

# 7. Hafta

**Koyun Atık Etkenlerinin Teşhisi  
için Multiplex-PCR Tekniklerinin  
Geliştirilmesi  
(TOVAG 1040237'nolu Proje)**

**Dr. Barış SAREYYÜPOĞLU**

# Koyunlarda Atığa Yol açan Etkenler

- *Brucella abortus*
- *Brucella melitensis*
- ***Campylobacter fetus* subsp. *fetus***
- *Campylobacter jejuni*
- *Chlamydomphila abortus*
- *Coxiella burnetii*
- *Salmonella abortusovis*
- *Listeria monocytogenes*
- ***Listeria ivanovii***
- ***Actinobacillus seminis***
- *Histophilus (ovis) somni*
- ***Leptospira* spp.**

# Atık Olgularında Örnekleme

- Aborte fötusun kendisi (tamamı)
- Fötal karaciğer
- Fötal mide içeriği
- Yavru zarları, kotiledonlar
- Anneye ait vaginal yıkantı sıvısı
- Anneye ait vaginal svab
- Atık yapan hayvana ait süt örnekleri
- Anneye ait kan ve serum örnekleri

# Atık Olgularında etken izolasyonu

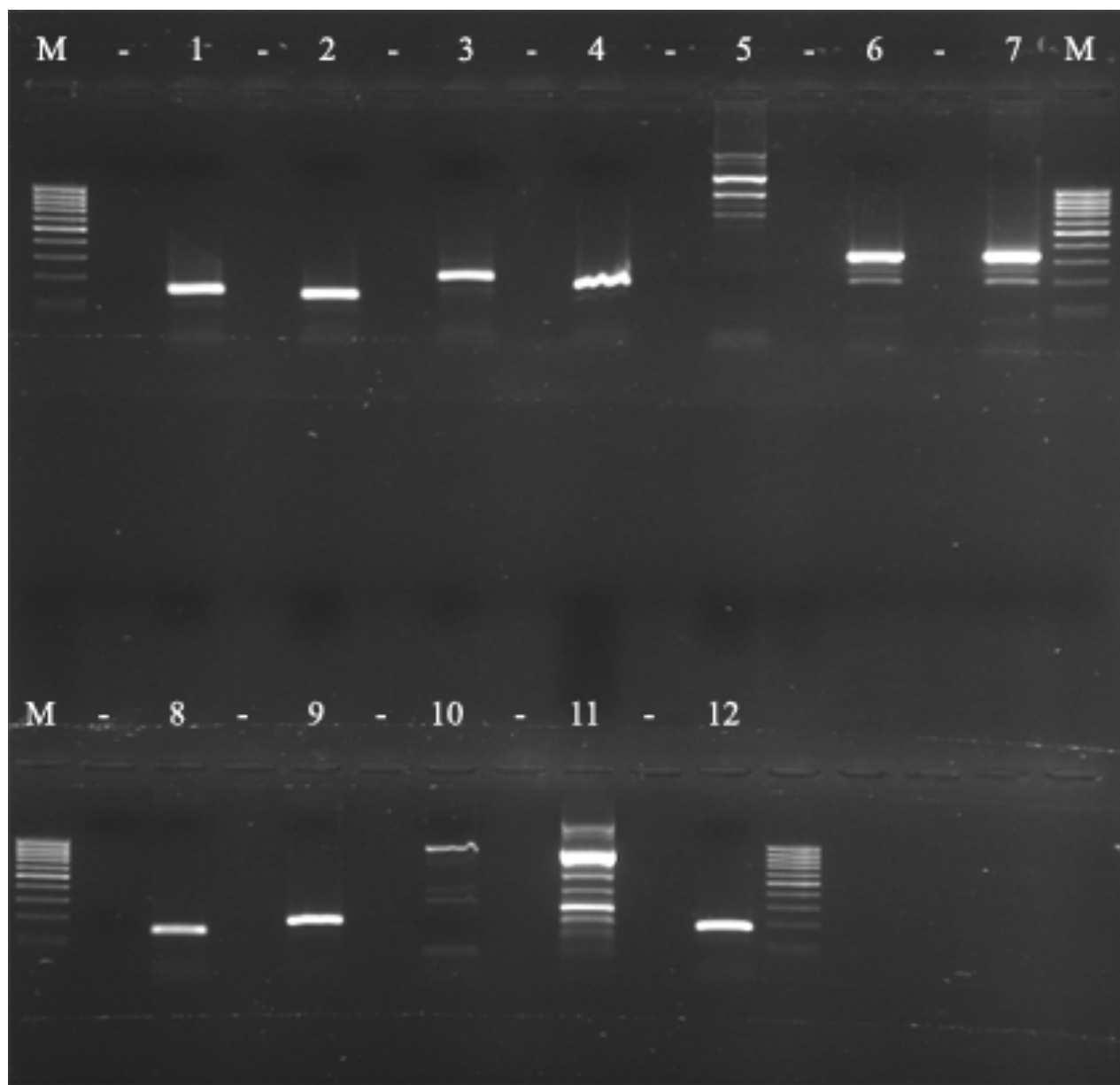
- Oldukça zor
- % 30-35'inde etken izolasyonu
- uygun şartlarda lab.'a transport
- Her bir atık materyalinden özel inokulum hazırlanmalı
- uygun özel besiyerleri hazırlanmalı
- Uygun inkubasyon atmosferi ve koşulları
- Bazıları hücre kültürüne, ETY'na ekimler ve seri pasajlar gerektiriyor...

# Düşük izolasyon yüzdesi

- Olgunun geç farkedilmesi
- Kötü materyal seçimi
- Materyalin kötü transportu
- Lab. Altyapı yetersizliği
- Lab. Deneyimli personel yetersizliği
- Otoliz (kokuşma)
- Kontaminasyon
- Uzun süren izolasyon (3 gün) ve identifikasyon (1-2 hafta)

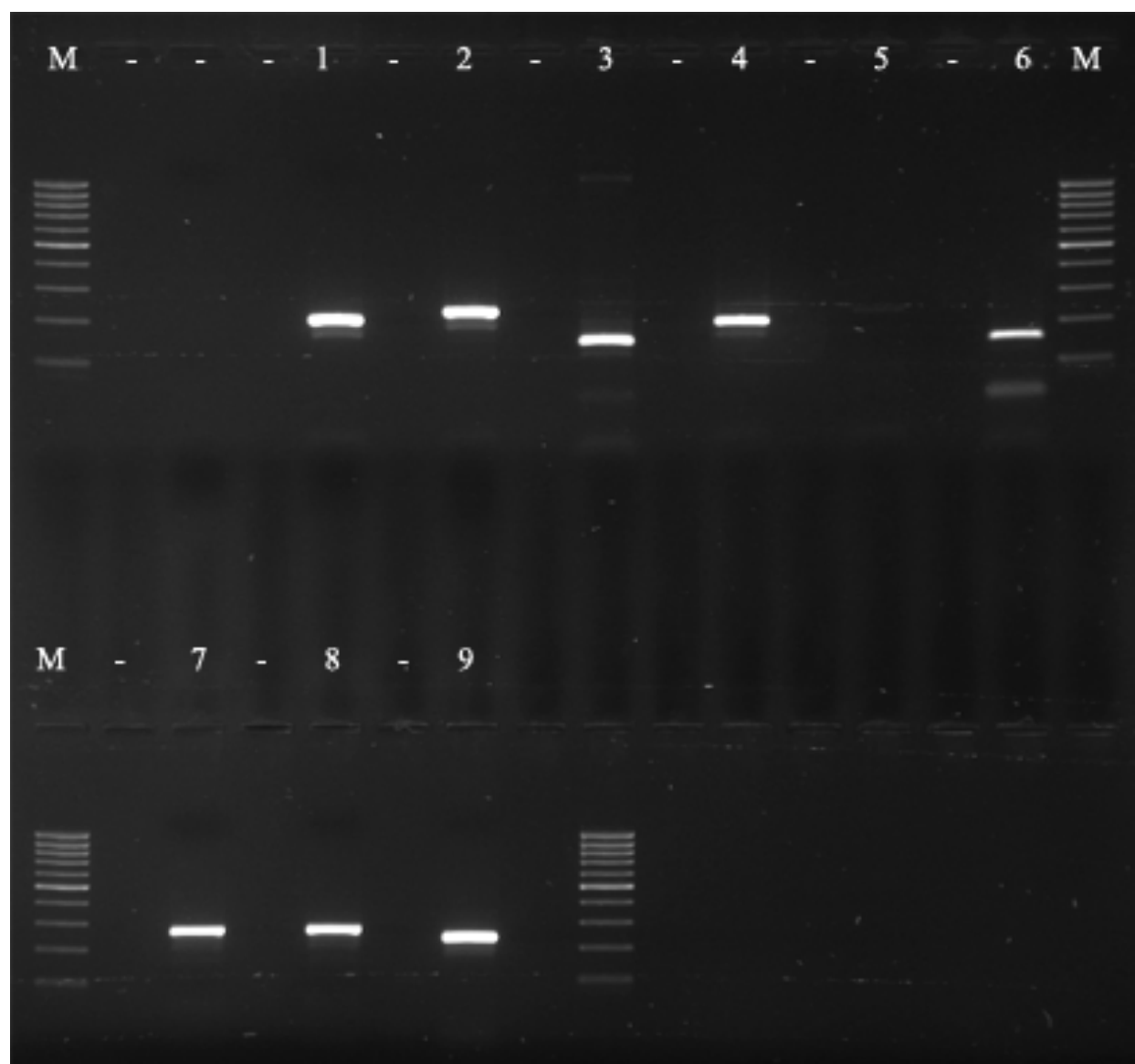
# Atık Olgularının Moleküler Tanısı

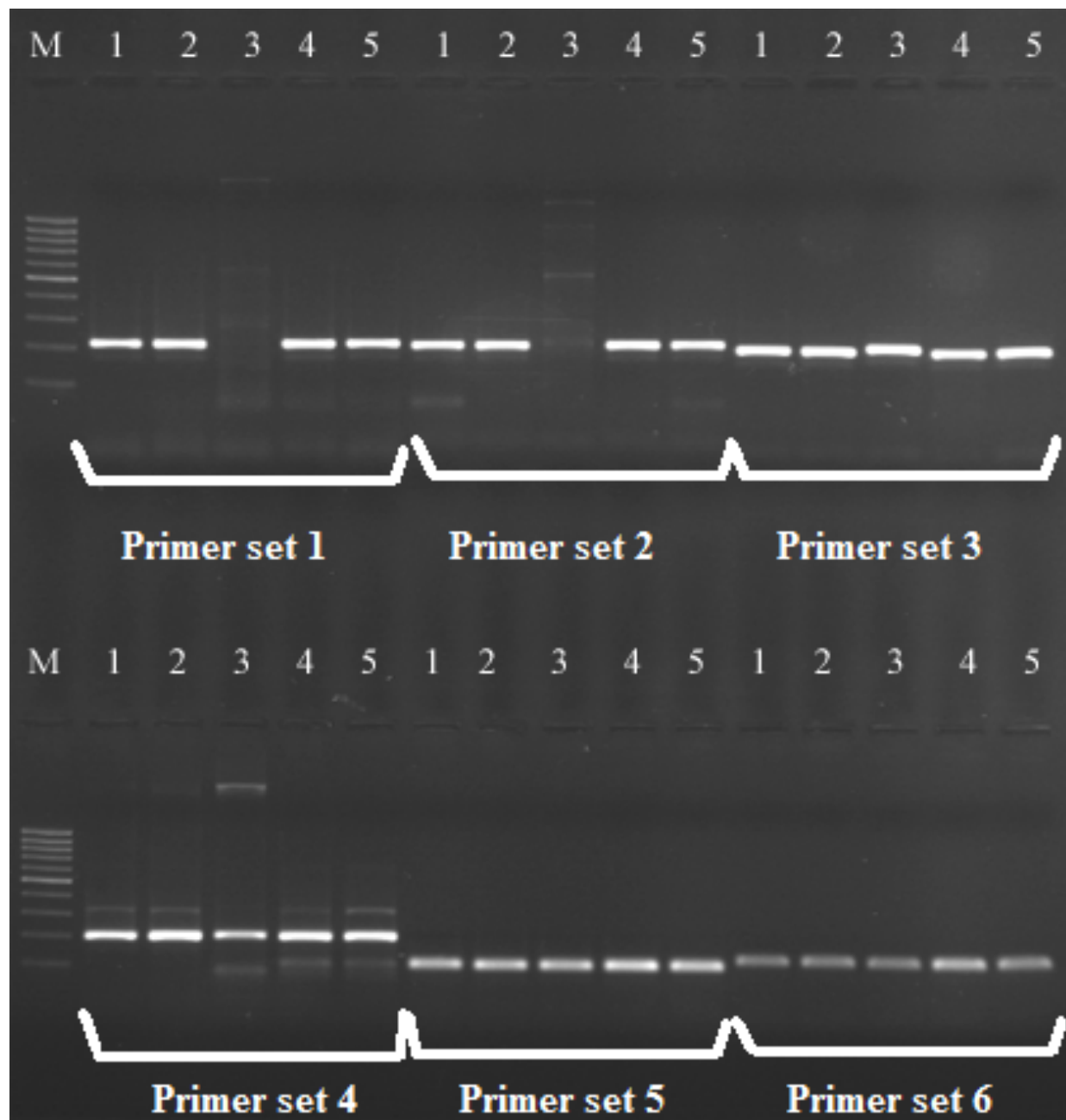
- Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)
- Ekstrakte DNA
- Spesifik primerler (uygun dizayn)
- Enzimatik (Taq polimeraz) DNA amplifikasyonu
- Elektroforez (görüntüleme)
- Kesin Tanı

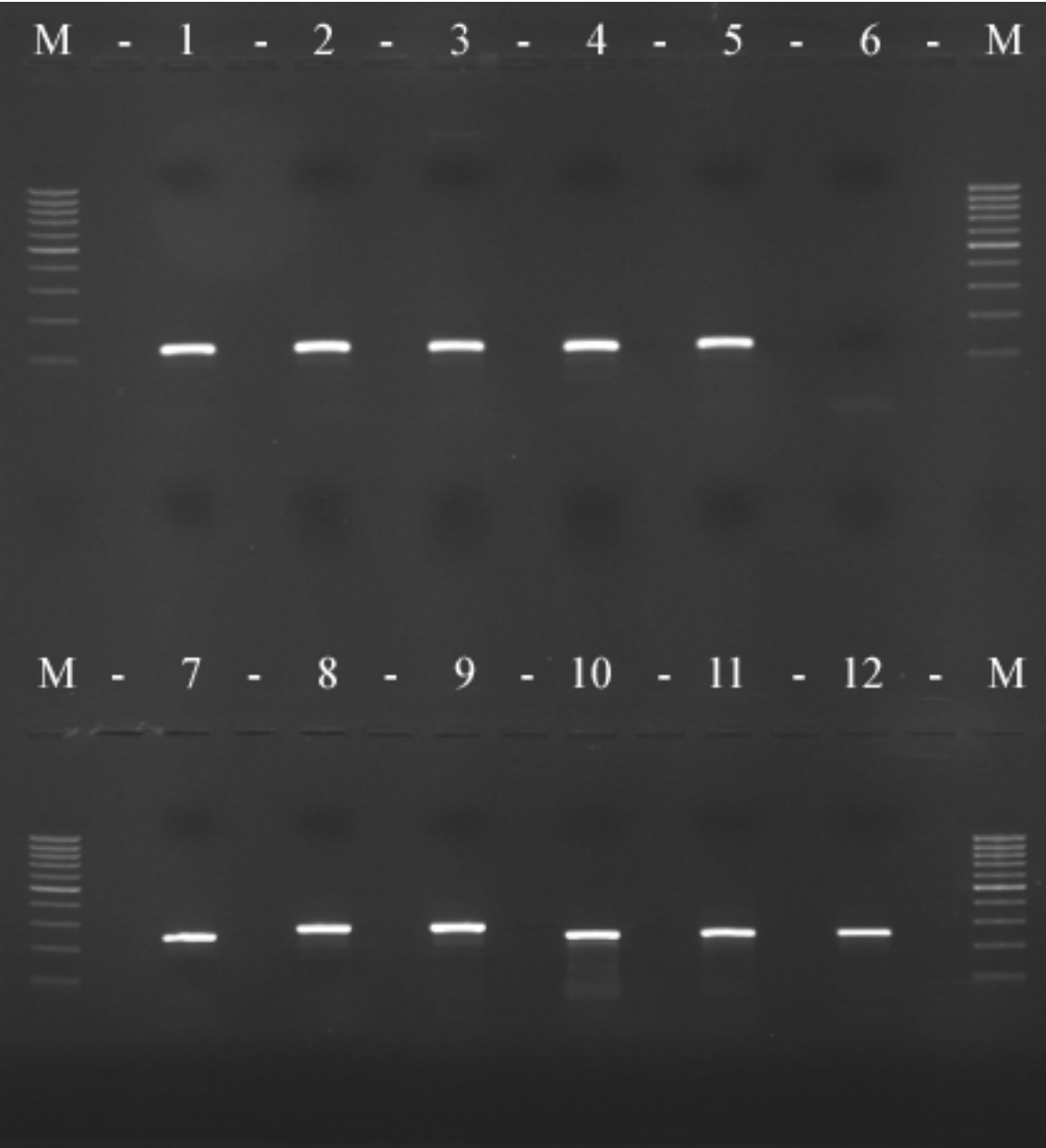


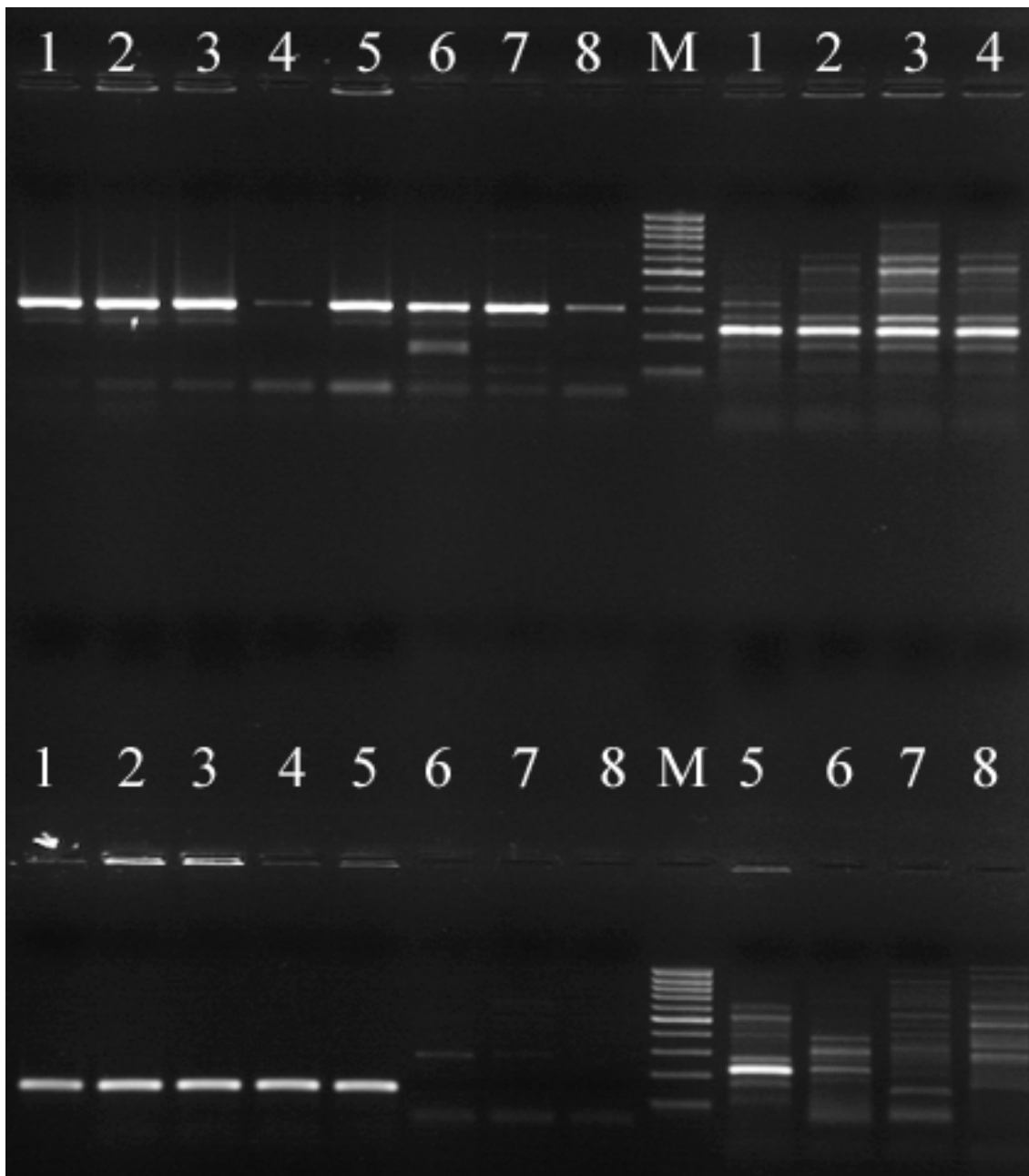


No	Primerlerin Spesifik Olduđu Etken	Uzunluk	Sonuç	Multiplex-PCR' a Uygunluđu
1	<i>Haemophilus somni</i>	145 bp	başarılı	Uygun
2	<i>Haemophilus somni</i>	126 bp	başarılı	Uygun
3	<i>Haemophilus somni</i>	206 bp	başarılı	Uygun
4	<i>Brucella melitensis</i>	170 bp	başarılı	Uygun
5	<i>Brucella abortus</i>	307 bp	başarısız	tekrar dizayn
6	<i>Brucella spp.</i>	337 bp	başarılı	Optimizasyon (ekstra bant)
7	<i>Brucella spp.</i>	337 bp	başarılı	Optimizasyon (ekstra bant)
8	<i>Campylobacter jejuni</i>	135 bp	başarılı	Uygun
9	<i>Campylobacter jejuni</i>	182 bp	başarılı	Uygun
10	<i>Campylobacter fetus</i>	244 bp	başarısız	tekrar dizayn
11	<i>Salmonella abortusovis</i>	949 bp	başarılı	Optimizasyon (ekstra bantlar)
12	<i>Coxiella burnetii</i>	180 bp	başarılı	Uygun







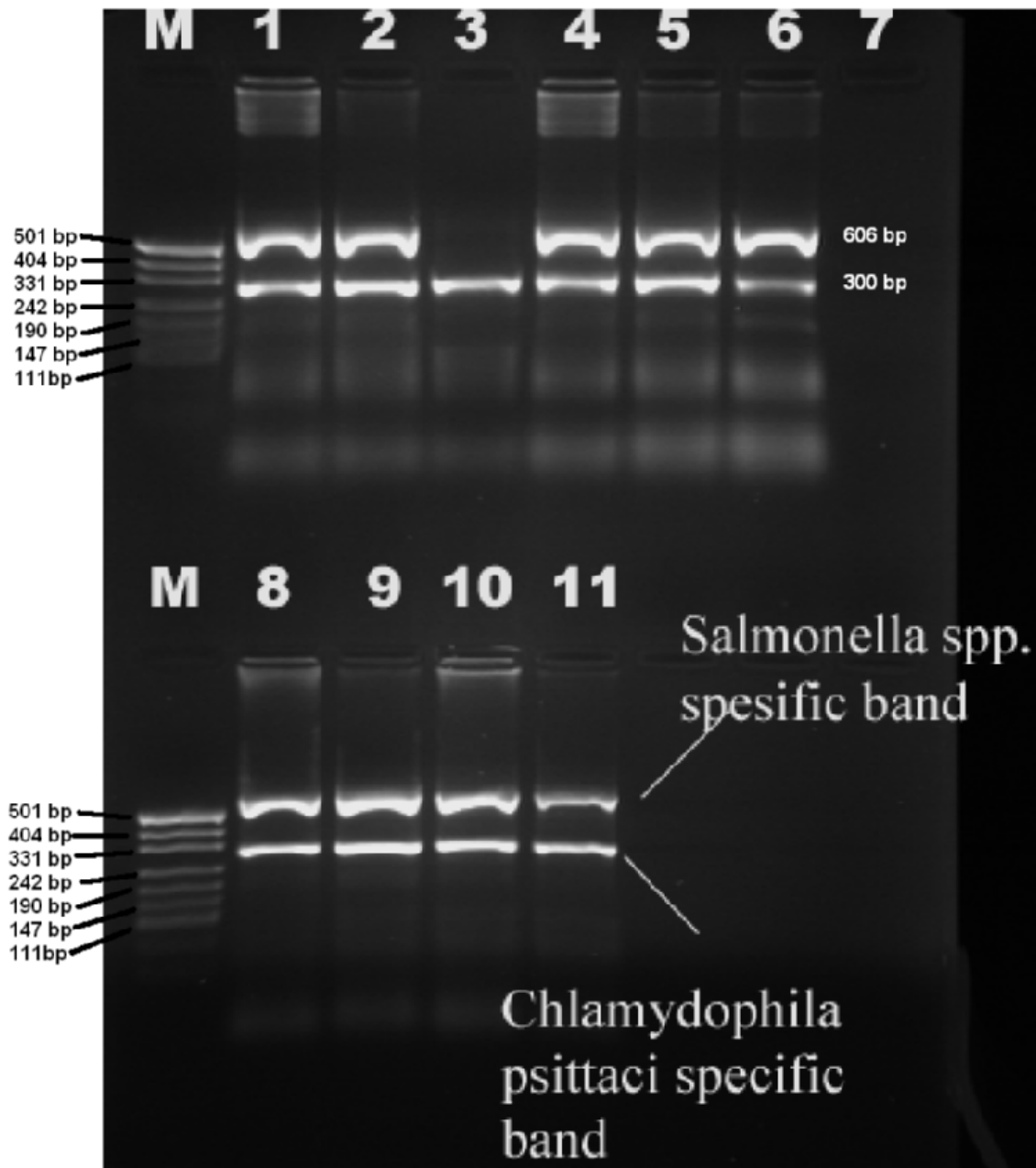


# Atık Olgularının Moleküler Tanısı (Avantajlar)

- Hızlı tanı (en fazla 6 saat)
- Yüksek spesifite (%90 ve yukarısı)
- Yüksek sensitivite ((%90 ve yukarısı)
- İnaktif etkenlere ait nukleik materyalin saptanması
- Karışık etkenlerde patojen etkene ait nukleik materyalin saptanması
- Tekrarlanabilirlik
- Düşük test maliyetleri
- Hızlı epidemiyolojik tarama, sürüden çıkartma ve kontrol imkanı

# Multiplex-PCR

- Aynı klinik materyalden (örn. Mide içeriği) ekstrakte edilmiş aynı DNA'dan,
- aynı anda
- Farklı etkenlere karşı dizayn edilmiş spesifik primerler kullanılarak
- Aynı reaksiyon karışımıyla
- Aynı amplifikasyon koşullarıyla
- Çok sayıda etkene spesifik genetik bölgenin amplifiye edilmesi (genlerin çoğaltılarak saptanması)





# Multiplex-PCR Avantajları

- Hızlı ve spesifik tanı
- Aynı anda aynı materyalde çok sayıda etkenin incelenmesi
- İş gücü tasarrufu
- Sarf malzeme tasarrufu
- Kimyasal tasarrufu
- Zamandan kazanç

# Projenin Ülkeye Sağlayacağı Avantajlar

- Ekonomik öneme sahip sürülerde atık olgularının hızlı ve doğru teşhisi hastalığın kontrolünü kolaylaştıracak
- Diğer hayvan gruplarına ve olgulara uyarılama
- Halk sağlığını tehdit eden zoonotik etkenlerin yayılmasını önleyecek
- Hızlı tanı tekniklerinin ve kitlerinin geliştirilmesi
- Ulusal ve Uluslararası literatüre katkı
- Ülkenin uluslar arası bilimsel prestijine katkı