

GREITAS *SALMONELLA TYPHIMURIUM* IR *SALMONELLA CHOLERAESUIS* NUSTATYMAS KIAULIŲ FEKALIJŲ MĖGINIUOSE MODIFIKUOTA LIZDINE POLIMERAZĖS GRANDININE REAKCIJA

Arūnas Stankevičius¹, Rytis Čepulis¹, Kristina Sajūtė¹, Marija Stankevičienė²

¹Lietuvos veterinarijos akademijos Imunologijos laboratorija, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas;

²Lietuvos veterinarijos akademijos Užkrečiamųjų ligų katedra, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas;
tel. (8~37) 36 28 44; faks. (8~37) 36 24 17; el. paštas: sarunas@lva.lt

Santrauka. Gyvulių salmonelių infekcija ir salmonelės, aptinkamos maisto produktuose, turi neigiamą poveikį visuomenės sveikatai, dėl to būtina sugriežtinti visos maisto grandinės veterinarinės sanitarijos priežiūrą ir ieškoti veiksmingų diagnostikos priemonių.

Įprastai salmonelių nustatymas trunka keletą dienų. PGR ar lizdinės PGR testai buvo pritaikyti tyrimo laikui sutrumpinti, bet jų naudojimas dėl komplekso manipuliacijų dar gali užteršti tiriamąjį mėginį, o polimerazės grandininės reakcijos inhibitoriai, esantys tiriamojoje medžiagoje, gali tiesiogiai veikti testo efektyvumą. Siekiant išvengti šių problemų ir žymiai sutrumpinti tyrimo laiką, įdiegta ir išbandyta vieno mėgintuvėlio lizdinė PGR, kuriai specifiniai pradmenys parinkti iš *InvA* geno sekų. Tyrimams naudotos kiaulių fekalijos, eksperimentiškai užkrėstos *S. typhimurium* ir *S. choleraesuis*. Modifikuotos nPGR jautrumas buvo atitinkamai 150 cfu/g fekalijų ir 15 cfu/ml druskos tirpalo. Tuo tarpu aptikimo lygis taikant įprastą PGR, kaip ir tradicinę lizdinę PGR, siekė 150 ir 15 cfu/ml druskos tirpalo ir atitinkamai 15×10^7 ir 15×10^2 cfu/g kiaulių fekalijų. Testo jautrumas padidėjo iki 15 cfu/g, kai 4 valandas buvo gausinama buferiniame peptono vandenyje. Gautiems tyrimų rezultatams su modifikuota nPGR salmonelių serotipas įtakos neturėjo. Galima teigti, jog 4 etapų procedūra, apimanti 4 valandų gausinimą, DNR ekstrakciją, PGR amplifikaciją ir žinomo molekulinės masės produkto elektroforezę (283 bp) gali būti naudojama kaip *Salmonella* spp. patvirtinimo testas kiaulių fekalijose.

Raktažodžiai: kiaulės, fekalijos, salmonelės, PGR metodas.