

Mycobacterium caprae – prątek bydlęcy.

Część I. Ogólna charakterystyka gatunku, genetyka populacyjna oraz geograficzny zasięg występowania

Monika Krajewska¹, Ewa Augustynowicz-Kopec², Blanka Orłowska³, Mirosław Welz⁴, Krzysztof Anusz⁴, Krzysztof Szumowski⁴

z Zakładu Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach¹, Zakładu Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie², Katedry Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie³ oraz Wojewódzkiego Inspektoratu Weterynarii z siedzibą w Krośnie⁴

Czynniki przyczynowe gruźlicy ssaków zgrupowane są w obrębie kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), który zawiera dziesięć gatunków prątków. Wszystkie prątki z kompleksu MTBC są patogenne dla ludzi i zwierząt, z wyjątkiem szczepu szczepionkowego – *M. bovis* BCG (1). Czynnikiem etiologicznym gruźlicy bydlęcej są prątki bydlęce: *M. bovis* i *M. caprae*.

M. caprae identyfikowano wcześniej jako podgatunek *M. tuberculosis* subsp. *caprae*. Jednak z wyników porównań cech biochemicznych i genetycznych tego podgatunku z *M. tuberculosis* wynikało, że bardziej prawidłowe będzie nazywanie tego podtypu jako *M. bovis* subsp. *caprae* (2, 3). W 2003 r. Aranaz (4) zaproponowała, żeby *M. caprae* podnieść do rangi gatunku. W obecnej taksonomii rodziny Mycobacteriaceae, gatunek *M. caprae* jest prątkiem bydlęcym, należącym do MTBC. Głównymi cechami odróżniającymi prątki należące do gatunku *M. caprae* od innych gatunków kompleksu MTBC jest polimorfizm pseudogenu (*oxyR*) oraz genów

odpowiedzialnych za produkcję pyrazynamidazy (*pncA*), katalazy (*katG*) i gyrazy (*gyrA* i *gyrB*; 5).

Podstawową cechą fenotypową odróżniającą *M. bovis* od *M. caprae* jest wrażliwość na pyrazynamid (PZA) – jeden z najważniejszych leków przeciwprątkowych. Szczepy należące do gatunku *M. bovis* charakteryzują się naturalną opornością na pyrazynamid wynikającą z braku aktywności pirazynamidazy przekształcającej lek w jego aktywną formę. Oporność ta warunkowana jest mutacją w genie *pncA*, jaką jest transwersja C-G w pozycji 169. Analiza sekwencji genu *gyrB* szczepów *M. bovis* wykazała, że szczepy te w pozycji 1410 posiadają mutację punktową C-T (6, 7).

Genetyka populacyjna i zasięg *M. bovis* i *M. caprae*

Współczesna genetyka i dowody archeologiczne sugerują, że udomowienie europejskiego bydła nastąpiło na Bliskim Wschodzie na początku neolitu (8, 9). Badania te oparte są na mitochondrialnym DNA

pochodzącym od bydła i pozwalają postawić hipotezę odnośnie do rozprzestrzenienia się bydła w Żywnym Półksiężycu (obejmującym dzisiejszy Irak, Syrię, Jordan, Izrael, Liban, Zachodni Brzeg oraz części Egiptu, Iranu i Turcji; 8, 10). Najprawdopodobniej na tym obszarze w przybliżonym czasie udomowiono również kozy, które wraz z bydlęciem stanowiły jedno z pierwszych udomowionych zwierząt. Dowody potwierdzające udomowienie kóz zostały znalezione również w dolinie Indusu, w Chinach i Mezoameryce (11, 12).

Sprowadzenie bydła do Europy nastąpiło wraz z migracją ludzi drogą lądową, i szlakami morskimi, co potwierdza pochodzenie północnoafrykańskie bydła w krajach śródziemnomorskich. Prawdopodobnie ten sam scenariusz dotyczy również populacji kóz, związanych nierozłącznie z populacją ludzką. Ten ewolucyjny scenariusz jest zbliżony z demografią MTBC i jego powiązaniem z ludzkim żywicielem (13, 14). Nie wiadomo, czy gruźlica bydła i kóz została sprowadzona do Europy z pierwszymi zwierzętami gospodarskimi, czy bydło i kozy, które nie zetknęły się wcześniej z prątkiem gruźlicy, uległy zakażeniu na nowym kontynencie. Patogen mógł wykorzystać niszę ekologiczną, która w ten sposób doprowadziłaby do ekspansji klonalnej szczepów założycielskich. Jest to hipoteza spójna z hipotezą o zakażeniu antycznego bydła ancestralnymi szczepami *M. bovis*, wykazującymi maksymalną liczbę sekwencji rozdzielających w regionie determinującym. Ostatni wspólny przodek (MRCA) wszystkich szczepów *M. bovis* i *M. caprae* nie zawierał sekwencji rozdzielających 3, 9, 16 i 39-43, co odpowiada spoligotypowi charakterystycznemu dla szczepu szczepionkowego BCG (15). Ancestralny szczep *M. bovis* wywodził się prawdopodobnie od *M. tuberculosis*, i ewoluował jako szczepy

***Mycobacterium caprae* – bovine bacillus. Part I. General characteristics of the species, population genetics and spread**

Krajewska M.¹, Augustynowicz-Kopeć E.²,
Orłowska B.³, Welz M.⁴, Anusz K.³,
Szumowski K.¹, Department of Microbiology,
National Veterinary Research Institute in Pulawy¹,
Department of Microbiology, National Research
Institute for Tuberculosis and Lung Diseases,
Warsaw², Department of Food Hygiene and Public
Health Protection, Faculty of Veterinary Medicine
in Warsaw³, Voivodal Veterinary Inspectorate,
Krosno⁴

This article aims at the presentation of current taxonomy of *Mycobacterium* spp., general characteristic and other important features. Mycobacterial species causing tuberculosis in mammals are merged in the *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC). Ten species are considered as members of the MTBC. All of them are pathogenic to humans and animals, except from a vaccine strain – *M. bovis* BCG. Bovine tuberculosis (bovine TB, BTB) is caused by bovine bacillus: *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae*. The major features differentiating *M. caprae* isolates from other MTBC members are a special combination of polymorphisms in the pseudogene (*oxyR*) and the pyrazinamidase (*pncA*), catalase (*katG*) and gyrase (*gyrA* i *gyrB*) genes. Also geographical spread of *M. caprae* is limited when compared to the worldwide distribution of *M. bovis*. *M. caprae* strains have only been described in Central and South European countries. According to the references, *M. caprae* strains have never been isolated outside continental Europe, except from one case in cattle in Algeria. The studies conducted in Poland in years 2008–2012, by the National Bovine Tuberculosis Reference Laboratory in the Department of Microbiology NVRI in Pulawy, showed that in BTB *M. bovis* dominates (75% of the strains). In wild animals, free-living and kept in captivity however, *M. caprae* predominated – 68% of the isolated strains.

Keywords: *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium bovis*, MTBC, bovine tuberculosis.

różniące się wirulencją i preferencjami odnośnie do żywiciela (16, 17). Choć najnowsze badania filogenetyczne delecji chromosomowych i polimorfizmów jednonukleotydowych (SNP) przyczyniły się do wypracowania bardziej szczegółowego scenariusza ewolucji MTBC, a w szczególności *M. bovis* (16, 18, 19, 20, 21, 22), to jednak teorie dotyczące jego wieku i zasięgu pozostają nadal w sferze spekulacji.

Opracowanie dobrze udokumentowanej filogenezy wymaga przede wszystkim analizy całościowego genomu wielu gatunków szczepów pochodzących z różnych obszarów i okresów. W chwili obecnej jest prowadzonych kilka projektów

sekwencyjnych, które mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia ewolucji MTBC, a w szczególności *M. bovis* i *M. caprae*.

Zastosowanie w ostatnim czasie metod molekularnych w badaniach kolekcji szczepów *M. bovis* umożliwiło identyfikację kompleksów klonalnych identyfikowanych ze wspólnym przodkiem za pomocą stabilnych markerów molekularnych (23). Niedawno dokonano przeglądu kompleksów klonalnych *M. bovis* o nazwach African 1 (20), African 2 (21.) i European 1 (19), charakteryzujących się specyficzną delecją regionu i wzorem spoligotypu.

M. caprae wydaje się być mniej zróżnicowanym organizmem w porównaniu z *M. bovis*. W badaniach przeprowadzonych we Francji stwierdzono znacznie mniej wzorów spoligo dla *M. caprae*, co potwierdza ograniczenie występowania tego gatunku do niewielkiego obszaru w Europie (4, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32).

Metodą spoligotypowania: zidentyfikowano dwa główne klastry szczepów *M. caprae* klaster iberyjski, który posiada charakterystyczny dla tego gatunku spoligotyp [brak sekwencji rozdzielających 1, 3 do 16, 28, i 39-43] (4) i brak sekwencji rozdzielających 30-33 (30, 33). Natomiast większość szczepów *M. caprae* z Europy Środkowej i Wschodniej reprezentuje klaster alpejski posiadających sekwencje rozdzielające 30-33 (25, 34, 35, 36). Iberyjskie szczepy wyraźnie różnią się od *M. bovis* genotypem o niezmiennym regionie RD4 (30, 37). Natomiast właśnie różnice w regionie RD4 umożliwiły podział klastra alpejskiego *M. caprae* na trzy typy związane z miejscem ich pochodzenia: Allgäu, Lechtal i Karwendel. Różnice polegają na obecności dwóch różnych delecji związanych z regionem RD4 5kbb w genomie typu Karwendel i 38 kb w genomie typu Lechtel (32).

Występowanie *M. caprae* w Polsce i na świecie

Z opublikowanych badań epidemiologicznych wynika, że *M. bovis* jest identyfikowany na całym świecie, natomiast geograficzny zasięg *M. caprae* jest ograniczony. Został on rozpoznany wśród zwierząt wyłącznie w krajach Europy Środkowej i Południowej (4, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32). Zgodnie z opublikowanymi badaniami, nigdy nie potwierdzono zakażenia *M. caprae* u zwierząt spoza Europy, z wyjątkiem jednego opisanego przypadku u bydła w Algierii (38). Natomiast gruźlicę u ludzi wywołaną przez *M. caprae* potwierdzono w Australii i Maroku. Pierwszy przypadek dotyczył gruźlicy pęcherza moczowego u 72-letniego włoskiego imigranta mieszkającego od 40 lat

w Australii (39). Natomiast drugi przypadek opisano w pracy, która dotyczyła charakterystyki molekularnej szczepów MTBC wyizolowanych od 592 chorych w Maroku w latach 2004–2006. Jedyną informacją o chorym z gruźlicą wywołaną gatunkiem *M. caprae* zawartą w artykule jest fakt, że był chory z dodatnim wynikiem AFB, czyli obficie prątkujący (40).

Badania przeprowadzone w latach 2008–2012 w Krajowym Referencyjnym Laboratorium Gruźlicy Bydła w Zakładzie Mikrobiologii PIWet-PIB w Puławach, pozwoliły oszacować procent występowania prątków bydłych izolowanych od zwierząt różnych gatunków. Okazało się, że w naszym kraju w przypadku bydła dominuje gatunek *M. bovis*, ok. 75% izolowanych szczepów. Natomiast w przypadku dzikich zwierząt dominuje gatunek *M. caprae* – 68% szczepów (41).

Podsumowanie

Do niedawna określenie fenotypu oporności na PZA było jednym z głównych testów różnicujących *M. bovis* od pozostałych gatunków kompleksu *tuberculosis*. W chwili obecnej coraz częściej rejestrowana jest na świecie, pojedyncza oporność na PZA w obrębie szczepów należących do *M. tuberculosis* complex. W związku z tym, test oporności na PZA, stracił swoją wartość jako test identyfikacyjny dla *M. bovis* (3).

Gruźlica u zwierząt wywołana *M. bovis*, jak i jej geograficzny zasięg, była znana od dawna. Pojawienie się nowych technik biologii molekularnej dało możliwość poznania nowych gatunków w obrębie MTBC, takich jak: *M. caprae*, *M. mungi* czy *M. orygis* (2, 42, 43). Występowanie *M. caprae* ogranicza się jedynie do niewielkiego obszaru Europy Centralnej. W Polsce po raz pierwszy opisano ten gatunek w 2011 r. (44), a dalsze badania wykazały, że rezerwuarem tego gatunku w Polsce są dzikie zwierzęta, zarówno wolno żyjące, jak i utrzymywane w niewoli (Krajewska 2015).

Piśmiennictwo

- Guérin C., Rosenthal S.R.: The history of BCG: early history. W: Rosenthal S.R. (edit.): *BCG vaccination against tuberculosis*. Churchill, London 1957, 48–57.
- Aranaz A., Liébana E., Gmóez-Mampaso E., Galán J.C., Cousins D., Ortega J., Blázquez J., Baquero F., Mateos A., Suarez G., Domínguez L.: *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* subsp. nov.: a taxonomic study of a new member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated from goats in Spain. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1999, **49**, 1263–1273.
- Niemann S., Richter E., Rusch-Gerdes S.: Biochemical and genetic evidence for the transfer of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* Aranaz et al. 1999 to the species *Mycobacterium bovis* Karlson and Lessel 1970 (Approved Lists 1980) as *Mycobacterium bovis* subsp. *caprae* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2002, **52**, 433–436.

4. Aranaz A., Cousins D., Mateos A., Domínguez L.: Elevation of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* Aranaz et al. 1999 to species rank as *Mycobacterium caprae* comb. nov., sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2003, **53**, 1785–1789.
5. Rodriguez-Campos S., Smith N.H., Boniotti M.B., Aranaz A.: Overview and phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms: implication for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis. *Res. Vet. Sci.* 2014, **97**, S5–S19.
6. Niemann S., Richter E., Rüsche-Gerdes S.: Differentiation among members of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by molecular and biochemical features: evidence for two pyrazinamide susceptible subtypes of *M. bovis*. *J. Clin. Microbiol.* 2000, **38**, 152–157.
7. Kasai, H., Ezaki, T., Harayama, S.: Differentiation of phylogenetically related slowly growing mycobacteria by their *gyrB* sequences. *J. Clin. Microbiol.* 2000, **38**, 301–308.
8. Beja-Pereira A., Caramelli D., Lalueza-Fox C., Vernesi C., Ferrand N., Casoli A., Goyache F., Royo L.J., Conti S., Lari M., Martini A., Ouragh L., Magid A., Atash A., Zsolnai A., Boscato P., Triantaphyllidis C., Ploumi K., Sineo L., Mallegni F., Taberlet P., Erhardt G., Sampietro L., Bertranpetit J., Barbujani G., Luikart G., Bertorelle G.: The origin of European cattle: evidence from modern and ancient DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 2006, **103**, 8113–8118.
9. Edwards C.J., Bollongaro R., Scheu A., Chamberlain A., Tresselt A., Vigne J.D., Baird J.F., Larson G., Ho S.Y., Heupink T.H., Shapiro B., Freeman A.R., Thomas M.G., Arbogast R.M., Arndt B., Bartosiewicz L., Benecke N., Budja M., Chaux L., Choyke A.M., Coquegniet E., Döhle H.J., Göldner H., Hartz S., Helmer D., Herzig B., Hon-go H., Mashkour M., Ozdogan M., Pucher E., Roth G., Schade-Lindig S., Schmölcke U., Schulting R.J., Stephan E., Uerpman H.P., Vörös L., Voytek B., Bradley D.G., Burger J.: Mitochondrial DNA analysis shows a Near Eastern Neolithic origin for domestic cattle and no indication of domestication of European aurochs. *Proc. Biol. Sci.* 2007, **274**, 1377–1385.
10. Götherström A., Anderung C., Hellborg L., Elburg R., Smith C., Bradley D.G., Ellegren H.: Cattle domestication in the Near East was followed by hybridization with aurochs bulls in Europe. *Proc. Biol. Sci.* 2005, **272**, 2345–2350.
11. Boyazoglu J., Hatziminaoglu J.: The goat in ancient civilisation from the Fertile Crescent to the Aegean Sea. *Small Ruminant Research* 2004, **51**, 123–129.
12. Boyazoglu J., Boyazoglu Y., Hatziminaoglu J., Morand-Fehr P.: The role of the goat in the society: past present and perspective for the future. *Small Ruminant Research* 2005, **60**, 13–23.
13. Hershberg R., Lipatov M., Small P.M., Sheffer H., Niemann S., Homolka S., Roach J.C., Kremer K., Petrov D.A., Feldman M.W., Gagneux S.: High functional diversity in *Mycobacterium tuberculosis* driven by genetic drift and human demography. *PLoS Biol.* 2008, doi: 10.1371/journal.pbio.0060311.
14. Wirth T., Hildebrand F., Allix-Béguec C., Wölbeling F., Kubica T., Kremer K., van Soolingen D., Rüsche-Gerdes S., Loch C., Brisse S., Meyer A., Supply P., Niemann S.: Origin, spread and demography of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *PLoS Pathol.* 2008, **19**, doi: 10.1371/journal.ppat.1000160.
15. Smith N.H., Kremer K., Inwald J., Dale J., Driscoll J.R., Gordon S.V., van Soolingen D., Hewinson R.G., Smith J.M.: Ecotypes of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J. Theor. Biol.* 2006, **239**, 220–225.
16. Brosch R., Gordon S.V., Marmiesse M., Brodin P., Buchrieser C., Eiglmeier K., Garnier T., Gutierrez C., Hewinson G., Kremer K., Parsons L.M., Pym A.S., Samper S., van Soolingen D., Cole S.T.: A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 2002, **99**, 3684–3689.
17. Mostowy S., Inwald J., Gordon S., Martin C., Warren R., Kremer K., Cousins D., Behr M.A.: Revisiting the evolution of *Mycobacterium bovis*. *J. Bacteriol.* 2005, **187**, 6386–6395.
18. Smith N.H., Gordon S.V., de la Rúa-Domenech R., Clifton-Hadley R.S., Hewinson R.G.: Bottlenecks and broomsticks: the molecular evolution of *Mycobacterium bovis*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2006, **4**, 670–681.
19. Smith N.H., Berg S., Dale J., Allen A., Rodriguez S., Romero B., Matos F., Ghebremichael S., Karoui C., Donati C., Machado Ada C., Mucavele C., Kazwala R.R., Hilty M., Cadmus S., Ngandolo B.N., Habtamu M., Oloya J., Muller A., Milian-Suazo F., Andrievskaia O., Projahn M., Barandiarán S., Macías A., Müller B., Zanini M.S., Ikuta C.Y., Rodriguez C.A., Pinheiro S.R., Figueroa A., Cho S.N., Mosavari N., Chuang P.C., Jou R., Zinsstag J., van Soolingen D., Costello E., Aseffa A., Proaño-Pérez F., Portals F., Rigouts L., Cataldi A.A., Collins D.M., Boschirollo M.L., Hewinson R.G., Ferreira Neto J.S., Surujballi O., Tadyon K., Botelho A., Zárraga A.M., Buller N., Skuce R., Michel A., Aranaz A., Gordon S.V., Jeon B.Y., Källenius G., Niemann S., Boniotti M.B., van Helden P.D., Harris B., Zumárraga M.J., Kremer K.: European 1: a globally important clonal complex of *Mycobacterium bovis*. *Infect. Genet. Evol.* 2011, **11**, 1340–1351.
20. Müller B., Hilty M., Berg S., Garcia-Pelayo M.C., Dale J., Boschirollo M.L., Cadmus S., Ngandolo B.N., Godreuil S., Diguimbaye-Djaibé C., Kazwala R., Bonfoh B., Njanpop-Lafourcade B.M., Sahrroui N., Guetarni D., Aseffa A., Mekonnen M.H., Razanamparany V.R., Ramarakoto H., Djonne B., Oloya J., Machado A., Mucavele C., Skjerve E., Portals F., Rigouts L., Michel A., Müller A., Källenius G., van Helden P.D., Hewinson R.G., Zinsstag J., Gordon S.V., Smith N.H.: African 1, an epidemiologically important clonal complex of *Mycobacterium bovis* dominant in Mali, Nigeria, Cameroon, and Chad. *J. Bacteriol.* 2009, **191**, 1951–1960.
21. Berg S., Garcia-Pelayo M.C., Müller B., Hailu E., Asiimwe B., Kremer K., Dale J., Boniotti M.B., Rodriguez S., Hilty M., Rigouts L., Firdessa R., Machado A., Mucavele C., Ngandolo B.N., Bruchfeld J., Boschirollo M.L., Müller A., Sahrroui N., Pacciarini M., Cadmus S., Joloba M., van Soolingen D., Michel A.L., Djonne B., Aranaz A., Zinsstag J., van Helden P., Portals F., Kazwala R., Källenius G., Hewinson R.G., Aseffa A., Gordon S.V., Smith N.H.: African 2, a clonal complex of *Mycobacterium bovis* epidemiologically important in East Africa. *J. Bacteriol.* 2011, **193**, 670–678.
22. Rodriguez-Campos S., Schürch A.C., Dale J., Lohan A.J., Cunha M.V., Botelho A., De Cruz K., Boschirollo M.L., Boniotti M.B., Pacciarini M., Garcia-Pelayo M.C., Romero B., de Juan L., Domínguez L., Gordon S.V., van Soolingen D., Loftus B., Berg S., Hewinson R.G., Aranaz A., Smith N.H.: European 2—a clonal complex of *Mycobacterium bovis* dominant in the Iberian Peninsula. *Infect. Genet. Evol.* 2012, **12**, 866–872.
23. Smith N.H.: The global distribution and phylogeography of *Mycobacterium bovis* clonal complexes. *Infect. Genet. Evol.* 2012, **12**, 857–865.
24. Haddad N., Ostyn A., Karoui C., Masselot M., Thorel M.F., Hughes S.L., Inwald I., Hewinson R.G., Durand B.: Spoligotype diversity of *Mycobacterium bovis* strains isolated in France from 1979 to 2000. *J. Clin. Microbiol.* 2001, **39**, 3623–3632.
25. Prodinger W.M., Eigenthaler A., Allerberger F., Schonbauer M., Glawisching W.: Infections of red deer, cattle, and humans with *Mycobacterium bovis* subsp. *caprae* in western Austria. *J. Clin. Microbiol.* 2002, **40**, 2270–2272.
26. Gortázar C., Vicente J., Samper S., Garrido J.M., Fernández-de-Mera I.G., Gavin P., Juste R.A., Martín C., Acevedo P., De La Puente M., Höfle U.: Molecular characterization of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates from wild ungulates in south-central Spain. *Vet. Res.* 2005, **36**, 43–52.
27. Boniotti M.B., Gorla M., Loda D., Garrone A., Benedetto A., Mondo A., Tisato E., Zanoni M., Zoppi S., Dondo A., Tagliabue S., Bonora S., Zanardi G., Pacciarini M.L.: Molecular typing of *Mycobacterium bovis* strains isolated in Italy from 2000 to 2006 and evaluation of variable number tandem repeats for a geographic optimized genotyping. *J. Clin. Microbiol.* 2009, **47**, 636–644.
28. Bayraktar B., Bulut E., Baris A.B., Toksoy B., Dalgic N., Calikkan C., Sevgi D.: Species distribution of the *Mycobacterium tuberculosis* complex in clinical isolates from 2007 to 2010 in Turkey: a prospective study. *J. Clin. Microbiol.* 2011, **49**, 3837–3841.
29. Cunha M.V., Matos F., Canto A., Albuquerque T., Alberto J.R., Aranha J.M., Vieira-Pinto M., Bothello A.: Implications and challenges of tuberculosis in wildlife ungulates in Portugal: a molecular epidemiology perspective. *Res. Vet. Sci.* 2011, **92**, 225–235.
30. Rodriguez S., Bezos J., Romer B., de Juan L., Álvarez J., Castellanos E., Moya N., Lozano F., Javed M. T., Sáez-Llorente J.L., Liébana E., Mateos A., Domínguez L., Aranaz A.: *Mycobacterium caprae* infection in livestock and wildlife, Spain. *Emerg. Infect. Dis.* 2011, **17**, 532–535.
31. Schoepf K., Prodinger W.M., Glawisching W., Hofer E., Revilla-Fernandez S., Hofrichter J., Fritz J., Kofer J., Schmolz E.: A Two-Year Survey on the Prevalence of Tuberculosis Caused by *Mycobacterium caprae* in Red Deer (*Cervus elaphus*) in the Tyrol. *ISRN Veterinary Science*, Austria, 2012, 245138.
32. Domogalla J., Prodinger W.M., Blum H., Krebs S., Gellert S., Müller M., Neuendorf E., Sedlmaier F., Büttner M.: Region of difference 4 in alpine *Mycobacterium caprae* isolates indicates three variants. *J. Clin. Microbiol.* 2013, **51**, 1381–1388.
33. Duarte E.L., Domingos M., Amado A., Botelho A.: Spoligotype diversity of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae* animal isolates. *Vet. Microbiol.* 2008, **130**, 415–421.
34. Pavlik I., Bures F., Janovsky P., Pechinka P., Bartos M., Dvorska L., Matlova L., Kremer K., van Soolingen D.: The last outbreak of bovine tuberculosis in cattle in the Czech Republic in 1995 was caused by *Mycobacterium bovis* subspecies *caprae*. *Vet. Med. Czech* 2002, **47**, 251–263.
35. Kubica T., Rüsche-Gerdes S., Niemann S.: *Mycobacterium bovis* subsp. *caprae* caused one-third of human *M. bovis* – associated tuberculosis cases reported in German between 1999 and 2001. *J. Clin. Microbiol.* 2003, **41**, 3070–3077.
36. Erler W., Martin G., Sackse K., Naumann L., Kahlau D., Beer J., Bartos M., Nagy G., Cvetnic Z., Zolnir-Dovc M., Pavlik I.: Molecular fingerprinting of *Mycobacterium bovis* subsp. *caprae* isolates from central Europe. *J. Clin. Microbiol.* 2004, **42**, 2234–2238.
37. Mostowy S., Cousins D., Brinkman J., Aranaz A., Behr M.A.: Genomic deletions suggest a phylogeny for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J. Infect. Dis.* 2002, **186**, 74–80.
38. Sahrroui N., Müller B., Guetarni D., Boulahbal F., Yala D., Ouzrout R., Berg S., Smith N.H., Zinsstag J.: Molecular characterization of *Mycobacterium bovis* strains isolated from cattle slaughtered at two abattoirs in Algeria. *BMC Vet Res* 2009, doi: 10.1186/1746–6148–5–4.
39. Sintchenko V., Jelfs P., Dally M., Crighton T., Gilbert G.L.: A case of urinary tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* subspecies *caprae*. *Pathology*, 2006, **38**, 376–378.
40. Lahlou O., Millet J., Chaoui I., Sabouni R., Filali-Malouf A., Akrim M., El Mzibri M., Rastogi N., El Aouad R.: The genotypic population structure of *Mycobacterium tuberculosis* Complex from Moroccan patients reveals a predominance of Euro-American lineages. *PLoS ONE*, 2012, **7**, e47113.
41. Krajewska M.: *Charakterystyka szczepów Mycobacterium bovis izolowanych od zwierząt w Polsce*. Rozprawa doktorska, PIWet – PIB Puławy, 2015.
42. van Ingen J., Rahim Z., Mulder A., Boeree M. J., Simeone R., Brosch R., van Soolingen D.: Characterization of *Mycobacterium orygis* as *M. tuberculosis* complex subspecies. *Emerg. Infect. Dis.* 2012, **18**, 653–655.
43. Alexander K.A., Laver P.N., Michel A.L., Williams M., van Helden P.D., Warren R.M., Gey van Pittius N.C.: Novel *Mycobacterium tuberculosis* complex pathogen, *M. mungi*. *Emerg. Infect. Dis.* 2010, **16**, 1296–1299.
44. Augustynowicz-Kopec E., Krajewska M., Zabost A., Napiórkowska A., Zwolska Z.: Characterisation of *Mycobacterium bovis* strains isolated from farm and wild animals from Poland. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2011, **55**, 381–383.

Dr Monika Krajewska,
e-mail: monika.krajewska@piwet.pulawy.pl