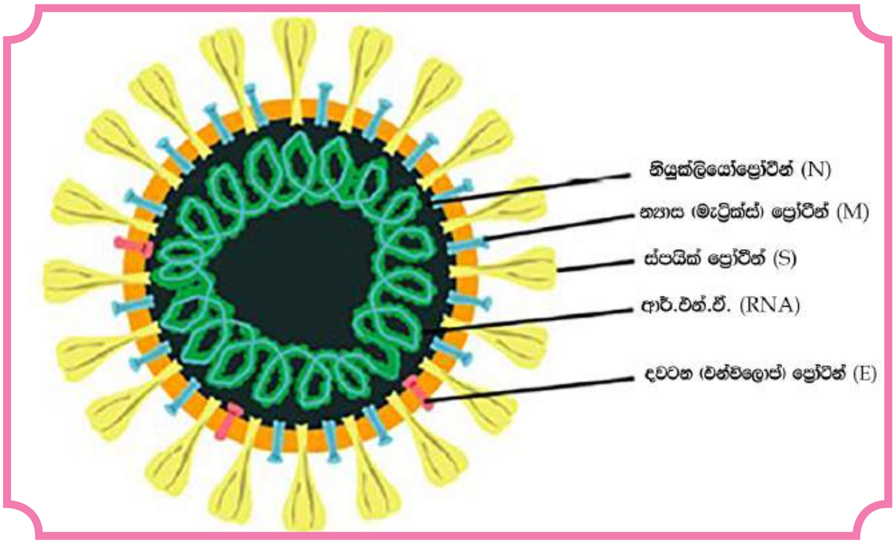
කොවිඩ්-19 රෝග නිර්ණය සහ ප්‍රතිවර්ත අනු-ලේඛන බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියා පරීක්ෂණය

මහාචාර්ය රනිල් දසනායක සහ චරිත රාජපක්ෂ

කොරෝනා වයිරස රෝගය 2019 (කොවිඩ්-19) ඇති කරනුයේ උග්‍ර තීව්‍ර ශ්වසන සහලක්ෂණ කොරෝනා වයිරස 2 (SARS-COV 2) මගිනි. 2019 වර්ෂයේ අවසන් සමයේදී චීනයේ වූහාන් ප්‍රදේශයේ පළමුව සොයාගත් මෙම රෝග තත්වය මාස කිහිපයක් තුළ රටවල් 185 කට වැඩි සංඛ්‍යාවකට බලපාමින් ගෝලීය ව්‍යාප්ත වසංගතයක් බවට වර්ධනය වී ඇත. පසුගිය 2020 මැයි මස 1 වන දිනවන විට ලෝකය පුරා ස්ථිර වශයෙන්ම මෙම ආසාදනය වැළඳී මුළු සංඛ්‍යාව මිලියන 3 ඉක්මවූ අතර සිදුවූ මරණ සංඛ්‍යාව 200,000 කට වැඩිය. වයිරසය ඉතා බිහිසුණු ලෙස ශීඝ්‍රයෙන් ව්‍යාප්තවෙත්දී, කොවිඩ්-19 රෝගීන්ගේ සංඛ්‍යාව විශාල ලෙස ඉහළ යාමත් සමග ලොව පුරා සෞඛ්‍යය සත්කාර සේවාවන්හට, රෝගීන්ට ප්‍රතිකාර සැපයීම සහ ඔවුන් විමර්ශනය කිරීමට, සිදුවීමද සමග වයිරසයේ ව්‍යාප්තියත් වැළැක්වීම සඳහා වූ මහත් අභියෝගයකටද මුහුණ දීමට සිදුවින. රෝගය සුළු වශයෙන් වැළඳුන සහ රෝග ලක්ෂණ නොපෙන්වන ආසාදිතයන් හේතුකොට සායනික ලක්ෂණ තුළින් පමණක් රෝගීන් නිවැරදි ලෙස රෝග නිර්ණය කිරීම කළ නොහැකිය. මෙයට අමතරව වයිරස ආසාදනය සිදුවීමත් සායනික රෝග ලක්ෂණ පහළවීමත් අතරතුර කාලයක් පවතින බව නිරීක්ෂණය වී ඇත. කෙසේ නමුත් මෙසේ රෝග ලක්ෂණ නොපෙන්වන ආසාදිතයන් මගිනුත් වයිරසය සම්ප්‍රේෂණයවීමේ හැකියාව පවතියි. මෙම ලක්ෂණ හේතු කොට වයිරසය පැතිරීම මැඩ පැවැත්වීම කෙරෙහි අතිරේක අභියෝගද එල්ල වී ඇත. එබැවින් වයිරසය අනාවරණය කරගැනීම සඳහා නිරවද්‍ය සම්මත ක්‍රමයක වැදගත්කම ඉමහත්ය. වයිරසීය ව්‍යාධි ජනක නිරාවරණය උදෙසා නියුක්ලෙයික් අම්ල බහුගුණාකාර පරීක්ෂණ (නියුක්ලෙයික් ඇසිඩ් ඇම්ප්ලිෆිකේෂන් ටෙස්ට්- NAAT) විශ්වාසදායි සරල පරීක්ෂණයක් බව හඳුනාගෙන ඇත. මෙම පරීක්ෂණ අනිකුත් වයිරසීය ආර්.එන්.ඒ. (RNA) අනාවරණය කිරීමට සහ ප්‍රමාණකරණය සඳහා රන් සම්මතය ලෙස සැලකෙන්නේ බහුඅවයවකතාවීය දාම (පොලිමරේස් චේන් රියැක්ෂන්) ප්‍රතික්‍රියාව හෙවත් පී.සී.ආර්. (PCR) පදනම් වූ පරීක්ෂණ ක්‍රමයයි.

සාර්ස්-කොවි-2 (SARS-COV-2) අයත් වන්නේ *කොරෝනාවිරිඩේ* නම් උප පවුලට අයත් වයිරස ගණයටය. එම වයිරසයන්ට ක්ෂීරපායීන් සහ කුරුල්ලන් ආසාදනය කිරීමේ හැකියාවද සතුය. මෙම වයිරසය ඉතා සුලබව හමුවන අතර සුළු ගණයේ සිට දරුණු ගණයේ රෝග ලක්ෂණ පුළුල් ප්‍රමාණයක් ඇතිකිරීමේ වගකීම පවතින බව දැකිය හැකිය. ඇත්ත වශයෙන්ම කිවයුත්තේ සෙම්ප්‍රතිශ්‍යාව ඇති කරන වයිරස අතරින් තුනෙන් එකක්ම අයත්වන්නේ කොරෝනා වයිරස ගණයට බවය. මෙම වයිරස තුළ ප්‍රෝටීන් රැගත් කූරු සහිත

දවටනයක් හෙවත් ඇවුරුමක් පවතින අතර විද්‍යුත් අනුදක්නයක් තුළින් නිරීක්ෂණය කරනවිට කිරුළක් හෙවත් ඔටුන්නක් (ක්‍රවුන්) ලෙස දිස්වෙයි. එහෙයින් එයට "කොරෝනාවයිරස" යන නාමය ලැබී තිබේ. ධාරක සෛල තුළට වයිරසය ඇතුල්වීම සඳහා මෙම ප්‍රෝටීන් කූරු වැදගත් කාර්යභාරයක් ඉටුකරයි. 1 වන රූප සටහනෙහි සාර්ස්-කොවි-2 (SARS-COV-2) වයිරස ව්‍යුහයේ ඌනිත නියෝජනයක් දක්වා ඇත. සාර්ස්-කොවි-2 (SARS-COV-2) යනු ඒකරහැන් ධන RNA අනුවකින් සමන්විත වයිරසයකි. ධන සංවේදී යන්නෙන් අදහස් කරනුයේ, වයිරසයේ ගෙනෝමය, ධාරක සෛල රයිබොසෝමය තුළට පරිවර්තනය කිරීම තුළින් සෘජු ලෙසම ප්‍රෝටීන් සංශ්ලේෂණයට යොදා ගත හැකි බවය. මෙම RNA අණුව දිගින් පාදක 30,000 කට වඩා අඩුවන අතර ප්‍රෝටීන 16 කට කේතක දක්වයි. ඒවා වයිරසයේ පැවැත්මට සහ ප්‍රචාරණය සඳහා අවශ්‍ය වයිරසයේ RNA ගෙනෝමය තුළ, වයිරස පවුල අතර සංරක්ෂිතව පවතින අනුක්‍රමයක් මෙන්ම වයිරසයටම අනන්‍යවූ අනුක්‍රමද අඩංගුය. සාර්ස්-කොවි-2 (SARS-COV-2) වයිරසයටම අනන්‍යවූ මෙම අනුක්‍රම හේතුවෙන් තථ්‍ය කාල ප්‍රතිවර්ත අනුලේඛන බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියාව (RT-PCR) වැනි නියුක්ලෙයික් අම්ල සඳහා නිරාවරණ ක්‍රමයක් එහි නිශ්චිත නිරාවරණ පරීක්ෂණ සඳහා අවස්ථාව සලසයි. සාර්ස්-කොවි-2 (SARS-COV-2) වයිරස අංශු අනාවරණය කර ගැනීම පදනම් වනුයේ වයිරස ගෙනෝමයේ අනන්‍ය කලාපයන් නිශ්චිත ලෙස විස්තාරණය කිරීම මගිනි. මෙම විස්තාරණය සිදුකරනුයේ බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියාව (PCR) ලෙස හැඳින්වෙන ශිල්ප ක්‍රමයක් යොදා ගැනීමෙනි. එහිදී ඩී.එන්.ඒ. (DNA) හී අභිමත කොටසක් අනාවරණය කරගත හැකි සාන්ද්‍රනයකට විස්තාරණය කරනු ලැබේ. සාර්ස්-කොවි-2 (SARS-COV-2) ගෙනෝමය RNA වලින් තැනී ඇති බැවින්, පරිපූරක DNA සංශ්ලේෂණය සඳහා තවත් අතිරේක පියවරක් ගැනීමට සිදුවෙයි. මෙම ප්‍රතික්‍රියාව ප්‍රතිවර්ත අනු-ලේඛනය (reverse transcription) ලෙස හැඳින්වෙන බැවින් සමස්ත ක්‍රියාවලියම ප්‍රතිවර්ත අනුලේඛන බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියාව reverse transcription polymerase chain reaction - (RT-PCR) ලෙස නම් කර ඇත. මෙම ක්‍රියාවලිය මගින් විස්තාරණය යථාකාල නිරාවරණයට (real time detection) මෙන්ම වයිරස ප්‍රමාණය ප්‍රමාණකරනයටද ඉඩ සලසයි. එහෙයින් මෙය ප්‍රමාණකරණය යථාකාල ප්‍රතිවර්ත අනු-ලේඛන බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියාව quantitative real time reverse transcription polymerase chain reaction - RT - qPCR) ලෙසද හැඳින්වෙයි.



1 වන රූප සටහන : SARS-CoV-19 වයිරස ව්‍යුහය නියෝජනයක්

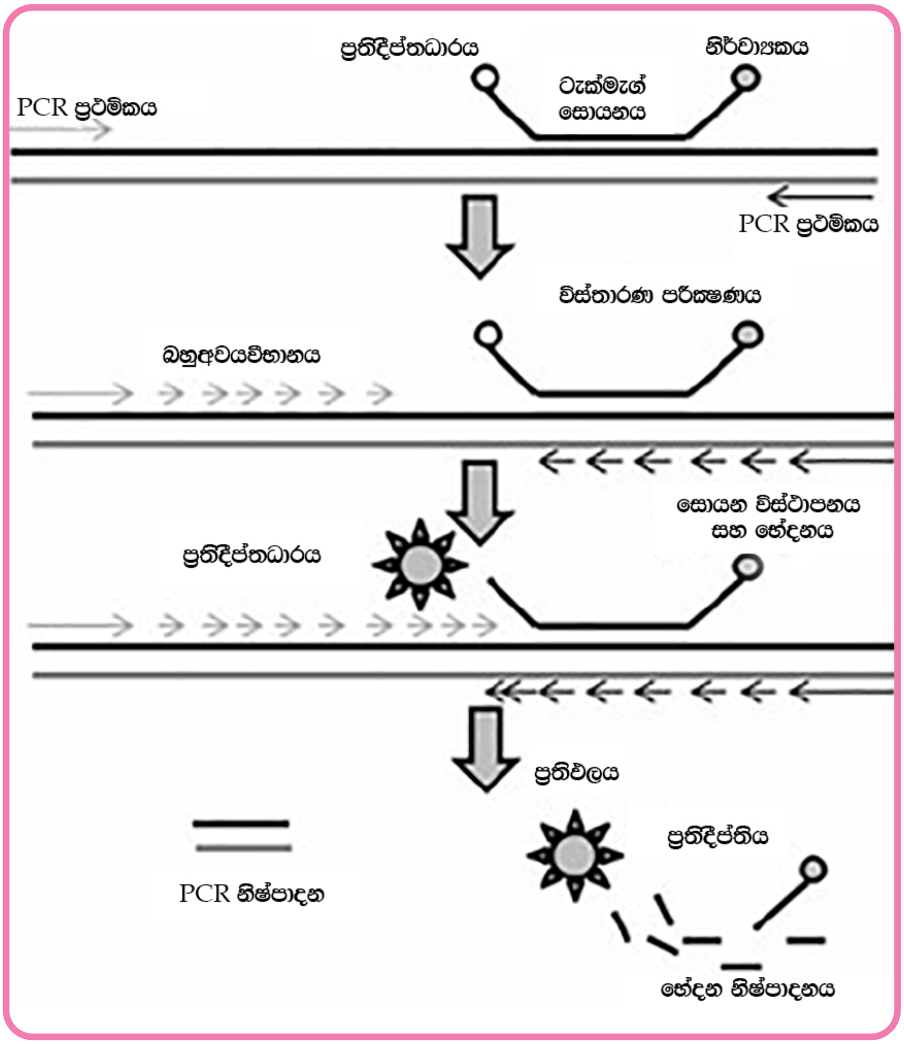
ප්‍රතිවර්ත අනු-ලේඛනයේදී ප්‍රතිවර්ත ට්‍රාන්ස්ක්‍රිප්ටේස් නම් එන්සයිමයක් උපයෝගී කර ගනු ලබයි. එයට RNA අණුවක් අච්චුවක් ලෙස භාවිත කරමින් පරිපූරක ඩී.එන්.ඒ. (eDNA) අණුවක් සංශ්ලේෂණය කිරීමේ හැකියාව ඇත. ආර්.එන්.ඒ. (RNA) අච්චුවට සහ එන්සයිමයට අමතරව මෙම ප්‍රතික්‍රියාවේදී රැහැන සංශ්ලේෂණය සඳහා නිර්මාණ ඛණ්ඩ ලෙස ඩිඔක්සිරයිබෝ නියුක්ලියෝටයිඩ් ට්‍රයිපොස්පේට් (dNTPs) ද භාවිත කරනු ලබයි. ප්‍රතික්‍රියා මිශ්‍රණය සංයුක්ත කළ පසු එන්සයිමයට කාර්යක්ෂමවීමට අවශ්‍ය ප්‍රශස්ත උෂ්ණත්වය සොයමින් ප්‍රතික්‍රියාව සුසාධ්‍යකරණය කරනු ලබයි. සාමාන්‍යයෙන් එම උෂ්ණත්වය සෙල්සියස් අංශක 42-48 අතර පවතියි.

බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියා (PCR) සංයුතියට, විස්තාරණය කිරීමට අවශ්‍ය DNA අච්චුව, ඔලිගොනියුක්ලියොටයිඩ ප්‍රාථමිකය, ප්‍රතික්‍රියාව උත්ප්‍රේරණය කිරීම සඳහා බහුඅවයවකතාවීය එන්සයිම සහ DNA නව පිටපත් සංශ්ලේෂණය සඳහා ඩිඔක්සි රයිබොනියුක්ලියෝටයිඩ් ට්‍රයිපොස්පේට් (dNTPs) ඇතුළත්ය. මෙයට අමතරව එන්සයිම ක්‍රියාකාරීත්වය සඳහා අවශ්‍ය මැග්නීසියම් අයනද මාධ්‍යයට එක් කරනු ලබයි. පී.සී.ආර්. පරීක්ෂණය එකට ගත්විට පී.සී.ආර්. චක්‍රය ලෙස හැඳින්වෙන පුනර්කෘත පියවර තුනකින් සමන්විතය.

පළමු පියවර වනුයේ ද්වි රැහැන් DNA අච්චුවෙහි ගුණ වෙනස් කිරීමය. ඒ සඳහා අවශ්‍ය සුසාධ්‍යකරණය ලබා ගන්නේ උෂ්ණත්වය 94-98^{0}C දක්වා ඉහළ නැංවීම තුළිනි. දෙවන අදියරේදී ඔලිගොනියුක්ලියෝටයිඩ් ප්‍රාථමිකය, ගති ලක්ෂණ වෙනස්

කළ අච්චු රැහැන් සමග බැඳීම සුසාධ්‍යකරණය සඳහා උෂ්ණත්වය පහළ හෙළීමක් සිදු කරයි. ප්‍රාථමිකයන් දෙක, DNA අච්චුවෙහි වෙන් කළ රැහැන් දෙක එකට බඳිනු ලබන්නේ විස්තාරණය කිරීමට අවශ්‍ය කලාපය ශක්තිමත් කරමිනි. මෙම බැඳීමේ ක්‍රියාවලිය ද්වි රැහැන් ආකාරයෙන් ප්‍රතිසංයෝජනය කිරීම නැතිනම් පන්නරය ඇතිකිරීම ලෙස හැඳින්වෙන අතර එය සිදුවන්නේ අච්චුව සහ ප්‍රාථමිකය අතර ඇතිවන පරිපූරක පාදක යුගළ ඇතිවීම මගිනි. එමගින් ප්‍රතික්‍රියාවෙහි නිශ්චිතතාව නිගමනය කරයි. ද්වි රැහැන් ආකාරයෙන් ප්‍රතිසංයෝජනය සිදුවන උෂ්ණත්වය අංශක 48-72^{0}C අතර වෙනස් විය හැක. එය නිගමනය කරනුයේ ප්‍රාථමිකයන්හි දිග පාදක සංයුතියන් මගිනි. තෙවන පියවරේදී අච්චුවේ රැහැන් මාර්ගෝපදේශකයෙක් ලෙස යොදා ගනිමින්, නියුක්ලියෝටයිඩ එක්කරමින් ප්‍රාථමිකයන් ව්‍යාප්ත කරයි. මෙම ව්‍යාප්තිය අපේක්ෂිත ලෙස සිදුකරනුයේ 68-72^{0}C උෂ්ණත්වයකදී සක්‍රීය බහුඅවයවකතා (පොලිමරේස්) එන්සයිමයක් මගිනි. එක් එක් බහුඅවයවිකතා දාම ප්‍රතික්‍රියා (PCR) චක්‍රයක් අවසානයේදී DNA අච්චු පිටපත් සංඛ්‍යාව දෙගුණවෙයි. සැලකිය යුතු පිටපත් සංඛ්‍යාවක් ලබා ගැනීම සඳහා ප්‍රතික්‍රියක චක්‍ර 30-40 ක් සිදු කිරීම සාමාන්‍යයෙන් අවශ්‍යයය. එක් ඉලක්කයක් පමණක් විස්තාරණය කරනවිට, බහුඅවයවකතාවීය දාම පරීක්ෂණය සරල හෝ එකදේශීය වේ. යම් ඉලක්ක සංඛ්‍යාවක් එකවර විස්තාරණය කරත් නම් එය බහුවිධ ලෙස හැඳින්වෙයි. බහුවිධාකරණය සාක්ෂාත් කරනු ලබන්නේ ප්‍රාථමික යුගල කිහිපයක්ම උපයෝගී කර ගැනීම හරහාය.

ඉහත සඳහන් කල ප්‍රතික්‍රියා දෙකම, එන්සයිම ප්‍රතික්‍රියාවට ප්‍රශස්ත රසායනික පරිසරය ලබා දීම සඳහා ස්වාරක්ෂිත ජලීය මාධ්‍යයක් තුළ සිදු කරනු ලබයි. ප්‍රතිවර්ත අනු-ලේඛන බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියාව (RT-PCR) තනි පියවරකින් හෝ පියවර දෙකකින් හෝ සිදු කළ හැකිය.



2 වන රූප සටහන : DNA පොලිමරේස් මගින් DNA දාම කොටස විඡේදනය වූ පසු ප්‍රතිදීප්තකධරය මගින් ප්‍රතිදීප්ත විමෝචනය වීම

තනි පියවරේ ප්‍රතිවර්ත අනු-ලේඛන බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියාව සිදුකිරීමේදී ප්‍රති-අනුලේඛනය සහ බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියාව යන දෙකටම අවශ්‍ය සංඝටක එකම භාජනයකට එක් කරන අතර එහිදී උෂ්ණත්වය සපයනු ලබන්නේ ප්‍රතිවර්ත අනුලේඛනය පළමුවත්, බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියාව ඉන් පසුවත් සිදුවන ආකාරයටය. දෙපියවර ක්‍රියාවලියේදී ප්‍රතික්‍රියා දෙක වෙන වෙනම සිදුකරනු ලබයි. තථ්‍ය කාල බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියාවේදී (RT-PCR) එක් එක් චක්‍රයක් අවසානයේදී විමර්ශනයට ලක්කරයි. එය සාක්ශාත් කරගනු ලබන්නේ ප්‍රතික්‍රියා සංයුතියට ප්‍රතිදීප්ත නිර්වාචිත සොයනයක් එක් කිරීම මගිනි. සොයනය වනුයේ විස්තාරණය කිරීමට අපේක්ෂිත, අච්චුව තුළ ඇති කලාපයකට පරිපූරක වූ අනුක්‍රමයක් සහිත තනි රැහැන් ඔලිගොනියුක්ලියෝටයිඩයය. එමගින් ගුණ වෙනස් කළ අච්චු රැහැන තාපානුශිතනය කිරීමට හැකිය. මෙම සොයන උපකරණයට අන්ත 5' දී ප්‍රතිදීප්ත වාර්තාකාර අණුවක්ද අන්ත 3' දී නිර්වාපක අණුවක්ද ඇමුණුම් ලෙස සබැඳ ඇත. සොයන සම්බන්ධය එසේම පවතිද්දී නිර්වාපක අණුව, වාර්තාකාර අණුවෙන් බැහැරවන ප්‍රතිදීප්තය හසුකර ගනියි. එහෙයින් කිසිදු ප්‍රතිදීප්තියක් නිරාවරණය කර ගත නොහැකි වෙයි. ප්‍රාථමිකය ව්‍යාප්තියේදී තාපානුශිතක සොයනය DNA බහුඅවයවකතාවීය මගින්

ප්‍රතිදීප්තිධරය සහ නිර්වාපකය එකිනෙකින් වෙන්වනසේ ජලවිච්ඡේදනයට ලක්කරයි. එහි ප්‍රතිඵලය වනුයේ නිරාවරණය කර ගත හැකි ප්‍රතිදීප්ත සංඥාවක් විමෝචනය වීමය. 2 වන රූප සටහනෙහි මෙම මූලධර්මය සංක්ෂේප ලෙස දැක්වෙයි. අච්චුවට බැඳී ඇති සොයනයෙහි අණු පමණක් ඇලී පවතින නිසා විමෝචිත ප්‍රතිදීප්තියෙහි තීව්‍රතාව, චක්‍රය ආරම්භ කරන විට DNA අච්චුවෙහි පිටපත් සංඛ්‍යාවට සමනුපාතිකව පවතියි. එවිට එක් එක් චක්‍රයක් අවසානයේදී විමෝචනය වූ ප්‍රතිදීප්තිය පටිගතකිරීම තුළින් (DNA) හි විස්තරණයේ ප්‍රගතිය යථාකාල ලෙස පෙනෙන්නට සලස්වයි.

යථාකාල බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියාවේ (RT-PCR) ප්‍රමාණාත්මක අන්ත ලක්ෂ්‍යය වන්නේ දේහලීය චක්‍රය (ct) ය. දේහලීය චක්‍රය (ct) යන්න නිර්වචනය කරනුයේ, පසුබිම් ප්‍රතිදීප්තියට ඉහළින් තෝරාගත් දේහලියක් ඉක්මවා යන වාර්තාකාර අණුවෙහි ප්‍රතිදීප්ත සංඥාව දක්වන බහුඅවයවකතාවීය දාම ප්‍රතික්‍රියාව (PCR) චක්‍රය ලෙසය. එහිදී දේහලීය චක්‍රය (ct) හි සංඛ්‍යාත්මක අගය සහ ප්‍රතික්‍රියා විස්තාරණ සංඛ්‍යාව අතර ප්‍රතිලෝම සබඳතාවයක් පවතියි. එනම් දේහලීය චක්‍රය (ct) අඩුවත්ම ප්‍රතික්‍රියා මිශ්‍රණය තුළ විස්තාරණ සංඛ්‍යාව ඉහළ යයි. මේ දේහලීය චක්‍ර අගය, ප්‍රතිඵල විශ්ලේෂණය සඳහා අවශ්‍ය සංඛ්‍යාත්මක සම්බන්ධතාවය උත්පාදනය කිරීමට දායක වෙයි. එයට අමතරව සෑම RT-qPCR පරීක්ෂණයකදීම ධන සහ ඍණ යන පාලක දෙකම පැවතිය යුත්තේ, අන්ත ප්‍රතිඵල නිවැරදිව අර්ථකථනයට එය බොහෝ වැදගත්වන බැවිනි. දේහලීය චක්‍ර අගයක් ලබා ගැනීම සඳහා පසුබිමට වඩා වැඩි ප්‍රතිදීප්ත සංඥාවක් ඍණ පාලක විසින් නොදැක්විය යුතුය. ඍණ පාලකයක් මගින් ලබාදෙන දේහලීය චක්‍ර අගයක් සලකනුයේ සාවද්‍ය ධන අගයක් ලෙසය. එවැනි විටෙක පරීක්ෂණය අතරමග නවතා අවලංගුකර, ඉතා පරිස්සමින් යුතුව පරීක්ෂණය නැවත සිදුකළ යුතු වෙයි.

මෙම ක්‍රියාවලියෙහි සාර්ථකත්වය සඳහා සෑම පියවරකදීම නිශ්චිත උෂ්ණත්වයක් සැපැයීම අත්‍යවශ්‍යය. හස්තීයව මෙය සාක්ෂාත් කරගැනීම අසීරුය. එහෙයින් උචිත උෂ්ණත්වය නිශ්චිත වශයෙන්ම සපයාදීමට සමත් තාප චක්‍රාකාරකය (තර්මොසයික්ලර්) නම් උපකරණයක් මේ සඳහා යොදා ගැනේ. එසේම උපකරණය තුළ විමෝචිත ප්‍රතිදීප්තිය නිස්සාරණය කර වාර්තා කිරීමේ යාන්ත්‍රණයක්ද එයට ඇතුළත්ය.

වයිරසය අනාවරණය කරගැනීම සඳහා RT-qPCR පරීක්ෂණය සඳහා වන පිරිසැලැස්ම සහ එය පිහිටුවීම සඳහා සාමාන්‍යයෙන් පියවර දෙකක් යොදා ගැනේ. නිශ්චිත ප්‍රාථමිකයන් සහ සොයන උපකරණ පිරිසැලසුම් කිරීම ප්‍රථම පියවර වෙයි. පරීක්ෂණයේ විශිෂ්ටත්වය නිගමනය කරනු ලබන්නේ භාවිත කරන ප්‍රාථමිකයන් හේතුවෙන් නිසා, ඉලක්ක වයිරසය මෙන්ම එයට සම්බන්ධ වයිරස හී ගෙනෝමීය අනුක්‍රමය හොඳින් සහ අවධානයෙන් යුතුව විශ්ලේෂණය කිරීම ඉතා වැදගත්ය. ප්‍රාථමිකයන් පිරිසැලසුම් කිරීමේදී, එය කළ යුත්තේ එයට වරණීය ලෙස සාර්ස්-කොවි-2 (SARS-COV-2) වයිරසයේ ගෙනෝම අනුක්‍රමයන් හඳුනාගත හැකිවන ලෙසය. දෙවන පියවරට අයත් වන්නේ ප්‍රතික්‍රියාවන් සඳහා වන නිසි තත්වයන් පරීක්ෂණය පරීක්ෂා කිරීම ප්‍රශස්තිකරණයයි.

සාර්ස්-කොවි-2 (SARS-COV-2) වයිරසය අනාවරණය කරගැනීම සඳහා වයිරසීය RNA නිස්සාරණය නියැදි වර්ග කිහිපයක් තුළින් කළ හැකිය. මෙම නියැදි අතරට බේටය, ක්ලෝමගර්තික ශෝධක, ශ්වාසනාලිකා චූෂක, මෙන්ම නාසග්‍රසනික චූෂක හෝ මුඛග්‍රසනික චූෂක, ශෝධක හෝ මාත්‍තු ආදිය ඇතුළත්ය. මේවා අතරින් ක්ලෝමීය ගර්තික ශෝධක, උග්‍ර රෝග තත්වයන් විමර්ශනය සඳහා නිර්දේශ කෙරේ. කෙසේ නමුත් එය එක් රැස් කර ගැනීම තරමක් දුරට දුෂ්කර වනවා පමණක් නොව රෝගියාටද අපහසුතා ඇති කරන නිසා සාමාන්‍ය රෝග විනිශ්චය සඳහා යොදා ගැනීම ප්‍රායෝගික නොවේ. එහෙයින් බේටය, නාස් ග්‍රසනිකා සහ මුඛග්‍රසනිකා මාත්‍තු යනාදිය වඩා ඉක්මනින්, සරලව සහ ආරක්ෂිතව යොදාගත හැකි නිසා සාමාන්‍ය රෝග විනිශ්චය කාර්යයන් සඳහා වැඩිපුර යොදා ගැනේ. තවදුරටත් වයිරස RNA නිස්සාරණය සඳහා භාවිත කරන නියැදිය එය එකතු කර ගන්නා වේලාවද, එහි අඩංගු වයිරස ප්‍රමාණයද මත භාවිත කරන නියැදියට බලපෑමක් ඇති කරයි. නියැදි එක් රැස් කිරීමේදී කිසිදු දූෂකයක් හෝ විස්තාරණ නිශෝධකයක් යොදා ගැනීම නොකළ යුතුය. එයට අමතරව එක් රැස් කර ගත් නියැදිය වයිරසීය RNA පරීක්ෂාව සඳහා අදාළ රසායනාගාරයට හැකි ඉක්මනින් ප්‍රවාහනය කළ යුතුය. එසේ නොවුනහොත් RNA එහි ආවේනික අස්ථාවරතාවය නිසා වියෝජනය වීමට පුළුවන.

සැකසහිත රෝගියෙකුගෙන් එක් රැස් කරගත් නිදර්ශකයකින් RNA නිස්සාරණය කර ගනු ලැබීමෙන් පසු, එක් එක් සංඝටකයේ ප්‍රශස්ත පරිමාවට

අනුව අවශ්‍ය සංඝටක එක්කර ප්‍රතික්‍රියා මිශ්‍රණය සකස් කරගනු ලැබේ. ප්‍රතික්‍රියා භාජන තාපචක්‍රාකාරකය (තර්මොසයික්ලර්) තුළ තබා ප්‍රශස්ත පරාමිතීන් යටතේ පරීක්ෂණය

සිදු කරනු ලැබේ. ක්‍රම ලේඛනය කළ උෂ්ණත්වයක ක්‍රියාත්මකවන තාපචක්‍රාකාරකය ඉහතින් සඳහන් කළ සැකසුම් ආරම්භ කරයි. අවසානයේ ප්‍රතිඵලය වනුයේ cDNA හි ඉලක්ක කොටස විස්තාරණය වීමය. cDNA හි දිගින් දිගටම සිදුවන විස්තාරණය අනාවරණය වනුයේ ප්‍රතිදීප්තිධර නිර්වාපක සොයනයෙහි ඇතිවන භේදනය හේතු කොට විමෝචනය වන ප්‍රතිදීප්ත සංඥාව හරහාය. සාර්ස්-කොවි-2 (SARS-COV-2) වයිරසය අනාවරණය කර ගැනීම සඳහා යොදා ගන්නා මනාව පිරි සැලසුම් කල සහ ප්‍රශස්තකරණය කල RT-qPCR පරීක්ෂණයේදී විස්තාරණය හා ඉන්පසුව සිදුවන ප්‍රතිදීප්ත විමෝචනය සිදුවනු ඇත්තේ වයිරස පවතී නම් පමණක් වශයෙන් බව අපේක්ෂා කරයි.

විවිධ සංවිධාන සහ සමාගම් විසින් RT-qPCR පරීක්ෂණ වර්ග කිහිපයක්ම සංවර්ධනය කර ඇත. ඒ අතර සරල හා බහුවිධ RT-qPCR ක්‍රම පවතියි. මේ සියල්ලේම ප්‍රවේශය වන්නේ පෙර විස්තර කළ ආකාරයටමය. එහෙත් පරීක්ෂණ ඒ සතු විශිෂ්ඨතාවය සාක්ෂාත් කරගනු ලබන්නේ SARS-COV-2 වයිරසීය ජෛනෝමයේ විවිධ අද්විතීය කලාප වරණීයව විස්තාරණය කිරීම මගිනි. මෙය නිගමන කරනුයේ එක් එක් පරීක්ෂණයක් සඳහා යොදා ගන්නා ප්‍රාථමික සහ සොයන අනුවය. එක්සත් ජනපද රෝග පාලක සහ වැළැක්වීම් මධ්‍යස්ථානය, ජපානයේ සංක්‍රාමීය රෝග පිළිබඳ ජාතික ආයතනය, තායිලන්තයේ සෞඛ්‍යය පිළිබඳ ජාතික ආයතනය ආදිය මගින් සංවර්ධනය කල RT-qPCR පරීක්ෂණ සියල්ල ඉලක්ක කරනුයේ නියුක්ලියෝකැප්සිඩ ප්‍රෝටීනය ආකේත වූ ජානයේ විවිධ කලාපය. මේවා අතරින් එක්සත් ජනපද රෝග පාලනය සහ වැළැක්වීමේ ආයතනය සංවර්ධනය කළ පරීක්ෂණය බහුවිධ පරීක්ෂණයක් වන අතර අනෙක් ආයතන දෙකම සංවර්ධනය කර ඇත්තේ සරල පරීක්ෂණයි. චීනයේ රෝග පාලනය සහ වැළැක්වීම සඳහා වන ආයතනය බහුවිධ RT-qPCR පරීක්ෂණයන් සංවර්ධනය කර ඇත්තේ N ජානයේ සහ ORFlab ජානයේ අනුක්‍රමයන් ඉලක්ක කර ගෙනය. චැරිටේ-යුනිවර්සිටාර්ටන් මෙඩිසින් බර්ලින් නම් ජර්මන් ආයතනය බහුවිධ RT-qPCR පරීක්ෂණයන් සංවර්ධනය කර ඇත්තේ RdRP ජානය (RNA-ආවස්ථික RNA-පොලිමරේස් ජානය), E ජානය (දැවටු ප්‍රෝටීන් ජානය) සහ N ජානය ඉලක්ක කර ගෙනය. හොංකොං විශ්වවිද්‍යාලය මගින් සංවර්ධනය කර ඇති බහුවිධ RT-qPCR ඉලක්ක කරනුයේ ORF 1b-nsp14 සහ N ජානයේ කලාපයන්ය.

RT-qPCR පරීක්ෂණයේ ගති ලක්ෂණ වන්නේ එහි උසස් සංවේදීතාවය සහ විශිෂ්ඨත්වයයි. එහෙයින් නියැදිය තුළ වයිරසීය RNA පැවතීම පිළිබඳව ඉහළම නිවැරදි ගුණාත්මක තක්සේරුවක් සාක්ෂාත් කිරීමට එය සමත්ය. එසේම රෝගයේ ප්‍රගමනය විමර්ශනය සඳහා උදව් විය හැකිවන සේ නියැදියේ පවතින වයිරස ප්‍රමාණය පිළිබඳ තක්සේරුවක් කළ හැකි නිවැරදි ප්‍රමාණාත්මක දත්ත උත්පාදනය සඳහාද එය යොදා ගත හැකිය. එයට අමතරව, ප්‍රතිශක්ති විද්‍යාත්මක අනාවරණය කිරීම් පදනම් කරගත් පරීක්ෂණ හා සංසන්දනය කරන විට ආසාදිත පුද්ගලයන් නිරාවරණය ඉක්මන් කර ගැනීමටද මෙම ක්‍රමය අවස්ථාව සලසයි.

මෙම ශිල්ප ක්‍රමය හා සම්බන්ධිත යම් සුළු සීමා කිරීම්ද පවතියි. මෙය සිදු කළ හැක්කේ පරීක්ෂණ ක්‍රියාවලිය සහ ප්‍රතිඵල අර්ථකථනය කිරීමේ පළපුරුද්ද හා පුහුණුව ලද පුද්ගලයන්හට පමණය. එයට අමතරව පෙර සඳහන් කළ තාප චක්‍රාකාරක ඇතුළු සංකීර්ණ උපකරණ හා සම්පත් අවශ්‍යතා සපුරාලිය හැකි රසායනාගාර තුළ පමණක් සිදුකිරීමට හැකිවීම තවත් සීමා කිරීමකි. පරීක්ෂණයේ ක්‍රියාපිළිවෙල සඳහා ගතවන කාලයට අමතරව නියැදි ප්‍රවාහනය සඳහා ගතවන අමතර කාලයද හේතුකොට පරීක්ෂණය සඳහා ගතවන මුළු කාලය සැලකිය යුතු තරම් දීර්ඝය. මේ සියල්ලටම අමතරව නියැදි එක්රැස් කිරීමේදී ඒවා එහා මෙහා කිරීමේදී හා ප්‍රවාහනයේදී ඇතිවන වැරදි නිසා ලැබෙන ප්‍රතිඵලය සාවද්‍ය ඍණ ප්‍රතිඵලයක් වීමේ හැකියාවද පවතියි.

මහාචාර්ය රනිල් දසනායක
ජ්‍යෙෂ්ඨ මහාචාර්ය
රසායන විද්‍යා දෙපාර්තමේන්තුව
කොළඹ විශ්ව විද්‍යාලය
vijitha@eng.pdn.ac.lk

චරිත රාජපක්ෂ
රසායන විද්‍යා දෙපාර්තමේන්තුව
කොළඹ විශ්ව විද්‍යාලය