

Kümes Hayvanlarının *Salmonella* Analizinde Real-time PCR Uygulaması¹

Ayşegül Eyigör² , K. Tayfun Çarlı³ , Can Bora Ünal⁴

Özet:

Bu çalışmada, kümes hayvanlarının *Salmonella* varlığı açısından yapılan analizlerinde tetrasyonat broth besiyerinden elde edilen ön zenginleştirme kültürlerine real-time PCR yöntemi uygulanmıştır. Bu amaçla 47 piliç sürüsünden sağlanan 492 intestinal homojenizat ve 27 svap örneği *Salmonella invA*-spesifik primerleri içeren Real-time PCR ve standart bakteriyolojik yöntem ile analiz edilmiştir.

Pozitif sonuç düzeyleri Real-time PCR ile 65 (%12.5) ve standart yöntemle 35 (%6.8) olarak belirlenmiştir. *Salmonella* pozitif sürü sayısı her iki yöntemde de 13 (%27.7) olarak bulunmuştur. Ön zenginleştirme aşamasındaki 18 saatlik süreden sonra PCR uygulama süresi 1–32 adet örnek için sadece 25 dakikadır. Erime kurve analizi *Salmonella*- spesifik ürünler için Tm 'nin 87 ± 1°C olduğunu göstermiştir.

DeneySEL olarak kontamine edilen örneklerle yapılan analizlerde bu yöntemin duyarlılığının 6 kob g⁻¹ olduğu, intestinal örneklerde ve genelde doğal kontamine olmuş örneklerin *Salmonella* analizinde real-time PCR uygulamasındaki duyarlılığın standart bakteriyolojik analiz yöntemindekinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun nedenleri doğal örneklerde bulunan salmonellaların atipik biyokimyasal form gösterebilmeleri ve bazı canlı *Salmonella* hücrelerinin kültürlerinin yapılamayabilmesi olarak açıklanabilir.

Sonuç olarak bu çalışma *Salmonella* ile infekte olmuş sürülerde tetrasyonat broth ön zenginleştirmesinden sonra real-time PCR uygulamasının analiz süresini kayda değer ölçüde azalttığını, bakteriyolojik analizlerin doğrulama ve suş tanımlama amaçları ile devam etmesi gerektiğini göstermiş ve Real-time PCR yöntemi tavuk işletmelerinde standart bakteriyoloji ile birlikte *Salmonella* 'nın doğru ve hızlı bir şekilde belirlenebilmesi için yararlı bir sistem olarak değerlendirilmiştir.

¹ Bu çalışma "Letters in Applied Microbiology 2002, 34, 37-41" de "Implementation of real-time PCR to tetrathionate broth enrichment step of Salmonella detection in poultry" başlığı ile yayınlanmış makalenin genişletilmiş Türkçe özetidir.

² Yrd. Doç. Dr., Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni AbD, Görükle Bursa

³ Prof. Dr., Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji AbD, Görükle Bursa. Yazışmalardan sorumlu yazarın E-posta adresi : tayfun@uludag.edu.tr

⁴ Lontek Biotechnology Research and Development Co., Mavi Cadde, 8. Sok. No 1, Bursa