



ЭРҮҮЛ МЭНДИЙН ЯАМ



АЗИЙН ХӨГЖЛИЙН БАНК



ЭМСХХ-5 ТӨСӨЛ

"КОРОНАВИРУСТ БОЛОН АМЬСГАЛЫН ЗАМЫН ХҮНД, ХУРЦ ХЭЛБЭРИЙН
ХАЛДВАРТАЙ ӨВЧТӨНИЙ ОНОШИЛГОО, ЭМЧИЛГЭЭГ САЙЖРУУЛАХ"
СУРГАЛТ



ХИЧЭЭЛ 7:



"КОРОНАВИРУСТ БОЛОН АМЬСГАЛЫН ЗАМЫН ХҮНД, ХУРЦ ХЭЛБЭРИЙН
ХАЛДВАРТАЙ ӨВЧТӨНИЙ ОНОШИЛГОО, ЭМЧИЛГЭЭГ САЙЖРУУЛАХ"
СУРГАЛТ



ХИЧЭЭЛ 2: ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ХАРИУНД ДҮГНЭЛТ ХИЙХ

Ц.НАРАНЗУЛ
АУ-НЫ ДОКТОР

"ЭРҮҮЛ МЭНДИЙН
САЛБАРЫН ХӨГЖИЛ
ХӨТӨЛБӨР-5" ТӨСӨЛ



Үндэслэл

- КОВИД-19 халдварыг оношилоход SARS CoV-2 вирусийн геномын хэсгийг илрүүлэх Полимеразын Гинжин Урвал буюу PCR шинжилгээг өргөн хэрэглэж байна. Энэ шинжилгээ нь сорьцноос нуклейн хучил ялгах, геномыг хэсгийг олшруулах гэсэн 2 үе шаттай шинжилгээ юм.
- Геномыг 10-ын 12 зэрэгт дахин ба түүнээс дээш тоогоор олшруулж илрүүлдэг маш мэдрэг арга тул хуурамч эерэг болон сөрөг хариу гарах эрсдэл ихтэй. Иймд шинжилгээний явцад сорьцууд холилдож бохирдох, эерэг хяналтаар бохирдох, Полимеразын Гинжин Урвалын бүтээгдэхүүнээр эргэж бохирдох эрсдлээс сэргийлж ажиллах шаардлагатай.

Агуулга

- Мастер холимог
- БхПГУ-ын шинжилгээний хувилбарууд
- БхПГУ-ын шинжилгээний дүнг үнэлэх
- Хурдавчилсан сорилын дүнг үнэлэх

Мастер холимог

Мастер холимог бэлтгэх

- Шинжээч нь шинжилгээнд шаардлагатай урвалын холимгийг тооцоолж протокол хөтөлнө.
- (Урвалын холимгийн нийт хэмжээг тооцоолохдоо шинжлэх сорьцын тоо, эерэг ба сөрөг хяналтын сорьц болон нөөц холимгийг хамааруулж тооцно. Жишээ нь нийт шинжлэх сорьцын тоо $6 + 1$ сөрөг хяналт $+ 1$ эерэг хяналт $+ 1$ нөөц холимог $= 9$ сорьцонд хүрэлцэхүйц холимог)

Мастер холимгийн тооцоолол

№	Цомгийн бүрдэл	Нэг сорьцонд шаардагдах урвалжийн хэмжээ (uL)	Нийт сорьцын тоо	Урвалжийн нийт хэмжээ (uL)
1	H ₂ O	5.5	X 9	49.5
2	2X buffer	12.5		112.5
3	Forward primer	0.5		4.5
4	Reverse primer	0.5		4.5
5	Probe	0.5		4.5
6	Enzyme	0.5		4.5
Нийт		20		180

ПГУ-ын протокол

SARS-CoV-2 (COVID-19) илрүүлэх бхУТ-ПГУ-ын протокол

№.....

Огноо: 2021/...../.....

Файлын нэр:

Холимгийн нөхцөл

№	Урвалжийн бүрдлийн нэр	Нэг сорьцонд шаардагдах урвалжийн хэмжээ (uL)	шаардлагатай тоо	Урвалжийн нийт хэмжээ (uL)
1	H ₂ O	5.5	9	49.5
2	2X buffer	12.5		112.5
3	Forward primer	0.5		4.5
4	Reverse primer	0.5		4.5
5	Probe	0.5		4.5
6	Enzyme	0.5		4.5
	Нийт	20		180

Нуклейн хүчил нэмэх хэмжээ 5 uL

Дулааны нөхцөл

Программ	Дулааны нөхцөл		Давтамж
Үе шат-1	50°C	15 мин	1
Үе шат-2	95°C	30 сек	1
Урвалын мөчлөг	95°C	3 сек	45
	60°C	45 сек	

Цомог оношлуурын нэр:
COVID-19(SARS-CoV-2) Nucleic Acid Test kit.
Лот дугаар: 201202HW.
Хүчинтэй хугацаа: 14-06-2021
Шинжилгээний бай: E ген
Детектор: FAM
Бусад:.....

Шинжилгээний үр дүнгийн хүснэгт

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Сөрөг хяналт											
B	1426											
C	1427											
D	1428											
E	1429											
F	1430											
G	1431											
H	Эерэг хяналт											

Тэмдэглэл:

Шинжилгээ хийсэн:.....

Хянасан:.....

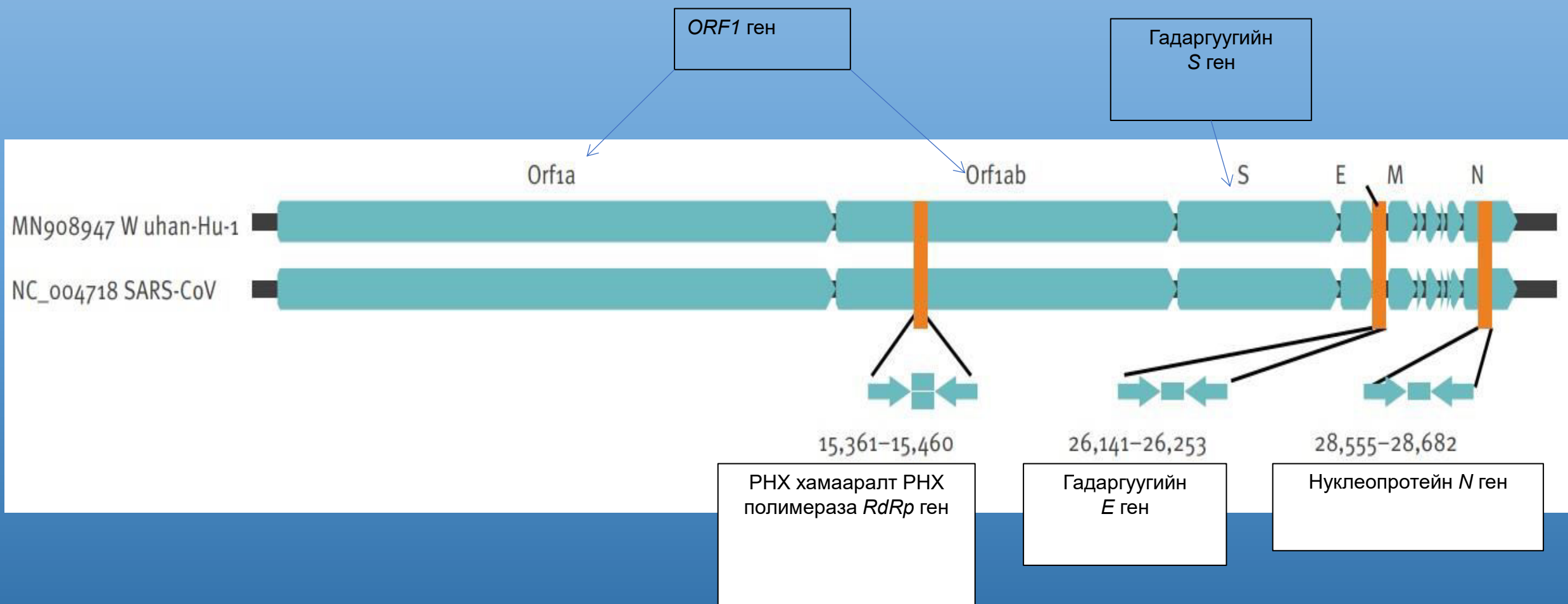
Протоколд холимгийн нөхцлийг тусгахаас гадна шинжилгээ хийсэн огноо, протоколийн файлын нэр, дулааны нөхцөл, ашигласан цомог оношлуурын нэр, лот дугаар, хүчинтэй хугацаа, үр дүнгийн мэдээлэл, шинжилгээ нийсэн болон хянасан хүний нэр гэх мэдээллийг тусгана.

Мастер холимог бэлтгэх ажилбар

- Шинжилгээ эхлэхээс өмнө ажлын талбарыг 70%-ийн этилийн спиртээр арчиж цэвэрлээд UV лайтаар 15 мин шарна.
- Бэлтгэл ажил дуусмагц хөлдөөгчнөөс цомог оношлуур гаргаж гэсгээнэ. Урвалж бэлтгэх хугацаанд энзим болон гэсгээсэн урвалжийг мөсөн элемент эсвэл хүйтэн штативт байлрлуулж ажиллана.
- Урвалжуудыг зохих хэмжээгээр нэмсний дараа түүбийг сайтар таглаад сэгсрэгчээр холино.
- Урвалжийг хольсны дараа түүбийг мини центрифугт эргүүлж түүбний дотор цацагдсан урвалжийн дуслуудыг түүбний ёроолд цуглуулна. Ийнхүү полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-ын мастер холимог бүхий оношлуур бэлэн болно.
- ПГУ-ын түүбнүүдэд бэлтгэсэн оношлуураас протоколд заасны дагуу, зохих хэмжээгээр дусаана.

бхПГУ-ын шинжилгээний хувилбарууд

SARS-CoV-2-ийн геном дахь ПГУ-ын оношилгооны бай хэсгүүд



Синглплекс ПГУ

Хувилбар 1

№	Бай ген	Проб
1	N	FAM

Sarbeco Primer/probe (N gene)
Designed in NIID, Japan
Invitrogen/**Applied**
biosystems
AgPath-ID™ One-step RT-PCR kit

Хувилбар 2

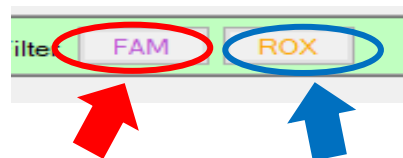
№	Бай ген	Проб
1	N2	FAM

2019 nCoV Primer/probe (N gene)
Designed in NIID, Japan
Invitrogen/**Applied**biosystems
AgPath-ID™ One-step RT-PCR kit

Хувилбар 3

№	Бай ген	Проб
1	RdRP	FAM

LightMix® Modular Wuhan CoV RdRP-
gene (Roche) Germany
Appliedbiosystems
AgPath-ID™ One-step RT-PCR kit



Мултиплекс ПГУ

Хувилбар 4

№	Бай ген	Проб
1	E	FAM
2	EAV (IC)	VIC

LightMix®SarbecoV E-gene+EAV control
(Roche) Germany
Appliedbiosystems
AgPath-ID™ One-step RT-PCR kit

Хувилбар 5

№	Бай ген	Проб
1	N	FAM
2	ORF1ab	HEX
3	RNaseP (IC)	ROX

COVID-19(SARS-CoV-2) Nucleic
Acid Test Kit (БНХАУ) Цомог

Хувилбар 6

№	Бай ген	Проб
1	SARS-CoV-2	FAM
2	RNaseP (IC)	HEX

A*STAR FORTITUDE KIT 2.0
COVID-19 Real-Time RT-PCR Test
(Singapore) Цомог

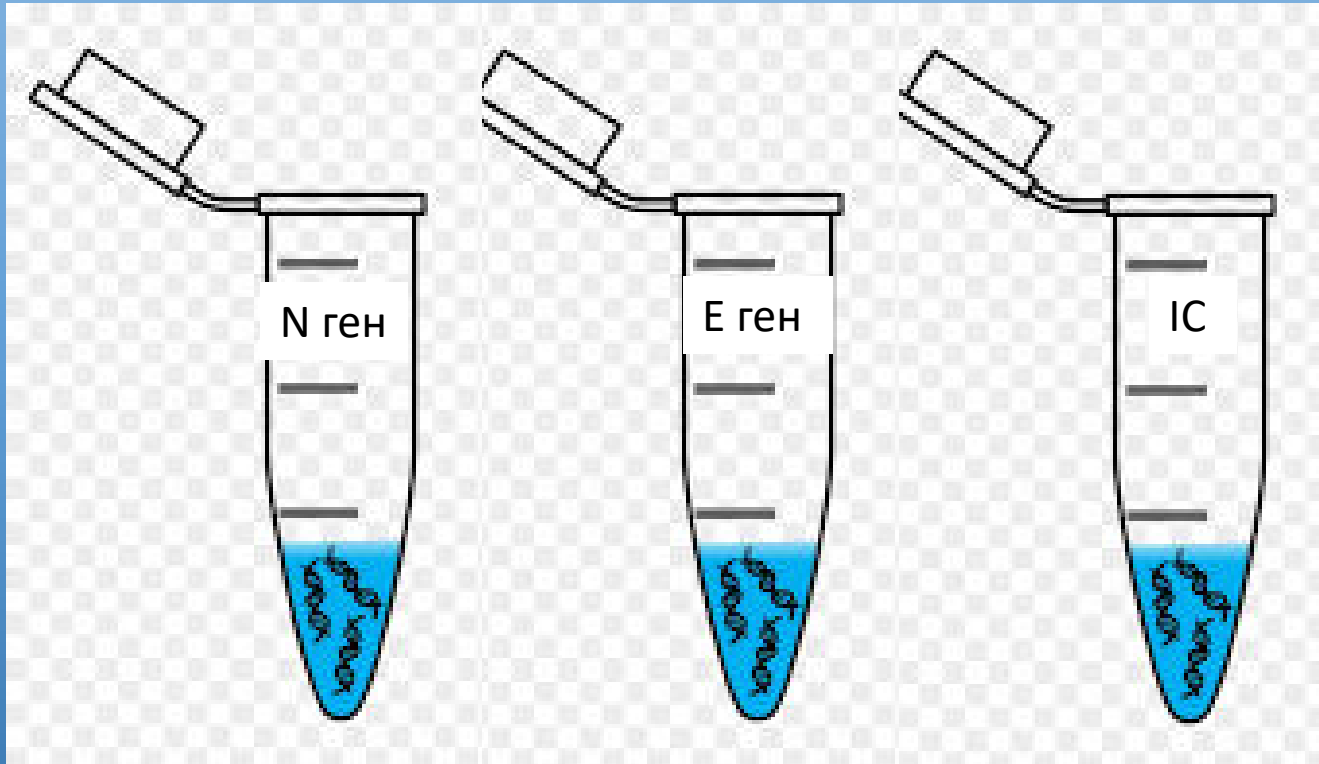
Хувилбар 7

№	Бай ген	Проб
1	ORF-1ab	FAM
2	N	ROX
3	(IC)	CY5

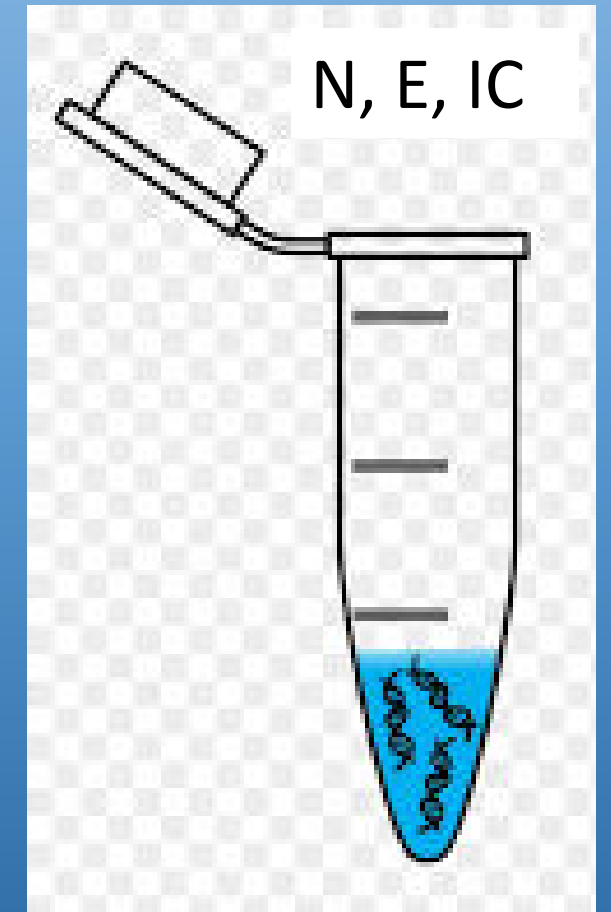
Sansure Biotech (БНХАУ)
Цомог

Шинжилгээний хувилбарууд

- Синглекс

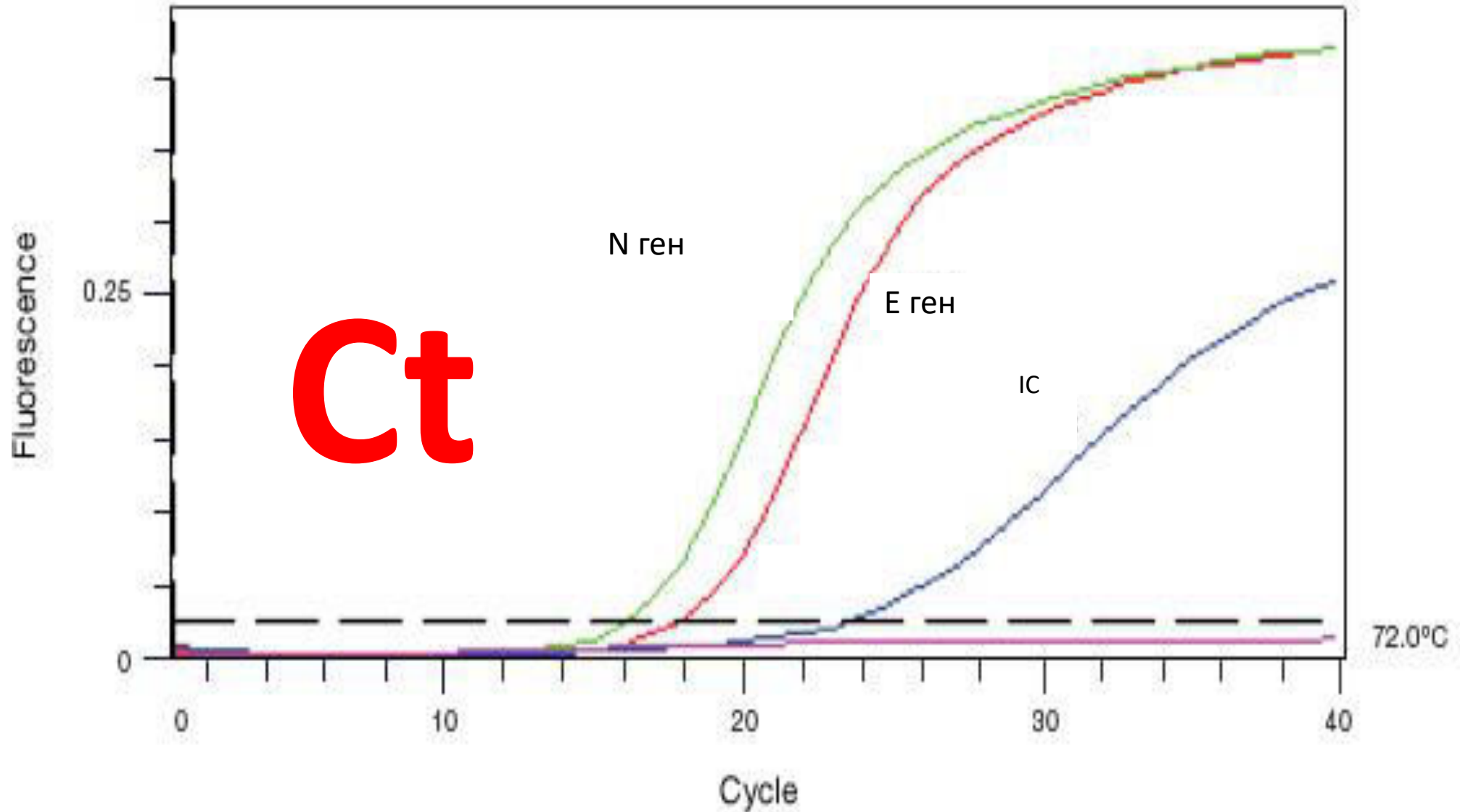


- Мультиплекс
- Түплекс
- Триплекс
- Тетраплекс



SARS-CoV-2 вирусийг 2-оос олон бай генээр оношлох (ДЭМБ)

БхПГУ-ын амплификацийн муруй



БхПГУ-ын шинжилгээний дүнг үнэлэх

Үр дүнгийн үнэлгээний зарчим ба дараалал

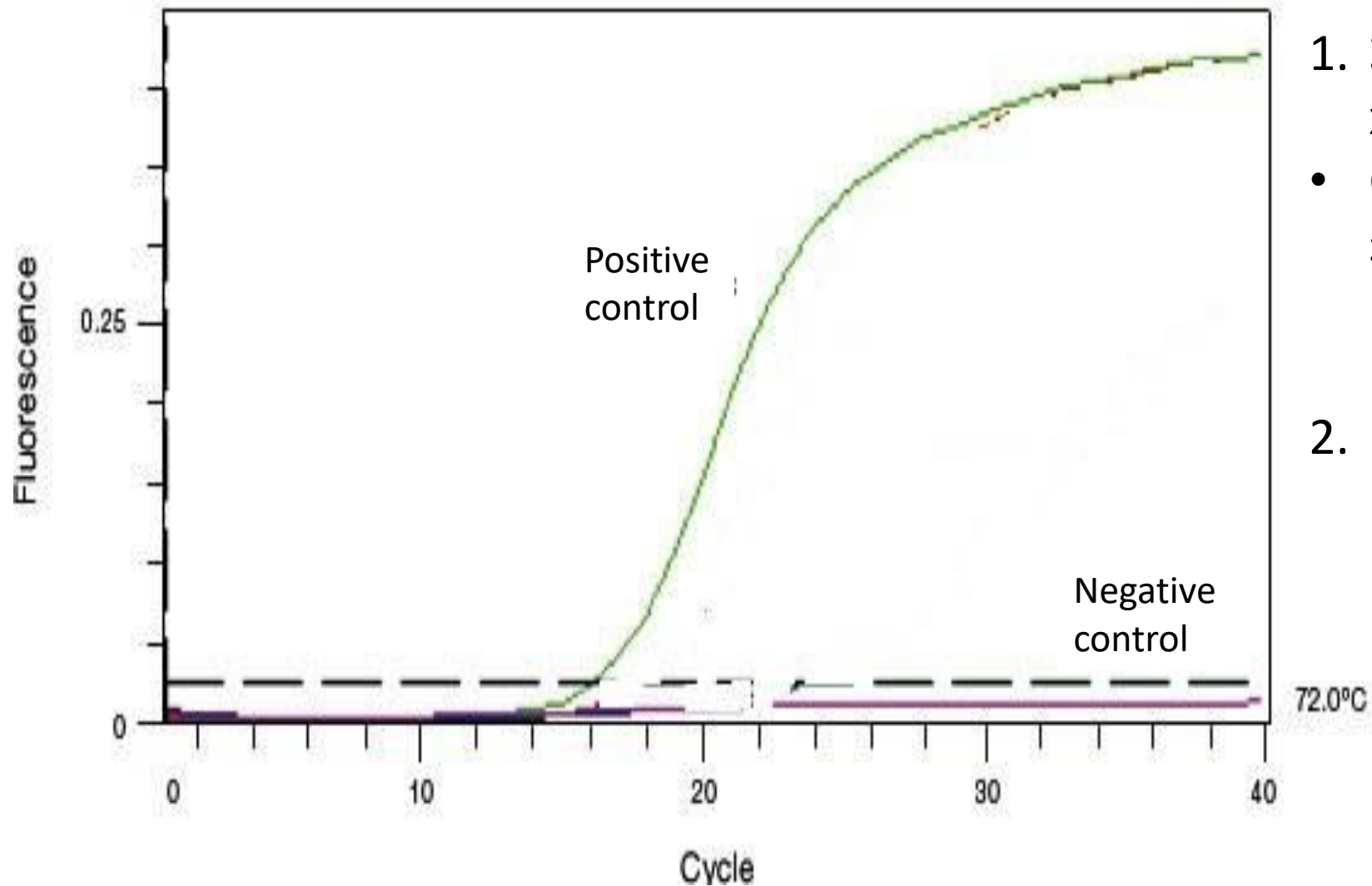
- **Үр дүнг чанарын болон тоо утгаар үнэлнэ**

1. Шинжилгээний Ст утга
2. Еерэг ба сөрөг
3. Сору/ml
4. IU/ml

- **Үр дүнг зохистой дэс дарааллаар дүгнэнэ**

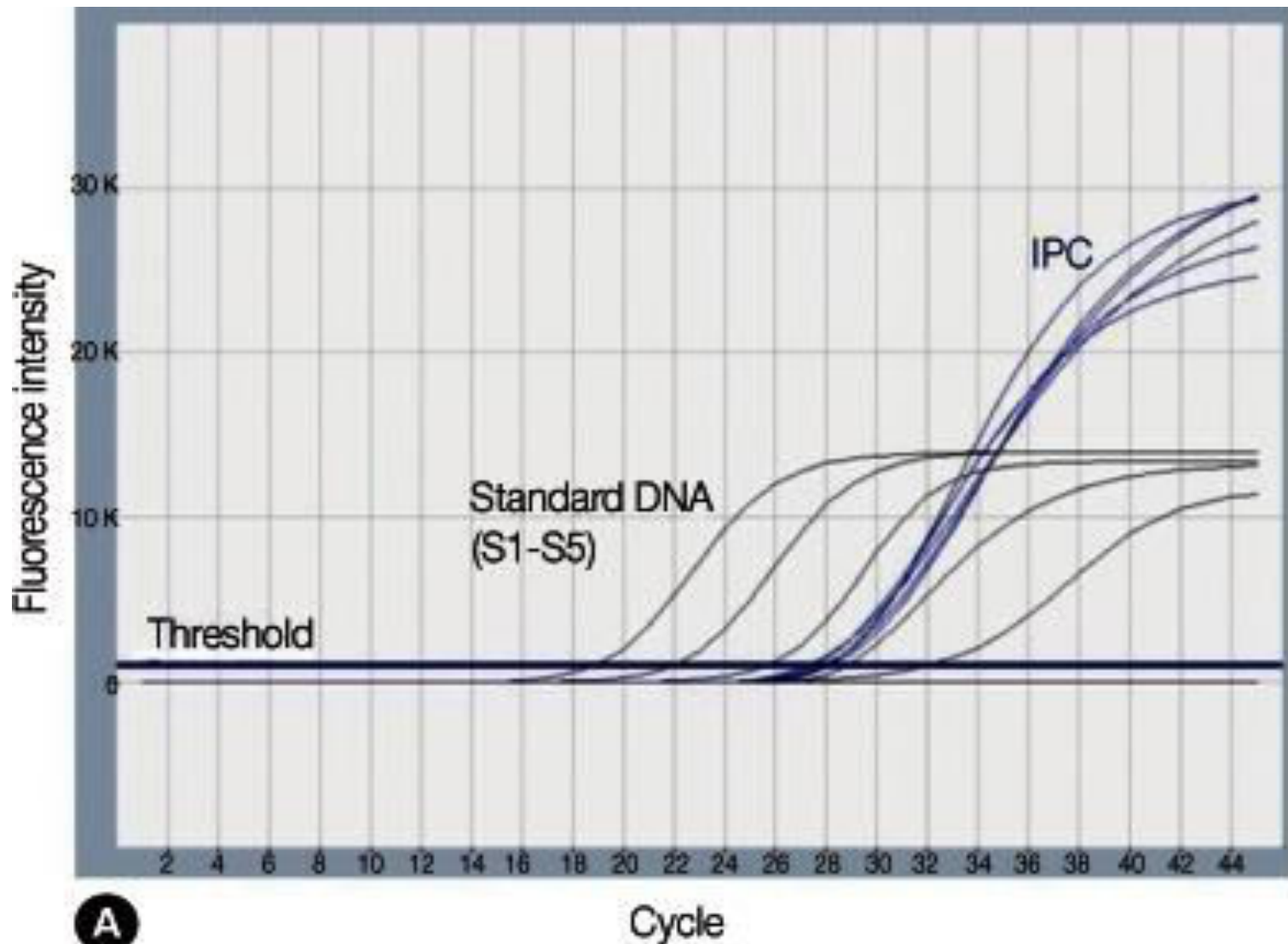
1. Эерэг ба сөрөг хяналтыг үнэлнэ
2. Шинжилгээний график зураглалыг үнэлнэ
3. Дотоод хяналтыг үнэлнэ
4. Сорьцын шинжилгээний үр дүнг үнэлнэ
5. Шинжилгээний дүгнэлт гаргана

Эерэг ба сөрөг хяналтын график шижилгээ



1. Эерэг хяналтын Ct утга хэвийн эсэх?
 - Оношлуур үйлдвэрлэгчийн заасан хязгаарт байх ёстой. (Ct<35, Ct<45)
2. Сөрөг хяналт хэвийн эсэх?

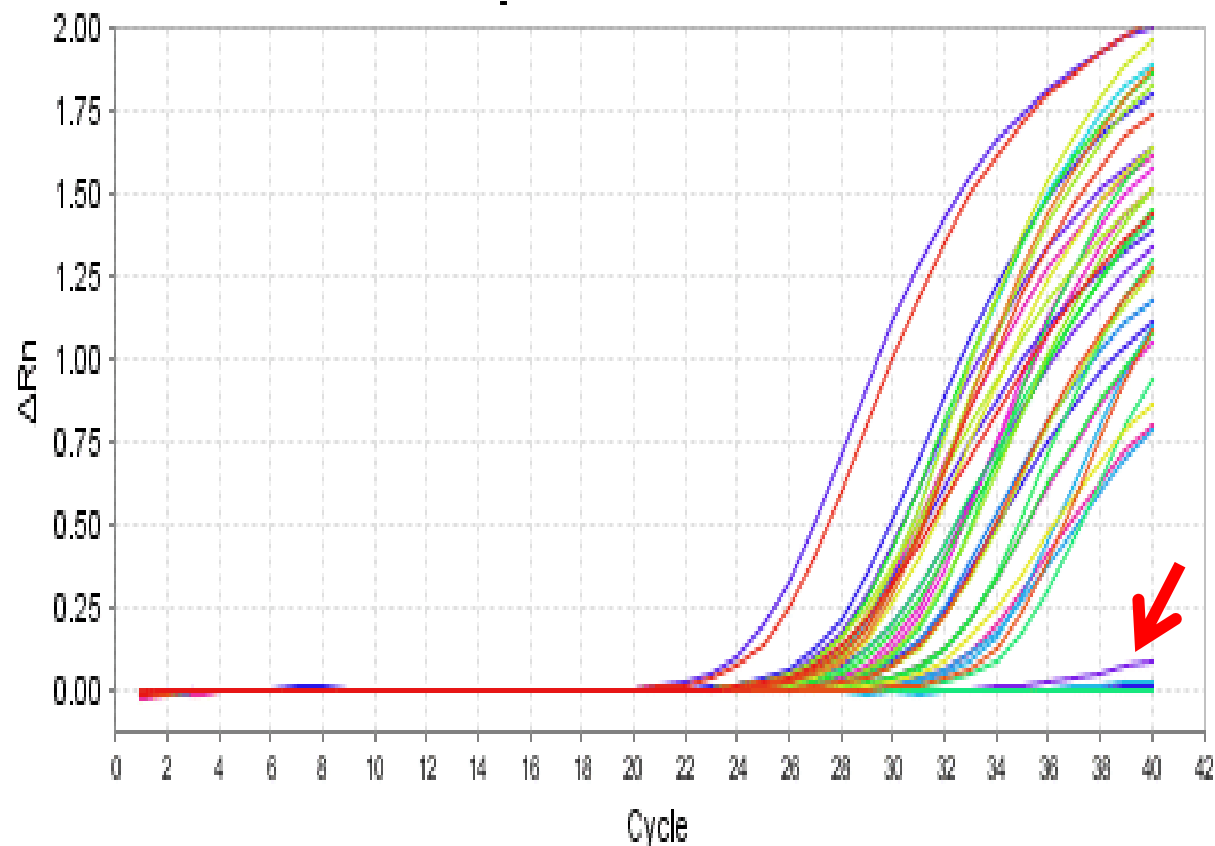
Дотоод хяналтыг үнэлгээ



1. Дотоод чанарын хяналт (IPC)-ын Ct утга хэвийн эсэх
 - Оношлуур үйлдвэрлэгч, эсвэл лавлагаа төвийн стандарт аргачлал заасан хязгаарт байсан эсэх. ($Ct < 25$, $Ct < 35$)
 - IPC-гийн Ct утга шинжилсэн сорьц бүрийн хувьд жигд байгаа эсэх
 - IPC сорьц бүрт илэрсэн эсэх

A

Сорьцын шинжилгээний үр дүнг үнэлэх



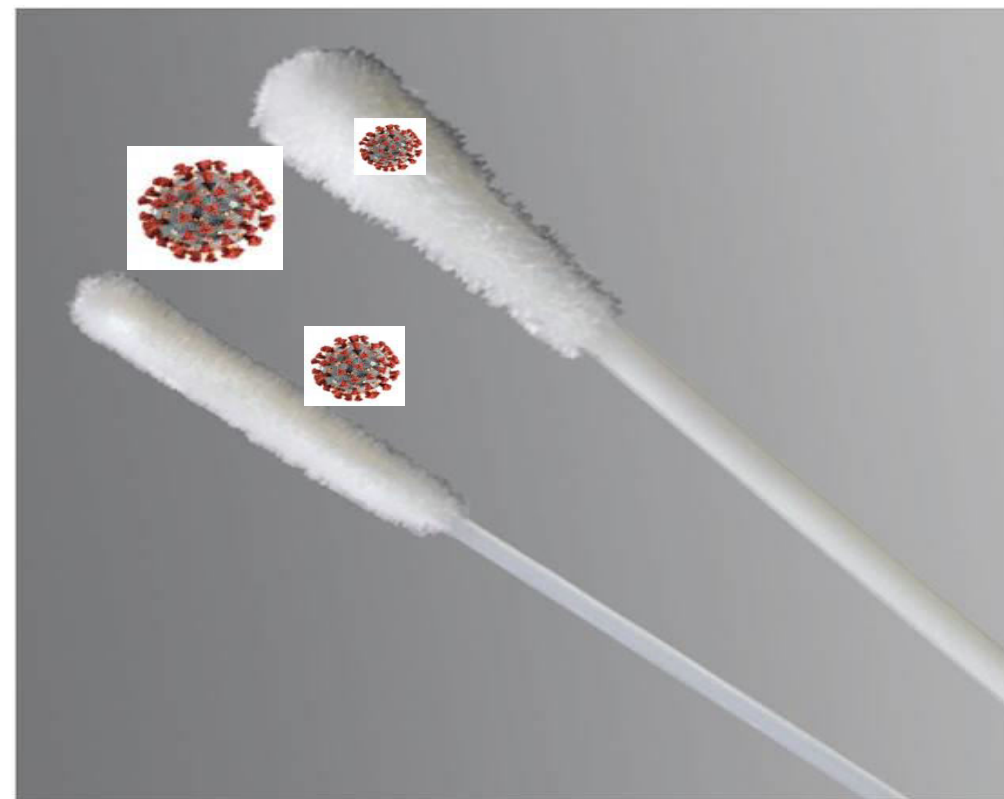
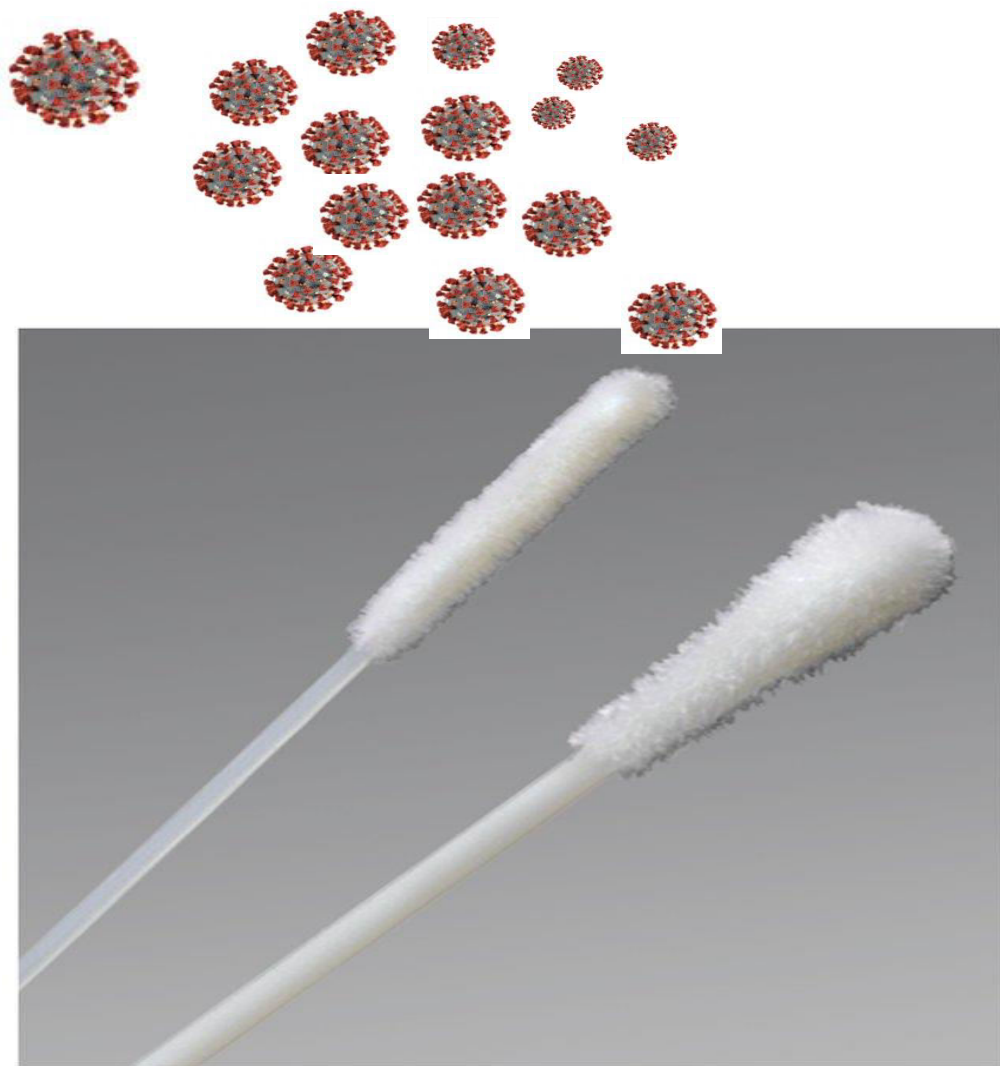
1. Эерэг, сөрөг хяналт, IPC-г үнэлсний дүнгээс хамааран шинжилгээний үр дүнг дүгнэнэ.
2. Шинжилгээний үр дүнг үнэлэхдээ сорьц тус бүрийн амплификацийн зураглалыг шинжиж, шаардлагатай тохиолдолд эерэг ба сөрөг хяналтын стандарт муруйтай харьцуулж үнэлнэ.
3. Шинжилгээний дүнг сорьц нэг тус бүрчилэн шалгана.

Хурдавчилсан сорилын дүнг үнэлэх

Шинжлүүлэгчийг шинжилгээнд бэлтгэх



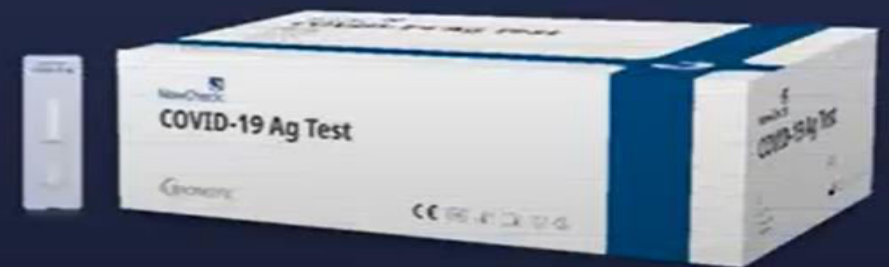
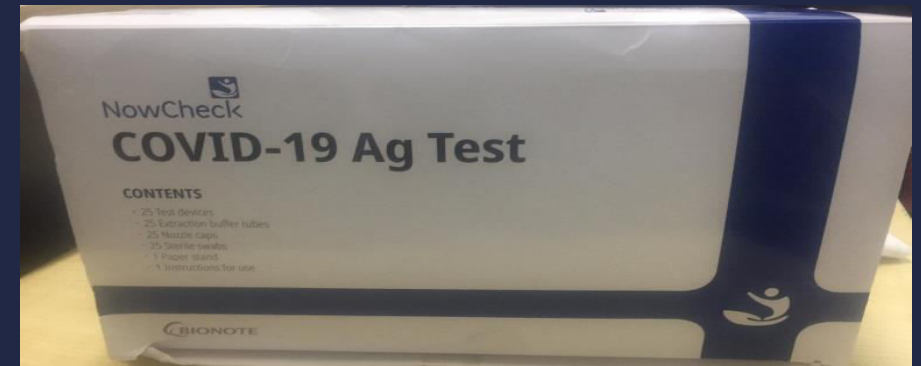
Амьсгалын замаас сорьц авах нь - амьсгалын замын **эпител эсийг авахад** чиглэсэн ажилбар



NowCheck 
COVID-19 Ag Test

Diagnostic Solutions for COVID-19

TEST PROCEDURE



NowCheck COVID-19 Ag Test

Цомгийн бүрдэл

Ариун бамбар
Sterile swab



Экстракцийн
буфер



Шүүлтүүртэй таг

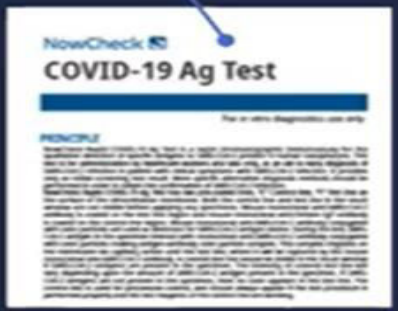
Цаасан штатив
Paper stand



Тест



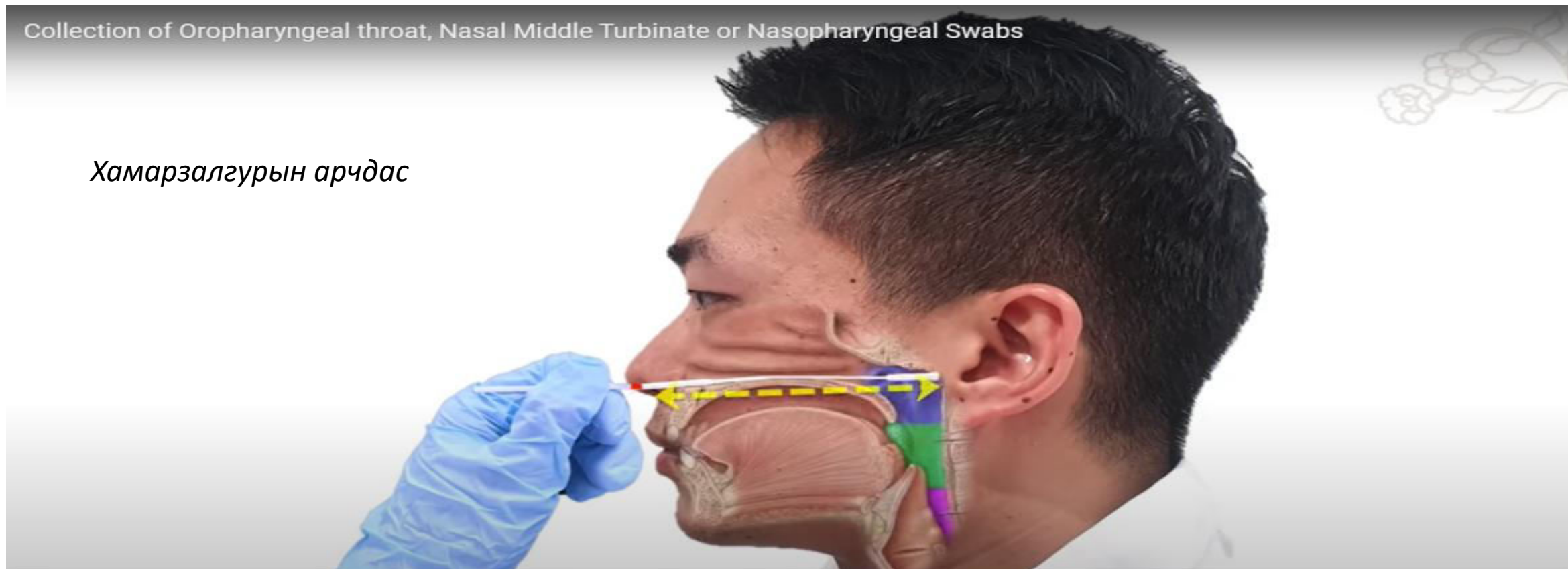
Тест ашиглах
заавар



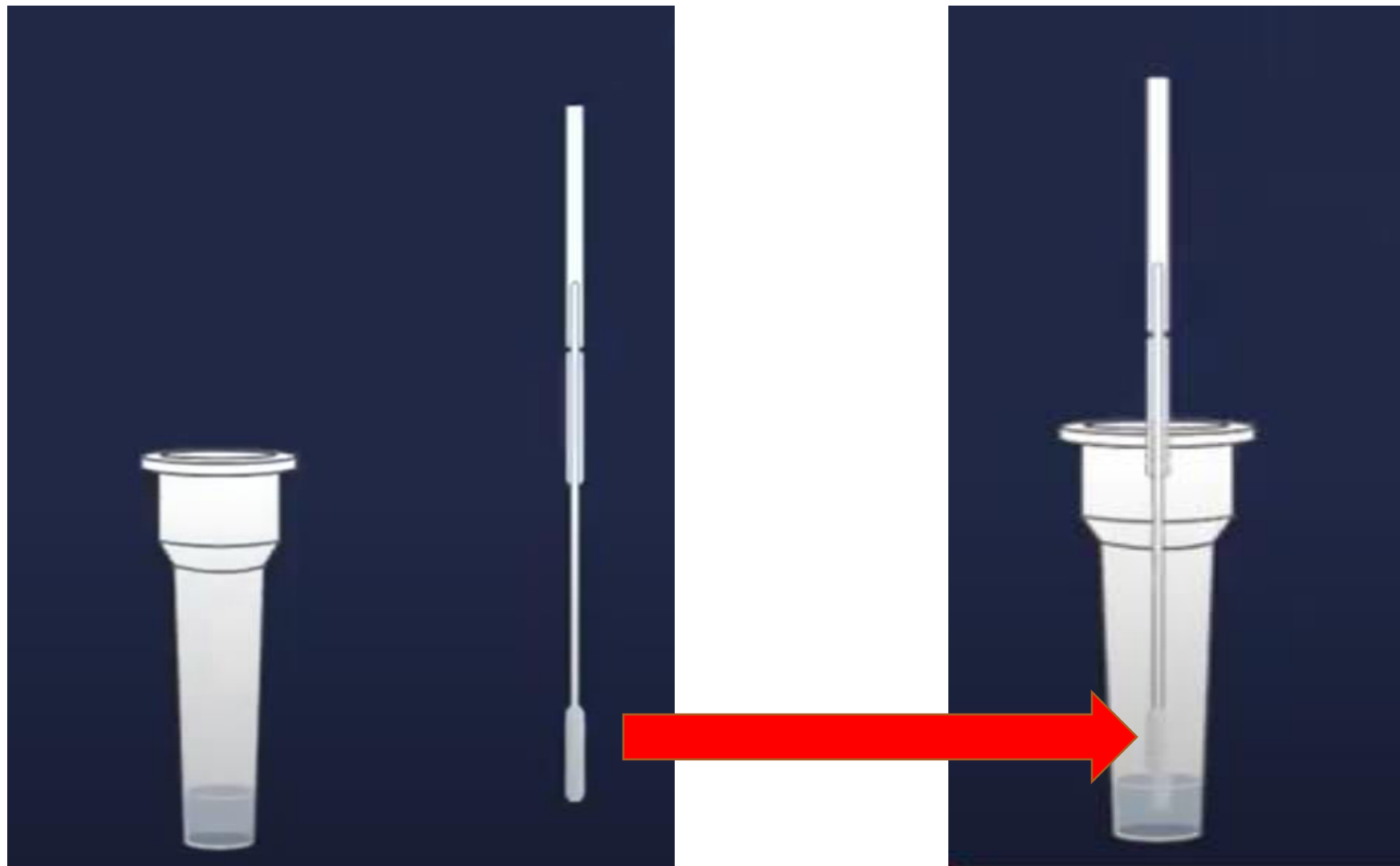
Амьсгалын дээд замаас сорьц авах

Collection of Oropharyngeal throat, Nasal Middle Turbinate or Nasopharyngeal Swabs

Хамарзалгуурын арчдас



Арчдас авсан бамбрыг экстракцын буферт хийх





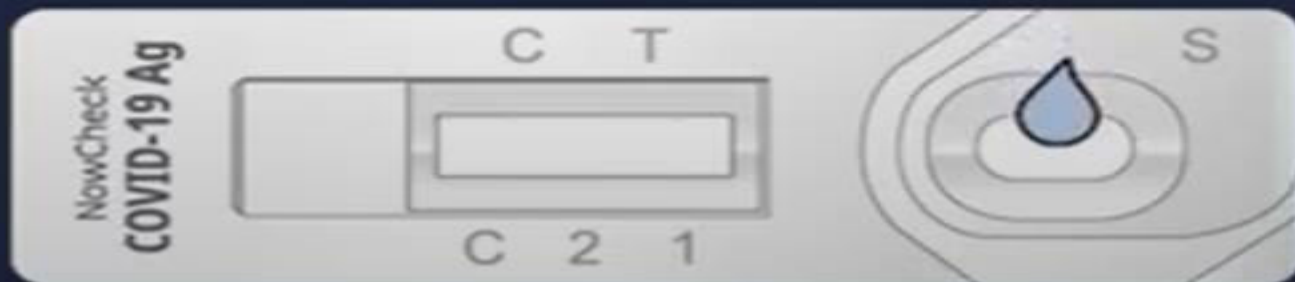
**5 минутын турш
суспензлэх**



**Шүүлтүүртэй тагаар
таглах**



3
drops



Экстрактыг хурдавчилсан
тестийн сорьц дусаах хэсэгт
шүүж дусаана

3 дусал байхад хангалттай

Оношлуур үйлдвэрлэгч нь
шинжилгээний хугацааг
тогтоож өгсөн байна.

Шинжилгээний урвал явагдах
хугацаа дунджаар 15-20 минут
байдаг.



Үйлдвэрлэгчийн тогтоосон хугацаанаас хэтрүүлсэн тохиолдолд хуурамч дүн өгөх магадлалтай.

Иймд үр дүнг уншихад зохих хугацааг баритлах ёстой.



COVID-19 Ag
NEGATIVE

Зөвхөн хяналтын (C) зурвас дээр **улаан яагаан** өнгө өгвөл уг сорил ажиллаж байгааг илтгэхээс гадна **сөрөг** үр дүнг илтгэнэ.



COVID-19 Ag
POSITIVE

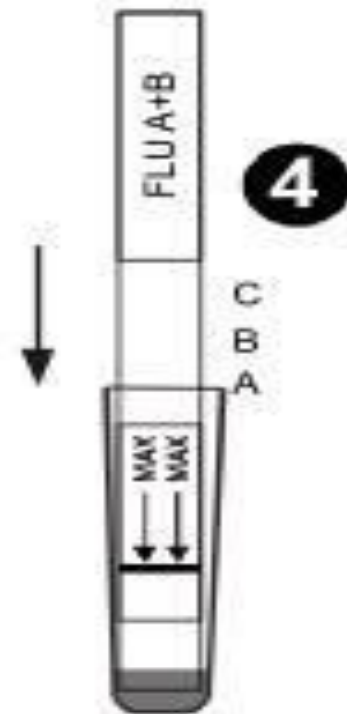
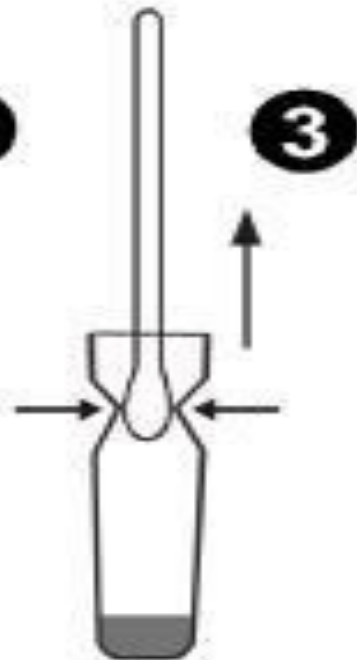
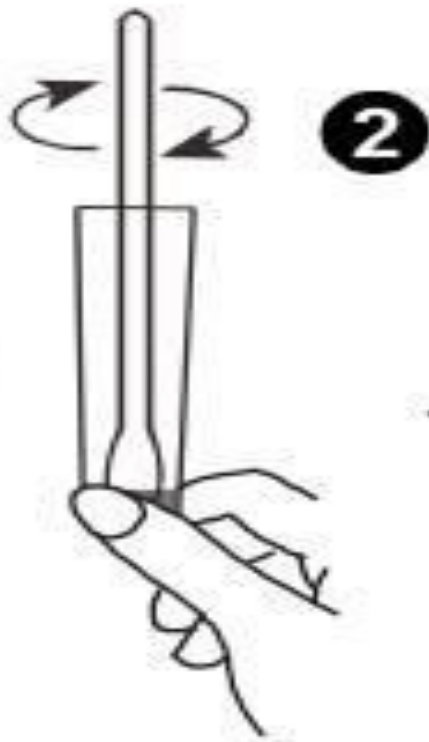
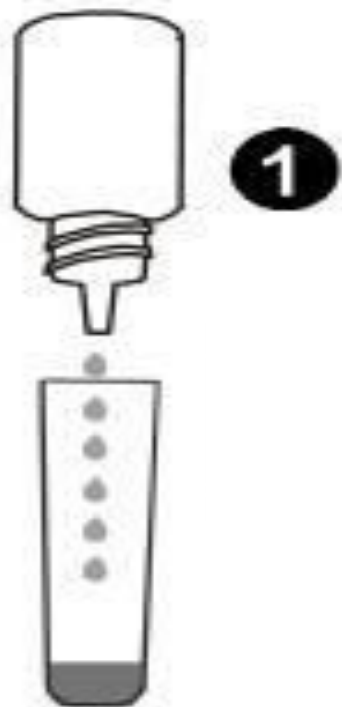
Зөвхөн хяналтын (C) болон сорилын (T) зурвасууд дээр **улаан яагаан** өнгө өгвөл тухайн сорил **эерэг** үр дүнг илтгэнэ.



**COVID-19 Ag
INVALID**

Хяналтын (C) зурвас дээр **улаан яагаан** өнгө өгөөгүй бол үр дүнг хүчингүйд тооцож шинжилгээг давтаж хийнэ.

Сорьц боловсруулах ба хурдавчилсан сорилын бусад хувилбар



15 минут

Иммунологийн шинжилгээний аргууд (эсрэгтөрөгч, эсрэгбиеийг илрүүлнэ)

Анхан шатны илрүүлэг



Хурдавчилсан оношлуур

Бусад шинжилгээ

ФХЭБУ



ХЛИА



Молекул биологи (вирусийн генийг илрүүлнэ)

Бай нуклеотид тодорхойлох



БХ-ПГУ (real-time RT-PCR)

- Эсрэгтөрөгч илрүүлэх түргэвчилсэн оношлуурын мэдрэг ба өвөрмөц чанар нь вирус өсгөвөрлөх болон УТ-ПГУ-аас бага.
- Ихэнх тестийн мэдрэг чанар 50-70%, өвөрмөц чанар 90% гаруй.

**Анхааралтай сонссон та
бүхэнд баярлалаа**