

**Wykrywanie i charakterystyka mutacji związanych z opornością na izoniazyd
w szczepach klinicznych *Mycobacterium tuberculosis* o wielolekooporności typu MDR**

**Screening and characterization of mutations associated with isoniazid resistance in
multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates**

Tomasz Jagielski¹, Michał Kamiński¹, Magdalena Grzeszczuk¹, Katarzyna Roeske¹,
Radosław Stachowiak¹, Agnieszka Napiórkowska², Ewa Augustynowicz-Kopeć², Zofia
Zwolska², Jacek Bielecki¹

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

²Zakład Mikrobiologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Wprowadzenie. Uważa się, że kluczowe znaczenie w kształtowaniu oporności prątków gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*) na izoniazyd (INH) mają mutacje w dwóch genetycznych loci, tj. *katG* oraz *inhA*. Geny te kodują odpowiednio katalazę-peroksydazę, enzym warunkujący powstanie aktywnego farmakologicznie metabolitu INH oraz reduktazę enoilo-ACP, enzym uczestniczący w biosyntezie kwasów mykoloowych, charakterystycznego składnika ściany komórkowej *Mycobacterium*. Badania dotyczące oceny występowania mutacji w genach *katG* i *inhA* w szczepach klinicznych *M. tuberculosis* są podstawą opracowania nowoczesnych strategii diagnostyki molekularnej INH-oporności.

Celem pracy było zbadanie występowania mutacji w genach *katG* oraz *inhA* w szczepach *M. tuberculosis* o wielolekooporności typu MDR.

Materiał i metody. Badanie objęło 40 szczepów wyizolowanych od chorych na gruźlicę MDR w Polsce w 2004 roku. Mutacje wykrywano analizując sekwencje genów *katG* i *inhA* (wraz z sekwencją promotorową) w relacji do sekwencji obu genów w szczepie referencyjnym *M. tuberculosis* H₃₇Rv, korzystając z aplikacji TubercuList (<http://genolist.pasteur.fr/TubercuList/>). Wyniki sekwencjonowania interpretowano w kontekście miana oporności na INH.

Wyniki. Mutacje w genie *katG* wykryto w 37 (92.5%) szczepach. Najczęstszą mutacją była substytucja w kodonie 315, którą stwierdzono u 30 (75%) szczepów. Trzy szczepy wykazywały zmianę w kodonie 463, 2 – w kodonie 131, inne 2 – w kodonie 234. Mutacje w kodonach 68, 91, 126 i 194 dotyczyły pojedynczych szczepów. Dla 35 (87.5%) szczepów wartości MIC INH mieściły się w zakresie 1–10 µg/mL. Dwa szczepy, w których wykryto

pojedyncze mutacje typu *nonsens* charakteryzowały się najwyższym mianem oporności na INH (MIC>60 µg/mL).

Mutacje w genie *inhA* wykryto jedynie w 6 (15%) szczepach; każdy z tych szczepów posiadał pojedynczą mutację w regionie promotorowym, a 2 szczepy miały dodatkowo mutację w regionie kodującym genu.

Wnioski. Obecność mutacji w kodonie 315 genu *katG* może służyć jako marker oporności na INH. Wykazane substytucje w genach *katG* oraz *inhA* nie wpływają na miano oporności na INH. Wysokie miano INH-oporności związane jest z mutacjami typu *nonsens*.