

ΜΕΛΕΤΗ ΟΡΙΩΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΤΡΟΦΙΜΟΓΕΝΩΝ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΜΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ DNA

Σ. Α. Παπαθεοδώρου¹, Φ. Παπαλάμπρου¹, Χ. Ροβένα¹, Β. Στεφάνου¹, Γ. Κούζιλος, Μ. Γιαννακούρου¹, Κ. Τζιά², Δ. Χούχουλα^{1*}

¹Σχολή Επιστημών Τροφίμων, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας τροφίμων, ΠΑΔΑ, Αθήνα, Ελλάδα

²Σχολή Χημικών Μηχανικών, ΕΜΠ, Αθήνα, Ελλάδα

(*itsahouhoula@gmail.com)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι τροφιμογενείς ασθένειες αποτελούν ένα από τα σημαντικότερα θέματα που αφορούν τόσο τη βιομηχανία τροφίμων όσο και την παγκόσμια υγεία κάθε χρόνο^[1]. Ωστόσο, οι παραδοσιακές μέθοδοι ανίχνευσης των παθογόνων μικροοργανισμών είναι χρονοβόρες και απαιτούν πολύ κόπο^[2].

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν κατ' αρχάς η αξιολόγηση και στη συνέχεια η βελτιστοποίηση διαφορετικών μεθόδων εκχύλισης DNA σε *S. Typhimurium* και *L. Monocytogenes* με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR). Τα πρότυπα στελέχη που χρησιμοποιήθηκαν είχαν αρχική συγκέντρωση 10⁸ CFU/ml. Οι τρεις μέθοδοι που πραγματοποιήθηκαν για την εκχύλιση του DNA ήταν: α) εκχύλιση με τη χρήση εμπορικού ΚΙΤ Thermo Scientific Invitrogen™ PureLink™ Genomic DNA Mini Kit. β) εκχύλιση με τη χρήση εμπορικού ΚΙΤ QIAGEN DNease Blood & Tissue kit και γ) με βρασμό των δειγμάτων σε υδατόλουτρο, κατάψυξή τους και τέλος επανάληψη της διαδικασίας βρασμού σε υδατόλουτρο^[3]. Όλα τα δείγματα εξετάστηκαν σε υποδεκαπλάσιες αραιώσεις μέχρι αρνητικοποίησης της PCR.

Από τις 7 υποδεκαπλάσιες αραιώσεις, τα όρια ανίχνευσης ήταν 10⁶ CFU/ml, 10⁴ CFU/ml και 10³ CFU/ml για τις εκχυλίσεις με βρασμό-κατάψυξη, Invitrogen kit και Qiagen kit αντίστοιχα. Τα όρια ανίχνευσης βρέθηκαν ίδια και για τα δύο παθογόνα βακτήρια (*S. Typhimurium* και *L. Monocytogenes*). Η ευαισθησία της μεθόδου εκχύλισης με βρασμό και κατάψυξη αυξήθηκε με την εξέταση των δειγμάτων σε αραιώση 1:10, φτάνοντας ένα όριο 10⁵CFU/ml.

Συμπερασματικά, όλες οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν εύχρηστες και με 100% επαναληψιμότητα. Ωστόσο παρατηρείται ότι επηρέασαν σημαντικά την ευαισθησία της PCR. Πιο ευαίσθητη παρουσιάστηκε η μέθοδος εκχύλισης με το kit Qiagen, ενώ χαμηλότερη ευαισθησία παρουσίασε αυτή με την εφαρμογή βρασμού και κατάψυξης. Η τελευταία μέθοδος όμως απαιτεί ελάχιστο χρόνο και κόστος σε σχέση με τις υπόλοιπες εμπορικές μεθόδους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Jodi Woan-Fei Law, Nurul-Syakima Ab Mutalib, Kok-Gan Chan, Learn-Han Lee. (2014). Front. Microbiol. 5: 770.
- [2] Palomino-Camargo C, González-Muñoz Y. (2014) Rev Peru Med Exp Salud Publica 3:535-46.
- [3] Ali A Dashti, Mehrez M Jadaon, Abdulsamad M Abdulsamad, Hussein M Dashti. (2009). Kuwait Med. Jour. 41 (2): 117-122.