

## Identyfikacja szczepów *Prototheca* izolowanych z przypadków *mastitis* od krów mlecznych z terenu Polski

**Autorzy:** Zofia Bakuła<sup>1</sup>, Alicja Ratajczyk<sup>1</sup>, Henryk Krukowski<sup>2</sup>, Andrzej Lisowski<sup>3</sup>, Wlazio Łukasz<sup>2</sup>, Mariola Bochniarz<sup>4</sup>, Tomasz Piech<sup>4</sup>, Władysław Wawron<sup>4</sup>, Tomasz Jagielski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

<sup>2</sup>Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

<sup>3</sup>Katedra Hodowli i Ochrony Zasobów Genetycznych Bydła, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

<sup>4</sup>Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

### Wstęp:

Do rodzaju *Prototheca* należą jednokomórkowe, pozbawione chloroplastów, drożdżakopodobne glony, o szerokim występowaniu w środowisku. Spośród 7 obecnie poznanych gatunków, 5 (*P. zopfii*, *P. wickerhamii*, *P. blaschkeae*, *P. cutis* oraz *P. miyajii*) opisywanych jest jako oportunistyczne patogeny człowieka i zwierząt, a choroby przez nie wywoływane określane są jako prototekozy. Najczęściej obserwowaną postacią prototekozy wśród zwierząt jest zapalenie wymienia (*mastitis*) u bydła, wywoływane głównie przez *P. zopfii* genotyp 2 oraz *P. blaschkeae*.

### Cel:

Celem pracy było zbadanie częstości występowania *Prototheca* spp. w próbach mleka pobranych od krów na terenie 5 województw w Polsce w latach 2004-2015.

### Materiały i metody:

Badanie objęło próby mleka od 134 krów mlecznych z 7 gospodarstw na terenie 4 województw w Polsce. Te, o dodatnim wyniku Terenowego Odczynu Komórkowego (TOK, Mastirapid<sup>®</sup>) (64 od 20 przypadków *mastitis*) kierowano na posiew na pożywce Sabouraud'a z glukozą (SDA, Sigma). Dodatkowo, pobrano 76 prób kontrolnych (TOK ujemny) od 19 krów zdrowych. Wyrosłe na pożywce SDA (72 godz., temp. 25°C) szczepy przypominające morfologią glony *Prototheca* identyfikowano wstępnie przy użyciu metod fenotypowych (API, Biomerieux). Genomowy DNA izolowano stosując zestaw Bacterial & Yeast Genomic DNA Purification Kit (EURx). Identyfikacja gatunkowa prowadzona była w oparciu o genotypowo-specyficzny test PCR, różnicujący między *P. zopfii* genotyp 1, *P. zopfii* genotyp 2 i *P. blaschkeae*, tj. najczęstszymi czynnikami etiologicznymi bydłowego *mastitis*.

### Wyniki:

Ogółem wyhodowano 43 szczepy, z których wszystkie pochodziły z przypadków *mastitis* (od 17 krów). Od 3 krów z *mastitis* (5 prób) nie izolowano szczepów *Prototheca*. Próby pochodzące od krów kontrolnych (76) nie wykazały obecności szczepów *Prototheca* spp. w mleku. Wśród szczepów klinicznych 42 (97,7%) zidentyfikowano jako *P. zopfii* genotyp 2, a jeden (2,3%) reprezentował gatunek *P. blaschkeae*.

**Wnioski:**

Wśród glonów *Prototheca*, najczęściej izolowanym z prób mleka krowiego o dodatnim wyniku TOK, jest *P. zopfii* gen. 2. Obserwacja ta potwierdza wiodącą rolę *P. zopfii* gen. 2 jako czynnika etiologicznego *mastitis* u krów mlecznych w Polsce.