



SALMONELLA'LARIN PALM PCR™ YÖNTEMİ İLE TESPİTİ

Belkıs LEVENT, Revasiye GÜLEŞEN, İhsan DURMAZ, Selçuk KILIÇ

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı



SALMONELLA SPP



- Gıda kaynaklı hastalıklar ve salgınlar
- Laboratuvar tanıda konvansiyonel yöntemlerden nükleik asit temelli hızlı tanı yöntemlerine geçiş
- Hızlı, duyarlı, özgül, kolay uygulanabilir ve güvenilir yöntemlere ihtiyaç



Amaç



Palm PCR™

Salmonella
saptama kitinin
duyarlılık ve
özgüllüğünü
değerlendirmek





Palm PCR™ (Ahram Biosystems)



Portatif, yüksek hızlı bir PCR sistemi

- ✓ Yüzlerce wattlık elektrik gücü ne ihtiyaç duymaması
- ✓ Hızlı ve etkin bir PCR amplifikasyonu elde edilmesi

Bu çalışmada Palm PCR *Salmonella* saptama kitinin duyarlılık ve özgüllüğü değerlendirildi



GEREÇ VE YÖNTEM

✓ Bakteriyel izolatlar

- ✓ THSK UEPRL'da izole, identifiye edilip, serotiplendirilen
- ✓ Pozitif kontrol olarak *S.Enteritidis*, *S.Typhimurium*, *S.Hadar*, *S.Infantis*, *S.Kentucky* suşları
- ✓ Negatif kontrol olarak *Enterobacteriaceae* üyesi *Shigella sonnei*, *Citrobacter freundii*, Verotoksijenik *E. coli* O157:H7, *Klebsiella*, Enteroagregatif *E. coli* suşları



GEREÇ VE YÖNTEM

✓ Nükleik asit izolasyonu ve PCR

- ✓ Bakteri suşlarından DNA izolasyonu: Kaynatma yöntemi
- ✓ Palm *Salmonella* Saptama Kiti (Himedia, Mumbai, Hindistan)
- ✓ Pozitif kontrol olarak *Salmonella spp.* DNA'sı içeren pozitif kontrol
- ✓ 606 bç'lik PCR ürününün saptandığı örnekler pozitif olarak değerlendirildi

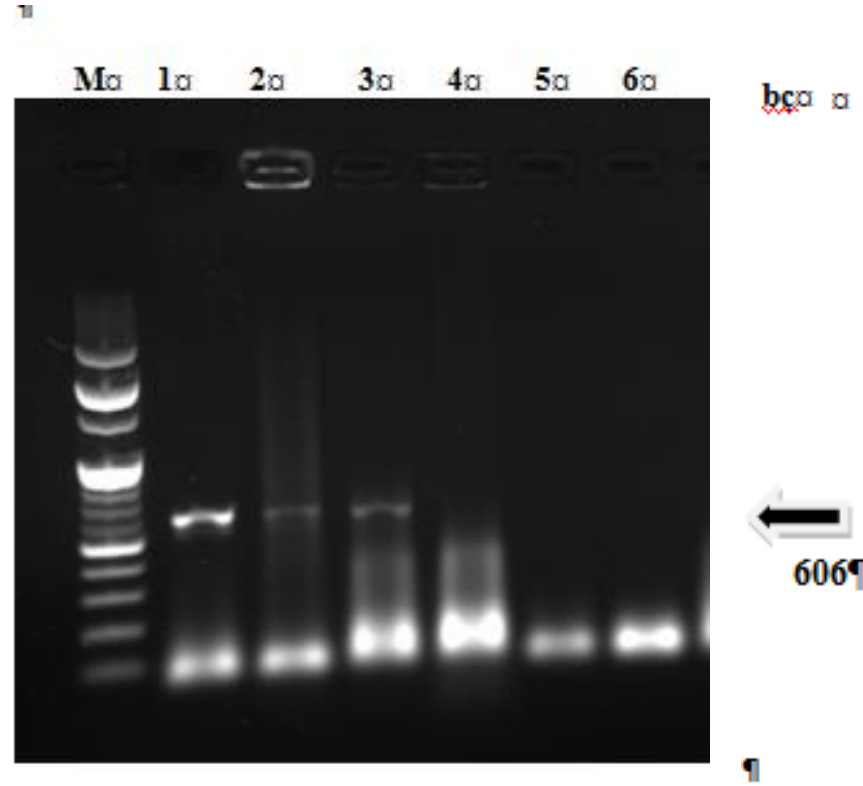


BULGULAR

- ✓ Farklı serotipe (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Hadar*, *S. Infantis*, *S. Kentucky*) ait *Salmonella* suşları 606 bç'lik ürün verdi
- ✓ Negatif kontrol olarak *Enterobacteriaceae* üyesi *Shigella sonnei*, *Citrobacter freundii*, Verotoksijenik *E. coli* O157:H7, *Klebsiella*, Enteroagregatif *E. coli* suşları negatif sonuç verdi
- ✓ Saptama limiti kültürde 2 KOB/test ve simüle dışkı örneğinde ise 10^5 CFU/25g olarak saptandı



BULGULAR



Resim: Çeşitli *Salmonella* serotipleri ve *Salmonella* dışı suşların Palm PCR görüntüsü.
Hat 1: M: Moleküler belirteç (100 bç); 1: Kit pozitif kontrol; 2-3: Pozitif örnekler; 4-5: Negatif örnekler; 6: Reaksiyon kontrol



SONUÇ

- ✓ Palm PCR™ sistemi, ufak, portatif, taşınabilir bir cihaz olması, batarya ile çalışması ve 24 dakika gibi çok kısa sürede çoğaltma işlemini yapması ile klasik PCR yöntemlerine alternatif
- ✓ Pozitif ve negatif bakteri suşları ile Palm PCR *Salmonella* kiti duyarlı ve özgül bulundu
- ✓ *Salmonella* enfeksiyonlarının tanısında hızlı sonuç veren testlere olan ihtiyacı karşılayabilecek bir test
- ✓ Hem çeşitli serotiplere ait *Salmonella* suşları hem de farklı enterik bakterilere ait suşlar ve klinik örnekler kullanılarak çalışmanın genişletilmesi yararlı olabilir



TEŞEKKÜRLER