

TYPOWANIE GENETYCZNE SZCZEPÓW *MYCOBACTERIUM KANSASII* POCHODZĄCYCH Z RÓŻNYCH KRAJÓW ŚWIATA

Zofia Bakuła¹, Rafał Krenke², Elizabeta Bachiyska³, Jakko van Ingen⁴, Joanna Humięcka⁵, Igor Mokrousov⁶, Dimitros Papavatis⁷, Vit Ulmann⁸, Miren Josebe Unzaga-Baranano⁹, Koh Won-Jung¹⁰, Tomasz Jagielski¹

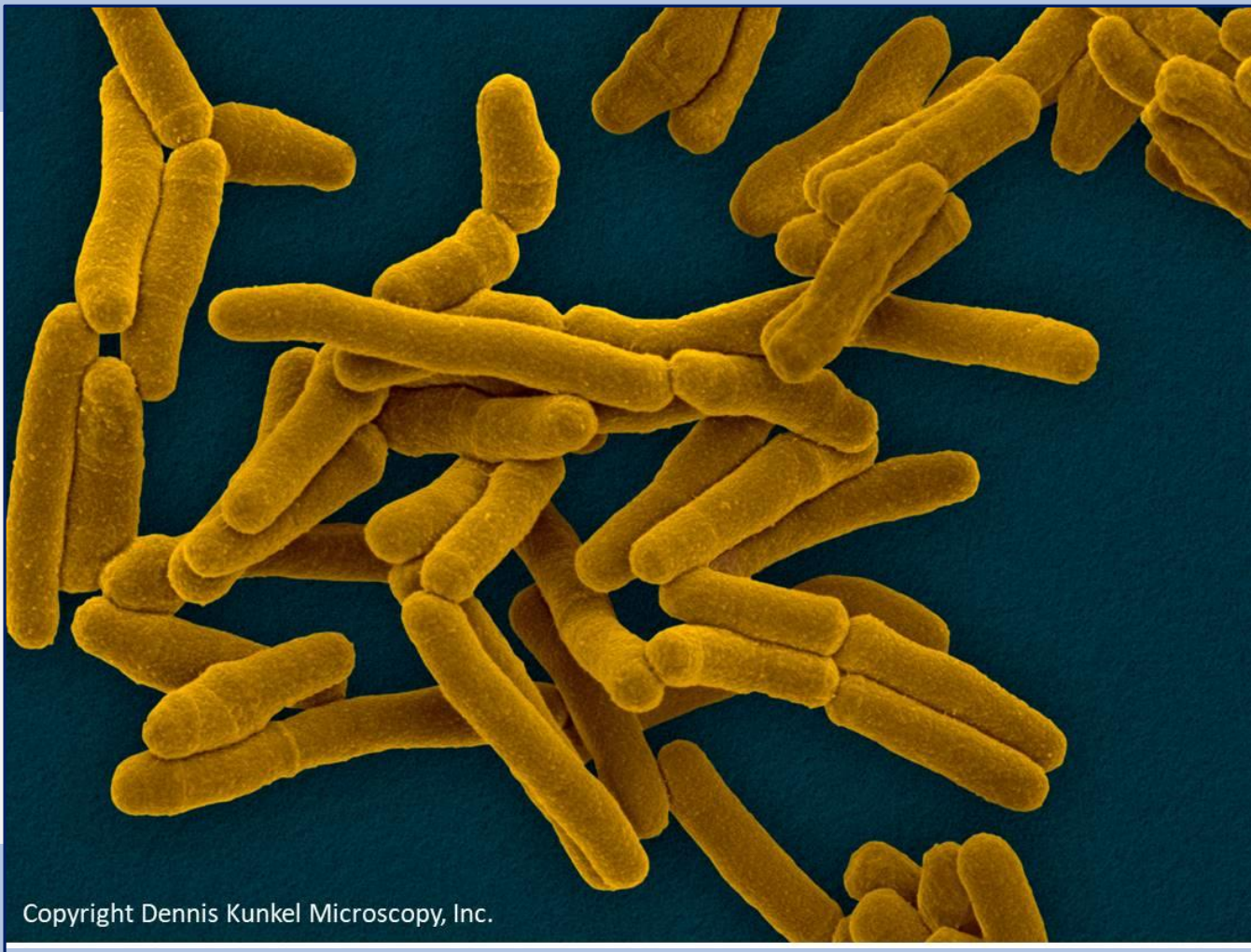
¹Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Polska; ²Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska; ³National Reference Laboratory for Tuberculosis, National Center of Infectious and Parasitic Diseases, Bułgaria; ⁴Department of Medical Microbiology, Radboud University Medical Center, Holandia; ⁵Wojewódzki Szpital Zakaźny w Warszawie, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska; ⁶Laboratory of Molecular Microbiology, St. Petersburg Pasteur Institute, Rosja; ⁷National Reference Laboratory for Mycobacteria, "Sotiria" Chest Diseases Hospital of Athens, Grecja; ⁸Institute of Public Health, Czechy; ⁹Clinical Microbiology and Infection Control, Basurto Hospital, Hiszpania; ¹⁰Division of Pulmonary and Critical Care Medicine; Department of Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Korea Południowa

Badanie zostało sfinansowane ze środków przyznanych grantem NCBiR «LIDER» (LIDER/044/457/L-4/12/NCBR/2013) oraz grantem Wydziału Biologii «DSM» (501-D114-86-0115000-01).

WSTĘP

Mycobacterium kansasii jest jednym z sześciu najczęściej izolowanych gatunków prątków niegruźliczych (*nontuberculous mycobacteria*, NTM) na świecie, stanowiąc 4% wszystkich izolacji NTM. W Polsce, co trzeci (36%) wyizolowany z materiałów klinicznych prątek atypowy to *M. kansasii*. Obecnie, w obrębie gatunku *M. kansasii*, wyróżnia się 7 typów genetycznych (I-VII), przy czym genotypy I i II są najczęściej obserwowane i związane z chorobami ludzi, a pozostałych pięć ma zwykle pochodzenie środowiskowe.

Badanie jest częścią projektu realizowanego we współpracy naukowej w ramach międzynarodowego konsorcjum *Fight Against TB in Central and Eastern Europe* (FATE) (Ryc. 1).
/Więcej o konsorcjum: Jagielski T., *Lancet Infect. Dis.*, 2017; 4:363/



CEL

Celem pracy było zbadanie frekwencji typów genetycznych w międzynarodowej kolekcji szczepów klinicznych *M. kansasii*. Uzyskane wyniki, w połączeniu z danymi klinicznymi, pozwolą wyświetlić potencjał chorobotwórczy poszczególnych genotypów *M. kansasii*.

MATERIAŁY I METODY

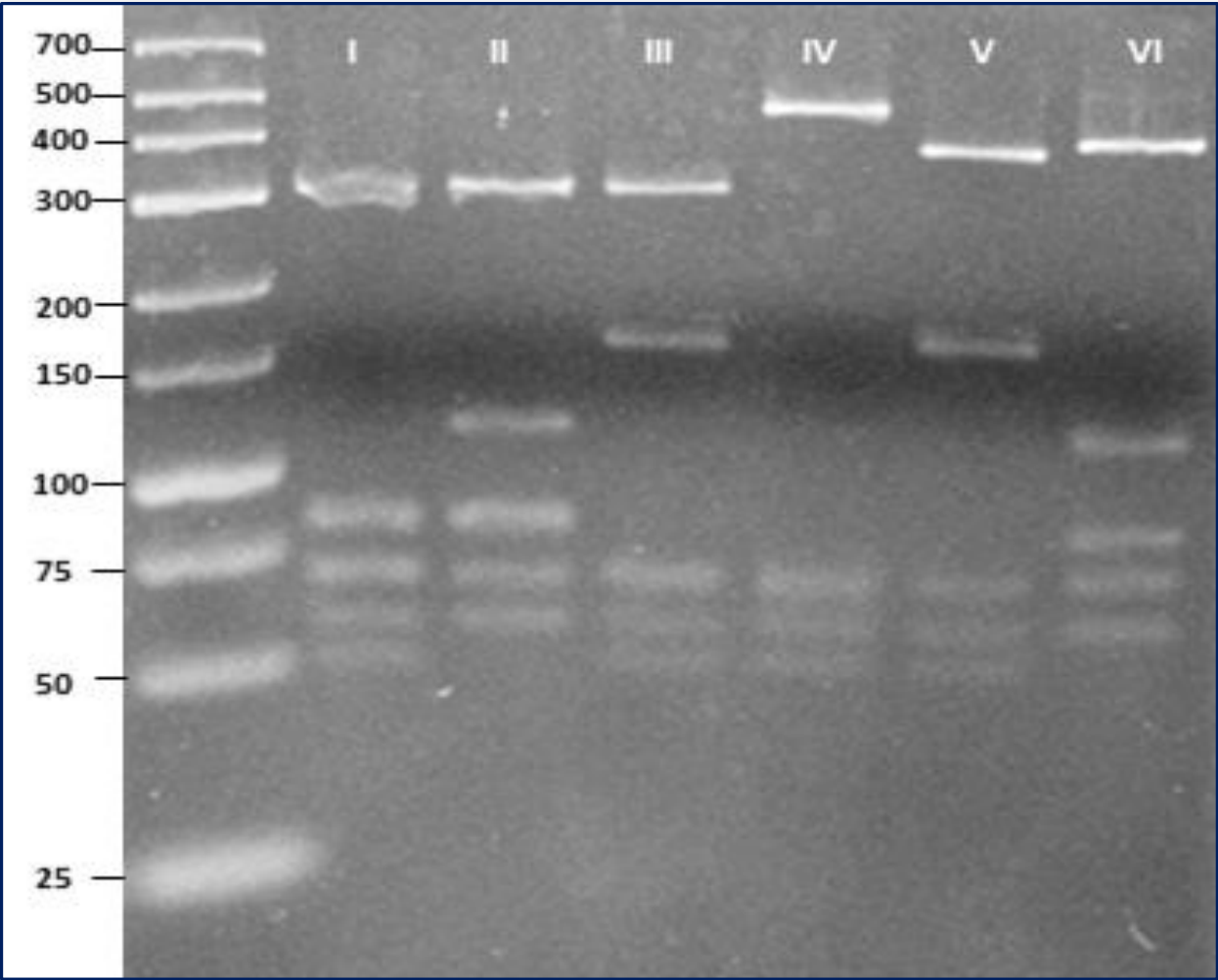
Przedmiotem badań była kolekcja 325 szczepów klinicznych *M. kansasii* izolowanych w latach 2000-2015 w Polsce, Bułgarii, Czechach, Grecji, Hiszpanii, Holandii, Niemczech, Rosji, Słoweni, Szwajcarii i Korei Południowej. Szczepy klasyfikowano jako pochodzące z przypadków mykobakteriozy wywołanej *M. kansasii* zgodnie z kryteriami przyjętymi przez American Thoracic Society (ATS, 2011).
Szczepy rewitalizowano na pożywce Löwenstein’a-Jensen’a. Chromosomowy DNA prątków izolowano z hodowli z wykorzystaniem komercyjnego zestawu GenoLyse (Hain, Nehren, Niemcy). Typowanie genetyczne prowadzono w oparciu o metodę PCR-RFLP dla genu *tuf*, kodującego czynnik elongacji translacji EF-Tu (Bakuła Z. et al., *Biomed Res. Int.*, 2013:167954) (Tabela 1).

Tab. 1. Profile restrykcyjne dla genotypów I-VI *M. kansasii*, na podstawie PCR-RFLP dla fragmentu genu *tuf* (MvaI).

Typ	Długość fragmentów restrykcyjnych (MvaI) [pz]	
	generowanych w analizie <i>in silico</i>	oczekiwanych w żelu agarozowym
I	321, 87, 84, 70, 69, 59, 51	320, 90, 70, 60, 50
II	321, 121, 87, 84, 69, 58	320, 120, 90, 70, 60
III	321, 171, 71, 69, 58, 51	320, 170, 70, 60, 50
IV	492, 72, 63, 58, 51, 6	490, 70, 60, 50
V	390, 171, 71, 57, 51	390, 170, 70, 60, 50
VI	408, 120, 84, 72, 59	410, 120, 80, 70, 60

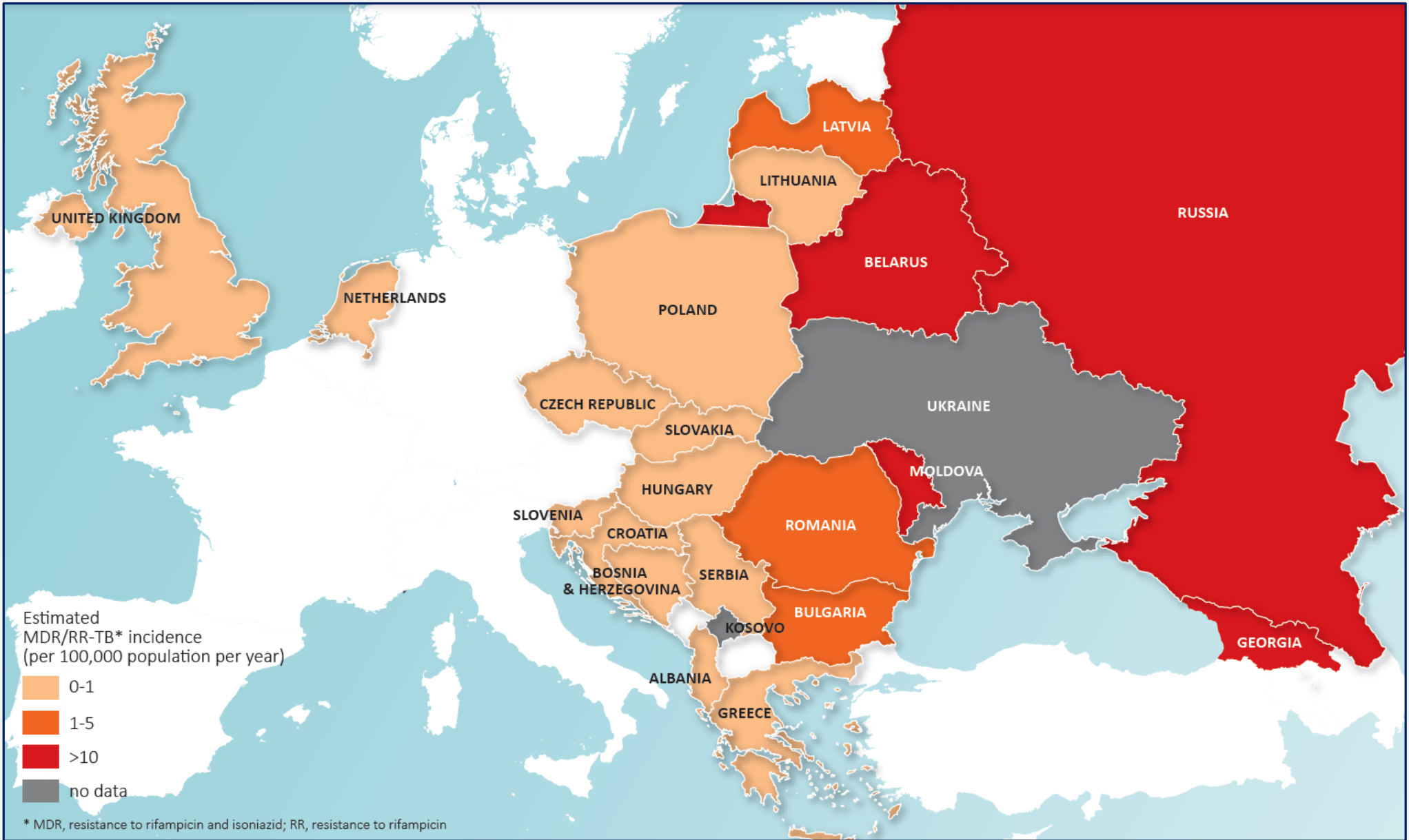
WYNIKI

Spośród badanych szczepów, 305 (93.8%) reprezentowało I typ genetyczny, zaś 15 (4.7%) – II typ genetyczny *M. kansasii*. Zidentyfikowano 2 szczepy (0.6%) należące do typu III i po jednym należącym do podtypu IV, V i VI (0.3%).



Ryc. 2. Wyniki restrykcji enzymem MvaI fragmentu genu *tuf* przedstawicieli typów genetycznych *M. kansasii*.

Wyniki trawienia restrykcyjnego genu *tuf* dla przedstawicieli typów genetycznych I-VI, przedstawiono na Rycinie 2.
Na podstawie analizy dokumentacji medycznej stwierdzono, że 196 (64.3%) spośród szczepów należących do typu I, 6 (40%) spośród szczepów typu II oraz 1 (50%) spośród szczepów typu III pochodziło z przypadków potwierdzonej mykobakteriozy.



Ryc. 1. Kraje wchodzące w skład konsorcjum FATE.

WNIOSKI

Wyniki pracy potwierdzają dominację dwóch typów genetycznych (I i II) wśród szczepów klinicznych *M. kansasii*. Jednocześnie, identyfikacja obu typów genetycznych, choć wzmacnia podejrzenie kliniczne mykobakteriozy, nie pozwala na jej rozpoznanie. Obecnie stosowany format typowania genetycznego *M. kansasii* uniemożliwia różnicowanie szczepów klinicznych *M. kansasii* wykazujących potencjał chorobotwórczy i klinicznie obojętnych.