



Tarmflora ved New Neonatal Porcine Diarrhoea (NNPD)

Undersøgelser af tarmfloraens sammensætning ved ny teknologi, der måler bakterier og bakteriegrupper kvantitativt. Sammenligning af spædgrise med og uden diarré.

PhD stud. Marie Louise H. Hermann, DTU Veterinærinstituttet



Dagsorden

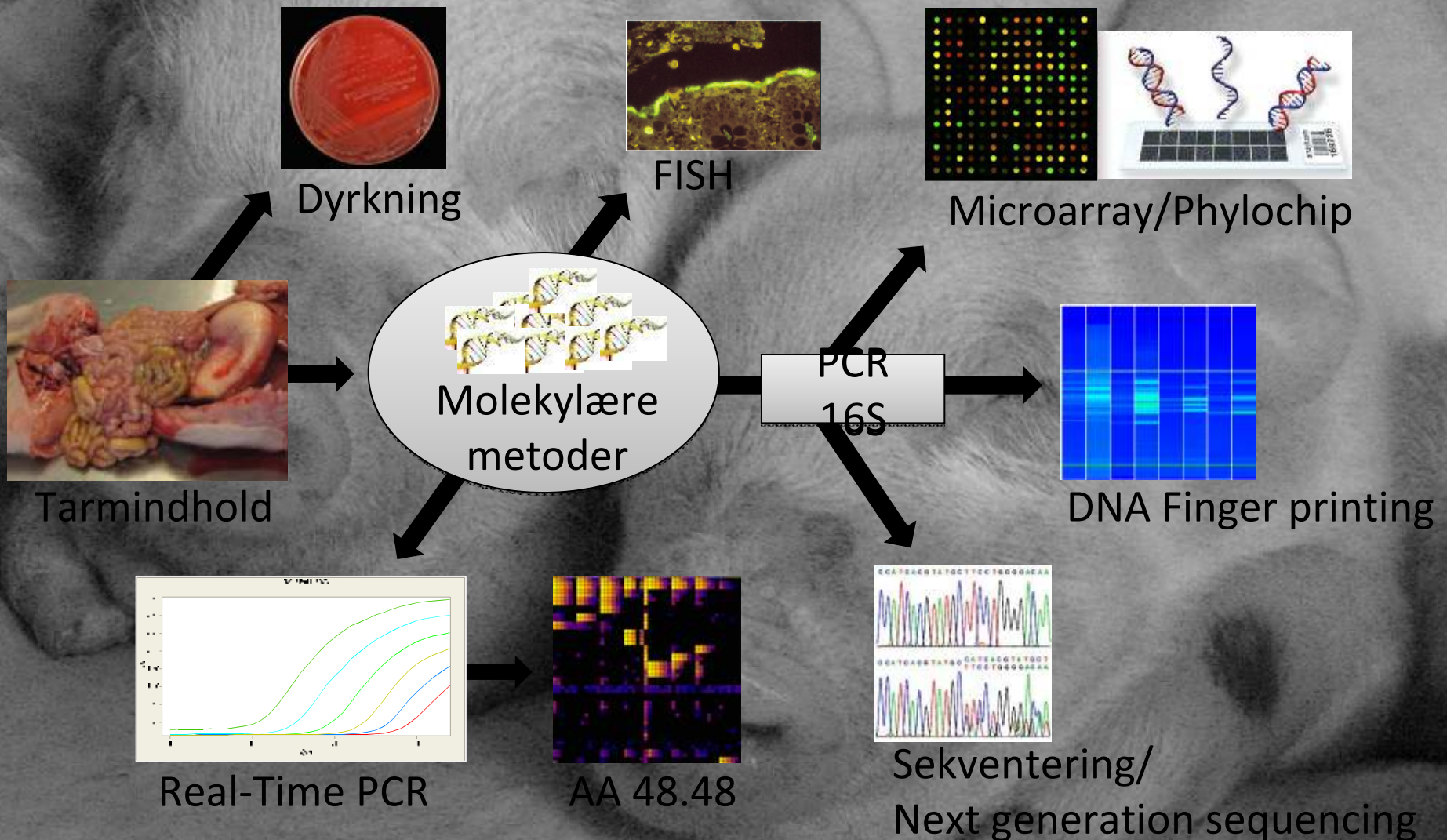
- Case - gris
- Metoder til karakterisering af tarmfloraen
- Teori PCR & Real-Time PCR
- Access Array 48.48
- Perspektivering

Case - gris



Bakterielt betinget???

Karakterisering af tarmfloraen



Polymerase kæde reaktionen

Mål DNA



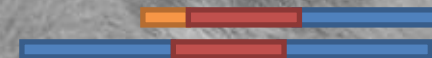
DNA

- + Primers der flankere mål DNA'et
- + Frie nukleotider
- + Taq polymerase

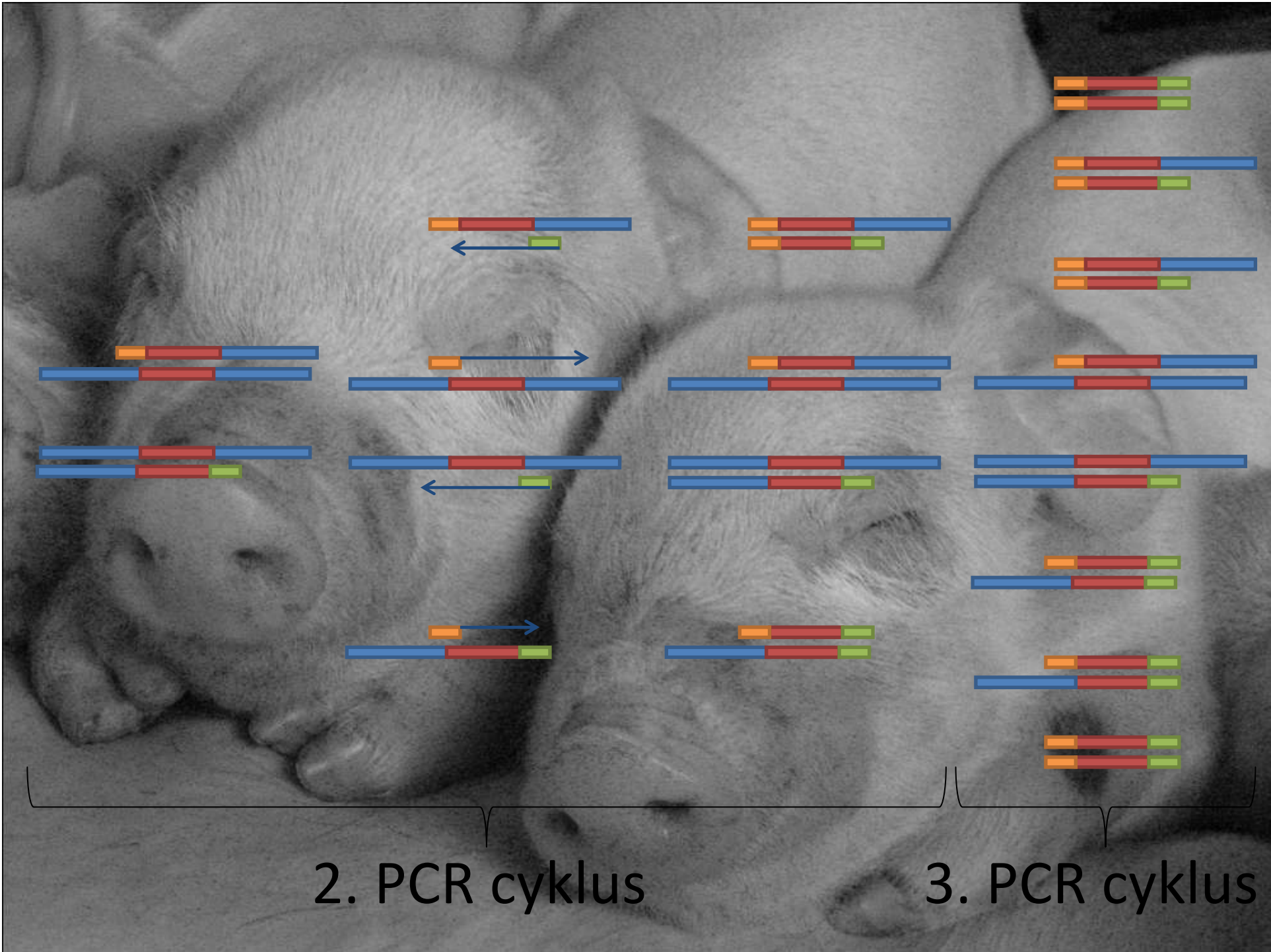
Denaturering 96°

Annealing 60°

Elongering 72°



1. PCR cyklus



Kopier af mål DNA

| Cyklus (n) | Antal dobbelt-strengede kopier |
|------------|--------------------------------|
| 1 | 0 |
| 2 | 0 |
| 3 | 2 |
| 4 | 8 |

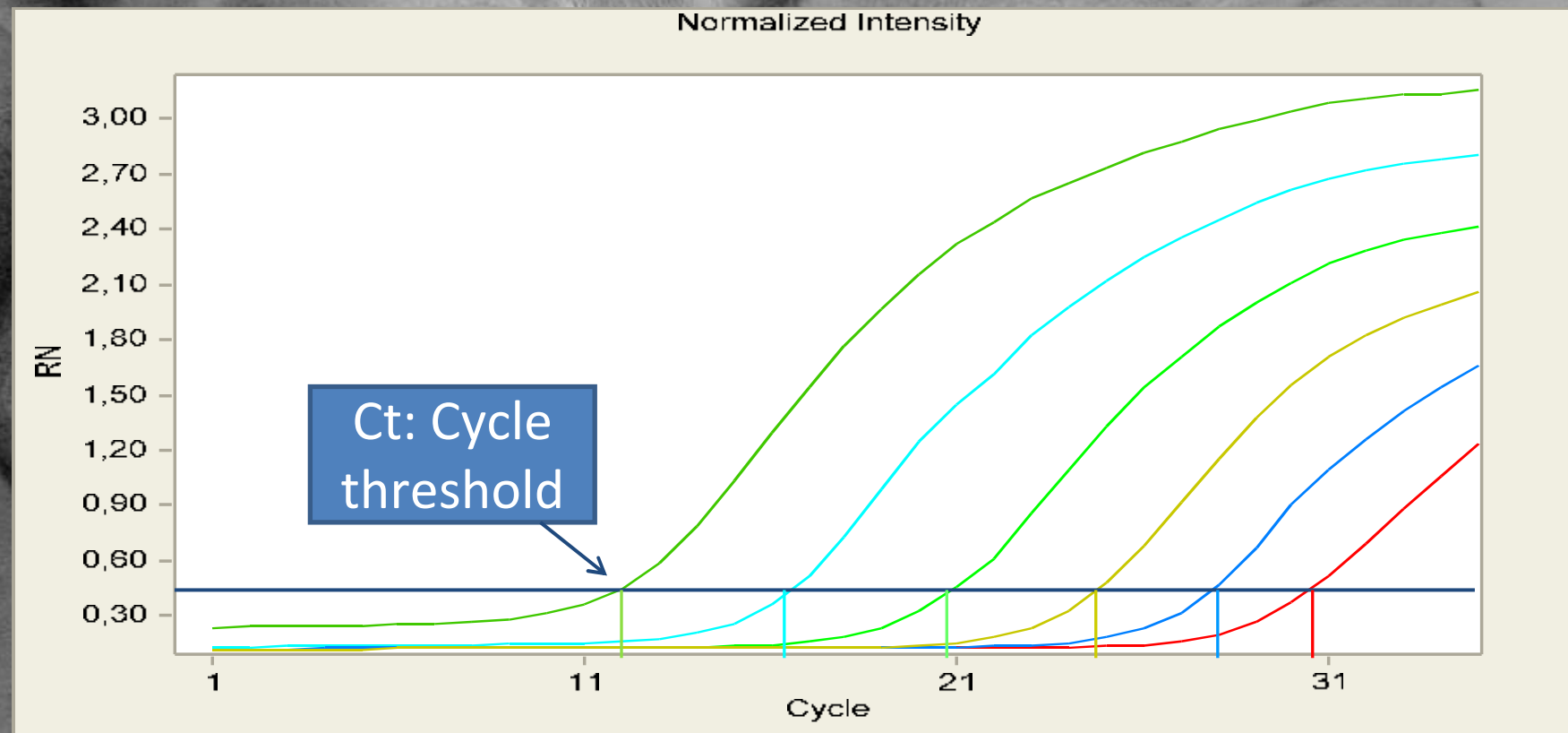
$$2^n - 2n$$

PCR: En metode der tillader eksponentiel opformering af korte DNA sekvenser i et længere dobbelstrenget DNA molekyle

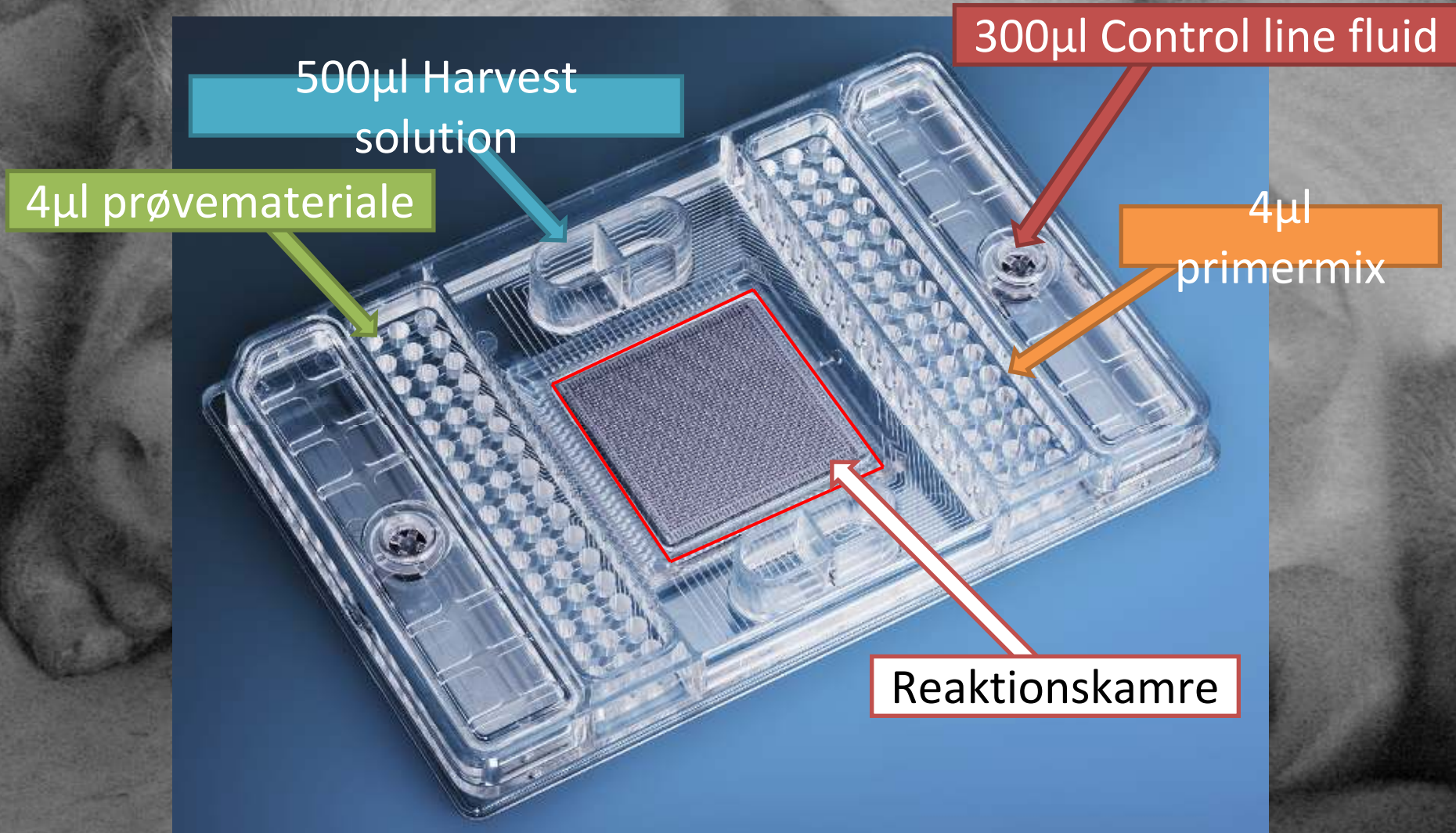
| | |
|----|---------------|
| 7 | 114 |
| 8 | 240 |
| 9 | 494 |
| 10 | 1.004 |
| 20 | 1.048.536 |
| 35 | 1.073.741.764 |

Real-Time PCR

- Registrerer amplificeringen mens den sker ved tilsætning af DNA-bindende farvestof

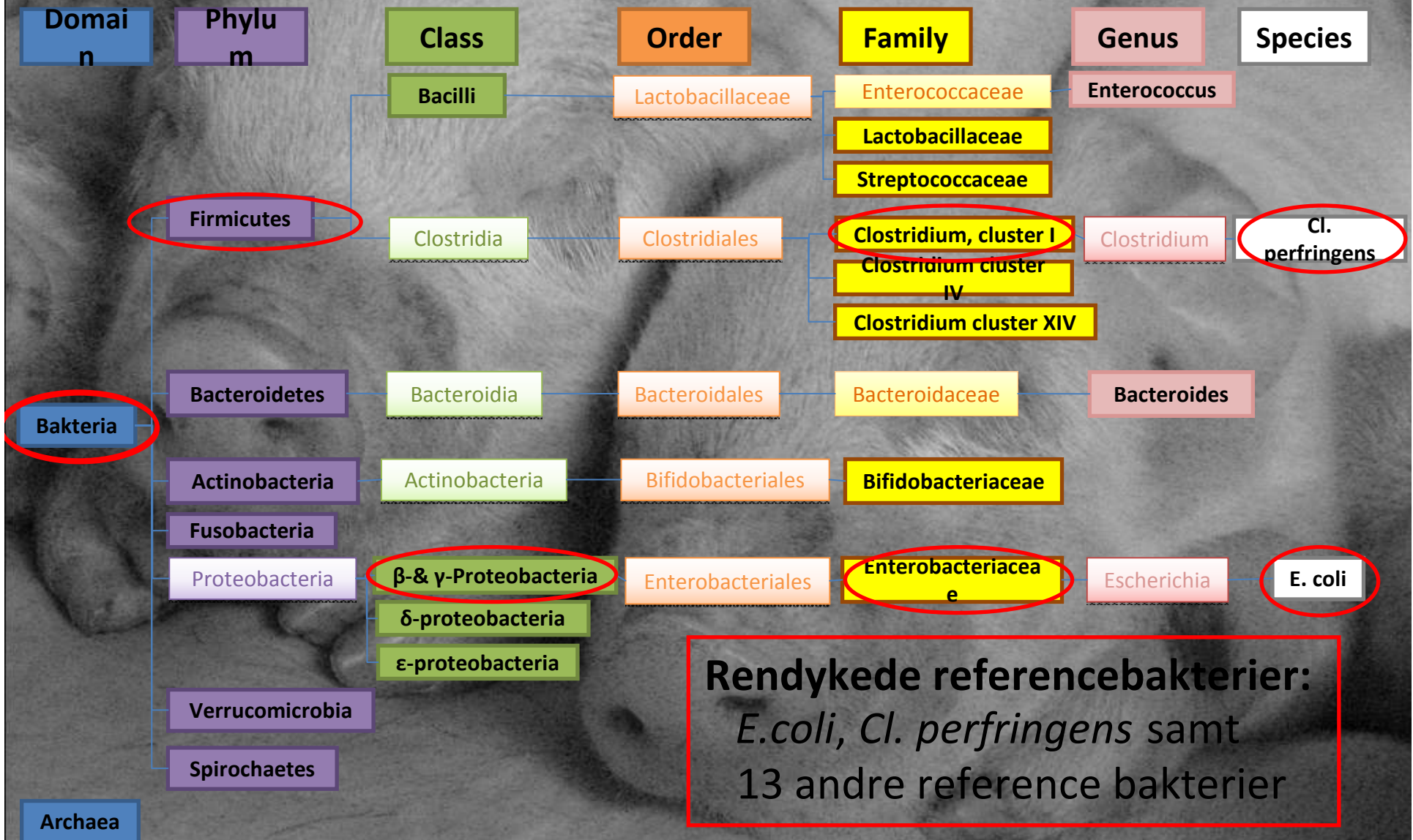


Access Array 48.48 fra Fluidigm®



High throughput Real-Time PCR

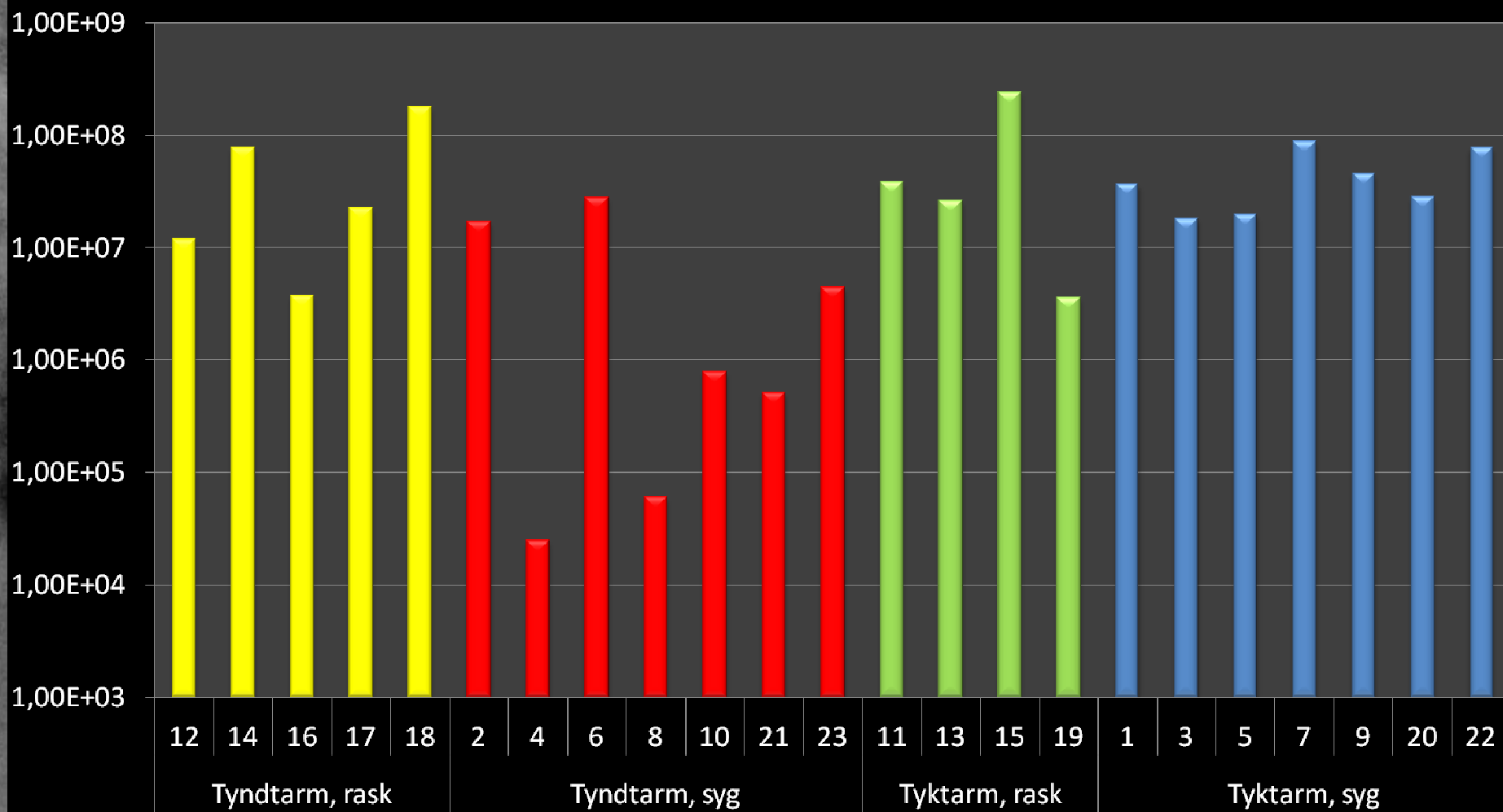
Primer targets



Rendykede referencebakterier:
E.coli, *Cl. perfringens* samt
 13 andre reference bakterier

Tarmmikrobiotaens sammensætning

Bakterier kvantitativt



Perspektivering

- AA 48.48
 - hurtig screening af mange dyr
 - informativ
 - sensitiv
 - billig
 - detektering af ukendte patogener
 - diagnostisk værktøj (96.96)
- Kendt ætiologi → mulighed for intervention

Tak for opmærksomheden...

