

Tetrasyonat Broth, Kapiler PCR ve Kapiler Jel Elektroforez Kombinasyonu ile Piliç Dışkılarında *Salmonella* Belirlenmesi¹

K. Tayfun Çarlı², Can Bora Ünal³, Vildan Caner⁴, Ayşegül Eyigor⁵

Özet:

Bu çalışma piliç dışkılarından *Salmonella* 'nın hızlı belirlenmesi için tetrasyonat ön zenginleştirilmesi (PE) – bakteriyel lizis – kapiler PCR ve kapiler jel elektroforez kombinasyonunu tanımlamaktadır.

Saf *Salmonella enterica* serovar Enteritidis 64K tamponlanmış peptonlu su ve nutrient broth, tetrasyonat broth base Hajna (TTBH) ve tetrasyonat broth (TTB) ön zenginleştirmelerinden sonra reizole edilip, kapiler PCR ile belirlenmiştir. Aynı kültür barsak homojenizati ile karıştırıldığında bakterinin tekrar izolasyonu ve PCR ile belirlenmesi sadece TTBH ve TTB ön zenginleştirmelerinden sağlanabilmektedir.

Kapiler jel elektroforez *Salmonella* cinsine özgü 281-bp PCR ürününü ortaya çıkarmakta, *Salmonella* suşları ile çalışıldığında bu ürün belirlenmekte, *Salmonella* olmayan suşlarda ise ortaya çıkmamaktadır.

Kapiler PCR 'ın belirleme limiti saf *Salmonella enterica* serovar Enteritidis 64K, Typhimurium LT2-CIP60-62 ve Gallinarum 64K 'nın tüm hücre ekstraktları için sırasıyla 3, 3, 9 cfu/ml olarak bulunmuştur. İntestinal homojenizatın deneysel olarak bu 3 bakteri ile kontamine edilmesi sonunda tüm hücre ekstraktında kapiler PCR 'ın belirleme limiti sırasıyla 3, 3, 7 cfu/ml olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada doğal örneklerde kapiler PCR ve bakteriyolojik kontrol sonuçları da karşılaştırılmıştır. Doğal olarak kontamine olmuş 53 örnekten 35 adedi özgün PCR ürünü oluşturmuştur.

¹ Bu çalışma Journal of Clinical Microbiology, May 2001, p. 1871–1876 Vol. 39, No. 5 'de "Detection of Salmonellae in Chicken Feces by a Combination of Tetrathionate Broth Enrichment, Capillary PCR, and Capillary Gel Electrophoresis" adı ile yayınlanmış makalenin Türkçe özetidir.

² Prof. Dr., Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji AbD, Görükle Bursa.

Yazışmalardan sorumlu yazarın E-posta adresi : tayfun@uludag.edu.tr

³ Lontek Biotechnology Research and Development Co., Mavi Cadde, 8. Sok. No 1, Bursa

⁴ Dr., Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji AbD, Görükle Bursa

⁵ Yrd. Doç. Dr., Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni AbD, Görükle Bursa

PCR pozitif sonuç veren 35 örnekten 9 adedinde gerek ön zenginleştirme gerek gecikmiş ikinci zenginleştirme (DSE) kombinasyonu ile yapılan bakteriyolojik analizde *Salmonella* belirlenememiştir. PCR negatif sonuç veren 18 örnekten 4 adedinde PE ve DSE ile, 14 adedinde DSE ile *Salmonella* bulunduğu görülmüştür. Bakteriyolojik analizde gerek PE gerek DSE ile negatif sonuç veren 53 adet intestinal homojenizat örneğinde PCR analizleri ile de negatif sonuç alınmıştır.

Kapiler PCR yöntemi ile *Salmonella* analizi için gereken süre yaklaşık 20 saattir. Klinik olarak hastalanmış piliç örneklerinde 18 saatlik PE süresine gerek olmadığı için analiz 2 saat içinde tamamlanmaktadır.

Bu sonuçlar, TTB zenginleştirme, bakteriyel lizis ve cinse özgü kapiler PCR ile kombine edilmiş jel elektroforezinin infekte sürülerde *Salmonella* 'nın hızlı bir şekilde belirlenmesi için duyarlı ve seçici potansiyel bir yöntem olduğunu göstermiştir.