



Caracterização da virulência de cepas de *Mycobacterium kansasii* isoladas no Brasil em pacientes com doença pulmonar não-tuberculosa

Vinicius de Oliveira Mussi, Sanderson Dias Calixto, Fabricio Moreira Almeida, Sidra Vasconcellos, Philip Suffys, Thatiana Lopes Biá Ventura Simão, Elena Lassounskaia

Infecções pulmonares causadas por micobactérias não tuberculosas (NTM), incluindo *Mycobacterium kansasii* (*Mkan*), demonstram maior prevalência no Brasil. Os sinais clínicos da doença causada por *Mkan* são similares aos da tuberculose, sugerindo aumento da virulência destas bactérias. O objetivo deste estudo foi avaliar a virulência de dez cepas isoladas no Brasil de pacientes com doença pulmonar em comparação com a cepa de referência *Mkan* ATCC 12478. A aptidão bacteriana foi avaliada pelo monitoramento do crescimento em meio Middlebrook 7H9. A capacidade de crescimento intracelular e a indução de morte por necrose foi avaliada pela infecção em macrófagos murinos RAW 264,7. Além disso, avaliamos a ativação dos macrófagos induzidos por micobactérias através da quantificação de citocinas (TNF- α , IL-1 β , IFN- γ e IL-10) e óxido nítrico no sobrenadante da cultura de células por ELISA sanduíche e ensaio de Griess, respectivamente. As cepas 8835, 8839 e 10953 exibiram altos níveis de crescimento em macrófagos e foram capazes de induzir morte por necrose em células infectadas em MOI (Multiplicidade de infecção) de 10:1, sendo consideradas altamente virulentas. Em contrapartida, as cepas 3657, 7287 e 7439 mostraram baixos níveis de toxicidade em culturas de macrófagos infectadas em baixa dose MOI 10:1 ou alta dose de infecção MOI 50:1, sugerindo baixa virulência. Outras cepas, incluindo a de referência, exibiram níveis intermediários de virulência. As cepas altamente virulentas, em contraste com as cepas menos virulentas, induziram altos níveis de TNF- α , mas não de IL-1 β ou IFN- γ . Para validar os resultados dos testes *in vitro*, foram selecionadas três cepas (8835, 4404 e 12478) e adicionalmente avaliada a virulência em camundongos C57Bl/6 infectados intratraquealmente com 5.10^4 CFU/animal. Como esperado, a cepa 8835 foi mais virulenta, capaz de induzir rapidamente doença progressiva associada com a inflamação pulmonar granulomatosa extensiva que leva à morte dos animais em 40 dias após a infecção, visto que outras micobactérias causaram inflamação pulmonar leve, levando à doença crônica. Observou-se diferença considerável na virulência dos isolados clínicos de *Mkan*. A maioria dos isolados exibiram níveis mais elevados de virulência do que a cepa de referência.

Palavras-chave: *Mycobacterium kansasii*, infecção, virulência.

Instituição de fomento: CAPES, UENF, FAPERJ.