


Maklumat Inovasi 2012

Tajuk Inovasi	Penggunaan Teknik PCR Dalam Pengesanan Penyakit Tuberculosis Pada Haiwan Ternakan	
Ketua Kumpulan	 Dr Akma Binti Ngah Hamid	
Ahli Kumpulan	 En Mohamad Azlan Jahaya	 En Ho Rui Feng
Tahun Penciptaan/ Penambahbaikan		
Ringkasan Inovasi	Teknik PCR adalah singkatan kepada Polymerase Chain Reaction (Tindakbalas Rantaian Polimeras) yang melibatkan proses amplikasi gen DNA bakteria tersebut yang terdiri daripada penyahaslian, penyepuhan dan pemanjangan yang melibatkan lebih 30 kitaran amplifikasi dengan menggunakan primer yang spesifik. Kehadiran gen organisma ini boleh ditentukan dengan menggunakan gel agaros dan dibaca di bawah iluminasi ultraungu.	

	<p>Dengan menggunakan teknik PCR, dua kaedah pengesanan penyakit TB telah dibangunkan:</p> <ol style="list-style-type: none"> i. Pengesanan <i>Mycobacterium Tuberculosis Complex</i> (MTC) ii. Pengesanan <i>Mycobacterium bovis</i> dan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> dengan menggunakan Multiplex PCR. <p>Penggunaan teknik ini boleh mengesan penyakit Tibi dalam tisu, darah dan susu dengan menggunakan kit ekstraksi di pasaran.</p>
<p>Latarbelakang</p>	<p>Penyakit tuberculosis (TB) adalah sejenis penyakit berjangkit dan mudah merebak, seterusnya menyebabkan kematian. Penyakit TB disebabkan oleh <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada manusia tetapi kadar kes-kes yang disebabkan <i>Mycobacterium bovis</i> masih tidak diketahui. Di negara-negara perindustrian, program kawalan dan pembasmian TB dalam ternakan dijalankan sekali dengan pempasteuran susu yang telah menunjukkan kejadian jangkitan TB dalam manusia dan haiwan menurun secara mendadak. Penyakit TB disebarkan melalui udara, luka, tercucuk dengan agen TB atau kontaminasi daripada bahan pencernaan daripada lembu yang terjangkit.</p> <p>Penyakit TB pada manusia dapat dirawat dengan menggunakan rawatan antibiotik yang murah tetapi mengambil tempoh masa yang panjang untuk memastikan pesakit betul-betul bebas daripada agen tersebut. Tetapi faktor penting ialah tempoh untuk membuat diagnos dan mengesahkan penyakit mengambil masa yang lama iaitu antara 8-12 minggu dengan menggunakan kaedah kultur (konvensional). Kebelakangan ini, terdapat peningkatan laporan kerentanan ke atas ubat (multi-drug resistant) yang digunakan bagi rawatan penyakit ini. Data dari MKAK telah menunjukkan peningkatan bagi tiga tahun kebelakangan ini (2009 -54 isolat, 20120 -62 isolat dan 2011 141 isolat) dan bersamaan dengan kes yang berlaku di wilayah Eropah Timur yang menunjukkan kadar kerentanan sebanyak 10% di kalangan kes baru dan 37.7% di kalangan kes yang telah dirawat.</p> <p>Bagi tujuan saringan penyakit TB dalam haiwan ternakan kit ELISA telah digunakan tetapi ujian pengesanan perlu dijalankan sebelum haiwan ternakan dapat dilupuskan mengikut prosedur yang ditetapkan oleh pihak DVS.</p> <p>Kaedah untuk pengesanan atau memencilkan bakteria <i>Mycobacterium bovis</i> dan lain-lain spesis dengan menggunakan kaedah konvensional adalah terlalu lama dan kemungkinan akan berlaku kontaminasi oleh pertumbuhan lain-lain organisma ke atas media pertumbuhan.</p>

	<p>Dengan itu, satu kaedah diagnostik yang pantas , sensitif dan spesifik perlu dibangunkan untuk kegunaan makmal bagi tujuan pengesanan dan pengesanan spesies bakteria Mycobacterium.</p>
<p>Penjelasan Inovasi</p>	<p>Untuk membangunkan atau mengadakan satu kaedah diagnostik yang pantas , sensitif dan spesifik bagi pengesanan penyakit TB, maka kaedah PCR seperti berikut telah dibangunkan di makmal iaitu:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pengesanan Mycobacterium Tuberculosis Complex (MTC) dengan Teknik Single PCR yang boleh mengesan M. Bovis, M. Tuberculosis, M Africanum dan M. Microti serentak. 2. Pengesanan M. Bovis dan M. Tuberculosis dengan menggunakan Teknik Multiplex PCR yang boleh membezakan kedua-dua spesies Mycobacterium. <p><u>Pengesanan MTC- Teknik Single PCR</u></p> <p>Secara amnya terdapat 4 peringkat iaitu</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Homogenkan sampel (tisu, organ dan susu) 2. Ekstraksi DNA menggunakan kit komersial QIAGEN Dneasy Blood and Tissue. 3. Penyediaan campuran Master (QIAGEN TopTaq Master Mix) 4. Proses PCR 5. Gel elektroforesis untuk membaca keputusan ujian PCR <div data-bbox="516 1243 1347 1642" data-label="Figure"> </div> <p>Pengesanan MTC – Teknik Single PCR</p> <p><u>Pengesanan M.Bovis dan M. Tuberculosis –Teknik Multiplex PCR</u></p> <p>Teknik hampir sama dengan MTC-Single PCR tetapi dibezakan dengan jenis primer dan proses PCR.</p>

	 <p style="text-align: center;">Pengesana M.Bovis –Teknik Multiplex PCR</p> <p>Kajian Pengesahan Keadah Ujian</p> <p>Teknik ini dapat dibuktikan berjaya melalui ujian jujukan (sequencing).</p>
<p>Faedah Inovasi</p>	<p>Perubahan menggunakan teknik ini telah memberikan faedah berikut:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Keputusan makmal diperolehi dalam tempoh 1-3 hari bergantung kepada jenis specimen berbanding kaedah konvensional (pemencilan) yang mengambil masa sehingga 3 bulan 2. Keselamatan juruanalisis lebih terjaga kerana pendedahan kepada organisma tersebut adalah minimum 3. Teknik ini lebih tepat, sensitif dan spesifik kerana pengesanan berasaskan DNA 4. Pengurangan anggaran kos daripada RM30 kepada RM19 bagi satu ujian.
<p>Status Komersial (jika ada)</p>	<p>Tiada</p>
<p>Pencapaian / Anugerah (jika ada)</p>	
<p>Maklumat Lanjut</p>	<p>Makmal Kesihatan Awam Veterinar, Jalan Nilai-Banting, Bandar Baru Salak Tinggi 43900 Sepang Selangor No Tel: 03-87068681 No Faks:03 87068675</p>

Gambar Produk Inovasi

	Sebelum Inovasi	Selepas Inovasi
1.	Sampel ujian terhad	Sampel lebih meluas meliputi organ dan susu
2.	Ujian konvensional seringkali negatif	Lebih banyak sampel didapati positif (Ujian PCR - DNA)
3.	Masa ujian (isolasi) terlalu lama	Kurang 24 jam masa ujian
4.	Keputusan makmal ~ 3 bulan	Keputusan makmal : 1-3 hari
5.	Kakitangan makmal terdedah kepada kultur organisma yang merbahaya	Keselamatan lebih terjamin kerana pendedahan adalah minimum.
6.	Kos ~ RM 32	Kos ~ RM 19
7.	Risiko di lapangan	Kerja di lapangan lebih bersedia kerana status diketahui cepat
8.	Sampel meliputi banyak organ	Sampel sesuai diuji adalah nodus limfa dan peparu
9.	Sampel perlu dihantar ke makmal rujukan - ujian lanjut	Sampel boleh dijui terus