

Identification of the genus *Salmonella* and *S. typhi* by multiplex PCR D1-3

D.S. Chandel, R. Chaudhry, B.V. Laxmi, N. Nissar

Abstrak

Salmonella dianggap sebagai penyebab utama infeksi yang ditularkan melalui makanan dan penyebab septikemi pada manusia, yang terus meningkat secara nyata selama dekade ini di negara-negara berkembang maupun sedang berkembang. Penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan pemeriksaan reaksi rantai polimerase multipleks (multiplex PCR based assay) yang dapat digunakan untuk mendeteksi *Salmonella* sp secara dini dan cepat, termasuk *S. typhi* dari berbagai spesimen seperti makanan, feses, air dan sampel dari penderita. Sebagai upaya standarisasi dari multipleks PCR ini digunakan dua set primer yang berbeda yaitu sekuens gen flagellin dalam area gen I dan VIII (conserved) yang spesifik untuk kuman *Salmonella* dan area gen VI dan VIII yang spesifik untuk *S. typhi*. Sebagai hasil awal, standarisasi untuk amplikasi sekuens DNA menggunakan pasangan primer spesifik telah diketahui dan spesifisitas serta sensitivitasnya telah dievaluasi. 10 pg DNA sudah cukup untuk dideteksi dengan mudah dan sangat spesifik untuk *Salmonella* sp. Koamplifikasi oleh kedua primer tersebut, menghasilkan produk 1530 bp yang spesifik untuk *Salmonella* sp atau disertai dengan amplicon 486 bp yang merupakan indikasi akan adanya *S. typhi* dalam spesimen. Pada metode multiplex PCR ini, beberapa pasangan primer yang lain yang targetnya berbeda-beda dapat dimasukkan bersama-sama ke dalam satu reaksi amplifikasi (PCR satu tabung) sehingga dapat digunakan sebagai sistem yang murah dan efektif untuk mendiagnosis adanya patogen multipel dari satu spesimen tunggal yang bahkan jauh lebih menjanjikan daripada sistem nested-PCR.

Abstract

Salmonella are regarded as the predominant cause of food borne as well as septicaemic illness in humans which has increased substantially during the last decade in developed as well as developing nations. We, in present study, intend to develop a multiplex PCR based assay for the early and rapid detection of *Salmonella* spp. including *S. typhi* from specimens such as food, faeces, domestic water and patient's sample. Standardization of multiplex PCR using two different sets of primers specific to flagellin gene sequences from conserved regions I and VIII (*Salmonella* specific) and VI and VIII (specific to *S. typhi*) are reported here. Initially the amplification of respective target sequences using individual pairs of specific primers was standardized and subsequent evaluation of sensitivity and specific of the assay was achieved. 10 pg of DNA could be picked up easily and was highly specific to *Salmonella* spp. Coamplification by both primer pairs either gave a *Salmonella* spp. specific single 1530 bp amplication product or this was accompanied by another amplicon of 486 bp, suggestive of presence of *S. typhi* also in the test specimen. In a multiplex PCR, multiple primer pairs specific for different targets are included in the same amplification reaction (single tube PCR) so that cost effective panel of tests for multiple pathogens from a single specimen could be developed, which in our case proves to be more promising approach than nested-PCR.