Цар тахлын эхэн үед Монгол улсад голомтлон тархсан SARS-CoV-2-ийн удмын хэв шинжийг тодорхойлсон дүн

Э.Мөнхтуяа[1,2], Т.Сувд[1], Б.Очбадрах[3], Б.Отгонжаргал[1], Б.Номин[4], Б.Нацагдорж[5], Х.Тунгалаг[5], А.Дэлгэрмөрөн[2], Н.Цогбадрах[5], Ц.Наранзул[6], Ж.Байгальмаа[6], Ц.Билэгтсайхан[6], Э.Оюунсүрэн[7], Ц.Эрдэмбилэг[7], С.Энхболд[7], Н.Хүрэлбаатар[3], Ч.Баттогтох[1]

[1]АШУҮИС, Био-АС, Бичил амь судлал, Халдварын сэргийлэлт, хяналтын тэнхим
[2]Интермед Эмнэлэг, Лабораторийн Тасаг
[3]Анагаахын Шинжлэх Ухааны Үндэсний Их сургууль
[4]Нийгмийн Эрүүл Мэндийн Үндэсний Төв
[5]Зоонозын Өвчин Судлалын Үндэсний Төв
[6]Халдварт Өвчин Судлалын Үндэсний Төв
[7]Эрүүл Мэндийн Яам
Цахим шуудан: munkhtuya.e@intermed.mn, Утас: 88004233

Түлхүүр үг:

SARS-CoV-2
бх-УТ-ПГУ
Мутаци
Нанопор
Хувилбар

Товч утга:

Үндэслэл: SARS-CoV-2-ийн мутацийг илрүүлж удмын хэв шинжийг тодорхойлох нь тархвар зүйн болон эмнэлзүйн олон талын ач холбогдолтой болохыг судлаачид онцлон тэмдэглэжээ. Цар тахлын эхэн үед нуклейн хүчлийн дараалллыг тогтоох шинжилгээний хязгаарлагдмал байдлаас шалтгаалж Монгол улсад голомтлон тархсан шинэ коронавирусийн геномын судалгаа хомс хийгдсэн, мэдээ баримт дутмаг байгаа нь энэхүү судалгаа хийх үндэслэл боллоо. **Зорилго:** Монгол улсад голомтлон тархсан SARS-CoV-2-ийн удмын хэв шинжийг тогтоох. **Арга, аргачлал:** 2020 оны 11 дүгээр сараас 2021 оны 5 дугаар сар хүртэлх хугацаанд дотоодын халдварын батлагдсан тохиолдлын хадгалагдаж буй шинжлэгдэхүүнээс түүвэрлэн авч, SARS-CoV-2-ийн S генийн өвөрмөц мутацийг бодит хугацааны урвуу транскрипцийн полимеразын гинжин урвал (бх-УТ-ПГУ)-ын аргаар илрүүлж, вирусийн бүтэн геномын дараалллыг нанопор технологи (MinION Mk1C) ашиглан тогтоож EPI2ME программаар дүгнэлээ. **Үр дүн:** Судалгаанд батлагдсан тохиолдлын нийт 1656 шинжлэгдэхүүнийг хамруулан S генийн E484K, N501Y, HV69/70 делеци мутаци илрүүлэх бх-УТ-ПГУ-ын шинжилгээ хийхэд 91.3% (1512)-д дээрх мутациуд илрээгүй. Харин 5.4% (89)-д N501Y, HV69/70 делецийн мутаци хавсран илэрсэн буюу Альфа хувилбар, 3.3% (55)-д E484K, N501Y, HV69/70 делецийн мутациуд хувилбарыг нь таамаглах боломжгүйгээр дангаар болон хавсарч илэрсэн. Вирусийн бүтэн геномын дараалал тогтоох шинжилгээг 342 тохиолдолд хийхэд (Alpha, V1) (B.1.1.7) хувилбар 2.3% (8)-ийг эзэлж байна. Харин 21C (Epsilon) (B.1.429), 19A, 20A хувилбар тус бүр 1-2 тохиолдолд илэрлээ. **Дүгнэлт:** 1. Монгол улсад 2020 оны 11 дүгээр сараас эхлэн 2021 оны 5 дугаар сар хүртэлх хугацаанд тархсан SARS-CoV-2-ийн омгуудын дийлэнх нь S генийн E484K, N501Y, HV69/70 делеци мутаци агуулаагүй хувилбар байсан ба Alpha хувилбар 1 сараас эхлэн илэрсэн байна. 2. Монгол улсад цар тахлын эхэн үед SARS-CoV-2 –ийн 20B (B.1.1.46) хувилбар давамгайлан тархсан болох нь батлагдсан ба халдварлах чадамж өндөртэй Альфа хувилбар 2021 оны 1 дүгээр сараас эхлэн бүртгэгдэж эхэлсэн боловч нийгмийн эрүүл мэндийн арга хэмжээний дүнд тархалт нь харьцангуй хязгаарлагдаж байсан байна.

Үндэслэл: Шинэ коронавируст халдвар (КОВИД-19)-ыг үүсгэгч SARS-CoV-2 нь тогтмол хувьсаж удмын дэд хэв шинж үүсгэж байгаа ба цар тахлын нөхцөл байдлыг хүндрүүлж буй Alpha, Beta, Gamma, Delta, Omicron зэрэг хувилбарыг дэлхий нийтээр анхааран судалсаар байна. Вирусийн мутацийг тодорхойлж

шинэ хувилбарыг илрүүлэх, удмын хэв шинжийг тодорхойлох нь халдварын тархалтын байдлыг үнэлэх, халдварын эмнэлзүйн явц, эмчилгээний үр нөлөөг таамаглах, оношилгооны арга, оношлуурыг сонгох, үнэлэх, вакцины үр нөлөөг үнэлэх зэрэг олон талын ач холбогдолтой болохыг судлаачид онцолжээ[1]. Манай орны хувьд 2021 оны 7 дугаар сар хүртэл SARS-CoV-2-ийн мутацийг илрүүлэх, хувилбарын тандалт судалгаа хязгаарлагдмал, нуклейн хүчлийн дараалал тогтоох шинжилгээг өөрийн орны нөхцөлд хийх боломж хомс, вирусийн ямар хувилбар зонхилон тархаж байгаа талаарх судалгаа цөөхөн байгаа нь бидний судалгааны үндэслэл боллоо.

Зорилго: Монгол улсад голомтлон тархсан SARS-CoV-2-ийн удмын хэв шинжийг тогтоох

Зорилт:

1. Монгол улс дахь шинэ коронавируст халдварын тархалтын эрт үеийн SARS-CoV-2-ийн омогт S генийн өвөрмөц мутацийг илрүүлэн удмын хэв шинжийг таамаглах
2. SARS-CoV-2-ийн бүтэн геномын дарааллыг тогтоож, удмын хэв шинжийг баталгаажуулах

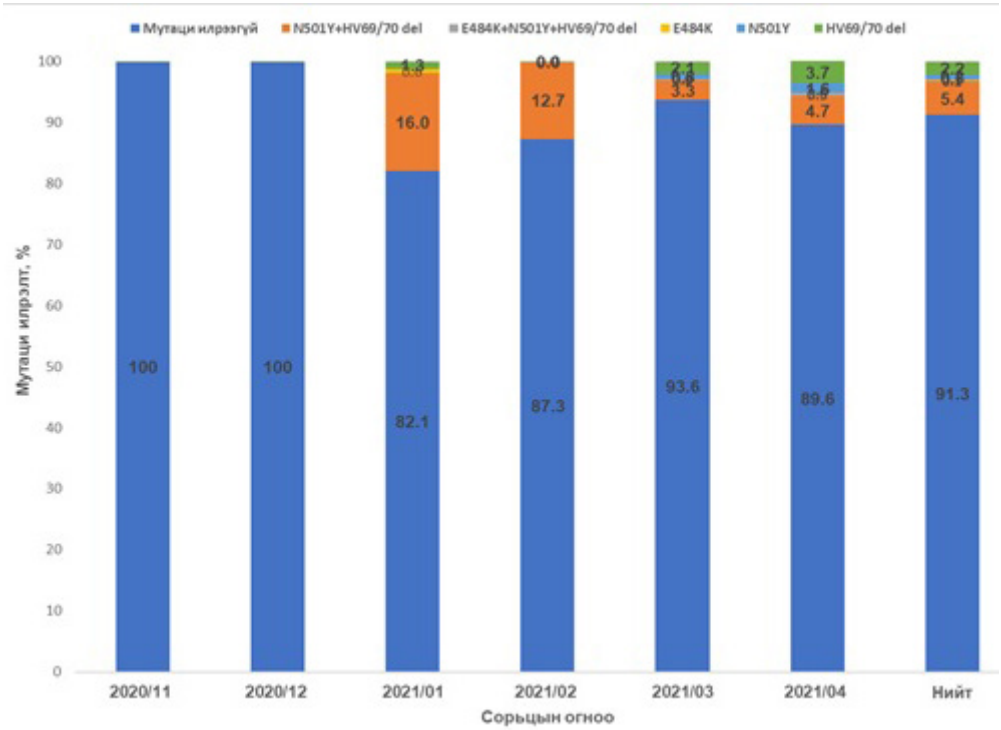
Арга, аргачлал: Энэхүү судалгааг ретроспектив судалгааны загвараар 2021 оны 6 дугаар сараас 2022 оны 12 дугаар сард АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэн болон Эмнэлзүйн молекул оношлогооны төв, ХӨСҮТ, НЭМҮТ, ЗӨСҮТ, Интермед эмнэлгийн Молекул биологийн лабораториудыг түшиглэн хийж гүйцэтгэсэн. Судалгаа хийх ёсзүйн зөвшөөрлийг ЭМЯ-ы Анагаах ухааны ёс зүйн хяналтын хорооноос 2020 оны 7 дугаар сар, 2021 оны 5 дугаар сард, АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооноос 2021 оны 6 дугаар сарын 4-нд тус тус авсан. SARS-CoV-2 илрүүлэх бх-УТ-ПГУ шинжилгээ хийж буй молекул биологийн лабораториудад хадгалагдаж буй дотоодын халдварын батлагдсан тохиолдлын хамар-залгиурын арчдаснаас ДЭМБ-ын 2021 оны 8 дугаар сарын 9-нд гаргасан “SARS-CoV-2-ийн хувилбарыг тандах түр заавар” -ыг ашиглан түүвэрлэсэн[2]. SARS-CoV-2-ийн рибонуклейн хүчил (РНХ)-ийг StarMag 96 ProPrep C нуклейн хүчил ялгах цомог, SEEPREP 32 нуклейн хүчил ялгах автомат систем (Seegene Inc, Korea) -ээр үйлдвэрлэгчийн зөвлөсөн протоколын дагуу ялган S уургийн E484K, N501Y, HV69/70 делеци мутаци илрүүлэх бх-УТ-ПГУ-ын шинжилгээг Allplex SARS-CoV-2 Variants I Assay оношлуурын цомог (Seegene Inc, Korea) хэрэглэн CFX 96 Real-time PCR Detection System (Bio-Rad, USA) төхөөрөмж ашиглан хийлээ. Шинжилгээний дүнгээр мутаци илэрсэн байдлаас хамааран вирусийн хувилбарыг таамаглах алгоритмын дагуу үнэлгээ өглөө.

БХ-УТ-ПГУ-ын шинжилгээний хариу, Ct утга болон халдвар батлагдсан цаг хугацааны байдалд үндэслэн геномын дарааллыг тогтоох шинжилгээг гүйцэтгэсэн. Уг зорилгоор шинжлэгдэхүүнийг сонгохдоо бх-УТ-ПГУ-ын шинжилгээнд түүвэрлэсэн тухайн сарын түүврийн тооны 20% -ийг хамруулахаар тооцоолсон ба SARS-CoV-2–ийн бүтэн геномын дараалал тогтоох шинжилгээг АШУҮИС-ийн Био-Анагаахын хүрээлэнгийн Молекул биологийн лабораторид хийсэн. ПГУ-ын шинжилгээний зорилгоор ялгаж, -70^{0}C- хэмд гүн хөлдөөн хадгалсан SARS-CoV-2-ийн РНХ-ийг MinION Mk1C (Oxford Nanopore technologies, UK) аппарат ашиглан “PCR tiling of SARS-CoV-2 virus-rapid barcoding and Midnight RT PCR Expansion” протоколын дагуу хийж үр дүнд EPI2ME Agent программаар анализ хийлээ.

Судалгаанд хамруулсан батлагдсан тохиолдлын SARS-CoV-2 илрүүлэх бх-УТ-ПГУ-ын шинжилгээ хийлгэсэн огноо, нас, хүйс, гэрийн хаяг, SARS-CoV-2-ийн эсрэг дархлаажуулалтын огноо зэрэг мэдээллийг Gerege Systems, tandalt.gov.mn, health.gov.mn мэдээлийн сан ашиглан нэгтгэв.

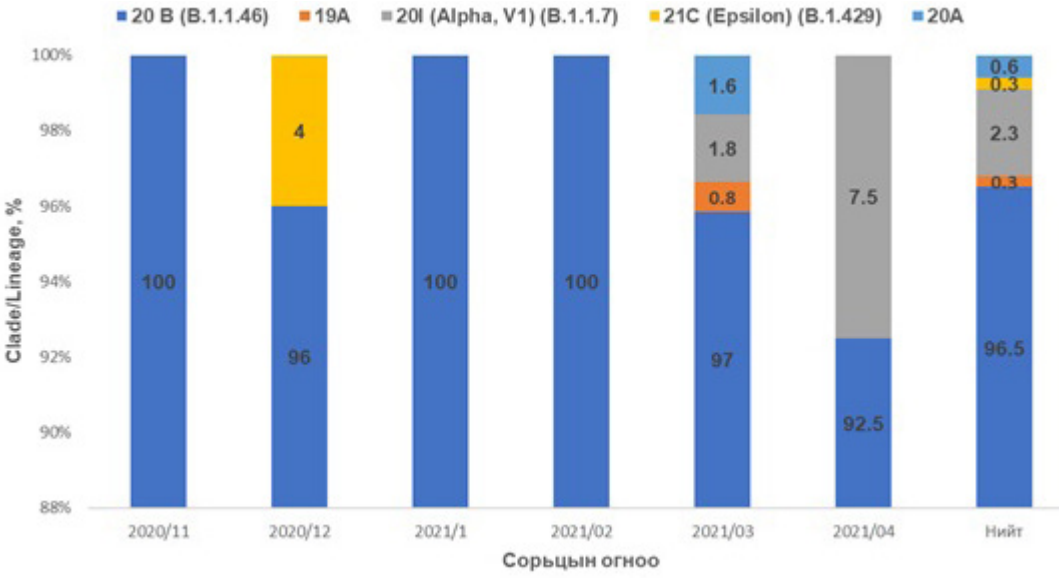
Үр дүн: Судалгаанд 2020 оны 11 дүгээр сараас 2021 оны 4 дүгээр сард шинэ коронавируст халдварын батлагдсан тохиолдлоос түүвэрлэсэн 1656 шинжлэгдэхүүнийг хамруулсан ба нийт тохиолдлын 67.3% нь Улаанбаатар хотын, 10.3% нь Төв аймаг, 22.4% нь бусад 18 аймгийн харьяат хүмүүс байсан. Судалгаанд хамруулсан тохиолдлыг хүйсээр авч үзвэл 40.7% (674) нь эрэгтэй, 50.2% (832) нь эмэгтэй, насны хувьд 15.2% (251) нь 0-19 нас, 68.1% (1128) нь 20-59 нас, 8.7% (127) нь 60-аас дээш насныхан харин 9.1% (150) нь мэдээлэл нь тодорхойгүй байна. Халдварт өртөхийн өмнө ковидын эсрэг вакцинжуулалтанд хамрагдсан байдлыг авч үзвэл нийт тохиолдлын 26.4% (438) нь вакцинжуулаагүй, эсвэл вакцин хийж эхлээгүй үеийн насныхан буюу хүүхэд болон бусад насныхан, 53.6% (888) нь вакцин хийлгээгүй, 1.7% (28) нь вакцинжуулалтын мэдээлэл тодорхойгүй, 18.2% (302) нь вакцин хийлгэсэн байлаа.

Вакцин хийлгэсэн тохиолдлын 68.2% (206) нь VeroCell вакцинд хамрагдсан байна. SARS-CoV-2-ийн S генийн мутаци илрүүлэх бх-УТ-ПГУ-ын шинжилгээний үр дүнг Зураг 1-д үзүүлсэн ба нийт шинжлэгдэхүүний 91.3% (1512)-д дээрх 3 төрлийн мутаци илрээгүй буюу ямар хувилбар болохыг урьдчилан таамаглах боломжгүй байлаа. Харин 5.4% (89)-д буюу 2021 оны 1 дүгээр сараас 4 дүгээр сарын шинжлэгдэхүүний 16.0%, 12.7%, 3.3%, 4.7%, 5.4%-д N501Y, HV69/70 делеци тус бүр хавсран илэрч Alpha хувилбар болохыг илэрхийлж байгаа бол 2021 оны 1 дүгээр сарын шинжлэгдэхүүний 1.9%, 3 дугаар сарын шинжлэгдэхүүний 3.1%, 4 дүгээр сарын шинжлэгдэхүүний 5.8%- д буюу нийт тохиолдлын 3.3% (55)-д E484K, N501Y, HV69/70 делеци мутаци хувилбарыг нь таамаглах боломжгүйгээр дангаараа болон хавсарч илэрсэн байна (Зураг 1).



Зураг 1. SARS-CoV-2-ийн S генийн мутаци илэрсэн байдал

SARS-CoV-2-ийн бүтэн геномын дараалал тогтоох шинжилгээг нийт 350 тохиолдолд хийснээс 342 шинжилгээний үр дүнг хүчинтэйд тооцож Зураг 2-т харуулав. Монгол улсад КОВИД-19-ын халдварын дотоодын тохиолдол анх бүртгэгдсэн 2020 оны 11 дүгээр сараас 2021 оны 4 дүгээр сард SARS-CoV-2-ийн 20B (B.1.1.46) хувилбар тархаж байсан болохыг 20B хувилбар 96.5% (330)-д илэрснээр баталж байна. Эдгээр тохиолдол бх-ПГУ-ын шинжилгээгээр мутаци илрээгүй гэж дүгнэгдсэн байна. SARS-CoV-2-ийн 20I (Alpha, V1) (B.1.1.7) хувилбар 2021 оны 3 дугаар сараас тархаж эхэлсэн бөгөөд нуклейн хүчлийн дараалал тогтоосон нийт тохиолдлын 2.3% (8)-ийг эзэлж байлаа. Харин 21C (Epsilon) (B.1.429), 19A, 20A хувилбарууд тус бүр 1-2 тохиолдолд илэрлээ (Зураг 2).



Зураг 2. SARS-CoV-2-ийн удмын хэв шинж тодорхойлсон байдал

Хэлцэмж: БНХАУ-ын Хубэй мужийн Ухань хотод 2019 оны 12 дугаар сарын 12-нд анх бүртгэгдэж улмаар дэлхий нийтэд цар тахлын түвшинд тархаж буй өвчний үүсгэгч нь геномын бүтцээрээ SARS-Co-V (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus)-тай 79.6% ижилхэн вирус болохыг эрдэмтэд тогтоосон[3]. SARS-CoV-2-ийн бүтэн геномын дараалалыг тогтоосноос хойш түүний геномын тархварзүйн судалгааг улс орон бүр хийж байгаа бөгөөд вирус хувьсан өөрчлөгдөж олон хувилбар, удмын хэв шинжийг үүсгэж байна[4,5]. Монгол улсад шинэ коронавирусийн халдварын анхны зөөвөрлөгдсөн тохиолдол 2020 оны 3 дугаар сарын 10-нд, дотоодын халдварын анхны тохиолдол 2020 оны 11 дүгээр сарын 11-д бүртгэгдсэн[6]. Монгол улсад 2020 оны 3 дугаар сарын 18-аас 2021 оны 3 дугаар сарын 9-ний хооронд илэрсэн SARS-CoV-2-ын 20 омгийн

бүтэн геномын дарааллыг тогтоосон Япон улсад хийсэн судалгаагаар GISAID/Next Clade ангиллаар 1 омог V/19A, бусад нь GR/20B клэйдэд хамаарч байгаа бөгөөд 20B омгийн 70% нь B.1.1.46 линиайжид хамаарч байсан нь бидний судалгааны дүнтэй дүйж байна[7]. Шинэ коронавирусийн Alpha хувилбарыг Их Британи улсад анх 2020 оны 9 дүгээр сард бүртгэсэн ба ихэнх улс оронд хурдацтай дамжин тархаж халдварын эсрэг хариу арга хэмжээг эрчимжүүлэхэд хүргэсэн[8,9]. Манай улсад 2021 оны 1 дүгээр сараас эхлэн Alpha хувилбар бүртгэгдэж эхэлсэн болох нь бх-УТ-ПГУ-ын шинжилгээгээр тогтоогдсон бөгөөд халдварын эсрэг хариу арга хэмжээ, хөл хорионы дэглэмийн үр дүнд тархалт харьцангуй хязгаарлагдаж байжээ.

Дүгнэлт:

1. Монгол улсад 2020 оны 11 дүгээр сараас эхлэн 2021 оны 5 дугаар сар хүртэлх хугацаанд тархсан SARS-CoV-2-ийн омгуудын дийлэнх нь S генийн E484K, N501Y, HV69/70 делеци мутаци агуулаагүй хувилбар байсан ба Alpha хувилбар 1 сараас эхлэн илэрсэн байна.
2. Монгол улсад цар тахлын эхэн үед SARS-CoV-2 –ийн 20B (B.1.1.46) хувилбар давамгайлан тархсан болох нь батлагдсан ба халдварлах чадамж өндөртэй Альфа хувилбар 2021 оны 1 дүгээр сараас эхлэн бүртгэгдэж эхэлсэн боловч нийгмийн эрүүл мэндийн арга хэмжээний дүнд тархалт нь харьцангуй хязгаарлагдаж байсан байна.

Талархал: Энэхүү судалгааг хийх нөхцөл боломжоор ханган, дэмжин ажилласан ЭМЯ, АШУҮИС, ХӨСҮТ, ЗӨСҮТ, НЭМҮТ, Интермед эмнэлгийн удирдлага, молекул биологийн лабораторийн хамт олон, Seegene Inc, Korea, Lifetronik ХХК-д талархлаа илэрхийлж байна.

Ном зүй:

1. *Matteo Chiara, Anna Maria D'Erchia et all. Next generation sequencing of SARS-CoV-2 genomes: challenges, applications and opportunities. Briefings in Bioinformatics 2020; 1-15*
2. *WHO.Guidance for surveillance of SARS-CoV-2 Variants. Interim guidance of August 09, 2021*
3. *Fan Wu, Su Zhao, Bin Yu et all. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature 2020; 579: 265-269*
4. *GISAID. Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 with subsampling focused globally since pandemic start. https://www.gisaid.org/phylodynamics/global/nextstrain/. (2023-01-20)*
5. *Global lineage Reports. https://cov-lineages.org (2023-01-29)*
6. *Эрүүл мэндийн яам. Монгол улс дахь коронавируст халдварын нөхцөл байдлын мэдээ. https://covid19.mohs.mn/p/cat/post/57/?page=12 (2021-05-19)*
7. *Ц.Наранзул, Ф.Сей-Ичиро, Г.Цогзолмаа нар. Монгол улсад КОВИД-19 цар тахлын эхний давалгаа үүсгэсэн SARS-CoV-2 вирусын геномын шинжийг судалсан дүн. Халдварт өвчин судлалын монголын сэтгүүл 2021;101: 80-86*
8. *European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid increase of a SARS-CoV-2 variant with multiple spike protein mutations observed in the United Kingdom. Threat assessment brief. 20 December 2020. ECDC: Stockholm; 2020*
9. *CDC. COVID Data Tracker. https://covid.cdc.gov/covid-data-tracker/#global-variant-report-map (2021-05-19)*

Genomic variations of the locally transmitted SARS-CoV-2 early pandemic period in Mongolia

Munkhtuya E[1,2], Suvd T[3], Ochbadrakh B[3], Otgonjargal B[1], Nomin B[4], Delgermurun A[2], Natsagdorj B[5], Tungalag Kh[5], Tsogbadrakh N[5], Naranzul Ts[6], Baigalmaa J[6], Bilegtsaikhan Ts[6], Oyunsuren E[7], Erdembileg Ts[7], Enkhbold S[7], Khurelbaatar N[3], Battogtokh Ch[1]

[1]Department of Microbiology, Infection Prevention and Control, School of Biomedicine, MNUMS
[2]Intermed Hospital, Laboratory Department
[3]Mongolian National University of Medical Sciences
[4]National Center for Public Health
[5]National Center for Zoonotic Disease
[6]National Center for Communicable Disease
[7]Ministry of Health
E-mail: munkhtuya.e@intermed.mn, Tel: +976-88004233

Background: Detection of SARS-CoV-2 mutations and genotyping has many epidemiological and clinical implications. In Mongolia, due to the limitations of sequencing testing at the beginning of the pandemic, there is a lack of genomic research and data on the novel coronavirus, which is locally transmitted in Mongolia.Therefore we

Aim: The study aims to identify the genetic variations of SARS-CoV-2 locally transmitted in Mongolia.

Materials and Methods: During the period from November 2020 to May 2021, samples were taken from the archived samples of confirmed cases of domestic infection, and specific mutations of the S gene of SARS-CoV-2 were detected by real-time reverse transcription polymerase chain reaction (real time-RT-PCR). Whole viral genome sequence was determined using nanopore technology (MinION Mk1C) and evaluated by EPI2ME software.

Results: A total of 1,656 cases confirmed in the study were analyzed by real time-RT-PCR to detect S gene E484K, N501Y, and HV69/70 deletion mutations, and 91.3% (1,512) of these mutations were not detected. However, in 5.4% (89) N501Y and HV69/70 deletions were detected together, indicating that it was the Alpha variant, while in 3.3% (55) E484K, N501Y, and HV69/70 deletion mutations were detected alone or together without predicting the variant. In 342 cases of genome sequenced analysis (Alpha, V1) (B.1.1.7) variant accounted for 2.3% (8). And 21C (Epsilon) (B.1.429), 19A, and 20A variants were found in 1-2 cases each.

Conclusions:

1. From November 2020 to May 2021, SARS-CoV-2, which does not have E484K, N501Y, and HV69/70 deletion mutations of the S gene was circulated dominantly, in Mongolia, Alpha variant was registered in Jan 2021.
2. The 20B (B.1.1.46) variant was circulated dominantly in early stage of pandemic period in Mongolia and highly infectious Alpha variant began to be registered in January 2021, but has been relatively controlled as a result of public health measures.

Keywords: SARS-CoV-2, rt-PCR, Mutation, Nanopore, Variants