

STRESZCZENIE

Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis (MAP) jest czynnikiem etiologicznym choroby przeżuwaczy domowych i dzikich paratuberkulozy, zwanej też chorobą Johnego. W Polsce choroba jest rejestrowana, lecz dotychczas nie przeprowadzono kompleksowych badań nad jej występowaniem w stadach bydła mlecznego. Niewyjaśniona rola MAP w chorobie Leśniowskiego - Crohna u ludzi oraz możliwość przeniesienia prątka poprzez mleko na człowieka, różnice w genomie prątka wymagają dalszych badań nad występującymi typami MAP. Celem pracy było określenie typów MAP izolowanych z próbek mleka i kału na podstawie różnic występujących w fragmentach insercyjnych IS 900 i IS 1311 oraz określenie przydatności bezpośredniej izolacji materiału genetycznego z próbek mleka i kału do potwierdzenia zakażenia w stadzie i określenia typów prątków. Przed pobraniem próbek w stadzie wykonano badania serologiczne zwierząt testem ELISA (Pourquier ELISA Paratuberculosis Screening/Paratub. Serum-S) co było podstawą podziału na serodatnie i seroujemne grupy zwierząt. Próbkę mleka i kału od krów seroujemnych poddano pulowaniu. Izolacji MAP z próbek dokonano tradycyjną metodą hodowlaną z użyciem podłoża HEYM, a materiał genetyczny pozyskano za pomocą zestawu QiAamp DNA Mini Kit firmy Qiagen. W materiale genetycznym z wyizolowanych kolonii MAP i z bezpośredniej izolacji z próbek mleka i kału określano polimorfizm fragmentu IS 1311 techniką PCR-REA, a zmiany końcowych sekwencji pojedynczych nukleotydów metodą multiplex PCR wg. Collinsa. Na podstawie zaobserwowanych różnic wyizolowane szczepy zakwalifikowano do dwóch typów MAP, bydłowego - C i owczego - S, z przewagą tego pierwszego. Obecność fragmentu IS 900 wykryto w materiale genetycznym pozyskanym bezpośrednio z mleka i kału wszystkich krów seropozytywnych, co może w praktyce służyć do szybszego potwierdzenia zakażenia bez przeprowadzania izolacji MAP metodą hodowlaną.