МОНГОЛД ЯЛГАСАН *TAENIA MULTICEPS*–ИЙН МИТОХОНДРИЙН ЦИТОХРОМ С ОКСИДАЗА1 ГЕНИЙН НУКЛЕОТИДИЙН ДАРААЛЛЫН МОЛЕКУЛ ГЕНЕТИКИЙН ОНЦЛОГ

Г.Өлзийжаргал[1], Ч.Ганцэцэг[2], Ж.Хулан[3], М.Наранхажид[4]

АШ УУИС, БиоАнагаахын сургууль, Микробиологийн тэнхим[1], ulziijargal@mnums.edu.mn
Зоонозын Өвчин Судлалын Үндэсний Төв[2], gantsetseg@nczd.gov.mn
МУИС, Шинжлэх Ухааны сургууль, Биологийн тэнхим[3], khulan@num.edu.mn
АШ УУИС, БиоАнагаахын сургууль, Биологи-Гистологийн тэнхим[4], narankhajid@mnums.edu.mn

Түлхүүр үг:
Taenia multiceps,
цитохром с оксидаза1
ген, нуклеотидын
дараалал

Товч утга: Ценуроз нь чоно, нохой зэрэг махчин амьтдын нарийн гэдсэнд шимэгчилдэг нэг метр орчим урт *Taenia multiceps* туузан хорхойн авгалдай *(Coenurus cerebralis)*-гаар үүсгэгдэг. Авгалдай нь цагаан өнгийн шингэнээр дүүрсэн уйланхай байдаг ба малын тархи, нугасанд байрлан шимэгчлэн амьдарна. *Taenia multiceps*-ийн амьдралын мөчлөгт өвсөн тэжээлтэн амьтад завсрын, харин нохой жинхэнэ эзэн болдог тул нохой элбэг газар уг авчин тархах магадлал өндөртэй юм. Монгол орны арван есөн аймаг, Улаанбаатар хотын есөн дүүргээс нохойн нийт 1422 ялгадасны дээжийг цуглуулан 1142 нохойн ялгадаснаас ДНХ ялган, мтДНХ-ийг илрүүлэх аргаар судлахад 21.9% (52/1142) дээжинд туузан хорхойгоор халдварласан байна. Судалгааны үр дүнд илэрсэн гаплотипуудийг GenBank-нд бүртгэлтэй лавлагаа дараалалтай харьцуулан дүйж удмын мод байгуулахад манай орны нохойн популяцид орчиж буй *T. multiceps*-ийн гаплотип газарзүйн хамааралтай ялгаралд орж генетикийн өвөрмөц бие даасан мөчир болж зурагдаж байна. Молекул эпидемиологийн судалгаагаар *T. multiceps* уулын хээр, ой, хээрийн бүсэд хамрагдах Төв аймгийн Лүн сум, Сэлэнгэ аймгийн Шаамар сум, уулын хээр, ой, хээр, цөлөрхөг хээрийн бүсэд хамрагдах Сүхбаатар аймгийн Дариганга сум, Өмнөговь аймгийн Булган сум, Ховд аймгийн Эрдэнэбүрэн сум, Говь-Алтай аймгийн Хасагт Хайрхан Улаан говь, Дархан хот, Улаанбаатар хотын зарим дүүргүүдэд тус тус илэрлээ.

Үндэслэл: Тархины болон тархины бус ценурозын үүсгэгч нь *Taenia multiceps, T. serialis* юм[2, 4-6]. *T. multiceps*-ийн авгалдай хүн, сүүгээр бойжигчдын тархи, нугас зэрэг мэдрэлийн тогтолцоонд шимэгчлэн амьдардаг. Ценур нь шингэнээр дүүргэгдсэн дотроо хөврөлийн олон тооны сколекс (протосколексууд) үүссэн бөмбөлөг (эргүүгийн уйланхай) юм[8-10]. Авгалдайн шатанд буй ценурийг *Coenurus cerebralis* гэнэ. *C. cerebralis* бол тархины ценурозын үүсгэгч. Тархины бус ценур түгээмэл тохиолддог, ихэвчлэн булчинд шимэгчлэн амьдардаг. Ценурын завсрын эзэн хонь, ямаа, адуу, хүн, жинхэнэ эзэн нь нохой, чоно, үнэг зэрэг махчин амьтад болдог. *Taenia*-ийн өндгөөр дүүрсэн үеүүд нохойн ялгадастай гадагшилж гадаад орчныг бохирдуулан ус, тэжээлтэй хамт малд залгигдаж, улмаар авгалдай гарч гэдэсний ханаар ярган, цусаар дамжиж нугас, ууранг тархинд хүрч 2-6 сарын дараа дотроо туузан хорхойн толгой агуулсан, тахианы өндөгний хиртэй том уйланхай бий болж гавлын ясыг дарж хатинхайруулна[7-9]. Өвчилсөн амьтдын хөдөлгөөн алдагдаж, уйланхайтай тал руугаа эргэх, толгойгоо юманд тулж зогсох, татаж унах, хөлөө алцайж зогсох, эрүүл тал руугаа унах зэрэг шинж тэмдэг үзүүлэх ба барилж үзэхэд уйланхайтай хэсгийн гавлын яс нимгэрч зөөлөрсөн, уйланхайн эсрэг талын нүдний харааны мэдрэлийн хөхөнцөрт цус хурсан, харааны рефлексгүй болж сохорно. Ценурозын эмнэлзүйн шинж тэмдэг нь толгойн гэмтэл, тархины буглаа, листероз, харааны мэдрэлийн зээрэнцгийн хаван, тархины хорт хавдар полиоэнцефаломаляци өвчинтэй хавсарсан байдлаар илэрч болно[10-11].

Манай оронд тархины болон тархины бус ценурозын үүсгэгчийг илрүүлэх судалгаанд митохондрийн ДНХ ялангуяа cox1 генийн нуклеотидийн дараалыг судалсан судалгааны ажлууд төдийлэн хийгдээгүй байна.

Зорилго: Монголд ялгасан *Taenia multiceps*–ийн митохондрийн цитохром с оксидаза1 генийн нуклеотидийн дараалын молекул генетикийн онцлогийг судлах

Зорилт:

1. Ценурозын үүсгэгчийн зүйл, гаплотипыг молекул генетикийн аргаар тодорхойлох
2. Ценурозын үүсгэгчийн зүйл, гаплотипын

тархалтыг молекул эпидемиологийн аргаар тогтоох

3. *Cox*1, *12S rRNA* генийн нуклеотидын дараалыг тогтоон илэрсэн гаплотипыг бусад оронд тархсан гаплотиптэй харьцуулж удамзүйн хамаарлыг тогтоох

Судалгааны арга аргачлал:

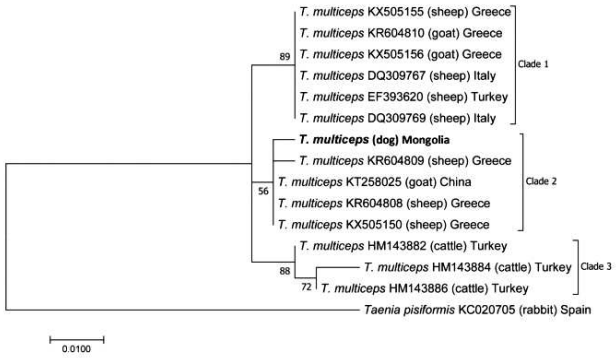
Сорьц цуглуулалт: Монгол орны 19-н аймаг, Улаанбаатар хотын 9 дүүргээс нохойн 1422 ялгадасны дээжийг цуглуулан тус бүрийг 50 мл-ийн тубэнд хийж, ДНХ ялгах хүртэл -20°C хөлдөөгчинд хадгалав.

ДНХ ялгах: Ялгадаснаас ДНХ ялгахдаа Stool kit (Qiagen, Germany) цомгийг үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу ашигласан.

ПГУ: Тениагийн зүйлийн мтДНХ–ийн 12S rRNA кодлогч генийн дараалыг олшруулахдаа von Nickisch-Rosenegk нарын (1990) cestoda-specific 60–R праймер, 375-F праймер, цитохром *c* оксидазийн 1-р жижиг хэсгийг кодолсон *cox1* генийн нуклеотидын дараалыг тогтоохын тулд Bowles (1993) нарын боловсруулсан *cox1* JB3 -R праймер, *cox1* JB4.5-F праймеруудыг, 10х ПГУ-ын буфер, дНТФ, Такү полимеразаг тус тус ашиглав.

ДНХ-ийн дараалал тогтоох: ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг Exosap-IT урвалжаар цэвэрлэн нуклеотидын дараалуудыг “Sanger”-ийн аргаар тогтоон, нуклеотидын дараалуудын статистик боловсруулалтыг ClustalW, BioEdit, MEGA7 программаар боловсруулсан.

Үр дүн: Судалгаанд 19-н аймгаас цуглуулсан 1142 нохойн ялгадаснаас ДНХ ялган ПГУ-аар олшруулахад 416 хос нуклеотидын урттай бүтээгдэхүүн үүссэн. Судалгаанд хамрагдсан нийт дээжний 21.9% (52/1142) нь туузан хорхойгоор халдварласан байна. Cox1 генийн нуклеотидын дараалыг жишиг дараалалтай харьцуулан дүйхэд *T. multiceps*-ийн илэрсэн. Илэрсэн гаплотипуудийг GenBank-нд бүртгэлтэй лавлагаа дараалалтай харьцуулан удмын мод байгуулахад манай орны нохойн популяцид орчиж буй *T. multiceps*-ийн гаплотип газарзүйн хамааралтай ялгаралд орж генетикийн өвөрмөц бие даасан мөчир болж зурагдаж байна (Зураг 1).



Зураг 1. Cox1 генийн нуклеотидын дараалыг үндэслэн удмын модыг байгуулахдаа Bootstrap replication 1000 байхаар тооцоолж, Tamura-Nei загвар ашиглан Maximum Likelihood аргаар байгуулсан.

Taenia-гийн төрлийн зүйлийн cox1 генийн нуклеотидын дараллын ижилсэг болон ялгаат шинж чанарыг харьцуулахад Монголд ялгасан *T. multiceps* Грек болон Хятдад илрүүлсэн *T. multiceps* –тэй ижилсэг чанар хамгийн өндөр 0,009-0,012 харин Taenia-гийн төрлийн зүйлийн cox1 генийн нуклеотидын дараллын ялгаат шинж чанар Туркт ялгасан *T. multiceps*-тэй хамгийн их 0.024 байна (Хүснэгт 1).

Хүснэгт 1. *Taenia*-гийн төрлийн зүйлийн cox1 генийн нуклеотидын дараллын ижилсэг болон ялгаат шинж чанар

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	T. multiceps (Mongolia)															
2	T. multiceps KX505151	0.012														
3	T. multiceps KX505153	0.015	0.003													
4	T. multiceps KX505152	0.015	0.003	0.006												
5	T. multiceps KX505150	0.009	0.003	0.006	0.006											
6	T. multiceps KX505158	0.024	0.012	0.015	0.009	0.015										
7	T. multiceps KX505157	0.024	0.012	0.015	0.015	0.015	0.006									
8	T. multiceps KX505156	0.021	0.009	0.012	0.012	0.012	0.003	0.003								
9	T. multiceps KX505155	0.027	0.015	0.018	0.018	0.018	0.009	0.009	0.006							
10	T. multiceps KX505154	0.018	0.006	0.009	0.009	0.009	0.018	0.018	0.015	0.021						
11	T. solium AB271234	0.139	0.131	0.135	0.131	0.131	0.130	0.126	0.130	0.139	0.135					
12	T. saginata AB271695	0.077	0.063	0.064	0.067	0.067	0.070	0.070	0.067	0.060	0.066	0.153				
13	T. asiatica AB465211	0.081	0.081	0.085	0.084	0.077	0.088	0.088	0.085	0.077	0.084	0.168	0.027			
14	T. arctos GU252131	0.140	0.128	0.132	0.128	0.128	0.127	0.123	0.127	0.136	0.131	0.109	0.132	0.141		
15	T. hydatigena JN831295	0.160	0.147	0.152	0.151	0.147	0.151	0.151	0.147	0.152	0.152	0.189	0.157	0.162	0.156	

Нуклеотидын солигдолтыг үнэлэхэд A суурь G сууриар солигдох магадлал харьцангуй өндөр (47.28%) транзицид өртөж байна. Харин G суурь C/T сууриар солигдох нь харьцангуй бага (1.21%) давтамжтай байна. Азотлог сууриудын агууламжийг тооцоолоход A: 28.34%, T: 24.58%, C: 34.22%, G: 12.87% гэсэн харьцаатай байна.

Молекул эпидемиологийн судалгаагаар *T. multiceps* уулын хээр, ой, хээрийн бүсэд хамрагдах Төв аймгийн Лүн сум, Сэлэнгэ аймгийн Шаамар сум, уулын хээр, ой, хээр, цөлөрхөг хээрийн бүсэд хамрагдах Сүхбаатар аймгийн Дариганга сум, Өмнөговь аймгийн Булган сум, Ховд аймгийн Эрдэнэбүрэн сум, Говь-Алтай аймгийн Хасагт Хайрхан Улаан говь, Дархан хот, Улаанбаатар хотын зарим дүүргүүдэд тус тус илэрлээ.

Хэлцэмж: *Taenia* төрөлд хамрагдах анагаах ухаан, мал аж ахуй болон эдийн засгийн ач холбогдолтой хэд хэдэн зүйлийн нэг бол *T. multiceps* юм[11]. *Taenia* төрлийн зүйлүүдийн молекул биологи, удам зүй, молекул филогенезийн судалгаанд 28S rDNA, 12S rRNA, cox1, nad1, nad4, ITS rDNA зэрэг генүүдийг генетикийн маркерууд ашигласан[3-7, 9-10]. *Taenia*-гийн зүйлүүдийн молекул генетикийн судалгаанд хамгийн түгээмэл ашиглагддаг ген бол cox1 юм[3-8]. Ийм учраас бид энэхүү судалгаандаа cox1 генийн нуклеотидын дарааллыг тогтоон судалсан. Бидний судалгаагаар Монголд ценурозын үүсгэгч нь *T. multiceps*-ийн Tm01 гаплотипээр үүсгэгдэж байсан бол Хятдад ямаанаас илрүүлсэн *T. multiceps* cox1 генийн (EF393620) нуклеотидын дараалал 97.9%-ийн ижилсэг чанартай 3 гаплотип илэрч, эдгээр гаплотип удмын модонд гурван биеэ даасан бүлэг үүсгэн зурагдсан байна[1].

Уг судалгаатай төсөөтэй үр дүн Итали Сардиниа мужийн янз бүрийн газар нутгаас цуглуулсан нийт 40 хонины дээжинд nad1 болон cox1 генийн дарааллыг үндэслэн *T. multiceps*-ийг илрүүлэхэд эдгээр генүүдийн хэсэгчилсэн дарааллын ялгаат чанар 1.27-2.54% ба 0.22-0.67% хооронд хэлбэлзэж 3 гаплотип илэрсэн[12]. Энэхүү судалгаагаар манай оронд *T. multiceps*-ийн Tm01 гаплотип илэрч харин бусад оронд 3 гаплотип илэрч байгаа нь бид *T. multiceps*-ийн жинхэнэ эзэн болох нохойноос харин Хятад, Италид завсрын эзэн буюу хонь, ямаа болон жинхэнэ эзэн болох нохойноос цуглуулсан дээжинд судалгаа хийсэнтэй байж болох юм. *T. multiceps*-ийн генетикийн олон янз байдал жинхэнэ болон эзний онцлог, амьдралын мөчлөгтэй холбоотой байдаг талаар цөөнгүй судалгаанууд хийгдсэн байдаг[2-6, 8-11].

Молекул эпидемиологийн судалгаагаар *T. multiceps* уулын хээр, ой, хээрийн бүсэд хамрагдах Төв аймгийн Лүн сум, Сэлэнгэ аймгийн Шаамар сум, уулын хээр, ой, хээр, цөлөрхөг хээрийн бүсэд хамрагдах Сүхбаатар аймгийн Дариганга сум, Өмнөговь аймгийн Булган сум, Ховд аймгийн Эрдэнэбүрэн сум, Говь-Алтай аймгийн Хасагт Хайрхан Улаан говь, Дархан хот, Улаанбаатар хотын зарим дүүргүүдэд тус тус илэрсэн. Манай орны байгалийн бүх бүсэд тархины болон тархины бус ценуроз илэрч байгаа нь малчин айл бүр дээр үеэс 1-2 нохойтой, эдгээр нохдыг гол төлөв хот манах, мал хариулахад ашигладаг, тэжээж буй нохойгоо ихэнхдээ сул тавьдаг, нохой тэжээж буй иргэдийн тал хувь нь нохойгоо малын түүхий болон шүүрхий эд эрхтэнээр хооллодог, нохойдоо туулга, вакцин хийлгэдэггүй зэрэгтэй холбоотой.

Дүгнэлт:

1. Монголд ценуроз нь *T. multiceps*-ийн Tm01 гаплотипээр үүсгэгддэг байна.
2. Манай оронд ценуроз нь ихэвчлэн уулын хээр, ой, хээр, цөлөрхөг хээрийн бүсэд тархсан байна.
3. Cox1 генийн нуклеотидийн дарааллыг үндэслэн филогенетикийн шинжилгээ хийхэд Монгол оронд тархсан *T. multiceps*-ийн гаплотип газарзүйн хамааралтай ялгаралд орж генетикийн өвөрмөц бие даасан бүлэг үүсгэж байна.

Ном зүй:

1. *Bowles, J., McManus, D.P., 1993. Rapid discrimination of Echinococcus species and strains using a polymerase chain reaction-based RFLP method. Mol. Biochem. Parasitol. 57, 231–9.*
2. *Li WH, Jia WZ, Qu ZG, Xie ZZ, Luo JX, Yin H, Sun X.L, Blaga R, Fu BQ. 2013. Molecular characterization of Taenia multiceps isolates from Gansu Province, China by sequencing of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit 1. Korean Journal of Parasitology, 51(2), 197–201.*
3. *McManus DP. 2006. Molecular discrimination of taeniid cestodes. Parasitology International, 55 Suppl, S31–37.*
4. *Oryan A, Akbari M, Moazeni M, Amrabadi OR. 2014. Cerebral and non-cerebral coenurosis in small ruminants. Tropical Biomedicine, 31(1), 1–16.*
5. *Payan-Carreira R, Silva F, Rodrigues M, dos Anjos Pires M. 2008. Cysticercus tenuicollis vesicle in fetal structures: report of a case. Reproduction in Domestic Animals, 43, 764–766.*
6. *Radfar MH, Tajalli S, Jalalzaden M. 2005. Prevalence and morphological characterization of Cysticercus tenuicollis (Taenia hydatigena cysticerci) from sheep and goats in Iran. Verinarski Arhiv, 75, 469–476.*
7. *Rostami S, Salavati R, Beech RN, Babaei Z, Sharbatkhori M, Baneshi MR, Hajialilo E, Shad H, Harandi MF. 2015. Molecular and morphological characterization of the tapeworm Taenia hydatigena (Pallas, 1766) in sheep from Iran. Journal of Helminthology, 89(2), 150–157.*
8. *Scala A, Pipia AP, Dore F, Sanna G, Tamponi C, Marrosu R, Bandino E, Carmona C, Boufana B, Varcasia A. 2015. Epidemiological updates and economic losses due to Taenia hydatigena in sheep from Sardinia, Italy. Parasitology Research, 114(8), 3137–3143.*
9. *Sonmez B, Simsek S. 2016. Molecular characterization and detection of variants of Taenia multiceps in sheep in Turkey. Parasitology, 6(2), 1–6.*
10. *Varcasia A, Pipia AP, Arru D, Pes AM, Tamponi C, Dore F, Garippa G, Scala A. 2013. Morphological and molecular characterization of bovine coenurosis in Sardinia, Italy. Parasitology Research, 112, 2079–2082.*
11. *von Nickisch-Rosenegk, M., Silva-Gonzalez, R., Lucius, R., 1999. Modification of universal 12S rDNA primers for specific amplification of contaminated Taenia sp. (Cestoda) gDNA enabling phylogenetic studies. Parasitol. Res. 85, 819–825.*

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *TAENIA MULTICEPS* ISOLATES FROM MONGOLIA BY SEQUENCING OF MITOCHONDRIAL CYTOCHROME C OXIDASE SUBUNIT 1

Ulziijargal G[1], Gantsetseg Ch[2], Khulan J[3], Narankhajid M[4]

Department of Microbiology, School of Bio-Medicine , MNUMS[1] ulziijargal@mnums.edu.mn
National Center for Zoonotic Disease[2] gantsetseg@nczd.gov.mn
Department of Biology, School of Science, National University of Mongolia[3], khulan@num.edu.mn
Department of Biology, School of Bio-Medicine, MNUMS[14], narankhajid@mnums.edu.mn

Coenurus is caused by the larvae *(Coenurus cerebralis)* of the tapeworm *Taenia multiceps*, which is about one meter long and parasitizes in the small intestine of predators such as wolves and dogs. The larvae are cysts filled with a white liquid and live in the brain and spinal cord of the animal. In the life cycle of *Taenia multiceps*, herbivores occupy an intermediate host and dogs are definitive host, so the disease is more likely to spread in areas where dogs are common. A total of 1422 dog faeces samples were collected from 19 aimags and 9 districts of Ulaanbaatar in Mongolia, and 21.9% (52/1142) of the samples were infected with tapeworms based on DNA analysis from 1142 dog faeces. Comparison of the nucleotide sequence of the Cox1 gene with the reference sequence revealed the presence of *T. multiceps*. When comparing the detected haplotypes with the gene sequence registered in GenBank, the *T. multiceps* haplotype in the dog population of our country is geographically differentiated and mapped as a genetically independent branch. According to the molecular epidemiological study, *T. multiceps* is included in the Lun-sum of the Tuv aimag, the Shaamar sum of the Selenge aimag, the Darigang sum of the Sukhe-Bator aimag, the Bulgan sum of the South Gobi aimag, and Erdeneburen of the Khovd aimag. sum, Khasagt Khairkhan Gobi-Altai aimag, Ulaan-Gobi, the city of Darkhan and some districts of the city of Ulaanbaatar.