

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ
ΤΡΟΦΙΜΩΝ



Μεταπτυχιακή διατριβή

**Ανίχνευση του *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*
από γάλα μηρυκαστικών (αιγοπροβάτων) της Κύπρου με την
χρήση IS900 Real Time-PCR**

Ανθή Φαρακάλλα

Η παρούσα διπλωματική μελέτη υποβλήθηκε στο Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου ως τμήμα της εκπλήρωσης των απαιτήσεων για την απόκτηση Μεταπτυχιακού

Λεμεσός, Μάιος 2021

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα

9/05/2021

Λεμεσός,

Εγώ, η Ανθή Φαρακάλλα , βεβαιώνω ότι η παρούσα διπλωματική μελέτη και το έργο που παρουσιάζεται σε αυτή είναι δικό μου επίτευγμα.

1. Σε κάθε περίπτωση όπου έχω συμβουλευτεί δημοσιευμένο έργο άλλων δημιουργών αυτό δηλώνεται πάντα με σαφή τρόπο.
2. Σε κάθε περίπτωση όπου έχω χρησιμοποιήσει αποσπάσματα από το έργο των άλλων δημιουργών η πηγή αναφέρεται. Με την εξαίρεση των εν λόγω αποσπασμάτων αυτή η διπλωματική μελέτη είναι αποκλειστικά δικό μου έργο.
3. Έχω αναφέρει όλες τις βασικές υποστηρικτικές πηγές.
4. Εάν η έρευνα μου απορρέει από προηγούμενες εργασίες ή είναι μέρος ενός μεγαλύτερου έργου ερευνητικής συνεργασίας, έχω καταστήσει σαφές τι ακριβώς υλοποιήθηκε από άλλους και σε τι ακριβώς έχω συμβάλει εγώ ο ίδιος.
5. Έχω μελετήσει και κατανοήσει τις κυρώσεις που απορρέουν από την λογοκλοπή

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ

Σχολή Γεωτεχνικών Επιστημών και Διαχείρισης Περιβάλλοντος

Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων

Μεταπτυχιακή διατριβή

**Ανίχνευση του *Mycobacterium avium* subsp.
Paratuberculosis από γάλα μηρυκαστικών(αιγοπροβάτων) της
Κύπρου με την χρήση IS900 Real Time-pcr**

της

Ανθή Φαρακάλλα

Λεμεσός, Μάιος 2021

Έντυπο έγκρισης

Μεταπτυχιακή διατριβή

Ανίχνευση του *Mycobacterium avium* subsp. Paratuberculosis από γάλα μηρυκαστικών(αιγοπροβάτων) της Κύπρου με την χρήση IS900 Real Time-pcr

Παρουσιάστηκε από

Ανθή Φαρακάλλα

Επιβλέπων καθηγητής: Δρ. Γιώργος Μπότσαρης , Επίκουρος καθηγητής

Υπογραφή _____

Μέλος επιτροπής: Όνομα και ιδιότητα

Υπογραφή _____

Μέλος επιτροπής: Όνομα και ιδιότητα

Υπογραφή _____

Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου

Λεμεσός, Μάιος 2021

Πνευματικά δικαιώματα

Copyright © Ανθή Φαρακάλλα, Μάιος, 2021

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της μεταπτυχιακής διατριβής από Τμήμα Γεωπονικών Επιστημών, Βιοτεχνολογίας και Επιστήμης Τροφίμων του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος.

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της παρούσας Μεταπτυχιακής Διατριβής θα ήθελα να ευχαριστήσω ορισμένους ανθρώπους που χωρίς την υποστήριξη, την παρουσία και την ανεκτικότητα τους δεν θα υφίστατο δυνατή η υλοποίηση της.

Πρώτα από όλους, αισθάνομαι ιδιαίτερα την ανάγκη να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου Δρ. Γιώργο Μπότσαρη που μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα. Θα ήθελα επίσης να τον ευχαριστήσω για την υποστήριξή του, τόσο στην υλοποίηση της εργασίας, όσο και για την συνεχή καθοδήγηση αλλά και την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε καθ' όλη τη διάρκεια προετοιμασίας, έρευνας και συγγραφής της μελέτης.

Θα ήταν παράλειψή μου να μην ευχαριστήσω των υποψήφιο διδακτορικό Νικόλα για την αρίστη συνεργασία που είχαμε και την πολύτιμη συνεισφορά του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής εργασίας.

Επιπλέον, σε αυτή την προσπάθεια, ουσιαστικό ρόλο διαδραμάτισαν οι φίλοι μου, οι οποίοι με στήριζαν, με εμπύχωναν και μου έδειχναν συνεχώς την αγάπη και την εμπιστοσύνη τους.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στον για την αδιάλειπτη υποστήριξη και συνεχή ενθάρρυνση κατά τη διάρκεια δύσκολων στιγμών, αλλά και καθ' όλη τη διαδικασία της έρευνας και συγγραφής της παρούσας διατριβής.

Σε μια πράξη ευγνωμοσύνης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά, την μητέρα μου Μαργαρίτα Νικολάου και τις αδελφές μου Μόνικα και Άντρη που με υποστήριζαν με κάθε τρόπο σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου. Θα ήθελα να αφιερώσω αυτή την ερευνητική εργασία στην οικογένεια μου για την ηθική και οικονομική υποστήριξη που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια των σπουδών μου, και στον Πατέρα μου, Φαρακ Φαρακάλλα, που παρόλο που δεν μπορούσε να βρίσκεται μαζί μου σωματικά σε αυτό το ταξίδι, η αγάπη, η δύναμη που μου με ώθησαν να συνεχίσω να παλεύω για ότι επιθυμώ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) είναι ο αιτιολογικός παράγοντας της νόσου του Johnne's στα βοοειδή και άλλα μηρυκαστικά και ενδεχομένως να συνδέεται με την ανθρώπινη νόσο του Crohn's. Η ανίχνευση του MAP με τη μέθοδο της καλλιέργειας είναι ιδιαίτερα χρονοβόρα αφού απαιτείται τουλάχιστο τετράμηνη επώαση λόγω της βραδείας ανάπτυξης του μικροοργανισμού. Εναλλακτικές μέθοδοι δείχνουν να έχουν μεγαλύτερη ευαισθησία και η λήψη των αποτελεσμάτων γίνεται σε πολύ πιο μικρό χρονικό διάστημα.

Κατά την τελευταία δεκαετία, έχουν χρησιμοποιηθεί πολλές μέθοδοι για την ανίχνευση, απομόνωση και ταυτοποίηση του MAP στο γάλα. Η πιο συχνή μέθοδος ανίχνευσης MAP στο γάλα είναι PCR. Η αλληλουχία ένθεσης/ το γονίδιο IS900 είναι ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος στόχος για την ταυτοποίηση αλλά και την διαφοροποίηση του MAP από τα υπόλοιπα μυκοβακτήρια.

Η μελέτη της φυματίωσης αποτελεί αντικείμενο εντατικής έρευνας, καθώς παρά την αποτελεσματικότητα των διαθέσιμων διαγνωστικών μεθόδων, η συγκεκριμένη νόσος εξακολουθεί να παραμένει σημαντική απειλή για την (παγκοσμια)δημόσια υγεία παγκοσμίως. Κατατάσσεται ανάμεσα στις πιο διαδεδομένες μολυσματικές ασθένειες που μαστίζουν την ανθρωπότητα με πολύ υψηλή νοσηρότητα και θνησιμότητα. Ένα αιώνα και πλέον, μετά την ανακάλυψη του βακίλου της φυματίωσης από τον Robert Koch (1882), η νόσος έχει τεθεί υπό μερικό έλεγχο με την χρήση των αντιφυματικών φαρμάκων και οι δείκτες νοσηρότητας που την συνόδευαν τιθασεύτηκαν σε ανεκτά επίπεδα.

Σκοπός της παρούσας μελέτη αποσκοπούσε στον εντοπισμό του MAP σε νωπό γάλα από ασυμπτωματικά μυρκαστικά της Κύπρου με την χρήση PCR που στοχεύει το IS900 γονίδιο.

Λέξεις κλειδιά: *Mycobacterium avium* s *paratuberculosis*, MAP, Ruminants, Sheeps, Goats, Raw Milk, Detection qRT-PCR.