

Controlo da tuberculose O projeto COLOSSUS

O projeto COLOSSUS, liderado pelo INIAV, tem como objetivo inferir as cadeias de transmissão em ungulados domésticos e selvagens, reconstruir a história epidemiológica de *M. bovis* nas diferentes regiões, hierarquizar o risco de infeção e identificar a(s) espécie(s) chave na(s) qual(is) devem ser priorizadas intervenções, reunindo informação robusta e relevante que dê suporte às tomadas de decisão pelas autoridades oficiais, proprietários e entidades gestoras.

TEXTO: MÓNICA V. CUNHA^{1,2} (monica.cunha@iniav.pt) FOTOS: ISTOCK

Valioso material biológico colecionado pelo INIAV no âmbito da sua atividade como Laboratório Nacional de Referência, aliado a tecnologias de última geração, coloca-o atualmente numa posição ímpar para desvendar, com uma resolução sem precedentes, os padrões de transmissão da TB animal em diferentes cenários epidemiológicos do território nacional. Acresce a possibilidade de se esclarecer os mecanismos de variação antigénica deste agente patogénico, os quais têm implicações no diagnóstico laboratorial, na transmissão e na evolução do quadro clínico, e cujo conhecimento é crucial para o

desenvolvimento futuro de uma estratégia eficaz que proteja os animais da infeção.

PORQUÊ A CARATERIZAÇÃO MOLECULAR DE MYCOBACTERIUM BOVIS?

Conjuntamente com a recolha de dados epidemiológicos de prevalência de tuberculose em ungulados domésticos e em espécies de caça maior, e da definição de uma área de risco, foram realizados e publicados pelo INIAV, ao longo dos anos, trabalhos científicos tendo por base a caracterização molecular de *Mycobacterium bovis* isolado de diferentes hospedeiros, em diferentes cenários epidemiológicos e contextos

espaciotemporais. Esta análise molecular é fundamental para se conhecerem as fontes e vias de transmissão, sendo que a identificação de isolados bacterianos com a mesma “assinatura molecular” em hospedeiros domésticos e silvestres suporta a hipótese de transmissão entre hospedeiros (à escala individual) ou diferentes espécies de ungulados (à escala da população ou da zona de caça).

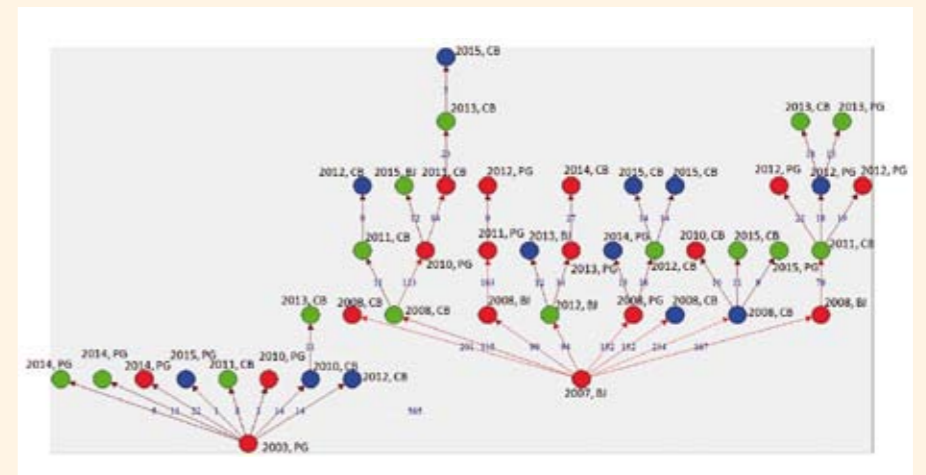
O INIAV dispõe da maior coleção nacional de *M. bovis* e *M. caprae*, que totaliza cerca de 3000 isolados obtidos desde 2003. Foi pioneiro na caracterização molecular dos isolados bacterianos nacionais por *spoligotyping* e MIRU-VNTR e tem genotipado,

desde 2008 e com regularidade, os isolados oriundos de várias espécies animais, do território continental e dos Açores, confirmando a predominância de um complexo clonal na Península Ibérica (clone Europeu 2), ao qual pertencem cerca de 70% das estirpes, e identificando no nosso país vários genótipos e *clades* não anteriormente reportados. Os estudos liderados pelo INIAV permitiram também sustentar a investigação epidemiológica de surtos em explorações e casos de re-infeção após vazio sanitário associados à movimentação animal. Têm ainda salientado a elevada diversidade genotípica de *M. bovis* nas espécies de

COLOSSUS

Controlo de tuberculose na interface bovino-silvestre com recurso a soluções inovadoras inspiradas na natureza (POCI-01-0145-FEDER-029783)

O INIAV coordena atualmente um projeto de investigação multidisciplinar (Acrónimo COLOSSUS), que tem como parceiros a Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa e o CIBIO da Universidade do Porto e colaboração com a Universidade da Geórgia, nos EUA. O projeto visa a sequenciação do genoma de centenas de isolados de *M. bovis* e o desenvolvimento de modelos eco-epidemiológicos, a várias escalas, baseados na incorporação de dados epidemiológicos e incorporação da filodinâmica de *M. bovis* em modelos matemáticos para inferir, com simulações estocásticas, e à escala fina do genoma, as cadeias de transmissão (na figura anexa). A filodinâmica explora o facto de os genomas (património genético) dos microrganismos acumularem mutações ao longo do tempo. À evolução natural dos microrganismos, acresce que tipicamente associado ao “salto” de um hospedeiro para o outro ficam “cicatrices” desse processo de transmissão, i.e. mutações no genoma do agente patogénico. Hoje em dia, com recurso a equipamentos sofisticados e técnicas de bioinformática, essas mutações podem ser detetadas, rastreadas, e artificialmente reconstruídas no tempo e no espaço, no contexto de um processo sustentado de transmissão. Assim, o financiamento deste projeto possibilitará reconstruir a história demográfica da tuberculose no território nacional e identificar quantitativamente a(s) espécie(s)-chave na(s) qual(is) devem ser priorizadas intervenções, tendo por base os genomas da coleção de isolados de *M. bovis* oriundos de bovinos, javalis, veados, e outras espécies animais, bem como metadados sobre o cenário em que foram



Árvore de transmissão: reconstrução (por simulação estocástica) das cadeias de transmissão entre bovinos, veados e javalis, tendo como informação de base o ano de isolamento, espécie hospedeira e região geográfica de animais positivos a tuberculose nos distritos de Beja, Castelo Branco e Portalegre. As ligações estabelecidas têm por base o número de diferenças nucleotídicas (números indicados sobre as ligações) detetadas nos genomas dos isolados em comparação. Vermelho - bovinos; azul - javalis; verde - veados.

recolhidos. Neste projeto, está também previsto o desenvolvimento de um novo método que permitirá caracterizar a resiliência e o genoma de *M. bovis* presente no ambiente (solo e água), avaliando quantitativamente o peso desta componente nas cadeias de transmissão indireta. Estas dinâmicas serão incorporadas em modelos preditivos de transmissão e controlo de doenças, abrindo caminho para o desenvolvimento de uma aplicação computacional capaz de quantificar o efeito (e o custo/benefício) de uma dada intervenção (por exemplo, abate seletivo de uma dada classe etária de veados), ajudando os tomadores de decisão a fazer escolhas informadas nas opções de controlo.

¹ Investigadora do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV, I.P.) e do Centro de Competências para o Estudo, Gestão e Sustentabilidade das Espécies Cinegéticas e Biodiversidade.

² É a Investigadora Responsável pelo projeto COLOSSUS (POCI-01-0145-FEDER-029783), financiado através de Fundos do Programa Operacional de Competitividade e Internacionalização (POCI), na sua componente FEDER, e do Programa Operacional Regional de Lisboa, na componente de Orçamento de Estado.

ungulados do território nacional, mostrando a associação de genótipos (“perfil de identidade”) de isolados obtidos de diferentes espécies hospedeiras numa mesma região, e mostrado a existência de genótipos comuns com os de isolados de surtos ocorridos em Espanha.

NOVA ABORDAGEM PARA INFORMAR DECISÕES

Apesar de terem sido identificados alguns fatores de risco ao nível das explorações, que podem ser mitigados pelo manejo e reforço de medidas de biossegurança, a existência de reservatórios selvagens e a inexistência de uma vacina eficaz que proteja os animais

da infeção limitam grandemente o controlo desta doença.

Embora a vigilância regular tenha fornecido informações valiosas sobre a prevalência e a ocorrência espacial da TB em

Conhecer a dinâmica de transmissão é essencial para estabelecer políticas sanitárias

áreas onde o javali e o veado são simpátricos, e onde existe sobreposição de habitat com bovinos de regime extensivo, subsistem muitos aspetos desconhecidos à escala local ou individual, nomeadamente os aspetos determinísticos das cadeias de transmissão entre bovinos, entre ungulados

silvestres, na interface entre bovinos e ungulados silvestres e entre os animais e o ambiente. Apesar das associações epidemiológicas estabelecidas até ao momento com base em perfis de genotipa-

gem convencionais dos isolados clínicos, não há evidência, a uma escala fina, das cadeias de transmissão relacionando a infeção dos hospedeiros selvagens com a dos hospedeiros domésticos (ou a nível intraespecífico, i.e. entre animais da mesma espécie) que permita inequivocamente

demonstrar o contexto espaciotemporal e o cenário ecológico em que terá ocorrido transmissão cruzada. Esta possibilidade de grande resolução dos processos de transmissão é hoje oferecida por técnicas de sequenciação de nova geração e por simulações estocásticas associadas a modelos matemáticos, que permitem reconstruir, com uma probabilidade associada, uma ou mais cadeias de transmissão. O conhecimento mecanístico desta dinâmica de transmissão é essencial para se poder inferir o impacto de novas intervenções no controlo da doença e para informar/apoiar as políticas sanitárias e de gestão de populações. ■