

Microbioma respiratório saudável: um projeto inovador na primeira coorte de nascimento em Angola

Healthy respiratory microbiome: an innovative project within the first birth cohort in Angola

Miguel Lanaspa

MD, MSc, PhD

Investigador Associado

GHTM, IHMT, Universidade NOVA de Lisboa

Márcia Melo Medeiros

MD, PhD

Bolseiro post-doc

GHTM, IHMT, Universidade NOVA de Lisboa

Resumo

A pneumonia pediátrica permanece como a principal causa de mortalidade infantil com um efeito particularmente devastador nos países de África subsaariana, apesar da implementação de programas de prevenção e atuação precoce contra a pneumonia pediátrica nos países de baixo rendimento. O estudo do microbioma humano e dos efeitos positivos na saúde pode ser uma das respostas contra a mortalidade infantil por doenças infecciosas. Este projeto de colaboração entre instituições portuguesas e angolana visa estabelecer uma coorte de recém-nascidos na área de estudo do Centro de Investigação em Saúde de Angola como base para determinar o microbioma respiratório saudável que poderia ser um alvo para novas estratégias preventivas. Além disso, a coorte será uma estrutura de investigação capaz de atrair fundos, promover a investigação translacional e criar oportunidades de formação de investigadores angolanos.

Palavras Chave:

Pneumonia, mortalidade, microbiota.

Abstract

Childhood pneumonia remains the major infant killer worldwide and displays a particularly devastating effect in sub-Saharan Africa despite the implementation and scaling-up of preventive programs and early management against paediatric pneumonia in developing countries. Studying the human microbiome and its positive effects in health may be one of the answers needed to tackle paediatric mortality caused by infectious diseases. This collaborative project between Portuguese and Angolan institutions aims to establish a birth cohort in the study area covered by CISA (Centro de Investigação em Saúde de Angola) in order to determine the healthy respiratory microbiome that could be the target for innovative preventive measures. Moreover, the birth cohort will be a research platform enabling the attraction of competitive funds, promoting translational research and creating opportunities to train Angolan researchers.

Key Words:

Pneumonia, mortality, microbiota.

Introdução

Em regiões subsaarianas a mortalidade infantil é ainda muito alta, apesar das reduções alcançadas durante a iniciativa de desenvolvimento do Milénio (MDG). Entre 1990 e 2015, a mortalidade em crianças menores de cinco anos foi reduzida em 52% (em comparação com o objetivo de reduzi-la em dois terços) [1]. A pneumonia permanece como a principal causa de mortalidade entre crianças, assumindo, porém, particular relevância em países em desenvolvimento [2]. Várias iniciativas têm sido propostas ultimamente, visando reduzir a mortalidade associada à doença. As orientações disponibilizadas pela OMS no “Manejo Integrado para o Atendimento de Doenças na Infância” e a introdução das vacinas contra *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae* tipo b, na maioria dos programas nacionais de imunização, são exemplos bem-sucedidos [3]. Porém, se a manutenção dessas estratégias é de demasiada importância, a introdução de novas medidas preventivas faz-se também necessária, uma vez que existem outros microrganismos envolvidos na pneumonia pediátrica. Uma medida preventiva complementar poderá surgir do estudo do microbioma humano, ou seja, a totalidade dos microrganismos presentes no corpo humano.

No que se refere ao microbioma humano, há um crescente interesse e evidências de associação entre determinadas patologias e o microbioma. Alterações no microbioma intestinal foram associadas a várias condições em adultos (obesidade, diabetes, doença inflamatória intestinal) [4-6] e em crianças (desnutrição) [7]. De uma forma geral, ter um microbioma mais diversificado está associado a estados mais saudáveis [8,9]. Além disso, as intervenções visando o microbioma intestinal tais como a administração de probióticos têm sido estudadas para avaliar a sua eficácia em patologias gastrointestinais, com resultados promissores. O microbioma respiratório tem recebido menos atenção sendo escassos os estudos em crianças. O microbioma respiratório parece estar associado com infecções do trato respiratório, e a administração de probióticos nasais está associada com diminuição da virulência e prevalência de patogénicos na nasofaringe [10,11]. Há também algumas evidências de associações entre o microbioma intestinal e o microbioma respiratório [12,13]. Se estas associações foram confirmadas, potencialmente abriria a porta para estratégias terapêuticas e preventivas, visando um dos locais, mas com efeitos benéficos para ambos os locais.

O objetivo principal desse projeto é caracterizar o microbioma respiratório associado a uma menor incidência e gravidade de episódios de pneumonia, em crianças de uma área semi-rural de Angola. Esse projeto postula e propõe caracterizar o microbioma do trato respiratório superior implicado em proteção ao desenvolvimento de

pneumonia em crianças. Pretende-se dessa forma, elaborar uma nova estratégia preventiva de modo a diminuir a incidência de pneumonia em crianças, através da modificação do microbioma do trato respiratório.

Materiais e métodos

O local de estudo será o Centro de Investigação em Saúde de Angola (CISA). O CISA está situado numa área do continente africano onde, na proximidade, não existe nenhum outro centro de investigação com características semelhantes, localizados principalmente na África Oriental ou Central. As instalações do CISA estão localizadas na cidade do Caxito, a 60 km de Luanda, no centro urbano do município do Dande, na Província do Bengo. Esta província ocupa um largo território que rodeia a província da capital, Luanda, com uma população, de acordo com o Recenseamento Geral da População de 2014, de 356 641 habitantes, fazendo fronteira a norte com as províncias do Zaire e do Uíge. As três comunas do Município do Dande: Caxito, Mabubas e Úcuá; foram definidas como a área de intervenção prioritária do Projeto CISA, tendo uma população de aproximadamente 60 000 habitantes distribuídos por 69 bairros com características quer urbanas, quer rurais. Nessa área, o CISA tem implementado um sistema de vigilância demográfica que consiste em rondas anuais com coleta de dados demográficos de todos os membros da comunidade, o qual possibilita acompanhar os participantes com garantias. Além disso, o CISA segue padrões de alta qualidade no manejo dos dados colectados, com criptografia de identificadores e acesso aos bancos de dados somente a pessoal autorizado entre outras medidas de proteção de dados.

Na área de estudo do CISA são registados aproximadamente 800 nascimentos por ano. Um mínimo de 500 recém-nascidos serão recrutados seguindo os procedimentos éticos necessários para formar a primeira coorte de recém-nascidos de Angola, e por extensão, de África Ocidental. Amostras e dados clínico-epidemiológicos serão colectados, sucessivamente, ao longo de pelo menos dois anos, possibilitando documentar a dinâmica de aquisição do microbioma nas crianças. Essa estratégia possibilitará a obtenção de informação valiosa quanto ao melhor momento para implementar medidas preventivas. Finalmente, o microbioma respiratório de 100 crianças que apresentaram pelo menos um episódio de pneumonia ao longo do seguimento será comparado com o microbioma respiratório de outras 100 crianças saudáveis, pareadas por sexo e idade.

As amostras respiratórias de eleição são os aspirados nasofaríngeos. Este tipo de amostra permite não só caracterizar as comunidades bacterianas do trato respiratório superior, mas também os vírus respiratórios presentes. Uma vez colhidas, as amostras serão mantidas a 4 °C e transportadas ao laboratório do CISA para processamento, que inclui a

preparação de dois alíquotas de 1 mL, uma para armazenamento a -80°C, e outra para extração imediata de DNA. O DNA extraído será enviado a Lisboa para análise molecular usando métodos de Next-Generation Sequencing (sequenciação completa da região hipervariável V3-V4 do gene da subunidade 16S dos ribossomos).

Resultados esperáveis e discussão

Este projeto que nasce como colaboração entre o IHMT, o CISA e a Fundação Calouste Gulbenkian, tem sido submetido à dois financiadores, nomeadamente à Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT-Portugal 2020) e à chamada conjunta da FCT-Fundação Aga Khan. Esta última chamada é particularmente interessante porque visa fortalecer relações institucionais existentes entre instituições portuguesas (neste caso o IHMT) e instituições dos PALOP (neste caso o CISA), o que ilustra claramente um dos objetivos principais deste tipo de investigação: a colaboração internacional entre países que partilham um mesmo objetivo que não é outro que melhorar as condições de saúde das populações mais desfavorecidas conseguindo ao mesmo tempo uma transferência de conhecimentos e capacidades em duas direções. Neste projeto estão previstas uma série de formações específicas como a capacitação do pessoal de laboratório do CISA na extração de DNA de amostras biológicas, mas também ensino formal baseado no projeto como mestrados no IHMT de pessoal investigador angolano, ao mesmo tempo que mestrados de alunos portugueses com estadias formativas no terreno.

Desde o ponto de vista estritamente científico, o projeto espera identificar o microbiota respiratório saudável, ou seja, o conjunto de bactérias no trato respiratório superior

susceptíveis de proteger as crianças de infeções respiratórias graves como a pneumonia. Além de abrir um campo com grande potencial (a bacterioterapia como adjuvante de outras medidas de Saúde Pública contra as doenças transmissíveis), os resultados deste projeto irão contribuir à luta contra a iniquidade em saúde não só desde a base (desenvolvimento duma nova ferramenta preventiva contra uma doença com alta mortalidade infantil), mas também desde um ponto de vista sustentável ao favorecer a formação de futuros investigadores angolanos e o fortalecimento das estruturas de investigação. O exemplo mais claro para ilustrar este fortalecimento é a criação da coorte de recém-nascidos, uma plataforma de investigação com imenso potencial para estudar os determinantes dos estados de doença e saúde, não só das crianças mas também dos adultos, baseado nas evidências cada vez mais numerosas sobre os efeitos das exposições nos primeiros anos de vida sobre as futuras doenças na idade adulta. É certo que o projeto atualmente unicamente seria financiado para os primeiros dois anos de vida, mas com interesse institucional e apoio científico e técnico, uma plataforma destas características possui todas as garantias para atrair fundos competitivos no futuro próximo, contribuindo ao mesmo tempo ao aumento da autonomia científica e liderança dos investigadores angolanos.

Conclusões

No atual mundo globalizado as iniquidades em saúde deveriam ser vistas como um lembrete constante do nosso fracasso como espécie. As ocasiões para criar colaborações com benefícios diretos para todos os atores envolvidos (situações “win-win”) não são raras e devemos estar alertas para aproveitar estas oportunidades.

Bibliografia

- Liu L, Oza S, Hogan D, et al. The estimated mortality impact of vaccinations forecast to be administered during 2011-2020 in 73 countries supported by the GAVI Alliance. *Lancet* 2016; 388(10063): 3027-35. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31593-8. Epub 2016 Nov 11.
- Nair H, Simoes EA, Rudan I, et al. Global and regional burden of hospital admissions for severe acute lower respiratory infections in young children in 2010: a systematic analysis. *Lancet* 2013; 381(9875): 1380-90.
- Jordens JZ, Slack MP. Haemophilus influenzae: then and now. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14(11): 935-48.
- Komaroff AL. The Microbiome and Risk for Obesity and Diabetes. *JAMA* 2017; 317(4): 355-6. doi: 10.1001/jama.2016.20099.
- Moreno-Indias I, Sanchez-Alcoholado L, Garcia-Fuentes E, Cardona F, Queipo-Ortuno MI, Tinahones FJ. Insulin resistance is associated with specific gut microbiota in appendix samples from morbidly obese patients. *Am J Transl Res* 2016; 8(12): 5672-84. eCollection 2016.
- Rodriguez-Castano GP, Caro-Quintero A, Reyes A, Lizcano F. Advances in Gut Microbiome Research, Opening New Strategies to Cope with a Western Lifestyle. *Front Genet* 2016; 7:224. (doi): 10.3389/fgene.2016.00224. eCollection 2016.
- Slattery J, MacFabe DF, Frye RE. Childhood undernutrition, the gut microbiota, and microbiota-directed therapeutics. *Clin Med Insights Pediatr* 2016; 10: 91-107. eCollection 2016.
- McDonald D, Ackermann G, Khailova L, et al. The healthy human microbiome. *mSphere* 2016; 1(4). (pii): e00199-16. doi: 10.1128/mSphere.-16. eCollection 2016 Jul-Aug.
- Rose G, Shaw AG, Sim K, et al. Extreme Dysbiosis of the Microbiome in Critical Illness. *PeerJ* 2017; 5:e2928. (doi): 10.7717/peerj.2928. eCollection 017.
- Allen EK, Koeppl AF, Hendley JO, Turner SD, Winther B, Sale MM. Characterization of the nasopharyngeal microbiota in health and during rhinovirus challenge. *Microbiome* 2014; 2: 22.
- Bassis CM, Erb-Downward JR, Dickson RP, et al. Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals. *MBio* 2015; 6(2): e00037.
- Blanton LV, Barratt MJ, Charbonneau MR, Ahmed T, Gordon JL. Neonatal Gastrointestinal and Respiratory Microbiome in Cystic Fibrosis: Potential Interactions and Implications for Systemic Health. *Science* 2016; 352(6293): 1533. doi: 10.126/science.aad9359.
- Miraglia Del Giudice M, Indolfi C, Allegorico A, et al. The Gut-Lung Axis in Respiratory Disease. *J Biol Regul Homeost Agents* 2015; 29(2 Suppl 1): 80-3.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesse.