

ХАЧИГТ ЭНЦЕФАЛИТИЙН ҮҮСГЭГЧИЙН СУДАЛГАА

Д.Эрдэнэчимэг, Б.Болдбаатар, Ё.Энхмандах, Ё.Мягмарсүх, Н.Оюунномин, Б.Пүрэвцэрэн

Мал эмнэлгийн хүрээлэн, Вирус судлалын лаборатори

И-мэйл: chimgee28@gmail.com

ХУРААНГУЙ

Энэхүү судалгааны ажлын зорилго нь Монгол оронд хачигт энцефалитийн ийлдэс судлалын тандан шинжилгээ хийх болон үүсгэгчийг *in vivo* аргаар ялган авч хэвишийг тодорхойлох байлаа. Зорилгын хүрээнд Хөвсгөл, Сэлэнгэ, Булган, Төв аймгийн 9 сумаас нийт 750 тооны адуу, үхэр, хонь, ямааны цусны ийлдэс цуглуулж тэдгээрээс санамсаргүй түүврийн аргаар 184 цусны ийлдсийг (адугаар 43, үхэр 41, хонь 44, ямаа 56) хачигт энцефалитийн эсрэг биометр илрүүлэх Өрсөлдөөнт Фермент холбоот эсрэгбиемийн урвал (Ө-ФХЭБУ) болон Вирус саармагжуулах (ВС) урвалаар шинжлэв. ФХЭБУ-ын урвалаар 17 эерэг дээжийг ВСУ-аар баталгаажуулан шинжлэхэд 17 дээж бүгд эерэг дүн үзүүлэв.

Мөн уг өвчний үүсгэгчийг илрүүлэх зорилгоор Сэлэнгэ аймгийн Ерөө сумын Бугант тосгоноос уг өвчний дамжуулагч *Ixodes persulcatus* зүйлийн хачиг түүж, багц болгон хуваав. Багцад хуваасан хачгийг ариутгасан фосфат буферийн (PBS) уусмалд хийн сайтар нухаж, цийдмэгийг хурилдуурдаж, дээд шингэнийг үхэр зусагны бөөрний (ВНК-21) эсийн өсгөвөрт халдаав. Эсийн эмгэгшилийг гэрлийн микроскопоор харж тодорхойлон, эмгэгшсэн эсийн вирус тун шингэнээс РНХ ялган авч, хачигт энцефалитийн хэвшил тодорхойлох праймер ашиглан шинжлэхэд Сибирийн хэвишийн вирус илэрсэн болно.

ТҮЛХҮҮР ҮГ: Хачигт энцефалит вирус, *Ixodes persulcatus*, үхэр зусагны бөөрний эсийн өсгөвөр (ВНК-21), өрсөлдөөнт фермент холбоот эсрэгбиемийн урвал (Ө-ФХЭБУ), вирус саармагжуулах урвал (ВСУ), эс эмгэгшүүлэх тун, Сибирийн хэвшил

ОРШИЛ

Хачигт энцефалит нь хүн, мал, амьтанд, тархи нугасны үрэвслээр илэрдэг халдварт өвчин юм [12]. Үүсгэгч нь *Flaviviridae* язгуурын *Flavivirus*-ийн төрөлд хамаарагдах эерэг, дан утаслаг РНХ агуулсан вирус юм. Вирус нь бүтцийн үндсэн 3 (С, М, Е), бүтцийн бус 7 уураг (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) агуулдаг байна [3,7]. Эдгээрээс бүтцийн Е уураг нь вирусийн эсэд нэвтрэн ороход гол үүрэг гүйцэтгэхээс

гаднавирус саармагжуулах эсрэгбием үүсгэдгээрээ оношилогооны ач холбогдолтой юм [10]. Уг өвчний вирусийг *Ixodes* төрлийн хачиг дамжуулдаг бөгөөд газар зүйн тархалт, хачгийн зүйл болон өвчний эмнэл зүйн шинж тэмдгээр Европ, Алс Дорнод болон Сибирийн гэсэн 3 үндсэн хэвшилд хуваагддаг [6,12]. Европийн орнуудад *Ixodes ricinus*, Алс Дорнод болон Сибирт *Ixodes persulcatus* төрлийн хачиг уг

өвчний вирусийг дамжуулдаг байна [1,3,8]. Манай орны Орхон, Сэлэнгийн сав нутгаар уг өвчнийг дамжуулагч *Ixodes persulcatus* төрлийн хачиг тархсан бөгөөд 3.4% нь хачигт энцефалит өвчний халдвар тээж байгааг олж илрүүлжээ [2]. Энэхүү хачиг нь вирусийг дамжуулаад зогсохгүй бас тээгч эзэн болдог онцлогтой юм [10]. Өвчин үүсгэгч вирус нь хачгаар дамжин хүн, мал, амьтанд халдварлах бөгөөд халдвар авсан мал, амьтад ямар нэгэн эмнэл зүйн шинж тэмдэггүйгээр далд хэлбэрээр өвчилж ийлдсийн шинжилгээгээр эерэг урвал өгдөг байна [6,13]. 2008 онд Монгол орны мал сүрэгт уг өвчний талаарх судалгаа шинжилгээний ажил хийгдэж

уг өвчнийг илрүүлэх зорилгоор оношлогоонд ФХЭБУ-ыг хэрэглэж байжээ. Харин олон улсын хэмжээнд Хүн, мал амьтны хачигт энцефалитийг оношлохдоо ФХЭБУ, ВСУ болон Урвуу Хувиргах Полимарезын Гинжин Урвал (УХ-ПГУ) ыг сонгон хэрэглэж байгаагийн дотор ийлдэс судлалд ФХЭБУ болон ВСУ-уудыг өргөн хэрэглэдэг байна [13,17,18]. Тиймээс бид мал, амьтны ийлдсэнд хачигт энцефалитийн үүсгэгчийн эсрэг бием илрүүлэх ийлдэс судлалын ФХЭБУ-ын шинжилгээний үр дүнг ВСУ-ыг ашиглан баталгаажуулахаас гадна ялган авсан үүсгэгчийн хэвшлийг молекул биологийн аргаар ялган тодорхойлохыг зорилоо.

СУДАЛГААНЫ ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН, АРГА ЗҮЙ

Вирус, эсийн өсгөвөр, молекул биологийн шинжилгээ

Эсийн өсгөвөр: Үхэр зусагны бөөрний эсийн (ВНК-21) өсгөвөрийг 7%-ийн үхрийн хээлийн ийлдэстэй MEM Игла (Nissui Pharmaceutical, Tokyo, Japan) орчинд 37°C-ийн дулаан тогтоогуур (5% CO₂)-т тавьж өсгөвөрлөв.

Вирус ялган авах: *Ixodes persulcatus* хачгийг 2013 оны 6-р сараас 7-р сарын хооронд Сэлэнгэ аймгийн Ерөө сумын Бугант тосгоноос түүв. Түүсэн хачгаа чийглэсэнхөвөн бүхий 50 мл-ийн тубэнд хийж шинжлэх хүртэл тасалгааны температурт хадгалав. Цуглуулсан нийт хачгийг цуглуулсан газар, хүйсэд тулгуурлан 5-20 ширхгээр нэг багц болгон ангилав. Багц болгон хуваасан хачгийг шаазан нухуурт нухаж, ариутгасан PBS-аас 1 мл-ийг нэмж цийдмэг бэлтгэв. Бэлтгэсэн цийдмэгийг 12.000 эргэлтийн хурдаар 10 минутын турш эргүүлж, ялгарсан шингэнийг жигд ургалттай ВНК-21 эсийн өсгөвөрт халдаан [16], эсийн эмгэгшлийг гэрлийн микроскоп (Nikon, JMS 10X, Japan)-оор харж тодорхойлов. Вирус бүхий эсийн шингэнээс РНХ ялган авч УХ-ПГУ-аар баталгаажуулав.

РНХ ялгах: Эсийн эмгэгшил үзүүлсэн эсийн өсгөврийн шингэн болон эсээс РНХ-г ялгах цомог (Qiagen RNA extraction kit, Germany) ашиглан үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу вирусийн РНХ-г ялгав. РНХ-г УХ-ПГУ-д ашиглах хүртэл -80°C -д хэмд хөлдөөж хадгалав.

Хэвшил өвөрмөц УХ-ПГУ (RT-PCR)

Ялган авсан РНХ-г AMV урвуухувиргах энзим (Promega, USA) болон Random Hexamer (Takara, Japan) праймер ашиглан cDNA болгон хувиргав. Дараа нь с DNA-г хачигт энцефалитийн хачигт

энцефалитийн хэвшлийг тодорхойлох зорилгоор Сибирийн хэвшил өвөрмөц (TBEV-E-f 5'-GGTTGCCGTTGTGTGGTTGAC-3' болон TBEV-E-g 5'-TTCCGGATAGTATGCGTAGTTG-3') хос праймерыг ашиглан УХ-ПГУ-аар шинжилж, үр дүнг уншив.

Вирусийн таньц тодорхойлох/TCID₅₀: Ялган авсан вирусийг 2%-ийн үхрийн хээлийн ийлдэстэй MEM Игла гэжээлт орчинд 10¹-10¹⁰ хүртэл шингэлж, урьдчилан ургуулсан ВНК-21 эсэд шингэлэлт тус бүрээс 100 мкл-г авч 5 үүрэнд хийж 37°C-ийн дулаан тогтоогуур (5% CO₂)-т тавьж, эсийн эмгэгшлийг 24, 48, 72, 96 цагуудад харж, үр дүнг Behrens-Karber-ын аргаар тооцоолов [4].

Ийлдэс судлалын шинжилгээ

Цусны дээж

2012 оны 7-8 сарын хооронд Хөвсгөл, Сэлэнгэ, Булган, Төв аймгийн 9 сумаас нийт 750 тооны адуу, үхэр, хонь, ямааны цусны дээж цуглуулсан ба эдгээр дээжнээс санамсаргүй түүврийн аргаар 184 дээж (адуу 43, үхэр 41, хонь 44, ямаа 56) – ийг сонгон авч ийлдэс судлалын шинжилгээнд ашиглав.

Өрсөлдөөнт Фермент холбоот эсрэгбиеийн урвал(ФХЭБУ):

Шинжилгээнд Чех улсын Тест-Лайне Клиникал Диагностик компанид үйлдэрлэсэн хачигт энцефалитийн эсрэг бием илрүүлэх Өрсөлдөөнт ФХЭБУ-ын цомог (EIA TBEV-Ig kit) ашиглав. Шинжилгээнд ашиглах ийлдсийг 56°C –д 30 минутын турш идэхгүйжүүлж урвалыгоношлуурын зааварт зааснаар сөрөг хяналтын OD-г /Дээжийн OD –д харьцуулсан дүнгээр эерэг (≥2.00), эргэлзээтэй (1.50-1.99) болон сөрөг (<1.50) үр дүнг тооцон дүгнэв.

Вирус саармагжуулах урвал (BCU): ВСУ-ыг тавихдаа ялган авсан вирусийн таньцыг 100TCID₅₀/0.1 мл болгон ашиглав. Шинжилгээнд ашиглаж буй вирусийн шингэлэлт 10^{-1.5}-10⁻³ TCID₅₀ хүртэл явагдаж байвал урвалын үр дүнг

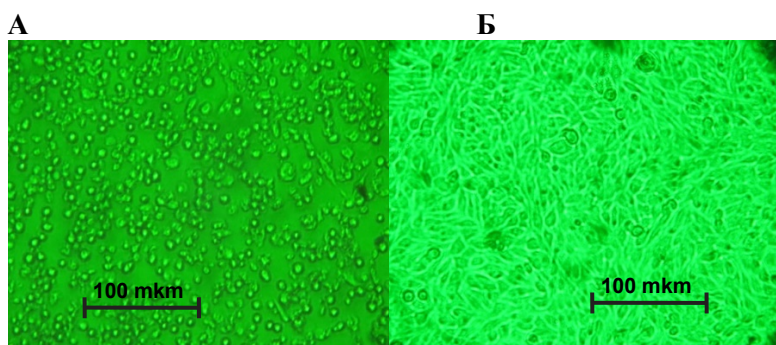
үнэн зөв гэж тооцдог зарчмыг баримтлав. ФХЭБУ-аар эерэг болон эргэлзээтэй дүнг үзүүлсэн ийлдсийг 1:2-1:64 хүртэл шингэлж 56°C-д 30 минутын турш идэхгүйжүүлсэн.

СУДАЛГААНЫ ҮР ДҮН

Вирус, эсийн өсгөвөр, молекул биологийн шинжилгээний үр дүн

Вирус ялган авсан дүн: Хачигт энцефалитийн вирусийг ВНК-21 эсэд халдаахад 96 цагийн дараа эсийг 80% орчим хувиар эмгэгшүүлж байлаа. Эсийн эмгэгшил үзүүлсэн болон эмгэгшил үзүүлээгүй эсийг гэрлийн микроскопоор тодорхойлсныг зураг 1-ээр харуулав.

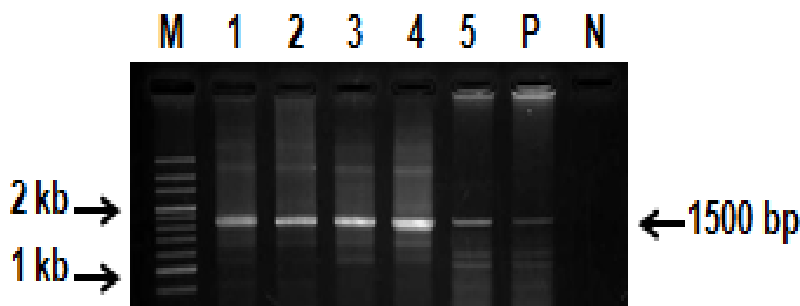
Эмгэгшсэн эс нь хачигт энцефалитийн үүсгэгч өвөрмөц эсийн эмгэгшил болох эсийн хэмжээ өөрчлөгдөж том жижиг болох, фибробласт эсийн зууван хэлбэр алдагдаж дугариг болох, эмгэгшсэн эсүүд савны хананаас бөөнөөрөө ховхорч тэжээлт орчинд сул хөвөх зэргээр эмгэгшиж байлаа. Хяналтын эсэд эдгээр шинжийн аль ч илрээгүй, бүх эс савны хананд наалдсан, эсийн зууван хэлбэр алдагдаагүй, эсүүд жигд хэмжээтэй байлаа.



1-р зураг. А. Эсийн эмгэгшил үүссэн үеийн зураг, Б. Хяналтын эсийн зураг

Хэвшил өвөрмөц УХ-ИГУ-ын үр дүн: Ялган авсан дээжнүүдэд хачигт энцефалитийн Сибирийн болон Алс Дорнодын хэвшил тодорхойлох

праймерууд ашиглан шинжлэхэд бүх дээжинд хачигт энцефалитийн Сибирийн хэвшил илэрч 1500 хос суурь олширсон байв (зураг 2).



2-р зураг. М- 200 bp маркер, 1-5 дээж, Р-эерэг хяналт (Vasilchenkoомог), N- сөрөг хяналт (ус), 1-5 бүх дээжүүд хачигт энцефалитын Сибирийн хэвшил илэрч 1500 хос суурь илэрсэн байна.

Вирусийн таньц тодорхойлсон дүн /TCID₅₀: Ялган авсан вирусийн таньцыг Behrens-Karber-ын аргаар тооцоолон бодоход эс эмгэгшүүлэх тун TCID₅₀ 10^{5.7}/0.1мл зэрэгтэй байв.

Ийлдэс судлалын шинжилгээний үр дүн

Ийлдэс судлалын үр дүн: Судалгаанд хамрагдсан нийт 184 ийлдэсний дээжнээс хачигт энцефалит өвчний үүсгэгч өвөрмөц эсрэг бием илрүүлэх өрсөлдөөнт ФХЭБУ-аар 17 дээж эерэг дүнг тус тус үзүүлэв. Эдгээр эерэг баталгаажуулах

зорилгоор ВСУ-аар шинжлэхэд ФХЭБУ-аар эерэг дүн үзүүлсэн 17 дээж ВСУ-аар мөн адил эерэг дүн үзүүлж байсан бөгөөд эсрэгбиеийн таньц 1:8-1:32 хүртэл харьцаатай байв. ФХЭБУ болон ВСУ-аар эерэг дүн үзүүлсэн дээжийг аймаг, малын төрөл болон эсрэгбиеийн таньцыг харуулсныг хүснэгт 1-А-гаар үзүүлэв.

Тоон үзүүлэлт: Т.С.Сайдулдины арга [11] зүйн дагуу тоон боловсруулалт хийж ФХЭБУ болон ВСУ-уудын хоорондын хамааралыг ийлдэс судлалын шинжилгээний үзүүлэлтийг ашиглан тооцон бодоход эдгээрийн хоорондын хамаарал $p \leq 0.05$ байв.

Хүснэгт 1-А

Хачигт энцефалит өвчний үүсгэгч өвөрмөц эсрэг бием илрүүлэх ФХЭБУ болон ВСУ урвалын дүн

Шинжилсэн дээжний дугаар	Аймаг	Төрөл	ФХЭБУ-ын дүн	ВСУ-ын дүн/таньц	Шинжилсэн дээжний дугаар	Аймаг	Төрөл	ФХЭБУ-ын дүн	ВСУ-ын дүн/таньц
1	Сэлэнгэ	адуу	+	1:8	11	Төв	ямаа	+	1:8
2	Сэлэнгэ	үхэр	+	1:16	12	Хөвсгөл	адуу	+	1:8
3	Сэлэнгэ	хонь	+	1:32	13	Хөвсгөл	адуу	+	1:8
4	Сэлэнгэ	хонь	+	1:8	14	Хөвсгөл	адуу	+	1:8
5	Сэлэнгэ	ямаа	+	1:32	15	Хөвсгөл	үхэр	+	1:8
6	Сэлэнгэ	ямаа	+	1:4	16	Хөвсгөл	үхэр	+	1:8
7	Сэлэнгэ	ямаа	+	1:4	17	Хөвсгөл	хонь	+	1:16
8	Төв	адуу	+	1:16		Хяналтын + ийлдэс		+	1:64
9	Төв	хонь	+	1:8		Хяналтын - ийлдэс		-	сөрөг
10	Төв	ямаа	+	1:32					

+ = эерэг

- = сөрөг

Хяналтын+ ийлдэс = ФХЭБУ-ын цомгийн эерэг ийлдэс

Хяналтын - ийлдэс = ФХЭБУ-ын цомгийн сөрөг ийлдэс

Хүснэгт 1-Б

Вирус саармагжуулах урвалд ашигласан вирусийн хяналтын шингэлэлт

Вирусийн шингэлэлт					Вирусийн таньц
10^0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	$10^{-1.5}$
+	+	-	-	-	
100	10	1	0.1	0.01	
TCID ₅₀	TCID ₅₀	TCID ₅₀	TCID ₅₀	TCID ₅₀	

ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

Монгол оронд хачигт энцефалит өвчний вирусийн судалгааг Оросын эрдэмтэн Б.А.Краминский 1979 онд явуулан Дорнод аймгаас агнасан тарваганы элэгнээс уг өвчний вирусийг анх удаа ялган авчээ. Мөн Хангай, Хэнтий нурууны ой тайгад байнга оршин суудаг зарим иргэдийн цусны ийлдсийг шинжлэхэд

хачигт энцефалитийн вирусийн эсрэг бием 9.5%-д илэрч байсан [2]. Хачигт энцефалитийг дамжуулагч хачиг (*Ixodes persulcatus*) нь Сэлэнгэ, Булган, Орхон, Төв, Хэнтий, Хөвсгөл аймгуудад тархалттай байна [2]. Мөн С.Сугир нарын судалгааны үр дүнд Сэлэнгэ, Булган, Дорнод аймгийн адуу, үхэр, хонь, ямаан сүрэгт

ийлдэс судлалын шинжилгээгээр хачигт энцефалитийн халдвар өндөр байгааг тэмдэглэсэн байдаг [5]. Бидний судалгаагаар хачигт энцефалит өвчний вирусийг ялган авч мөн ийлдсийн шинжилгээгээр гарсан үр дүнгүүд дээрх судлаачдын үр дүнтэй тохирч байна.

Бид хачигт энцефалит өвчний үүсгэгч гарган авахын тулд судлаач Tsutomu, T. нарын [17] ВНК-21 шугаман эсэд эмгэгт дээжийг халдаах арга зүйг ашигласан бөгөөд бидний үр дүн уг судалгааны үр дүнтэй дүйцэж байна. Вирусийн эерэг хяналтыг 100 TCID₅₀/0.1мл-ээс 0.01 TCID₅₀/0.1мл хүртэл шингэлэн эсэд халдаахад эсийн эмгэгшил 100 TCID₅₀/0.1мл болон 10 TCID₅₀/0.1мл-д илэрч 10^{-1.5} TCID₅₀/0.1мл-тэй байгаа нь Brain. W. J [4] болон Дэлхийн эрүүл мэндийн байгууллагын гаргасан Мал, амьтны томуу өвчний оношлогоо [19] зэрэг сурах бичигт заасны дагуу вирусийн таньц 10^{-1.5}-10⁻³TCID₅₀/0.1мл байвал вирус саармагжуулах урвалыг үнэнд тооцно гэсэн мэдээлэлтэй дүйцэж байна (Хүснэгт 1 Б).

Бидний судалгааны ажлын дүнд нийт 184 ийлдэсний дээж хамрагдсан бөгөөд эдгээрээс хачигт энцефалит өвчний үүсгэгч өвөрмөц эсрэг биом илрүүлэх өрсөлдөөнт ФХЭБУ-аар 17 дээж эерэг дүнг үзүүлэв. Бөөрсдийн гарган авсан антигенийг вирус саармагжуулах урвалд ашиглах зорилгоор ФХЭБУ-аар эерэг 17 дээжийг ВСУ-аар шинжлэхэд ФХЭБУ-аар эерэг дүн үзүүлсэн 17 дээж ВСУ-аар мөн адил эерэг дүн үзүүлж байв.. Үүнээс харахад вирус саармагжуулах урвал нь ийлдсэнд агуулагдаж байгаа

саармагжуулах эсрэг биомийн хэмжээг илэрхийлж чаддаг мэдрэг чанар өндөртэй урвал гэдэг нь судалгааны үр дүнгээс харагдаж байна. Тиймээс ВСУ-ыг ийлдэс судлалд өргөн хэрэглэж, мэдрэг чанар нь ФХЭБУ-аас өндөр байдгийг дурдсан судлаачдын [17,18] саналтай нийцэж байна. Дээрх ийлдэс судлалын үр дүнгүүд бидний ялган авсан хачигт энцефалитийн вирусийг ийлдэс судлалын арга болох вирус саармагжуулах урвалд оношлогооны чиглэлээр ашиглахад боломжтой гэдгийг нотолж байна.

Харин хачигт энцефалитийн дамжуулагч хачгийг цуглуулан шинжилж, хэвшлийг тодорхойлсон дүнгээс харахад уг өвчний үүсгэгчээр *Ixodes persulcatus* зүйлийн хачиг халдварласан байгаа нь Ж.Батаа нарын [11] сэлэнгэ аймагт уг өвчний үүсгэгчийн халдвар байна гэсэн судалгааны ажлын үр дүнтэй нийцэж байна. Энэ нь *Ixodes persulcatus* зүйлийн хачиг Алс Дорнод болон Сибирийн хачигт энцефалитийн үүсгэгчийг дамжуулж, Зүүн Европ болон Ази тивд тархсан байна [13] гэсэн судалгаатай тохирч байв.

Хачигт энцефалитийн үүсгэгч нь 3 хэвшилд [2,6] хуваагддаг бөгөөд бидний илрүүлээд байгаа үүсгэгчид Сибирийн хэвшилд хамаарагдаж байгаа нь харагдаж байна. Знээс харахад манай оронд Сибирийн хэвшил байна гэсэн Степан, Прее нарын судалгаатай [6,3] дүйцэж байна. Бид гарган авсан үр дүнгээ цаашид дэлгэрэнгүй судалгаа хийх болно.

ДҮГНЭЛТ

1. Ийлдэс судлалын шинжилгээний дүнгээс үзэхэд манай орны Орхон, Сэлэнгийн сав нутагт хамаарах Хөвсгөл, Сэлэнгэ, Төв аймгуудын мал сүрэг (адуу 11,6%, үхэр 7,3%, хонь 9%, ямаа 12,5%) хачигт энцефалитийн халдварлалттай байна.
2. Ийлдэс судлалын шинжилгээний дүнгээр ВСУ илүү мэдрэг болох нь батлагдаж байна.
3. Хачигт энцефалит өвчний үүсгэгчийг Монгол оронд анх удаа *in vivo* аргаар ялган авч, молекул биологийн (УХ-ПГУ) аргаар баталгаажуулав.
4. Ялган авсан үүсгэгч хачигт энцефалитийн Сибирийн хэвшилд хамаарагдаж байна.

АШИГЛАСАН ХЭВЛЭЛ

1. Абмэд, Д., Хаснатинов, М.А., нар. 2010. Монголд ялгасан хачигт энцефалитийн вирусийн омгуудын шинжүүд. Халдварт өвчин судлалын Монголын сэтгүүл.6 (37). 20-21
2. Батаа, Ж., Абмэд, Д., 2007. Хачигт халдвар. Сурах бичиг. 20-25
3. Benjamin, J.B., Barry Alkinson, D.M., et al. 2011. Tick-Borne Encephalitis Virus, Kyrgyzstan. J. Emerg. Infect. Dis. 10, 876-879
4. Brain, W.J. and Hiilar, O.K. 1996. Virology

- Methods Manual. 37-43
5. Сугир, С., Базаррагчаа, Э., нар. 2010. Малын хачигт энцефалитийн тандах шинжилгээний дүн. “Оношлох эрдэм дэвшилт арга” илтгэлийн хураангуй. 63-67
 6. Cisak, E., Wojcik-Fatla, A., et al. 2010. Prevalence of tick-borne encephalitis virus (TBEV) in samples of raw milk taken randomly from cows, goats and sheep in eastern Poland. Polish Journal of Chemical Technology. 17, 283-286
 7. Daisuke, H., Leonid, I., et al. 2001. Distribution and characterization of tick-borne encephalitis viruses from Siberia and far-eastern Asia. J. Gener. Virol. 82, 1319-1328
 8. Frey, S., Mossbrugger, I., et al. 2012. Isolation, preliminary characterization, and full-genome analyses of tick-borne encephalitis virus from Mongolia. J. Virus Genes. 45, 413-425
 9. Хаснатиов, М.А., Данчинова, Г.А. 2012. Вирус клушевого энцефалита в Монголии. Сибирский медицинский журнал. 4, 9-12
 10. Labuda, M., Nuttall, P.A., 2004. Tick-borne viruses. J. Parasitology. 53, 221-240
 11. Пүрэвжав, Ж. 2004. Авсаархан амин хэмжилзүй. Гарын авлага. 26-40
 12. Sungjin, Ko., Jun-Gu-Kang, et al. 2010. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in ticks from southern Korea. J. Vet.Sci., 11, 197-203
 13. Sikutova, S., Hornok, S., et al. 2009. Serological survey of domestic animals for tick-borne encephalitis and Bhanja viruses in northeastern Hungary. J. Vet. Microbiol. 135, 267-271
 14. Shinya, Sh., 2004. Routes of Administration Procedures. Manual of Laboratory Mouse., National Institute of Animal Health, Tsukuba, Japan. 32, 527-541
 15. Takashima, I., Morita, K., et al. 1997. A case of tick-borne encephalitis in Japan and isolation of the virus. J. Clin. Microbiol. 35, 1943-1947
 16. Ryan, J., Melissa, A., et al. 2013. Isolation of deer tick virus (Powassan virus, Lineage II) from *Ixodes scapularis* and detection of antibody in vertebrate hosts sampled in the Hudson Valley, New York State. J. Parasites and Vectors. 6. 185-196
 17. Tsutomu, T., Takuya, I., et al. 1999. Isolation of tick-borne encephalitis virus from wild rodent and a seroepizootologic survey in Hokkaido, Japan. J. Am. Society of Tropical Medicine and Hygiene. 60(2), 287-291
 18. Vanessa Suin. 2012. The activities of the TBEV National Reference Center. Manuel
 19. WorldHealthOrganization. 2002. Manual on animal influenza diagnosis and surveillance. 2nd edition, 48-52

ABSTRACT

The goal of this study was to conduct serosurveillance of TBEV in Mongolia, isolate TBEV by in vivo method and determine subtypes of TBEV. Blood sera were collected from 750 domestic animals in Khuvsgul, Selenge, Bulgan and Tuv province in 2012. After the collection, a total of 184 sera were (horse 43, cattle 41, sheep 44, goat 56) randomly chosen and tested for antibodies of tick-borne encephalitis virus (TBEV) by C-ELISA and virus neutralization (VN) test.

The C-ELISA results showed that 17 serum positive. All these 17 positive serum samples were checked with VN test in order to confirm C-ELISA result. The result of VN test showed all serum samples were positive.

In order to detect of TBEV in Mongolia, Ixodes persulcatus ticks were collected from Eruu sum, Selenge and categorized into pools. Each pool was suspended with sterilized PBS and homogenized with sterile mortar and pestle. The homogenate was centrifuged and the collected supernatant was inoculated into baby hamster kidney (BHK-21) cell line. Cytopathic effect (CPE) in cell line was observed by light microscopy daily. RNA was extracted from supernatant of cell with CPE and confirmed by RT-PCR using specific primer for Siberian subtype. The present results were indicated that TBEV in Mongolia was belonged to the Siberian subtype.