

LEKOWRAŻLIWOŚĆ I TYPOWANIE GENETYCZNE SZCZEPÓW *PROTOTHECA* SPP. IZOLOWANYCH Z PRZYPADKÓW PROTOTEKOZY U PSÓW



Sylvia Moneta, Zofia Bakula, Tomasz Jagielski*

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

Projekt finansowany przez Uniwersytet Warszawski i Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach programu „Strategia doskonałości” (BOB-661-54/2019)

Wprowadzenie

Rodzaj *Prototheca* obejmuje jednokomórkowe, drożdżakopodobne, bezbarwne glony, których głównym rezerwuarem są środowiska naturalne o dużym obciążeniu materią organiczną. Zakażenia glonami *Prototheca* spp. dotyczą zarówno ludzi jak i zwierząt (gł. bydła, psów, rzadziej kotów). U psów prototekoza przyjmuje postać miejscowego zakażenia skóry lub postać infekcji uogólnionej (systemowej). Spośród 14 znanych gatunków *Prototheca* (Jagielski i wsp., 2019; Alg. Res., 43:101639), najczęstszym czynnikiem etiologicznym psiej prototekozy jest *Prototheca bovis* (dawniej *Prototheca zopfii* gen. 2) i *Prototheca wickerhamii*.

Cel badania

Celem pracy była analiza lekowrażliwości oraz typowanie genetyczne szczepów *Prototheca* spp., wyizolowanych z przypadków prototekozy u psów.

Materiały i metody

Do pracy włączono 16 szczepów wyizolowanych od 16 psów z Niemiec, Włoch i Brazylii, w latach 2006-2018. Do izolacji chromosomowego DNA użyto zestawu GenoLyse (Hain, Niemcy). Identyfikację gatunkową prowadzono za pomocą metody PCR-RFLP dla fragmentu genu *cytb* (Jagielski i wsp., 2018; J Clin Microbiol., 56: e00584-18). Ponadto, dla 6 losowo wybranych szczepów ustalono profile lekowrażliwości metodą mikrorozcieńczeń. W ten sposób wyznaczono wartości minimalnych stężeń hamujących (MIC) oraz minimalnych stężeń algobójczych (MAC) dla 5 leków przeciwgrzybiczych, tj.: amfoterycyny B, efinakonazolu, flukonazolu, itraconazolu i ketokonazolu.

Wyniki

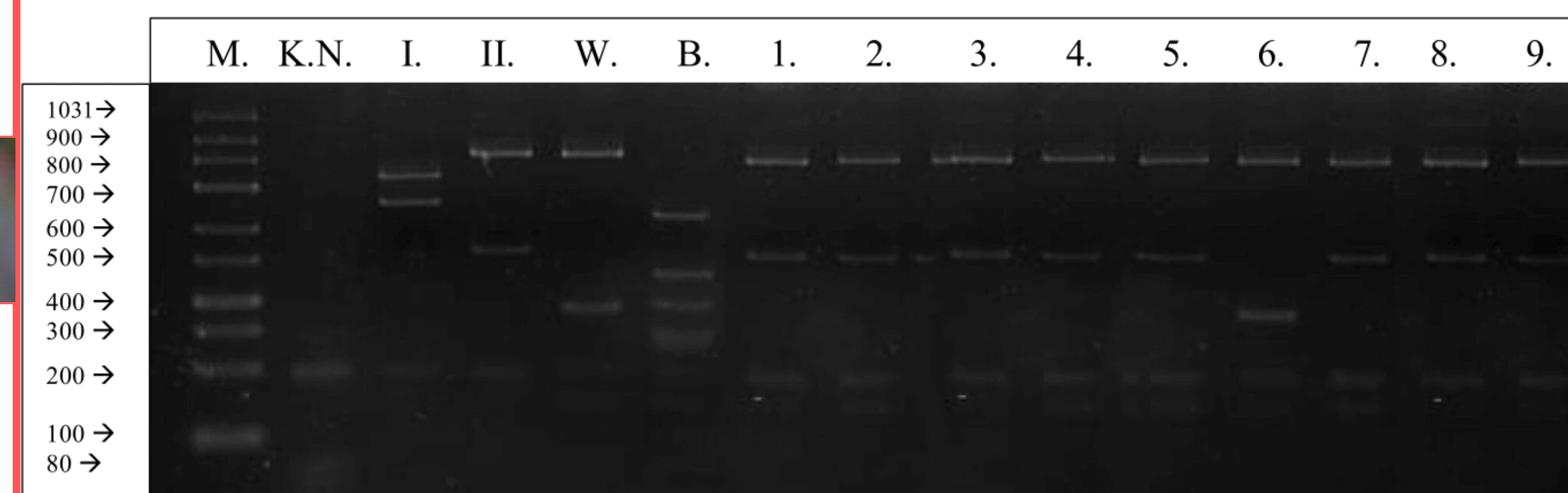
Ogólnie, 12/16 (75%) szczepów zidentyfikowano jako *P. bovis*. Trzy (19%) szczepy rozpoznano jako *P. wickerhamii*. Wykryto też jeden szczep *P. blaschkeae*. Największą aktywność przeciwprotetekową odnotowano dla efinakonazolu (MIC/MAC, 0,016–0,5/0,016–1 µg/mL). Dla amfoterycyny B, flukonazolu i itraconazolu zakresy wartości MIC i MAC były tożsame i wynosiły odpowiednio: 2–8 µg/mL, 16–32 µg/mL i 2–32 µg/mL. Wartości MIC i MAC dla ketokonazolu wynosiły, odpowiednio 4–16 µg/mL oraz 2–16 µg/mL.

Wnioski

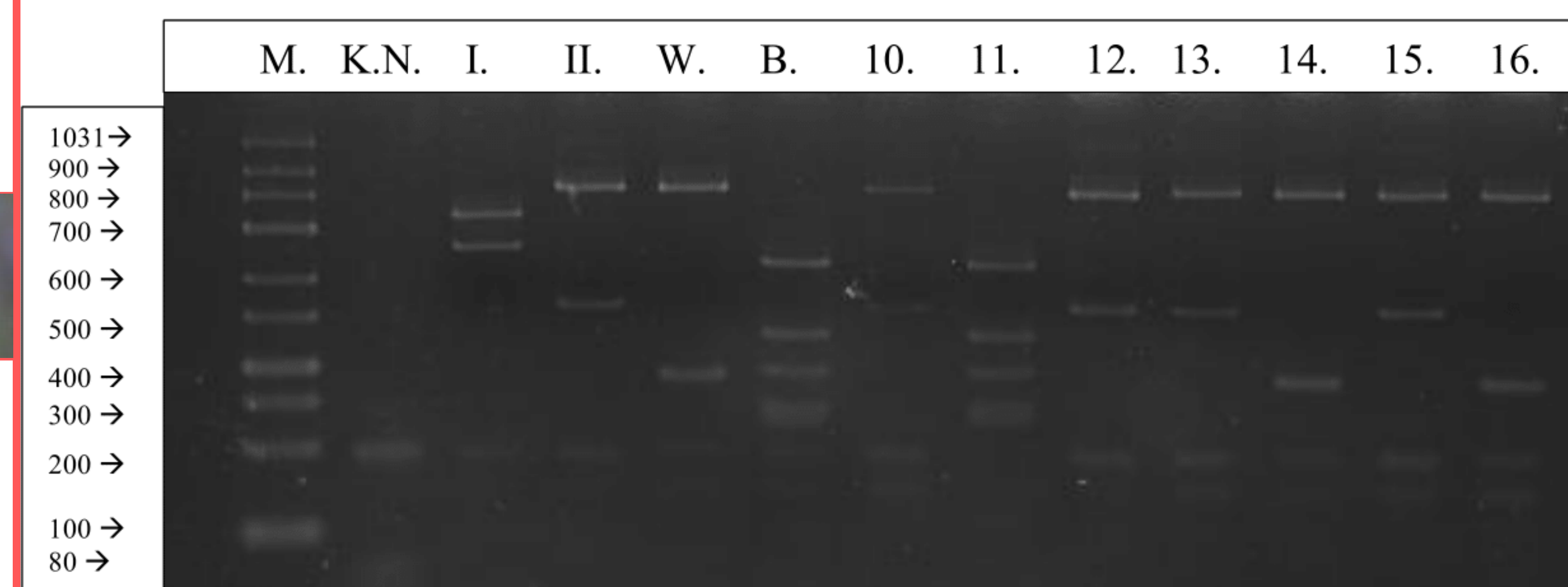
Większość badanych przypadków prototekozy u psów była wywołana zakażeniem *P. bovis*. W badaniu in vitro wykazano wrażliwość protetek na AMB i leki azolowe, przy czym szczególnie wysoką aktywność odnotowano dla efinakonazolu. Jest to pierwszy opis skuteczności tego preparatu wobec glonów *Prototheca* spp. Dalsze badania pozwolą lepiej ocenić potencjał terapeutyczny efinakonazolu w prototekozie ludzkiej i zwierzęcej.



Fot. 1. Kolonie *P. bovis* na podłożu SDA po 72-godz. hodowli w temp. 35 °C
Fot. S. Moneta



Ryc. 1. Ocena przynależności gatunkowej szczepów *Prototheca* spp. z Niemiec: M- marker wielkości Gene Ruler Low Range, K.N- kontrola negatywna, I- *Prototheca ciferri* (T) (SAG 2063), II- *Prototheca bovis* (T) (SAG 2021), W- *Prototheca wickerhamii* (T) (DBVPG 9298), B- *Prototheca blaschkeae* (T) (SAG 2064), 1- P232 (*P. bovis*), 2- P233 (*P. bovis*), 3- PRO-EM SPC 21M (*P. bovis*), 4- BP1 (*P. bovis*), 5- BP2 (*P. bovis*), 6- Japan 6 (*P. wickerhamii*), 7- Bras 23 (*P. bovis*), 8- DAW (*P. bovis*), 9- Bras14 (*P. bovis*).



Ryc. 2. Ocena przynależności gatunkowej szczepów *Prototheca* spp. z Włoch i Brazylii: M-marker wielkości Gene Ruler Low Range, K.N-kontrola negatywna, I- *Prototheca ciferri* (T) (SAG 2063), II- *Prototheca bovis* (T) (SAG 2021), W- *Prototheca wickerhamii* (T) (DBVPG 9298), B- *Prototheca blaschkeae* (T) (SAG 2064), 10- WP1 (*P. bovis*), 11- WP2 (*P. blaschkeae*), 12- WP3 (*P. bovis*), 13- WP4 (*P. bovis*), 14- WP5 (*P. wickerhamii*), 15- 77/ACT/16 (*P. bovis*), 16- 059/19 (*P. wickerhamii*).

Tab. 1. Zestawienie oznaczeń MIC dla szczepów (6) wyizolowanych od psów

	Amfoterycyna B	Efinakonazol	Flukonazol	Itrakonazol	Ketokonazol
Średnia (OS) [µg/mL]	7,0±2,45	0,257±0,213	18,67±6,532	19,7±14,3	12,71±5,619
Zakres [µg/mL]	2–8	0,016–0,5	16–32	2–32	4–16

Tab. 2. Zestawienie oznaczeń MAC dla szczepów (6) wyizolowanych od psów

	Amfoterycyna B	Efinakonazol	Flukonazol	Itrakonazol	Ketokonazol
Średnia (OS) [µg/mL]	7,0±2,45	0,424±0,367	18,67±6,532	22,3±15,0	14,0±4,899
Zakres [µg/mL]	2–8	0,016–1	16–32	2–32	2–16

* Autor korespondencyjny: Dr Tomasz Jagielski
Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii
Uniwersytet Warszawski; ul. Iii Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa; tel. 22 55-41-430
e-mail: t.jagielski@biol.uw.edu.pl