

MAGDALENA ANTCZAK, KAROLINA DADURA, KAROLINA LEWANDOWSKA,  
JAROSŁAW DZIADEK

Pracownia Genetyki i Fizjologii *Mycobacterium*  
Instytut Biologii Medycznej PAN  
Lodowa 106, 93-232 Łódź  
E-mail: [jdziadek@cbm.pan.pl](mailto:jdziadek@cbm.pan.pl)

## PRĄTKI NIEGRUŻLICZE – DLACZEGO TAK TRUDNO LECZYĆ MYKOBAKTERIOZY?

### WSTĘP

Choroby zakaźne coraz częściej związane są z obecnością mikroorganizmów oportunistycznych, niegroźnych dla większości zdrowych ludzi, stanowiących jednocześnie często śmiertelne zagrożenie dla osób o obniżonej odporności wynikającej z wieku, prowadzonej terapii immunosupresyjnej (np. po przeszczepach) czy spowodowanej zakażeniem wirusem nabytego zespołu braku odporności HIV. Do grupy patogenów oportunistycznych zaliczamy również większość przedstawicieli rodzaju *Mycobacterium*, określanych jako prątki inne niż *Mycobacterium tuberculosis* (ang. mycobacteria other than tuberculosis, MOTT), nazywane również prątkami niegruźliczymi (ang. nontuberculous mycobacteria, NTM) i prątkami atypowymi. Prątki NTM są szeroko rozpowszechnione w środowisku, występują w wilgotnych glebach, bagnach, strumieniach oraz rzekach, ale także na różnego rodzaju powierzchniach użytkowych i spręście stanowiąc źródło kontaminacji laboratoryjnych w procesie diagnostyki lub zakażeń szpitalnych (FALKINHAM 2002, 2016). Prątki niegruźlicze, mimo iż znane od czasów Roberta Kocha, początkowo były uznawane za zanieczyszczenia. Ich znaczenie zostało dopiero niedawno docenione wraz z postępem wiedzy dotyczącej tych drobnoustrojów. Dotychczas opisano ponad 150 gatunków prątków niegruźliczych i stale obserwuje się wzrost liczby nowo zidentyfikowanych NTM. Prątki MOTT można klasyfikować z wykorzystaniem podziału Ru-

nyona. Według tej klasyfikacji prątki atypowe podzielono na 4 grupy, w zależności od zdolności do wytwarzania barwnika i szybkości wzrostu. Do pierwszej grupy Runyona należą prątki fotochromogenne, czyli wytwarzające barwnik tylko w obecności światła (np. *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. simiae*, *M. asiaticum*, *M. genavense*). Drugą grupę stanowią prątki skotochromogenne, wytwarzające barwnik zarówno w obecności światła, jak i w ciemności (np. *M. xenopi*, *M. scrofulaceum*, *M. szulgai*, *M. gordone*, *M. cookii*). Trzecią grupę tworzą prątki MOTT niewytwarzające barwnika - niefotochromogenne (np. *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. malmoense*, *M. xenopi*, *M. ulcerans*, *M. terre complex*, *M. triviale*, *M. gastri*, *M. nonchromogenicum*). Czwarta grupa Runyona zawiera prątki szybko-rosnące (np. *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. vaccae*, *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. flavescens*) (WILIŃSKA i SZTURMOWICZ 2010). Większość z gatunków prątków niegruźliczych jest mało patogenna dla człowieka, jednak 25 gatunków NTM sklasyfikowano jako patogeny będące ważnym czynnikiem zakażeń ludzi (VAN INGEN 2013). Bakterie te są zdolne do wywoływania mykobakteriozy, choroby o szerokim zakresie objawów klinicznych (JARZEMBOWSKI i YOUNG 2008). W przeciwieństwie do prątków powodujących gruźlicę, nie wykazano dotychczas transmisji NTM pomiędzy zwierzęciem a człowiekiem oraz człowiekiem a człowiekiem (TANAKA i współaut. 2000).

## EPIDEMIOLOGIA

W ciągu ostatnich dwóch dekad, na całym świecie wzrasta liczba doniesień naukowych dotyczących zakażeń prątkami niegruźliczymi (BEHR i FALKINHAM 2009, HERNÁNDEZ-GARDUÑO i ELWOOD 2010). Przeprowadzone w 2007 r. przez KHAN i współaut. testy skórne z użyciem antygenów NTM dowiodły, że 1 na 6, a nie jak 30 lat wcześniej 1 na 9, Amerykanów, miało kontakt ze szczepami NTM (SCHLUGER 2007).

Zakażenia spowodowane przez gatunki NTM występują w większości krajów uprzemysłowionych. Według Amerykańskiego Towarzystwa Chorób Klatki Piersiowej (ang. American Thoracic Society, ATS), w obszarach zurbanizowanych częstość występowania zakażeń spowodowanych przez MOTT waha się od 1,0 do 1,8 przypadków na 100.000 osób (GRIFFITH i współaut. 2007).

W Polsce, w latach 1971–1974 przeprowadzono pierwsze badania dotyczące częstości występowania zakażeń prątkami NTM. Przeanalizowano wyniki ponad 700.000 chorych, którzy byli zarejestrowani w poradniach przeciwgruźliczych w województwie katowickim, warszawskim i Łodzi. Określono, że częstość występowania zakażeń spowodowanych przez prątki niegruźlicze w 1971 r. wynosiła 1,4/100.000 osób, natomiast w 1974 r. wynosiła 4,3/100.000 osób (WILIŃSKA i SZTURMOWICZ 2010).

Udział poszczególnych czynników etiologicznych zakażeń prątkami niegruźliczymi różni się dla różnych regionów świata. Najczęściej izolowanymi NTM od chorych na całym świecie jest *M. avium complex* (MAC) (47% wszystkich izolatów), a kolejnymi *M. gordonae* (11%), *M. xenopi* (8%), *M. fortuitum complex* (7%), *M. kansasii* (4%) i *M. abscessus* (3%). Te sześć gatunków stanowi 80% wszystkich identyfikowanych prątków niegruźliczych od pacjentów. W Polsce najczęściej izolowanym NTM od chorych jest *M. kansasii* stanowiący 35% wszystkich zakażeń (HOEFSLOOT i współaut. 2013).

Mykobakterioza może przyjmować różne postaci kliniczne. Najczęstszą z nich jest zakażenie układu oddechowego, nieco rzadziej występują infekcje innych tkanek, m.in. zapalenia węzłów chłonnych, choroby skóry, tkanek miękkich i kości.

## MYKOBAKTERIOZA PŁUC

Mykobakterioza układu oddechowego często występuje u osób ze zmianami strukturalnymi w płucach, obturacyjną chorobą płuc, rozstrzeniemiem oskrzeli, mukowiscydozą, proteinozą pęcherzyków płucnych i zaburzeniem motoryki przełyku (GRIFFITH i współ-

aut. 2007). Objawy kliniczne mikobakteriozy płuc nie są charakterystyczne. U większości pacjentów występuje osłabienie, zmęczenie, stany podgorączkowe, duszność, ból w klatce piersiowej, chudnięcie, a także przewlekły lub nawracający kaszel, często z wykrztuszaniem wydzieliny. Obraz radiologiczny mykobakteriozy płuc może przybierać różne formy. Najczęściej występuje w postaci zmian włóknisto-jamistych lub zmian guzkowych z rozstrzeniem oskrzeli (WILIŃSKA i SZTURMOWICZ 2010).

## MYKOBAKTERIOZA POZAPŁUCNA

Najbardziej rozpowszechnionym schorzeniem spowodowanym przez prątki NTM u dzieci pomiędzy 1 a 5 rokiem życia jest zapalenie węzłów chłonnych. Najprawdopodobniej ma to związek z tym, że dzieci w tym wieku mają częsty kontakt z zanieczyszczoną szczepami NTM glebą i wodą. Za około 80% przypadków zapaleń węzłów chłonnych spowodowanych przez NTM w Stanach Zjednoczonych odpowiada *M. avium complex* (BROWN-ELLIOTT i współaut. 2012). Dla większości zapaleń węzłów chłonnych spowodowanych przez NTM, które występują u pacjentów immunokompetentnych, stosuje się całkowite wycięcie chirurgiczne zajętych węzłów (GRIFFITH i współaut. 2007).

Gatunkami NTM, które najczęściej powodują zakażenia skóry, tkanek miękkich i kości w USA są: *M. abscessus*, *M. avium complex*, *M. chelonae*, *M. haemophilum*, *M. immunogenum*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. malmoense*, *M. ulcerans*, *M. nonchromogenicum*, *M. smegmatis*, *M. szulgai* i *M. terrae complex* (GRIFFITH i współaut. 2007). Najczęstszą przyczyną zakażeń szpitalnych NTM skóry i tkanek miękkich są gatunki prątków szybko rosnących (ang. rapidly growing mycobacterium, RGM): *M. fortuitum*, *M. abscessus* albo *M. chelonae*. Tego typu infekcje szpitalne związane są z: długotrwałą terapią dożylną, stosowaniem cewnika otrzewnowego, występowaniem powikłań po iniekcji, zabiegach chirurgicznych (np. liposukcji) oraz po operacjach rogówki (GRIFFITH i współaut. 2007).

## CZYNNIKI RYZYKA WYSTĄPIENIA ZAKAŻEŃ WYWOŁANYCH PRZEZ NTM

Badania przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych i Europie wykazały zwiększoną częstość izolacji prątków NTM z układu oddechowego chorych na mukowiscydozę (ang. cystic fibrosis, CF). Ponadto, obecność prątków atypowych w płwocinie pacjentów z CF wpływa na zwiększenie progresji tej choroby (GRIFFITH i współaut. 2007).

Czynnikiem predysponującym do zakażeń wywołanych przez prątki NTM jest mutacja genetyczna powodująca ciężkie niedobory odporności, skorelowana z dysfunkcją receptora CXCR4 (CD184) dla chemokiny SDF-1. Ten defekt immunologiczny charakteryzuje się m.in. limfopenią komórek B i poważną wadą komórek NK (DONCKER i współaut. 2011).

Czynnik martwicy nowotworu  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) jest cytokiną prozapalną, która bierze udział przede wszystkim w apoptozie, prowadzi do wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia wolnych rodników, przyciąga neutrofile, pobudza organizm do produkcji białek ostrej fazy. Wykazano, że istnieje odwrotna korelacja pomiędzy poziomem TNF- $\alpha$  a występowaniem zakażeń NTM. Pacjenci otrzymujący inhibitory TNF są narażeni na zwiększone ryzyko zakażeń, w tym spowodowanych przez prątki niegruźlicze (ROCCO i IRANI 2011).

Działanie IFN- $\gamma$  i IL-12 jest nierozłącznie związane z patogenezą chorób autoimmunologicznych, rozwojem nowotworów, jak i zabijaniem patogenów wewnątrzkomórkowych, takich jak te z rodzaju *Mycobacterium*. Wykazano dodatnią korelację pomiędzy występowaniem u pacjentów wadliwie funkcjonujących szlaków metabolicznych dla IFN- $\gamma$  i IL-12 oraz zakażeniem prątkami o ciężkim przebiegu (BROWN-ELLIOTT i współaut. 2012).

Kolejnym czynnikiem zwiększającym ryzyko rozwoju mykobakteriozy jest zakażenie wirusem HIV. Szczepy MOTT, takie jak *M. avium complex*, wykształciły mechanizmy umożliwiające im przetrwanie i utrzymanie zjadliwości w organizmie gospodarza. Jednym z tych mechanizmów jest zdolność do ucieczki z fagolizosomu. Ciężka immunosupresja, taka jak u pacjentów z AIDS, sprzyja przetrwaniu prątków wewnątrz organizmu i rozwinęciu pełnoobjawowej choroby (CHASTELLIER i współaut. 2009).

## DIAGNOSTYKA

W celu prawidłowego rozpoznania mykobakteriozy należy zastosować się do kryteriów diagnostycznych opracowanych przez Amerykańskie Towarzystwo Chorób Klatki Piersiowej i Amerykańskie Towarzystwo Chorób Zakaźnych (ang. Infectious Disease Society of America, IDSA) opublikowanych w 2007 r. Wynika z nich, że dla zdiagnozowania pacjenta zakażonego prątkami atypowymi układu oddechowego konieczne jest spełnienie zarówno kryteriów klinicznych, radiologicznych, jak i mikrobiologicznych. Podejrzanie infekcji dróg oddechowych powinno zostać potwierdzone poprzez badanie radiologiczne klatki piersiowej lub wysokiej rozdzielczości tomografię komputerową, analizie

co najmniej trzech prób płwocin pod względem prątków kwasoopornych, wykluczenie gruźlicy oraz innych chorób lub zaburzeń. W niektórych skomplikowanych przypadkach mogą być wymagane również bardziej inwazyjne zabiegi, m.in. bronchoskopia (GRIFFITH i WSPÓLAUT. 2007, LAKE i współaut. 2016).

Podstawowe badanie diagnostyczne potwierdzające obecność prątków obejmuje ocenę bakterioskopową, gdzie wykorzystuje się barwienie metodą Ziehl-Neelsena lub barwienie fluorochromowe. W celu odróżnienia prątków atypowych od gruźliczych stosuje się test niacynowy, polegający na wykrywaniu niacyny poprzez jej reakcje barwną z chlorkiem cyjanku lub test immunochromatograficzny, wykrywający antygen MPT64. Pozytywne wyniki tych testów świadczą o obecności *M. tuberculosis*. Ponadto, prowadzi się hodowle selektywną dla prątków na podłożu płynnym i stałym w celu oceny szybkości wzrostu, morfologii kolonii i zdolności do wytwarzania pigmentu (KILBURN i KUBICA 1968, WILIŃSKA i SZTURMOWICZ 2010, KUMAR i współaut. 2011). Ze względu na różną patogenność i zjadliwość prątków atypowych konieczna jest identyfikacja gatunku wyhodowanych prątków. Do niedawna do tego celu służyła analiza chromatograficzna kwasów mykolewowych metodą wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (ang. high performance liquid chromatography, HPLC), której wynikiem był charakterystyczny dla poszczególnego gatunku wzór elucyjny. Jednakże stosowanie tej techniki jest związane z wysokimi kosztami utrzymania aparatury i koniecznością wykorzystywania toksycznych rozpuszczalników organicznych. Rozwój biologii molekularnej i opracowanie nowych testów diagnostycznych pozwala na szybsze odróżnienie prątków atypowych od prątków gruźliczych i dokładniejszą identyfikację ich gatunków. Diagnostyczne metody molekularne opierają się na amplifikacji kwasów nukleinowych wybranych odcinków genomu, a następnie ich odwrotnej hybrydyzacji ze specyficzną sondą genetyczną. Wraz z rozwojem nowoczesnych technik identyfikacji wzrasta czułość wykrywania prątków, jak i liczba odkrytych nowych gatunków (WILIŃSKA i SZTURMOWICZ 2010, BAKUŁA i współaut. 2014, BRZEZIŃSKA i współaut. 2015).

Wykrycie prątków atypowych w materiale od pacjenta, bez spełnienia kryteriów klinicznych i radiologicznych, nie świadczy jednoznacznie o chorobie i może wynikać z zanieczyszczenia pochodzącego ze środowiska lub kolonizacji dróg oddechowych. W związku z tym, przy pobieraniu materiału do badań należy unikać kontaktu z wodą wodociagową, w której mogą znajdować się prątki niegruźlicze, a pacjenta poddać dal-

szej obserwacji do momentu rozpoznania lub wykluczenia mykobakteriozy. Niemniej jednak, potwierdzenie mykobakteriozy nie zobowiązuje do rozpoczęcia leczenia. W każdym przypadku należy ocenić czy potencjalne korzyści dla pacjenta przewyższają ryzyko wynikające z zastosowania terapii. Kuracja mykobakteriozy jest trudna, długotrwała (trwa dłużej niż w przypadku gruźlicy) i wymaga zastosowania wielolekowej terapii, a dobór odpowiednich leków zależy od gatunku prątka, zaawansowania choroby i stanu ogólnego pacjenta. Ponadto, obowiązuje kontynuacja leczenia przez okres jednego roku od momentu odprątkowania, tym samym wydłużając czas leczenia do 18–24 miesięcy (GRIFFITH i współaut. 2007, PIERSIMONI i SCARPARO 2009, WILIŃSKA i SZTURMOWICZ 2010, NALEPA i współaut. 2011, BROWN-ELLIOTT i współaut. 2012, BAKUŁA i współaut. 2014).

### LEKOOPORNOŚĆ

Nadmierne i nieodpowiednie dawkowanie antybiotyków przyczyniło się do wzrostu oporności szczepów *Mycobacterium* na wiele leków oraz na różne środki dezynfekcyjne. Oporność tych bakterii na odkażalniki takie jak chlor, jest jednym z czynników przyczyniającym się do skolonizowania systemów dystrybucji wody pitnej, co z kolei pozwala na dalsze rozprzestrzenianie się tych mikroorganizmów w środowisku (SALEEB i OLIVIER 2010, FARIA i współaut. 2015).

Z powodu braku charakterystycznych i jednoznacznych objawów klinicznych dla mykobakteriozy, występujące objawy takie jak kaszel (przewlekły lub nawracający), zmęczenie, osłabienie i stan podgorączkowy często maskują zakażenia prątkami atypowymi i wynikają z chorób współistniejących. Natomiast nielezione infekcje i opóźnienie z trafną diagnozą, które może trwać kilka miesięcy a nawet lat, prowadzi do kuracji wieloma różnymi antybiotykami, a co za tym idzie powstaniem nowych szczepów lekoopornych, trudniejszych do eradykacji (GRIFFITH i współaut. 2007, WILIŃSKA i SZTURMOWICZ 2010, CANDIDO i współaut. 2014).

Większość patogennych szczepów *Mycobacterium*, należących do MOTT, wykazuje naturalną oporność na izoniazyd, wynikającą z braku wewnątrzkomórkowej aktywacji tego proleku, oraz wankomycynę, powiązaną z przepuszczalnością ściany komórkowej (BROWN-ELLIOTT i współaut. 2012). Natomiast najrzadziej spotykane są gatunki odporne na klarytromycynę i amikacynę. Spośród prątków atypowych największą oporność na antybiotyki przejawiają szczepy *M. abscessus*, *M. chelonae* i *M. simiae* (COWMAN i współaut.

2016). Przedstawiciele grupy *M. abscessus* nie są podatni na działanie doksycyliny, cyprofloksacyny i moksyflokscacyny (BROWN-ELLIOTT i współaut. 2012), a co więcej, podgatunek *M. abscessus bolletii* okazuje się być odporny na działanie klarytromycyny (FARIA i współaut. 2015).

Przeważająca część szczepów należących do *M. avium complex* wykazuje oporność na streptomycynę, izoniazyd, rifampicynę i cyprofloksacynę (CANDIDO i współaut. 2014, COWMAN i współaut. 2016). Zaobserwowano również szczepy charakteryzujące się opornością na cykloserynę oraz amikacynę (MIRSAEIDI i współaut. 2014).

Większość szczepów *M. kansasii* wykazuje oporność *in vitro* na izoniazyd, streptomycynę i kwas p-aminosalicylowy, jednak badania *in vitro* nie zawsze znajdują potwierdzenie w obserwacji klinicznej. W przypadku rzadko występującej oporności na ryfampicynę, która stanowi podstawowy lek przeciwko mykobakteriozie spowodowanej *M. kansasii*, zwykle powiązana jest ona z opornością na izoniazyd i etambutol (BROWN-ELLIOTT i współaut. 2012, BAKUŁA i współaut. 2014, HELGUERA-REPETTO i współaut. 2014, COWMAN i współaut. 2016).

Szczepy *M. marinum* wykazują oporność na działanie takich terapeutyków jak: izoniazyd i kwas p-aminosalicylowy (FOL i współaut. 2011). Połowa szczepów *M. xenopi* wykazuje oporność na izoniazyd i etambutol (COWMAN i współaut. 2016).

Ponadto, wysoką opornością na większość stosowanych antybiotyków cechują się szczepy *M. malmoense* wykazujące wrażliwość na etambutol, cykloserynę, ryfabutyne, amikacynę, klofazyminę i, w mniejszym stopniu, na cyprofloksacynę (COWMAN i współaut. 2016). Szczepy *M. fortuitum* charakteryzują się opornością na makrolidy, która może zostać niezauważona przy zbyt krótkim czasie inkubacji hodowli (3 dni) (SALEEB i OLIVIER 2010, BROWN-ELLIOTT i współaut. 2012).

### MECHANIZMY OPORNOŚCI

W oporności prątków na leki biorą udział mechanizmy niespecyficzne, często podobne do tych, które występują u innych bakterii, ale także mechanizmy specyficzne, charakterystyczne dla mykobakterii, a nawet ich konkretnych gatunków. Inaczej mówiąc, oporność można podzielić na naturalną, czyli taką, którą determinuje genom bakteryjny, bądź nabytą, będącą efektem zmian mutacyjnych. Za oporność naturalną odpowiada między innymi bogata w lipidy ściana komórkowa prątków stanowiąca pierwszą barierę, z którą spotyka się lek. Znaczenie w utrzymaniu hydrofobowości ściany mają

między innymi produkty genów *fbpA* i *asnB* *M. smegmatis*, genu *kasB* *M. marinum*, genu *pks12* *M. avium* oraz dwukomponentowy system transdukcji sygnału *mtrAB* *M. smegmatis* i *M. avium*. Zaburzenie funkcjonowania tych genów skutkuje wzrostem wrażliwości tych gatunków na antybiotyki lipofilowe (ryfamycyny, makrolidy, ciprofloksacyne, wankomycyny, imipenem czy penicyliny) (GAO i współaut. 2003; PHILALAY i współaut. 2004; NGUYEN i współaut. 2005, 2010; REN i LIU 2006; LI i współaut. 2010; VAN INGEN i współaut. 2012).

## OPORNOŚĆ NATURALNA

Elementem ściany mającym znaczenie w oporności są poryny determinujące wrażliwość na niektóre leki hydrofilowe i hydrofobowe. W badaniach na niegruźliczych prątkach skupiono się przede wszystkim na porynach Msp *M. smegmatis*. Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że mutant *M. smegmatis* pozbawiony poryn MspA i MspC wskutek usunięcia kodujących je genów, charakteryzuje się zwiększoną opornością na antybiotyki. Badania wskazują na obecność podobnych poryn także u *M. avium*, *M. chelonae* czy *M. fortuitum* (DANILCHANKA i współaut. 2008).

Zjawiskiem odgrywającym ważną rolę w naturalnej oporności jest wewnątrzkomórkowa biotransformacja leku, prowadząca do zmniejszenia aktywności chemioterapeutyków nawet stukrotnie. U szybko rosnących prątków za osłabienie działania chinolonów odpowiadają reakcje acetylacji i nitrozowania (ADJEI i współaut. 2007). W przypadku antybiotyków aminoglikozydowych znaczenie mają tu O-nukleotydylotransferazy, O-fosfotransferazy i N-acetylotransferazy aminoglikozydowe. U *M. avium* i *M. abscessus* zidentyfikowano odpowiednio jeden i pięć genów kodujących potencjalne fosfotransferazy (NESSAR i współaut. 2011, BROWN-ELLIOTT i współaut. 2012). Za oporność wobec penicylin, cefalosporyn i karbapenemów odpowiadają z kolei bakteryjne  $\beta$ -laktamazy hydrolizujące wiązania  $\beta$ -laktamowe w cząsteczkach leku. Z przeprowadzonych badań wynika, że w genomie *M. abscessus* oraz *M. avium* znajduje się odpowiednio dziewięć i sześć genów kodujących  $\beta$ -laktamazy, podczas gdy u *M. tuberculosis* jedynie dwa (FLORES i współaut. 2005, BROWN-ELLIOTT i współaut. 2012). Jednocześnie przypuszcza się, że znaczenie w oporności na cefalosporyny i karbapenemy ma modyfikacja mykobakteryjnej transpeptydazy (na skutek konwersji D,L-transpeptydazy do D,D-transpeptydazy) utrudniająca antybiotekom blokowanie aktywności tego enzymu w komórce (BROWN-

-ELLIOTT i współaut. 2012). U atypowych prątków oporność na izoniazd, lek pierwszej linii w terapii gruźlicy, determinuje przede wszystkim brak enzymu KatB aktywującego prolek do formy aktywnej, który w postaci pierwotnej nie działa na bakterie (WISEMAN i współaut. 2010). Z kolei wrażliwość na tetracyklinę determinują mykobakteryjne białka chroniące rybosomy, kodowane przez geny *otr(A)* i *tet(M)*. Nie jest jednak jasne, czy biorą one udział w oporności naturalnej czy nabytej (PANG i współaut. 1994, ROSSI-FEDELE i współaut. 2006, BROWN-ELLIOTT i współaut. 2012). Podejrzewa się, że u atypowych prątków funkcjonuje także ADP-rybozylotransferaza nadająca oporność na ryfamycynę, jednakże aktywność tego enzymu zbadano do tej pory tylko u *M. smegmatis* (BAYSAROWICH i współaut. 2008, STALLINGS i współaut. 2011).

Do naturalnej oporności należą także mechanizmy indukowane wskutek kontaktu mykobakterii z lekiem. Przede wszystkim u *M. abscessus* i *M. fortuitum*, ale także u innych NTM obserwuje się ekspresję genów *erm* kodujących metylazy, rolą których jest metylacja 23S rRNA uniemożliwiająca wiązanie makrolidów do rybosomów. Ten sam mechanizm występuje także u *M. tuberculosis* (NASH i współaut. 2009, BROWN-ELLIOTT i współaut. 2015). Natomiast u *M. smegmatis* podczas terapii ryfamycyną indukcji ulega białko RbpA, które wiążąc się z polimerazą RNA, utrudnia tym samym przyłączenie się leku do enzymu (DEY i współaut. 2010). Oporność wobec wielu grup antybiotyków nadają obecne u większości MOTT pompy efluksowe takie jak: Tap, TetV, LfrA i EfpA (LIU i współaut. 1996, LOUW i współaut. 2009, KYSELKOVÁ i współaut. 2012). Istotna w oporności na fluorochinolony jest z kolei obecna u *M. smegmatis* pompa kodowana przez gen *pstB* (BHATT i współaut. 2000). Ponadto wiadomo, że w indukcji ekspresji genów *erm* i *tap* bierze udział występujący nie tylko u mykobakterii aktywator transkrypcji WhiB7, zaangażowany w pobudzenie różnych mechanizmów oporności (RAMÓN-GARCÍA i współaut. 2013).

## OPORNOŚĆ NABYTA

Równoległe z mechanizmami oporności naturalnej, funkcjonuje oporność nabyta. Należy do niej szereg mutacji w genach zaangażowanych w metabolizm leków. Obserwowane u atypowych prątków mutacje dotyczą konkretnych genów, charakterystycznych dla stosowanego antybiotyku. Za niepowodzenie terapii w przypadku etambutolu odpowiadają najczęściej mutacje w genie *embB* kodującym transferazę arabinozylową, enzym

docelowy dla leku. Inne mutacje mogą dotyczyć także genu *embA* i *embC*, jednak nie każdy z nich jest obecny u wszystkich mykobakterii (BELANGER i współaut. 1996, JAIN i współaut. 2008). Wydaje się, że podobnie jak u *M. tuberculosis*, mutacja w genie *inhA* i *katG* determinuje oporność *M. kansasii* na izoniazyd (MUSSEY i współaut. 1996). Z kolei zmniejszenie wrażliwości na antybiotyki aminoglikozydowe jest zazwyczaj efektem zmiany w sekwencjach genu *rpsL*, *rrs* oraz podjednostce 30S rybosomu, która stanowi cząsteczkę docelową dla tej grupy związków (NAIR i współaut. 1993, SREEVATSAN i współaut. 1996, NESSAR i współaut. 2011, BROWN-ELLIOTT i współaut. 2012). Zaobserwowano, że za wysoki poziom oporności względem aminoglikozydów takich jak amikacyna czy kanamycyna, u *M. abscessus* i *M. chelonae* odpowiada mutacja w kodonie 1408 genu kodującego 16S rRNA (PRAMANANAN i współaut. 1998). Oporność na makrolidy, ketolidy, linkozamidy, ale także streptograminę B, warunkują mutacje w genie 23S rRNA, co odnotowano między innymi u *M. abscessus*, *M. chelonae*, *M. fortuitum* i *M. kansasii* (MEIER i współaut. 1994, NASH i INDERLIED 1995, PFISTER i współaut. 2004). Zmiany w innym regionie tego samego genu kodującego 23S rRNA determinują oporność bakterii na oksazolidynony, nową klasę związków aktywnych wobec mykobakterii, zakłócających poprawne funkcjonowanie peptydylotransferazy (LONG i współaut. 2010). Wrażliwość na ryfamycyny, które hamują aktywność prokariotycznej polimerazy RNA, warunkują mutacje w genie *rpoB* kodującym podjednostkę  $\beta$  tego enzymu. Modyfikacje tych sekwencji obserwuje się u *M. avium complex*, *M. kansasii*, *M. leprae* czy *M. ulcerans*, podobnie jak i u *M. tuberculosis* (KLEIN i współaut. 2001, KONGPETCHSATTI i współaut. 2006, OBATA i współaut. 2006, BECKLER i współaut. 2008, MATSUOKA i współaut. 2008, PALUCH-OLEŚ i współaut. 2009). Tymczasem aktywność fluorochinolonów, które działają poprzez hamowanie aktywności gyrazy DNA odpowiedzialnej za stan topologii DNA (wprowadza negatywne superskręty), jest regulowana mutacjami w genie *gyrA* (GUILLEMIN i współaut. 1999).

#### TWORZENIE BIOFILMU PRZEZ PRĄTKI ATYPOWE

Jedną z cech mykobakterii zwiększającą oporność na antybiotyki jest zdolność do tworzenia biofilmu. Ta wielowarstwowa struktura, złożona z wielu przylegających do siebie komórek bakterii, kwasów nukleinowych, białek i polisacharydów w postaci śluzu, umożliwia sprawną adapta-

cję do różnorodnych warunków środowiska oraz inaktywuje leki, opóźnia czy nawet zapobiega penetracji antybiotyku. Utworzenie dojrzałego biofilmu poprzedza odwracalne, a następnie nieodwracalne przywiązanie się komórek do powierzchni biologicznych bądź abiotycznych. Przylegające do siebie w warstwie biofilmu bakterie mają tendencję do horizontalnego transferu genów, skutkiem czego jest zwiększenie częstości występowania mutacji w genach odpowiedzialnych za oporność na antybiotyki. Mutacje te mogą prowadzić do indukcji enzymów, tworzenia się pomp efluksowych czy też modyfikacji miejsc docelowych dla leków. Innym mechanizmem chroniącym bakterie przed lekami działającymi na aktywnie replikujące się komórki jest osłabienie, a nawet zahamowanie wzrostu bakterii tworzących biofilm (SOUSA i współaut. 2015). Znaczenie w oporności ma także obecność na powierzchni biofilmu zewnątrzkomórkowego DNA (eDNA). Prowadzone w ostatnim czasie badania na biofilmach *M. fortuitum* i *M. chelonae* pokazały, że efektywność terapii gatifloksacyną znacząco zwiększa jednoczesne zastosowanie DNazy z antybiotykiem (AUNG i współaut. 2016).

Szacuje się, że większości infekcji towarzyszy stadium biofilmu. W literaturze opisuje się błony tworzone przez *M. avium* (ROSE i współaut. 2015), *M. fortuitum*, *M. chelonae* (AUNG i współaut. 2016), *M. smegmatis* i *M. abscessus*. Niewątpliwym problemem stanowi zdolność prątków atypowych do tworzenia biofilmu na urządzeniach medycznych, implantach czy narzędziach chirurgicznych. Zaobserwowano, że *M. fortuitum* wykazuje wysokie powinowactwo do stali nierdzewnej, chlorku winylu i poliwęglanu (FARIA i współaut. 2015).

#### PODSUMOWANIE

W ciągu ostatnich dwudziestu lat odnotowano istotnie zwiększoną częstość występowania zakażeń prątkami niegruźliczymi, która jest spowodowana m.in. zmianami środowiskowymi oraz coraz częstszym stosowaniem środków immunosupresyjnych. Mimo rozwoju metod diagnostycznych, posługujących się m.in. technikami biologii molekularnej pozwalającymi na szybsze odróżnienie prątków atypowych od prątków gruźliczych i dokładniejszą identyfikację ich gatunków, podjęcie decyzji o leczeniu nie zawsze jest jednoznaczne, a sama terapia jest trudna i długotrwała. Trudności terapeutyczne wynikają z występowania licznych mechanizmów oporności prątków atypowych oraz zdolności do tworzenia biofilmów. Istnieje zatem potrzeba prowadzenia dalszych badań mających na celu dokładniejsze poznanie me-

chanizmów oporności prątków niegruźliczych oraz optymalizację aktualnej, nie zawsze skutecznej terapii mykobakterioz.

#### PODZIĘKOWANIA

Badania mechanizmów związanych z lekoopornością prątków są finansowane w IBM PAN z grantu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki 2014/15/B/NZ7/01002.

Autorzy gorąco dziękują Pani prof. dr hab. Ewie Augustynowicz-Kopec z IGiChP za życzliwe uwagi i korektę manuskryptu.

#### Streszczenie

Zakażenia prątkami niegruźliczymi stanowią w dzisiejszych czasach znaczący problem. Infekcje te dotyczą najczęściej osób z obniżoną odpornością. Atypowe prątki są często przyczyną mykobakteriozy płucnej, ale także pozapłucnej, w przypadkach kiedy infekcja rozwija się w obrębie skóry, tkanek miękkich czy kości. Nowoczesna diagnostyka wykorzystująca narzędzia biologii molekularnej pozwala na szybką identyfikację gatunku MOTT, jednakże wykrycie atypowych prątków nie zawsze świadczy o mykobakteriozie i konieczności terapii, która ze względu na liczne mechanizmy oporności MOTT może okazać się nieskuteczna. Interesującym zjawiskiem jest także zdolność prątków atypowych do tworzenia biofilmów, trójwymiarowych struktur wielokrotnie zmniejszających wrażliwość tych drobnoustrojów na antybiotyki.

#### LITERATURA

- ADJEI M. D., HEINZE T. M., DECK J., FREEMAN J. P., WILLIAMS A. J., SUTHERLAND J. B., 2007. *Acetylation and nitrosation of ciprofloxacin by environmental strains of mycobacteria*. *Can. J. Microbiol.* 53, 144-147.
- AUNG T. T., YAM J. K., LIN S., SALLEH S. M., GIVSKOV M., LIU S., LWIN N. C., YANG L., BEURMAN R. W., 2016. *Biofilms of Pathogenic Nontuberculous Mycobacteria Targeted by New Therapeutic Approaches*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 60, 24-35.
- BAKUŁA Z., SAFIANOWSKA A., NOWACKA-MAZUREK M., BIELECKI J., JAGIELSKI T., 2014. *Mycobacterium kansasii: Biologia Patogenu Oraz Cechy Kliniczne i Epidemiologiczne Zakażeń*. *Post. Mikrobiol.* 53, 241-254.
- BAYSAROWICH J., KOTEVA K., HUGHES D. W., EJIM L., GRIFFITHS E., ZHANG K., JUNOP M., WRIGHT G. D., 2008. *Rifampicin antibiotic resistance by ADP-ribosylation: Structure and diversity of Arr*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 4886-4891.
- BECKLER D. R., ELWASILA S., GHOBRIAL G., VALENTINE J. F., NASER S. A., 2008. *Correlation between rpoB gene mutation in Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis and clinical rifabutin and rifampicin resistance for treatment of Crohn's disease*. *World J. Gastroenterol.* 14, 2723-2730.
- BEHR M. A., FALKINHAM J. O., 2009. *Molecular epidemiology of nontuberculous mycobacteria*. *Future Microbiol.* 4, 1009-1020.
- BELANGER A. E., BESRA G. S., FORD M. E., MIKUSOVÁ K., BELISLE J. T., BRENNAN P. J., INAMINE J. M., 1996. *The embAB genes of Mycobacterium avium encode an arabinosyl transferase involved in cell wall arabinan biosynthesis that is the target for the antimycobacterial drug ethambutol*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 11919-11924.
- BHATT K., BANERJEE S. K., CHAKRABORTI P. K., 2000. *Evidence that phosphate specific transporter is amplified in a fluoroquinolone resistant Mycobacterium smegmatis*. *Eur. J. Biochem.* 267, 4028-4032.
- BROWN-ELLIOTT B. A., NASH K. A., WALLACE R. J. JR., 2012. *Antimicrobial susceptibility testing, drug resistance mechanisms, and therapy of infections with nontuberculous mycobacteria*. *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 545-582.
- BROWN-ELLIOTT B. A., VASIREDDY S., VASIREDDY R., IAKHIAEVA E., HOWARD S. T., NASH K., PARODI N., STRONG A., GEE M., SMITH T., WALLACE R. J. JR., 2015. *Utility of sequencing the erm(41) gene in isolates of Mycobacterium abscessus subsp. abscessus with low and intermediate clarithromycin MICs*. *J. Clin. Microbiol.* 53, 1211-1215.
- BRZEZIŃSKA S., SZOŁKOWSKA M., LANGFORT R., ZWOLSKA Z., AUGUSTYNOWICZ-KOPEC E., 2015. *Wykrywanie prątków Mycobacterium tuberculosis complex w materiałach tkankowych utrwalonych w parafinie*. *Post. Nauk Med.* 4, 255-260.
- CANDIDO P. H., NUNES LDE S., MARQUES E. A., FOLESCU T. W., COELHO F. S., DE MOURA V. C., DA SILVA M. G., GOMES K. M., LOURENCO M. C., AGUIAR F. S., CHITOLINA F., ARMSTRONG D. T., LEO S. C., NEVES F. P., MELLO F. C., DUARTE R. S., 2014. *Multidrug-resistant nontuberculous mycobacteria isolated cystic fibrosis patients*. *J. Clin. Microbiol.* 52, 2990-2997.
- CHASTELLIER C., FORQUET F., GORDON A., THILO L., 2009. *Mycobacterium requires an all-around closely apposing phagosome membrane to maintain the maturation block and this apposition is re-established when it rescues itself from phagolysosomes*. *Cell. Microbiol.* 11, 1190-1207.
- COWMAN S., BURNS K., BENSON S., WILSON R., LOEBINGER M. R., 2016. *The antimicrobial susceptibility of non-tuberculous mycobacteria*. *J. Infect.* 72, 324-331.
- DANILCHANKA O., PAVLENOK M., NIEDERWEIS M., 2008. *Role of porins for uptake of antibiotics by Mycobacterium smegmatis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 52, 3127-3134.
- DEY A., VERMA A. K., CHATTERJI D., 2010. *Role of an RNA polymerase interacting protein, MsRbpA, from Mycobacterium smegmatis in phenotypic tolerance to rifampicin*. *Microbiology* 156, 873-883.
- DONCKER A. V., BALABANIAN K., BELLANNÉ-CHANTELLOT C., DE GUIBERT S., REVEST M., BACHELERIE F., LAMY T., 2011. *Two cases of disseminated Mycobacterium avium infection associated with a new immunodeficiency syndrome related to CXCR4 dysfunctions*. *Clin. Microbiol. Infect.* 17, 135-139.
- FALKINHAM J. O., 2002. *Nontuberculous mycobacteria in the environment*. *Clin. Chest Med.* 23, 520-551.
- FALKINHAM J. O., 2016. *Current epidemiologic trends of the nontuberculous mycobacteria (NTM)*. *Curr. Environ. Health Rep.* 3, 161-167.
- FARIA S., JOAO I., JORDAO L., 2015. *General overview on nontuberculous mycobacteria, biofilms, and human infection*. *J. Pathog.* doi: 10.1155/2015/809014.
- FLORES A. R., PARSONS L. M., PAVELKA M. S. JR., 2005. *Genetic analysis of the beta-lactamases of Mycobacterium tuberculosis and Mycobacte-*

- rium smegmatis and susceptibility to beta-lactam antibiotics.* Microbiology 151, 521-532.
- FOL M., OLEK J., KOWALEWICZ-KULBAT M., DRUSZCZYŃSKA M., RUDNICKA W., 2011. *Prątki nie gruźlicze: M. marinum, M. ulcerans, M. xenopi – krótka charakterystyka drobnoustrojów i zmian klinicznych przez nie wywołanych.* Post. Hig. Med. Dosw. 65, 574-583.
- GAO L. Y., LAVAL F., LAWSON E. H., GROGER R. K., WOODRUFF A., MORISAKI J. H., COX J. S., DAFFE M., BROWN E. J., 2003. *Requirement for kasB in Mycobacterium mycolic acid biosynthesis, cell wall impermeability and intracellular survival: implications for therapy.* Mol. Microbiol. 49, 1547-1563.
- GRIFFITH D. E., AKSAMIT T., BROWN-ELLIOTT B. A., CATANZARO A., DALEY C., GORDIN F., HOLLAND S. M., HORSBURGH R., HUITT G., IADEMARCO M. F., ISEMAN M., OLIVIER K., RUOSS S., VON REYN C. F., WALLACE R. J. JR., WINTHROP K., 2007. *An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases.* Am. J. Respir. Crit. Care Med. 175, 367-416.
- GUILLEMIN I., SOUGAKOFF W., CAMBAU E., REVEL-VIRAVAU V., MOREAU N., JARLIER V., 1999. *Purification and inhibition by quinolones of DNA gyrases from Mycobacterium avium, Mycobacterium smegmatis and Mycobacterium fortuitum.* Microbiology 145, 2527-2532.
- HELGUERA-REPETTO A. C., CHACON-SALINAS R., CERNA-CORTES J. F., RIVERA-GUTIERREZ S., ORTIZ-NAVARRETE V., ESTRADA-GARCIA R., GONZALEZ Y., MERCHANT J. A., 2014. *Differential macrophage response to slow- and fast-growing pathogenic Mycobacteria.* BioMed. Res. Internat. doi: 10.1155/2014/916521.
- HERNÁNDEZ-GARDUÑO E., ELWOOD R. K., 2010. *Increasing incidence of nontuberculous mycobacteria, Taiwan, 2000-2008.* Emerg. Infect. Dis. 16, 1047.
- HOEFLSLOOT W., VAN INGEN J., ANDREJAK C. i współpracownicy, 2013. *The geographic diversity of nontuberculous mycobacteria isolated from pulmonary samples.* Eur. Respir. J. 42, 1604-1613.
- JAIN A., MONDAL R., SRIVASTAVA S., PRASAD R., SINGH K., AHUJA R. C., 2008. *Novel mutations in emb B gene of ethambutol resistant isolates of Mycobacterium tuberculosis: a preliminary report.* Indian J. Med. Res. 128, 634-639.
- JARZEMBOWSKI J. A., YOUNG M. B., 2008. *Nontuberculous mycobacterial infections.* Arch. Pathol. Lab. Med. 132, 1333-1341.
- KHAN K., WANG J., MARRAS T. K., 2007. *Nontuberculous mycobacterial sensitization in the United States: national trends over three decades.* Am. J. Respir. Crit. Care Med. 176, 306-313.
- KILBURN J. O., KUBICA G. P., 1968. *Reagent-impregnated paper strips for detection of niacin.* Am. J. Clin. Pathol. 50, 530-532.
- KLEIN J. L., BROWN T. J., FRENCH G. L., 2001. *Rifampin resistance in Mycobacterium kansasii associated with rpoB mutations.* Antimicrob. Agents Chemother. 45, 3056-3058.
- KONGPETCHSATTI O., PHATHATTAKORN W., MAHAKUNJCHAROEN Y., EAMPOKALARP B., BOONYASOPUN J., RAMASOOTA P., 2006. *Mutation in the rpoB gene of the rifampicin resistant M. Avium complex strains from Thailand.* Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 37 (Suppl 3), 165-173.
- KUMAR V. G. S., URS T. A., RANGANATH R. R., 2011. *MPT 64 Antigen detection of M. tuberculosis isolates.* BMC Res. Notes 4, 79.
- KYSELKOVÁ M., CHROŇÁKOVÁ A., VOLNÁ L., NĚMEC J., ULMANN V., SCHARFEN J., ELHOTTOVÁ D., 2012. *Tetracycline resistance and presence of tetracycline resistance determinants tet(V) and tap in rapidly growing mycobacteria from agricultural soils and clinical isolates.* Microb. Environ. 27, 413-422.
- LAKE M. A., AMBROSE L. R., LIPMAN M. C., LOWE D. M., 2016. *“Why me, why now?” Using clinical immunology and epidemiology to explain who gets nontuberculous mycobacterial infection.* BMC Med. 14, 53.
- LI Y., ZENG J., ZHANG H., HE Z. G., 2010. *The characterization of conserved binding motifs and potential target genes for M. tuberculosis MtrAB reveals a link between the two-component system and the drug resistance of M. smegmatis.* BMC Microbiol. 10, 242.
- LIU J., TAKIFF H. E., NIKAIKO H., 1996. *Active efflux of fluoroquinolones in Mycobacterium smegmatis mediated by LfrA, a multidrug efflux pump.* J. Bacteriol. 178, 3791-3795.
- LONG K. S., MUNCK C., ANDERSEN T. M., SCHAUB M. A., HOBBS S. N., BÖTTGER E. C., VESTER B., 2010. *Mutations in 23S rRNA at the peptidyl transferase center and their relationship to linezolid binding and cross-resistance.* Antimicrob. Agents Chemother. 54, 4705.
- LOUW G. E., WARREN R. M., GEY VAN PITTIUS N. C., MCEVOY C. R., VAN HELDEN P. D., VICTOR T. C., 2009. *A balancing act: efflux/influx in mycobacterial drug resistance.* Antimicrob. Agents Chemother. 53, 3181-3189.
- MATSUOKA M., AYE K. S., KYAW K., TAN E. V., BALAGON M. V., SAUNDERSON P., GELBER R., MAKINO M., NAKAJIMA C., SUZUKI Y., 2008. *A novel method for simple detection of mutations conferring drug resistance in Mycobacterium leprae, based on a DNA microarray, and its applicability in developing countries.* J. Med. Microbiol. 57, 1213-1219.
- MEIER A., KIRSCHNER P., SPRINGER B., STEINGRUBE V. A., BROWN B. A., WALLACE R. J. JR., BÖTTGER E. C., 1994. *Identification of mutations in 23S rRNA gene of clarithromycin-resistant Mycobacterium intracellulare.* Antimicrob. Agents Chemother. 38, 381-384.
- MIRSAEIDI M., FARSHIDPOUR M., EBRAHIMI G., ALIBERTI S., FALKINHAM J. O., 2014. *Management of nontuberculous mycobacterial infection in the elderly.* Eur. J. Intern. Med. 25, 356-363.
- MUSSER J. M., KAPUR V., WILLIAMS D. L., KREISWIRTH B. N., VAN SOOLINGEN D., VAN EMBDEN J. D., 1996. *Characterization of the catalase-peroxidase gene (katG) and inhA locus in isoniazid-resistant and -susceptible strains of Mycobacterium tuberculosis by automated DNA sequencing: restricted array of mutations associated with drug resistance.* J. Infect. Dis. 173, 196-202.
- NAIR J., ROUSE D. A., BAI G. H., MORRIS S. L., 1993. *The rpsL gene and streptomycin resistance in single and multiple drug-resistant strains of Mycobacterium tuberculosis.* Mol. Microbiol. 10, 521-527.
- NALEPA P., STRACH M., RYBAK-BAK M., SIEDLAR M., 2011. *Mykobakterioza płuc wywołana przez M. kansasii u dwojga rodzeństwa z zaburzeniami produkcji IL-12 i IFN-γ. Zespół wrażliwości typu Mendla na zakażenie prątkami. Przegląd piśmiennictwa.* Pneumonol. Alergol. Pol. 79, 428-436.
- NASH K. A., INDERLIED C. B., 1995. *Genetic basis of macrolide resistance in Mycobacterium avium isolated from patients with disseminated*



- disease. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39, 2625-2630.
- NASH K. A., BROWN-ELLIOTT B. A., WALLACE R. J. JR., 2009. A novel gene, *erm(41)*, confers inducible macrolide resistance to clinical isolates of *Mycobacterium abscessus* but is absent from *Mycobacterium chelonae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 1367-1376.
- NESSAR R., REYRAT J. M., MURRAY A., GICQUEL B., 2011. Genetic analysis of new 16S rRNA mutations conferring aminoglycoside resistance in *Mycobacterium abscessus*. *J. Antimicrob. Chemother.* 66, 1719-1724.
- NGUYEN L., CHINNAPAPAGARI S., THOMPSON C. J., 2005. *FbpA*-dependent biosynthesis of trehalosedimycolate is required for the intrinsic multidrug resistance, cell wall structure, and colonial morphology of *Mycobacterium smegmatis*. *J. Bacteriol.* 187, 6603-6611.
- NGUYEN H. T., WOLFF K. A., CARTABUKE R. H., OGWANG S., NGUYEN L., 2010. A lipoprotein modulates activity of the *MtrAB* two-component system to provide intrinsic multidrug resistance, cytokinetic control and cell wall homeostasis in *Mycobacterium*. *Mol. Microbiol.* 76, 348-364.
- OBATA S., ZWOLSKA Z., TOYOTA E., KUDO K., NAKAMURA A., SAWAI T., KURATSUJI T., KIRIKAE T., 2006. Association of *rpoB* mutations with rifampicin resistance in *Mycobacterium avium*. *Int. J. Antimicrob. Agents* 27, 32-39.
- PALUCH-OLEŚ J., KOZIOŁ-MONTEWKA M., MAGRYS A., 2009. Mutations in the *rpoB* gene of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from Eastern Poland. *New Microbiol.* 32, 147-152.
- PANG Y., BROWN B. A., STEINGRUBE V. A., WALLACE R. J. JR., ROBERTS M. C., 1994. Tetracycline resistance determinants in *Mycobacterium* and *Streptomyces* species. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38, 1408-1412.
- PFISTER P., JENNI S., POEHLISGAARD J., THOMAS A., DOUTHWAITE S., BAN N., BÖTTGER E. C., 2004. The structural basis of macrolide-ribosome binding assessed using mutagenesis of 23S rRNA positions 2058 and 2059. *J. Mol. Biol.* 342, 1569-1581.
- PHILALAY J. S., PALERMO C. O., HAUGE K. A., RUSTAD T. R., CANGELOSI G. A., 2004. Genes required for intrinsic multidrug resistance in *Mycobacterium avium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48, 3412-3418.
- PIERSIMONI C., SCARPARO C. 2009. *Extrapulmonary Infections Associated with Nontuberculous Mycobacteria in Immunocompetent Persons*. *Emerg. Infect. Dis.* 15, 1351-1358.
- PRAMMANANAN T., SANDER P., BROWN B. A., FRISCHKORN K., ONYI G. O., ZHANG Y., BÖTTGER E. C., WALLACE R. J. JR., 1998. A single 16S ribosomal RNA substitution is responsible for resistance to amikacin and other 2-deoxystreptamine aminoglycosides in *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium chelonae*. *J. Infect. Dis.* 177, 1573-1581.
- RAMÓN-GARCÍA S., NG C., JENSEN P. R., DOSANJH M., BURIAN J., MORRIS R. P., FOLCHER M., ELTIS L. D., GRZESIEK S., NGUYEN L., THOMPSON C. J., 2013. *WhiB7*, an Fe-S-dependent transcription factor that activates species-specific repertoires of drug resistance determinants in actinobacteria. *Biol. Chem.* 288, 34514-34528.
- REN H., LIU J., 2006. *AsnB* is involved in natural resistance of *Mycobacterium smegmatis* to multiple drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 250-255.
- ROCCO J. M., IRANI V. R., 2011. *Mycobacterium avium* and modulation of the host macrophage immune mechanisms. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 447-452.
- ROSE S. J., BABRAK L. M., BERMUDEZ L. E., 2015. *Mycobacterium avium* possesses extracellular DNA that contributes to biofilm formation, structural integrity and tolerance to antibiotics. *PLoS One.* 10, e0128772.
- ROSSI-FEDELE G., SCOTT W., SPRATT D., GULABI-VALA K., ROBERTS A. P., 2006. Incidence and behaviour of Tn916-like elements within tetracycline-resistant bacteria isolated from root canals. *Oral Microbiol. Immunol.* 21, 218-222.
- SALEEB P., OLIVIER K. N., 2010. Pulmonary nontuberculous mycobacterial disease: new insights into risk factors for susceptibility, epidemiology, and approaches to management in immunocompetent and immunocompromised patients. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 12, 198-203.
- SCHLUGER N. W., 2007. Tuberculosis and nontuberculous mycobacterial infections in older adults. *Clin. Chest Med.* 28, 773-781.
- SOUSA S., BANDEIRA M., CARVALHO P. A., DUARTE A., JORDAO L., 2015. Nontuberculous mycobacteria pathogenesis and biofilm assembly. *Int. J. Mycobacteriol.* 4, 36-43.
- SREEVATSAN S., PAN X., STOCKBAUER K. E., WILLIAMS D. L., KREISWIRTH B. N., MUSSEY J. M., 1996. Characterization of *rpsL* and *rrs* mutations in streptomycin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates from diverse geographic localities. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40, 1024-1026.
- STALLINGS C. L., CHU L., LI L. X., GLICKMAN M. S., 2011. Catalytic and non-catalytic roles for the mono-ADP-ribosyltransferase *Arr* in the mycobacterial DNA damage response. *PLoS One* 6, e21807.
- TANAKA E., KIMOTO T., MATSUMOTO H., TSUYUGUCHI K., SUZUKI K., NAGAI S., SHIMADZU M., ISHIBATAKE H., MURAYAMA T., AMITANI R., 2000. Familial pulmonary *Mycobacterium avium* complex disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 161, 1643-1647.
- VAN INGEN J., 2013. *Diagnosis of nontuberculous mycobacterial infections*. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 34, 103-109.
- VAN INGEN J., BOEREE M. J., VAN SOOLINGEN D., MOUTON J. W., 2012. Resistance mechanisms and drug susceptibility testing of nontuberculous mycobacteria. *Drug Resist. Updat.* 15, 149-161.
- WILIŃSKA E., SZTURMOWICZ M., 2010. *Mikobakteriozy płuc – obraz kliniczny, diagnostyka i leczenie*. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 78, 138-147.
- WISEMAN B., CARPENA X., FELIZ M., DONALD L. J., PONS M., FITA I., LOEWEN P. C., 2010. Isonicotinic acid hydrazide conversion to Isonicotinyl-NAD by catalase-peroxidases. *J. Biol. Chem.* 285, 26662-26673.

**KOSMOS Vol. 66, 1, 31–40, 2017**

MAGDALENA ANT CZAK, KAROLINA DADURA, KAROLINA LEWANDOWSKA, JAROSŁAW DZIADEK

*Laboratory of Mycobacterium Genetics and Physiology, Institute of Medical Biology PAS, Lodowa 106, 93-232 Łódź,*

*E-mail: jdziadek@cblm.pan.pl*

NONTUBERCULOUS MYCOBACTERIA – WHY TREATMENT IS SO DIFFICULT?

Summary

Nontuberculous mycobacteria (NTM) is a group of opportunistic species of mycobacteria other than *Mycobacterium tuberculosis* complex and *Mycobacterium leprae*, which are widespread in the environment occurring in soil, water and dust. Therefore, it is common to localize them in the respiratory, gastrointestinal tract and skin. In the past two decades, increasing number of infections caused by atypical mycobacteria was reported worldwide. Development of molecular biology and new diagnostic tests enables faster distinction of atypical mycobacteria from *Mycobacterium tuberculosis* complex and more accurate identification of the species. Most atypical mycobacteria are naturally resistant to antibiotics commonly used for treatment of both mycobacteriosis and tuberculosis. The drug resistance of NTM involves nonspecific mechanisms, which also occur in other bacteria, and specific mechanisms characteristic for mycobacteria only. Resistance can be innate, determined by the bacterial genome, or acquired, as the result of mutational changes.