

## *Cryptosporidium* spp. үүсгэгчийг BALB/c хулганад зориудын халдвар хийж туршсан дүн

Уламмонхийн Гажидмаа<sup>1,2</sup>, Уранбилэгийн Нямдолгор<sup>1,2</sup>, Зоригтын Үүрцайх<sup>1</sup>,  
Пүрэвдоржийн Баатаржаргал<sup>1</sup>, Хандсүрэнгийн Наранбаатар<sup>1</sup>, Цогтсайханы Баярсайхан<sup>1</sup>,  
Дамдинсүрэнгийн Болдбаатар<sup>1</sup>, Игорийн Хатанбаатар<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup> Мал эмнэлгийн хүрээлэн, ХААИС, Зайсан 17024, Улаанбаатар

<sup>2</sup> Магистр, докторын сургууль, ХААИС, Зайсан 17024, Улаанбаатар

\*Холбоо баригч зохиогч: [khatnaagori@gmail.com](mailto:khatnaagori@gmail.com)

 <https://orcid.org/0000-0003-0099-7595>

Хүлээн авсан: 01.10.2021

Хянасан: 21.11.2021

Хэвлэлтэд орсон: 31.12.2021

### Хураангуй

Криптоспорид бүх төрлийн сээр нуруутан амьтдын ходоод, нарийн гэдэсний хучуур эсэд шимэгчилдэг эгэл биетэн. Бид усархаг чацга алдсан үхрийн баасны сорьцоос криптоспоридын ооцистыг сахарын ханасан уусмалаар цэвэршүүлэн авлаа. Монгол дахь уг үүсгэгчийг  $1 \times 10^7$  ооцист/мл тунгаар BALB/c үүлдрийн хулганад зориудын халдвар хийж, хяналтаар *C. parvum* (Герман) омгийг ашиглав. Халдвар хийснээс хойш 7 хоногийн дараагаас эхлэн туршилтын бүлэг тус бүрийн хулганы баасаар криптоспоридын ооцист ялгарч, туршилтын нийт хугацаанд дунджаар монгол дахь криптоспоридын үүсгэгч  $1.033 \pm 0.2 \times 10^6$  ( $p < 0.025$ ), *C. parvum* зүйлийн  $0.9 \pm 0.05 \times 10^6$  ( $p < 0.001$ ) ооцист/мл тоологдлоо. Хяналт, туршилтын бүлгийн хулганыг халдвар хийснээс хойш 30 дахь хоногт нядалж эмгэг бүтцийн өөрчлөлтийг судлав. Туршилтын бүлгийн хулганы ходоод, нарийн гэдэсний ханын хучуур эсүүд гэмтэж, үүсгэгчийн ооцист ихээхэн халдварлаж, ходоодны ханын салст бүрхүүлийн булчирхайлаг эдийн давхаргад байршин шимэгчилжээ. Нарийн гэдэсний бичил цэлмэнгийн ёроол хэсгээр криптоспоридын бэлгийн бус, бэлгийн хөгжлийн үе шатууд тод илрэв. Бид хоруу чанар өндөр *Cryptosporidium* spp.-ийн лабораторийн омог гарган авахаар ажиллаж байна.

**Түлхүүр үг:** *C. parvum* омог, баасны сорьц, ооцист, үхэр, Гематоксилин-Эозин будаг, сахарын ханасан уусмал

### Оршил

*Cryptosporidium* spp. төрлийн эгэл биетэн сүүн тэжээлтэн амьтад, мөлхөгчид, хоёр нутагтан, шувуу, загасны тэжээл боловсруулах зам, амьсгал, үржлийн эрхтний хучуур эсэд шимэгчилдэг [1]. Криптоспорид шууд, шууд бус зам (хөрс, ус, хүнс)-аар дамжин хүн, мал, амьтдад халдварлаж [1, 2] архаг явцтай өвчин үүсгэж, аажим биеийн дархлааг сулруулан улмаар үхэлд хүргэдэг. Дэлхийд өргөн тархсан эмгэг төрүүлэгч, биеийн дархлаа суларсан үед хоёрдогч халдвараар илэрч жил бүр 50000 гаруй хүний үхлийн шалтгаан болдог [3]. Хүн амын дунд *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*), *C. hominis* зүйлүүд өргөн тархсан, *C. parvum* мал, амьтнаас хүнд, *C. hominis* хүнээс хүнд шууд халдварлана.

Криптоспоридын ооцистоор халдварласан мал, амьтад усархаг, цустай чацга алдах, гурах, эцэх, тэжээлийн дуршил буурах, гэдэсний хатгалгаа, халуурах, татганах, бөөлжих эмнэл зүйн шинж тэмдгүүд илэрдэг [1, 2].

Анх 1907 онд Америкийн Нэгдсэн Улс (АНУ)-ын эрдэмтэн Е.Е. Tyzzer *Cryptosporidium* төрлийн эгэл биетнийг гэрийн хулганы ходоодны ханын булчирхайлаг эдийн давхаргын хучуур эдээс илрүүлжээ [4].

1955 онд анх цацагт хяруулд криптоспоридиозын шинж тэмдэг тод илэрч, олон тооны амьтад халдвар авчээ [5]. Үхэрт криптоспорид халдварласан анхны тохиолдол 1971 онд бүртгэгджээ [6].

Хүн криптоспоридоор халдварласан анхны тохиолдол 1976 онд бүртгэгдэж, гурван настай эмэгтэй хүүхэд [7], дархлалын олдмол хомсдол (ДОХ)-ын халдвартай 39 настай эрэгтэй хүнээс илэрчээ [8].

Сүүлийн үеийн судалгаагаар 155 зүйлийн сүүн гэжээлтэн амьтдаас криптоспоридын халдвар илэрч, криптоспорид, криптоспоридтой төстэй 44 зүйл [9] бүртгэгдсэнээс үхэрт 8 зүйл илэрчээ [10]. Үхэрт шимэгчлэгч 8 зүйлээс *C. andersoni*, *C. bovis*, *C. parvum*, *C. ryanae* зүйлүүд өргөн тархсан, *C. parvum* эмгэг төрүүлэх идэвх өндөр [11, 12].

*Cryptosporidium* spp. төрлийн эгэл биетнээр хурц туршилт хийхэд тугалд *C. parvum* 2-7 хоног, хүнд 4-22 хоног, гахайнд *C. suis* 2-9 хоног, үхэрт *C. bovis* 10-12 хоног, хулганад *C. muris* 6-21 хоног, мууранд *C. felis* 5-6 хоног, тахианд *C. baileyi* зүйл 4-24 хоногт халдвар тус тус илэрдэг [1, 13].

Криптоспорид эзэн өвөрмөц биш, харин эзэн амьтанд шимэгчлэх эрхтэн өөр өөр байдаг. Тухайлбал *C. andersoni*, *C. muris*, *C. serpentis* зүйлүүд ходоодны ханын салст бүрхүүлд байрладаг, *C. parvum* цуггалан гэдэсний ханын хучуур эсэд, *C. baileyi* тахианы амьсгалын замд байрлаж, амьсгалын замын эмгэг төрүүлэх шалтгаан болдог [1].

Манай орны ойт хээрийн бүсийн хивэгчдэд криптоспоридын халдварлалт 0.35% илэрчээ [14]. Улаанбаатар хот орчмын сүүний үхрийн аж ахуйд криптоспоридын халдварлалтыг иммунофлюоресценцийн урвал (ИФУ)-аар илрүүлэхэд 26.4% байв [15].

Байран маллагаатай аж ахуйн нялх тугалын баасны сорьцод криптоспоридын халдварлалтыг

үүрэн полимеразаан гинжин урвал (ПГУ)-аар илрүүлэхэд 50% [16], газарзүйн үндсэн гурван бүсийн нийт 12 аймгийн 67 сумаас цуглуулсан тугалын баасны 3379 сорьцын 6.48% нь криптоспоридоор халдварлалттай [17].

Сэлэнгэ аймагт хийсэн судалгаагаар 115 хүүхдийн өтгөн (баас)-ий сорьцод фермент холбоот эсрэг биеийн урвал (ФХЭУ)-аар шинжилгээ хийхэд *C. parvum* 1.7% (2/115), *Giardia lamblia* 0.9% (1/115)-ийн халдварлалттай байв [18].

Цочмог суулгалт шинж тэмдэгтэй 138 хүний өтгөнөөс сорьц авч криптоспоридын халдварлалтыг үүрэн ПГУ-аар илрүүлэхэд 5.07% (7/138) байв. Дээрх шинжилгээгээр *C. parvum* зүйлийн өвөрмөц генийг илрүүлж, цочмог суулгалтын шалтгаан болохыг баталгаажуулжээ [19].

Криптоспорид болон Гиардиагаар хүн 6.4% (27/419), гэрийн амьтад (хонь, ямаа, үхэр, адуу, нохой, тэмээ, муур, бусад) 3.3% (19/570), гэрийн ялаа 14.8% болон ундны ус 2% (5/250)-ийн халдварлалттай байв [20].

Манай оронд криптоспориодиозын тархалтын судалгаа хийгдэж буй боловч омог гарган авах, эмгэг бүтцийн өөрчлөлтийн талаарх судалгаа огт хийгдээгүй судалгааны ажил эхлэл төдий байна. Бид нутгийн мал, амьтанд халдварласан хоруу чанар өндөр криптоспоридын ооцист цэврээр ялган авах, хулганад зориудын халдвар хийж, эмгэг бүтцийн өөрчлөлтийг судлах зорилтуудыг дэвшүүлэн ажиллалаа. Энэхүү сэдэвт судалгааны ажлыг Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн Хачиг, шавж, эгэл биетэн судлал, Гельминт судлал, Эмгэг судлалын лабораториудад хийж гүйцэтгэв.

## Материал, арга зүй

### Баасны сорьц

Төв аймгийн Эрдэнэ сумаас усархаг чацга алдаж турсан үхрээс баасны сорьц нийтэд хэрэглэгддэг арга зүйн дагуу авч 2.5%-ийн хоёр хромт хүчлийн кали ( $K_2Cr_2O_7$ )-ийн уусмалд хадгалааслав.

### Үүсгэгч

Судалгаанд хяналтаар *C. parvum* (A15G2RI, Герман улс) омгийг ашиглав.

### Туршилтын амьтан

VALB/c үүлдрийн 21 хоногийн настай, 18-20гр амьдын жинтэй 30 толгой эм хулгана.

ХААИС-ийн Мал эмнэлэг, Био-анагаах ухааны судалгаанд мал, амьтан ашиглах, зөвшөөрөл (МЭБУС 19/02/09)-ийг мөрдлөг болгов.

### Криптоспоридын ооцист илрүүлэх

#### Суурилаг фуксинээр будах

Криптоспоридын ооцистыг нийтэд хэрэглэгддэг суурилаг фуксины аргаар будаж илрүүлэв. Үхэр, туршилтын бүлгийн хулгана тус бүрийн баасны сорьцыг цахилгаан жин (KERN 440-55N, Герман улс)-гээр хэмжин авч 1:10 харьцаагаар фосфатын буфер (SIGMA-ALDRICH)-ийн уусмал нэмж нэгэн жигд болтол сайтар хутгаад цийдмэгээс автомат пипетикээр 50мкл-ыг соруулан түрхцийн шилэн дээр 2 см диаметртэй нимгэн түрхэц бэлтгэж тасалгааны хэмд хатаав.

Гүйцэд хатсан түрхцийг метанол (UNIONLAB, БНХАУ)-ын спиртээр 10 минутын турш бэхжүүлээд суурилаг карбол-фуксин (SIGMA-ALDRICH)-ээр 25 минутын турш будаж урсгал усаар сайтар угаав. Түрхцийг 1% этилийн спирт/давсны хүчил (SIGMA-ALDRICH)-ийн уусмалаар 30 секундын турш өнгөгүйжүүлээд урсгал усаар угааж хатаагаад 0.8%-ийн бриллиантын хөх (SIGMA®)-ийн уусмалаар 1 минутын турш будав. Дахин урсгал усаар угааж бичил харуур (Shinova BN-800M, БНХАУ)-ын өндөр өсгөлт (x100 дахин)-өөр криптоспоридын ооцист илрүүлж, зургаар баталгаажуулав [21, 22, 23].

#### *Криптоспоридын ооцистыг цэврээр ялгах*

##### *Сахарын ханасан уусмал бэлтгэх*

Өтгөн сахарын ханасан уусмал (нягт=1.28 орчим)-ыг бэлтгэхдээ 355 мл нэрмэл усанд 454 гр нунтаг сахар нэмж бүрэн уустал халааж, хөргөөд уусмалын нягтыг сахарометрээр хэмжиж, 4 °C хөргүүрт ашиглах хүртлээ хадгалав.

##### *Баасны цийдмэг бэлтгэх*

Туршилтын бүлгийн хулгана, үхрийн баас тус бүрээс 1:10 харьцаагаар фосфатын буферийн уусмал, 5 мл шингэн саван (хүнсний зориулалттай) нэмж сайтар хутгаад тасалгааны хэмд 1 цагийн турш тавьж тосгүйжүүлэв. Цийдмэгийг соронзон холигч (ADVANTEC SR500, Япон улс)-оор 1 цагийн турш жигд хольж криптоспоридын ооцистыг бусад хольцоос салгав. Цийдмэгийг хоёр давхар самбайгаар 50мл хэмжээтэй шинэ цодон руу шүүгээд 3000 эргэлт/минутанд 10 минутын турш хурилдуурдав. Дээд шингэнийг болгоомжтой асгаад тунадас (ооцист) дээр 1:1 харьцаатайгаар фосфатын буферийн уусмал нэмж дахин цийдүүлэв.

#### *Криптоспоридын ооцист цэврээр шүүлэх*

Өтгөн сахарын ханасан уусмалаас ажлын А уусмал 1:1, Б уусмалыг 1:4 харьцаатайгаар нэрмэл усаар шингэлж бэлтгэв.

Шинэ 50 мл хэмжээтэй цодонд 20 мл А уусмал дээр 20 мл Б уусмалыг цодонгийн ханыг дагуулан аажим нэмж үелүүлэв. Үүний дараа 10

мл баасны цийдмэгийг цодонгийн ханыг дагуулан нэмж, 3000 эргэлт/минутанд 10 минутын турш хурилдуурдав. А болон Б уусмалын хооронд үүссэн ооцистыг ариун шилэн пипетикээр соруулан авсан. Ооцистыг шинэ 15 мл хэмжээтэй цодонд хийж, фосфатын буферийн уусмал цодонг дүүртэл нэмээд сайтар хольсны дараа 3500 эргэлт/минутанд 15 минутын турш хурилдуурдлаа. Тунадас (ооцист)-ыг дээрхийн адил хоёр удаа дараалан угаав.

Цэврээр шүүлэн авсан криптоспоридын ооцистыг эсийн тоо тоологч тор (NELBAUER IMPROVED, BLAU BRAND, Герман улс)-ыг ашиглан тоолов. Ооцистыг антибиотик (100 мг/мл пенициллин стрептомицин (PAN™ Biotech, Герман улс))-той фосфатын буферийн уусмал 1 мл-ийг нэмж сайтар холиод 4 °C хөргүүрт дараагийн судалгаанд ашиглах хүртлээ хадгалав.

#### *Лабораторийн хулганад криптоспоридоор зориудын халдвар хийх*

Цэврээр шүүлэн авсан криптоспоридын ооцист, *S. parvum* омгийг BALB/c үүлдрийн туршилтын бүлгийн хулганад  $1 \times 10^7$  ооцист/мл тунгаар 200 мкл, хяналтын бүлгийн хулганад фосфатын буферийн уусмал 200 мкл-ыг 1 мл хэмжээтэй нэг удаагийн ариун тариур ашиглаж амаар олгов. Халдвар хийснээс хойш 7, 15, 30 хоногт хулганы бааснаас түрхэц бэлтгэж, суурилаг фуксинээр будаж, харааны талбайд илэрсэн ооцистыг тоолж, зургаар баталгаажуулав. Дээр дурьдсан хоног тус бүрд хулганы бааснаас ооцист цэврээр шүүлэн авч 1 мл-д агуулагдах ооцистын тоог эсийн тоог тоологч тороор 3 удаа тоолж, дундаж тоог гаргав. Microsoft office Excel программаар тоон хувьсагчдыг харьцуулахдаа Стьюдентийн *t* утгыг ашиглаж, дундаж хэмжигдэхүүн бодитой эсэхийг шалгаж, 0.05-тай тэнцүү буюу түүнээс бага *p*-ийн утгыг ач холбогдолтой гэж үзэв. Туршилтын явцад криптоспоридын халдвар хийсэн хулганы баасыг 2.5%-ийн хоёр хромт хүчлийн кали ( $K_2Cr_2O_7$ )-ийн уусмалд хадгалааслав [24, 25, 26]. Туршилтыг 22-26 °C дулаантай, 30-70%-ийн харьцангуй чийгшилтэй орчинд 30 хоногийн хугацаанд явуулав.

Table 1

Experimental infection with *Cryptosporidium* spp. and *C. parvum*

| Experimental groups (origin)           |          | Mouse breed | Number of mice | Parasite                               | Infected dose     |        | Infected route |
|--|----------|-------------|----------------|--|-------------------|--------|----------------|
| <i>Cryptosporidium</i> spp. (Mongolia) | Trial #1 | BALB/c      | n=5            | <i>Cryptosporidium</i> spp. (Mongolia) | 1x10 <sup>7</sup> | 200 µl | Oral           |
|  | Trial #2 |             | n=5            |  |                   |        |                |
|  | Control  |             | n=5            | PBS                                    | NA                |        |                |
| <i>C. parvum</i> (Germany)             | Trial #1 |             | n=5            | <i>C. parvum</i> (Germany)             | 1x10 <sup>7</sup> |        |                |
|  | Trial #2 |             | n=5            |  |                   |        |                |
|  | Control  |             | n=5            | PBS                                    | NA                |        |                |
| Total                                  |          |             | n=30           | NA                                     |                   |        |                |

PBS- Phosphate Buffered Salts; NA- not available

*Зориудын халдварын үед үүсэх эмгэг бүтцийн судалгаа*

*Эдийн сорьц*

Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн Эмгэг судлалын лабораторид боловсруулсан нийтлэг арга зүйн дагуу туршилт, хяналтын бүлгийн хулганы ходоод, гэдэснээс сорьц авлаа. Эдийн сорьцыг 10%-ийн буфержүүлсэн формалины уусмалд хийж бэхжүүлэв.

*Эдийн байнгын бэлдмэл бэлтгэх*

Гэдэсний эдийн сорьц бүрийг 1x1 см-ийн хэмжээтэй хурц хутгаар зүсэж, хямсаагаар эдийг гэмтээлгүйгээр кассетанд хийж, 10%-ийн буфержүүлсэн формалины уусмал (1:3 харьцаатайгаар) нэмж тасалгааны хэмд 72 цагийн турш бэхжүүлэв. Эдийг 16-24 цагийн турш урсгал усаар угааж формалингүйжүүлэв. Эдийн гүнд нэвчсэн усыг этанолын өссөн төвшрүүлэг (70%; 80%; 90%; 96%; 100%-ээр гурван удаа)-тэй спиртээр тус бүр 24 цагийн турш усгүйжүүлэв. Ксилолын I, II, III уусмалаар тус бүр 30 минутын турш үйлчлүүлж спиртгүйжүүлэв. Үүний дараа 60°C шингэн парафинд I, II, III тус бүр 30 минутын турш дамжуулж, парафин цутгагч машин Tele-5

### Судалгааны үр дүн

1. *Криптоспоридын ооцист илрүүлсэн дүн.* Чацга алдсан үхрээс криптоспоридын ооцист илэрч, 2.2x10<sup>6</sup> ооцист/мл тоологдов. Цэвэршүүлэн

машин ашиглаж цутгав. Yamato Kohki маркийн чарган микротомоор 2 мкм зузаантайгаар зүсэж, зүсмэгийг бодисын шилэн дээр авч ксилолын уусмалаар дараалуулан 3 удаа тус бүр 5 минутын турш үйлчлүүлж парафингүйжүүлэв. Үүний дараа урвуу төвшрүүлэгтэй 100%-ийн этанол спиртээр 3 минутын турш 2 удаа, 99%, 96%, 90%, 80%-ийн этанол спиртээр 1 минутын турш тус тус бэхжүүлэв. Суурилаг гематоксилин будгаар 20 минутын турш будаж, урсгал усаар 10 минутын турш угааж будгийг тодруулав. Үүний дараа хүчиллэг эозиноор 10 минутын турш будаж, 96%-ийн этанол спиртэнд 1 минут, 99%, 100%-ийн этанол спиртийн өссөн төвшрүүлгийн дараалалаар тус бүр 5 минутын турш үйлчлүүлж будгийг арилгаж, ксилол (I, II)-ын уусмалаар тус бүр 5 минутын турш тунгалагжуулав. Бүрэн тунгалагжсан бэлдэц дээр бальзам (MX compound, Канад улс) дусааж бүрхүүл шилээр бүрхэж байнгын бэлдмэл бэлтгэлээ. Бэлдмэлийг гэрлийн бичил харуур (Nikon E-200, Япон улс)-ын өсгөлт (x100)-өөр шинжилж, аппарат (Nikon, Япон улс)-аар зураг авч баталгаажуулав [25, 26, 27].

авсан криптоспоридын ооцистыг BALB/c хулганад зориудын халдвар хийх эх материал болгон ашиглалаа.

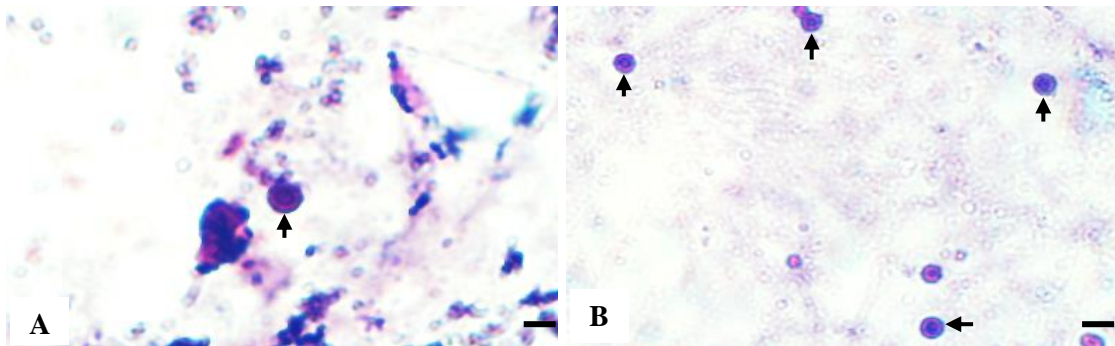


Figure 1. A- Detection *Cryptosporidium* spp. oocysts in the fecal specimen cattle (x100, carbol fuchsin, scale bar: 5µm), B- Purification *Cryptosporidium* spp., oocysts from fecal specimen cattle (x100, carbol fuchsin, scale bar: 5µm)

**2. Криптоспоридоор халдварлуулсан BALB/c хулгана.** Халдвар хийснээс хойш долоо хоногийн дараагаас эхлэн туршилтын бүлгийн

хулгануудын баасанд криптоспоридын ооцист илрэв.

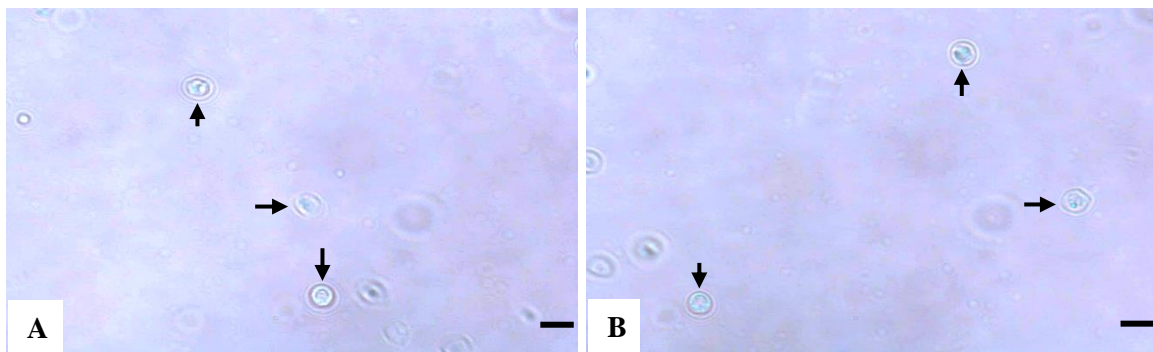


Figure 2. Purification *Cryptosporidium* spp. oocysts from feces mice of experimental trials (x100, PBS, scale bar: 5µm), A- *Cryptosporidium* spp. (Mongolia), B- *C. parvum* (Germany)

Table 2

Number of oocysts infected with *Cryptosporidium* spp. and *C. parvum* from feces mice in experimental trials

| <i>Cryptosporidium</i> spp. (Mongolia) | DPI                  | D0 | D7                  | D15                 | D30                 | M±m                       | T   | p      |
|--|----------------------|----|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------------|-----|--------|
|  | Number of oocysts/ml | -  | 6.4x10 <sup>5</sup> | 1.1x10 <sup>6</sup> | 1.4x10 <sup>6</sup> | 1.033±0.2x10 <sup>6</sup> | 5.1 | <0.025 |
| <i>C. parvum</i> (Germany)             |                      | -  | 8x10 <sup>5</sup>   | 9.6x10 <sup>5</sup> | 1.1x10 <sup>6</sup> | 0.9±0.05x10 <sup>6</sup>  | 18  | <0.001 |

**DPI**- Day Post inoculation; **D**- Day; **M**- Median; **m**- Standard error of median; **T**- Student's t-test; **p**-value

**3. Зориудын халдварын үед үүсэх эмгэг бүтцийн судалгаа.** Туршилт, хяналтын бүлгийн хулгануудыг туршилтын 30 дахь хоногт нядалж,

бичил бүтцийг харьцуулан судлахад туршилтын бүлгийн хулгануудын ходоод, нарийн гэдэсний ханын салст бүрхүүлийн эдүүд гэмтжээ.

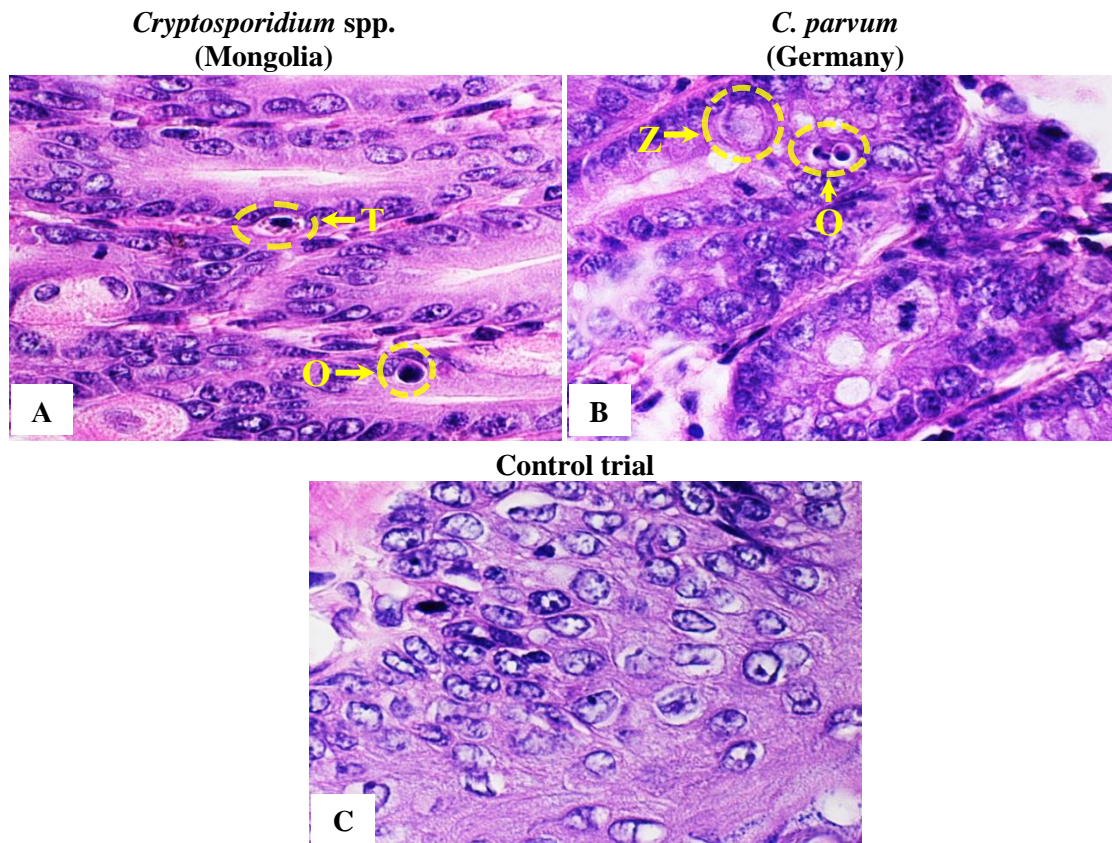


Figure 4. **A, B**- The endogenous developmental stage of *Cryptosporidium* spp. and *C. parvum* (highlighted with yellow circle and yellow arrow) affected submucosa epithelium in the small intestine wall (x100, HE) of experimental trials, **Z**- Zygote, **O**- extracellular oocyst, **Ma**- Macrogamont, **Mi**- Microgamont, **O**- Oocyst, **S**- Schizogene, **C**- Normal structure submucosa epithelium in the small intestine wall (x100, HE) of control trials

Туршилтын бүлгийн хулганы нарийн гэдэсний салст бүрхүүлд үр тогтсон зигот, бие гүйцсэн ооцистууд маш их хэмжээгээр түрж олширсон,

### Шүүн хэлэлцэхүй

*Cryptosporidium* spp. төрлийн эгэл биетэн зооноз эмгэг төрүүлэгч юм. Байгалийн халдвартай амьтдаас криптоспоридын ооцист ялган авч, үүсгэгчийн эмгэг төрүүлэх идэвхийг судлах нь ихээхэн ач холбогдолтой.

Үхэрт криптоспоридын халдварлалт өндөр байгаа нь хүнсний аюулгүй байдал, нийгмийн эрүүл мэндэд ихээхэн эрсдэл дагуулж байна. Сүүлийн жилүүдэд Улаанбаатар хот орчмын сүүний үхрийн аж ахуйн тоо эрс өссөн. Иймд малаас хүнд халдварладаг зооноз үүсгэгч шууд, шууд бус замаар дамжин тархаж болзошгүй [28]. Дэлхийн хөгжингүй улс оронд криптоспоридоор хурц туршилт хийсэн судалгаа нэлээдгүй байдаг. Тухайлбал:

*C. bovis* зүйлийг нялх тугал, хурга, BALB/c үүлдрийн гөлчгийнд зориудаар халдварлуулахад нялх тугаланд 6 өдрийн дараа баасанд ооцист

мөн хучуур эсүүд гэмтэж, криптоспоридын бэлгийн бус, бэлгийн хөгжлийн үе шат (Меронт I, II) тод илрэв.

илэрчээ. Харин нялх хурга, гөлчгийнд *C. bovis* зүйлийн ооцист огт илрээгүй [24]. *C. parvum* зүйлээр BALB/c үүлдрийн гөлчгий, нялх хурганд зориудын халдвар хийжээ [25].

Криптоспоридоор өндөр халдварлалттай тугалын баасны сорьцоос *C. parvum* зүйлийг цэврээр ялган авч, үүсгэгчийг  $1 \times 10^5$  ооцист/мл тунгаар Swiss albino үүлдрийн 40 толгой хулганад халдварлуулахад дунджаар  $4.8 \pm 0.83$  ооцист ялгарч, эмгэг бүтцийн ерөнхий өөрчлөлт, цутгалан гэдэсний салст бүрхүүлд үүсгэгчийн хөгжлийн үе шатууд нийт шинжилсэн сорьцын 80%-д илэрчээ [26]. *C. proliferans* зүйлээр лабораторийн мэрэгчдэд зориудын халдвар хийхэд ходоодны салст бүрхүүлийн булчирхайлаг эдийн давхаргын хучуур эсэд криптоспоридын бэлгийн бус, бэлгийн хөгжлийн янз бүрийн үе шат илэрчээ [27].

Бид энэхүү судалгаанд турж эцсэн, усархаг чацга алдсан үхрийн бааснаас криптоспоридын ооцистыг цэврээр ялган авлаа. Үүсгэгчийг сахарын ханасан уусмалаар цэвэршүүлэн авч,  $1 \times 10^7$  ооцист/мл өндөр тунгаар BALB/c хулганад халдвар хийв. Халдвар хийснээс хойш 7 хоногийн дараагаас эхлэн хулганы баасаар криптоспоридын ооцист ялгарч, туршилтын нийт хугацаанд дунджаар монгол дахь үүсгэгч  $1.033 \pm 0.2 \times 10^6$ , *S. parvum* зүйлийн  $0.9 \pm 0.05 \times 10^6$  ооцист/мл тоологдов. Хяналт, туршилтын бүлгийн хулганыг туршилтын 30 дахь хоногт нядалж эмгэг бүтцийн шинжилгээ хийхэд туршилтын бүлгийн хулгануудын ходоод, нарийн гэдэсний ханын хучуур эс гэмтэж, ооцист ихээхэн халдварлаж, криптоспоридын бэлгийн бус, бэлгийн хөгжлийн үе шатууд (Меронт I, II) илрэв.

Туршилтын бүлгийн хулганы ходоодны булчирхайлаг эдийн давхарга, нарийн гэдэсний бичил цэлмэнгийн ёроол хэсгээр криптоспоридын бэлгийн бус, бэлгийн хөгжлийн үе шатууд нэлээд тод илэрсэн. Харин криптоспоридын бие гүйцсэн ооцистууд ихэвчлэн ходоод, нарийн гэдэсний салст бүрхүүлийн үзүүр хэсэг, эсийн гадна илэрч байлаа.

### Дүгнэлт

Криптоспоридоор BALB/c үүлдрийн хулганад зориудын халдвар хийж туршив. Судалгаагаар монгол дахь криптоспоридын үүсгэгчийг *S. parvum* омогтой харьцуулахад туршилтын бүлгийн хулгануудад халдвар авсан малтай ижил шинж тэмдэг үзүүлж мөн халдварын хийсний дараах эхний долоо хоногт арьс, үс бүрзийж, долоо хоногийн дараагаас ялзмагтай, өмхий үнэртэй баас ялгарч байлаа. Туршилтын нийт

### Талархал

Судалгааны ажлыг гүйцэтгэхэд гүн туслалцаа үзүүлсэн Төв аймгийн Эрдэнэ сумын малчин, Мал эмнэлгийн хүрээлэнгийн Хачиг, шавж, эгэл биетэн судлал, Гельминт судлал, Эмгэг судлалын лабораториудын хамт олонд талархал илэрхийлье. Энэхүү судалгаанд ашигласан омгийг Германы Гиссений их сургуулийн

Бусад судлаачдын криптоспоридоор зориудын халдвар хийсэн судалгааны үр дүнгээс харахад ихэвчлэн  $1 \times 10^{5-7}$  тунгаар зориудын халдвар хийж туршсан байна.

Бидний үхрийн бааснаас цэвэршүүлэн авсан криптоспоридын  $2.2 \times 10^6$  ооцист/мл нь зориудын халдвар хийх бүрэн боломжтой хоруу чанар тийм ч бага биш юм.

Монгол дахь криптоспоридын үүсгэгчийг

*S. parvum* омогтой харьцуулж зориудын халдвар хийсэн бидний туршилтын үр дүнгээс харахад туршилтын бүлгийн хулгануудад илэрсэн эмгэг өөрчлөлтүүд адилхан байгаа нь энэ үүсгэгч криптоспорид мөн болохыг батлаж байна.

Цаашид энэхүү судалгааг өөр өөр үүлдрийн гөлчий болон нас гүйцсэн хулгана, нялх тугалд халдвар хийх өвчний загвар бий болгох, ямар эрхтнүүдэд тархан эмгэг үүсэх, үүсгэгчийн хоруу чанарыг судлах нь зүйтэй.

Бид уг судалгааны ажилдаа цэврээр ялган авсан криптоспориديوзын монгол дахь үүсгэгчийн хоруу чанарыг BALB/c хулганаар дамжуулан нэмэгдүүлэхийг зорилоо.

Цаашид үүсгэгчийн молекул биологи, удам зүйн хамаарлыг судлах зорилго тавин ажиллаж байна.

хугацаанд дунджаар монгол дахь криптоспоридын үүсгэгч  $1.033 \pm 0.2 \times 10^6$  ( $p < 0.025$ ), *S. parvum* зүйлийн  $0.9 \pm 0.05 \times 10^6$  ( $p < 0.001$ ) ооцист/мл тоологдов. Туршилтын бүлгийн хулгануудын ходоод, нарийн гэдэсний салст бүрхүүлд криптоспоридын бэлгийн бус ба бэлгийн хөгжлийн үе шат (Меронт I, II)-ууд тод илрэв.

Паразит судлалын лабораторийн профессор Carlos Hermosella өгөв. Уг судалгааны ажлыг БШУЯ-ны сайдын нэрэмжит “Докторын дараах судалгаанд сайдын нэрэмжит инновацийн тэтгэлэг” (ШуДд-2018/03)-ийн санхүүжилтээр гүйцэтгэлээ.


## Ашигласан бүтээлийн жагсаалт

- [1] R.Fayer, L.Xiao, “*Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis,” *Cryptosporidium Introduction*, Second Edition, CRC Press: Taylor & Francis Group, USA, 2008, pp. 174-250.
- [2] P.Karanis, C.Kourenti, and H.Smith, “Waterborne transmission of protozoan parasites: a review of world-wide outbreaks and lessons we learnt,” *Journal of Watery Health*, Vol. 5, pp. 1-38, 2006
- [3] I.A.Khalil, C.Troeger, P.C.Rao et al., “Morbidity, mortality, and long-term consequences associated with diarrhoea from *Cryptosporidium* infection in children younger than 5 years: a meta-analyses study,” *The Lancet Global Health*, Vol. 6, №7, pp. 758-768, 2018, DOI:[https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)3028](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)3028)
- [4] E.E.Tyzzar, “A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse,” *The Society for Experimental Biology and Medicine*, №5, pp. 12-13, 1907
- [5] D.Slavin, “*Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.),” *Journal of Comparative Pathology*, Vol. 65, pp. 262–266, 1955, [https://doi.org/10.1016/s0368-1742\(55\)80025-2](https://doi.org/10.1016/s0368-1742(55)80025-2)
- [6] R.J.Panciera, R.W.Thomassen, F.M.Garner, “Cryptosporidial infection in a calf”, *Veterinary Pathology*, Vol. 8, pp. 479–484, 1971
- [7] F.A.Nime, J.D.Burek, D.L.Page, M.A.Holscher, J.H.Yardley, “Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*,” *Gastroenterology*, Vol. 70, №4, pp. 592-8, 1976
- [8] J.L.Meisel, D.R.Perera, C.Meligro, C.E.Rubin, “Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in a immunosuppressed patient,” *Gastroenterology*, Vol. 70, №6, pp.1156-60, 1976
- [9] S.Mamedova, P.Karanis, “*Cryptosporidium* spp. infections in livestock and wild animals in Azerbaijan territory,” *Journal of Water and Health*, Vol. 9, № 4, 545, 2021, doi: 10.2166/wh.2021.050
- [10] K.Hatam-Nahavandi, E.Ahmadpour, D.Carmena, A.Spotin, B.Bangoura, L.Xiao, “*Cryptosporidium* infections in terrestrial ungulates with focus on livestock: a systematic review and meta-analysis,” *Parasites Vectors*, Vol. 12, №453, 2019, <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3704-4>
- [11] S.Thomson, Carly A. Hamilto, Jayne C. Hope, Frank Katter, Niel A. Mabbott, Liam J. Moriison, “Bovine Cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies,” *Veterinary Research*, 48:42, 2017, DOI 10.1186/s13567-017-0447-0
- [12] L.A.Trotz-Williams, W.Martin, D.Martin, T.Duffield, K.E.Leslie, D.V.Nydam, et al., “Multiattribute evaluation of two simple test for the detection of *Cryptosporidium parvum* in calf faeces,” *Veterinary Parasitology*, Vol. 134, pp. 15-23, 2005
- [13] Y.Feng, U.M.Ryan, L.Xiao L, “Genetic diversity and population structure of *Cryptosporidium*”, *Trends in Parasitology*, Vol.34, pp.997–1011, 2018
- [14] Г.Батцэцэг нар., “Криптоспоридиозыг тандан судалсан дүнгээс,” *МЭХ-ийн ЭШ бүтээл №8, УБ*, 2007, хуу. 80-83
- [15] В.Буренбаатар, А.Мохаммед Bakheit, Judit Plutzer, Naoyoshi Suzuki, Ikuo Igarashi, Jerry Ongerth, Panagiotis Karanis, “Prevalence and genotyping of *Cryptosporidium* species from farm animals in Mongolia,” *Parasitology Research*, 102(5):901-905, 2008, <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0847-6>
- [16] И.Хатанбаатар, Б.Бүрэнбаатар, Г.Батцэцэг, З.Батсүх, “Тугалын криптоспоридиоз оношилсон дүнгээс,” *Хүрэл тогоотын семинар-2007, УБ*, хуу. 11-17
- [17] И.Хатанбаатар, Б.Бямбаренчин, Б.Бүрэнбаатар, Г.Батцэцэг, “Тугалын криптоспоридиозын тандалт судалгааны дүнгээс,” *Д.Нармандах сангийн нэрэмжит эрдэм шинжилгээний 4-р бага хурлын эмхэтгэл, УБ*, 2016, хуу. 31-39
- [18] S.Huh, Y.Jae-Ran, K.Jong-II, G.Choijamts, J.Radnaabazar, and S.Jeong-Sun, “Intestinal protozoan infections and *Echinococcosis* in the inhabitants of Dornod and Selenge, Mongolia,” *Korean Journal of Parasitology*, Vol. 44, №2, pp. 171-174, June 2003
- [19] S.Hong, D.Anu, Y.Jeong, D.Abmed, Cho Shin-Hyeong, W.Lee, and S.Lee, “Molecular Characterization of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium parvum* in fecal samples of individuals in Mongolia,” *The American Society of Journal Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 90, №1, pp. 43-47, 2014, doi:10.4269/ajtmh.13-0271
- [20] Amber N.Barnes, Anu Davaasuren, Uyanga Baasandavga, Paul M.Lantos, Battsetseg Gonchigoo, Gregory C.Gray, “Zoonotic enteric parasites in Mongolian people, animals, and the environment: Using One Health to address shared pathogens,” *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 15(7): e0009543, July 8, 2021 <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009543>
- [21] J.Eckert, R.Braun, M.W.Shirley, P.Coudert, “Biotechnology Guidelines on techniques in coccidiosis research,” *European Commission, Directorate-General XII, Science, Research and Development, Environment research programme Cost 89/820, 1995 Europe 16602 en*



- [22] OIE Terrestrial Manual Chapter 3.9.4, “Cryptosporidiosis”, pp. 1678-1692, 2018
- [23] M.W.Dryden, P.A.Payne, R.Ridley, V.Smith, “Comparison of common fecal flotation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts,” *Veterinary Therapeutics*, Vol. 6, №1, pp.15–28, 2005
- [24] R.Fayer, M.Santin, and L.Xiao, “*Cryptosporidium bovis* n.sp.(Apicomplexa:Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*),” *Journal of Parasitology*, Vol. 91, №3, pp. 624-629, 2005
- [25] J.McLaunchlin, C.Amar, S.Pedraza-diaz, G.L.Nichols, “Molecular Epidemiological Analysis of *Cryptosporidium* spp. In the United Kingdom: Results of Genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1.705 Faecal Samples from Humans and 105 Faecal samples from Livestock Animals,” *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 380, №.11, pp. 3984-3990, 2000
- [26] A.G.Abdou, N.M.Harba, A.F.Afifi, N.F.Elnaidany, “Assessment of *Cryptosporidium parvum* infection in immunocompetent and immunocomprised mice and its role in triggering intestinal dysplasia,” *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 17, pp. 5293-600, 2013
- [27] A.Valigurova, R.Peckova, K.Dolezal, B.Sak, D.Kvetonova, M.Kvac, W.Nurcahyo, “Limitations in the screening of potentially anti-Cryptosporidial agents using rodents with gastric Cryptosporidiosis,” *Folia Parasitologica*, Vol. 65, №10, 2018, <https://doi.org/10.14411/fp.2018.010>
- [28] И.Хатанбаатар, У.Гажидмаа, “Криптоспоридиозыг оношлох рекомбинант бэлдмэл бэлтгэн үйлдвэрлэлд нэвтрүүлэх” сэдэвт төслийн тайлан, хуу. 4-8, УБ, 2020

## The results of experimental infection of *Cryptosporidium* spp. in BALB/c mice

Gajidmaa Ulammunkh<sup>1,2</sup>, Nyamdolgor Uranbileg<sup>1, 2</sup>, Uurtsaikh Zorigt<sup>1</sup>, Naranbaatar Khandsuren<sup>1</sup>, Bayarsaikhan Tsogtsaikhan<sup>1</sup>, Baatarjargal Purevdorj<sup>1</sup>, Boldbaatar Damdinsuren<sup>1</sup>, Khatanbaatar Igori<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup> Institute of Veterinary Medicine, Mongolian University of Life Sciences, Zaisan 17024, Ulaanbaatar, Mongolia

<sup>2</sup> Graduate school, Mongolian University of Life Sciences, Zaisan 17024, Ulaanbaatar, Mongolia

\*Corresponding author: [khatnaaigori@gmail.com](mailto:khatnaaigori@gmail.com)

 <https://orcid.org/0000-0003-0099-7595>

---

Received: 01.10.2021

Revised: 21.11.2021

Accepted: 31.12.2021

---

### Abstract

*Cryptosporidium* is a small protozoan parasite that infects the microvillous region of epithelial cells in the digestive and respiratory tract of vertebrates. It is an obligate intracellular parasite of man and other mammals, birds, reptiles and fish. We were purification *Cryptosporidium* spp. oocysts with saturated sugar solution from diarrhea cattle. And experimental infection use by control *C. parvum* (Germany) strain and *Cryptosporidium* spp. with oral  $1 \times 10^7$  oocyst/ml doses in per BALB/c mouse. Post inoculation detected *Cryptosporidium* oocysts within a week in the feces mice and counted average *Cryptosporidium* spp. (Mongolia)  $1.033 \pm 0.2 \times 10^6$  ( $p < 0.025$ ) and *C. parvum*  $0.9 \pm 0.05 \times 10^6$  ( $p < 0.001$ ) oocyst/ml each other period of the experiment. Mice from the control and experimental trials were slaughtered on the 30th day post inoculation and examination for pathology. Pathology examination, the asexual and sexual developmental stages of *Cryptosporidium* were evident in the gastric and small intestinal epithelium of the experimental mice, in oocysts, in the glandular layer of gastric submucosa, and in the microvillous of small intestinal wall submucosa. In the future, we will do focus of molecular biological and isolated Mongolian laboratory strain of *Cryptosporidium* spp..

**Keywords:** *C. parvum* strain, stool specimen, oocyst, cattle, hematoxylin and eosin stain, saturated sugar solution