

## Pesquisa (PESQ - 888)

### Responsável

Melissa Orzechowski Xavier

### Unidades Envolvidas

FaMed - Faculdade de Medicina

### Título

Aspergillus no contexto "One Health": Identificação molecular e avaliação da resistência a azóis em isolados clínicos e ambientais

### Resumo

O contexto "One health" considera a saúde em uma abordagem interdisciplinar, interligando a saúde do indivíduo (animal e humano), a saúde da população ou grupo com a saúde do ecossistema. Nesta abordagem "One health", evidencia-se o papel das mudanças ambientais na emergência de doenças crônicas e infecciosas, e, como forte aliada no desenvolvimento de estratégias de prevenção de doenças. Fungos do gênero *Aspergillus* se enquadram substancialmente nesta abordagem, tendo em vista sua ubiquidade, bem como sua importância como potenciais patógenos animais e humanos, podendo a infecção por este agente se manifestar de distintas formas clínicas. Ressalta-se que independente da apresentação clínica, o ambiente tem um papel fundamental na epidemiologia da aspergilose, sendo este a fonte de infecção de espécies potencialmente patogênicas de *Aspergillus* para os distintos hospedeiros suscetíveis. Atualmente o gênero *Aspergillus*, pode ser classificado em seções, sendo algumas das espécies de *Aspergillus* da seção *Fumigati* as mais virulentas e responsáveis pela maioria dos casos de aspergilose tanto em humanos como em animais. Esta seção abrange diversas espécies fenotipicamente semelhantes, as quais podem ser diferenciadas por técnicas moleculares, por variações nos genes codificadores da calmodulina, actina e  $\beta$ -tubulina. Diferenças quanto a virulência, e quanto a suscetibilidade antifúngica entre espécies da seção *Fumigati* já foram descritas, como por exemplo a alta produção de gliotoxina pela espécie *A. fumigatus sensu stricto*, e a resistência intrínseca aos azóis e a anfotericina B pelas espécies *A. lentulus* e *A. felis*. Além dessa resistência intrínseca, o aumento na taxa de resistência aos azóis por isolados de *Aspergillus fumigatus sensu stricto* tem sido documentado, já sendo caracterizado como importante linha de investigação a ser conduzida pela comunidade científica globalmente. No Brasil, estudos com isolados clínicos e ambientais descrevem taxas de resistência fenotípica aos azóis de 5 a 25 %, com recente confirmação da ocorrência das mutações mais conhecidas no CYP51A em isolados resistentes. Assim, devido a ubiquidade do gênero *Aspergillus* e a relação direta dos isolados ambientais com os isolados clínicos, a vigilância referente a identificação genotípica e a resistência aos azóis utilizados para o tratamento da aspergilose deve ser constante. Considerando que o impacto clínico da emergência da resistência aos antifúngicos em *Aspergillus spp.* tem sido evidenciado como um problema de saúde global, abordagens investigativas baseadas no contexto

One health são necessárias. Dessa forma, o objetivo desse projeto é traçar o perfil de epidemiologia molecular de isolados de *Aspergillus* ambientais e clínicos de animais e humanos do sul do Rio Grande do Sul, Brasil, e avaliar perfil de suscetibilidade a azóis e mecanismos de resistência. Serão incluídos aproximadamente 100 isolados previamente identificados por provas fenotípicas como *Aspergillus* seção *Fumigati*, ou seção *Flavi*, sendo 50 ambientais e 50 clínicos. Todos os isolados serão sequenciados para identificação em nível de espécie. O perfil de sensibilidade dos isolados ao itraconazol e ao voriconazol será determinado pela técnica de microdiluição em caldo. Para todos os isolados que apresentarem resistência fenotípica no teste de susceptibilidade será realizado o sequenciamento do gene *CYP51A* para busca por mutações relacionadas a resistência a azóis. Será realizada a comparação das espécies encontradas quanto a sua origem, isolados ambientais dos diferentes locais de coleta, e isolados clínicos, humanos e animal. Quanto ao perfil de suscetibilidade será calculada média geométrica e MIC50 e MIC90 de Itraconazol e Voriconazol, com posterior comparação desses valores entre as espécies de *Aspergillus* identificadas. Para os isolados resistentes no teste fenotípico, a busca pelas mutações no principal gene e seu promotor será realizada, e comparada de acordo com características de origem do isolado, bem como com exposição prévia a profilaxia antifúngica nos isolados clínicos. Serão realizadas análises descritivas e de frequência, bem como teste de qui-quadrado e Kruskal-Wallis para variáveis categóricas, quando pertinente, com auxílio do programa SPSS 20.0. A partir da execução do trabalho proposto, espera-se identificar as espécies de *Aspergillus* envolvidas nas infecções de humanos e de pinguins-de-Magalhães do sul do Brasil, bem como de isolados ambientais. Esses dados inéditos na literatura preencherão uma lacuna existente atualmente no conhecimento epidemiológico da doença, o que poderá futuramente servir de base para novas medidas profiláticas e até mesmo de tratamento, uma vez que as diferentes espécies existentes no mesmo complexo possuem características distintas importantes, como a resistência intrínseca a alguns azóis, como é o caso de *A. lentulus* e *A. felis* perante ao Itraconazol. Ao mesmo tempo, o estudo da determinação de mutações no *CYP51A* dos isolados resistentes fenotipicamente aos azóis, evidenciará dados inéditos para a literatura científica, contribuindo com a mesma que é escassa quanto a esse tema com isolados clínicos de humanos, e inexistente com isolados clínicos de pinguins e isolados ambientais da região estudada. Permitirá agregar dados que contribuirão com o melhor conhecimento quanto a temática da emergência da resistência de *Aspergillus* aos azóis e sua importância no sul do Brasil.