Typowanie genetyczne szczepów klinicznych *Mycobacterium kansasii* metodą PCR-RFLP dla genów *hsp65* i *rpoβ*

Tomasz Jagielski[1], Magdalena Modrzejewska[1], Zofia Bakuła[1], Aleksandra Safianowska[2], Magdalena Nowacka-Mazurek[3], Jacek Bielecki[1]

[1]Zakład Mikrobiologii Stosowanej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski
[2]Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny
[3]Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii, Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny

Wprowadzenie. Bakterie z gatunku *Mycobacterium kansasii* to wolnorosnące prątki niegruźlicze, które mogą być czynnikiem etiologicznym przewlekłej choroby płuc o obrazie klinicznym przypominającym gruźlicę. Prątki *M. kansasii* są wśród najczęstszych prątków niegruźliczych izolowanych z próbek klinicznych od chorych z mykobakteriozą zarówno w Polsce jak i na świecie. W obrębie gatunku *M. kansasii* wyróżnia się 7 typów genetycznych. Ich identyfikacja jest możliwa dzięki zastosowaniu metody *hsp65*/*rpoβ* PCR-RFLP (ang. PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism), w której produkt amplifikacji fragmentu genu *hsp65* lub *rpoβ*, kodujących, odpowiednio, białko szoku cieplnego i podjednostkę β polimerazy RNA poddaje się analizie restrykcyjnej przy użyciu odpowiednich enzymów restrykcyjnych.

Celem pracy było porównanie wyników typowania genetycznego *M. kansasii* otrzymanych metodą PCR-RFLP dla genów *hsp65* i *rpoβ*.

Materiały i metody. Badanie objęło 40 szczepów *M. kansasii* wyizolowanych w szpitalu klinicznym Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, w latach 2000-2010, od pacjentów pierwotnie z podejrzeniem gruźlicy (28 kobiet i 12 mężczyzn; przekrój wiekowy: 27-89 lat; średnia wieku: 62±18 lat). Mykobakteriozę płuc potwierdzono u 19 (47.5%) spośród tych chorych. W metodzie PCR-RFLP amplifikowano fragment (441 pz) genu *hsp65* oraz fragment (342 pz) genu *rpoβ*, a otrzymane produkty poddawano analizie restrykcyjnej przy użyciu następujących enzymów: *Hae*III i *Bst*EII (*hsp65*) oraz *Mva*I, *Hae*III i *Acc*II (*rpoβ*). Liczbę i wielkość fragmentów restrykcyjnych określano na podstawie rozdziałów elektroforetycznych w żelach agarozowych.

Wyniki. Amplifikację genów *hsp65* i *rpoβ* uzyskano dla, odpowiednio, 37 i 39 szczepów *M. kansasii*. Na podstawie przeprowadzonej analizy RFLP, wszystkie szczepy sklasyfikowano jako reprezentujące I typ genetyczny *M. kansasii*.

Wnioski. Wyniki analizy *hsp65* i *rpoβ* PCR-RFLP były całkowicie zbieżne. Wydaje się, że analiza wykorzystująca fragment genu *rpoβ* jest skuteczniejsza gdyż łatwiej generuje produkt PCR. Jednak, w odróżnieniu od analizy genu *hsp65* wymaga użycia nie dwóch lecz trzech enzymów restrykcyjnych.

Słowa kluczowe: *Mycobacterium kansasii*; *hsp65*; *rpoβ*; typowanie genetyczne