

Mycobacterium genavense – groźny patogen ssaków i ptaków

ALEKSANDRA LEDWOŃ, PIOTR SZELESZCZUK

Oddział Chorób Ptaków Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW,
ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Ledwoń A., Szeleszczuk P.

Mycobacterium genavense – a serious pathogen in mammals and birds

Summary

The problem of infections with bacilli from the genus *Mycobacterium* is a still current issue both for human and animal pathology. The progress that has been made in mycobacteriology has brought about the discovery of many new *Mycobacterium* species of lower or higher pathogenicity for vertebrates.

Mycobacterium genavense was discovered in 1992 in Germany. It was isolated for the first time from patients infected with HIV, who, due to a significantly impaired immune system, are particularly exposed to infections with acid-fast bacilli. Most frequently, however, *M. genavense* infections are found in birds. For them the bacillus is among the main causative agents of mycobacteriosis, ranking in the second place after *Mycobacterium avium*.

Such a late discovery of this bacilli must have resulted from the fact that its isolation in artificial media is very difficult. In relation to the above the bacilli is suspected of being responsible for the disease cases where acid-fast bacilli were not isolated on artificial media but they were present in preparations stained by Ziehl-Nielsen method.

Only the application of highly specific media and, primarily, achievements in molecular biology have enabled the diagnosis of infections caused by this bacilli.

Keywords: *Mycobacterium genavense*, infections in humans, animals and birds

Zakażenia bakteriami z rodzaju *Mycobacterium* to problem nadal aktualny zarówno w patologii ludzi, jak i zwierząt (7, 22). Postęp, jaki nastąpił w mykobakteriologii przyczynił się do odkrycia wielu nowych gatunków *Mycobacterium*, charakteryzujących się mniejszą lub większą chorobotwórczością dla kręgowców.

Mycobacterium genavense to prątek niegruźliczy, obecnie coraz częściej opisywany jako zarazek wywołujący zachorowania u ludzi i zwierząt. Odkrycie tej bakterii zawdzięczamy zespołowi Erica Böttgera z Instytutu Mikrobiologii Akademii Medycznej w Hanowerze (2). Cytowani autorzy po raz pierwszy wyizolowali *M. genavense* w 1992 roku od pacjentów chorych na AIDS, u których zdiagnozowano rozsianą mykobakteriozę. Jak się wydaje, o tak późnym odkryciu tej bakterii zadecydowały spore trudności w izolacji *M. genavense* na podłożach sztucznych.

Diagnostyka zakażeń *M. genavense*

Podłożami polecanymi do izolacji *M. genavense* są: Middlebrook 7H12 z dodatkiem mycobactinu J w radiometrycznym systemie BACTEC 460 TB i Middlebrook 7H11 z mycobactinem J. Czas wzrostu tego prątka na wymienionych podłożach wynosi od 2 do 96 dni

(9). Relini i wsp. (15) podkreślają, że w odróżnieniu od większości gatunków z rodzaju *Mycobacterium*, *M. genavense* preferuje warunki mikroaerofilne na podłożach półpłynnych. W badaniach tych autorów optymalny wzrost uzyskiwano przy stężeniu tlenu w atmosferze wynoszącym 2,5% (14). Doświadczenia prowadzone przez Thomsena i wsp. (19) wykazały, że optymalne pH dla wzrostu tych bakterii wynosi 5,5 (19). Nawet w porównaniu z innymi prątkami ten nowy przedstawiciel rodzaju *Mycobacterium* charakteryzuje się niesłychanie powolnym i zmiennym wzrostem *in vitro*, toteż identyfikacja zakażeń tym drobnoustrojem musi opierać się na badaniach genetycznych. Genetyczna identyfikacja tego prątka oparta jest na amplifikacji fragmentu chromosomalnego kodującego 16S rRNA i analizie charakterystycznej oznakowanej sekwencji *M. genavense* przez określenie sekwencji zamplifikowanego produktu lub użyciu genu 16S rRNA jako docelowego w różnych testach PCR (4, 16, 17). Przykładowo, w teście OSCP (Oligonucleotide-specific capture hybridization) produkt amplifikacji oznaczony digoksygeniną jest poddany hybridyzacji z biotynowanymi oligonukleotydami specyficznymi dla *M. genavense* i w ten sposób zostają one

wychwycone na płycie opłaszczonej streptawidyną (4, 5). Opisano również amplifikację z biotynowanymi starterami i analizą produktów PCR przez odwrotną hybrydyzację cross-blot w celu bezpośredniej identyfikacji *M. genavense* u pacjentów. Do identyfikacji tej bakterii stosuje się także techniki chromatografii cienkowarstwowej kwasów mykologicznych, chromatografię gazową oraz analizę rozkładu kwasów mykologicznych (4).

Z kolei Chevrier i wsp. (1999) wyizolowali fragment DNA o długości 1734 par zasad, wysoce specyficzny dla *M. genavense* i skonstruowali odpowiedni test PCR dla szybkiego wykrycia i identyfikacji tego drobnoustroju. Autorzy ci przebadali kilkanaście starterów w różnych warunkach przeprowadzania testów, aby uzyskać sekwencję o najwyższej specyficzności dla tego prątka. Była to sekwencja w regionie 5' składająca się z 1,5 tys. par zasad. Jednej gatunkowo-specyficznej pary starterów oraz dwóch zasad oligonukleotydowych z powodzeniem użyto do amplifikacji 13 izolatów *M. genavense*. Jest istotne, że użyte startery i sondy nie hybrydowały z DNA żadnego z dwudziestu innych testowanych gatunków, łącznie z *M. simiae* (4), co jest bardzo ważne, bowiem *M. genavense* jest spokrewniony z *M. simiae*.

Szybką identyfikację *M. genavense* wykonuje się również przy pomocy testów komercyjnych np. INNO-LIPA MYCOBACTERIA v2. Jest to test odwrotnej hybrydyzacji z wielokrotną sondą DNA. Biotynowany DNA uzyskany z amplifikacji PCR polimorficznego regionu 16S do 23S rRNA jest hybrydowany z 23 specyficznymi oligonukleotydowymi sondami unieruchomionymi jako analogiczne linie na paskach membranowych. Dodatkowo paski te oznakowane są streptawidyną z fosfatazą zasadową i chromogenicznym substratem, dającym fioletowo-brązowy precipitat na liniach hybrydyzacji. Test ten przeznaczony do identyfikacji gatunkowej uzyskanych hodowli. Dla sond gatunkowo-specyficznych specyficzność testu wynosi 94,4%, natomiast czułość 100% (20).

Leczenie

W testach lekowrażliwości *M. genavense* wykazuje wrażliwość na rifabutin, roxitromycynę, klarytromycynę, acitromycynę i kwas fuksydowy, również wysoką skuteczność wykazuje amikacyna i fluorochinolony. Niektóre izolaty wykazują wrażliwość na etambutol, klofazyminę i isoniazyd (3, 18). Podobnie jak w zakażeniach innymi gatunkami prątków, także i przy stwierdzeniu *M. genavense* stosuje się terapię skojarzoną.

Zakażenia *M. genavense* u ludzi

Na zakażenie opisywanym prątkiem jak i innymi gatunkami należącymi do rodzaju *Mycobacterium* narażone są najbardziej osoby z dziedzicznymi lub nabytymi defektami odporności komórkowej. Według dotychczas przeprowadzonych badań u chorych na AIDS, prątek ten może być odpowiedzialny za 10-15%

rozsznanych mykobakterioz (1, 4, 13). *M. genavense*, podobnie jak *M. avium*, jest drobnoustrojem powszechnie występującym w środowisku. Izolowano go z próbek wody i kału zdrowych ludzi w Europie (4). Również badania biopłatów pobranych z guzów nowotworowych okrężnicy od osób HIV-negatywnych wykonane przez Dumonceau i wsp. (6) wykazały w pięciu przypadkach na 9 obecność materiału genetycznego tego gatunku bakterii. Charakterystyczne było to, że preparaty mikroskopowe były w tych przypadkach negatywne (6). Objawy kliniczne zakażenia *M. genavense* u ludzi z AIDS są podobne do objawów występujących w zakażeniach *M. avium* complex (MAC): ogólne osłabienie, gorączka, utrata masy ciała, biegunka, hepato- i splenomegalia, anemia i śmierć następująca często dość szybko (2, 6). Badania Thomsena i wsp. (19) wykazały, że objawem, który występuje częściej u pacjentów zainfekowanych *M. genavense* w porównaniu z pacjentami zakażonymi MAC są bóle brzucha.

Przypadki zachorowań wywołanych przez *M. genavense* u osób ze sprawnym układem immunologicznym odnotowano po raz pierwszy w 1995 roku. Opisano, między innymi, przypadek zapalenia węzłów chłonnych, z których, mimo obecności bakterii kwasoopornych w preparacie mikroskopowym, nie udało się ich wyhodować na pożywce L-J, jak i podłożu BACTEC 12B. W badaniu histopatologicznym biopłatów stwierdzono liczne ziarniniaki zawierające komórki nabłonkowe, komórki olbrzymie i dużą ilość limfocytów oraz histiocyty zawierające liczne krótkie, ziarniste bakterie kwasooporne. Diagnostykę tego przypadku umożliwiły badania genetyczne (1).

Istotnym zagadnieniem, nie tylko w diagnostyce zakażeń *M. genavense*, ale także innymi gatunkami prątków, są zakażenia mieszane. Opisano przypadek pacjenta z AIDS, od którego izolowano zarówno *M. avium*, jak i *M. genavense*. Hodowlę *M. avium* na podłożu BACTEC 13A (BD, USA) uzyskano po 2 tygodniach, natomiast *M. genavense* po około trzech miesiącach. Przyjmuje się, że w wielu przypadkach zakażenie *M. genavense* może być nierozpoznawane, ze względu na wcześniejszy wzrost innego gatunku *Mycobacterium*. Ponadto w opisanym przypadku po zastosowaniu kombinacji rifampicyny, amikacyny i clofazyminy – leków pierwszego rzutu w zakażeniach *M. genavense* – odnotowano szybką poprawę stanu zdrowia pacjenta, co świadczy o tym, że właśnie zakażenie tym prątkiem, a nie MAC decydowało o objawach klinicznych (19).

Zakażenia *M. genavense* u zwierząt

Przypadki zachorowań wywołanych przez *M. genavense* opisywane były również u innych gatunków zwierząt. W 1995 roku opisano zachorowanie u małpki (*Lemur macaco mayottensis*) w ogrodzie zoologicznym w Lipsku. U zwierzęcia kilka dni przed zejściem zaobserwowano osłabienie apetytu, osowia-

łość, na dzień przed śmiercią wystąpiło przyspieszenie oddechu, duszność, a stan ogólny uległ znacznemu pogorszeniu. Sekcyjnie u tej małpki stwierdzono obecność licznych obrzęków tkanki podskórnej okolicy grzbietowej. Ponadto w obydwu płucach stwierdzono obecność jasnobrązowych guzków wielkości ziarna soczewicy w płatach szczytowych oraz ogniska zapalne w płatach przeponowych. Wątroba była umiarkowanie powiększona, koloru żółtobrazowego, konsystencji miękkiej. Wystąpiła również umiarkowana splenomegalia i powiększenie węzłów chłonnych. Zmiany histopatologiczne miały charakter rozsianych nacieków makrofagów i histiocytoz w tkance śródmiąższowej płuc. W śledzienie stwierdzono obecność rozsianych ognisk komórek nabłonkowatych. W blaszce podstawnej błony śluzowej jelit cienkich obserwowano nacieczenie makrofagami. W makrofagach wątroby, śledziona, jelit, szpiku kostnego i węzłów chłonnych barwieniem Ziehl-Neelsena (Z-N) stwierdzono obecność bakterii kwasoopornych. Identyfikację gatunku *Mycobacterium* umożliwiło wykonanie testu PCR (15).

Zakażenie *M. genavense* opisano również u 2,5-letniego psa (mopsa) cierpiącego z powodu ostrego osłabienia tylnych kończyn. W badaniu klinicznym stwierdzono ich sztywność i znaczną bolesność. Wszystkie obwodowe węzły chłonne wykazywały umiarkowane powiększenie, stwierdzano także podwyższoną ciepłotę ciała do 39,4°C. Masa ciała nie odbiegała od normy. Badanie histopatologiczne biopsji pobranego z węzła szyjnego powierzchownego wykazało histiocytarne zapalenie węzła chłonnego z licznymi zawartymi w cytoplazmie histiocytoz prątkami kwasoopornymi, bez zmian typowych dla ziarniniaka. Materiał z biopsji został posiany na podłoże płynne BACTEC12B w systemie BACTEC 460 TB i agar Middlebrook 7H11. Wzrost uzyskano po 2 tygodniach na podłożu płynnym. Identyfikację gatunku dokonano za pomocą testów genetycznych. Dwupółmiesięczna terapia skojarzona (klarytromycyna + ethambutol + enrofloksacyna) doprowadziła do całkowitego wycofania się objawów klinicznych (10).

Rozsiane mykobakteriozy wywołane przez *M. genavense* obserwowano również u fretki utrzymywanej jako zwierzęta towarzyszące. U pięcioletniego samca stwierdzono zmiany w prawym oku, polegające na hiperplazji spojówki powiekowej trzeciej powieki oraz powiększenie wszystkich obwodowych węzłów chłonnych. Biopsja cienkoigłowa ze zmienionego węzła chłonnego wykazała obecność licznych komórek limfoidalnych i rozproszonych makrofagów. Część makrofagów zawierała w cytoplazmie bakterie kwasooporne. Badania hodowlane na pożywkach Ogawy, L-J, Middlebrook i BACTEC 12B, nie przyniosły rezultatu. Diagnozę umożliwiło wykonanie testu PCR w kierunku *M. genavense*. Fretka została poddana skutecznej antybiotykoterapii rifampicyną z klofazymią i klarytromycyną przez okres 3 miesięcy.

Drugi przypadek to czteroletnia samica fretki cierpiąca z powodu obrzęku spojówek, połączonego z wodnistym wyciekaniem z oczu. W pobranym wycinku ze zmienionej spojówki stwierdzono rozlane nacieczenie blaszki podstawnej spojówki homogenną populacją dużych piankowatych makrofagów oraz mniejszą ilością neutrofilów i limfocytów. Barwieniem Z-N wykazano obecność w cytoplazmie makrofagów prątków kwasoopornych. Po kilku tygodniach leczenia rifampicyną zmiany ustąpiły. Badania genetyczne materiału z bloczka parafinowego potwierdziły zakażenie *M. genavense* (11).

Zakażenia *Mycobacterium genavense* u ptaków

Jak dotąd *M. genavense* najczęściej izolowano od ptaków (10). Szeroko zakrojone badania przeprowadzone w Szwajcarii wykazały, że w latach 1986-1995 zakażenia *M. genavense* stanowiły 30,9% wszystkich zakażeń prątkami u około pięciu tysięcy przebadanych ptaków (9).

W latach 1983-1994 w ogrodzie zoologicznym w Antwerpii (Belgia) zanotowano nagłe padnięcia u 20 ptaków należących do pięciu rodzin: *Psittaciformes*, *Galliformes*, *Piciformes* i *Coraciformes*. Ptaki te zostały zbadane sekcyjnie. Pobrano także materiał do badań histopatologicznych, bakteriologicznych i do diagnostyki metodami biologii molekularnej. Z badanych 27 ptaków w wieku od 10 miesięcy do 18 lat, dziesięć pochodziło z zakupu, natomiast pozostałe wykludy się w tym ZOO. W preparatach mikroskopowych barwionych metodą Z-N wykazano obecność bakterii kwasoopornych w wielu narządach, między innymi w wątrobie, śledziona, płucach, jelitach, nerkach i szpiku kostnym. Próby zostały posiane na podłoża Löwensteina-Jensena i Ogawy. Jednakże wzrost niewielkich szarawych kolonii stwierdzono tylko w czterech przypadkach. W badaniu histopatologicznym nie stwierdzono w żadnym z preparatów zmian charakterystycznych dla tzw. „gruzełków gruźliczych”. Największą infiltrację komórek zapalnych stwierdzono w błonie śluzowej jelit, co świadczyć może o znaczeniu tego narządu jako miejsca pierwotnej infekcji. Komórkami dominującymi w zmienionych tkankach były makrofagi, którym towarzyszyły różnego rodzaju i w różnej ilości limfocyty. Prątki kwasooporne zlokalizowane były zwykle w komórkach, jednakże obserwowano je także częściowo poza ich obrębem, szczególnie w obszarach martwicy. Badania genetyczne jednoznacznie potwierdziły u padłych ptaków obecność *M. genavense* (12).

Hoop i wsp. (1993) opisali sześć przypadków rozpoznania mykobakterioz wywołanych przez *M. genavense* u ptaków domowych. Badane przez tych autorów ptaki to: trzy papużki faliste (*Melopsittacus undulatus*), amazonka pomarańczowoskrzydła (*Amazona amazonica*), muchołówka (*Cyanoptila cyanomelana*) i amadyna zebrowata (*Taeniopygia guttata*). Wszystkie ptaki były utrzymywane w prywatnych domach

i nie miały kontaktu z ptakami dzikimi. Pochodziły ze sklepów zoologicznych lub bezpośrednio od prywatnych hodowców. Jedynie muchołówka była narażona na pośredni kontakt z ptakami, u których pośmiertnie wykazano zakażenie prątkami kwasoopornymi. Trzy z czterech ptaków padły nagle, z tego tylko u amazonki znaleziono 1-mm ziarniniaki charakterystyczne dla mykobakterioz w płucach i tkance podskórnej okolicy piersiowej. U wszystkich ptaków stwierdzono proliferację komórek nabłonkowatych obładowanych prątkami kwasoopornymi oraz nacieki zapalne w wątrobie, a także w większości przypadków w jelitach. *M. genavense* udało się wyhodować na podłożach Middlebrook 7H12 w systemie BACTEC 460 Tb, w dwóch przypadkach tylko po dodaniu Mycobactinu J, na podłożach 7H10 i 7H11, uzyskano wzrost tylko w jednym przypadku, natomiast na pożywce L-J wzrostu nie uzyskano (8).

Inny opis przypadku pochodzi z kliniki dla ptaków i gadów w Lipsku, w której wykonano sekcję dziesięcioletniej piony niebieskogłowej (*Pionus menstruus*). U ptaka stwierdzono znaczny stopień utraty piór w okolicy karku, szyi i skrzydeł, przerostowe zapalenie błony śluzowej dwunastnicy i początkowego odcinka jelita czczego oraz umiarkowane powiększenie wątroby. W badaniu histopatologicznym stwierdzono dyfteroidalno-martwicowe zapalenie jelit, z rozsianymi naciekami makrofagów oraz komórek Langhansa w blaszce podstawnej jelita cienkiego i grubego. W płucach obserwowano granulocytarne nacieki zapalne w tkance okołoskrzelowej oraz chroniczne zapalenie worków powietrznych. Stwierdzono również nacieczenia komórkami nabłonkowatymi w mózgu. W wątrobie odnotowano jedynie umiarkowanego stopnia chroniczne limfoplazmocytarne zapalenie w przestrzeniach okołowrotnych. W preparatach barwionych metodą Ziehl-Neelsena wykazano obecność bakterii kwasoopornych w makrofagach oraz przestrzeniach międzykomórkowych w jelitach i w płucach. Badanie hodowlane nie przyniosło rezultatu, natomiast testem PCR potwierdzono obecność *M. genavense* (15).

Opisany przez Kiehna i wsp. (1996) przypadek dotyczył dziesięcioletniej samicy amazonki żółtogłowej (*Amazona ochrocephala*). Klinicznie stwierdzono u tego ptaka silną duszność, przyspieszenie oddechu i rzężenia. Zaobserwowano również obecność białego ogniska po lewej stronie krtani. Badanie cytologiczne wymazu pobranego z tego ogniska potwierdziło obecność dużej ilości drożdży z rodzaju *Candida*. Badanie jamy dziobowej, w znieczuleniu ogólnym, wykazało również umiarkowane owrzodzenie głośni oraz gładkościenną masę po lewej stronie głośni rozciągającą się na ścianę tchawicy, powodując zwężenie jej światła. Biopsja tych mas wykazała zapalenie ziarniniakowe z obecnością wielojądrzastych komórek olbrzymich i heterofili z licznymi bakteriami kwasoopornymi. Ptak został w efekcie poddany eutanazji, a sekcyjnie stwierdzono obecność kruchych nieregularnych

mas w tchawicy. Dodatkowo badanie histopatologiczne wykazało obecność zmian ziarniakowatych w wątrobie, jelitach i płucach, w których jednak nie znaleziono bakterii kwasoopornych (10).

Z kolei Ramis i wsp. (1996) opisali przypadki zachorowań w hodowli kanarków. Cztery ptaki z hodowli liczącej 50 sztuk wykazywały objawy chronicznej biegunki, umiarkowanej duszności, senności, letargu i nastroszenia piór. Ponadto hodowca informował jeszcze o kilkunastu padłych w ciągu trzech miesięcy ptakach, bezskutecznie leczonych enrofloksacyną. W badaniu sekcyjnym ptaków zmiany makroskopowe występowały tylko u dwóch ptaków i obejmowały jedynie powiększenie śledziony. W badaniu histopatologicznym zmiany stwierdzano w wątrobie, śledzionie, płucach, i nerkach również tylko u tych ptaków, natomiast pozostałe dwa kanarki nie wykazywały żadnych zmian. Zmiany w wątrobie charakteryzowały się występowaniem nieserowaciejących guzków, złożonych ze skupisk makrofagów piankowych rozsianych przypadkowo w mięszu wątroby, wypełnionych znaczną ilością bakterii kwasoopornych. Sporadycznie w guzkach tych znajdowano mieszane nacieczenia zapalne zawierające głównie heterofile polimorfonuklearne. Zmiany w śledzionie i płucach były identyczne u obu kanarków. W miążdże białej śledziony stwierdzono obecność pojedynczych lub mnogich guzków zawierających liczne bakterie kwasooporne. W tkance łącznej otaczającej oskrzeliki i połączonej z oskrzelikami, obecne były nacieki zapalne zawierające duże skupiska makrofagów piankowych wypełnionych prątkami. Nieliczne oskrzela wykazywały infiltrację komórkami zapalnymi, z których najliczniejsze to makrofagi wypełnione bakteriami kwasochłonnymi lub zawierające je również guzki zlokalizowane w blaszce podstawnej, które w kilku przypadkach ulegały proliferacji, uszkadzając warstwę nabłonka i powodując niedrożność oskrzelików. Kilka ognisk makrofagów znaleziono również w warstwie korowej nerek. We wszystkich tych przypadkach badania hodowlane nie przyniosły rezultatu, mimo obecności prątków w preparatach mikroskopowych. Badaniem PCR fragmentu 16 rRNA dokonano identyfikacji prątków jako *M. genavense* (13).

W badaniach własnych (11) nad występowaniem prątków *M. genavense* przebadano testem PCR 326 próbek pobranych od papug z 10 krajowych ogrodów zoologicznych i 65 prywatnych hodowli. Obecność *M. genavense* w badanym materiale stwierdzono na podstawie wykrycia swoistych dla tych mikroorganizmów sekwencji genu 16 S rRNA. Użyto starterów, których sekwencja została opracowana przez Chevriera i wsp. (1999). Wykonano także posiewy na podłoża Middlebrook 7H11 z Mycobactinem J, w celu uzyskania hodowli tego prątka. Dodatni wynik PCR w kierunku *Mycobacterium genavense* uzyskano w 9,5% badanych próbek, w tym 8,8% z próbek pobranych w ogrodach zoologicznych, natomiast z prywatnych

hodowli 12,3%. Na zastosowanym podłożu nie udało się uzyskać wzrostu *M. genavense*.

Brak jest danych o znaczeniu zwierząt i ptaków w epidemiologii zakażeń *M. genavense*.

Piśmiennictwo

1. *Bosquee L., Böttger E. C., De Beenhouwer H., Fonteyne P. A., Hirschel B., Larsson L., Meyers W. M., Palomino J. C., Realini L.*: Cervical lymphadenitis caused by a fastidious *Mycobacterium* closely related to *Mycobacterium genavense* in an apparently immunocompetent woman: diagnosis by culture-free microbiological methods. *J. Clin. Microbiol.* 1995, 33, 2670-2674.
2. *Böttger E. C., Teske A., Kirschner P., Bost S., Chang H. R., Beer V., Hirschel B.*: Disseminated „*Mycobacterium genavense*” infection in patients with AIDS. *Lancet* 1992, 11, 76-80.
3. *Carlson D. C., Wallis C. K., Cole M. B.*: Standardized BACTEC method to measure clarithromycin susceptibility of *Mycobacterium genavense*. *J. Clin. Microbiol.* 1998, 36, 748-751.
4. *Chevrier D., Oprisan G., Maresca A., Matsiota-Bernard P., Guesdon J. L.*: Isolation of a specific DNA fragment and development of a PCR-based method for the detection of *Mycobacterium genavense*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 1999, 23, 243-252.
5. *De Beenhouwer H., Liang Z., De Rijk P., Van Eekeren C., Portaels F.*: Detection and identification of mycobacteria by DNA amplification and oligonucleotide-specific capture plate hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 1995, 33, 2994-2998.
6. *Dumonceau J. M., Fonteyne P. A., Realini L., Van Gossuin A., Van Vooren J. P., Portaels F.*: Species-specific *Mycobacterium genavense* DNA in intestinal tissues of individuals not infected with human immunodeficiency virus. *J. Clin. Microbiol.* 1995, 33, 2514-2515.
7. *Dye C, Floyd K.*: Disease control priorities in developing countries. *Tuberculosis supplementary material, WHO DCP2, 2006, Chapt. 16, 1-25.* (<http://www.dcp2.org/file/51/DCP2TuberculosisSupplementary>)
8. *Hoop R. K., Böttger E. C., Ossent P., Salfinger M.*: Mycobacteriosis due to *Mycobacterium genavense* in six pet birds. *J. Clin. Microbiol.* 1993, 31, 990-993.
9. *Hoop R. K., Böttger E. C., Pfyffer G. E.*: Etiological agents of mycobacterioses in pet birds between 1986 and 1995. *J. Clin. Microbiol.* 1996, 34, 991-992.
10. *Kiehn T. E., Hoffer H., Böttger E. C., Ross R., Wong M., Edwards F., Antonoff N., Armstrong D.*: *Mycobacterium genavense* infections in pet animals. *J. Clin. Microbiol.* 1996, 34, 1840-1842.
11. *Ledwoń A.*: Występowanie prątków gruźlicy i niegruźliczych w kałomoczu papug pochodzących z ogrodów zoologicznych i prywatnych hodowli oraz eksperymentalne zakażenie papużek falistych wybranymi gatunkami *Mycobacterium*. Praca doktorska 2005, 81-83.
12. *Lucas J., Lucas A., Furber H., James G., Hughes M. S., Martin P., Chen S. C., Mitchell D. H., Love D. N., Malik R.*: *Mycobacterium genavense* infection in two aged ferrets with conjunctival lesions. *Aust. Vet. J.* 2000, 78, 685-689.
13. *Portaels F., Realini L., Bauwens L., Hirschel B., Meyers W. M., De Meuricchy W.*: Mycobacteriosis caused by *Mycobacterium genavense* in birds kept in a zoo: 11-year survey. *J. Clin. Microbiol.* 1996, 34, 319-323.
14. *Ramis A., Ferrer L., Aranaz A., Liebana E., Mateos A., Dominguez L., Pascual C., Fdez-Garayabal J., Collins M. D.*: *Mycobacterium genavense* infection in canaries. *Avian Dis.* 1996, 40, 246-251.
15. *Relini L., De Ridder K., Palomino J. C., Hirschel B., Portaels F.*: Microaerophilic conditions promote growth of *Mycobacterium genavense*. *J. Clin. Microbiol.* 1998, 36, 2565-2570.
16. *Steiger K., Ellenberger C., Schuppel K. F., Richter E., Schmerbach K., Krautwald-Junghanns M. E., Wunnemann K., Eulenberger K., Schoon H. A.*: Ungewöhnliche Mykobakterien-Infektionen bei Haus- und Zootieren: eine Kasuistik unter besonderer Berücksichtigung der Pathologie. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 2003, 110, 382-388.
17. *Tell L. A., Foley J., Needham M. L., Walker R. L.*: Comparison of four rapid DNA extraction techniques for conventional polymerase chain reaction testing of three *Mycobacterium* spp. that affect birds. *Avian Dis.* 2003, 47, 1486-1490.
18. *Tell L. A., Leutenegger C. M., Larsen R. S., Agnew D. W., Keener L., Needham M. L., Rideout B. A.*: Real-time polymerase chain reaction testing for the detection of *Mycobacterium genavense* and *Mycobacterium avium* complex species in avian samples. *Avian Dis.* 2003, 47, 1406-1415.
19. *Thomsen V. Ø., Dragsted U. B., Bauer J., Fjuursted K., Lundgren J.*: Disseminated infection with *Mycobacterium genavense*: a challenge to physicians and mycobacteriologists. *J. Clin. Microbiol.* 1999, 37, 3901-3905.
20. *Tortoli E., Simonetti M. T., Dionisio D., Meli M., Sterrantino G.*: *Mycobacterium genavense* and *Mycobacterium avium* mixed infection in an AIDS patient. *Clin. Microbiol. Newsletter.* 1995, 17, 162-176.
21. *Trueba F., Fabre M., Saint-Blancard P.*: Rapid identification of *Mycobacterium genavense* with a new commercially available molecular test, INNO-LiPA *Mycobacteria v2*. *J. Clin. Microbiol.* 2004, 42, 4403-4404.
22. *Żórawski T.*: Infekcje *M. avium-intracellulare* u zwierząt i ludzi. *Medycyna Wet.* 1995, 51, 320-322.

Adres autora: dr hab. Piotr Szeleszczuk, prof. nadzw. SGGW, ul. Mikławskiego 4/25, 02-776 Warszawa; e-mail: Piotr_Szeleszczuk@sggw.pl