

Рентген цацраг, хэт ягаан туяагаар бактерийн ургалт идэвхгүйжүүлсэн дүн

Б. Лхам¹, Ц. Амартайван^{2*}, Ж. Энхтуяа¹, Ц. Батболд¹, Н. Энхцэцэг¹, В. Батбаатар¹

¹ Мал эмнэлгийн хүрээлэн

² Физикийн тэнхим, Шинжлэх Ухааны Сургууль, Монгол Улсын Их сургууль

Энэхүү судалгаанд RS1800 Q4 рентген шарах төхөөрөмжийн ажлын горимыг тогтоохыг зорилгоо. Үүний тулд рентген шарах төхөөрөмжөөс гадна үр дүнг харьцуулах зорилгоор LF-104.S хэт ягаан туяаны үүсгүүр ашиглан ийм төрлийн судалгаанд түгээмэл хэрэглэдэг *E. coli* бактерийн ургалтыг идэвхгүйжүүлэв. Цацрагийн үүсгүүрүүдийн шарлагын тунг хэмжих, горим тогтоох, эмгэг төрүүлэгч бактерийн өсгөврийг ионжуулагч цацрагаар шарж, идэвхгүйжүүлэх тунг тодорхойлох, цацрагаар шарсны дараа эмгэг төрүүлэгч бактерийн метаболизмын идэвхийг шалгах, үр дүнд дүн шинжилгээ хийж дүгнэлт гаргах зорилгуудыг тавин ажиллалаа. Судалгааны үр дүнд RS1800 Q4 рентген шарах төхөөрөмжийн хувьд шарлагын тунгийн чадал 43.5 ± 1.2 Гр/мин (60 мм), LF-104.S хэт ягаан туяаны үүсгүүрийн хувьд шарлагын тунг 0.76 ± 0.04 мЖ/см² (95 мм) болохыг тодорхойлов. Мөн *E. coli* BL-21 бактерийн тоог 10% хүртэл бууруулах рентген цацрагийн тун 128 ± 11 Гр, хэт ягаан туяаны тун 3.7 ± 0.12 мЖ/см² байв. *E. coli* BL-21 бактерийн хувьд рентген цацрагаар үйлчилсний дараа метаболизмын идэвхийг Аламар цэнхэр тестээр чанарын анализ хийхэд эерэг дүн үзүүлснээр цаашид энэ арга зүйгээр бактери идэвхгүйжүүлэх бүрэн боломжтой болохыг харуулав.

Түлхүүр үг: бактерийг идэвхгүйжүүлэх, *E-coli*, рентген цацраг, хэт ягаан туяа шарлагын тун

I. ОРШИЛ

Монгол улсын малын тоо толгой 2018 гэж бүртгэгджээ. Малын мах сүү, цагаан идээг хүнсэндээ түлхүү ашигладаг манай орны хувьд малын өвчнөөс сэргийлэх нь хүн амын эрүүл мэндтэй шууд холбогдоно. Мөн онд нийтдээ 1025 удаа малын халдварт өвчин дэгдэж 8000 гаруй мал өвчилжээ [1]. Хэдийгээр халдварт өвчний эсрэг вакцинжуулалт хийгддэг боловч вакцины хүрэлцээ муу, үйлдвэрлэх технологи хоцрогдож байгаа нь халдвар өвчин байнга дэгдэж байгаагийн нэг шалтгаан гэж үзэж болох юм.

Вакцин гэдэг нь халдварт өвчин үүсгэгч бичил биетний хоруу чанарыг сулруулах эсвэл уг бичил биетнийг үхүүлж дархлал тогтоох чадварыг нь хадгалан гаргаж авсан хими-биологийн идэвхит бэлдмэлийг хэлнэ. Амьд, үхүүлсэн, химийн, рекомбинант зэрэг вакцины төрлүүд байдаг.

Хими, генийн инженерчлэл, дулааны арга зэрэг вакцин хийхэд эмгэг төрүүлэгчийг идэвхгүйжүүлэх олон арга байдаг хэдий ч цөмийн цацрагаар идэвхгүйжүүлсэн вакцины эсрэгтөрөгч нь *in vitro* болон *in vivo* орчинд

үржих, эмгэг төрүүлэх чадваргүй боловч бодисын солилцоо, биохимийн идэвх, эсийн гадаргуугийн уураг болон бусад бүрэлдэхүүн, бүтэц нь бүрэн хадгалагдсан, богино хугацаанд өндөр идэвх бүхий дархлаа төрүүлэх чадвартай болон хадгалалтын онцгой горим шаардахгүй зэрэг давуу талуудтай [2].

2019 оны сүүлээр Олон Улсын Атомын Энергийн агентлагийн санхүүжилттэй техникийн төслийн хүрээнд Мал эмнэлгийн хүрээлэнд RS1800Q4 төрлийн рентген цацрагаар шарах төхөөрөмж Монголд анх удаагаа суурилуулагдан ашиглахад бэлэн болоод байна. Монгол улсын хэмжээнд судалгааны чиглэлээр хэрэглэгдэж буй ганц ионжуулагч цацрагийн үүсгүүр болсон рентген шарах төхөөрөмжийн хувьд шарлагын тунг үнэн зөв тогтоох нь цаашид хийх бүх судалгааны ажилын итгэл үнэмшлийг нэмэгдүүлэх үндэс суурь болно. Тиймээс бид энэхүү ажлаараа рентген шарах төхөөрөмжийн вакцин үйлдвэрлэхэд бактери шарах ажлын горимыг тогтоохыг зорилго. Ажлын үр дүнд өвчин үүсгэгчтэй ажиллах арга зүйг тодорхойлох, багажийн үйл ажиллагааг тогтворжуулж, цацрагаар шарсан вакцин

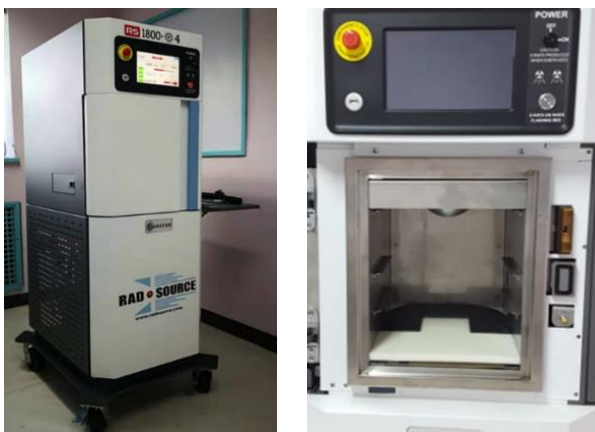
* Electronic address: amartaivan@num.edu.mn

бүтээхэд шаардлагатай бэлтгэл ажил хангагдах юм.

II. ХЭМЖИЛТИЙН АРГА ЗҮЙ

II.1 Шарах төхөөрөмж

Рентген шарах төхөөрөмж нь RS1800 Q4 нь 2019 онд АНУ-ын Рад Сорс Технологи (Rad Source Technologies) компанид үйлдвэр-лэгдсэн. 160 кэВ хүртэл полихромат рентген цацрагаар шардаг. Үйлдвэрээс ирүүлсэн тодорхойлолтын дагуу тунгийн чадал нь 65 кГр/мин бөгөөд шарах хэсгийг хар тугалган хаалтаар хамгаалсан. (Зураг 1). Дээжийг рентген хоолойноос 95 мм, 195 мм-ийн зайд дээжийг шарахаар тохируулагдсан.



Зураг 1. RS1800Q4 рентген шарах төхөөрөмж. Зүүн тал: Ерөнхий байдал. Баруун дээд талд: удирдлагын хэсэг, баруун доод талд дээж шарах хэсэг.

Хэт ягаан туяаны үүсгүүр нь мөнгөн усны 254 нм монохроматик туяаг цацруулдаг. Цацаргалтын чадал нь 8 Вт бөгөөд UVТес компанид үйлдвэрлэсэн LF-104.S загварын цацрагийн үүсгүүр юм.

II.2 Тунгийн чадлыг тодорхойлох

Рентген шарах төхөөрөмжийн шарах хэсэг дэх тунгийн чадлыг 10X6-0.6 ион камер бүхий Аккудоз (Accu-dose+) дозиметр [3], хэт ягаан туяагаар шарах үеийн гэрлийн эрчмийг (Вт/см²) VLX-3.W радиометр ашиглав [4]. Үүсгүүрээс шарах дээж хүртэлх 2-3 түвшинд хэмжилтийг гүйцэтгэв.

II.3 Дээж бэлтгэх

Бактери өсгөвөрлөх

E. coli BL-21 омгийг LB агаг тэжээлийн орчинд колони салгах аргаар тарьж, бактерийг 18 цаг

тогтмол 37°C-т өсгөвөрлөв. LB агаг тэжээлийн орчинд ургуулсан өсгөвөрөөс нэг колони сонгон авч 4 мл LB broth тэжээлийн орчинд суулган 37°C-т экспоненциал фаз хүртэл өсгөвөрлөв. Өсгөврийг Грамын аргаар цэвэр эсэхийг шалгасан. 4 мл бактерийн өсгөврийг 5000 эрг/с хурдтайгаар 5 минут центрифугээр эргүүлж ялав. Тунадсыг 4 мкл 1X РВ-ийн уусмалд шингэлэн уусгав. Шингэлсэн бактерийг 500 мкл хэмжээтэйгээр ариун саванд савлаж шарахад бэлэн болгов.

Бактерийг шарах

500 мкл-ээр савласан бактерийг рентген цацрагийн үүсгүүрээс 60 мм зайд 100-6000 Гр хүртэл 12 ялгаатай тунгаар тус тус шарав. Шарлага дуусмагц дээжийг 4°C-т хадгалав.

Бактерийн ургалтыг шалгах

Цацрагаар шарсан болон хяналт болгон авсан цацрагаар шараагүй бактерийн өсгөврүүдийг 10⁻⁷ дахин сулруулахаар дараалсан аравтын шингэлэлт хийв. 10⁻⁵-10⁻⁷ шингэлэлт тус бүрээс 200 мкл авч LB агаг тэжээлт орчинд суулгав. LB агаг тэжээлт орчинд тарьсан бактерийг 18 цагийн турш 37°C-т өсгөвөрлөв. Колони тоолж бактерийн 1 мл шингэн тэжээлт орчинд колони үүсгэх нэгж буюу CFU (colony forming unit)-ийг тодорхойлов.

II.4 Бактерийн метаболизмын идэвхийг шалгах

Цацрагаар шарсан болон шараагүй, мөн дулаанаар үйлчилсэн бактерийн өсгөврүүдийг тус бүр 108, 109, 1010 CFU/ml агуулгатай бэлдэнэ. 96 үүртэй хавтанд 100 Гр, 300 Гр, 600 Гр, 1200 Гр, 1800 Гр, 2100 Гр, 2400 Гр тунгаар шарсан бактерийн өсгөврүүдээс тус тус 50 мкл хийж 100°C-ийн температурт 20 минутын турш халаан бактерийг сөрөг хяналт, хэвийн ургалттай өсгөврийг эерэг хяналт болгон ашиглав. Бактерийн өсгөвөр бүр дээр 125 мкл LB шөл нэмж хийв. LB шөл болон бактерийн өсгөврийн холимог дээр 20 мкл хэмжээтэй 10%-ийн Аламар цэнхэр уусмалыг нэмсний дараа хавтанг сэгсрэгч дээр сайтар холив. Туршилтын хавтанг таглаж, 37°C температурт 4 цагийн турш термостатад тавьсны дараа үр дүнг шалгав.

III. ҮР ДҮН, ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

Тунгийн чадлыг хэмжсэн дүн

Рентген шарах төхөөрөмжийн шарлагын тунгийн чадлыг цацрагийн үүсгүүрээс 60 мм, 140 мм, 220 мм зайд 10X6-0.6 ион камер бүхий Аккудоз (Accu-dose+) дозиметрээр тунгийн чадал хэмжсэн дүнг Хүснэгт 1-д үзүүлэв.

Рентген хоолойноос 220 мм зайд ион камерын сенсорыг байрлуулж тунгийн чадлыг хэмжихэд дунджаар 11.7 Гр/мин, 140 мм зайд 17.4 Гр/мин, 60 мм зайд 43.5 Гр/мин тус тус болохыг тогтоов. Цацрагийн тун зайнаас хүчтэй хамаардаг учраас шарах дээжийг рентген хоолойд хамгийн ойр буюу 60 мм зайд шарлага явуулах нь хамгийн тохиромжтой. Дээжийн овор хэмжээнээс хамаарч рентген хоолойноос 140 мм, 220 мм зайд дээж байрлуулж шарлага гүйцэтгэж болно.

Хүснэгт 1. RS1800 Q4 рентген шарах төхөөрөмжийн тунгийн чадал (Гр/мин).

| зай | 60 мм | 140 мм | 220 мм |
|-----|-------------------|-------------------|-------------------|
| 1 | 43.2 | 17.5 | 11.8 |
| 2 | 43.5 | 17.4 | 11.6 |
| 3 | 43.8 | 17.2 | 11.6 |
| | 43.5 ± 0.3 | 17.4 ± 0.2 | 11.7 ± 0.1 |

Хэт ягаан туяаны үүсгүүрийн шарлагын тунг цацрагийн үүсгүүрээс 95 мм, 190 мм зайд 254 нм-ийн сенсортой VLX-3.W радиометрээр цацрагийн эрчмийг хэмжсэн үр дүнг Хүснэгт 2-д үзүүлэв.

Хүснэгт 2. Хэт ягаан туяаны үүсгүүрээс VLX-3.W радиометрээр цацрагийн эрчмийг хэмжсэн дүн (Вт/см²).

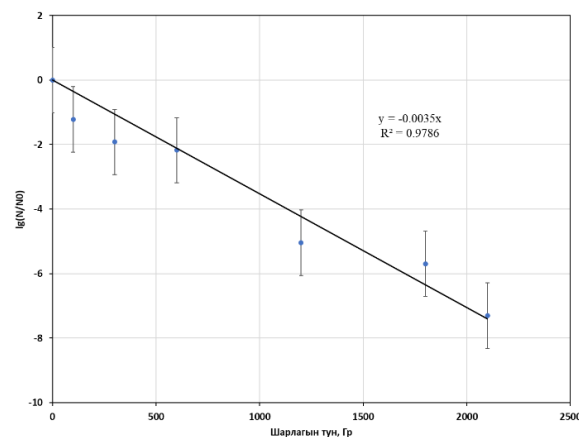
| зай | 95 мм | 190 мм |
|-----|--------------------|--------------------|
| 1 | 0.756 | 0.224 |
| 2 | 0.756 | 0.224 |
| 3 | 0.755 | 0.213 |
| | 0.76 ± 0.04 | 0.21 ± 0.01 |

Хэт ягаан туяаны үүсгүүрээс 190 мм зайд багажийн мэдрэгч хэсгийг байрлуулж тунгийн цацрагийн эрчмийг хамжихэд 0.21 Вт/см², 95 мм зайд 0.76 Вт/см² болохыг тогтоов. Цацрагийн үүсгүүрээс сенсор хүртэлх зай 2 дахин холдоход тунгийн чадал ойролцоогоор 4 дахин буурч байна. Энэ харьцаа нь хэмжилтийн үнэмшлийг нэмэгдүүлж байна. Мөн үүсгүүрээс 95 мм зайд шарах нь боломжит өндөр тунд харгалзаж байна.

Бактерийн ургалтыг шалгасан дүн

Рентген цацрагаар шарсан үед

E. coli BL-21 бактерийг рентген цацрагийн 100-6000 Гр хүртэл 11 ялгаатай тунгаар шарсны дараа аравтын шингэрүүлэлт хийн, хатуу тэжээлт орчинд суулгалт хийх замаар колони тоолж, бактерийн ургалтыг шалгав. Рентген цацрагийн нөлөөгөөр бактерийн тоо хэрхэн буурч байгааг зураг 2-т харуулав.



Зураг 2. Бактерийн харьцангуй ургалт шарсан тунгаас хамаарах хамаарал. Босоо тэнхлэг дагуу Шарсан бактерийн ургалтын тоог хяналтын бактерийн ургалтын тоотой харьцуулсан харьцааны логарифм утга. Хэвтээ тэнхлэг дагуу бактерийг рентген цацрагаар шарсан тун. Гр нэгжээр. Хамаарлын шулуун тэгшитгэл болон регрессийн коэффициентийг харуулсан.

E. coli BL-21 бактерийн 108 CFU/ml ургалттай үед RS1800 Q4 загварын рентген шарах төхөөрөмжийн 2400 Гр-ээс дээш тунгаар үйлчлэхэд бактерийн ургалт зогсож байна. Туршлагын үр дүнгээс Бактерийн харьцангуй ургалтын логарифм утга нь шарлагын тунгаас

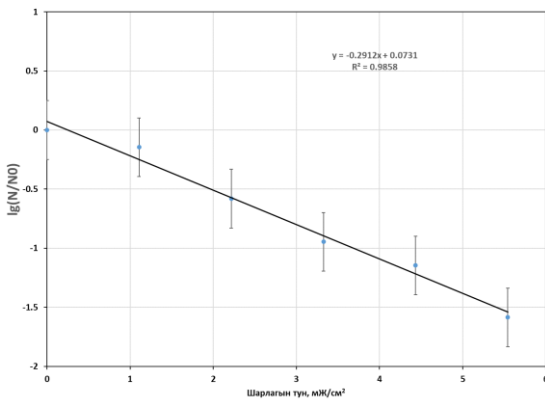
$$\lg\left(\frac{N}{N_0}\right) = -0.0035 D \quad (1)$$

гэж хамаарч байна. Энд, N - тодорхой тунгаар шарсан бактерийн ургалтын тоо, N_0 - шараагүй, хяналтын бактерийн ургалтын тоо, D - шарлагын тун (Гр).

(1) тэгшитгэлээс *E. coli* BL-21 бактерийн тоог 10% хүртэл бууруулах рентген цацрагийн тун 128 Гр, 37% хүртэл бууруулах рентген цацрагийн тун 55 Гр байна.

Хэт ягаан туяагаар шарсан үед

E. coli BL-21 бактерийг хэт ягаан туяагаар 1-54 мЖ/см² хүртэл тунгаар шарж, колони тоолж, бактерийн ургалтыг шалгав. Үр дүнг зураг 3-т үзүүлэв.



Зураг 3. Бактерийн харьцангуй ургалт шарлагын тунгаас хамааруулсан хамаарал. Босоо дагуу Шарсан бактерийн ургалтын тоог хяналтын бактерийн ургалтын тоотой харьцуулсан харьцааны логарифм утга. Хэвтээ тэнхлэг дагуу бактерийг хэт ялаан туяагаар шарсан тун. мЖ/см² нэгжээр. Хамаарлын шулуун тэгшитгэл болон регрессийн коэффициентийг харуулсан.

E. coli BL-21 бактерийн $2 \cdot 10^3$ CFU колони ургалттай үед LF-104.S хэт ягаан туяаны 6.6-54.8 мЖ/см² тунгаар үйлчлэхэд бактерийн ургалт бүрэн зогсож байна. Туршлагын үр дүнд дараах хамаарлын тэгшитгэлийг гарган авав.

$$\lg\left(\frac{N}{N_0}\right) = 0.0731 - 0.2912 \cdot UV \quad (2)$$

Энд, N - тодорхой тунгаар шарсан бактерийн ургалтын тоо, N_0 - шараагүй, хяналтын бактерийн ургалтын тоо, UV - шарлагын тун (мЖ/см²).

(2) тэгшилтгэлээс *E. coli* BL-21 бактерийн тоог 10% хүртэл бууруулах хэт ягаан туяаны тун 3.7 мЖ/см² байна.



Зураг 4. Аламар цэнхэр тестийн дүн

Бактерийн метаболизмын идэвхийг шалгасан дүн

E. coli BL-21 бактерийг рентген цацрагаар шарсны дараа метаболизмын идэвхийг Аламар цэнхэр тестээр шалгав [5]. Эерэг хяналтаар хэвийн ургалттай бактерийн өсгөвөр, сөрөг хяналтаар 100°C-ийн температурт 20 минут буцалгасан тохиолдлыг авав. Мөн бактерийн тохиромжтой өтгөрөлтийг тогтоох зорилгоор 10 болон 100 дахин өтгөрүүлсэн хувилбаруудыг туршив. Зураг 4-г 96 үүртэй хавтанд Аламар цэнхэр тестийн дүнг харуулав. 1-3 дугаар баганад 10^8 CFU, 4-6 баганад 10^9 CFU, 7-10 баганад 10^{10} CFU өсгөврийг 3 удаагийн давталттай, 10 дугаар баганад Аламар цэнхэр будаг, шөлний хамт, 11-г дан шөлийг тус тус хийв. А мөрөнд эерэг хяналт буюу хэвийн

ургалттай бактери, В-Г хүртэл мөрөнд харгалзан 100-2400 Гр хүртэл рентген цацрагийн тунгаар үйлчилсэн бактери, Н сөрөг хяналт буюу буцалгаж үхүүлсэн бактери хийсэн дүнг харуулна.

Аламар цэнхэр тестийн дүнг харахад 100-2400 Гр рентген цацрагаар үйлчилсэн бактерийн өсгөврүүд эерэг хяналт буюу хэвийн ургалттай бактериар ижил метаболизмын идэвх үзүүлж байна. энэ нь бактери рентгенээр шарахад үхээгүй боловч өсгөвөрлөх боломжгүйг харуулж байна. Ялангуяа 2400 Гр тунгийн үед бактерийн ургалт 0 буюу өсөж үржих боломжгүйг харуулж байна. сан боловч метаболизмын идэвхтэй буюу эерэг дүн үзүүл байгаа нь энэ судалгаийн бактери идэвхгүйжүүлэх зорилгод хүргэсэн үр дүн гарлаа.

IV. ДҮГНЭЛТ

Энэ судалгаагаар *E. coli* BL-21 бактерийг рентген цацрагийн үйлчлэхэд 10% хүртэл бууруулах рентген цацрагийн тун 128 Гр, 37% хүртэл бууруулах рентген цацрагийн тун 55 Гр гэж тогтоолоо. Энэ нь *E. coli* бактерийн хувьд 40 Гр гэсэн анхдагч судалгааны дүнгээс 30% орчим зөрж байна [6]. Энэ утга нь нэг бактерийн хувьд шарлага хийсэн цацрагийн төрөл, бактерийн зүйл, бактерийн ургалтын фазаас хамаардаг байна [7-9].

Хэт ягаан туяаны үүсгүүрийн хувьд *E. coli* BL-21 бактерийн тоог 10% хүртэл бууруулах тун 3.7 мЖ/см² байна. Бусад судлалгааны үр дүнтэй харьцуулахад 0.4 – 7 мЖ/см² байгаа нь бидний судалгаатай тохирч байна [10-15].

Энэ судалгааны үр дүнгээр цаашид RS1800 Q4 рентген шарах төхөөрөмжийг вакцины зориулалтаар олон төрлийн бактерийг шарахад ашиглах бүрэн боломжтойг харуулав.

ТАЛАРХАЛ

Энэ судалгааны ажилд хэт ягаан туяаны эрчмийн хэмжилтийн багаж радиометрийг ашиглах боломж олгосон Халдварт Өвчин судлалын үндэсний төвийн Сүрьеэгийн тасгийн хамт олонд талархал илэрхийлье.

АШИГЛАСАН МАТЕРИАЛ

- [1] Халдварт өвчний мэдээлэл (2018 оны жилийн эцэс), Өвчний мэдээллийн сан, Засгийн газрын хэрэгжүүлэгч агентлаг Мал эмнэлгийн ерөнхий газар, <http://vet.api.radixsoft.mn/assets/uploads/f21901e0-7bab-11e9-a176-95990fd3e818.pdf>
- [2] Ho Seong Seo, Application of radiation technology in vaccines development, Clinical and experimental vaccine research, 2015 Jul; 4(2): 145–158, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4524899/>
- [3] Багажийн танилцуулга, <https://radcal.com/rdclwp/wp-content/uploads/2016/10/radcal-10X6-0.6-chamber-spec-sheet.pdf>

- [4] Багажийн танилцуулга, <http://www.vilber.de/en/products/uv-instruments/uv-radiometers/vlx-3w/>
- [5] M. A. Zachari et al., Evaluation of the alamarblue assay for adherent cell irradiation experiments, Dose-Response, vol. 12, no. 2, p. dose-response.1, Apr. 2014.
- [6] Lea DE. Actions of Radiations on Living Cells. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1956.
- [7] Lloyd DC, Purrott RJ. Chromosome Aberration Analysis in Radiological Protection Dosimetry. Radiation Protection Dosimetry. 1981;1(1):19–28.
- [8] Kaplan HS, Moses LE. Biological Complexity and Radiosensitivity: Radiation Lethality in Cells and Viruses is Correlated with Nucleic Acid Content, Structure, and Ploidy. Science. 1964 July;164(3627):21–25.
- [9] Terashima T, Tomah LJ. Variations in Several Responses of HeLa Cells to X-Irradiation During the Division Cycle. Biophysical Journal. 1963 January;3(1):11–33.
- [10] Sommer, R., Lhotsky, M., Haider, T. and Cabaj, A. UV inactivation, liquidholding recovery, and photoreactivation of *E. coli* O157 and other pathogenic *E. coli* strains in water, J. Food Protection, 2000;63(8): 1015-1020.
- [11] Wilson, B.R., Roessler, P.F., VanDellen, E., Abbaszadegan, M. and Gerba, C.P. Coliphage MS-2 as a UV water disinfection efficacy test surrogate for bacterial and viral pathogens, Proceedings, Water Quality Technology Conference, Nov 15-19, 1992, Toronto, Canada, pp. 219-235, Amer. Wat. Works Assoc., Denver, CO.
- [12] Hoyer, O. Testing performance and monitoring of UV systems for drinking water disinfection, Wat. Supply, 1998;16(1-2): 424-429.
- [13] Wu, Y., Clevenger, T. and Deng, B. Impacts of goethite particles on UV disinfection of drinking water, Appl. Environ. Microbiol., 2005;71(7): 4140-4143.
- [14] Oguma, K., Katayama, H. and Ohgaki, S. Photoreactivation of *Legionella pneumophila* after inactivation by low- or medium-pressure ultraviolet lamp, Wat. Res., 2004;38(11): 2757-2763.
- [15] Yaun, B.R., Sumner, S.S., Eifert, J.D. and Marcy, J.E. Response of *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 to UV energy, J. Food Protection, 2003;66(6): 1071-1073.