SARS-CoV-2 вирусын халдварыг илрүүлэхэд ашиглаж буй нуклейн хүчил ялгах аргуудыг харьцуулан судалсан нь

Ж.Тэмүүлэн[1], Г.Чимэдлхамсүрэн[2], Ц.Наранзул[3], Б.Номин-Эрдэнэ[4], Э.Ариунгэрэл[5], Н.Тэмүлүн[6], Ж.Сарантуяа[2]

[1]АШУҮИС, Био-АС
[2]АШУҮИС, Био-АС, Молекул биологи Удамзүйн тэнхим
[3]ХӨСҮТ, Вирус судлалын лаборатори
[4]Сүхбаатар Дүүргийн Эрүүл Мэндийн төв
[5]Баянзүрх Дүүргийн Эрүүл Мэндийн төв
[6]Юнимед эмнэлэг
Цахим шуудан: temka.jomko@gmail.com, Утас: 95194000

Түлхүүр үг:

SARS-CoV-2
Нуклейн хүчил ялгах арга
БхУТ-ПГУ
Цомог
Ст утга

Товч утга: Урвуу транскриптазит бодит хугацааны полимеразын гинжин урвал (БхУТ-ПГУ)-аар SARS-CoV-2 вирусын халдварыг илрүүлэхэд цэврээр ялгасан нуклейн хүчлийн гарц өндөр, цэвэршилт сайн, саатуулагчийн агууламжгүй байх зэрэг нь шинжилгээний хариу алдаагүй, үнэн зөв гарахад чухал ач холбогдолтой.[1] Манай орны эмнэлзүйн молекул оношилгооны практикт вирусын нуклейн хүчлийг цэврээр ялгах хэд хэдэн үйлдвэрлэгчдийн ялгаатай цомог, төхөөрөмжүүдийг ашиглаж байна. Бид ийнхүү өөр өөр нуклейн хүчил ялгах аргуудыг ашиглах нь шинжилгээний үр дүн ба оношийн үл тохироонд нөлөөлөх хүчин зүйл болох боломжтой хэмээн таамаглаж энэхүү судалгааг хийлээ. Судалгааны ажлын зорилго нь Улаанбаатар хотод үйл ажиллагаа явуулж буй эмнэлзүйн лабораториудад SARS-CoV-2-ийг илрүүлэхэд ашиглаж буй нуклейн хүчил ялгах аргуудыг харьцуулахад оршино. Судалгаанд SARS-CoV-2 эерэг 13, сөрөг 1 сорьц ашигласан. Бид хаалттай систем бүхий 5 ялгаатай автомат нуклейн хүчил ялгах төхөөрөмжүүдээр ялгасан нуклейн хүчилд хийгдсэн бх-ПГУ-ын шинжилгээний үр дүн ба Ст утгыг харьцуулсан. Статистик боловсруулалтанд ROC муруйн анализ, Фриедманы тест ба Манн Увитней Ю тест ашиглав. M12 аргаар ялгасан нуклейн хүчлийн сорьцуудад SARS-CoV-2-ийн бай дарааллуудын Ст утга харьцангуй бага тодорхойлогдсон. ROC муруйн анализаар сорьцын хариу ба ялгасан нуклейн хүчилд хийгдсэн бх-ПГУ-ын үр дүн судлахад M12 (AUC=1.00; 95% ИИ, 0.968-1.00) ба S48 (AUC=0.991; 95% ИИ, 0.951-1.00) аргууд харьцангуй өндөр нийцэмжтэй байлаа. Бидний судалгааны үр дүн M12 ба S48 аргуудаар ялгасан нуклейн хүчилд бх-ПГУ-ын Ст утга бага, AUC харьцангуй өндөр буюу уг аргууд нь өндөр үр ашигтай байгааг харуулж байна. Судалгаагаар харьцуулсан нуклейн хүчил ялгах аргуудын үр ашиг ялгаатай байгаа нь өөр өөр нуклейн хүчил ялгах арга ашиглах нь шинжилгээний үр дүнд нөлөөлөх хүчин зүйл болж буйг харуулж байна.

Үндэслэл: Дэлхий дахинд КОВИД-19 цар тахал дэгдсэнээс хойш нуклейн хүчлийн молекулд суурилсан оношилгооны арга, төхөөрөмж, тэдгээрийн цомгууд их хэмжээгээр үйлдвэрлэгдэж, хэрэглэгдэх болсон. БхУТ-ПГУ-ын аргыг, SARS-CoV-2 вирусын халдварыг илрүүлэх, оношийг батлах зорилгоор голчлон ашиглаж байна.[2] БхУТ-ПГУ-ын арга нь вирусыг илрүүлэх бусад аргууд (вирусын антигенийг илрүүлэх, эсийн өсгөвөр, ийлдэс судлал гэх мэт)-аас мэдрэг ба өвөрмөц чанараар илүү, алдаа гарах магадлал бага байдгаар онцлогтой. БхУТ-ПГУ-аар SARS-CoV-2 вирусын халдварыг илрүүлэхийн тулд урьдчилан вирусын

РНХ-ийг цэврээр ялгах шаардлагатай. Автомат нуклейн хүчил ялгах аргуудын зарчим нь "соронзон шүр" (magnetic bead)-д суурилсан, ихэнх нь хаалттай системтэй, үйлдвэрлэгчийн санал болгосон нуклейн хүчил ялгах цомгийг ашиглан нуклейн хүчил ялгах боломжтой байдаг.[3] Өнөөг хүртэлх хугацаанд манай оронд ашиглагдаж буй нуклейн хүчил ялгах аргуудыг харьцуулан судалсан судалгааны үр дүн, мэдээлэл хараахан нийтлэгдээгүй байна. Нуклейн хүчлийн молекулд суурилсан оношилгоонд ашиглагдаж буй нуклейн хүчил ялгах, молекул оношилгооны бусад аргууд, протоколууд, тэдгээрийн үр ашгийг харьцуулан судлах нь оношилгоо тогтвортой, чанартай, лаборатори хоорондын үл тохироо үүсэхгүй, үйлчлүүлэгчид төөрөгдөл үүсгэхгүй, шинжилгээний үнэн байдалд итгэх итгэлийг нэмэгдүүлэх, цаашлаад эмнэлзүйн молекул оношилгооны ирээдүйн чиг хандлагад ихээхэн ач холбогдолтой хэмээн үзэж байна. Тиймээс бид энэхүү судалгаагаар SARS-CoV-2 вирусын халдварыг илрүүлэхэд ашиглаж буй зарим нуклейн хүчил ялгах аргуудыг энгийн үзүүлэлтээр харьцуулан судласан болно.

Зорилго: Эмнэлзүйн молекул биологийн лабораториудад SARS-CoV-2 вирусын халдварыг илрүүлэхэд ашиглагдаж буй нуклейн хүчил ялгах аргуудыг гүйцэтгэлээр харьцуулан судлах

Зорилт:

1. Нуклейн хүчил ялгах аргуудаар ялгасан нуклейн хүчлийн сорьцуудад бх-ПГУ-ын үр дүнг бай дараалуудын Ст утга үзүүлэлтээр харьцуулах
2. Нуклейн хүчил ялгах аргуудаар ялгасан нуклейн хүчлийн сорьцуудад бх-ПГУ-ын үр дүнг сорьцын хариутай харьцуулан ROC муруйн шинжилгээ хийж аргуудын хоорондын нийцэмжийг үнэлэх

Арга, аргачлал: Энэхүү судалгааг агшингийн судалгааны загвараар хийж гүйцэтгэв. Судалгаанд Улаанбаатар хотод үйл ажиллагаа явуулж буй 5 лабораторийг зорилтот түүврийн аргаар сонгон хамруулсан. 5 лабораторит ашиглаж буй, 5 өөр үйлдвэрлэгчийн хаалттай систем бүхий автомат нуклейн хүчил ялгах төхөөрөмж, зориулалтын ялгах цомгуудыг судалгаанд ашигласан. SARS-CoV-2 эерэг хамар залгиурын 13, сөрөг 1 сорьцоос нуклейн хүчлийг ялгаж, ялгасан нуклейн хүчлүүдэд SARS-CoV-2-ыг илрүүлэх 3 төрлийн бх-ПГУ-ын цомгоор шинжилгээ хийж үр дүнг харьцуулав. Судалгаанд АШУҮИС-ийн үйлдвэрлэсэн SARS-CoV-2-ийг шүлснээс шууд илрүүлэх бодит хугацааны ПГУ-ын цомог (MSD-01-96/2), Seegene компанийн Novaplex™ SARS-CoV-2 Variant IV Assay цомог (R-RV10316Y), Orient gene компанийн SARS-CoV-2 RT-qPCR DeteCtion (101A0227EY) цомгуудыг ашиглав. Статистик боловсруулалтанд ROC муруйн шинжилгээ, Фриедманы тест, Манн-Увитней Ю тест ашиглав.

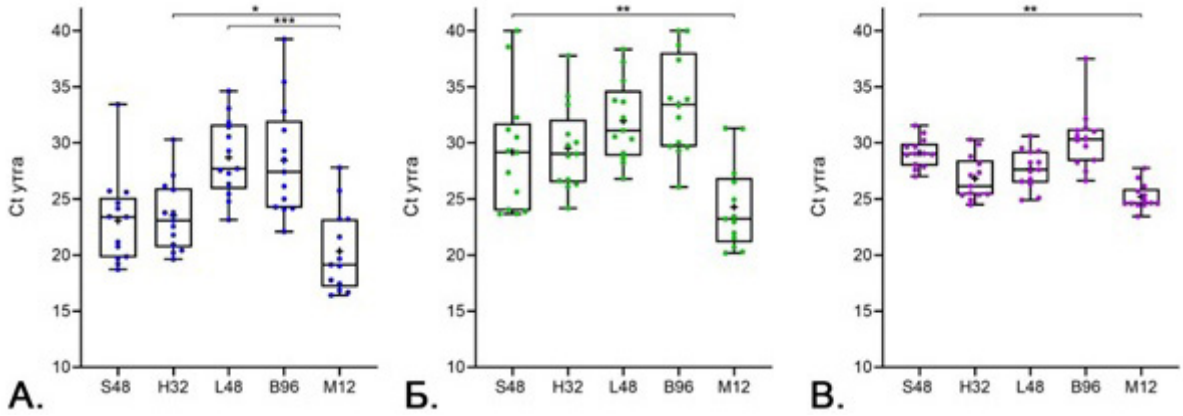
Үр дүн: Нуклейн хүчил ялгах аргуудыг бх-ПГУ-аар олшруулсан SARS-CoV-2-ын N, N1, N2, ORF1ab, S ба дотоод хяналт (РНХаза Пи, β-глобин гэх мэт)-ын бай дараалуудын Ст утгаар харьцуулахад M12 арга бай дараалал тус бүрд хамгийн бага Ст утгатай гарсан ($p<0.001$). Өөрөөр хэлбэл уг аргаар ялгасан нуклейн хүчилд хийгдсэн бх-ПГУ-ын олшруулалт хамгийн сайн, харьцангуй мэдрэг байгааг харуулж байна. Мөн S48, H32 аргуудаар ялгасан сорьцуудад N1, N, ORF1ab бай дараллын Ст утга харьцангуй бага байлаа. (Хүснэгт 1)

Хүснэгт 1. Бай дараалал тус бүрээр Ст утгыг харьцуулсан дүн

Бай ген	S48	H32	L48	B96	M12	P утга
N1	**23.07±3.98**	23.52±3.13	28.71±3.44	28.45±5.05	**20.36±3.68**	<0.001
N2	29.2±5.41	29.5±3.81	32.0±3.57	33.4±4.50	**24.3±3.82**	<0.001
РНХаза Пи	29.1±1.30	26.8±1.94	27.7±1.73	30.4±2.70	**25.2±1.16**	<0.001
N gene	**20.3±3.56**	**21.6±3.09**	27.8±4.45	27.6±5.37	**19.7±3.44**	<0.001
ORF1ab	**22.4±4.57**	**22.1±3.04**	31.3±8.21	28.8±6.21	**19.9±3.74**	<0.001
β-глобин	27.1±1.48	**25.1±1.94**	26.6±2.65	28.4±1.93	**23.7±1.59**	<0.001
S gene	**25.6±4.16**	32.6±4.46	33.7±4.99	38.2±4.19	**25.1±4.35**	<0.001
I.C	24.5±1.12	23.5±1.88	25.3±1.93	28.2±3.86	**21.8±1.64**	<0.001

Тайлбар: *Хувьсагчууд дундаж±стандарт хазайлтаар илэрхийлэгдсэн. Bold-оор тодруулсан хувьсагчид харгалзах нуклейн хүчил ялгах арга нь бусад аргуудаас статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай. P утгыг Фриедманы тестээр тооцоолсон.*

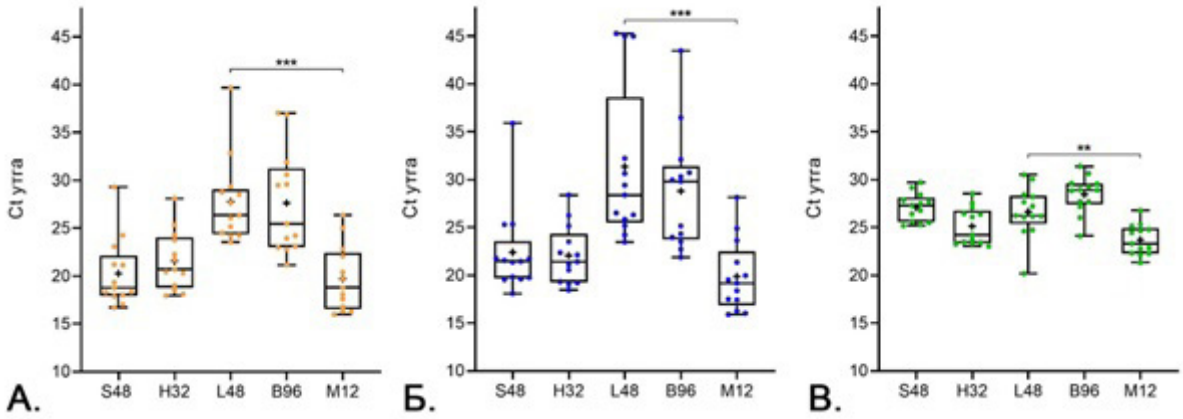
Бай дараллуудын Ст утгаар харьцуулсан үр дүнг бх-ПГУ-ын цомог тус бүрээр харьцуулан үзэхэд АШУҮИС-ийн үйлдвэрлэсэн MSD-01-96/2 дугаартай цомгийн N2 (24.3±3.82), дотоод хяналт (25.2±1.16)-ын бай дараллын Ст утга M12 аргад хамгийн бага ($p<0.01$) тодорхойлогдсон. Харин N1 бай дараллын Ст утгыг харьцуулахад M12 (20.36±3.68), S48 (23.07±3.98) аргууд ойролцоо ($p=0.051$) ба бусад аргуудаас харьцангуй бага байлаа. (Зураг 1)



Зураг 1. MSD-01-96/2 цомгоор олшруулсан бай дарааллуудын Ст утгуудыг харьцуулсан хайрцган график

Тайлбар: А. N1 бай дараалал, Б. N2 бай дараалал, В. Хүний РНХаза Пи бай дарааллын Ст утгуудын дундаж, хамгийн их ба бага утгуудыг аргуудаар харьцуулан харуулав. р утгыг Манн Увитней Ю тестээр тооцоолов. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

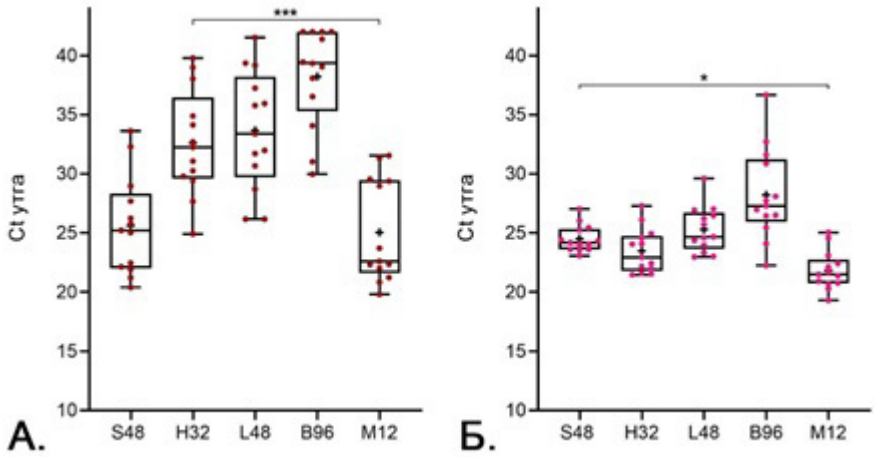
Orient Gene үйлдвэрлэгчийн 101A0227EY цомгоор хийсэн бх-ПГУ-ын үр дүнгээр SARS-CoV-2-ын N ба ORF1ab бай дарааллын Ст утга S48, H32, M12 аргуудад ойролцоо байлаа (p>0.05). Харин L48, B96 аргуудад Ст утга харьцангуй өндөр байлаа (p<0.001). Зураг 2-т Ст утгуудын бай дараалал тус бүрээр харьцуулсан үр дүнг харуулав. Харин хүний β-глобины дарааллын Ст утгыг харьцуулахад H32 (25.1±1.94), M12 (20.36±3.68) аргууд хоорондоо ойролцоо (p>0.05) ба S48, L48, B96 аргуудаас харьцангуй бага байлаа. (Зураг 2)



Зураг 2. 101A0227EY цомгоор олшруулсан бай дарааллуудын Ст утгуудыг харьцуулсан хайрцган график

Тайлбар: А. N бай дараалал, Б. ORF1ab бай дараалал, В. Хүний β-глобины дарааллын Ст утгуудын дундаж, хамгийн их ба бага утгуудыг аргуудаар харьцуулан харуулав. р утгыг Манн Увитней Ю тестээр тооцоолов. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

Seegene үйлдвэрлэгчийн R-RV10316Y цомгоор хийсэн бх-ПГУ-ын үр дүнгээр SARS-CoV-2-ын S бай дарааллын Ст утга S48 (25.6±4.16), M12 (25.1±4.35) аргуудад ойролцоо байлаа (p>0.05). Харин H32, L48, B96 аргуудад Ст утга харьцангуй өндөр байлаа (p<0.001). Зураг 3-т Ст утгуудын бай дараалал тус бүрээр харьцуулсан үр дүнг харуулав.



Зураг 3. R-RV10316Y цомгоор олшруулсан бай дарааллуудын Ст утгуудыг харьцуулсан хайрцган график

Тайлбар: А. S бай дараалал, Б. Дотоод хяналтын бай дарааллын Ст утгуудын дундаж, хамгийн их ба бага утгуудыг аргуудаар харьцуулан харуулав. р утгыг Манн Увитней Ю тестээр тооцоолов. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

Нуклейн хүчил ялгах 5 аргыг бх-ПГУ-аар олшруулсан SARS-CoV-2-ын N, N1, N2, ORF1ab, S бай дарааллууд ба дотоод хяналт (РНХаза Пи, β-глобин гэх мэт)-ын дарааллууд хэмээн 2 бүлэгт ангилж Ст утгуудаар харьцуулав. (Хүснэгт 2, Зураг 4)

Хүснэгт 2. SARS-CoV-2 ба дотоод хяналтын бай дарааллуудын Ст утгыг харьцуулсан дүн

	SARS-CoV-2-ийн бай дарааллууд (N, N1, N2, ORF1ab, S)	**Дотоод хяналтын дарааллууд**
S48	25.31±6.98	**24.84±3.38**
H32	26.76±6.51	26.29±2.75
L48	31.53±6.15	26.22±2.25
B96	31.75±6.41	26.87±3.24
M12	**23.32±6.82**	26.77±2.65
P утга	<0.001	<0.001

Тайлбар: *Хувьсагчууд дундаж±стандарт хазайлтаар илэрхийлэгдсэн. Bold-оор тодруулсан хувьсагчид харгалзах нуклейн хүчил ялгах арга нь бусад аргуудаас статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай. P утгыг Фриедманы тестээр тооцоолсон.*

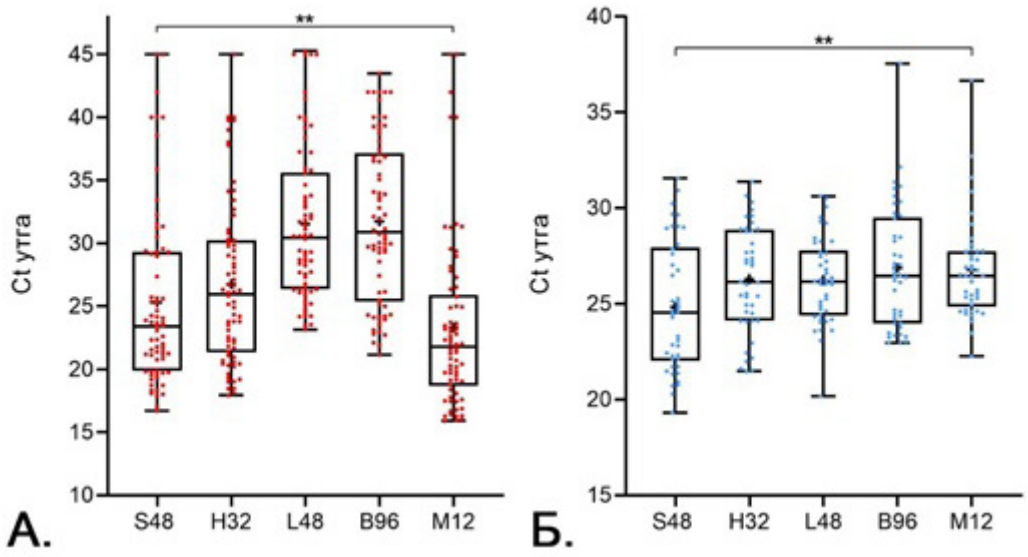
Үр дүнгээр SARS-CoV-2-ын дарааллуудын хувьд Ст утгаар M12 арга нь бусад бүх аргаас статистик ач холбогдол бүхий бага тодорхойлогдсон байлаа. Харин дотоод хяналтын дарааллуудын Ст утгаар S48 (24.84±3.38) нь H32, L48, B96, M12 аргуудаас статистик ач холбогдол бүхий бага тодорхойлогдсон байлаа. Хүснэгт 3-т аргуудыг хооронд нь Ст утгаар харьцуулсан Манн Увитнэй Ю тестийн р утгуудыг харуулав.

Хүснэгт 3. SARS-CoV-2 ба дотоод хяналтын бай дарааллуудын Ст утгыг харьцуулсан дүн

SARS-CoV-2 бай дарааллуудын Ст утгыг харьцуулсан дүн					
	S48	**H32**	**L48**	**B96**	**M12**
H32	0.043	-	-	-	-
L48	<0.001	<0.001	-	-	-
B96	<0.001	<0.001	0.652	-	-
M12	0.019	<0.001	<0.001	<0.001	-
Дотоод хяналтын бай дарааллуудын Ст утгыг харьцуулсан дүн					
	S48	**H32**	**L48**	**B96**	**M12**
H32	0.039	-	-	-	-
L48	0.041	0.865	-	-	-
B96	0.009	0.522	0.624	-	-
M12	0.01	0.568	0.502	0.872	-

Тайлбар: *Хувьсагчууд тоон мэдээллүүдийг Манн Увитнэй Ю тестээр харьцуулсан р утгаар илэрхийлэгдсэн. Тодруулсан хувьсагчид харгалзах нуклейн хүчил ялгах арга нь бусад аргуудаас статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай.*

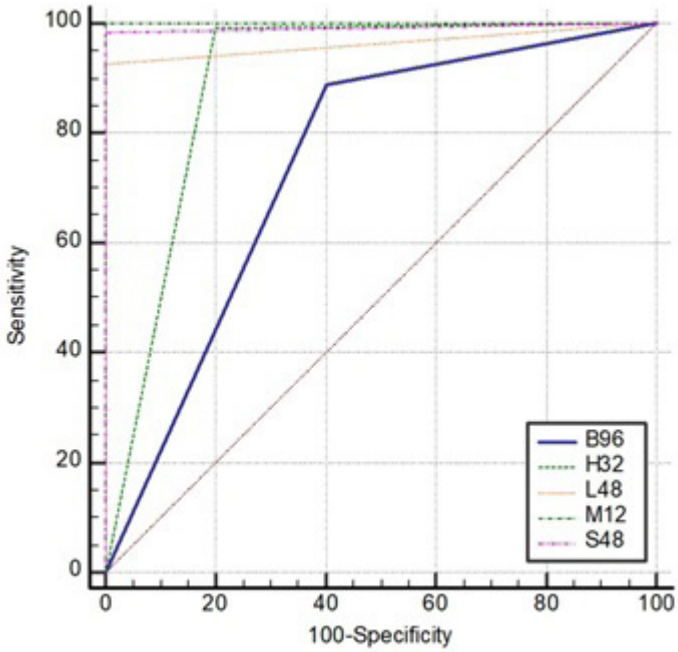
Харин дотоод хяналтын дарааллуудын Ст утгаар S48 (24.84±3.38) нь H32, L48, B96, M12 аргуудаас статистик ач холбогдол бүхий бага тодорхойлогдсон байлаа. (Зураг 4)



Зураг 4. SARS-CoV-2 ба дотоод хяналтын бай дарааллуудын Ст утгуудыг харьцуулсан хайрцган график

Тайлбар: А. SARS-CoV-2-ын бай дараалал, Б. Дотоод хяналтын бай дарааллын Ст утгуудын дундаж, хамгийн их ба бага утгуудыг аргуудаар харьцуулан харуулав. p утгыг Манн Увитней Ю тестээр тооцоолов. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

ROC муруйн шинжилгээгээр M12 аргаар ялгасан нуклейн хүчлийн сорьцуудын бх-ПГУ-ын үр дүн 100% (AUC=1.00; 95% ИИ, 0.968-1.00) сорьцын хариутай тохирч байсан. Мөн S48 (AUC=0.991; 95% ИИ, 0.951-1.00), L48 (AUC=0.963; 95% ИИ, 0.909-0.989) аргууд ялгасан нуклейн хүчлийн бх-ПГУ-ын үр дүн сорьцын хариутай 96-аас дээш хувиар тохирч байлаа. Харин H32 аргын хувьд 89.5% (82.3-94.5), B96 аргын хувьд 74.4% (65.3-82.2)-иар тус тус тохирч байлаа. (Зураг 5)



Аргууд	AUC	95% CI
B96	0.744	0.653-0.822
H32	0.895	0.823-0.945
L48	0.963	0.909-0.989
M12	1	0.968-1.000
S48	0.991	0.951-1.000

M12 ба B96 аргууд		
	Z утга	2.075
	P утга	0.038
M12 ба L48 аргууд		
	Z утга	2.927
	P утга	0.0034
S48 ба B96 аргууд		
	Z утга	1.998
	P утга	0.038
S48 ба L48 аргууд		
	Z утга	2.157
	P утга	0.031

Зураг 5. Нуклейн хүчил ялгах аргуудыг ROC муруйн шинжилгээгээр харьцуулсан дүн

Тайлбар: Арга тус бүрийн ROC муруйн шинжилгээний үр дүнг харьцуулан харуулав. p утгыг Z тестээр тооцоолов. Итгэх интервалыг 95%, стандарт алдаа 0.05 байхаар тохируулав.

Хэлцэмж: Олон улсад нуклейн хүчил ялгах өөр өөр арга, цомгуудыг харьцуулж, шинжилгээний үр дүнд хэрхэн нөлөөлж буй талаар судалсан цөөнгүй судалгаанууд байдаг. Тухайлбал, Jens Verheyen (2012 он) нарын судалгаанд цуснаас цитомегаловирусын ДНХ, өтгөнөөс норовирусын РНХ-ийг автомат нуклейн хүчил ялгах 5 аргаар (easyMAG, bioMerieux; m2000sp, Abbott; MagNA Pure LC 2.0, Roche; QiaSymphony, Qiagen; sample preparation module of the VERSANT kPCR Molecular System, Siemens) ялгаж, харьцуулан судалсан бөгөөд тус судалгаагаар 5 арга нь өөр хоорондоо статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай гарсан нь бидний судалгаатай дүйж байна.[4] Мөн Si-Yu Chen (2021 он) нарын судалгаанд SARS-CoV-2 эерэг тодорхойлогдсон хамар залгиурын 20 сорьцоос, автомат (MaelstromTM 8) болон цомог (QIAamp Vi-

ral RNA Mini Kit) ашиглан вирусын нуклейн хүчлийг ялган, харьцуулалт хийсэн. Тус судалгааны үр дүнгээр автомат нуклейн хүчил ялгах арга нь цомог ашиглан нуклейн хүчил ялгах аргаас цаг хугацаа хэмнэх, солбилцон бохирдох эрсдэл ба гар ажиллагааны явцад үүсэх алдаа бага зэрэг давуу талуудтай байсан хэмээн дүгнэжээ.[5]

Ho-Jae Lim (2022 он) нарын судалгаагаар SARS-CoV-2 эерэг тодорхойлогдсон 245 амьсгалын замын сорьцоос, автомат нуклейн хүчил ялгах 3 аргыг (MagNA Pure 96 (Roche, Basel, Switzerland), KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific, Rocklin, CA, USA), Maelstrom 9600 (Taiwan Advanced Nanotech Inc., Taoyuan, Taiwan) харьцуулан судлахад аргуудын өвөрмөц ба мэдрэг байдал ойролцоо тодорхойлогдсон аж.[6] Тодруулбал, KingFisher Flex нуклейн хүчил ялгах арга мэдрэг чанар 99.2%, өвөрмөц чанар 100% гэсэн үр дүн гарсан бол, Maelstrom 9600 аргын хувьд мэдрэг чанар 98.3-100% өвөрмөц чанар 100% байна.

Bland-Altman анализаар аргуудын хоорондын нийцэмжийг үнэлэхэд MagNA Pure 96 болон KingFisher Flex аргууд 95.2%-н нийцэмжтэй, MagNA Pure 96 болон Maelstrom 9600 аргуудын нийцэмж 95.4% тус тус гарсан нь дээрх нуклейн хүчил ялгах 3 арга оношийн зөрүүгүй гэсэн үр дүн гарсан байна. Дээр дурьдсанчлан олон улсад эмнэлзүйн оношилгоонд ашиглаж буй нуклейн хүчил ялгах арга, протоколуудыг харьцуулсан судалгаанууд хийж үр дүнгээр давуу ба сул тал, шинжилгээнд хамгийн тохиромжтой аргуудыг тодорхойлох боломжтойг харуулж байгаа ба манай орны эмнэлзүйн практикт ч нуклейн хүчил ялгах аргуудыг харьцуулах, гадаад хяналт хийх нь оношийн зөрүү, үр дүнд алдаа гарах магадлал, эрсдлийг бууруулах ач холбогдолтой юм.

Дүгнэлт:

1. Судалгааны үр дүнгээр M12 аргаар ялгасан нуклейн хүчилд SARS-CoV-2-ын бай дарааллуудын олшролт бусад аргуудаас харьцангуй өндөр байсан буюу Ст утга статистик ач холбогдол бүхий ялгаатай байна. Харин дотоод хяналтын дарааллуудын олшролт S48 аргаар ялгасан нуклейн хүчилд харьцангуй өндөр байлаа.
2. Нуклейн хүчил ялгах аргуудаар ялгасан нуклейн хүчлийн сорьцуудад хийгдсэн бх-ПГУ-ын үр дүнг сорьцын хариутай харьцуулахад M12 аргын хариу 100%, S48 аргын хариу 99.1%, L48 аргын хариу 96.3%, H32 аргын хариу 89.5%, B96 аргын хариу 74.4% тус тус тохирч байлаа. M12 ба S48 аргууд нь бусад аргуудаас харьцангуй өндөр хувийн нийцэмжтэй байна.

Ном зүй:

1. *Ambrosi C, Prezioso C, Checconi P, et al. SARS-CoV-2: Comparative analysis of different RNA extraction methods. Journal of virological methods. 2021;287:114008.*
2. *WHO, 2020 [Accessed by Jan 15 2022] Available at: https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019. 2022.03.21*
3. *Klein S, Müller TG, Khalid D, et al. SARS-CoV-2 RNA Extraction Using Magnetic Beads for Rapid Large-Scale Testing by RT-qPCR and RT-LAMP. Viruses. 2020;12(8):863.*
4. *Verheyen J, Kaiser R, Bozic M, Timmen-Wego M, Maier BK, Kessler HH. Extraction of viral nucleic acids: comparison of five automated nucleic acid extraction platforms. Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology. 2012;54(3):255-259.*
5. *Chen SY, Chou YC, Huang JW, Er TK. Comparison of Manual and Automated Nucleic Acid Extraction Methods in Virus Transport Medium. Clinical laboratory. 2021;67(12).*
6. *Lim HJ, Jung HS, Park MY, et al. Evaluation of Three Automated Extraction Systems for the Detection of SARS-CoV-2 from Clinical Respiratory Specimens. Life (Basel, Switzerland). 2022;12(1).*

A comparative analysis of different nucleic acid extraction methods used to detection of SARS-CoV-2

Temuulen J[1], Chimedlkhamsuren G[2], Naranzul Ts[3], Nomin-Erdene B[4], Ariungerel E,[5] Temulun N,[6] Sarantuya J[2]

[1]School of Biomedicine, MNUMS
[2]Department of Molecular Biology and Genetics, School of Biomedicine, MNUMS
[3]Laboratory of Virology, National Center for Communicable Diseases,
[4]Health Center of Sukhbaatar district
[5]Health Center of Bayanzurkh district
[6]Unimed hospital
E-mail: temka.jomko@gmail.com, Tel: 95194000

Background: The reverse-transcription real time-PCR (rRT-PCR) performance has significantly relate with the efficiency of the viral RNA extraction procedures, yield and purity of nucleic acid and presence of contaminations. In our country, there are various type of nucleic acid extraction methods has applicating for SARS-CoV-2 detection. We hypothesizing the differences of the methods can be the affect as a factor for the result of the test and it`s missing.
Aim: The aim of this study was to compare some of the nucleic acid extraction methods used for SARS-CoV-2 detection of clinical laboratories in Ulaanbaatar city.
Materials and Methods: Thirteen SARS-CoV-2 positive, one negative nasopharyngeal samples have enrolled in the study. We compared Ct value and qPCR test results of nucleic acid sample, which extracted by five different automated nucleic acid extraction system with the closed-source with their kits. For the statistical analysis, ROC curve analysis, Friedman`s test and Mann Whitney test has performed.
Results: The Ct values of amplification on nucleic acid samples extracted by M12 method, was significantly lower comparing with others. According to ROC curve analysis, under area the curve (AUC) were significantly higher for the M12 (AUC=1.00; 95% CI, 0.968-1.00) and S48 (AUC=0.991; 95% CI, 0.951-1.00).
Conclusion: Our finding suggests that the M12 and S48 have high efficient with lower Ct value and higher AUC. Also, difference between efficiency of the nucleic acid extraction methods, can be affect as a factor for the detection of SARS-CoV-2.

Keywords: SARS-CoV-2, Methods for nucleic acids, rRT-PCR, kits, Ct value