Жижиглэнгийн худалдаанд зарагдаж байгаа түүхий маханд Staphylococcus aureus-ийг илрүүлж, полимеразийн гинжин урвалаар баталгаажуулсан дүн

Б.Анужин[1], Я.Мөнхдэлгэр[2], Ж.Сарантуяа[2]

[1]Ач АУИС
[2]АШУҮИС, БАС, Молекул биологи Удамзүйн тэнхим
Email: anujin@ach.edu.mn, Утас: 95639814

Түлхүүр үг:
Мах
Эмэнд тэсвэрт байдал
Staphylococcus aureus

Товч утга: Staphylococcus aureus нь хоол хүнсээр дамжих өвчин үүсгэгч эхний 5 эмгэгтөрөгчийн нэг бөгөөд АНУ-д жил бүр S.aureus-ийн шалтгаант хоолны хордлогын тохиолдол 241000 бүртгэгддэг. S.aureus-ийн шалтгаант хоолны хордлого бохирлогдсон мах, махан бүтээгдэхүүн, өндөг, сүү, сүүн бүтээгдэхүүн, нарийн боов, бэлэн салад зэргээс үүсэх нь элбэг тохиолддог. Стафилококкийн халдварын эмчилгээнд бетта лактамын бүлгийн антибиотикийг түгээмэл хэрэглэдэг боловч эдгээр эмэнд тэсвэртэй омгууд улам нэмэгдсээр байна. Иймд бид томоохон захуудын махны лангуун дээр жижиглэнгээр худалдаалагдаж буй махны дээжинд S.aureus-ийн халдварыг илрүүлж, эмэнд тэсвэрт байдлыг тодорхойлох зорилго тавилаа. **Арга, аргачлал.** Бид Хар хорин захаас 7, Барс худалдааны төвөөс 7, Баян зүрх захаас 4, Хүчит шонхор захаас 19, Дэнжийн мянга захаас 4, Бөмбөгөр худалдааны төвөөс 12, нийт 53 дээжийг цуглуулж судалгаанд хамруулав. Махны дээжнээс Baird-Parker-ын сонгомол тэжээлт орчинд өсгөвөрлөж, S.aureus-ийн бохирдлыг илрүүлэн, ПГУ-аар баталгаажууллаа. Илэрсэн нянгийн эмэнд мэдрэг чанарыг 8 бүлгийн 10 эмийн дискийг ашиглан дикс нэвчүүлэх аргаар тодорхойлж, мэдрэг болон тэсвэртэй гэж үнэллээ. **Үр дүн.** Бидний судалгаанд хамруулсан дээжний 85% нь S.aureus-аар бохирлогдсон байсан бөгөөд үүний 53.5% нь бага, 24.5% нь дунд, 11% нь их, 11% нь маш их бохирдолтой байлаа. Дээжнээс илэрсэн S. aureus-ийн омгууд нь хамгийн ихдээ пенициллиний бүлгийн эмэнд 88.9%-97.8%, хамгийн багадаа ванкомицинд 4.4% тэсвэртэй байж, нийт омгийн 48.9% нь олон эмэнд тэсвэртэй тодорхойлогдлоо. **Дүгнэлт.** Судалгаанд хамруулсан жижиглэнгийн худалдаагаар борлуулагдаж байгаа махны 85% нь S.aureus-аар бохирлогдсон бөгөөд тал хувь нь олон эмэнд тэсвэртэй байна.

Үндэслэл: ДЭМБ-аас мэдээлж байгаагаар дэлхий даяар жилд 600 сая хүн буюу 10 хүн дутмын 1 нь бохирдсон хоол хүнс хэрэглэсний дараа хоол хүнсээр дамжих халдварт өртдөг байна. АНУ-д жил бүр Staphylococcus aureus (S.aureus)-ийн шалтгаант хоолны хордлогын тохиолдол 241000 бүртгэгддэг байна.[1] Стафилококкийн шалтгаант хоолны хордлогын үед бөөлжих, дотор муухайрах, хэвлийгээр өвдөх болон суулгах шинжүүд 2-6 цагийн дотор илэрч, 24-48 цаг үргэлжилдэг бөгөөд бага насны хүүхэд, өндөр настан, дархлаа суларсан хүмүүст өвчин хүндэрч болно.[2]

S.aureus-ийн шалтгаант хоолны хордлого бохирлогдсон түүхий болон хагас боловсруулсан мах, махан бүтээгдэхүүн, өндөг, сүү, сүүн бүтээгдэхүүн, нарийн боов, сэндвич зэргээс үүсэх нь элбэг тохиолддог.[3] Монгол улс нэг хүнд ноогдох махны хэрэглээгээр дэлхийд 10 дугаарт байрлаж, нэг хүнд жилд 108.8 кг мах ноогдож байгаа нь дэлхийн дундаж хэрэглээнээс 2.7 дахин их байна. Статистикийн газар болон хоол хүнсний судалгаа хийдэг байгууллагаас гаргасан мэдээллээс үзвэл манай улсын мах махан бүтээгдэхүүний хэрэглээнд малын мах 69.3%, гахайн мах 2.3%, шувууны мах 0.4%, хиам лаазалсан мах 15%, загас далайн бүтээгдэхүүн 13% тус тус эзэлдэг.[4]

Дэлхий дахинд эмэнд тэсвэрт байдал нэмэгдсээр байгаа нь нийгмийн эрүүл мэндийн томоохон асуудал юм. Стафилококкийн халдварын эмчилгээнд бетта лактамын бүлгийн антибиотикийг түгээмэл хэрэглэдэг боловч бетта лактамаз ялгаруулдаг, лактамын бүлгийн антибиотикт тэсвэртэй S.aureus-ийн омгууд нэмэгдсээр байна. 1960 онд пенициллиний бүлгийн шинэ антибиотик болох метициллинийг

нээж S.aureus-ийн халдварын эмчилгээнд үр дүнтэй хэрэглэж байсан боловч одоо S.aureus-ийн ихэнх омгууд mecA генийг кодолсон гадны ДНХ элементийг өөртөө нэгдүүлснээр метициллинд тэсвэртэй болж, бетта лактамын бүлгийн бүх антибиотикийн эмчилгээний үр дүн буурсан.[5] Нидерланд болон Канадад хийсэн судалгаагаар гахайн махнаас авсан сорьцны 20-40% метициллинд тэсвэртэй S.aureus (MTCA) эерэг байжээ.[6] S. aureus нь хүний бусад эмгэгтөрөгч бактериас илүү дасан зохицож, эмэнд тэсвэржилтийн механизмаа хөгжүүлснээр пенициллин, метициллинээс эхлээд саяхан нээгдсэн линезойд, даптомицинд тэсвэртэй омгууд хүртэл олдсоор байна.[7]

Иймд бид томоохон захуудын махны лангуун дээр жижиглэнгээр худалдаалагдаж, үйлчлүүлэгчдэд шууд хүрч буй махны дээжинд S.aureus-ийн халдварыг илрүүлж, эмэнд тэсвэрт байдлыг тодорхойлох зорилго тавьж ажиллаа.

Зорилго: Зах зээлд худалдаалж байгаа түүхий махны дээжээс S.aureus-ийг илрүүлж, ПГУ-аар баталгаажуулах

Зорилт:

1. Түүхий махны дээжээс S.aureus-ийг илрүүлж, ПГУ-аар баталгаажуулах
2. S.aureus-ийн эмэнд тэсвэрт байдлыг тодорхойлох

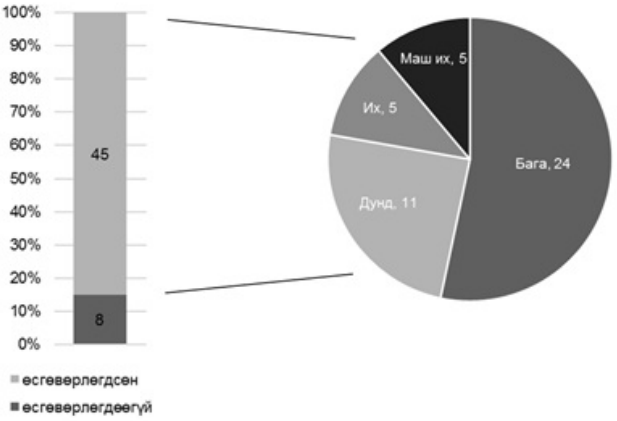
Арга, аргачлал: Бид Хар хорин захаас 7, Барс худалдааны төвөөс 7, Баян зүрх захаас 4, Хүчит шонхор захаас 19, Дэнжийн мянга захаас 4, Бөмбөгөр худалдааны төвөөс 12, нийт 53 дээжийг ариун пластик уутанд цуглуулж судалгаанд хамрууллаа.

Дээжнээс стафилококк илрүүлэх: махны дээжнээс 25 гр авч 225 мл пептоны шөлөнд хийн, 1 минутын турш гомогенизатор аппаратанд нэгэн жигд болгосон уусмалаас 1 мл авч 9 мл пептон шөлөнд хийн 102 дахин шингэлж, дахин уг уусмалаас 1 мл авч 9 мл пептон шөлөнд хийн 103 дахин шингэлэв. Энэ уусмалаас 1 мл хэмжээтэйг авч Baird-Parker (BP)-ын сонгомол тэжээлт орчинд жигд тараан 37°C хэмд 24 цаг өсгөвөрлөхөд тэжээлт орчинд тунгалаг хүрээтэй, хар колони өсгөвөрлөгдөв.[3] MNS ISO 6888-1:2011 стандартыг баримтлан ажиллаж, үр дүнг дүгнэлээ.

S.aureus-ийг ПГУ-ын аргаар баталгаажуулах: Өсгөвөрөөс нянгийн булинга бэлтгэн ДНХ-г халааж буцалгах аргаар ялган авч өвөрмөц праймер ашиглан S.aureus-ийн зүйл өвөрмөц термонуклеаз ген (nucA)-ийг энгийн ПГУ-аар олшруулж, баталгаажууллаа. Олширсон ПГУ-ын 270 хн урттай бүтээгдэхүүнийг 1.5%-ийн агарозын гель электрофорезоор гүйлгэж, этидиум бромидоор будаж илрүүлэв.

Эмэнд мэдрэг чанарыг тодорхойлох: Kirby–Bauer-ийн боловсруулсан диск диффүзийн аргаар ампициллин (10мкг), оксациллин (30мкг), пенициллин (10мкг), гентамицин (10мкг), ацитромицин (15мкг), ципрофлоксацин (5мкг), глиндамицин (2мкг), тетрациклин (30мкг), ванкомицин (30мкг) болон хлорамфеникол(50мкг)-ын дискийг (Конда, Испани улс) ашиглан эмэнд мэдрэг чанарыг тодорхойллоо. Үүний тулд BP-ын сонгомол тэжээлт орчинд өсгөвөрлөсөн өсгөвөрөөс Макфарландын 0.5 стандарттай тэнцүү байхаар бактерийн булинга бэлтгэн Мюллер Хинтоны тэжээл дээр тарилт хийсний дараа эмийн дискийг байрлуулж 37°C хэмд 18 цаг өсгөвөрлөн дискийг тойрч үүссэн өсөлт саатсан бүсийн диаметрийг хэмжиж MT100-S23 стандартыг баримтлан мэдрэг болон тэсвэртэй гэж үнэллээ. Бактерийн эсрэг эмийн дискүүдийг S.aureus ATCC 29213 стандарт омогт шалгаж баталгаажуулав.

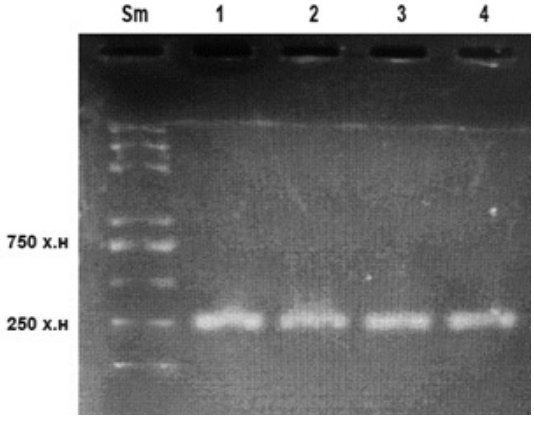
Үр дүн: MNS 6308:2012 стандартын дагуу түүхий махны дээжний 103 дахин шингэрүүлэлтэнд S. aureus өсгөвөрлөгдсөн тохиолдолд бохирлогдсон гэж үзнэ. Бидний судалгаанд хамруулсан 53 дээжний 85% буюу 45 нь S.aureus-аар бохирлогдсон байна (Зураг 1).



Зураг 1. Түүхий маханд S.aureus өсгөвөрлөгдсөн байдал

S.aureus-аар бохирлогдсон 45 тохиолдлыг 103 шингэрүүлэлтэнд өсгөвөрлөгдсөн колонийн тоогоор 1-5 бол бага, 6-10 бол дунд, 11-15 бол их, 16-аас их бол маш их бохирлогдсон гэж ангилж үзэхэд 53.5% нь бага, 24.5% нь дунд, 11% нь их, 11% нь маш их бохирдолтой байна.

S.aureus-аар бохирлогдсон 45 дээжийг S.aureus-ийн зүйл өвөрмөц термонуклеаз генийг (nucA) ПГУ-аар илрүүлж баталгаажуулсан дүнг 2-р зурганд харуулаа. Зураг дээр 270 х.н урттай ПГУ-ын бүтээгдэхүүн олширсон нь харагдаж байна.



Зураг 2. S. aureus-ийн NucA (270 х.н) генийг илрүүлсэн гелийн зураглал.
Sm – хэмжээ тогтоогуур, 1-4 сорьцны тоо.

Түүхий маханд өсгөвөрлөгдсөн S.aureus-ийн эмэнд тэсвэрт байдлыг тодорхойлсон дүнг 1-р хүснэгтээр харууллаа.

Хүснэгт 1. Түүхий маханд өсгөвөрлөгдсөн S.aureus-ийн эмэнд тэсвэржсэн байдал

Эм	S. aureus-аар бохирлогдсон байдал				Нийт n (%)
	Бага n (%)	Дунд n (%)	Их n (%)	Маш их n (%)	
Ампициллин (10мкг)	20 (44.4)	10 (22.2)	5 (11.1)	5 (11.1)	40 (88.9)
Оксациллин (30мкг)	24(53.3)	10 (22.2)	5 (11.1)	5 (11.1)	44 (97.8)
Пенициллин(10мкг)	22 (48.9)	10 (22.2)	4 (8.9)	5 (11.1)	41 (91.1)
Гентамицин (10мкг)	3 (6.7)	3 (6.7)	1 (2.3)	2 (4.4)	10 (22.2)
Ацитромицин (15мкг)	8 (17.8)	6 (13.3)	3 (6.7)	2 (4.4)	19 (42.2)
Ципрофлоксацин (5мкг)	1 (2.3)	0	2 (4.4)	1 (2.3)	4 (8.9)
Глиндамицин (2мкг)	15 (33.3)	5 (11.1)	5 (11.1)	4 (8.9)	29 (6.4)
Тетрациклин (30мкг)	5 (11.1)	1 (2.3)	1 (2.3)	0	7 (15.6)
Ванкомицин (30мкг)	2 (4.4)	0	0	0	2 (4.4)
Хлорамфеникол (50мкг)	10 (22.2)	2 (4.4)	2 (4.4)	2 (4.4)	16 (35.6)
Нийт n(%)	24 (53.5)	11 (24.5)	5 (11)	5 (11)	

1-р хүснэгтээс харахад пенициллиний бүлгийн эм болох ампициллин, оксациллин, пенициллинд 88.9%-97.8% тэсвэртэй байна. Харин ванкомицин хамгийн бага буюу 4.4% (2), ципрофлоксацинд 8.8% (4) нь тэсвэртэй байлаа. Хоолны хордлогын үед хамгийн эхний сонголтын эм болдог хлорамфениколд 35.6% буюу 16 дээжинд тэсвэртэй тодорхойлогдов.

Дээжнээс илэрсэн S. aureus-ийн 22 (48.9%) омог олон эмэнд тэсвэртэй буюу 3-аас дээш бүлгийн эмэнд тэсвэртэй тодорхойлогдлоо. Олон эмэнд тэсвэртэй 22 омгийн 10 нь 3, 4 нь 4 бүлэг, 7 нь 5, 1 нь 6 бүлгийн эмэнд тэсвэртэй байсан бол бидний судалгаанд хамруулсан 8 бүлгийн эмэнд бүгдэд нь тэсвэртэй омог илэрсэнгүй.

Хэлцэмж: Сүүлийн жилүүдэд дэлхий даяар S.aureus-ийн тархалтын олон судалгаа хийгдэж байгаа боловч манай орны хувьд энэ төрлийн тоон үзүүлэлт дутагдаж байна.

Бидний судалгааны үр дүнд нийт махны дээжийн 85% нь S.aureus-аар бохирлогдсон байна. Харин БНХАУ-ын Shi Wu, Jiahu Huang нарын 2011-2016 онд хийгдсэн 39 хотыг хамруулсан судалгаагаар нийт дээжний 35%-д S.aureus эерэг илэрчээ. S.aureus-ийн их бохирдолтой илэрсэн дээжний 51%-ийг түүхий мах бөгөөд эзэлж байгаа нь бидний судалгаатай харьцуулахад харьцангуй бага байна. Энэ судалгаанд 24 антибиотикийн мэдрэг чанарыг үзсэнээс ампициллин болон пенициллинд тэсвэрт байдал нь бидний судалгааны дүнтэй ойролцоо байсан бол тетрациклин, клиндамицин, ципрофлоксацин, хлорамфениколд мэдрэг байдал нь харьцангуй ялгаатай байна.[8] Судалгааны ажлын түүврийн хэмжээ, түүврийн төрөл, газарзүйн байршил, мах, махан бүтээгдэхүүний хэрэглээ болон эмийн хэрэглээ зэргээс хамааран үр дүн харилцан адилгүй байж болох юм.

Стафилококкийн хоолны хордлого нь S.aureus-ийн энтеротоксиноор бохирдсоноос үүсч хоол хүнсээр дамждаг хамгийн түгээмэл өвчин юм. Бидний судалгааны үр дүнгээс харахад түүхий мах махан бүтээгдэхүүнд S.aureus-ийн бохирдлын эх үүсвэрийг анхаарах нь нэн чухал байна. Нядалгааны газрын эрүүл ахуй, нядалгааны арга техник, хадгалалт, тээвэрлэлт эрүүл ахуйн ерөнхий дүрэм зэрэг нь S. aureus-аар бохирдох чухал хүчин зүйл болдог.9 Мөн хүнсний аюулгүй байдал, эрүүл ахуйн хяналтыг сайжруулах шаардлагатайг харуулж байна.

Бидний судалгаагаар илэрсэн S. aureus-ийн омог нь пенициллиний бүлгийн эмэнд хамгийн их хувиар тэсвэртэй, олон эмэнд тэсвэрт байдал өндөр хувьтай тодорхойлогдлоо. Антибиотикийг замбараагүй, зохисгүй их хэмжээгээр хэрэглэх нь олон эмэнд тэсвэртэй омог үүсч, өвчний эмчилгээний асуудлыг илүү хүндрэлтэй болгож, өвчлөл нэмэгдэх үндэс болдог. Мөн малд антибиотикийг зохисгүй хэрэглэх нь түүний гаралтай мах, махан бүтээгдэхүүнээс илэрсэн S. aureus-ийн омгийн антибиотик эсэргүүцэх чадварыг өндөр түвшинд хүргэдэг.10 Антибиотикт тэсвэрт байдал нь малын тоо толгой, антибиотикийн зохисгүй хэрэглээ зэрэг хүчин зүйлээс хамааран ихсэх магадлалтай юм.

Дүгнэлт: Судалгаанд хамруулсан жижиглэнгийн худалдаагаар борлуулагдаж байгаа махны 85% нь S. aureus-аар бохирлогдсон бөгөөд энэ нь ПГУ-аар батлагдсан. S. aureus-аар бохирлогдсон дээжийн тал хувь нь олон эмэнд тэсвэртэй байна.

Ном зүй:

1. *Ed-Dra A, Filali FR, Bouymajane A, et al. Antibiotic Susceptibility profile of Staphylococcus aureus isolated from sausages in Meknes, Morocco. Veterinary world. Nov 2018;11(10):1459-1465.*
2. *Suzuki Y, Kubota H, Ono HK, et al. Food poisoning outbreak in Tokyo, Japan caused by Staphylococcus argenteus. International journal of food microbiology. Dec 4 2017;262:31-37.*
3. *Arslan S, Ozdemir F. Molecular characterization and detection of enterotoxins, methicillin resistance genes and antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus from fish and ground beef. Polish journal of veterinary sciences. Mar 28 2017;20(1):85-94.*
4. *МУ-н Үндэсний статистикын хороо, Дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллага, 2014.*
5. *Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. Staphylococcus aureus and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. 2014;2014:827965.*
6. *Jarraud S, Mougel C, Thioulouse J, et al. Relationships between*

Staphylococcus aureus genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. Infection and immunity. Feb 2002;70(2):631-641.

7. *Haaber J, Penades JR, Ingmer H. Transfer of Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus. Trends in microbiology. Nov 2017;25(11):893-905.*
8. *Wu S, Huang J, Wu Q, et al. Staphylococcus aureus Isolated From Retail Meat and Meat Products in China: Incidence, Antibiotic Resistance and Genetic Diversity. Frontiers in microbiology. 2018;9:2767.*
9. *KEYVAN2 HÖE. Isolation and characterisation of Staphylococcus aureus strains isolated from beef, sheep and chicken meat*. Geliş tarihi:06.07.2015 / Kabul tarihi:20.02.2016.*
10. *Haskell KJ, Schriever SR, Fonoimoana KD, et al. Antibiotic resistance is lower in Staphylococcus aureus isolated from antibiotic-free raw meat as compared to conventional raw meat. PloS one. 2018;13(12):e0206712.*

Detection of Staphylococcus aureus isolated from retail raw meat and confirmation by polymerase chain reaction

Anujin B[1], Munkhdelger Ya[2], Sarantuya J[2]

[1]Ach Medical University
[2]Department of Molecular biology and Genetics, School of Biomedicine, MNUMS
Email: anujin@ach.edu.mn, Tel: 95639814

Introduction: In the United States, Staphylococcus aureus is considered one of the top five pathogens causing domestically acquired foodborne diseases and is responsible for an estimate of 241,000 illnesses per year. Foods that have been frequently implicated in Staphylococcal food-borne disease are meat, meat products, egg products, milk, dairy products, salads and bakery products. β-lactam antibiotics are routinely prescribed for treating S. aureus caused infections, but antibiotic resistance is increasing at an alarming rate. Therefore, this study aimed to investigate S. aureus in retail raw meat and to determine antimicrobial resistance.

Methods: A total of 53 meat samples were collected from markets including Kharkhorin 7, Bars 7, Bayanzurkh 4, Huchit shonkhor 19, Denjiin myanga 4 and Bumbugur 12. We cultured the samples from raw meat on Baird-Parker selective agar to identify S. aureus and to confirm by polymerase chain reaction. The antibiotic susceptibility by the disk diffusion method and estimated sensitive or resistant. Antibiotic susceptibility was checked by the disk diffusion method and estimated as sensitive or resistant.

Results: Overall, 85% meat samples were contaminated with S.aureus of which 53.5% were low, 24.5% were moderate, 11% were high and 11% were very high. According to the findings of the current study, S. aureus strains isolated from the meat were high resistant (88.9% -97.8%) to antibiotics of penicillins group and low resistant (4.4%) to vancomycin. In total, 48.9% of isolates were multidrug resistant.

Conclusion: 85% samples were contaminated with S.aureus in retail raw meat and half of isolates were multidrug resistant.