

Pesquisa (PESQ - 76)

Responsável

Andrea Von Groll

Unidades Envolvidas

FaMed - Faculdade de Medicina

Título

EVOLUÇÃO GENÔMICA E FENOTÍPICA DO *Mycobacterium tuberculosis* EM CASOS DE RECORRÊNCIA DE TUBERCULOSE

Resumo

A recorrência da tuberculose (TB) em pacientes que completaram o tratamento é um desafio para o controle da doença. No Brasil, a recorrência foi responsável por 7,5% dos 73.970 novos casos notificados em 2014. Episódios recorrentes da TB podem surgir por meio de reativação endógena do bacilo *Mycobacterium tuberculosis* que persistiu no hospedeiro mesmo após o tratamento ou por uma reinfecção exógena por uma nova carga bacilar. Ambas as situações são clinicamente indistinguíveis, porém a sua definição pode indicar a efetividade do controle da TB em uma determinada população, principalmente em pacientes vivendo com HIV/AIDS (PVHA), os quais as taxas de recorrência são mais elevadas. Através de Sequenciamento de Genoma Total (SGT), tem sido possível discriminar adequadamente reativação e reinfecção, bem como infecção mista por mais de uma cepa e heterogeneidade em casos de recorrência. Além disso, ao se obter isolados isogênicos em diferentes episódios de infecção, pode se comparar as alterações gênicas devido às pressões seletivas enfrentadas pelo microrganismo temporalmente no hospedeiro, fornecendo informações sobre a capacidade evolutiva do bacilo. No entanto, estes avanços no conhecimento genômico só são de grande valia se for elucidado o seu impacto fenotipicamente, como alterações na sua transmissão, persistência intracelular, patogenicidade e desenvolvimento de resistência. O objetivo deste estudo será caracterizar as evoluções genômica e fenotípica de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* isoladas de pacientes com episódios de recorrência de tuberculose. Este será um estudo transversal observacional analítico onde serão estudados isolados clínicos de *M. tuberculosis* de pacientes com casos de recorrência da TB diagnosticados laboratorialmente no Núcleo de Pesquisa em Microbiologia Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande, no período de janeiro de 2011 a Dezembro de 2017. Posteriormente estas amostras clínicas serão preparadas para a determinação do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos Isoniazida e Rifampicina, caracterização molecular pelo método MIRU-VNTR para definir se a recorrência é por reativação ou reinfecção e isolamento do DNA genômico para seu sequenciamento total utilizando a tecnologia ILLUMINA. Após a montagem da sequência completa dos genomas, as alterações genéticas evolutivas serão determinadas entre os genomas de cepas isogênicas isoladas de diferentes episódios de TB no mesmo paciente. Para compreender o impacto biológico de mutações associadas a resistência e possíveis compensatórias, será realizado

a determinação do fitness relativo comparando a curva de atividade metabólica obtida pelo sistema MGIT320TM. Já o impacto de mutações em genes envolvidos na capacidade de infecção e persistência intracelular será determinado através da infecção in vitro de células DHP-1 (monócitos que podem se diferenciar em macrófagos maduros). Esta pesquisa seguirá os preceitos trazidos pela resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, a qual regulamenta a pesquisa envolvendo seres humanos. O desenvolvimento deste estudo apresentará um panorama da recorrência, principalmente em uma população com alta taxa de co-infecção com PVHA no Brasil. Ao definir se a origem da recorrência é causada por reativação endógena ou por reinfeção exógena e sua associação com características clínicas, epidemiológicas e laboratoriais referentes a estes episódios, poderá se abrir uma nova perspectiva no controle da TB. Como caráter inovador, este estudo integrará o sequenciamento de genoma total aliado à avaliação das variações fenotípicas que possam estar implicadas na multiplicação, infecção e persistência intracelular do bacilo após a modificação gênica. Estas informações também poderão indicar marcadores genéticos associados a determinados comportamentos, a custo biológico e compensatório.