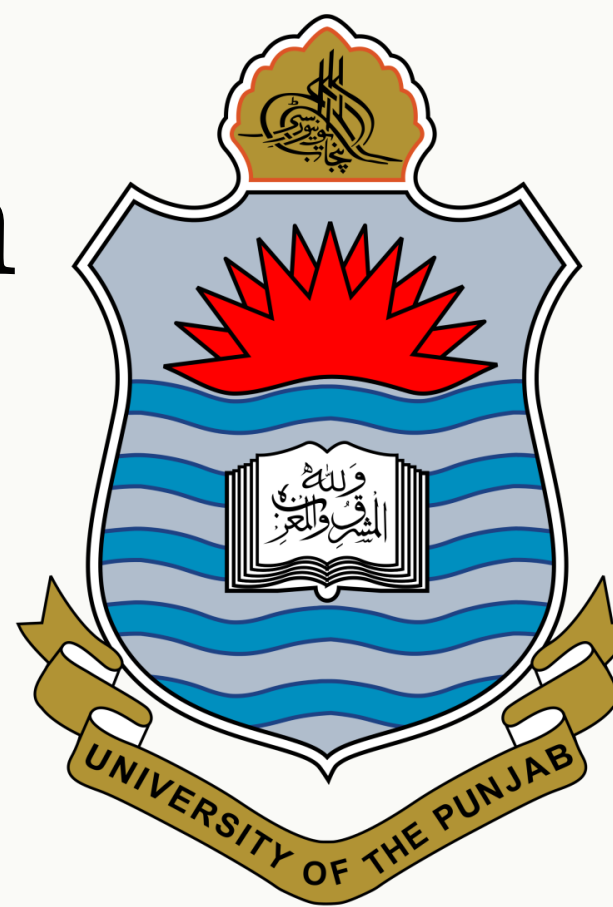




Wykorzystanie Testu Genotype MTBDR_{plus} i Genotype MTBDR_{sl} do wykrywania oporności na leki przeciwprątkowe w szczepach klinicznych *Mycobacterium tuberculosis* o wielolekooporności typu XDR

Małgorzata Pleń¹, Zofia Bakula¹, Hasnain Javed², Nazia Jamil², Tomasz Jagielski¹

¹ Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

² Department of Microbiology & Molecular Genetics, University of the Punjab, Lahore, Pakistan

Wstęp

Lekooporność w gruźlicy stanowi jedno z największych wyzwań dla programów kontroli i walki z chorobą. Z tego względu szybka i wiarygodna identyfikacja lekoopornych szczepów prątków nabiera szczególnego znaczenia.

Oprócz tradycyjnych metod fenotypowych coraz częściej stosuje się w tym celu techniki molekularne, do których należą komercyjnie dostępne testy GenoType MTBDR_{plus} i GenoType MTBDR_{sl}.

Pierwszy umożliwia wykrycie szczepów *Mycobacterium tuberculosis* opornych na izoniazyd (INH) i ryfampicynę (RMP), dwa kluczowe leki przeciwprątkowe, zaś drugi pozwala wykazać oporność prątków na fluorochinolony (FLQ), aminoglikozydy, tj. amikacynę (AMK) lub kanamycynę (KAN), oraz etambutol (EMB).

Cel

Celem pracy była ocena użyteczności testów GenoType MTBDR_{plus} i GenoType MTBDR_{sl} do wykrywania oporności na leki przeciwprątkowe w szczepach *M. tuberculosis* o oporności typu (pre-)XDR.

Materiały i metody

- ✓ Badanie objęło 53 szczepy wyizolowane od chorych na gruźlicę wielolekooporną w Pakistanie w 2014 roku.
- ✓ Wrażliwość na leki przeciwprątkowe (I. i II. rzutu) badana była metodą proporcji na podłożu Löwenstein'a-Jensen'a.
- ✓ Izolację DNA wykonano metodą z użyciem bromku heksadecylotrimetyloamoniowego (CTAB).
- ✓ Testy GenoType MTBDR_{plus} i MTBDR_{sl} (HAIN Lifescience, Niemcy) wykonywane były zgodnie z zaleceniami producenta.

Wyniki

Przy użyciu testu GenoType MTBDR_{plus} mutacje w genie *katG* (G944C) wykryto w 37 (70%) szczepach, zaś w regionie promotorowym genu *inhA* (C-15T i T-8C) w 4 (8%) szczepach. 42 szczepy (79%) posiadały zmutowaną wersję genu *rpoB* [Tabela 1].

Najczęściej była to mutacja C1349T oznaczona w 35 (66%) szczepach. Testem GenoType MTBDR_{sl} wykryto mutacje w genach: *gyrA* (39, 74% szczepów), *rrs* (8, 15% szczepów) i *embB* (34, 64% szczepów), warunkujące oporność na, odpowiednio fluorochinolony, aminoglikozydy i EMB [Tabela 1].

Zgodność testów GenoType z metodą konwencjonalną w detekcji szczepów opornych na leki oznaczono na poziomie: 79% dla RMP, 72% – INH, 74% – FLQ, 65% – EMB, 25% – AMK i 20% – KAN [Tabela 2].

Tabela 1. Mutacje oznaczone metodą GenoType MTBDR_{plus} oraz GenoType MTBDR_{sl} w szczepach klinicznych *M. tuberculosis* o wielolekooporności typu XDR

GenoType					
MTBDR _{plus}			MTBDR _{sl}		
Gen	Liczba szczepów (%)	Oporność	Gen	Liczba szczepów (%)	Oporność
<i>katG</i>	37 (70%)	INH	<i>gyrA</i>	39 (74%)	FLQ
<i>inhA</i>	4 (8%)		<i>rrs</i>	8 (15%)	AMK KAN
<i>rpoB</i>	42 (79%)	RMP	<i>embB</i>	34 (64%)	EMB

Tabela 2. Zgodność testów GenoType z metodą konwencjonalną w detekcji szczepów opornych na leki.

A - liczba szczepów opornych na lek (test GenoType)

B - liczba szczepów opornych na lek (metoda konwencjonalna)

GenoType					
MTBDR _{plus}			MTBDR _{sl}		
Oporność	A / B	Zgodność (%)	Oporność	A / B	Zgodność (%)
RMP	42/53	79	FLQ	39/53	74
			EMB	33/51	65
INH	38/53	72	AMK	1/4	25
			KAN	1/5	20

Wnioski

- W porównaniu do konwencjonalnej metody badania lekooporności *M. tuberculosis*, testy molekularne wykazały zgodność w wykrywaniu oporności na leki I i II-rzędowe na poziomie 20-79% [Tabela 2]. Wynika to prawdopodobnie z występowania mutacji w innych genach lub regionach genów niż te uwzględnione w testach komercyjnych.
- Do wykrywania lekooporności prątków *M. tuberculosis* w krajach o wysokiej prevalencji gruźlicy lekoopornej, metody molekularne nadal powinny stanowić **uzupełnienie**, a nie zastępnik metod konwencjonalnych.