

Оношлуур, эм биобэлдмэл ба хэрэглүүр



УДИРДАГЧ

Г.Батбаатар

АУ-ны доктор, профессор, АШУУИС-ийн Сургалт эрхэлсэн дэд захирал

СУДАЛГААНЫ БАГИЙН ГИШҮҮД:

Д.Нямбаяр, АУ-ны доктор, дэд профессор,
Каназава Их Сургууль, Япон улс, Мюнхений
Техникийн Их Сургууль, ХБНГУ

Ж.Жамбалдорж, АУ-ны доктор, дэд профессор,
АШУУИС

Ч.Гансүх, АУ-ны доктор, АШУУИС

Л.Дэлгэрзул, НЭМУ-ны магистр, АШУУИС

Г.Чимэдлхамсүрэн, АУ-ны магистр, АШУУИС

Т.Балжинням, АУ-ны магистр, АШУУИС

М.Батхишиг, АУ-ны магистр, АШУУИС

Шүлсэнд SARS-CoV-2-ийг илрүүлэх RT-PCR оношлуур бүтээх, эмнэлзүйн практикт нэвтрүүлэх



COVID-19
coronavirus

БИД БҮТЭЭЖ ЧАДНА

Монгол эрдэмтдийн баг SARS-CoV-2 вирусын халдварыг шүлсэнд илрүүлэх урвуу транскриптазит, бодит хугацааны полимеразын гинжин урвалын оношлуур бүтээлээ.

ҮНДЭСЛЭЛ

Дэлхийн Эрүүл Мэндийн Байгууллага (ДЭМБ), Америкийн Нэгдсэн Улс (АНУ)-ын Өвчний Хяналт, Урьдчилан Сэргийлэлтийн Төвөөс гаргасан удирдамжаар SARS-CoV-2-ийн халдварыг илрүүлэхэд амьсгалын замын дээд ба доод хэсгээс авсан сорьцуудыг ашиглах боломжтой. Дэлхий улс орнуудад хамар залгиурын арчдас, залгиурын арчдас, шүлснээс SARS-CoV-2-ийн халдварыг илрүүлж, баталгаажуулах RT-qPCR-ын аргыг ашиглаж байна. Ялангуяа сүүлийн хагас жилийн хугацаанд шүлснээс SARS-CoV-2-ийн халдварыг илрүүлэх RT-qPCR-ын аргууд олноор боловсруулагдаж, эмнэлзүйн туршилт судалгаа цөөнгүй хийгдсэн бөгөөд АНУ, Япон, Филиппин зэрэг орнуудад хэрэглээнд нэвтрээд байна. Шүлснээс SARS-CoV-2 вирусийг илрүүлэх аргачлал үйлчлүүлэгчээс сорьц авахад зайлшгүй мэргэжлийн ажилтан шаардлагагүй, сорьц тээвэрлэхэд онцгой нөхцөл шаардлагагүй зэрэг давуу талуудтай. Мөн Alvin Kuo Jing Тео нарын судалгаагаар эмнэлзүйн шинж тэмдэггүй эсвэл хөнгөн хэлбэрийн КОВИД-19-ийн үед шүлснээс SARS-CoV-2 вирусийг илрүүлэх арга хамар залгиурын сорьцоос илрүүлэх аргатай харьцуулахад мэдрэг чанар өндөртэй байгааг тогтоожээ. Anne L. Wyllie нарын судалгаагаар КОВИД-19 оношлогдсоноос хойш эхний 10 хоногт шүлсэнд SARS-CoV-2-ийн агууламж харьцангуй өндөр байгааг тогтоосон. Мөн эмнэлзүйн шинж тэмдэггүй, хөнгөн тохиолдлуудад шүлснээс SARS-CoV-2 вирусийг илрүүлэх арга илүү тохиромжтой байгаа онцолжээ. Бид эх орондоо шүлснээс

нуклеин хүчил ялгалгүйгээр шууд SARS-CoV-2 вирусийг RT-qPCR-аар илрүүлэх in-house оношлуурын технологийг боловсруулж, оношлуурыг Монгол улсад оношилгоонд ашиглаж буй худалдааны цомогтой харьцуулан судалж, хэрэглээнд нэвтрүүлэх боллоо.

ЗОРИЛГО

Шүлснээс SARS-CoV-2 вирусийг илрүүлэх RT-qPCR-ын технологийг боловсруулж оношлуур бүтээх, одоогоор оношилгоонд ашиглаж буй худалдааны цомогтой харьцуулах, өвөрмөц, мэдрэг чанарыг тодорхойлох, хэрэглээнд нэвтрүүлэх

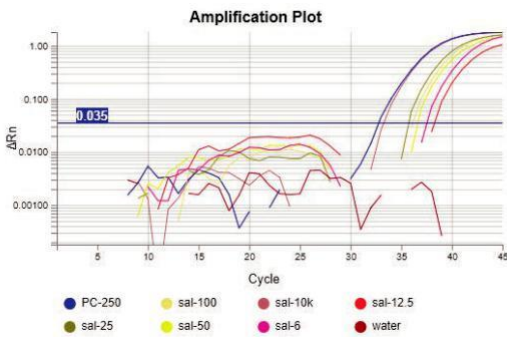
ЗОРИЛТ

1. Шүлснээс SARS-CoV-2 вирусийг илрүүлэх RT-qPCR-ын технологийг боловсруулж, оношлуур бүтээх
2. RT-qPCR-ын оношлуурыг эмнэлзүйн сорьцод туршин баталгаажуулж, оношлуурын өвөрмөц мэдрэг чанарыг тодорхойлох
3. Инновацийн бүтээгдэхүүнийг хэрэглээнд нэвтрүүлэх

ҮР ДҮН

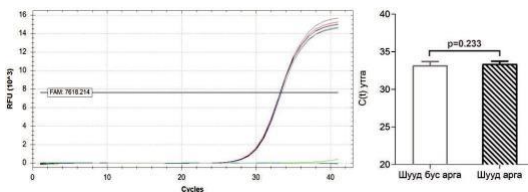
Шүлснээс вирусийн PHX-ийг ялгах аргаар вирус илрүүлэх мультиплекс RT-qPCR (шууд бус) болон шүлснээс вирусийн PHX-ийг ялгахгүйгээр (шууд) шүлсэнд вирус шууд тодорхойлох мультиплекс RT-qPCR-ын аргачлалыг боловсруулж дотоод хяналтын ген болон SARS-CoV-2 вирусийн өвөрмөц дарааллуудыг олшруулав. Зураг 1-д RT-qPCR-ын үр дүнг харуулав. SARS-

CoV-2 вирусийн өвөрмөц дарааллыг олшруулах RT-qPCR-ын үр дүнгээр шууд аргын дундаж C(t) утга 33.37 ± 0.3 , харин шууд бус аргын дундаж (t) утга 33.19 ± 0.1 байлаа. Өөрөөр хэлбэл шууд ба шууд бус аргаар боловсруулсан сорьцуудад RT-qPCR-аар SARS-CoV-2 вирусийг илрүүлэхэд C(t) утгууд ойролцоо гарсан ($p=0.233$) ба шууд аргаар боловсруулсан шүлснээс RT-qPCR явуулахад саатуулах нөлөө огт байхгүй байлаа.



Зураг 1. Шууд ба шууд бус аргаар боловсруулсан сорьцуудад SARS-CoV-2 вирусийн PHX-ийг илрүүлсэн дүн

Энэхүү зурагт SARS-CoV-2 вирусийн өвөрмөц бай дарааллыг илрүүлсэн зураглалыг харуулав. Улаан ба ягаан өнгүүдээр ялгаж цэвэршүүлсэн PHX сорьцод хийгдсэн RT-qPCR (шууд бус)-ын үр дүн, хөх, саарал өнгүүдээр шүлснээс PHX ялгахгүйгээр (шууд) RT-qPCR хийсэн үр дүнгүүд харуулав (Зураг 1).



Зураг 2. SARS-CoV-2 вирусийн PHX-ийг илрүүлэх шууд аргын ялган дүйх хязгаарыг тодорхойлсон дүн

SARS-CoV-2 вирусийн хуулбарын тоон өөр өөр агууламжтай сорьцуудад өвөрмөц бай дарааллыг илрүүлсэн зураглалыг харуулав. Ягаан өнгөөр 6 хуулбар, улаан өнгөөр 12 хуулбар, ногоон өнгөөр 25 хуулбар, шар өнгөөр 50 ба 100 хуулбар, хөх өнгөөр 250

хуулбар бүхий урвалын холимогт хийгдсэн RT-qPCR (шууд бус)-ын үр дүнг харуулав (Зураг 2).

Шүлснээс вирусийн PHX-ийг ялгахгүйгээр SARS-CoV-2-ыг илрүүлэх шууд аргачлалын аналитик мэдрэг чанарыг тодорхойлохын тулд SARS-CoV-2 вирус 6, 12, 25, 50, 100, 250, 1000 хуулбар/урвал агууламжтай сорьцуудыг бэлтгэн туршилтад ашиглав. Шүлснээс шууд аргаар SARS-CoV-2 вирусийг илрүүлэх аргын ялган дүйх хязгаарыг тодорхойлоход нэг удаагийн урвалын холимогт 6-12 вирусийн геномын хуулбар байхад илрүүлэх боломжтой байгааг тогтоосон. Энэ нь дээрх аргын аналитик мэдрэг чанар нь одоогоор ашиглагдаж буй SARS-CoV-2 вирусийг

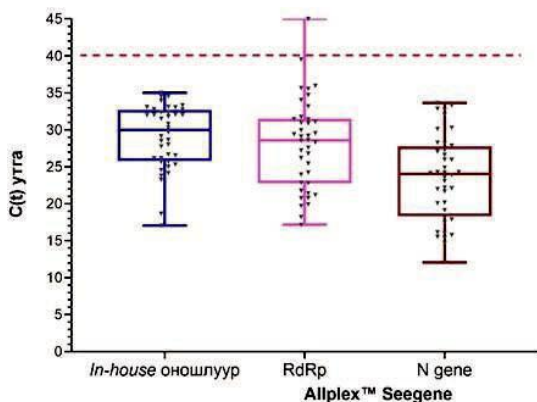
илрүүлэх худалдааны цомгуудаас харьцангуй сайн болохыг харуулж байна.

SARS-CoV-2 вирусийн PHX-ийг илрүүлэх шууд аргын аналитик өвөрмөц чанарыг судалсан дүн

Хүснэгт 1.

Үүсгэгчид	Омог	Давталт	Үр дүн
Хүний коронавирүс	229E	0/3	Сөрөг
Хүний коронавирүс	OC43	0/3	Сөрөг
Хүний коронавирүс	NL63	0/3	Сөрөг
Хүний коронавирүс	HKU1	0/3	Сөрөг
MERS-коронавирүс		0/3	Сөрөг
SARS-коронавирүс		0/3	Сөрөг
Vocavirus	-	0/3	Сөрөг
Mycoplasma pneumoniae		0/3	Сөрөг
Streptococcus		0/3	Сөрөг
Influenza A (H1N1)		0/3	Сөрөг
Influenza A (H3N2)		0/3	Сөрөг
Influenza B		0/3	Сөрөг
Хүний аденовирүс	Ad71	0/3	Сөрөг
Хүний метапневмовирүс	-	0/3	Сөрөг
Respiratory syncytial virus	Long A	0/3	Сөрөг
Риновирүс		0/3	Сөрөг
Parainfluenza 1	C35	0/3	Сөрөг
Parainfluenza 2	Greer	0/3	Сөрөг
Parainfluenza 3	C-43	0/3	Сөрөг
Parainfluenza 4	M-25	0/3	Сөрөг

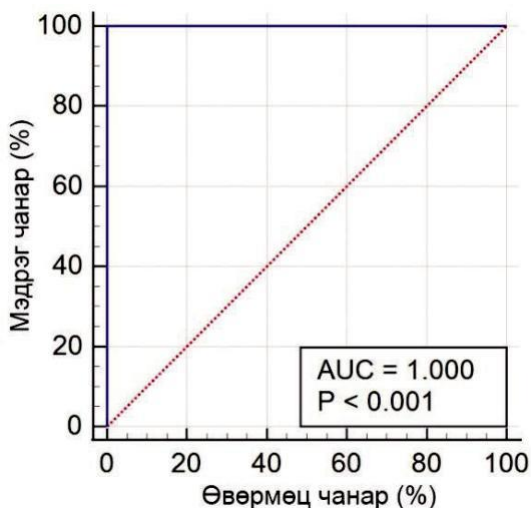
Аналитик өвөрмөц чанарыг тодорхойлохын тулд SARS-CoV-2 вирустэй гомолог дараалал бүхий хүний коронавирусын бусад төрөл, А, В хүрээний томуугийн вирус болон бусад үүсгэгчид бүхий нийт 20 үүсгэгчийн геномын дарааллыг ашиглан туршилт хийхэд аль ч тохиолдолд бүтээгдэхүүн олшролт тодорхойлогдоогүй (Хүснэгт 1). Өөрөөр хэлбэл бидний ашиглаж буй шууд аргаар SARS-CoV-2 вирусийг илрүүлэх аргачлал өвөрмөц чанар маш сайн байгааг харуулж байна. Дээрхи туршилтын үр дүнгээр бидний боловсруулсан шүлснээс вирусийн PHX-ийг ялгахгүйгээр SARS-CoV-2-ыг илрүүлэх шууд аргачлалыг эмнэлзүйн сорьцод турших бүрэн боломжтой байгааг баталлаа. Эмнэлзүйн сорьцод хийгдсэн туршилт судалгаанд нийт 60 хүн оролцсон. Оролцогчдын дундаж нас 39.56 (95% CI, 33.7-45.4) байв. Тэдний 63.3% (n=38)-ийг эмэгтэйчүүд эзэлж байлаа. ХӨСҮТ-д хэвтэн эмчлүүлж байсан 41 хүний хувьд онош батлагдсанаас хойших хугацаа дунджаар 4.88 (IQR, 3-7.5) хоног байлаа. Шинжилгээний үр дүнгээр судалгаанд оролцогчдын 66.7% (n=40) SARS-CoV-2-ийн халдвартай, 33.3% (n=20) халдваргүй тохиолдлууд байлаа. SARS-CoV-2-ийн халдвартай 40 хүний сорьцод Allplex™ 2019-nCoV оношлуураар шинжилгээ хийхэд 97.5% (n=39)-д RdRp ген (дундаж C(t)=27.63 [95% CI, 25.9-29.4]) эерэг, 100% (n=40) N ген (дундаж C(t)=23.54 [95% CI, 21.8-25.3]) эерэг



Зураг 3. Шинжилгээний аргуудын C(t) утгыг харьцуулсан байдал

байлаа. Харин in-house оношлуураар бүх сорьц (дундаж C(t)=29.11 [95% CI, 27.8-30.4]) эерэг тодорхойлогдсон (Зураг 3).

Бид Allplex™ 2019-nCoV оношлуурын үр дүнг стандарт болгон ROC муруй шинжилгээгээр in-house оношлуурын өвөрмөц ба мэдрэг чанарыг тодорхойлов. Үр дүнгээр in-house шинжилгээний үр ашиг (AUC, 100% [95% CI, 94-100], p<0.0001), эерэг хариуны нийцэл 100% [95% CI, 91.2-100], сөрөг хариуны нийцэл 100% [95% CI, 83.2-100] тодорхойлогдлоо. Мөн каппа коэффициент (k=1.0)-оор шинжилгээний аргууд, үр дүнгүүд хоорондоо 100% тохирсон буюу аргууд хоорондоо маш сайн нийлэмжтэй байлаа (Зураг 4).



Зураг 4. ROC муруйн шинжилгээний үр дүн

ДҮГНЭЛТ

1. Төсөлт судалгааны ажлын үр дүнд SARS-CoV-2 вирусийн халдварыг шүлснээс илрүүлэх RT-qPCR аргын технологийг боловсруулж, оношлуур бүтээлээ.
2. Судалгааны үр дүнгээр шүлснээс SARS-CoV-2 вирусийг илрүүлэх оношлуур хамар залгиурын арчдасын сорьцод Allplex™ 2019-nCoV оношлуураар хийсэн шинжилгээний хариутай 100% нийцэж байна. Шүлснээс SARS-CoV-2 вирусийн халдварыг оношлуурын

сөрөг хариуны нийцэл 100% (83.2-100), эерэг хариуны нийцэл 100% (91.2-100) байгааг тогтоолоо. Энэхүү үр дүн in-house оношлуурыг хэрэглээнд нэвтрүүлэх бүрэн боломжтой байгааг харуулж байна.

3. “SARS-CoV-2-ийг шүлснээс шууд илрүүлэх бодит хугацааны ПГУ-ын цомог” оношлуурыг 2021 оны 3 сарын 26-нд албан ёсоор бүртгэн авч хэрэглээнд нэвтрүүлэх боломжтой болсноос хойш Улаанбаатар хот болон орон нутгийн молекул биологийн лабораториудад нийт 84000 гаруй оношлуур нийлүүлж, тэдгээр оношлуураар 100000 гаруй хүний шинжилгээ амжилттай хийгдээд байна.

