



ХАЛДВАРТ ӨВЧИН СУДЛАЛЫН  
ҮНДЭСНИЙ ТӨВ



*Томуугийн вирус болон амьсгалын  
замын бусад вирусын халдварыг  
илрүүлэх ПГУ-ын  
зарчим, шинжилгээний аргачлал*

АУ-ы магистр Н.Баясгалан



*Вирүсийн халдвар*

*Томуу болон Томуу төст өвчин үүсгэгчид нь даяарчлагдсан энэ нийгэмд богино хугацаанд олон хүндыг хамарсан халдвар үүсэж байна.*

*2009 онд A(H1N1)pdm, 2019 онд SARS-CoV-2 вирус тус тус цар тахал үүсгэсээж одоо ч үргэлжилсээр байна.*

*Цартарал хэзээ болохыг урьдчилан хэлэх аргагүйн адилаар цартахал үүсгэгч вирүсийн тухай ч урьдчилан хэлэх аргагүй юм. Иймд бүс нутагтаа ямар вирус, эргэлтэнд байгааг тогтоож байх нь чухал байна.*




## Вирүсийн төрөл




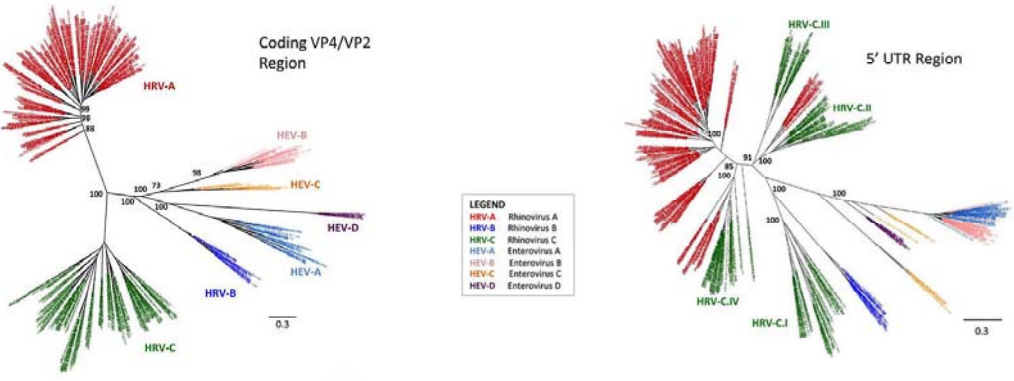
| Virus family | Representative Species   |
|--------------|--|
| (+ ssRNA)    | Picornaviridae<br>Poliovirus (PV)<br>Human rhinovirus (HRV)<br>Foot-and-mouth-disease virus (FMDV)<br>Coxsackie viruses (CV)<br>Hepatitis A virus (HAV)  |
|              | Caliciviridae<br>Rabbit hemorrhagic disease virus (RHDV)<br>Norwalk virus (NV)<br>Sapporo virus  |
|              | Togaviridae<br>Sindbis virus   |
|              | Flaviviridae<br>West Nile virus (WNV)<br>Yellow fever virus<br>Dengue virus (DENV)<br>Japanese encephalitis disease virus (JEV)<br>Hepatitis C virus (HCV)<br>Bovine viral diarrhea virus (BVDV) |
|              | Orthomyxoviridae<br>Influenza virus  |
| (-) ssRNA    | Paramyxoviridae<br>Measles and mumps viruses   |
|              | Bunyaviridae<br>Hantavirus   |
|              | Rhabdoviridae<br>Rabies virus  |
|              | Filoviridae<br>Ebola and Marburg virus   |
|              | Bornaviridae<br>Borna disease virus  |
| dsRNA        | Cystoviridae<br>Bacteriophage φ6   |
|              | Reoviridae<br>Reovirus   |
|              | Birnaviridae<br>Fish infectious pancreatic necrosis virus (IPNV)   |





## Томуу, Томуу төст өвчин үүсгэгч вирүсийн дэд бүлэг





- Rhinovirus A: 1, 2, 7–13, 15, 16, 18–25, 28–34, 36, 38–41, 43–47, 49–51, 53–68, 71, 73–78, 80–82, 85, 88–90, 94–96, 98, 100–103
- Rhinovirus B: 3–6, 14, 17, 26, 27, 35, 37, 42, 48, 52, 69, 70, 72, 79, 83, 84, 86, 91–93, 97, 99
- Rhinovirus C: 1–51



## ХӨСҮТ дээр илрүүлж буй ТТӨ-ны вирусүүд



1. Томуу А хэвшинж, А(H1N1), А(H1N1)pdm, А(H3N2), А(H5N1), А(H7N9)
2. Томуу В хэвшинж, Томуу В хүрээний Victoria, Томуу В хүрээний Yamagata
3. Иж томуугийн-1, 2, 3, 4
4. Аденовирус
5. Амьсгалын замын синциталь вирусын А/В
6. Риновирус/ Энтеровирус
7. Улирлын Коронавирус OC43, NL63, 229E
8. MERS, SARS-1, SARS-CoV-2
9. Бокавирус
10. Пареховирус
11. Метапневмовирус
12. Улаанбурхан
13. Улаанууд
14. Гахайн хавдар
15. Парвовирус-В19
16. Денгевирус
17. Чикангуниавирус
18. Сармагчины салхин цэцэг

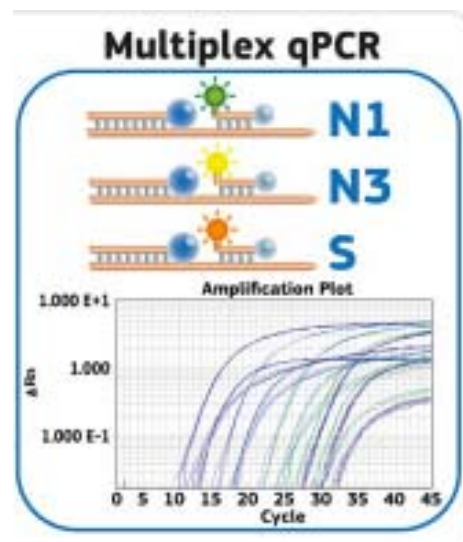
| №  | Товч нэр       | Нэрс                          |
|----|----------------|-------------------------------|
| 1  | Flu A          | Influenza A                   |
| 2  | A(H1N1)Pd<br>m | Pandemic influenza 2009       |
| 3  | FluB           | Influenza B                   |
| 4  | A(H3N2)        | Influenza A subtyping A(H3N2) |
| 5  | RSV-A          | Respiratory syncytial virus A |
| 6  | RSV-B          | Respiratory syncytial virus B |
| 7  | AdV            | Adenovirus                    |
| 8  | MPV            | Human metapneumovirus         |
| 9  | HEV            | Human enterovirus             |
| 10 | PIV-1          | Human parainfluenza virus-1   |
| 11 | PIV-2          | Human parainfluenza virus-2   |
| 12 | PIV-3          | Human parainfluenza virus-3   |
| 14 | PIV-4          | Human parainfluenza virus-4   |
| 15 | HboV           | Human bocavirus 1/2/3/4       |
| 16 | HRV            | Human rhinovirus A/B/C        |
| 17 | CoV-229E       | Human coronavirus 229E        |
| 18 | CoV-NL63       | Human coronavirus NL63        |
| 19 | CoV-OC43       | Human coronavirus OC43        |
| 20 | IC             | Internal Control              |



## Мультимплекс бодит хугацааны ПГУ-ын шинжилгээ гэж юу вэ?



Мультимплекс полимеразын гинжин урвал (Мультимплекс ПГУ) нь хэд хэдэн өөр ДНХ-ийн дарааллыг нэгэн зэрэг олшруулахын тулд полимеразын гинжин урвалыг ашиглахыг хэлнэ (нэг урвалд олон тусдаа ПГУ-ын урвалыг гүйцэтгэх).





## Мультимплекс бодит хугацааны ПГУ-ын шинжилгээг нэг вирүс дээр хэрхэн ашиглах бэ?



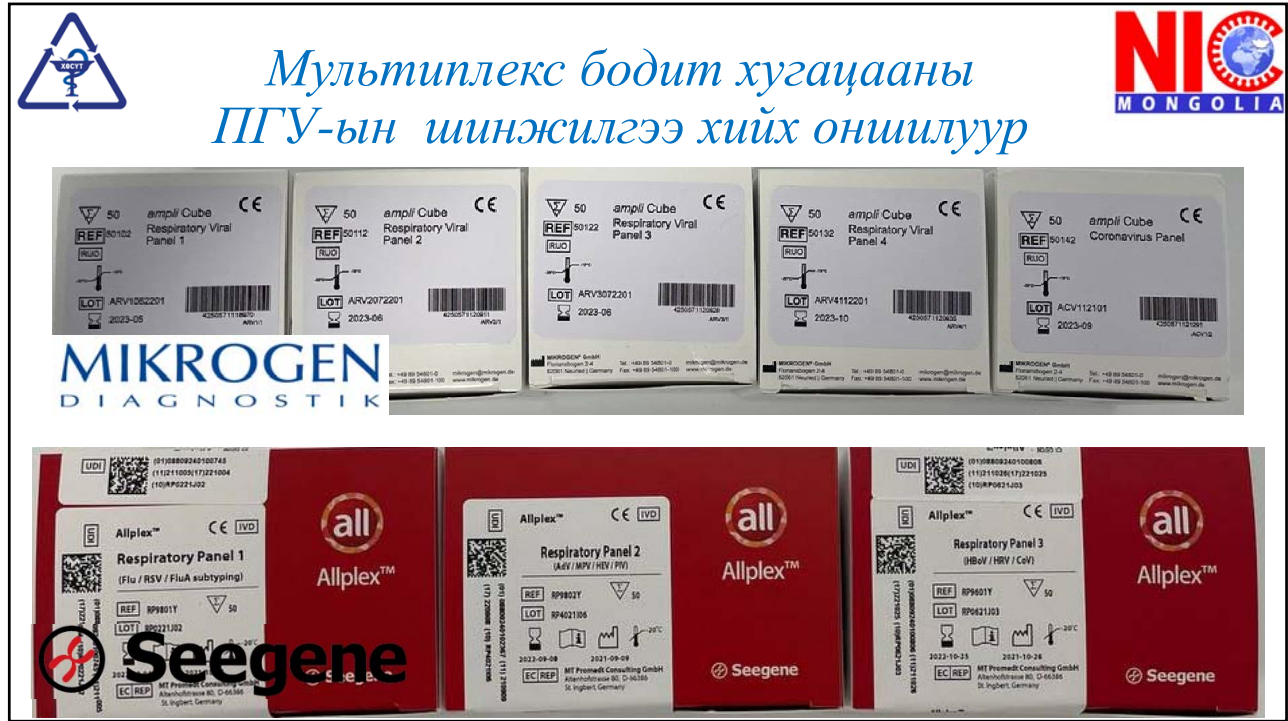





## Мультимплекс бодит хугацааны ПГУ-ын шинжилгээг олон вирүс дээр яаж ашиглах бэ?




|            |  |   |   |
|------------|--|---|---|
| Томуу А    | <div style="border: 1px solid gray; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <b>Variant 1</b><br/>  </div> | <br>PCR with all four primer pairs in a single tube |  |
| Аденовирүс | <div style="border: 1px solid gray; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <b>Variant 2</b><br/>  </div> |   |   |
| Иж томуу   | <div style="border: 1px solid gray; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <b>Variant 3</b><br/>  </div> |   |   |
| Риновирүс  | <div style="border: 1px solid gray; padding: 5px; margin-bottom: 5px;"> <b>Variant 4</b><br/>  </div> |   |   |






## Микроген Мультиплекс бодит хугацааны ПГУ оншилуур



| №   | Товч нэрс         | Илрүүлэх праймер/проб                               |
|-----|-------------------|---|
| 1   | Flu               | Primer/probe mix for FluA, A(H1N1)Pdm, FluB, IC     |
| 2   | Para PP, HBoV     | Primer/probe mix for Para 1-4, HBoV, IC             |
| 3   | PV, Hump, RSV A/B | Primer/probe mix for PV, Hump, RSV A/B, IC          |
| 4   | RV/EV, HAdV       | Primer/probe mix for AV, RV/EV, IC                  |
| CoV | COR PP            | Primer/probe mix for Mers CoV, SARS-CoV-2, HCoV, IC |



Respiratory Viral Panel 1  
Respiratory Viral Panel 2  
Respiratory Viral Panel 3  
Respiratory Viral Panel 4  
Respiratory Viral Panel CoV

|    |            |                                     |
|----|------------|-------------------------------------|
| 1  | Flu A      | Influenza A                         |
| 2  | A(H1N1)Pdm | Pandemic influenza 2009             |
| 3  | FluB       | Influenza B                         |
| 4  | Para       | Parainfluenza 1-4                   |
| 5  | HboV       | Bocavirus                           |
| 6  | PV         | Parechovirus                        |
| 7  | Hump A/B   | Human metapneumovirus A and B       |
| 8  | RSVA/B     | Respiratory syncytial virus A and B |
| 9  | AV         | Adenovirus                          |
| 10 | RV/EV      | Rhinovirus/Enterovirus              |
| 11 | MersCoV    | Mers Coronavirus                    |
| 12 | SARS-CoV-2 | SARS-CoV, SARSCoV-2, Bat Sars       |
| 14 | HCoV       | Coronavirus NL63, 229E, OC43, HKU1  |



## Микроген Мультиплекс бодит хугацааны ПГУ оншилгуур



| Panel-1      | Flu A | A(H1N1)Pdm | FluB       | IC        |
|--------------|-------|------------|------------|-----------|
| Будагч бодис | FAM   | HEX        | ATTO Rho12 | ATTO 647N |
| Гэрлийн урт  | 510nm | 580nm      | 610nm      | 660nm     |

| Panel-2      | Para  | HboV  | IC        |
|--------------|-------|-------|-----------|
| Будагч бодис | FAM   | HEX   | ATTO 647N |
| Гэрлийн урт  | 510nm | 580nm | 660nm     |

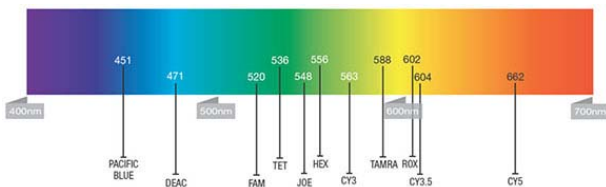
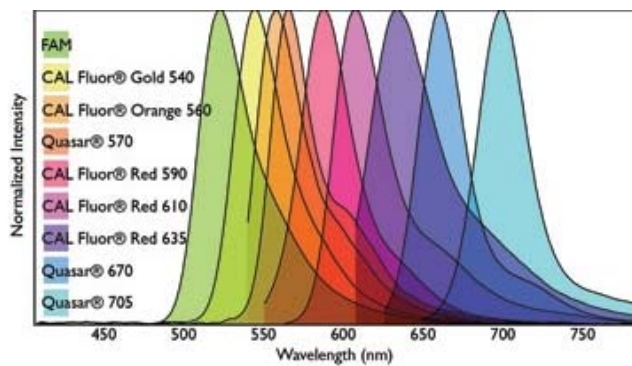
| Panel-3      | PV    | Hump A/B | RSVA/B     | IC        |
|--------------|-------|----------|------------|-----------|
| Будагч бодис | FAM   | HEX      | ATTO Rho12 | ATTO 647N |
| Гэрлийн урт  | 510nm | 580nm    | 610nm      | 660nm     |

| Panel-4      | AV    | RV/EV | IC        |
|--------------|-------|-------|-----------|
| Будагч бодис | FAM   | HEX   | ATTO 647N |
| Гэрлийн урт  | 510nm | 580nm | 660nm     |

| Panel-CoV    | MersCoV | SARS-CoV-2 | HCoV       | IC        |
|--------------|---------|------------|------------|-----------|
| Будагч бодис | FAM     | HEX        | ATTO Rho12 | ATTO 647N |
| Гэрлийн урт  | 510nm   | 580nm      | 610nm      | 660nm     |



## БХ-ПГУ-ын багажийн зарчим



| Dye              | Abs | Em  | Ext. Coeff |
|------------------|-----|-----|------------|
| Alexa Fluor 350  | 346 | 442 | 19000      |
| AMCA             | 353 | 442 | 19000      |
| Pacific Blue     | 416 | 451 | 37000      |
| Marina Blue      | 362 | 459 | 19000      |
| BODIPY 493/503   | 500 | 509 | 79000      |
| BODIPY FL        | 504 | 510 | 70000      |
| Oregon Green 488 | 496 | 516 | 76000      |
| Alexa Fluor 488  | 495 | 519 | 71000      |
| Oregon Green 500 | 499 | 519 | 84000      |
| FAM              | 495 | 520 | 83000      |
| FTC              | 495 | 520 | 73000      |
| Fluorescein      | 495 | 520 | 83000      |
| Oregon Green 514 | 506 | 526 | 82000      |
| Rhodamine Green  | 503 | 528 | 78000      |
| TET              | 521 | 536 | 72000      |
| Alexa Fluor 430  | 434 | 541 | 16000      |
| Bodipy-R6G       | 528 | 547 | 70000      |
| JOE              | 520 | 548 | 72000      |
| HEX              | 535 | 556 | 72000      |
| Alexa Fluor 555  | 555 | 565 | 150000     |
| BODIPY 564/570   | 536 | 569 | 142000     |
| BODIPY TMR       | 544 | 570 | 56000      |
| Cy3              | 552 | 570 | 150000     |
| TAMRA            | 544 | 576 | 90000      |
| Rhodamine Red    | 560 | 580 | 129000     |
| BODIPY 581/591   | 581 | 591 | 136000     |
| Cy3.5            | 581 | 596 | 150000     |
| ROX              | 575 | 602 | 82000      |
| Texas Red        | 583 | 603 | 116000     |
| BODIPY TR        | 588 | 616 | 68000      |
| BODIPY 630/650   | 635 | 640 | 101000     |
| Alexa Fluor 647  | 650 | 665 | 239000     |
| BODIPY 650/665   | 650 | 665 | 101000     |
| Cy5              | 643 | 667 | 250000     |
| Alexa Fluor 660  | 663 | 690 | 132000     |
| Cy5.5            | 675 | 694 | 250000     |
| Alexa Fluor 680  | 679 | 700 | 184000     |
| IRD 700          | 681 | 705 | 170000     |
| IRD 800          | 787 | 807 | 200000     |

Quenchers


Dabcyl

BHQ-1


QSY-7

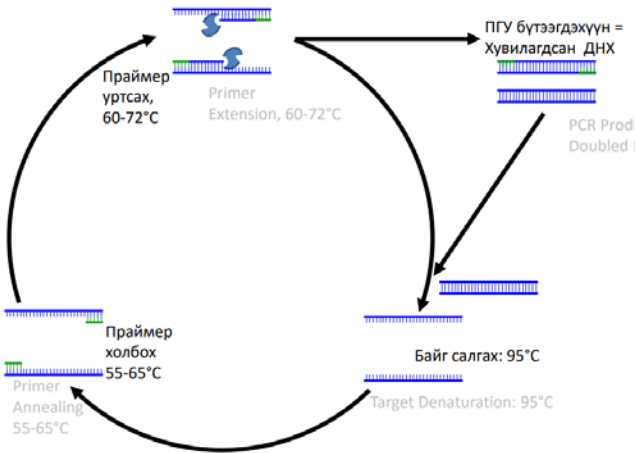
BHQ-2

Although the data presented in this table have been checked for accuracy, the emission and absorption maxima may vary slightly with each dye.



## Mikrogen Мультиплекс бодит хугацааны ПГУ оншилгуур





| Үе шат | Температур | Хугацаа   | Циклийн тоо |
|--------|------------|-----------|-------------|
| 1      | 50°C       | 8 минут   | 1           |
| 2      | 95°C       | 3 минут   | 1           |
| 3      | 95°C       | 10 секунд | 45          |
| 4      | 60°C       | 45 секунд |             |



## Mikrogen Мультиплекс бодит хугацааны ПГУ урвалжсийн найрлага






| Мастер холимог                                    |            |             |     |              |
|---|------------|-------------|-----|--------------|
| Урвалж  | нэгж       | хэмжээ      | тоо | Бүгд /мкл/   |
| PP mix  | mk1        | 5.0         | 19  | 95.0         |
| Enzyme mix  | mk1        | 10.0        |     | 190.0        |
| <b>Нийт</b>                                       | <b>mk1</b> | <b>15.0</b> |     | <b>285.0</b> |
| Холимог дээр <b>10мкл</b> вирусийн РНХ/ДНХ НЭМНЭ. |            |             |     |              |



## Seegene Allplex Мультиплекс бодит хугацааны ПГУ оншилгуур



| № | Товч нэрс              | Илрүүлэх праймер/проб   |
|---|------------------------|---|
| 1 | Flu/RSV/FluA subtyping | Primer/probe mix for FluA, A(H1N1)Pdm, FluB,A(H3N2), RSV/A, RSV/B, IC |
| 2 | AdV/MPV/HEV/PIV        | Primer/probe mix for AdV, MPV, HEV, PIV-1, PIV-2, PIV-3, PIV-4, IC    |
| 3 | HBoV/HRV/CoV           | Primer/probe mix for HBoV, HRV, CoV-229E, CoV-NL63, CoV-OC43, IC      |



Respiratory Panel 1  
Respiratory Panel 2  
Respiratory Panel 3



|            |                               |
|------------|-------------------------------|
| Flu A      | Influenza A                   |
| A(H1N1)Pdm | Pandemic influenza 2009       |
| FluB       | Influenza B                   |
| A(H3N2)    | Influenza A subtyping A(H3N2) |
| RSV-A      | Respiratory syncytial virus A |
| RSV-B      | Respiratory syncytial virus B |
| AdV        | Adenovirus                    |
| MPV        | Human metapneumovirus         |
| HEV        | Human enterovirus             |
| PIV-1      | Human parainfluenza virus-1   |
| PIV-2      | Human parainfluenza virus-2   |
| PIV-3      | Human parainfluenza virus-3   |
| PIV-4      | Human parainfluenza virus-4   |
| HboV       | Human bocavirus 1/2/3/4       |
| HRV        | Human rhinovirus A/B/C        |
| CoV-229E   | Human coronavirus 229E        |
| CoV-NL63   | Human coronavirus NL63        |
| CoV-OC43   | Human coronavirus OC43        |
| IC         | Internal Control              |



## Мультиплекс бодит хугацааны ПГУ багаж



FAM

HEX

ROX

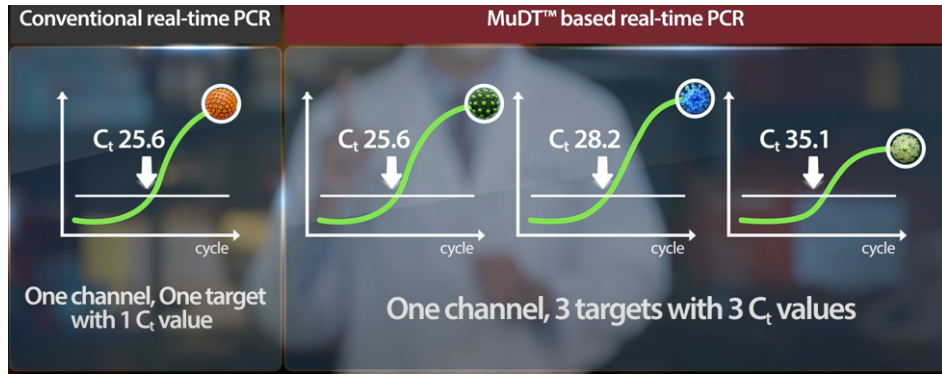
CY.5

CY.5.5





# Seegene Allplex Мультиплекс бх-ПГУ арга



FAM

FAM-1

FAM-2

FAM-3



# Seegene Allplex Мультиплекс бх-ПГУ онишлуур





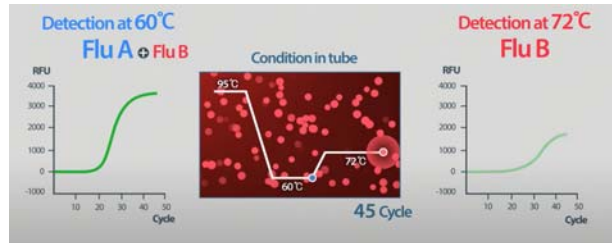
*Seegene Allplex Мультиплекс бх-  
ПГУ арга*




| Conventional real-time PCR assay |       |       |             |            | MuDT™ based assay (C <sub>t</sub> value) |       |       |       |         |             |              |            |      |
|----------------------------------|-------|-------|-------------|------------|--|-------|-------|-------|---------|-------------|--------------|------------|------|
| Sample No.                       | FAM   | HEX   | Cal Red 610 | Quasar 670 | Sample No.                               | FAM   |       | HEX   |         | Cal Red 610 |              | Quasar 670 |      |
|                                  | RSV A | Flu B | Flu A       | IC         |  | RSV A | RSV B | Flu B | FluA-H1 | Flu A       | FluA H1pdm09 | FluA-H3    | IC   |
| 1                                | 35.8  | -     | 28.1        | 28.5       | 1  | 35.8  | -     | -     | 28.3    | 28.1        | -            | -          | 28.5 |
| 2                                | -     | 28.9  | 36.7        | 29.0       | 2  | -     | -     | 28.9  | -       | 36.7        | 36.2         | -          | 29.0 |
| 3                                | -     | -     | 28.6        | 29.1       | 3  | -     | 34.2  | -     | 26.2    | 28.3        | 35.1         | -          | 29.1 |
| 4                                | -     | -     | 25.6        | 30.2       | 4  | -     | -     | -     | -       | 25.5        | -            | 28.6       | 30.2 |




*Seegene Allplex Мультиплекс бх-  
ПГУ арга*






## Seegene Allplex Мультиплекс бх- ПГУ арга

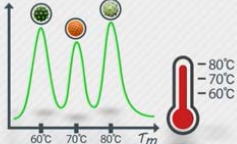


### DPO™ technology




Multiple target amplification

### TOCE™ technology




Multiple target detection  
in a single channel


### MuDT™ technology




Multiple Ct value analysis  
in a single channel

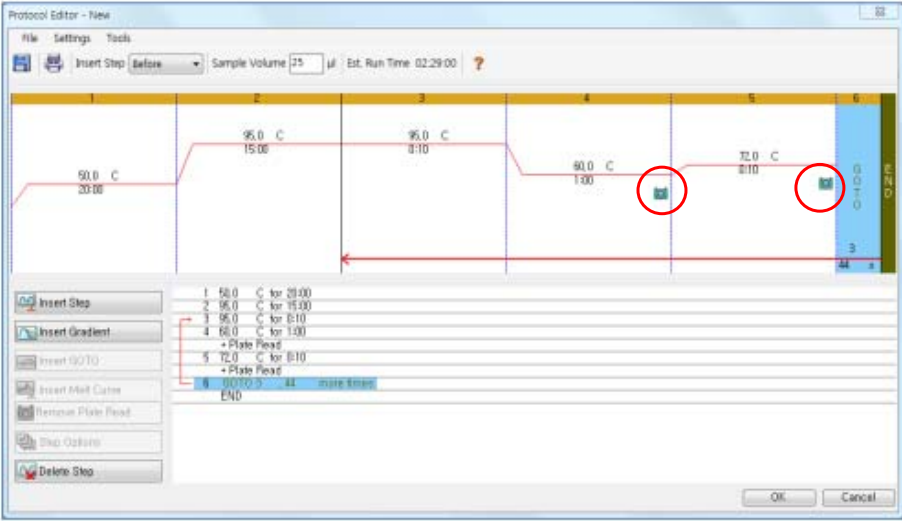


# Seegene




## Seegene Allplex Мультиплекс бодит хугацааны ПГУ шинжилгээ



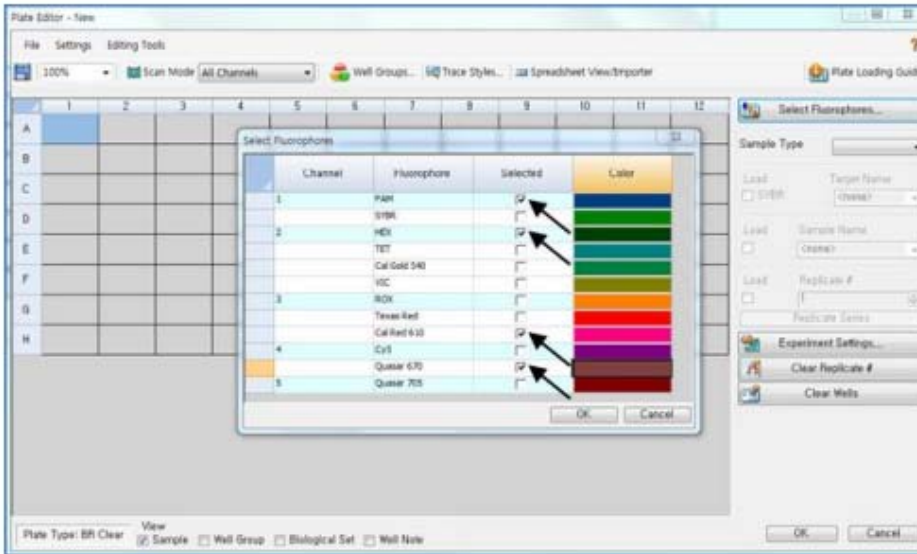


| Үе шат | Температур | Хугацаа | Циклийн тоо |
|--------|------------|---------|-------------|
| 1      | 50°C       | 20'     | 1           |
| 2      | 95°C       | 15'     | 1           |
| 3      | 95°C       | 10"     | 45          |
| 4      | 60°C       | 1'      |             |
| 5      | 72°C       | 10"     |             |





## Seegene Allplex Мультимплекс бодит хугацааны ПГУ шинжилгээ



FAM  
HEX  
Cal Red 610  
Quasar 670



## Seegene Allplex Мультимплекс бодит хугацааны ПГУ урвалжсийн найрлага



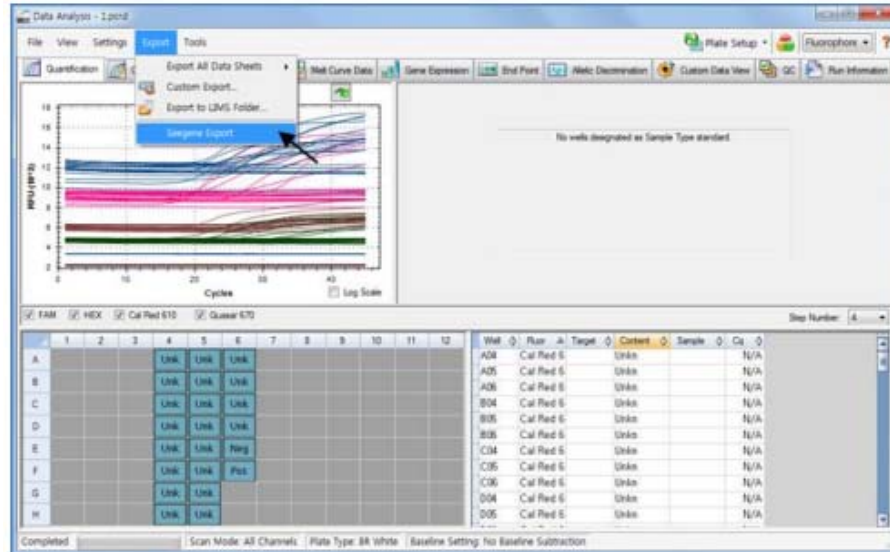
| Мастер холимог  |      |        |     |            |
|-----------------|------|--------|-----|------------|
| Урвалж          | нэгж | хэмжээ | тоо | Бүгд /mkl/ |
| PP mix, RP1-3   |      | 5.0    | 32  | 160.0      |
| МOM             | mkl  |        |     | 64.0       |
| Enzyme mix      | mkl  | 2.0    |     | 160.0      |
| 5 X Buffer      | mkl  | 5.0    |     | 160.0      |
| Water/IC-0.5-2/ | mkl  | 5.0    |     | 160.0      |
| Нийт            | mkl  | 17.0   |     | 544.0      |

Холимог дээр **8 mkl** вирусийн РНХ/ДНХ нэмнэ.





*Seegene Allplex Мультиплекс бодит хугацааны ПГУ үр дүнг унших*



*Seegene Allplex Мультиплекс бодит хугацааны ПГУ үр дүнг унших*



| Fluorophore | Analyte       |          |
|-------------|---------------|----------|
|             | Graph 1       | Graph 2  |
| FAM         | RSV A         | Flu A    |
| HEX         | RSV B         | Flu B    |
| Cal Red 610 | Flu A-H1pdm09 | Flu A-H1 |
| Quasar 670  | IC            | Flu A-H3 |

| Fluorophore | Analyte |         |
|-------------|---------|---------|
|             | Graph 1 | Graph 2 |
| FAM         | PIV4    | MPV     |
| HEX         | PIV2    | PIV1    |
| Cal Red 610 | Adv     | HEV     |
| Quasar 670  | IC      | PIV3    |

| Fluorophore | Analyte |         |
|-------------|---------|---------|
|             | Graph 1 | Graph 2 |
| FAM         | OC43    | HBoV    |
| HEX         | 229E    | NL63    |
| Cal Red 610 | HRV     | -       |
| Quasar 670  | IC      | -       |

*Анхааралтай сонсонд баярлалаа*