

ÖZET**Enterotoksemi hastalığı tespit sistemi ve yöntemi**

- 5 Kolorimetrik sonuç veren maddelerin ve enterotoksemi hastalığının pozitiflik/negatiflik durumlarının, alınan numuneler üzerinden tespit edilmesini sağlayan sistem olup, özelliği; İçerisine numunelerin koyulmasını sağlayan kuyucuklar (2), İçerisinde bulunan kuyucukların (2) cihaza konumlandırılmasını sağlayan numune çekmecesini (3), Numune çekmecesinin (3) altında bulunan ve istenilen renkte ve tayf aralığında ışık verilmesini sağlayan çok renkli led
- 10 (4), Antijen miktarına göre rengi değişen numunede ışığın yoğunluğunu numune çekmecesinin (3) üzerinden algılayan ve mikrodenetleyiciye (7) ileten optik algılayıcı (1), Optik algılayıcılardan (1) gelen verileri değerlendiren ve numunelerin pozitiflik ve negatiflik durumlarını belirleyen mikrodenetleyici (7) içermesidir.

- 15 (Şekil 1)

İSTEMLER

1. Kolorimetrik sonuç veren maddelerin ve enterotoksemi hastalığının pozitiflik/negatiflik durumlarının, alınan numuneler üzerinden tespit edilmesini sağlayan sistem olup, özelliği;
 - İçerisine numunelerin koyulmasını sağlayan kuyucuklar (2),
 - İçerisinde bulunan kuyucukların (2) cihaza konumlandırılmasını sağlayan numune çekmecesini (3),
 - Numune çekmecesinin (3) altında bulunan ve istenilen renkte ve tayf aralığında ışık verilmesini sağlayan çok renkli led (4),
 - Antijen miktarına göre rengi değişen numunede ışığın yoğunluğunu numune çekmecesinin (3) üzerinden algılayan ve mikrodnetleyiciye (7) ileten optik algılayıcı (1),
 - Optik algılayıcılardan (1) gelen verileri değerlendiren ve numunelerin pozitiflik ve negatiflik durumlarını belirleyen mikrodnetleyici (7)
2. İstem 1' e uygun sistem olup, özelliği; numune çekmecesinin (3) 4 adet kuyucuk (2) içermesidir.
3. İstem 1' e uygun sistem olup, özelliği; şeffaf plastikten üretilen kuyucuklar (2) içermesidir.
4. İstem 1' e uygun sistem olup, özelliği; mikrodnetleyici (7) tarafından belirlenen sonuçların kullanıcıya gösterilmesini ve aşamalar hakkında bilgiler verilerek numune okutacak hekimin yönlendirilmesini sağlayan ekran (5) içermesidir.
5. İstem 1' e uygun sistem olup, özelliği; ekran (5) üzerinden ayarlamalar yapılmasını sağlayan menü butonları (9) içermesidir.
6. İstem 1' e uygun sistem olup, özelliği; elde edilen verilerin başka bir cihaza/bilgisayara aktarılmasını sağlayan USB bağlantı portu (8) içermesidir.
7. İstem 1' e uygun sistem olup, özelliği; cihaz için gerekli enerjiyi sağlayan pil (6.1) ve pilin şarj edilmesini sağlayan pil şarj ünitesi (6) içermesidir.

8. Kolorimetrik sonuç veren maddelerin ve enterotoksemi hastalığının pozitiflik/negatiflik durumlarının, alınan numuneler üzerinden tespit edilmesini sağlayan yöntem olup, özelliği;

- 5 • Numunelerin numunece çekmecesinde (3) bulunan antikor kaplı kuyucuklara (2) konulması,
- Numune çekmecesinin (3) altından çok renkli led (4) ile kuyucuklara (2) ışık verilmesi,
- Her bir yeni okumada birinci kuyuda pozitif kontrol, ikinci kuyuda negatif kontrolün optik algılayıcı (1) tarafından okutulması ve mikrodenetleyicinin (7) bunu hafızasına kaydederek tanımlanmak istenen numunenin pozitiflik ve negatiflik aralıklarının
- 10 belirlenmesi,
- Optik algılayıcılar (1) tarafından okunan numune verilerinin mikrodenetleyiciye (7) iletilmesi ve verilerin kolorimetrik olarak değerlendirilerek pozitiflik/negatiflik durumlarının belirlenmesi,
- Ekran (5) üzerinden numunelerin pozitiflik/negatiflik durumlarının gösterilmesi,
- 15 • Okunan ve değerlendirilen tüm verilerin kaydedilmesi ve diğer cihazlara/bilgisayarlara aktarılması

işlem adımlarını içermesidir.

TARİFNAME

Enterotoksemi hastalığı tespit sistemi ve yöntemi

5 Teknik Alan

Buluş; özellikle çiftlik hayvanlarında oldukça öldürücü bir hastalık olan Enterotoksemi hastalığının sahada hızlı ve doğru teşhisini sağlayan ve bunun yanında özelliği gereği antikor-antijeni mevcut olan veya üretilebilen tüm hastalıklar için de kullanılabilen sistem ve yöntem ile ilgilidir.

Tekniğin Bilinen Durumu

Enterotoksemi hastalığı özellikle çiftlik hayvanları için oldukça öldürücü bir hastalıktır. Enterotokseminin en önemli klinik semptomları arasında ishal ve ani ölümler sayılabilir ve aynı semptomlarla sığır, koyun ve keçilerde birçok hastalık bulunmaktadır. Benzer birçok hastalık antibiyotiklerle tedavi edilirken Enterotoksemilerin tedavisinde aşılama yapmak gerekmektedir. Bu nedenle hastalığın hızlı ve doğru teşhisi hayvan ölümlerini önlemek açısından çok önemlidir.

Veteriner Hekimler saha şartlarında bu hastalığı tespit etmekte zorlandıklarından ya doğrudan antibiyotik tedavisine başlamakta ya da aşılama yapmaktadırlar. Bu ise gereksiz ilaç ve aşı kullanımı yanı sıra yanlış tedavi durumlarında önemli derecede ölümlere sebep olmaktadır. Bu hastalığın etkeni olan Clostridium perfringens isimli bakterinin toksinleri hastalığın şekillenmesine sebep olur ve başlıca 5 önemli toksini vardır. Piyasada kullanılan teşhis kitleri bu toksinlerin tespitine yöneliktir. Ancak bu bakteri normalde de bağırsaklarda bulunduğundan az miktarda toksin salgılar ancak toksin az miktarda olduğunda hastalığa sebep olmaz veya her zaman tespit edilemez.

Enterotokseminin saha şartlarında teşhisi için kullanılan toksin strip kitlerinin duyarlılıkları yukarıda açıklanan sebeplerle çok yüksek değildir. Daha hassas olan ELISA kitleri ise ancak laboratuvar koşullarında yapılabilmekte, bu ise zaman almaktadır. Bu sebeple saha şartlarında hastalığın hızlı teşhisi önem arz etmektedir.

Mevcut teknikte 2022/009589 numarasına sahip başvurunun özeti; "Buluş, enterotoksemi hastalığının teşhisi için hastalığının etkeni olan Clostridium perfringens bakterisinin

bağırsaklarda tutunup hastalık oluşturmalarını sağlayan nöraminidaz enzimini tespit eden bir test kiti ile ilgilidir. Clostridium perfringens bakterisi normalde de bağırsaklarda bulunmaktadır. Hastalık oluşturan durum ise etkenin bağırsaklara tutunup toksin üretmesidir. Nöraminidaz ise etkenin önemli bir virülans faktörüdür ve tespiti hastalığın varlığı açısından önemlidir. Test kiti doğrudan bu enzimin tespitine yönelik olduğundan duyarlılığı da yüksek olacaktır, hastalığın hızlı teşhisini ve dolayısıyla hızlı tedavisini sağlayacaktır.” şeklindedir.

Görüldüğü üzere sistem enterotoksemi hastalığının hızlı teşhisi için bir test kiti ile ilgili olup bunun yanında yukarıda bahsedilen dezavantajlara çözüm sağlanması amaçlanmaktadır.

Sonuç olarak yukarıda anlatılan olumsuzluklardan dolayı ve mevcut çözümlerin konu hakkındaki yetersizliği nedeniyle ilgili teknik alanda bir geliştirme yapılması gerekli kılınmıştır.

Buluşun Amacı

Buluş, mevcut teknikte kullanılan yapılanmalardan farklı olarak bu alanda yeni bir açılım getiren farklı teknik özelliklere sahip bir yapının ortaya koyulmasını amaçlamaktadır.

Buluşun öncelikli amacı; özellikle çiftlik hayvanlarında oldukça öldürücü bir hastalık olan Enterotoksemi hastalığının sahada hızlı ve doğru teşhisini sağlayan ve bunun yanında özelliği gereği antikor-antijeni mevcut olan veya üretilebilen tüm hastalıklar için de kullanılabilen bir sistem ve yöntem ortaya koymaktır.

Buluşun bir amacı, Enterotoksemi hastalığının etkeni olan Clostridium perfringens bakterisinin bağırsak hücrelerine yapışması ve toksin salgılamasını sağlayan nörominidaz isimli faktöre karşı geliştirilen antikorlar ile numunedeki antijenler aranmasını ve hastalığın teşhisinin kolorimetrik olarak hızlı bir şekilde ve laboratuvara numune göndermeye gerek kalmadan yapılabilmesini sağlamaktır.

Bu buluşta bakterilerin bağırsaklara tutunup hastalık oluşturmalarını sağlayan nörominidaz enziminin tespiti amaçlanmıştır. Böylece daha yüksek oranda doğru teşhis yapılabilecektir. Bu enzimin tespiti sayesinde enterotoksemi hastalığının teşhisi ile ilgili herhangi bir tanı yöntemi bulunmamaktadır.

Nörominidaz bir enzim olup hastalık etkeninin bağırsaklara tutunmasını ve hastalık yapmasını sağlar. Bu nedenle bu cihaz özellikle bağırsak içeriğinde nöraminidazın tespiti ile hastalığın daha hızlı ve güvenilir şekilde teşhisini sağlayacaktır. Ayrıca daha ucuz, pratik ve doğru teşhisin önünü açacaktır.

5

Geliştirilen bu biyosensör kiti kapsamında piyasada satılan ticari tüm ELISA kitleri ile kullanılabilir. Enteretoksemi hastalığının tespitinde nörominidaz üzerinden çalışan ticari bir kit bulunmamaktadır. Laboratuarda üretilen anti nörominidaz antikorlu kaplı ELISA kuyucuklarının üzerine şüpheli hayvanlardan alınan numune konulacak akabinde yine buluş kapsamında geliştirilecek olan enzim işaretli sekonder antikor ve enzime uygun substrat konularak antijen-antikor bağlanması yani nörominidaz bulunan kuyularda renk değişimi gözlenecektir. Oluşan bu renk değişimi hastalık açısından pozitif durumu gösterecektir.

Yukarıda belirtildiği gibi cihaz sadece nörominidaza spesifik değildir. Kolorimetrik sonuç veren tüm maddeler (hastalık tespiti, hormon vb. değerler) için kullanılabilir. Çalışma sırasında başka bir antijen/antikor ile ölçüm yapılmaya geçilirse uygun pozitif ve negatif kontrolün okutulması cihazın ölçüm aralığının tekrar belirlenmesi gerekmektedir.

Okutulan numune sonuçları uygun uygulamalar sayesinde telefon, tablet ve bilgisayara aktarılabilir, üzerinde çalışmalar yapılabilir ve istenilen formatta saklanabilir.

Sonuç olarak küçük, portatif ve tüm kolorimetrik çalışmalara uygun olan bu biyosensör sayesinde hastalıkların tespiti ekstra bir laboratuvar çalışması gerektirmeden sahada hızlıca yapılabilir ve sonuçlar birkaç dakika içinde belirlenir ve sonrasında da değerlendirilmek üzere elektronik ortamda saklanabilir.

Yukarıda anlatılan amaçları yerine getirmek üzere buluş, kolorimetrik sonuç veren maddelerin ve enteretoksemi hastalığının pozitiflik/negatiflik durumlarının, alınan numuneler üzerinden tespit edilmesini sağlayan sistem olup, özelliği;

- İçerisine numunelerin koyulmasını sağlayan kuyucuklar,
- İçerisinde bulunan kuyucukların cihaza konumlandırılmasını sağlayan numune çekmecesini,
- Numune çekmecesinin altında bulunan ve istenilen renkte ve tayf aralığında ışık verilmesini sağlayan çok renkli led,
- Antijen miktarına göre rengi değişen numunede ışığın yoğunluğunu numune çekmecesinin üzerinden algılayan ve mikrodenetleyiciye ileten optik algılayıcı,

- Optik algılayıcılardan gelen verileri değerlendiren ve numunelerin pozitiflik ve negatiflik durumlarını belirleyen mikrodenetleyici içermektedir.

5 Buluşun yapısal ve karakteristik özellikleri ve tüm avantajları aşağıda verilen şekiller ve bu şekillere atıflar yapılmak suretiyle yazılan detaylı açıklama sayesinde daha net olarak anlaşılacaktır ve bu nedenle değerlendirmenin de bu şekiller ve detaylı açıklama göz önüne alınarak yapılması gerekmektedir.

10 **Buluşun Anlaşılmasına Yardımcı Olacak Şekiller**

Şekil 1, buluşa konu olan sistemin genel şematik gösterimidir.

Şekil 2.1, numune çekmecesinin üstten gösterimidir.

Şekil 2.2, numune çekmecesinin yandan gösterimidir.

15 **Şekil 2.3**, numune çekmecesinin önden gösterimidir.

Şekil 2.4, numune çekmecesinin perspektif gösterimidir.

Şekil 3, hızlı tanı kitinin önden gösterimidir.

Şekil 4, hızlı tanı kitinin yandan gösterimidir.

Şekil 5, hızlı tanı kitinin üstten gösterimidir.

20 **Şekil 6**, hızlı tanı kitinin genel gösterimidir.

Çizimlerin mutlaka ölçeklendirilmesi gerekmemektedir ve mevcut buluşu anlamak için gerekli olmayan detaylar ihmal edilmiş olabilmektedir. Bundan başka, en azından büyük ölçüde özdeş olan veya en azından büyük ölçüde özdeş işlevleri olan elemanlar, aynı numara ile

25 gösterilmektedir.

Parça Referanslarının Açıklaması

- | | | |
|----|-----|---------------------------|
| | 1. | Optik algılayıcı |
| 30 | 2. | Kuyucuk |
| | 3. | Numune çekmecesini |
| | 3.1 | Numune çekmecesini girişı |
| | 4. | Çok renkli red |
| | 5. | Ekran |
| 35 | 6. | Pil şarj ünitesi |
| | 6.1 | Pil |

- 6.2 Şarj girişi
- 7. Mikrodenetleyici
- 8. USB bağlantı portu
- 9. Menü butonları
- 5 10. Açma kapama anahtarı

Buluşun Detaylı Açıklaması

10 Bu detaylı açıklamada, buluşun tercih edilen yapılanmaları, sadece konunun daha iyi anlaşılmasına yönelik olarak ve hiçbir sınırlayıcı etki oluşturmayacak şekilde açıklanmaktadır.

15 Buluş; özellikle çiftlik hayvanlarında oldukça öldürücü bir hastalık olan Enterotoksemi hastalığının sahada hızlı ve doğru teşhisini sağlayan ve bunun yanında özelliği gereği antikor-antijeni mevcut olan veya üretilebilen tüm hastalıklar için de kullanılabilen sistem ve yöntem ile ilgilidir.

20 Buluşa konu olan sistemde öncelikle hayvandan numune alınır ve kuyucuklara (2) konulur. Kuyucuklar (2) numunelerin konacağı şeffaf ve özel plastikten yapılmaktadır ve antikor kaplıdır. Bu aşamada ilk olarak daha önceden hazırlanmış olan pozitif ve negatif numuneler okutulur ardından değerlendirilecek numuneler okutulur.

25 Şeffaf plastikten üretilen kuyucuklar (2) numune çekmecesinde (3) bulunmaktadır. Numune çekmesinde (3) tercihen dört adet numune kuyucuğu (2) bulunmaktadır. Numune çekmecesini düzgünce cihaza yerleştirildiğinde altta bulunan çok renkli ledlerden (4) istenilen tayf aralığında numune çekmecesine (3) ışık verilmektedir. Antijen miktarına göre rengi değişen numunede ışığın yoğunluğu numune çekmecesinin (3) üzerinde bulunan optik algılayıcılar (1) tarafından algılanmakta ve mikrodenetleyiciye (7) iletilmektedir. Bahsedilen optik algılayıcılar (1) aynı zamanda numune çekmecesinin (3) doğru yerleştirilip yerleştirilmediğini, 30 solüsyonların doğru uygulanıp uygulanmadığını da algılamakta ve mikrodenetleyiciye (7) iletmektedir. Mikrodenetleyici (7), optik algılayıcılardan (1) gelen verileri değerlendirmekte ve numunelerin pozitiflik ve negatiflik durumlarını belirlemektedir. Mikrodenetleyici (7) tarafından belirlenen sonuçlar ekran (5) vasıtasıyla kullanıcıya gösterilmekte ve aşamalar hakkında bilgiler verilerek numune okutacak hekim yönlendirilmektedir. Dijital ekran (5) üzerinden 35 menü butonları (9) ile ayarlamalar yapılabilir.

Buluşa konu olan sistemin, 4 farklı kuyucuktaki (2) numuneleri aynı anda okumaktadır. Her bir yeni okutmada ilk önce cihaza birinci kuyuda pozitif kontrol, ikinci kuyuda negatif kontrol okutulmakta ve mikrodnetleyicinin (7) bunu hafızasına kaydetmesi sağlanmaktadır. Cihaza yazılım aracılığı ile pozitif ve negatiflik için artı/eksi değerler girilmekte ve bu partide bundan sonraki okutmalarda cihaz ölçüm aralığına göre kendisi değerlendirme yaparak okutulan numunenin hastalık açısından pozitif veya negatif olduğunu kullanıcıya otomatik olarak ekran (5) üzerinden gösterilmektedir. Her okutma için pozitif ve negatif kontrolün en başta bir kere okutulması yeterli olmaktadır, bu da sürü taramalarında iş yükünü önemli ölçüde azaltmaktadır.

10

Elde edilen veriler önce cihaza daha sonra saklamak için USB bağlantı portu (8) ile başka bir bilgisayara aktarılmaktadır. Bilgisayar ve diğer çevre cihazlarla kablosuz bağlantı kurmak için Bluetooth protokolü de desteklenmektedir. Cihaz tüm ölçüm aşamalarında ekran (5) üzerinden kullanıcıyı bilgilendirir ve numune yerleşiminin doğru yapıp yapılmadığını tespit eder, kullanıcı hataları cihaz tarafından tespit edilir ve kullanıcı uyarılır. Böylece ölçüm geçerliliği ölçüm işlemlerinin her safhasında mikrodnetleyici (7) üzerinde çalışan akıllı yazılım sayesinde kontrol edilir.

15

Buluşa konu olan hızlı tanı kiti cihazı mobil cihazlara bluetooth üzerinden bağlanabilir, Andorid ve Ios işletim sistemlerini destekleyen telefonlar için geliştirilmiş mobil yazılım kullanılarak cihazın ayarları kontrol edilebilir ve yapılan ölçümler kayıt altına alınıp sonrasında internet bağlantılı sunucu sistemine aktarılabilir.

20

Sistemde, cihaz için gerekli enerjiyi sağlayan pil (6.1) ve pilin şarj edilmesini sağlayan pil şarj ünitesi (6) bulunmaktadır.

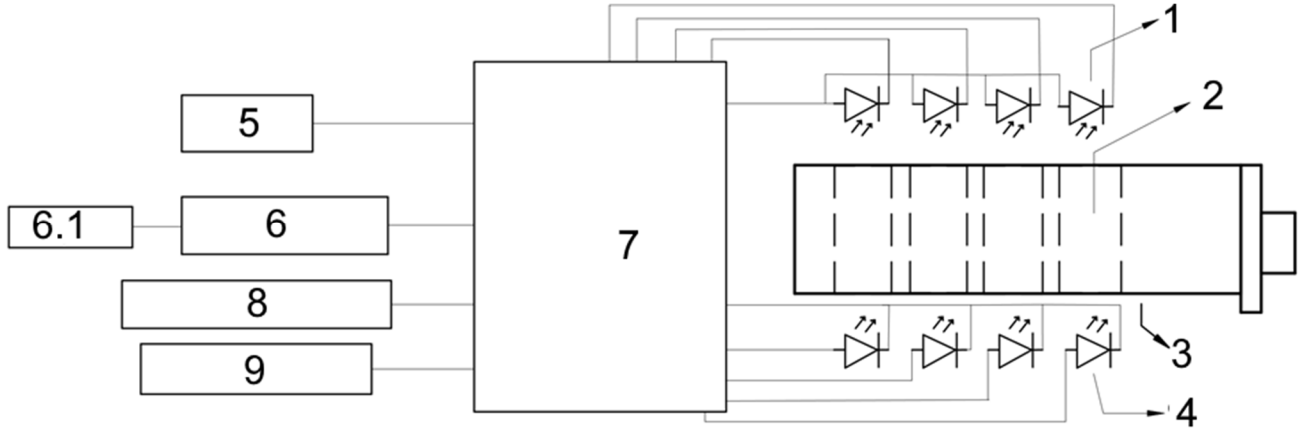
25

Buluşa konu olan sistem ile gerçekleştirilen işlem adımları şunlardır;

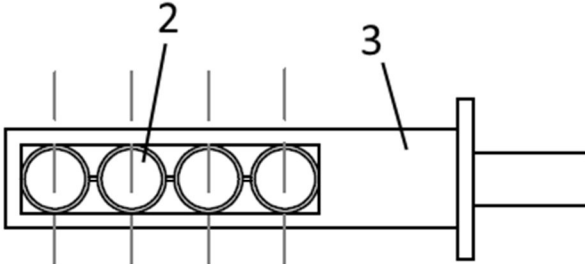
- Numunelerin numunece çekmecesinde (3) bulunan antikor kaplı kuyucuklara (2) konulması,
- Numune çekmecesinin (3) altından çok renkli led (4) ile kuyucuklara (2) ışık verilmesi,
- Her bir yeni okumada birinci kuyuda pozitif kontrol, ikinci kuyuda negatif kontrolün optik algılayıcı (1) tarafından okutulması ve mikrodnetleyicinin (7) bunu hafızasına kaydederek tanımlanmak istenen numunenin pozitiflik ve negatiflik aralıklarının belirlenmesi,

30

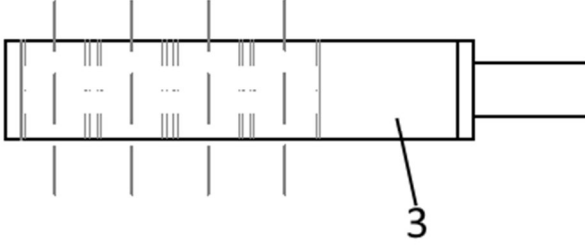
- Optik algılayıcılar (1) tarafından okunan numune verilerinin mikrodenetleyiciye (7) iletilmesi ve verilerin kolorimetrik olarak değerlendirilerek pozitiflik/negatiflik durumlarının belirlenmesi,
- Ekran (5) üzerinden numunelerin pozitiflik/negatiflik durumlarının gösterilmesi,
- Okunan ve değerlendirilen tüm verilerin kaydedilmesi ve diğer cihazlara/bilgisayarlara aktarılması.



ŞEKİL 2.1



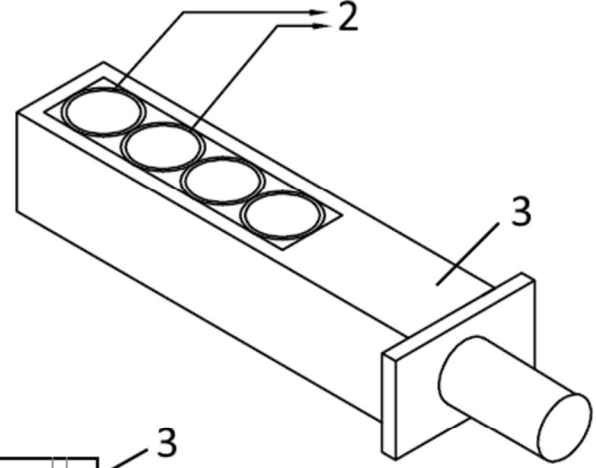
ŞEKİL 2.2

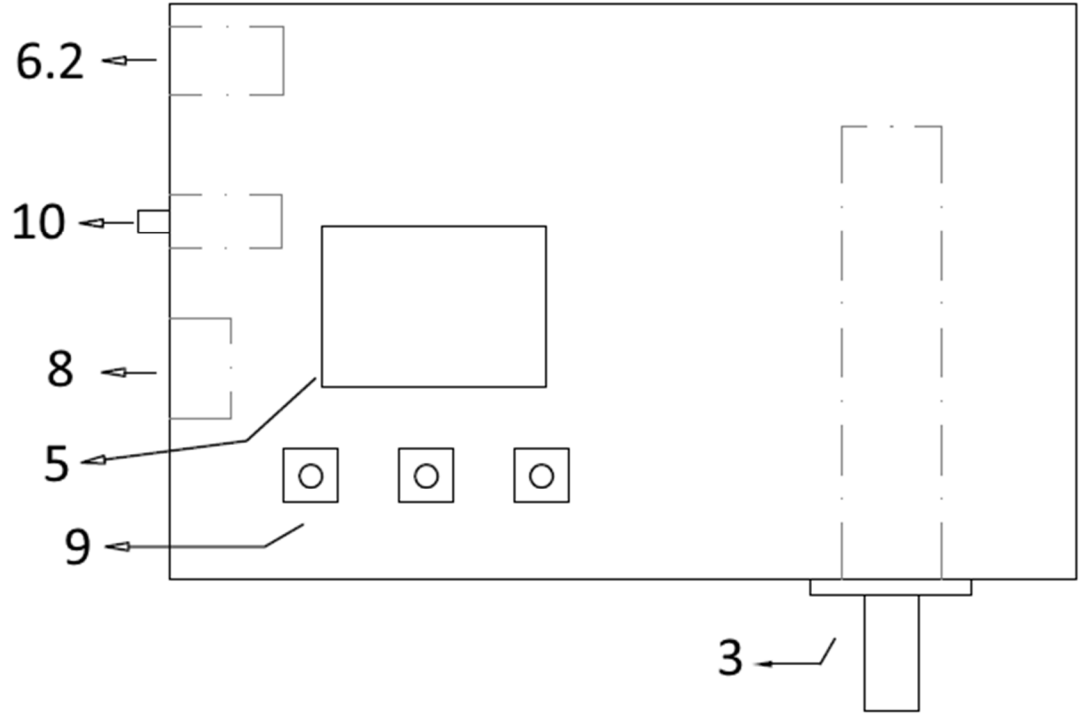


ŞEKİL 2.3

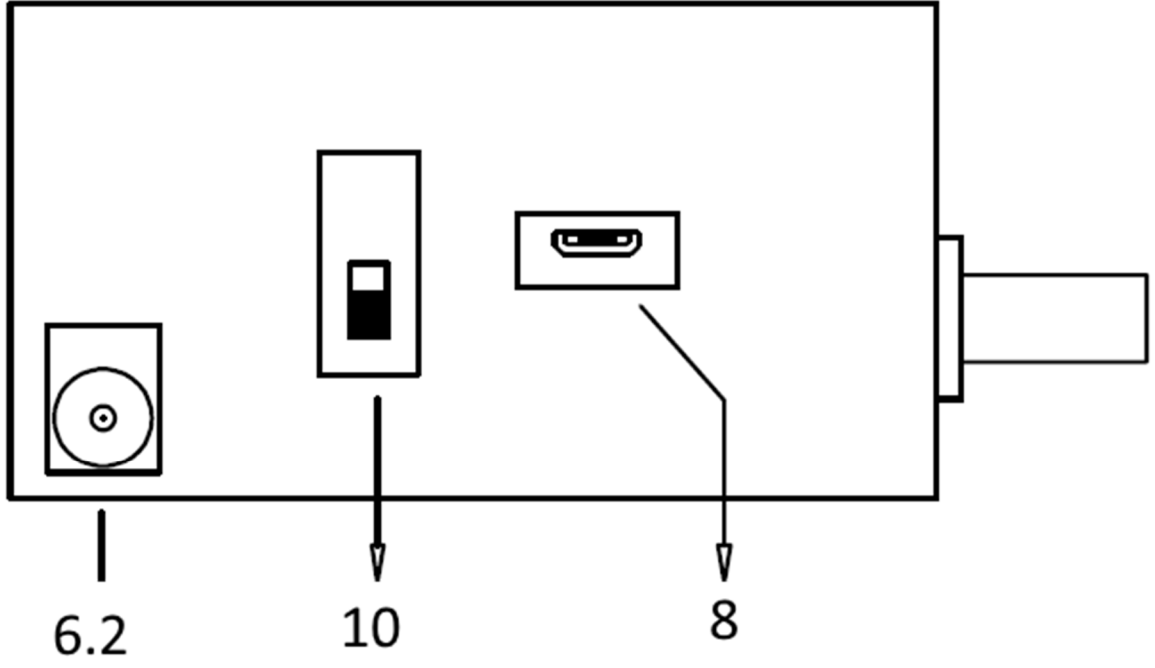


ŞEKİL 2.4

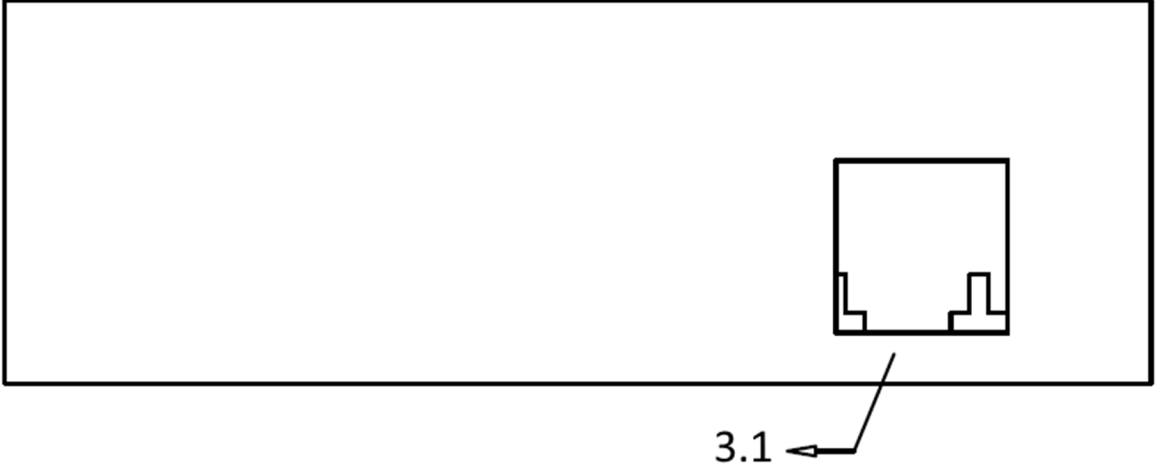




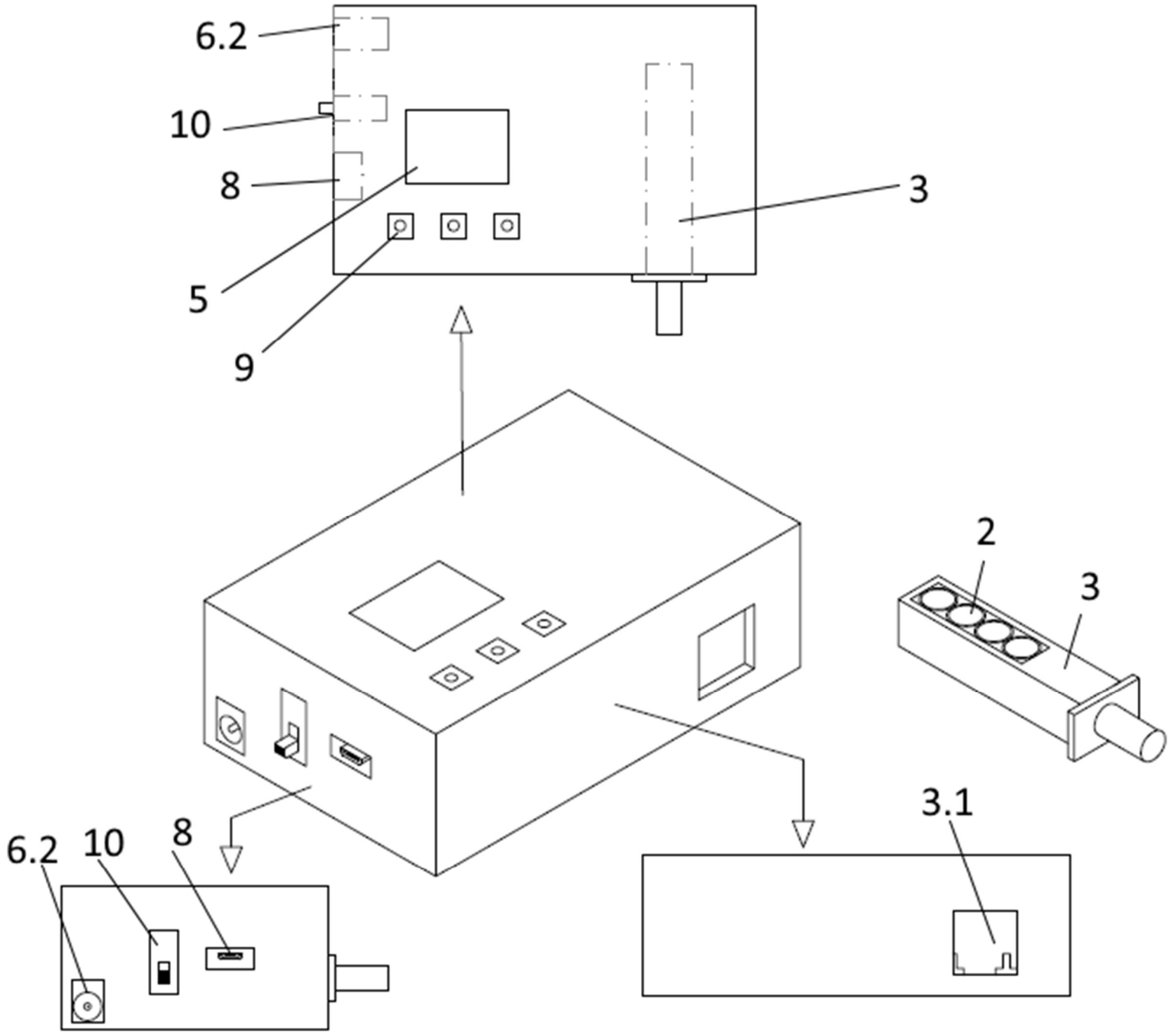
ŞEKİL 3



ŞEKİL 4



ŞEKİL 5



ŞEKİL 6