

Paratuberkuloza jako zoonoza

MAREK LIPIEC

Zakład Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Lipiec M.

Paratuberculosis as a zoonosis

Summary

Paratuberculosis Johne's disease is an infectious disease of ruminants. The role of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in this disease is unquestionable and has been widely described. In recent years scientists have paid attention to the possible role of this factor in mycobacterioses and Crohn's disease in humans. The advance in research was possible mainly due to the discovery of specific DNA sequences for *M. avium* subsp. paratuberculosis and other mycobacteria and their application in the diagnosis. The results of investigations by means of other methods are ambiguous and do not permit recognition of this mycobacterium as an exclusive agent of Crohn's disease. Therefore further research will be required in medical and veterinary science to fully understand the role of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis and its potential transfer to humans by milk from infected animals and milk products.

Keywords: Paratuberculosis, Crohn's disease, zoonosis

Gruźlica, zarówno typowa dla ludzi, wywołwana przez *Mycobacterium tuberculosis*, jak i gruźlica wywołana prątkiem bydlęcym, *Mycobacterium bovis*, są zaliczane do antropozoonoz, w których może dochodzić do pasażowania się czynnika zakaźnego przez organizm zwierzęcia lub człowieka i ponownego zarażenia człowieka lub innych kręgowców. Potwierdza to szereg przypadków zachorowań ludzi, wywołanych przez prątki charakterystyczne dla zwierząt oraz zwierząt, nie tylko naczelnych, chorujących na gruźlicę wywołaną prątkiem typu ludzkiego (10, 30).

Prątki kwasooporne jako jedne z nielicznych bakterii posiadają zdolność bytowania w krwinkach białych – makrofagach. Są one odporne nie tylko na przeciwbakteryjne działania makrofagów, ale także zdolne do wewnątrzkomórkowego namnażania się i siewstwa wraz z krwinkami białymi (37). Zjawisko to może być wyjaśnione m.in. unikalną budową ściany komórkowej prątków o dużej zawartości wosków, przez co są mało podatne na zniszczenie i penetrację enzymów, a także czynnikami enzymatycznymi produkowanymi przez same prątki, które są zdolne do neutralizowania działania antybakteryjnych substancji produkowanych w komórce makrofaga. Mechanizmy te nie są dokładnie poznane, podobnie jak patogenesa samej choroby. Jest ona zwykle wypadkową toksycznego działania substancji produkowanych przez prątki oraz reakcji organizmu gospodarza, co powoduje zmiany anatomoopatologiczne i dysfunkcję zaatakowanych narządów.

Szczególną rolę wśród schorzeń u ludzi, wywołanych przez prątki inne niż *Mycobacterium tuberculosis complex*, odgrywają infekcje prątkami atypowymi, tzw. grupy MAIS (*Mycobacterium avium-intracellulare-scrofulaceum*). Prątki atypowe są chorobotwórcze głównie dla osób z obniżoną odpornością organizmu,

jak ma to miejsce np. w przypadku pacjentów przyjmujących leki przeciwnowotworowe, czy u zakaźnych wirusem HIV (1, 26).

W ostatnich latach istotnego znaczenia w wywołaniu schorzeń u ludzi nabiera *Mycobacterium paratuberculosis*. Drobnoustrój ten ze względu na bliskie pokrewieństwo antygenowe z prątkiem ptasim (ponad 98% zgodność materiału genetycznego) uznawany jest obecnie jako jego podszczepek – *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (24).

Paratuberkuloza (choroba Johnego), wywołana przez *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, jest przewlekłą chorobą występującą zwykle u przeżuwaczy. Prątek ten, zwany też od nazwiska odkrywcy prątkiem Johnego, może wywołać chorobę także u innych gatunków zwierząt domowych i dzikich nie zaliczanych do przeżuwaczy (13, 18, 23). Choroba jest stwierdzana obecnie w większości krajów Europy, Afryki, Azji, Australii i obu Ameryk, zarówno u zwierząt hodowlanych, jak i dziko żyjących, a także przeżuwaczy bytujących w ogrodach zoologicznych (4, 27, 28). Brak danych na temat występowania paratuberkulozy w niektórych krajach może świadczyć o małej czułości stosowanych tam metod diagnostycznych lub braku programów kontrolnych w tym zakresie.

Po raz pierwszy paratuberkuloza została stwierdzona i opisana w 1894 r. przez Johnego i Frothinghama u krowy w rejonie Oldenburga w Niemczech. U zwierzęcia stwierdzono stopniowy ubytek masy ciała i utrzymującą się uporczywą biegunkę. Podejrzewano początkowo gruźlicę jelit, jednakże test tuberkulinowy był ujemny. Przeprowadzone badania wykazały znaczne zgrubienie i nacieczenie błony śluzowej jelit cienkich oraz zmiany w węzłach chłonnych krezkowych. Potwierdzono obecność prątków kwasoopor-

nych w zmienionych chorobowo tkankach, jednakże nie udało się wyhodować zarazka na podłożach służących do rutynowej hodowli innych, znanych ówczesnie prątków.

Zarazek ten posiada powinowactwo do błony śluzowej i podśluzowej jelit, gdzie namnaża się obficie wywołując przewlekły, przerostowy stan zapalny. Ponieważ prątek ten jest wewnątrzkomórkowym patogenem krwinek białych, a mleko krowie, podobnie jak mleko wszystkich ssaków, zawiera te krwinki, stąd w przebiegu infekcji może dochodzić do zanieczyszczenia mleka, a w konsekwencji i jego przetworów prątkami (11, 12).

Choroba Johnego rozprzestrzenia się w stadzie głównie poprzez kontakt z zakażonym kałem oraz mlekiem zwierząt znajdujących się w zaawansowanym stadium choroby (33). Niewykluczona jest także możliwość zakażenia wewnątrzmacicznego.

Na klasyczny obraz klinicznej paratuberkulozy bydła składa się m.in. stopniowe chudnięcie zwierząt, pojawienie się uporczywej biegunki, spadek wydajności mlecznej oraz nieregularne skoki temperatury ciała. Zwykle chorobie towarzyszy uporczywa biegunka, stąd całe otoczenie oraz powierzchnia ciała zwierzęcia jest zanieczyszczona kałem z zawartymi w nim prątkami. W takich warunkach z powierzchni strzyków może dochodzić dodatkowo do wtórnego zakażenia pozyskiwanego mleka (12). Choroba powoduje znaczne straty ekonomiczne oraz ograniczenia w handlu zwierzętami, szczególnie bydłem i owcami. Roczne straty bezpośrednie spowodowane istnieniem choroby w Nowej Anglii, przy obsadzie 375 000 krów, oceniono na ponad 15 mln dolarów rocznie (3). Straty roczne dotyczące jednego stada 100 krów określono na ponad 7 tys. dolarów.

Rozpoznawanie choroby jest trudne ze względu na charakter zarazka, długi okres wylegania paratuberkulozy oraz brak typowych objawów (21). Podstawą rozpoznawania jest próba hodowlana zmierzająca do wyodrębnienia *M. avium subsp. paratuberculosis* na podłożach stałych lub płynnych.

Początkowo nie udawało się otrzymać wzrostu drobnoustroju na podłożach służących do izolowania *M. tuberculosis*, *M. bovis* lub *M. avium*. Dopiero w 1911 r., po przypadkowym zanieczyszczeniu posiewów wykonanych w kierunku *M. avium subsp. paratuberculosis* przez komórki prątka tymotki *M. phlei*, stwierdzono możliwość ich wzrostu na podłożach z dodatkiem suchej masy uzyskanej z innych gatunków prątków (cyt. 5). Kolejnym postępem w diagnostyce paratuberkulozy była modyfikacja próby hodowlanej poprzez wzbogacenie klasycznych podłoży wyciągami acetonowo-eterowymi z innych mykobakterii (głównie *M. phlei*, cechującego się szybkim i intensywnym wzrostem). Czynnikiem wzrostowy, zwany mykobaktinem, otrzymany w ten sposób, jest niezbędny aby osiągnąć wzrost *M. avium subsp. paratuberculosis* na podłożach stałych lub płynnych (17).

Diagnostyka laboratoryjna i zwalczanie paratuberkulozy przeżuwaczy, oprócz próby hodowlanej, opiera się głównie na stosowaniu testów serologicznych oraz metod biologii molekularnej, a w ślad za ich pozytywnymi wynikami, na eliminacji zwierząt podejrzanych o zakażenie (2, 28).

Już w początkach ubiegłego wieku zaobserwowano występowanie uczulenia tuberkulinowego u zwierząt chorych. Zjawisko to jest wykorzystywane do chwili obecnej, a wyniki testu tuberkulinowego z użyciem tuberkuliny ptasiej lub joniny pełnić mogą pomocniczą rolę w diagnostyce przyżyciowej paratuberkulozy. Każda różnica grubości fałdu skóry w porównawczym teście tuberkulinowym ponad 5,0 mm powinna nasuwać podejrzenie infekcji *M. avium subsp. paratuberculosis*.

Długi okres wylegania choroby oraz niedoskonałość serologicznych metod diagnostycznych sprawia, że wyniki stosowanych testów nie są w pełni miarodajne. Stosunkowo często notowane są wyniki zarówno fałszywie dodatnie, jak i fałszywie ujemne, nie tylko w OWD (nie stosowanym już obecnie w laboratoryjnej diagnostyce paratuberkulozy), ale także w znacznie bardziej czułych testach ELISA (25).

Komórki *M. avium subsp. paratuberculosis* cechują się, podobnie jak inne prątki, zwiększoną opornością nie tylko na antybakteryjne działanie krwinek białych organizmu gospodarza, ale także wykazują znaczną oporność na czynniki środowiska zewnętrznego, jak ciepło, zimno, wysuszenie, a także na środki dezynfekcyjne. *M. avium subsp. paratuberculosis* wydalone do środowiska potrafi prawdopodobnie nie tylko tam przeżywać, ale także namnażać się na powierzchni roślin, w glebie oraz wodzie.

Wydalenie przez zakażoną krowę dużych ilości prątków wraz z mlekiem stwarza niebezpieczeństwo zakażenia nie tylko dla cieląt, ale także innych gatunków zwierząt oraz człowieka. Pierwsze obserwacje objawów infekcji u człowieka, określanych później jako choroba Crohna, poczyniono już w XV i XVI wieku. Po odkryciu prątków w 1882 r. schorzenie to utożsamiono początkowo z gruźlicą jelit. Choroba cechuje się występowaniem przewlekłego, wrzodziejącego stanu zapalnego jelit grubych. Towarzyszą temu stanowi okresowe zaparcia na zmianę z gwałtownymi biegunkami, nudności i wymioty. U wielu chorych pojawia się rumień guzowaty, stany zapalne stawów oraz zapalenia wątroby. Większość chorych to osoby młode, do 30 roku życia. Pierwsze objawy pojawiają się zwykle w 15-20 roku życia. U dzieci i młodzieży choroba powoduje postępującą anemię i zatrzymanie rozwoju. Istotną różnicą zauważaną już na początkach wieku XX był brak w przebiegu choroby Crohna typowych dla gruźlicy zmian mikroskopowych, brak serowatych zmian martwiczych, a także niemożność wyizolowania czynnika zakaźnego. Pierwsze udokumentowane sugestie związku choroby Johnego i Crohna poczynił w 1913 r. Dalziel, jednakże postęp dalszych badań był możliwy dopiero po opanowaniu przez

Tworzą trudnej metodyki izolowania i hodowli *M. avium subsp. paratuberculosis* ze zmian tkankowych i kału (cyt. 5).

Liczni autorzy w trakcie swoich badań potwierdzili metodami hodowlanymi wyłączny udział, bądź współudział prątka Johnego w wywoływaniu choroby Crohna (5, 7, 14, 15). Niekiedy jednak w trakcie badań nie udawało się izolować od chorych na chorobę Crohna żadnego czynnika zakaźnego, bądź izolowano gatunki prątków inne niż *M. avium subsp. paratuberculosis*. Rozbieżność tych wyników może być spowodowana rozpowszechnieniem różnych gatunków prątków w środowisku i ich obecnością w treści jelit chorych na chorobę Crohna.

U większości chorych pojawiają się we krwi swoiste przeciwciała (8, 20, 35). Kreutzpaintner i wsp. (20) stwierdzili ich występowanie u 64,7% pacjentów z potwierdzoną chorobą. Autorzy stwierdzili ponadto stopniowe obniżanie się poziomu swoistych przeciwciał po wykonaniu chirurgicznego usunięcia zmian jelitowych. Vannuffel i wsp. (35) badając surowice pacjentów podejrzanych o chorobę Crohna testem ELISA, z użyciem antygeny polipeptydowego, stwierdzili u ok. 36% pacjentów podwyższony poziom przeciwciał sugerujący, że czynnikiem sprawczym jest *M. avium subsp. paratuberculosis*. Elsaghier i wsp. (8) w analogicznych badaniach stwierdzili przeciwciała wiążące antygen u 57% chorych. W wielu przypadkach wyniki badań serologicznych nie są w pełni miarodajne i jednoznaczne. Odpowiedź humoralna może bowiem występować tylko u niewielkiego odsetka chorych (31).

Zastosowanie w ostatnich latach metod biologii molekularnej i odkrycie fragmentu insercyjnego IS 900, swoistego dla *M. avium subsp. paratuberculosis* pozwoliło na uznanie z dużym prawdopodobieństwem prątka Johnego, jako jedyne go czynnika sprawczego, w wywoływaniu choroby Crohna (9). Jednocześnie stwierdzono że szczepy *M. avium subsp. paratuberculosis* izolowane od pacjentów z tą chorobą są bardziej zbliżone budową genomu do szczepów izolowanych od bydła, a mniej do tych wyosobnionych od owiec i kóz (6).

Część badaczy posługująca się techniką PCR kwestionuje jednak w dalszym ciągu wyłączną rolę prątka Johnego w wywoływaniu choroby Crohna (29, 32), podtrzymując trwające od kilkadziesiąt lat dyskusje na ten temat. Dodatkowo spekulacje te związane są z brakiem badań na modelu zwierzęcym. Próby zastosowania do tego celu kóz (34), innych gatunków przeżuwaczy, czy zwierząt naczelnych (23) nie mogą być uznane za miarodajne.

Ze względu na znaczną oporność *M. avium subsp. paratuberculosis* na czynniki środowiska, w tym temperaturę, niebezpieczeństwo zakażenia dotyczy osób spożywających nie tylko mleko surowe, ale także poddane działaniu temperatury. Mleko i jego przetwory zanieczyszczone *M. avium subsp. paratuberculosis* postrzegane są obecnie jako główne źródło zakażeń

człowieka. Sweeney i wsp. (33) stwierdzili obecność prątków Johnego w 35% próbek mleka pochodzących od krów z objawami klinicznymi choroby, zaś 11,6% próbek dodatnich pochodziło od krów zakażonych, ale nie wykazujących żadnych objawów klinicznych.

Wielu autorów donosi o możliwości przeżywania *M. avium subsp. paratuberculosis* w mleku poddanym działaniu podwyższonej temperatury lub procesowi pasteryzacji. Grant i wsp. (11) badali termooporność różnych prątków stwierdzając, że szereg szczepów może przeżyć warunki będące odpowiednikiem pasteryzacji w 63,5°C przez 30 minut. Szczepy *M. avium subsp. paratuberculosis* okazały się bardziej odporne od większości prątków typowych i atypowych. Inne badania tego samego autora wykazały, że przy dużej koncentracji komórek prątka w mleku (10^6 - 10^7 /ml) pasteryzacja zgodnie z wymogami procesu HTST (High Temperature, Short Time: 71,7°C przez 15 sek.) nie jest skuteczna w zdecydowanej większości przypadków (12).

Wyniki badań Keswani i Franka (19) okazały się odmienne. Autorzy zbadali przeżywalność *M. avium subsp. paratuberculosis* w zakresie temperatur od 55 do 75°C nie stwierdzając żywych komórek prątków w mleku po żadnym z zastosowanych czasów ekspozycji. Na rozbieżność wyników tych badań wpływać może fakt, że większość badaczy symulowała tylko warunki pasteryzacji, nie prowadząc badań w warunkach przemysłowych.

Rozprzestrzenienie choroby Crohna na świecie nie zostało dokładnie poznane. W większości państw nie istnieją programy zapobiegania i zwalczania choroby Crohna. Choroba występuje zarówno w państwach wysoko rozwiniętych, jak i w krajach rozwijających się. W USA ma różne nasilenie, zależnie od regionu lub grupy ludności. Średni wskaźnik zakażeń określono tam na 26.0-198.5 na 100 000, zaś liczba potwierdzonych przypadków choroby waha się od 3,1 do 13,5 na 100 000 mieszkańców. Łączną liczbę chorych w Ameryce Północnej ocenia się na 400-600 tysięcy (22). W ostatnich latach obserwuje się tendencję do wzrostu tego wskaźnika na całym świecie. Interesujące jest, że intensywność występowania choroby jest większa w regionach o niższych wskaźnikach zachorowalności na klasyczną gruźlicę oraz znacznie większy udział kobiet wśród pacjentów niż mężczyzn w tym samym wieku (22). Choroba Crohna jest chorobą rodzinną. Zwykle występuje u kilku członków tej samej rodziny, co może sugerować istnienie genetycznie uwarunkowanej skłonności do jej wystąpienia. Choroba występuje w Polsce, jednak jej intensywność nie jest dokładnie określona (36).

Leczenie choroby Crohna jest znacznie trudniejsze niż klasycznej gruźlicy wywołanej przez *M. tuberculosis* lub mykobakterioz spowodowanych prątkami atypowymi. Konieczne jest skojarzone leczenie lekami chemioterapeutycznymi, a zalecany czas leczenia wynosi co najmniej 3 lata (36). Zwykle stosowane są kombinacje sterydów z antybiotykami. Leczenie zbyt

krótkie lub nieprawidłowo dobranymi lekami może spowodować nawet pogorszenie stanu zdrowia pacjenta. U większości pacjentów choroba wywołuje w przewodzie pokarmowym zmiany (przetoki, pseudopolipy itp.), do usunięcia których niezbędna jest interwencja chirurgiczna. Loftus i wsp. (22) stwierdzili, że w USA ponad 57% pacjentów wymaga w trakcie choroby co najmniej jednej interwencji chirurgicznej. Często do typowych dla choroby Crohna zmian anatomicznych umiejscowionych w jelitach dołącza się proces nowotworzenia co stwarza konieczność zabiegu usunięcia części lub całości okrężnicy z wytworzeniem sztucznego odbytu. Wielu chorych w trakcie terapii stosuje leczenie uzupełniające w postaci ziół, terapii witaminowych oraz dietę bogatą w błonnik (16).

Czynniki etiologiczne choroby Crohna, mechanizmy powstawania i rozwoju choroby nie są w pełni poznane, mimo niewątpliwych osiągnięć w tym zakresie, związanych głównie z wprowadzeniem przez badaczy metod biologii molekularnej. Szerokie rozprzestrzenienie w przyrodzie prątków kwasoopornych innych niż *M. tuberculosis* powodujących infekcje u ludzi skutkuje wieloma różnicami w wynikach badań pacjentów podejrzewanych o chorobę Crohna. Dyskusja czy *M. avium* subsp. *paratuberculosis* jest jednym z czynników czy czynnikiem jedynym wywołującym to schorzenie, zapoczątkowana przeszło 100 lat temu, ciągle trwa. Świadczy to o potrzebie kontynuowania badań zarówno w medycynie, jak i weterynarii nad prątkiem Johnego. Szczególnie niezbędne wydają się badania nad rozprzestrzenieniem się prątka w przyrodzie, także u dzikich przeżuwaczy oraz poznanie warunków przeniesienia zakażenia poprzez mleko i jego przetwory.

Piśmiennictwo

- Arasht K. N., Cordes C., Ewers M., Simon V., Dietz E., Futh U. M., Brockmeyer N. H., L'age M. P.: HIV-related nontuberculous mycobacterial infection: incidence, survival analysis and associated risk factors. *Eur. J. Med. Res.* 2000, 5, 424-430.
- Bull J. T., Hermon-Taylor J., Pavlik I., El-Zaatari F., Tizard M.: Characterization of IS 900 loci in *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* and development of multiplex PCR typing. *Microbiology* 2000, 146, 2185-2197.
- Chiodini R. J.: Crohn's disease and the Mycobacterioses: a review and comparison of two disease entities. *Clin. Microbiol. Rev.* 1989, 2, 90-117.
- Chiodini R. J., Van Kruiningen H. J.: Eastern white tailed deer as a reservoir of ruminant paratuberculosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1983, 182, 168-169.
- Chiodini R. J.: Historical overview and current approaches in determining a mycobacterial aetiology of Crohn's disease. In Mulder C. J. J. and Tytgat G. N. J. (eds): *Is Crohn's disease a mycobacterial disease*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1992, s. 1-15.
- Collins D. M., Gabric D. M., de Lisle G. W.: Identification of two groups of *Mycobacterium paratuberculosis* strains by restriction endonuclease analysis and DNA hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 1990, 28, 1591-1596.
- Crohn B. B., Ginzburg L., Oppenheimer G. D.: Landmark article Oct. 15, 1932. Regional ileitis. A pathological and clinical entity. *J. Am. Med. Assoc.* 1984, 251, 73-79.
- Elsagheer A., Prantera C., Moreno C., Ivanyi J.: Antibodies to *Mycobacterium paratuberculosis* – specific protein antigens in Crohn's disease. *Clin. Exp. Immunol.* 1992, 90, 503-508.
- Fidler H. M., Thurrell W., Johnson N. M., Rook G. A., McFadden J. J.: Specific detection of *Mycobacterium paratuberculosis* DNA associated with granulomatous tissue in Crohn's disease. *Gut* 1994, 35, 506-510.
- Grange J. M.: *Mycobacterium bovis* infection in human beings. *Tuberculosis* 2001, 81, 71-77.
- Grant I. R., Ball H. J., Rowe M. T.: Effect of high-temperature, short-time (HTST) pasteurization on milk containing low numbers of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Letts. Appl. Microbiol.* 1998, 26, 166-170.
- Grant I. R., Hitchings E. I., McCartney A., Ferguson F., Rowe M. T.: Effect of commercial – scale high-temperature, short-time pasteurization on the viability of *Mycobacterium paratuberculosis* in naturally infected cows' milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002, 68, 602-607.
- Greig A., Stevenson K., Perez V., Pirie A. A., Grant J. M., Sharp J. M.: Paratuberculosis in wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Vet. Rec.* 1997, 140, 141-143.
- Haagsma J., Mulder C. J. J.: Eger E., Bruins W., Ketel R. J., Tytgat G. N. J.: *Mycobacterium* species isolated from patients with Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Disease, Current status and future approach*, Excerpta Medica, Elsevier Science Publ. Co. Amsterdam 1988, s. 535-538.
- Hermon-Taylor J., Moss M., Tizard M., Malik Z., Sanderson J.: Molecular biology of Crohn's disease mycobacteria. *Bull. Clin. Gastroenterol.* 1990, 4, 23-42.
- Heuschkel R., Afzal N., Wuerth A., Zurakowski D., Leichtner A., Emper K., Tolia V., Bouvaros A.: Complementary medicine use in children and young adults with inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* 2002, 97, 382-388.
- Instrukcja Nr 17/99 Głównego Lekarza Weterynarii z dnia 2 listopada 1999, dotycząca przeprowadzenia badań laboratoryjnych w kierunku paratuberkulozy bydła, s. 30.
- Jessup D. A., Abbas B., Behmeyer D., Gogan P.: Paratuberculosis in tule elk in California. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1981, 179, 1252-1254.
- Keswani J., Frank J. F.: Thermal inactivation of *Mycobacterium paratuberculosis* in milk. *J. Food Prot.* 1998, 61, 974-978.
- Kreutzpaintner G., Das P. K., Stronkhorst A., Slob A. W., Strohmeyer G.: Effect of intestinal resection on serum antibodies to the mycobacterial 45/48 kilodalton doublet antigen in Crohn's disease. *Gut* 1995, 37, 361-366.
- Lipiec M.: Testy aktualnie stosowane w rozpoznawaniu paratuberkulozy bydła. *Medycyna Wet.* 1995, 51, 708-711.
- Loftus E. V. Jr., Schoenfeld P., Sandborn W. J.: The epidemiology and natural history of Crohn's disease in population-based patients cohorts from North America: a systematic review. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2002, 16, 51-60.
- McClure H. M., Chiodini R. J., Anderson D. C., Swenson R. B., Thayer W. R., Coutu J. A.: *Mycobacterium paratuberculosis* (Johne's disease) in a colony of stump-tail macaques *Macaca arcoides*. *J. Infect. Dis.* 1987, 155, 1011-1019.
- McFadden J., Butcher P. D., Chiodini R. J., Hermon-Taylor J.: Crohn's paratuberculosis as determined by DNA probes that distinguish between mycobacterial species. *J. Clin. Microbiol.* 1987, 25, 796-801.
- Milner A. R., Mach W. N., Coates K., Wood P. R., Sheldrick P., Hill J., Gill J.: The absorbed ELISA for the diagnosis of Johne's disease in cattle. In: *Johne's disease – current trends in research, diagnosis and management*. CSIRO Publications, Melbourne, 1988, s. 158.
- O'Brien D. P., Currie B. J., Krause V. L.: Nontuberculous mycobacterial disease in northern Australia: a case series and review of the literature. *Clin. Infect. Dis.* 2000, 31, 958-967.
- Pavlik I., Bartl J., Dvorska L., Svastova P., du Maine R., Machackova M., Yayo Ayele W., Horvathova A.: Epidemiology of paratuberculosis in wild ruminants studied by restriction fragment length polymorphism in the Czech Republic during the period 1995-1998. *Vet. Microbiol.* 2000, 77, 231-251.
- Pavlik I., Horvathova A., Dvorska L., Svastova P., du Maine R., Fixa B., Rychlik I.: Homogeneity/Heterogeneity of *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* Strains: Correlation between RFLP-Type and source (animal, environmental, human). *Sixth International Colloquium on Paratuberculosis*, February 14-18, 1999, Melbourne, s. 321-329.
- Rowbotham D. S., Mapstone N. P., Trejdosiewicz L. K., Quirke P.: *Mycobacterium paratuberculosis* DNA not detected in Crohn's disease tissue by fluorescent polymerase chain reaction. *Gut* 1995, 37, 660-667.
- Sales M. P., Taylor G. M., Hughes S., Yates M., Hewinson G., Young D. B., Shaw R. J.: Genetic diversity among *Mycobacterium bovis* isolates: a preliminary study of strains from animal and human sources. *J. Clin. Microbiol.* 2001, 39, 4558-4562.
- Stainsby K. J., Lowes J. R., Allan R. N., Ibbotson J. P.: Antibodies to *Mycobacterium paratuberculosis* and nine species of environmental mycobacteria in Crohn's disease and control subjects. *Gut* 1993, 34, 371-374.
- Suenaga K., Yokoyama Y., Okazaki K., Yamamoto Y.: Mycobacteria in the intestine of Japanese patients with inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* 1995, 90, 76-80.
- Sweeney R. W., Whitlock R. H., Rosenberger A. E.: *Mycobacterium paratuberculosis* cultured from milk and supramammary lymph nodes of infected asymptomatic cows. *J. Clin. Microbiol.* 1992, 30, 166-171.
- Van Kruiningen H. J., Chiodini R. J., Thayer W. R., Coutu J. A., Merkal R. S., Runnels P. L.: Experimental disease in infant goats induced by a *Mycobacterium* from a patient with Crohn's disease. *Dis. Dis. Sci.* 1986, 31, 1351-1360.
- Vannuffel P., Dietrich C., Naerhuyzen B., Gilot P., Coene M., Fiasse R., Cocito C.: Occurrence in Crohn's disease of antibodies directed against a specific recombinant polypeptide of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1994, 1, 241-243.
- Wojciechowski K., Jarosz M.: Leczenie zachowawcze choroby Leśniowskiego-Crohna – możliwości i ograniczenia. *Proktologia* 2001, 2, 223-239.
- Zurbrick B. G., Czuprynski C. J.: Ingestion and intracellular growth of *Mycobacterium paratuberculosis* within bovine blood monocytes and monocyte – derived macrophages. *Infect. Immun.* 1987, 55, 1588-1593.