлан хийсэн. Эмгэгт уушигны дээжийг (MNS 5451:2005) стандарт арга зүйн дагуу авч 10%-ийн буфержуулсан формалинд бэхжүүлэн усгүйжүүлж, парафинд цутгаад, 2-3 мкм зузаантай зүсмэг бэлтгэн, гематоксилин-эозин (HE) -оор будаж, бичил харуур (Nikon E-600)-аар дурандаж, үр дүнг гэрэл зургаар баталгаажуулав.

### СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ҮР ДҮН

**Шууд бус ФХЭБУ-ын үр дүн:** Бид БМЛВ-ийн эсрэгбиемийн шинжилгээгээр нийт 287 дээж шинжлэв.Төвийн бүсийн бог малын ийлдэснээс 12%-д эсрэгбием илрэв. Бид эерэг

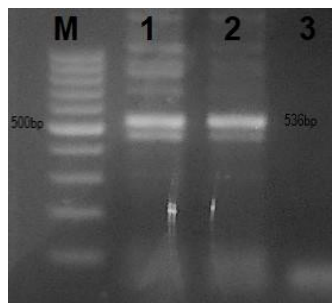
үр дүн үзүүлсэн дээжийг хоёр удаагийн давтан урвалаар баталгаажуулсан болно (зураг 1).



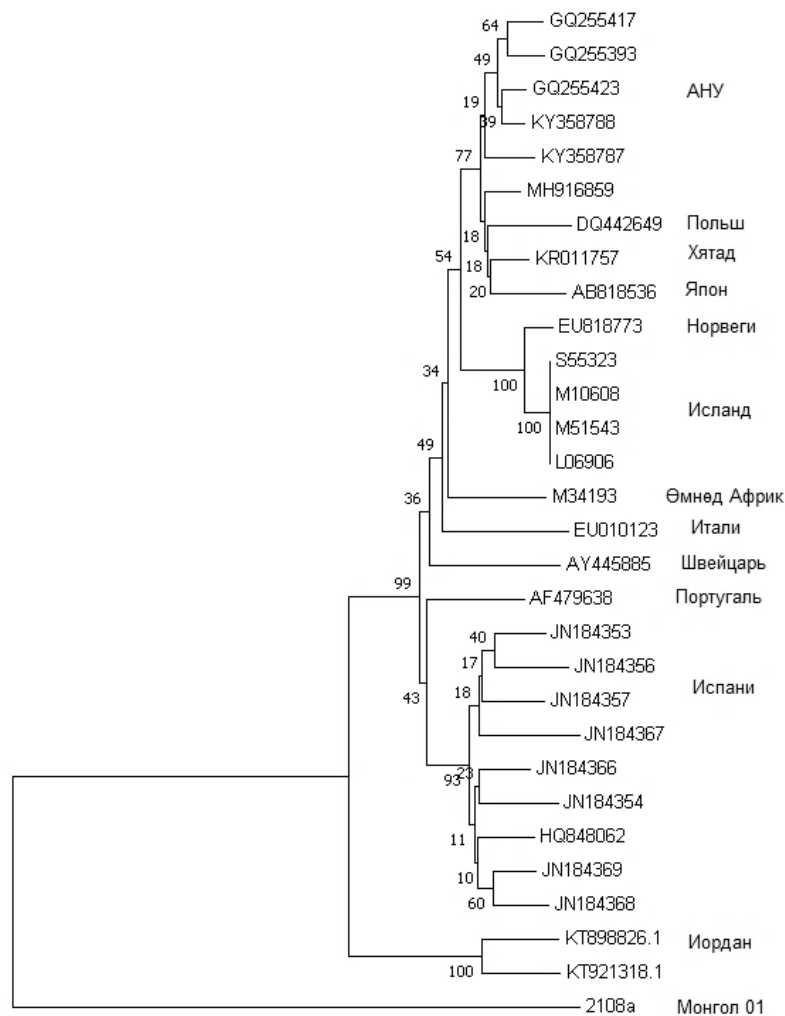
1-р зураг. эерэг дээж 34, сөрөг дээж 245, эргэлзээтэй дээж 8

**Полимеразын гинжин урвалын үр дүн :**  
БМЛВ -ийн *gag* хэсгийн 536 хос суурь урттай ДНХ судлыг дээрх аргазүйн дагуу ПГУ -аар олшруулахад шинжилсэн бүх цуснаас ялгасан ДНХ-ээс үр дүн илрээгүй, харин уушигны эдээс ялгасан ДНХ-ээс 2 дээжинд эерэг дүн

үзүүлэв (Зураг 2 ). Эхний дээжний 536 хос суурь жишиг ДНХ-ийн тод судлыг гелнээс ялгаж, цэвэршүүлэн, pGEM T Easy(Promega) векторд шилжүүлэн арга зүйд заасны дагуу клонинг хийн нуклеотидийн дараалалыг секвенсингээр тодорхойлов.



2-р зураг. М-100 алхамтай жишиг ДНХ, 1,2- дээж 3. сөрөг хяналт БМЛВ-ийн *gag* гений хэсгийн 536 хос суурь урттай ПГУ-ын судал олширсныг харуулж байна



3-р зураг. БМЛВ ийн *gag* генийн удам зүйн хамаарал

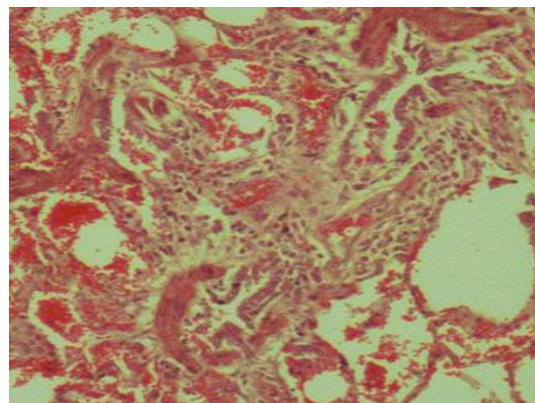
Нуклеотидийн дарааллыг генбанктай харьцуулан удам зүйн хамаарлыг тогтоосон (Зураг 3). Ийнхүү өвчилсөн монгол хониноос илрүүлсэн вирус нь БМЛВ болох нь секвенсингийн үр дүнгээр батлагдав. Дээр харьцуулсан бусад орны БМЛВ ийн омгуудыг уушиг, нугасны голын судас, захын цуснаас илрүүлсэн бөгөөд зарим нь БМЛВ-ийн мэдрэлийн өвчлөл үүсгэдэг хэлбэр байв. Бидний анхны секвенсинг нь бусад орны БМЛВ ийн омгуудаас өөр болох нь удмын модны зураглалаас харагдаж байна. Цаашид дээжний тоог нэмж монгол оронд тархалттай БМЛВ -ийн удмын модны бүрэн зураглалыг гаргах шаардлагатай.



4-р зураг. Үлэмж бие бүтцийн шинжилгээгээр уушиг томорсон байдал.

### Үлэмж болон бичил эмгэг бие бүтцийн шинжилгээний дүн

Тавилангүй, урд нь хамраас шингэн гоожсон, уушиг хэржигнэсэн шуугиантай байсан бөгөөд нядлагдсан болон үхсэн хонины уушиганд үлэмж болон бичил эмгэг бие бүтцийн шинжилгээ хийв. Шинжилгээгээр уушиг хэвийн хэмжээнээс илт томорсон (зураг 4.) хий, шингэн ихээр хуралдсан, уушигны архаг үрэвслийн шинж тэмдэг ажиглагдав. Мөн уушигны цулцангийн хананд дархлааны эсүүд болох макрофаг, лимфоцит эсүүд ихээр хуримтлагдсан, уушигны завсрын холбогч эдийн үрэвсэл үүссэнээр таславч дотрын эсүүд бөөгнөрсөн байна (зураг 5).



Зураг 5. Бичил бие бүтцийн шинжилгээгээр уушигны цулцангийн хананд макрофаг, лимфоцит эсүүд хуримтлагдсан нь (сум). HE, x200.

## ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

БМЛВ-ийг манай оронд одоогоор ийлдэс судлалын шинжилгээ болон эмгэг бие бүтцийн шинжилгээгээр оношлож байгаа нь учир дутагдалтай байна. Бид энэ ажлаар БМЛВ-ийг ПГУ-аар анх тутам илрүүлж нуклеотидийн дарааллыг секвенсингээр баталгаажуулсан нь өвчнийг эрт илрүүлж, үнэн зөв бодитой оношлоход чухал ач холбогдолтой юм. Бидний судалгаагаар төвийн бүсийн нийт 287 бог малын дээж шинжилсэнээс 34 дээж эерэг үр дүн үзүүлж 12%-ийн халдварлалттай гарсан нь Сугар ба бусад судлаачдын 2007 оны судалгааны үр дүнтэй дүйж байна [4]. Зарим эх сурвалжид

БМЛВ -ийн эсрэг өвөрмөц эсрэгбием удаан үүсдэг, эсвэл огт үүсдэггүйг дурдсан нь серологийн тандалтаас гадна үүсгэгчийг молекулбиологийн түвшинд илрүүлэхийн ач холбогдолыг илтгэж байна [7]. Цаашид олон дээж хамруулсан судалгаа явуулж, үүсгэгчийн удамзүйн модны бүрэн зураглал гаргах нь БМЛВ өвчний суурь судалгааны үндэс болох юм. Бидний тогтоосон БМЛВ-ийн gag гений хэсгийн нуклеотидын дараалал мэдрэлийн гаралтай висна-маеди вирустэй төстэй байгаа бөгөөд уг үүсгэгч малын тархи, мэдрэлийн эсэд халдварлахаас гадна уушгинд мөн адил халдварладаг нь бусад эх сурвалжид

дурдагдсан болно [1]. БМЛВ-ийн өвөрмөц эсрэгбием тэр бүр илэрдэггүй, эмгэг бие бүтцийн өөрчлөлт нь удаан хугацааны дараа үүсдэг тул БМЛВ-ийн халдварыг ПГУ-аар оношлох шаардлагатайг нотолж байна. Бидний шинжилсэн 50 хонины захын цусанд ПГУ-аар вирусийн ген илрээгүй нь энгийн

ПГУ-ийн мэдрэг чадвар харьцангуй сул, захын цусанд халдварласан эсийн тоо бага зэрэгтэй холбоотой юм. Цаашид БМЛВ -ийг захын цусанд бодит тоон хэмжээст ПГУ-аар илрүүлэх нь вирусийн халдварыг эрт илрүүлэн оношлох, сүргийг эрүүлжүүлэхэд зайлшгүй шаардлагатай.

## ТАЛАРХАЛ

Энэхүү судалгааны ажлыг санхүүжүүлсэн Шинжлэх Ухаан Технологийн Сан болон эмгэг бие бүтцийн оношлогоог хийхэд

зөвөлгөө өгч тусалсан патологийн профессор судлаач Т.Умэмура багшид талархсанаа илэрхийлье.

## ДҮГНЭЛТ

1. Төвийн бүсийн бог малд лентивирусийн (БМЛВ) халдварлалт ФХЭБУ-аар 12% байна.
2. Үлэмж болон бичил бие бүтцийн шинжилгээгээр бог малын уушиг томорсон, хий шингэн ихээр хуралдсан, уушигны архаг үрэвсэл ажиглагдав.
3. Уушигны архаг үрэвсэлтэй хонины уушигны эдээс вирусийн геномын хэсгийг ПГУ-аар илрүүлж, нуклеотидын дараалалыг секвенсингээр тодорхойлоход бог малын лентивирус болох нь тогтоов.

## АШИГЛАСАН ХЭВЛЭЛ

- [1] OIE Terrestrial Manual, Caprine arthritis/encephalitis and Maedi-visna 2017.
- [2] OIE Terrestrial Manual, Equine infectious anemia 2014.
- [3] Hugo Ramirez., et all., "Small ruminant lentiviruses genenitic variabilty, tropism and diagnosis" Viruses, pp.175-181.Sep.2006.
- [4] С. Сугар, ба бусад., Монголд шинэ болон дахин сэргэж байгаа мал амьтны халдварт өвчнүүдийг тандах, оношлох шинжилгээний ажлын тойм” (2000-2010), Оношлох эрдэм дэвшилт арга, ОУБХ-ын бүтээл, 56-61, 2010
- [5] Мал амьтны өвчнүүдтэй тэмцэх, журам зааврууд, ХХААХҮЯ, 2010
- [6] Tumenjargal Sharav., Satoru Konnai., Nyamsuren Ochirkhoo., Ts.,Tungalag Chultemdorj.,et all.,"Detection and molecular characterization of equine infectious anemia virus in Mongolian horses", J Vet Med Sci, 79(11), pp.1884–1888. Nov.2017.

- [7] Shuljak B.F., "Lentiviruses in ungulates.I. general features, history and prevalence" Bulg. J Vet Med Sci, 9, pp.1884–1888. Nov.2017
- [8] Г.Түвшинсайхан, С.Ундармаа, ба бусад., "Адууны халдварт цус багадах өвчний үүсгэгчийг илрүүлсэн дүнгээс", Хөдөө аж ахуйн шинжлэх ухааны сэтгүүл, №20, (01):5-9, 2017
- [9] С. Ундармаа, Н.Даваасүрэн, ба бусад., Хонины уушигны архаг үрэвсэлийн эмгэг бие бүтцийн өөрчлөлт, ретровирусийн халдварыг илрүүлэх судалгааны дүнгээс, Магистрант докторантын эрдэм шинжилгээний шилдэг бүтээл шалгаруулах бага хурлын эмхэтгэл, илтгэл, 111-115, 2018
- [10] Н.Даваасүрэн, С.Ундармаа, ба бусад ., Монгол орны малын зарим ретровирусийн үүсгэгчийн судалгааны дүнгээс, Магистрант докторантын эрдэм шинжилгээний шилдэг бүтээл шалгаруулах бага хурлын эмхэтгэл, илтгэл, 175-179, 2018

## **First detection of small ruminant lentivirus in Mongolia**

**Davaasuren N., Amartuvshin Ts., Undarmaa S., Nyamgarav B., Tserennadmid L., Umemura T., ErdeneOchir Ts., Nyamdavaa G., Tungalag Ch., Tumenjargal Sh.\***

School of Veterinary Medicine, Mongolian University of Life Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia

\*Corresponding author: [tumee@mul.s.edu.mn](mailto:tumee@mul.s.edu.mn)

### **ABSTRACT**

*The small ruminant lentivirus (SRLV) is not identified in Mongolia despite the seroprevalence studies in last years. The reason for the virus identification might be the high diversity of viral strains in different geographical regions, healthy appearance of some infected animals, slow progression of the disease, low number of infected cells in peripheral blood, insensitivity of the diagnostics etc. We determined the seroprevalence of 12% for SRLV in central regions (Tov, Selenge, Bulgan) during 2016-2018. The lung of some seropositive sheep's with clinical symptoms showed macroscopically and microscopically typical characteristics for SRLV infection, namely enlarged lung lobes with chronic inflammations. Two positive samples resulted out of fifty blood and eight lung samples in proviral gag specific polymerase chain reaction of the SRLV. The nucleotide sequence of the 536 bp PCR product evaluated as small ruminant lentivirus which is the first identified in Mongolia.*

**KEY WORDS:** gag, PCR, nucleotide sequence, lung inflammation, seroprevalence