

GIOVANNI EMIDDIO ROMANO

Achados em genômica comparativa de *Mycobacterium caprae* e seus impactos no metabolismo e crescimento *in vitro*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

São Paulo - SP

2020

GIOVANNI EMIDDIO ROMANO

Achados em genômica comparativa de *Mycobacterium caprae* e seus impactos no metabolismo e crescimento *in vitro*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Microbiologia

Orientador: Ana Marcia de Sá Guimarães

São Paulo - SP

2020

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

Romano, Giovanni Emiddio

Achados em genômica comparativa de *Mycobacterium caprae* e seus impactos no metabolismo e crescimento in vitro / Giovanni Emiddio Romano; orientador Ana Marcia de Sá Guimarães. -- São Paulo, 2020.

160 p.

Dissertação (Mestrado)) -- Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Complexo *Mycobacterium tuberculosis*. 2. *Mycobacterium caprae*. 3. Genômica comparativa. 4. Metabolismo. 5. Predição proteica. I. Guimarães, Ana Marcia de Sá, orientador. II. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Giovanni Emiddio Romano

Título da Dissertação/Tese: "ACHADOS EM GENÔMICA COMPARATIVA DE
Mycobacterium caprae E SEUS IMPACTOS NO METABOLISMO E
CRESCIMENTO *in vitro*".

Orientador: Profa. Dra. Ana Marica de Sá Guimarães

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Dissertação de Mestrado/Tese de Doutorado, em sessão publica realizada a/...../....., considerou o(a) candidato(a):

Aprovado(a) **Reprovado(a)**

Examinador(a): Assinatura:

Nome:

Instituição:

Examinador(a): Assinatura:

Nome:

Instituição:

Examinador(a): Assinatura:

Nome:

Instituição:

Presidente: Assinatura:

Nome:

Instituição:



Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", Butantã, São Paulo, SP - Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III - 05508 000
Comissão de Ética em Pesquisa - Telefone(11) 3091-7733 - e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO DE ISENÇÃO

Certificamos que o Protocolo CEP-ICB nº **1135/2020** referente ao projeto intitulado: **"ACHADOS EM GENÔMICA COMPARATIVA DE *Mycobacterium caprae* E SEUS IMPACTOS NO METABOLISMO E CRESCIMENTO in vitro**, sob a responsabilidade do(a) aluno(a) ***Giovanni Emiddio Romano***, e orientação do(a) Prof.(a) Dr.(a) ***Ana Márcia de Sá Guimarães***, do Departamento de Microbiologia, foi analisado pela **CEUA** - Comissão de Ética no Uso de Animais e pelo **CEPSH** - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, tendo sido deliberado que o referido projeto não utilizará animais que estejam sob a égide da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, nem envolverá procedimentos regulados pela Resolução CONEP nº 466/2012.

São Paulo, 05 de outubro de 2020.

Profa. Dra. **Luciane Valéria Sita**
Coordenadora CEUA ICB/USP

Profa. Dra. **Camila Squarzoni Dale**
Coordenadora CEPSH ICB/USP

Dedicatória

Aos meus pais, João Romano e Geane de Oliveira Romano.

Às minhas irmãs Sarogaid Oliveira Romano Cristo e Raitha Romano Barreta.

Ao meu namorado Rodrigo Brazauskas Rodrigues.

Ao meu vô bigodes, Manuel de Oliveira.

À minha nonna, Adoloratta Chiovitti Romano.

A todos cientistas e profissionais de saúde do Brasil que lutaram bravamente e faleceram durante a pandemia de COVID-19.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) e suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - Brasil (CNPq) (processo nº 169426/2017-3); Morris Animal Foundation (MAF) (processo D17ZO-307); e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (processo nº 2016/26108-0).

AGRADECIMENTOS

Nenhum sonho seria possível sem meus pais. Minha mãe, Geane de Oliveira Romano, e meu pai, João Romano, nunca deixaram de me incentivar a estudar e conquistar grandes vitórias. Nunca deixaram de me apoiar e animar. Tudo que eu sou, é graças a vocês! Eu devo TUDO a vocês! Não existe forma para demonstrar o meu agradecimento ou retribuí-lo da maneira que merecem. Espero ser tão bom para meus filhos e sobrinhos como são para nós. **Eu amo vocês intensamente!** <3

Minhas irmãs, sempre me apoiando, me ajudando e me trazendo alegria nos momentos mais estressantes e cansativos da minha jornada de vida. Cada uma com características únicas, complementares e perfeitas para mim! Como é bom ter vocês na minha vida! Obrigado pela paciência, amizade, risada, broncas, aventuras e carinho. **Eu amo vocês!** <3

Ao meu namorado, Rodrigo Brazauskas Rodrigues, pela paciência, apoio, conversas, amor, passeios, cultura, sabedoria e a amizade que me proporciona. Espero que se sinta tão completo quanto eu me sinto ao seu lado. Obrigado por chegar no momento certo e por aceitar ficar. **Eu te amo**, Cebolinha. <3

Ao meu filho, melhor amigo, companheiro, palhaço, Reikí Koda Romano, que chegou na minha vida no momento que eu mais precisava e me trouxe cura emocional, física e mental. Obrigado por me esperar acordar todos os dias, por me fazer rir, por me amar até nos meus piores momentos. Você é meu “beludo” e **eu te amo demais.** <3

O melhor caminho para alcançar nossos objetivos é convivendo e aprendendo com pessoas que admiramos e nos espelhamos, colocando-as como meta em nossa vida. Prof^a Dr^a Ana Marcia de Sá Guimarães, como é honroso poder trabalhar com você! Me lembro que, durante minha entrevista, eu disse que “quero ser um professor de grande exemplar”. Hoje, tranquilamente, eu mudaria a frase para “quero ser um professor como você! tão inteligente, dedicado, empático e exemplar como você!”. Me sinto confortável no laboratório desde o dia que cheguei. Obrigado pelo voto de confiança, pelos ensinamentos, paciência,

correções e por dirigir o LaPAM e o BM com inclusão, fé na ciência, muito profissionalismo e amor. A cada dia somos mais cientistas, mais inteligentes, mais família, mais “Ana”, graças a você. **Muita Luz! <3 Rs.**

Aos meus amigos e colegas de trabalho do LaPAM, Alexandre Campos Banari, Felipe Silva, Taiana Tainá Silva Pereira, Kerstin Müner, Naila Cristina Soler Camargo, Cristina Kraemer Zimpel, Camila do Nascimento Araújo, Renata Furlan, Antônio Francisco de Souza Filho, Gabriela Larissa da Guia Oliveira e Carolina Bertelli por serem profissionais incríveis, companheiros e sempre, mesmo nos momentos mais tensos, me fazerem rir! Somos uma verdadeira fábrica de memes. Deixo um agradecimento em especial a Alexandre Campos Banari, Naila Cristina Soler Camargo, Cristina Kraemer Zimpel e, claro, a magnífica Taina Tainá Silva Pereira, por me ensinar, orientar, ser paciente e ser minha terapeuta nas horas vagas. Eu só tenho a agradecer! Seria perfeito de todo pós-graduando tivesse um LaPAM em seu laboratório.

Aos amigos pesquisadores do laboratório de Micoplasmas.

Obrigado Fernanda Sycko Marchiano, Lucas dos Santos, Wendel Augusto Castro, Vitor Sergio de Oliveira Junior, Bruna Dudalski Almeida, Mayara Paganini, Elaine Costa, Taisa Romano Guilherme, Monique Lacerda, Guilherme Gomes, Débora Sanches **e a todos** que tornaram tudo mais fácil e fluído. A ajuda de vocês será sempre lembrada!

Por fim, agradeço minha nonna, Adoloratta Chiovitti Romano. Nós sabemos os bastidores de quando me inscrevi para a prova do departamento eu pedi para que orasse por mim. “Eu rezo todos os dias! Vou pedir isso também!”. Sua fé em Deus e em mim me trouxe essa vitória!

Pessoal, conseguimos!

“A vida sem ciência é uma espécie de morte.”

Sócrates.

RESUMO

ROMANO, G. E. **Achados em genômica comparativa de *Mycobacterium caprae* e seus impactos no metabolismo e crescimento *in vitro***. 2020. 160f Dissertação (Mestrado em ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2020.

A tuberculose (TB), causada por bactérias do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC), é a maior causa de morte humana por um único patógeno no mundo. Um agravante subestimado desta enfermidade é a TB zoonótica causada por membros do MTBC de importância veterinária, como o *M. bovis* e *M. caprae*. Descrito primeiramente em 1999, *M. caprae* é encontrado principalmente em países europeus afetando diferentes animais, incluindo bovinos, caprinos, cervídeos, coelhos, elefantes e etc, sendo responsável por um terço dos casos de TB zoonótica em regiões endêmicas. Ao contrário de *M. tuberculosis* e *M. bovis*, pouco se sabe sobre a biologia de *M. caprae*. Em nosso laboratório, observamos um fenótipo de crescimento limitado durante o cultivo desta espécie *in vitro* quando comparado a *M. tuberculosis* e *M. bovis*, sugerindo que *M. caprae* apresente alterações metabólicas importantes. Por possuírem uma evolução clonal e genomas altamente similares, com >99.95% de identidade em regiões homólogas, membros do MTBC podem ser analisados por genômica comparativa utilizando *M. tuberculosis* como referência. Assim, utilizando um banco de dados de 72 genomas de *M. caprae*, avaliamos a presença de polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs), inserções e deleções (Indels) comuns aos genomas desta espécie em relação a *M. tuberculosis* H37Rv e o impacto destas mutações nas proteínas e no metabolismo de *M. caprae*. Por fim, propusemos hipóteses sobre a formulação de um meio de cultura específico para *M. caprae*. Foram detectadas 1.577 variações (SNPs e indels) em pelo menos 95% dos 72 genomas de *M. caprae* quando comparados a *M. tuberculosis* H37Rv, traduzindo em um total de 731 proteínas com SNPs não sinônimos ou *frameshifts* em regiões codificadoras com potencial de afetar a função proteica. Com base no software PROVEAN e

assumindo que proteínas com *frameshifts* perdem sua atividade, 203 (27.77%) dessas proteínas mostraram mutações deletérias para sua função. Essas proteínas potencialmente deletérias conferem lesões metabólicas importantes no metabolismo central de carbono associadas a metabolização do piruvato e ciclos de Krebs e metilmalonil, influenciando diretamente na produção de succinato e moléculas redutoras. Importantes alterações foram também observadas nos metabolismos de colesterol e nitrato, enquanto outras enzimas deletérias eram metabolicamente redundantes. Foi possível também observar mutações deletérias em fatores de virulência e em proteínas relacionadas ao metabolismo de dormência bacteriana. Portanto, hipotetizamos que as mutações descritas neste trabalho afetam diretamente a replicação *in vitro* e *in vivo*, e sugerimos uma nova formulação para meio de cultivo baseado em estratégias para aumentar a produção de succinato, e conseqüentemente fumarato e malato, e combater o estresse oxidativo e o desbalanço de poder redutor. Esse é o primeiro estudo a avaliar o metabolismo de *M. caprae* e esperamos que esses achados contribuam para a compreensão do metabolismo adaptativo e para melhorar o crescimento dessa espécie *in vitro*, contribuindo para pesquisas e diagnóstico.

Palavras chaves: Complexo *Mycobacterium tuberculosis*; *Mycobacterium caprae*; Genômica comparativa; Metabolismo.

ABSTRACT

ROMANO, G. E. **Findings from comparative genomics of *Mycobacterium caprae* and their impacts on metabolism and growth in vitro.** 2020. 160f. Dissertação (Mestrado em ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2020.

Tuberculosis (TB), which is caused by bacteria of the *Mycobacterium tuberculosis* Complex (MTBC), is the main cause of human deaths globally, considering a single pathogen. An underestimated aggravation factor regarding TB is the zoonotic TB cases, caused by members of the MTBC of veterinary relevance, such as *Mycobacterium caprae*. First described in 1999, *M. caprae* occurs mainly in European countries and infect different animal species, including cattle, goats, deer, rabbits, elephants, and so on. *M. caprae* alone is responsible for one third of endemic zoonotic cases of TB. Unlike *M. tuberculosis*, the biology of *M. caprae* is not well known or described. In our laboratory it was observed a limited growth phenotype during its in vitro cultivation, in comparison with *M. tuberculosis* and *M. bovis*. This finding suggests that *M. caprae* presents important metabolic alterations. Since MTBC have clonally evolved from a common ancestor and have highly similar genomes, with more than 99,95% of homolog regions identity, member of MTBC can be analyzed by comparative genomics, using *M. tuberculosis* as reference. Therefore, using a 72 *M. caprae* database, we evaluated the presence of common single nucleotide polymorphisms (SNPs), insertions and deletions, in comparison with *M. tuberculosis* H37Rv, and the impact of these mutations on proteins and on the *M. caprae* metabolism. Finally, we have proposed hypotheses about the formulation of a specific culture medium for *M. caprae* growth. There were detected 1,577 variations (SNPs and indels) in at least 95% of the 72 *M. caprae* genomes, compared to *M. tuberculosis* H37Rv. Likewise 731 proteins with non-synonymous SNPs or frameshifts in coding regions with potential to affect protein function. Based on the PROVEAN software and

assuming that the proteins with frameshifts have lost their activity, 203 (27.77%) of these proteins are shown to present deleterious mutation for their functions. These potentially deleterious proteins cause important metabolic lesions in central carbon metabolism and the metabolization of pyruvate, the Krebs cycle, and the methylmalonyl cycle. These alterations directly influence the production of succinate and reducing molecules. Important changes were also observed on cholesterol and nitrate metabolism, while other deleterious enzymes were metabolically redundant. It was also observed some deleterious mutations in virulence factors and in protein related to dormancy metabolism. Thus, here we hypothesize that the mutations here described directly affect *in vivo* and *in vitro* replication, and suggest a new formulation for culture medium, based on strategies to enhance succinate production, and consequently fumarate and malate, avoid oxidative stress and reducing power. This is the first study to evaluate *M. caprae* metabolism and we hope to enhance the comprehension of its adaptive metabolism and its *in vitro* growth, for research and diagnose purposes.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis* Complex; *Mycobacterium caprae*; Comparative genomic; Metabolism.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação ilustrativa da evolução dos integrantes do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*, destacando o patógeno humano *Mycobacterium tuberculosis* e o patógeno generalista *Mycobacterium caprae*.....**29**
- Figura 2.** Representação ilustrativa dos continentes Europa, África e Ásia apresentando os países onde o isolamento de *M. caprae* já foi descrito e seus respectivos hospedeiros.....**32**
- Figura 3.** Representação ilustrativa do metabolismo central de carbono e proteínas carreando mutações deletérias envolvidas no processo em *Mycobacterium caprae*.....**53**
- Figura 4.** Representação ilustrativa da integração da beta-oxidação de ácidos-graxos e seus produtos finais com o TCA.....**62**
- Figura 5.** Representação ilustrativa da integração da glicólise e do ciclo tricarboxílico (TCA) e as mutações encontradas envolvendo o metabolismo de aminoácidos, intensificados por mutações no metabolismo de nitrogênio envolvendo o gene *narG* e *narX*.....**70**
- Figura 6.** Representação ilustrativa da integração do metabolismo de *Mycobacterium caprae* apresentando as principais mutações encontradas em genômica comparativa e suas implicações e limitações metabólicas.....**78**

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Esquema ilustrativo apontando presença e ou ausência das Regiões de diferença (RDs) 1, 4, 9 e 12 em micobactérias do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* de maior importância humana e animal:.....**27**
- Tabela 2.** Tabela esquemática apresentando as vias com maior quantidade e proteínas mutadas e sua (s) respectiva (s) classe (s) e COGs.....**45**
- Tabela 3.** Tabela esquemática apresentando *gene IDs* e classificação de genes onde a presença de SNPs levou a um truncamento e um códon de parada precoce, ou a uma extensão de cauda de aminoácidos de tamanho desconhecido, ou perda de códon de iniciação nas proteínas de *Mycobacterium caprae*.....**47**
- Tabela 4.** Tabela esquemática apresentando quantidade e porcentagem de todas as proteínas de *Mycobacterium caprae* consideradas deletérias (substituição de aminoácidos e *frameshifts*) e sua (s) respectiva (s) classificação (ões).....**48**
- Tabela 5.** Principais mutações encontradas em proteínas associadas ao metabolismo central de carbono em *Mycobacterium caprae* em relação a *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv e seus scores dados pelo programa PROVEAN protein.....**50**
- Tabela 6.** Principais mutações encontradas em proteínas associadas ao metabolismo e transporte de lipídeos em *Mycobacterium caprae* em relação a *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv e seus scores dados pelo programa PROVEAN protein.....**57**

Tabela 7. Principais mutações encontradas em proteínas associadas ao metabolismo e transporte de lipídeos em *Mycobacterium caprae* em relação a *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv e seus scores dados pelo programa PROVEAN protein.....**65**

Tabela 8. Mutações encontradas em proteínas associadas a cadeia transportadora de elétrons em *Mycobacterium caprae* em relação a *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv e seus scores dados pelo programa PROVEAN protein.....**71**

Tabela 9. Outras mutações importantes encontradas em *Mycobacterium caprae* em relação a *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv e seus scores dados pelo programa PROVEAN protein.....**73**

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

TB	Tuberculose
TBb	Tuberculose bovina
MTBC	Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Mtb	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
RDs	Regiões de diferença
SNPs	Polimorfismos de único nucleotídeo
Indels	Inserções e deleções
Kb	Kilobase
Bp	Pares de base
A	Adenina
T	Timina
C	Citosina
G	Guanina
Ala	Alanina
Arg	Arginina
Asn	Asparagina
Asp	Ácido aspártico
Glu	Ácido Glutâmico
Cys	Cisteína
Gly	Glicina
Gln	Glutamina
His	Histidina
Ile	Isoleucina
Leu	Leucina
Lys	Lisina
Met	Metionina
Phe	Fenilalanina
Pro	Prolina
Ser	Serina

Tyr	Tirosina
Thr	Treonina
Trp	Triptofano
Val	Valina
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
PZA	Pirazinamida
MCC	Metabolismo central de carbono
TCA	Ciclo do ácido cítrico
PPP	Via das Pentoses Fosfato
PK	Enzima piruvato quinase
AG	Ácidos graxos
NADH	Dinucleótido de nicotinamida e adenina em forma reduzida
FADH₂	Dinucleótido de flavina e adenina em forma reduzida
FADH	Dinucleótido de flavina e adenina em forma oxidada
NAD	Dinucleótido de nicotinamida e adenina em forma oxidada
NO	Óxido nítrico
OADC	Ácido oleico, Albumina, Dextrose e Catalase
CDS	Coding DNA sequences
IL	Interleucina
TNFα	Fator de necrose tumoral alfa
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
NH₃	Amônia
NH₄	Íon Amônia
CoA	Coenzima A
LAM	Lipoarabnomananas
LM	Lipomananas
PIMs	Fosfatidilinositol manosidade

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	24
2.1. A tuberculose: um grave problema de saúde humana e animal	24
2.2. Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	26
2.3. <i>Mycobacterium caprae</i>	30
2.4. Metabolismo de Micobactérias.....	33
2.5. Genômica comparativa e predição metabólica a partir de genomas: uma ferramenta para otimização de cultivo bacteriano.....	36
2.6. A problemática de cultivo de <i>Mycobacterium caprae</i> em estudos.....	38
3. OBJETIVOS.....	40
3.1. Objetivo Geral	40
3.2. Objetivos Específicos	40
4. MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1. Conjuntos de dados genômicos.....	41
4.2. Controle de qualidade dos conjuntos de reads.....	41
4.3. Mapeamento e detecção de variantes de <i>M. caprae</i>	42
4.4. Variantes core.....	42
4.4. Classificação em COG dos CDS carreando mutações em <i>M. caprae</i>	43
4.5. Predição de mutações deletérias em proteínas de <i>M. caprae</i>	43
4.6. Predições metabólicas em <i>M. caprae</i>	43
4.7. Disponibilização de códigos	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1. Variantes core de estirpes de <i>Mycobacterium caprae</i>	44
5.2. Avaliação do impacto das mutações nas proteínas de <i>M. caprae</i> utilizando PROVEAN.....	46
5.2. Principais mutações deletérias em proteínas do metabolismo central de carbono em <i>Mycobacterium caprae</i>	49
5.3. Principais mutações no metabolismo de lipídeos em <i>Mycobacterium caprae</i>	56
5.4. Principais mutações no metabolismo de aminoácidos e de nitrogênio em <i>Mycobacterium caprae</i>	64
5.5. Mutações encontradas na cadeia carreadora de elétrons	71
5.6. Outras mutações importantes encontradas em <i>Mycobacterium caprae</i>	72
5.7. Hipóteses para desenvolvimento de meios de cultivo para <i>M. caprae</i>	77

5.7.2. Hipótese do Propionil-CoA e seus efeitos in vivo	79
5.7.2. Um meio de cultura espécie-específico para <i>Mycobacterium caprae</i> a base de Middlebrook 7H9 enriquecido com OADC e piruvato de sódio	80
6. CONCLUSÃO	81
REFERÊNCIAS	83
ANEXOS	125
Anexo I. Lista de todas as referências numeradas, onde é descrito o isolamento de <i>Mycobacterium caprae</i> nos continentes Europa, Ásia e África até setembro de 2020 (As numerações são correspondentes às presentes na Figura 1).	125
Anexo II. Lista de todas as 78 reads utilizadas na análise com seus respectivos números de acesso, origem dos isolados e data de publicação.	133
Anexo III. Lista de todas variantes (excluindo sinônimas e intergênicas) encontradas em genômica comparativa entre <i>Mycobacterium caprae</i> e <i>Mycobacterium tuberculosis</i> estirpe H37Rv.....	136
Anexo IV. Lista de todas frameshifts encontradas em genômica comparativa entre <i>Mycobacterium caprae</i> e <i>Mycobacterium tuberculosis</i> estirpe H37Rv.....	159

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa causada por bactérias do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) e um grave problema de saúde pública. Caracteriza-se como a maior causa de morte humana causada por um único patógeno no mundo, com 10 milhões de novos casos e 1.2 milhões de óbitos e mais 250 mil mortes ao ano em indivíduos portadores do HIV (WHO, 2020). O MTBC é composto por 11 espécies de micobactérias que apresentam sequências homólogas de seus genomas > 99,95% idênticas, sendo que a transferência horizontal de genes, assim como grandes recombinações, são consideradas ausentes. Esses micro-organismos evoluem por meio de deleções (algumas conhecidas como Regiões de Diferença – RDs - que variam de 2 a 12,7 Kb), polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs), inserções e deleções (Indels), transposição de elementos móveis e duplicação de um número limitado de famílias de genes parálogos, que podem lhes conferir características únicas de cada espécie como predileção a hospedeiros e virulência (BROSCH et al., 2002; WARREN et al., 2006; GAGNEUX; SMALL, 2007; GALAGAN, 2014; RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2014; GAGNEUX, 2018).

Membros do MTBC podem ser divididos em dois grupos: patógenos adaptados a humanos, representados por *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium africanum* (principais causadores da TB humana), e patógenos adaptados a animais, representados por diversas espécies infectando mamíferos domésticos e selvagens, sendo que *Mycobacterium bovis* e *Mycobacterium caprae* são aqueles de maior importância em saúde animal e pública, principalmente por causarem a TB zoonótica (PRODINGER et al., 2014; MALONE; GORDON, 2017; OLEA-POPELKA et al., 2017). Ao contrário das estirpes adaptadas a humanos, *M. bovis* e possivelmente *M. caprae* possuem uma predileção mais irrestrita por espécies hospedeiras (i.e. patógeno generalista), sendo capaz de infectar diversas espécies animais, inclusive humanos (MALONE; GORDON, 2017). Estima-se que até 2% dos casos de TB humana sejam decorrentes destas espécies em países desenvolvidos (MIGNARD; PICHAT;

CARRET, 2006), sendo que cerca de 140 mil casos e 12.500 mortes são estimadas anualmente por TB zoonótica no mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION; NATIONS; HEALTH, 2017).

Mycobacterium bovis e *M. caprae* são importantes patógenos veterinários, com impacto significativo na produção bovina e de pequenos ruminantes. *Mycobacterium caprae*, objeto desta dissertação, foi isolado e descrito pela primeira vez em lesões disseminadas em cabras na região da Espanha, sendo primeiramente classificado como *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* (ARANAZ et al., 1999a). Esses isolados apresentavam polimorfismo no gene *pncA* característico de *M. tuberculosis*, isto é, sensível a pirazinamida (PZA), ao contrário da maioria de *M. bovis*, e sequências dos genes *oxyR*, *katG* e *gyrA*, características de *M. bovis* (ARANAZ et al., 1999a). Posteriormente, com base em estudos em que analisaram a presença ou ausência de RDs (BROSCH et al., 2002; MOSTOWY et al., 2002) a árvore evolutiva das espécies do MTBC foi redesenhada, sendo sugerido então a nomenclatura de *Mycobacterium caprae* (ARANAZ et al., 2003). Desde então, *M. caprae* vem sendo isolado de diferentes animais (PESCIAROLI et al., 2014).

O metabolismo das micobactérias é determinante de sua relação com o hospedeiro e persistência intracelular. Essas bactérias são capazes de utilizar uma ampla variedade de moléculas a seu favor, de carboidratos a lipídeos e proteínas sob diversas situações de estresse, ausência de nutrientes, baixa tensão de oxigênio e etc., conferindo-lhes flexibilidade metabólica, ainda que esses mecanismos não estejam totalmente elucidados (BERNEY; COOK, 2010). A maioria dos estudos metabólicos se limitam a *M. tuberculosis* ou micobactérias não tuberculosas de crescimento rápido, possivelmente devido ao crescimento lento das espécies do MTBC e a necessidade de laboratórios de alto nível de biossegurança, tornando informações sobre vias metabólicas de demais micobactérias do MTBC escassas e fragmentadas (WHEELER; RATLEDGE, 1994).

O advento de novas tecnologias, como o sequenciamento de genoma completo, permitiu a obtenção de diversas informações sobre a fisiologia destes micro-organismos (BEHR, 2015). Estudos de genômica comparativa vem sendo cada vez mais utilizados para obter informações sobre o MTBC e seus diferentes genes envolvendo o metabolismo e virulência (BROSCH et al., 2001; COCKLE et al., 2002; MARRI; BANNANTINE; GOLDING, 2006; RIBEIRO-GUIMARÃES; PESSOLANI, 2007; FORRELLAD et al., 2013; XIONG et al., 2017; ZIMPEL et al., 2017b). Para melhor conhecimento deste patógeno, assim como outros membros do MTBC, é imprescindível entender seu genoma e, conseqüentemente, seu metabolismo. Nosso grupo acredita que particularidades genotípicas de *M. caprae*, como SNPs e Indels, sejam responsáveis por características específicas no metabolismo e virulência de *M. caprae*, corroborando com seu crescimento discrepante em relação a diferentes micobactérias do MTBC cultivadas em nosso laboratório, assim como uma possível dinâmica de infecção diferenciada quando comparado a outras espécies do complexo (AGUILAR LEÓN et al., 2009).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A tuberculose: um grave problema de saúde humana e animal

A tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa, majoritariamente pulmonar, causada por bactérias do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) sendo a maior causa de morte humana causadas por um único patógeno (WHO, 2020). Em um quadro clássico de TB pulmonar humana, uma vez inalado, o patógeno viaja até os alvéolos pulmonares, onde podem ou não ser eliminados pelo sistema imunológico. Caso o sistema imunológico não consiga eliminar o patógeno, este invade e se multiplica em macrófagos alveolares do hospedeiro, levando a formação de estruturas de contenção denominadas granulomas e, uma vez que encontram a corrente sanguínea e ou linfonodos podem eventualmente migrar para diferentes regiões do corpo hospedeiro, retratando a tuberculose extrapulmonar (FLYNN; CHAN, 2001; PAI et al., 2016; GAGNEUX, 2018). A transmissão se dá pessoa a pessoa, quando um indivíduo doente fala, tosse ou

espirra e elimina gotículas e aerossóis contaminados que são inalados por outro indivíduo. No caso da TB zoonótica, os patógenos são transmitidos a humanos via ingestão de alimentos *in natura* contaminados e, também, por contato com animais doentes para humanos (WORLD HEALTH ORGANIZATION; NATIONS; HEALTH, 2017).

Ainda que a maior parte dos casos de TB no mundo esteja em países populosos e em desenvolvimento, como países da África e Ásia, a incidência per capita mundial vem aumentando cada vez mais (DYE, 2006). Esse aumento na incidência global de TB é visto desde a década de 80, com a grande epidemia de HIV, aumentando significativamente a população vulnerável (DYE et al., 2005). Apesar das taxas de TB em pacientes HIV positivos permanecerem abaixo de 1% em países como China, Indonésia e Paquistão, em 2004 a OMS (2005) estimou que 13% dos adultos recém-diagnosticados com TB haviam sido infectados com HIV. Atualmente são estimados 10 milhões de novos casos e 1.2 milhões de óbitos em pessoas HIV-negativas e mais 250 mil mortes em indivíduos portadores do HIV ao ano por TB (WHO, 2020), enquanto que, anualmente, ocorram aproximadamente 140 mil casos e 12.500 mortes por TB zoonótica (OIE, 2017). Os casos de TB zoonótica são possivelmente subestimados, uma vez que casos de TB humana causadas por *M. bovis* ou *M. tuberculosis* não são diferenciados na rotina diagnóstica (OLEA-POPELKA et al., 2017).

Enquanto *M. tuberculosis* é o principal responsável pela TB humana, *M. bovis* e *M. caprae* são os principais causadores da TB bovina (bTB), em animais selvagens e zoonótica. Ao contrário de *M. tuberculosis*, que é altamente adaptado a humanos (i.e. patógeno, especialista), *M. bovis* e possivelmente *M. caprae* possuem uma predileção mais irrestrita por hospedeiros (i.e. patógeno generalista), sendo capaz de infectar diversas espécies animais com diferentes graus de persistência populacional, incluindo o homem (MALONE; GORDON, 2017). Além da bTB possuir forte impacto para agricultores devido a restrições comerciais, acumulando prejuízos milionários ao ano em diversos países, a doença ainda é responsável por importantes perdas econômicas e ecológicas

devido a redução da produção leiteira e de corte, morte ou descarte de animais domésticos e selvagens infectados. Em zoológicos, devido a falta de um tratamento efetivo, a eutanásia das espécies doentes ocorre com frequência, numa tentativa de minimizar a disseminação do patógeno entre os demais animais. Por outro lado, a prevalência da doença na vida selvagem varia com a região e com o tipo de população de vida livre afetada (FITZGERALD; KANEENE, 2012; ZIMPEL et al., 2017a), dificultando a mensuração global do seu impacto. Em países onde a comercialização de carne é extensa, como o Brasil e Argentina, as perdas econômicas são consideráveis (PARREIRAS et al., 2012), o que levou o Brasil, em 2001, a criar o Programa Nacional de Erradicação e Controle da Brucelose e Tuberculose Bovina (PNCEBT), estabelecendo medidas que incluem a testagem de animais e saneamento de rebanhos (BRASIL, 2006).

2.2. Complexo *Mycobacterium tuberculosis*

O MTBC é um grupo composto por espécies de micobactérias causadoras da TB em humanos e ou animais, como *Mycobacterium tuberculosis* linhagens 1 a 4, 7 e 8; *Mycobacterium africanum* linhagens 5 e 6; *Mycobacterium bovis*; *Mycobacterium caprae*; *Mycobacterium pinnipedii*; *Mycobacterium microti*; *Mycobacterium orygis*; *Mycobacterium suricattae*; *Mycobacterium mungi*; “dassie bacillus” e “chimpanzee bacillus”. (GALAGAN, 2014; GAGNEUX, 2018; ORGEUR; BROSCHE, 2018; RIOJAS et al., 2018). Os integrantes do MTBC apresentam sequências homólogas de seus genomas >99,95% idênticas, sendo que a transferência horizontal de genes, assim como grandes recombinações, são consideradas ausentes. Esses micro-organismos evoluem por meio de deleções (algumas conhecidas como Regiões de Diferença – RDs - que variam de 2 a 12,7 Kb) (Tabela 1), polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs), inserções e deleções (Indels), transposição de elementos móveis e duplicação de um número limitado de famílias de genes parálogos, que podem lhes conferir características únicas de cada espécie como predileção a hospedeiros e virulência (BROSCHE et al., 2002; WARREN et al., 2006; GAGNEUX; SMALL, 2007; GALAGAN, 2014; RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2014; GAGNEUX, 2018). Estas RDs em seus

genomas delimitam diferenças entre os membros do MTBC, possibilitando a diferenciação de espécies e que obedecem a características fenotípicas importantes como o grau de virulência do patógeno, biossíntese de lipídios, obtenção de energia e tempo de replicação, por exemplo, implicando diretamente na apresentação clínica e evolução da doença e a predileção ao hospedeiro (GALAGAN, 2014; EL-SAYED et al., 2016; RAJWANI et al., 2018).

Tabela 1. Esquema ilustrativo apontando presença e ou ausência das Regiões de diferença (RDs) 1, 4, 9 e 12 em micobactérias do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* de maior importância humana e animal:

Espécie	RD1	RD4	RD9	RD12
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Presente	Presente	Presente	Presente
<i>Mycobacterium africanum</i>	Presente	Presente	Ausente	Presente
<i>Mycobacterium bovis</i>	Presente	Ausente	Presente	Presente
<i>Mycobacterium bovis</i> BCG	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Mycobacterium caprae</i>	Presente	Presente	Ausente	Ausente

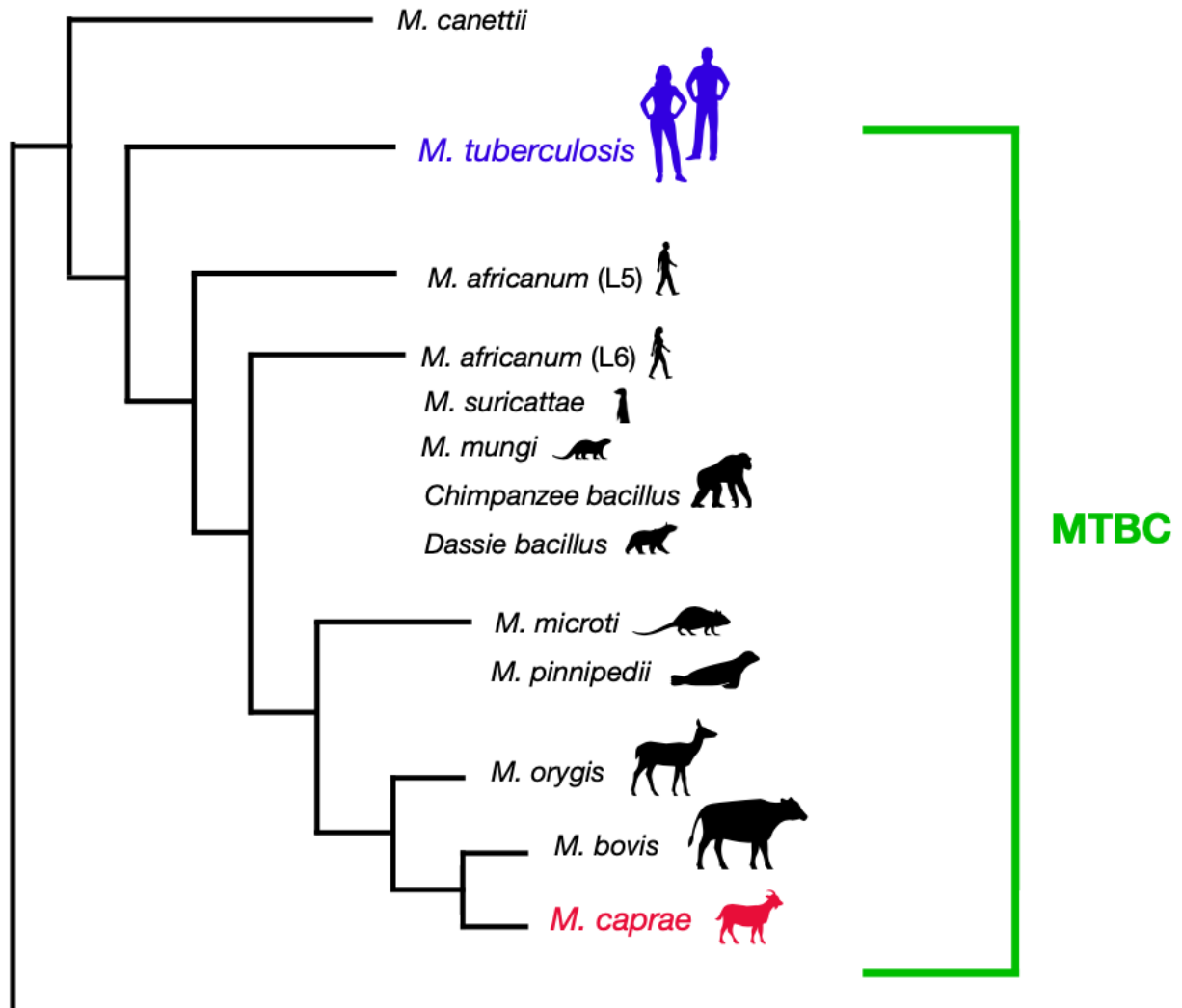
Fonte: Adaptado de WARREN et al., (2006).

Em geral, o MTBC pode ser subdividido em patógenos humanos e patógenos animais (BRITES et al., 2018). Dentre os patógenos humanos, *M. tuberculosis* se apresenta como o principal agente causador da TB em humanos, e é classificado em 6 possíveis linhagens (L1 a L4, L7 e L8), enquanto *Mycobacterium africanum*, também um patógeno humano de importância, pode ser diferenciado em duas linhagens (L5 e L6) com características geográficas distintas. *Mycobacterium tuberculosis* está amplamente distribuído pelo globo, enquanto que *M. africanum* está predominantemente concentrado no Oeste africano, onde representa aproximadamente 50% dos casos de tuberculose nesta região (DE JONG; ANTONIO; GAGNEUX, 2010; RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2014; GAGNEUX, 2018).

Dentre os patógenos animais, destacam-se *M. bovis* e *M. caprae* (PESCIAROLI et al., 2014). *Mycobacterium bovis* é capaz de infectar tanto animais domésticos, predominantemente bovinos, quanto selvagens e o homem, sendo distribuído globalmente (SZEWZYK et al., 1995; ROMERO et al., 1999; GARNIER et al., 2003; ALLIX-BÉGUEC et al., 2010; O'CONNOR et al., 2019). Por outro lado, *M. caprae* é extensamente relatado infectando ruminantes domésticos e animais selvagens predominantemente na Europa (PESCIAROLI et al., 2014; DORN-IN et al., 2020a; OZTURK-GURGEN et al., 2020), mas também relatado como agente zoonótico (HANSEN et al., 2012; PRODINGER et al., 2014; KOZIŃSKA; KRAJEWSKA-WĘDZINA; AUGUSTYNOWICZ-KOPEĆ, 2020). Ainda que menos comuns, *Mycobacterium microti* é descrito como patógeno em roedores (KREMER et al., 1998), *Mycobacterium pinnipedii* em mamíferos marinhos, incluindo golfinhos e pinípedes (ROE et al., 2019; SILVA-PEREIRA et al., 2019), *Mycobacterium orygis* em antílopes (VAN INGEN et al., 2012), *Mycobacterium suricattae* em suricatos (DIPPENAAR et al., 2015), *Mycobacterium mungi* em mangustos (ALEXANDER et al., 2010), “dassie bacillus” infectando hírax e “chimpanzee bacillus”, infectando chimpanzé (SMITH et al., 2006; COSCOLLA; GAGNEUX, 2014; GALAGAN, 2014; RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2014; DIPPENAAR et al., 2015).

No contexto evolutivo de MTBC, inicialmente acreditava-se que *M. bovis* seria uma espécie mais ancestral ao *M. tuberculosis* (GARNIER et al., 2003), porém, estudos evidenciam que os integrantes do MTBC emergiram clonalmente a partir um ancestral comum com *Mycobacterium canettii* (GALAGAN, 2014; GAGNEUX, 2018; ORGEUR; BROSCHE, 2018), uma outra micobactéria tuberculosa restrita ao leste do continente africano (Figura 1), sendo *M. bovis* um patógeno evolutivamente mais recente. Apesar de já ter sido relatado causando TB em humanos (SOMOSKOVI et al., 2009) e ser sugerido como integrante do MTBC, por possuir um genoma mais extenso, recombinações e transferência horizontal de genes, *M. canettii* não se agrupa a demais características dos integrantes do complexo (SUPPLY et al., 2013; ZHANG et al., 2016).

Figura 1. Representação ilustrativa da evolução dos integrantes do Complexo *Mycobacterium tuberculosis*, destacando o patógeno humano *Mycobacterium tuberculosis* e o patógeno generalista *Mycobacterium caprae*.



Legenda: Evolução do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (destacado em verde) a partir de um ancestral em comum por regiões de deleção (RDs) e Polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), evidenciando *Mycobacterium canettii* como ancestral comum, *Mycobacterium tuberculosis* (azul) como o integrante ancestral das demais micobactérias do complexo, e a origem evolutiva de *Mycobacterium caprae* (vermelho).

Fonte: adaptado de GALAGAN (2014) e BRITES et al. (2018).

2.3. *Mycobacterium caprae*.

Mycobacterium caprae foi isolado pela primeira vez de lesões disseminadas em cabras na região da Espanha. Os isolados apresentavam polimorfismo no gene *pncA* característico de *M. tuberculosis*, isto é, sensível a pirazinamida (PZA), e sequências dos genes *oxyR*, *KatG* e *gyrA* características de *M. bovis*. Os padrões obtidos pelo elemento de inserção IS6110 eram diferentes dos demais membros do MTBC, sendo primeiramente classificado como *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* (ARANAZ et al., 1999a). No ano seguinte, foi realizado um estudo analisando 96 estirpes do MTBC, onde encontrou-se um grupo com ausência adicional de espaçadores 3 ao 16 do spoligotipo e susceptibilidade à PZA, já descrito por Aranaz e colaboradores (1999). Devido à importância clínica da resistência à PZA, foram propostas as nomenclaturas *M. bovis* subsp. *bovis* aos micro-organismos resistentes à PZA e *M. bovis* subsp. *caprae* aos susceptíveis à PZA (NIEMANN; RICHTER; RÜSCH-GERDES, 2000). Posteriormente, com base em estudos em que analisaram a presença ou ausência de RDs (BROSCH et al., 2002; MOSTOWY et al., 2002) a árvore evolutiva das espécies do MTBC foi redesenhada, sendo sugerido então a nomenclatura de *Mycobacterium caprae* (ARANAZ et al., 2003).

Desde então, *M. caprae* vem sendo isolado em diversos países (Figura 2), predominantemente na península ibérica, obtido de diferentes animais, incluindo bovinos, caprinos, cervídeos, coelhos, elefantes e etc. (PATE et al., 2006; CVETNIC et al., 2007; AMATO et al., 2017; YOSHIDA et al., 2018; DORN-IN et al., 2020a; SEVILLA et al., 2020). Mesmo que infecções em animais domésticos e selvagens já tenham sido documentadas, a literatura carece de uma descrição que compare as lesões causadas por *M. caprae* e lesões por *M. bovis* nos animais, já que é subentendido que *M. caprae* tenha suas particularidades em virulência e metabólicas (GARCÍA-JIMÉNEZ et al., 2013; DE LA FUENTE et al., 2015). García-Jiménez e colaboradores (2013) observaram uma tendência em javalis infectados com *M. caprae* apresentarem granulomas com células gigantes multinucleadas, que reduz a capacidade do animal de conter a infecção,

facilitando a disseminação da doença (RHYAN; SAARI, 1995; MARTÍN-HERNANDO et al., 2010). É creditado que espécies selvagens, como os veados, sejam infectadas por *spillover*, mantendo o questionamento de alguns integrantes do MTBC não serem adaptados a apenas um hospedeiro, podendo usar diversos animais como hospedeiros de manutenção (PRODINGER et al., 2014).

Figura 2. Representação ilustrativa dos continentes Europa, África e Ásia apresentando os países onde o isolamento de *M. caprae* já foi descrito e seus respectivos hospedeiros.



Fonte: Autoria Própria.

Legenda: Continentes Africano, Europeu, Asiático e Oceania e seus países (Portugal, Espanha, França, Alemanha, Áustria, Croácia, Itália, Polônia, Argélia, Bósnia e Herzegovina, Bulgária, Irlanda, Grécia, Suíça, Turquia, Hungria, Eslováquia, Eslovênia, República Tchêquia, Ucrânia, Tunísia, Romênia, Albânia, Escócia, Bélgica, Reino unido, Irlanda, Sérvia, China e Japão) onde já foram relatados o isolamento de *Mycobacterium caprae* (em azul). Dados gerados até publicações de setembro de 2020 (referências disponíveis no Anexo I).

Somente na Alemanha, *M. caprae* foi responsável por um terço dos casos de TB zoonótica, antes associada somente a *M. bovis* entre os anos 1999 e 2001, levantando a importância da identificação efetiva destes patógenos zoonóticos (KUBICA; RÜSCH-GERDES; NIEMANN, 2003). Casos de meningite humana e TB urinária em um idoso, TB peritoneal em homem de meia-idade e linfadenite em uma criança por *M. caprae* já foram reportados (SINTCHENKO et al., 2006; BAYRAKTAR et al., 2011; HANSEN et al., 2012; NEBREDA et al., 2016). Ainda que a incidência documentada de infecção em humanos por *M. caprae* seja baixa, devido a políticas públicas adotadas pela Europa há décadas, a taxa de infecção continua sendo majoritariamente em europeus nativos (PRODINGER et al., 2005; NEBREDA et al., 2016), ainda que já foi descrito um caso em humano no Marrocos (LAHLOU et al., 2012). Achados recentes, como o isolado do Japão (YOSHIDA et al., 2018), da China (ZENG et al., 2013) e na Tunísia (LAMINE-KHEMIRI et al., 2014), onde a política de contenção pode não ser adotada corretamente, sugerem que *M. caprae* está se espalhando pelo continente africano e asiático.

2.4. Metabolismo de Micobactérias.

O metabolismo bacteriano adaptativo intra-hospedeiro é crucial para habilidade do patógeno em causar doença e infectar novos hospedeiros. Para se adaptarem aos diversos microambientes, micobactérias são capazes de utilizar uma ampla variedade de estruturas bioquímicas a seu favor, desde carboidratos a lipídeos e proteínas sob diversas situações de estresse, como ausência de nutrientes, baixa tensão de oxigênio e etc., o que lhes confere flexibilidade metabólica, ainda que esses mecanismos não estejam totalmente elucidados (BERNEY; COOK, 2010). No geral, informações sobre o metabolismo de micobactérias pode nos fornecer informações vitais para melhor entendimento da doença e, até mesmo, o desenvolvimento de uma droga específica. Contudo, devido a dificuldade encontrada pelos pesquisadores em trabalhar com esses micro-organismos devido ao crescimento lento e a necessidade de laboratórios bem-equipados com alto nível de biossegurança, nossas informações sobre vias

metabólicas de demais micobactérias do MTBC que não *M. tuberculosis*, são escassas e fragmentadas (WHEELER; RATLEDGE, 1994). Estudos mostram que, durante infecção experimental, *M. tuberculosis* está sob pressão seletiva em seu metabolismo, o que pode refletir sobre todos os demais membros patogênicos intracelulares facultativos do MTBC, ainda que claramente exista diferenças em vias metabólicas entre eles (COPIN et al., 2016; FIEWEGER; WILBURN; VANDERVEN, 2019). É possível que as variações em virulência e tropismo por hospedeiros encontradas nos diferentes membros do MTBC estejam diretamente relacionadas a adaptações metabólicas específicas de cada espécie do complexo. Por possuírem uma parede celular atípica, rica em lipídeos complexos, os requerimentos metabólicos de micobactérias tuberculosas estão muito relacionados à manutenção dessa parede, importante para virulência e resistência ambiental.

Uma importante característica das micobactérias tuberculosas é a ausência do mecanismo regulatório de repressão catabólica, permitindo que esses patógenos utilizem diversas fontes de carbono simultaneamente (DE CARVALHO et al., 2010). É descrito que *M. tuberculosis* cataboliza diferencialmente cada fonte de carbono através das vias de glicólise, pentose fosfato ou TCA para destinos metabólicos distintos (DE CARVALHO et al., 2010). Neste contexto, o metabolismo central de carbono (MCC) é uma das mais importantes vias metabólicas, definida pela transformação enzimática de carboidratos, principalmente a glicose, através da glicólise, gliconeogênese, via das pentoses fosfato e ciclo do ácido tricarbóxico ou ciclo de Krebs (TCA) obtendo diversos intermediários importantes para outras vias metabólicas, como acetil coenzima A (acetil-CoA), oxalacetado, além de NADH⁺ e FADH₂, carreadores de elétrons importantes na fosforilação oxidativa (WHEELER; RATLEDGE, 1994; RHEE et al., 2011). Já é relatado algumas diferenças nos padrões do MCC e utilização do glicerol dentre espécies do MTBC, normalmente adicionado como fonte de carbono nos meios de cultivo de *M. tuberculosis* (GOLDMAN, 1963; WINDER; BRENNAN, 1966), mas não para *M. africanum*, *M. bovis* e *M. microti*, por serem

incapazes de metabolizar o glicerol como única fonte de carbono como explicado a seguir (KEATING et al., 2005).

Estudos baseados em genômica comparativa e avaliações experimentais mostraram uma interrupção da glicólise em *M. bovis*, *M. africanum* e *M. microti* e *M. caprae* devido a um SNP no gene *pykA*, codificante da piruvato-quinase (PK), causando impacto direto na via das pentose fosfato e Acetil-CoA, conseqüentemente, outros intermediários do TCA por meio da inativação desta enzima (KEATING et al., 2005; KAHLA et al., 2011). Por esse motivo, esses microorganismos são incapazes de metabolizar glicose ou glicerol como única fonte de carbono, e piruvato é normalmente adicionado aos meios de cultivo (KEATING et al., 2005; KAHLA et al., 2011). Outro ponto de diferenciação entre *M. tuberculosis* e *M. bovis* é a baixa produção de nitrito em *M. bovis*, devido a baixa atividade da nitrato redutase em conseqüência de mutações em regiões promotoras dos seus genes (STERMANN et al., 2004). Além dessas duas lesões metabólicas, muito pouco se sabe sobre diferenças no metabolismo entre *M. bovis* e *M. tuberculosis*, e muito menos *M. caprae*.

Os metabolismos de ácidos graxos (AG) e de colesterol são muito relevantes para micobactérias *in vivo*, já que os lipídeos são a principal fonte de carbono no hospedeiro e o colesterol parece ter papel importante na sobrevivência de *M. tuberculosis* durante a infecção (AGUILAR-AYALA et al., 2017; WILBURN; FIEWEGER; VANDERVEN, 2018; FIEWEGER; WILBURN; VANDERVEN, 2019). Curiosamente, apesar de possuírem um genoma de tamanho similar, *M. tuberculosis* parece possuir e depender mais de genes envolvidos no metabolismo de AG que *E. coli*, confirmando seu amplo requerimento como fonte de energia e para a biossíntese de ácidos micólicos, componentes da parede celular importantes para a resistência e proteção da micobactéria (KINSELLA et al., 2003). Estirpes mutantes provaram que genes envolvidos na oxidação de AC e metabolismo de colesterol tiveram impacto na patogenicidade deste microorganismo em diferentes modelos de infecção (GAGO; DIACOVICH; GRAMAJO, 2018).

Acredita-se que o colesterol seja degradado com finalidade de gerar intermediários metabólicos, agindo de maneira coordenada com a degradação de AC (WILBURN; FIEWEGER; VANDERVEN, 2018), aumentando a síntese de Acetil-CoA e Propionil-coenzima A (Propionil-coA), um produto já visto como extremamente tóxico para *M. tuberculosis*, que pode ser condensado junto a oxalacetado, formando piruvato e succinato, intermediários do TCA ou utilizado na síntese de lipídeos ramificados (RUSSELL et al., 2010; GAGO; DIACOVICH; GRAMAJO, 2018; WILBURN; FIEWEGER; VANDERVEN, 2018).

Assim como o MCC e o metabolismo de lipídios, o metabolismo de aminoácidos e de nitrogênio é extremamente importante para atividades metabólicas das micobactérias e suas respectivas virulências. *Mycobacterium tuberculosis*, por exemplo, codifica vários transportadores para essas moléculas, incluindo um transportador de amônio NH₄, dois transportadores peptídicos ABC e etc. (GOUZY; POQUET; NEYROLLES, 2014a). O nitrogênio é fundamental para a biossíntese de biomoléculas como os aminoácidos e nucleotídeos, sendo sua obtenção demasiadamente importante para a sobrevivência do patógeno durante a infecção (GOUZY; POQUET; NEYROLLES, 2014b). Recentemente foi reportado a existência de um transportador de arginina está intimamente associado à captação de nitrogênio em *M. tuberculosis* e, ensaios de exclusão genética de um único grupo de transportadores, antes creditados como importantes transportadores de aminoácidos, resultou em menor atividade em micobactérias internalizadas *in vivo*. Contudo o metabolismo do MTBC e seus integrantes ainda precisam ser bem elucidados (BESTE; MCFADDEN, 2010).

2.5. Genômica comparativa e predição metabólica a partir de genomas: uma ferramenta para otimização de cultivo bacteriano.

Desde o primeiro sequenciamento de um membro do MTBC em 1998 (COLE et al., 1998), pesquisadores do mundo inteiro tentam entender melhor o genoma e fisiologia destas micobactérias. As abordagens mais exploradas são a genômica comparativa e a metabolômica. Neste com texto, comparação dos genomas de

diferentes espécies do MTBC com o genoma de referência *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, o qual já possui muitas informações bem estabelecidas, pode fornecer informações sobre genes que podem ou não serem essenciais para virulência, metabolismo e adaptação ao hospedeiro (BEHR, 2015). Por possuírem genomas altamente conservados em termos de conteúdo gênico, sintenia gênica e identidade nucleotídica, a comparação entre os diferentes membros do MTBC com *M. tuberculosis* para descobrir diferenças que afetam metabolismo e virulência é uma estratégia eficiente. Estudos desta natureza estão sendo cada vez mais descritos e, conseqüentemente, obtemos mais informações sobre o MTBC e seus diferentes genes envolvendo o metabolismo de AG, virulência dentre outros (BROSCH et al., 2001; COCKLE et al., 2002; MARRI; BANNANTINE; GOLDING, 2006; RIBEIRO-GUIMARÃES; PESSOLANI, 2007; FORRELLAD et al., 2013; XIONG et al., 2017; ZIMPEL et al., 2017b).

Para melhor conhecimento do *M. caprae* é imprescindível entender seu genoma e, conseqüentemente, seu metabolismo e dinâmica de infecção, Ainda que o modelo de infecção animal para *M. caprae* já tenha sido descrito (BEZOS et al., 2010; PÉREZ DE VAL et al., 2011), e diversos genomas já tenham sido sequenciados, sabemos que *M. caprae* possui particularidades genômicas em relação a demais integrantes do MTBC (ARANAZ et al., 1999a, 2003). É conhecido que *M. tuberculosis* possui vias catabólicas e anabólicas para obter diversos precursores orgânicos, além de metabolizar diferentes moléculas durante sua estadia internalizado em macrófagos e diversas outras situações de estresse (BESTE et al., 2013; FIEWEGER; WILBURN; VANDERVEN, 2019), portanto é possível que particularidades genotípicas de *M. caprae*, como SNPs e Indels, sejam responsáveis por características específicas no metabolismo e virulência de *M. caprae*, corroborando com um perfil de virulência mais variável em casos de tuberculose humana por este patógeno, assim como por *M. bovis* (AGUILAR LEÓN et al., 2009).

Ainda, além de o uso de genômica comparativa, o uso de ferramentas de bioinformática é extensamente aplicada em microbiologia, sendo para

investigação de mutações, interação entre proteínas, simulação de crescimento bacteriano *in silico* e etc. (GIBSON; BRATCHELL; ROBERTS, 1988; MARCOTTE et al., 1999; KARIMPOUR-FARD et al., 2008). O uso destas ferramentas permite a otimização de tempo dos cientistas, minimizando a experimentação, fornecendo informações adicionais sobre o alvo a ser estudado além de outros processos altamente custosos e trabalhosos. Há casos onde é possível trazer conhecimento das particularidades dos patógenos com mais rapidez e cultivar micro-organismos que eram anteriormente não cultiváveis. A predição proteica é um ótimo exemplo de análise complexa e importante que pode ser feita *in silico* de maneira rápida (CHOI et al., 2012a), fornecendo informações que ajudam a entender a fisiologia dos micro-organismos, incluindo o desenvolvimento de meio de cultura específico. O uso de análises *in silico* já são descritas otimizando e desenvolvendo meio de cultura específico para diferentes micro-organismos (VERDUYN et al., 1992; VAN NIEL; HAHN-HÄGERDAL, 1999; RICHARDS et al., 2014). Em geral, uma vez que de todas as bactérias, apenas 1% é cultivável (STALEY; KONOPKA, 1985) e, isso se deve a diversas particularidades destes micro-organismos (VARTOUKIAN; PALMER; WADE, 2010), o uso de análises *in silico* trazem um novo horizonte para a pesquisa científica, abrindo uma gama de possibilidades e auxílio aos cientistas.

2.6. A problemática de cultivo de *Mycobacterium caprae* em estudos.

O uso de estirpes de *M. caprae* em pesquisas ainda é escasso, sendo a maioria estudos de identificação e raros relatos literários envolvendo ensaios de infecção. Os principais estudos disponíveis que exploram metodologias de crescimento e isolamento deste micro-organismo os fazem em meios sólidos ou semissólidos, como Meio Coletsus, Middlebrook 7H10, Middlebrook 7H11, Stonebrink e Löwenstein Jensen (CVETNIC et al., 2007; BEZOS et al., 2010; PÉREZ DE VAL et al., 2011). O meio Stonebrink, o mais utilizado para diagnóstico, é composto por piruvato de sódio, fosfato de sódio dibásico, fosfato de potássio monobásico, verde de malaquita, polimixina B, anfotericina B, carbenicilina, trimetoprima, ovos inteiros e água (LESSLIE, 1959; CORNER, 1994). Porém, a utilização de meios semissólidos dificulta diversos experimentos com essas

bactérias, e meios líquidos são preferidos. Dentre os meios líquidos, o mais comumente utilizado em pesquisas e para manutenção de *M. tuberculosis* é o Middlebrook 7H9 suplementado com 10% OADC (ácido oleico, albumina, dextrose e catalase). Esse meio pode ainda ser acrescido de glicerol, piruvato ou Tween 80 dependendo da necessidade. O meio Middlebrook 7H9 é considerado um meio rico, contendo fosfato monopotássico, fosfato dissódico, glutamato monossódico, citrato de sódio, citrato de amônia férrico, piridoxina, sulfato de amônio, sulfato de magnésio, sulfato de zinco, sulfato de cobre, biotina e cloreto de cálcio.

Durante ensaios rotineiros, nosso grupo identificou uma peculiaridade no crescimento de *M. caprae* quando cultivado em meio líquido Middlebrook 7H9 enriquecido com 10% de OADC e 40 mM de piruvato de sódio (Middlebrook 7H9-OADC-P). Aparentemente a espécie apresenta crescimento limitado quando comparado com *M. tuberculosis* estirpe H37Rv e *M. bovis* SP38. Em particular, enquanto *M. tuberculosis* e *M. bovis* atingem densidade óticas a 600 nm (O.D._{600nm}) máximas de 1.8 e 1.0, respectivamente, a estirpe *M. caprae* NLA000201913 (BEI Resources, ATCC) atinge uma O.D._{600nm} máxima de 0.4, todos em aproximadamente 15-20 dias. Esse crescimento melhorou com a adição de 0.05% de Tween 80 ao meio (Middlebrook 7H9-OADC-P com 0.05% Tween 80), passando para O.D._{600nm} de 2.0, 1.4 e 0.9 para *M. tuberculosis*, *M. bovis* e *M. caprae*, respectivamente. O Tween 80 é um surfactante utilizado para diminuir a formação de grumos bacterianos em meio líquido, mas também serve como fonte adicional de ácido oleico. Este comportamento *in vitro* levantou hipóteses de que, assim como é observado em outras espécies do MTBC (OFORI-ANYINAM et al., 2020), a evolução poderia ter proporcionado mutações que poderiam prejudicar seu cultivo, ou alterando sua curva de crescimento quando comparado a demais integrantes do MTBC. Portanto, com base nos achados em nosso laboratório e na recente literatura (OFORI-ANYINAM et al., 2019) executamos a pesquisa de particularidades metabólicas de *M. caprae* por meio da genômica comparativa com *M. tuberculosis* estirpe de referência.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a presença de polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs), inserções e deleções (Indels) no genoma de *Mycobacterium caprae* em relação a *Mycobacterium tuberculosis* usando genômica comparativa e o impacto destas mutações nas proteínas e no metabolismo de *M. caprae*.

3.2. Objetivos Específicos

i. Selecionar conjuntos de *reads* de todos os genomas de *M. caprae* depositados em bancos de dados públicos;

ii. Identificar e quantificar mutações (SNPs e Indels) presentes em pelo menos 95% dos genomas de *M. caprae* selecionados em relação a *M. tuberculosis* H37Rv.

iii. Predizer *in silico* se essas mutações têm efeito deletério em suas respectivas proteínas em *M. caprae*, e assim inferir o efeito dessas alterações proteicas no metabolismo bacteriano.

iv. Propor uma hipótese com base nos achados sobre a formulação de um meio de cultura específico para *M. caprae*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Conjuntos de dados genômicos

Foram selecionadas todos os 78 conjuntos de *reads* de *Mycobacterium caprae* depositadas no Sequence Read Archive (SRA-NCBI) até dezembro de 2019 (Anexo II). Esses genomas foram sequenciados por outros grupos de pesquisa (BROECKL et al., 2017; MALM et al., 2017; PRICE-CARTER et al., 2018; YOSHIDA et al., 2018) e são disponíveis publicamente. O genoma *M. caprae* MCNLA000201913 também foi incluído, sendo que a estirpe foi obtida do BEI Resources (American Type Culture Collection, ATCC, EUA) e sequenciada pelo nosso grupo de pesquisa (dados não publicados). Esses conjuntos de *reads* foram todos sequenciados em plataforma Illumina. O genoma completo de *M. tuberculosis* H37Rv (NC_000962.3) foi também selecionado.

4.2. Controle de qualidade dos conjuntos de reads

Arquivos referentes às *reads* foram recuperados do European Nucleotide Archive (ENA NUCLEOTIDE) (AMID et al., 2019), e trimadas usando o *software Trimmomatic* (BOLGER; LOHSE; USADEL, 2014) utilizando parâmetros de *sliding window* 5:20 e remoção de adaptadores. Genomas foram incluídos se eles obedeciam aos critérios de cobertura $\geq 15x$; sequenciamento *paired-end*; comprimento de leitura mediana de pelo menos 70 bp; ausência de sequências de baixa qualidade e GC anômalo; e mapeamento de cobertura contra o genoma referência (*Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv) maior que 95%, usando Burrows-Wheeler Aligner (BWA) (LI; DURBIN, 2010). Dos 78 genomas, 72 (92.31%) passaram nesses parâmetros de qualidade. Os seis genomas excluídos tiveram os seguintes problemas: 2 eram sequenciamento *single reads*, 3 tiveram mapeamento contra o *M. tuberculosis* H37Rv menor que 95% e um obteve cobertura de 10,69X após trimada. Todos os genomas foram também confirmados como sendo de *M. caprae* utilizando algoritmo customizado previamente descrito (ZIMPEL et al., 2020) para identificação dos seguintes padrões de RDs: presença de RD12 e RD13 (HUARD et al., 2003), cuja as coordenadas no genoma de *M.*

tuberculosis H37Rv são: 3.485.555 – 3.485.958 e 1.404.563 – 1.405.018, respectivamente (HUARD et al., 2003). O SNP no gene *oxyR* (G295A), característico de *M. caprae* (ARANAZ et al., 1999b), foi também identificado nos arquivos vcf anotados, obtidos como descrito abaixo.

4.3. Mapeamento e detecção de variantes de *M. caprae*

Após tratamento, *reads* foram mapeadas contra o genoma de referência de *M. tuberculosis* H37Rv com BWA-MEM (LI; DURBIN, 2010) utilizando parâmetros padrões. Leituras duplicadas foram removidas com Picard v2.18.23. A chamada de SNPs e indels foi realizada por Samtools v1.9 mpileup (LI, 2011), e VarScan v2.4.3 mpileup2cns (KOBOLDT et al., 2012), usando parâmetros de qualidade mínima de base e mapeamento de 20, profundidade de leitura de 7 e *strand bias* (viés de fita). Arquivos foram anotados usando snpEff (CINGOLANI et al., 2012) baseando-se no genoma de referência de *M. tuberculosis*. SNPs e indels localizados em PE/PPE, transposase, integrase, maturase, fago e genes repetitivos da família 12E12 foram removidos utilizando linguagem de programação awk, conforme previamente descrito (ZIMPEL et al., 2020).

4.4. Variantes core

Com o intuito de identificar quais variantes estão presentes na maioria dos genomas de *M. caprae* (*core SNPs/Indels*), um algoritmo customizado na linguagem Python foi utilizado para detectar variantes presentes em mais de 95% das estirpes de *M. caprae* analisadas. Brevemente, foi criado um banco de dados não redundantes de SNPs não-sinônimos e Indels presentes nas 72 estirpes analisadas. Após isso, cada variante do banco de dados foi buscada em cada um dos 72 genomas, contando cada variante em cada genoma em porcentagem e em quantos desses genomas a variante estava presente, anotando sua porcentagem de acordo com o número de genomas. O *soft-core* de 95% foi selecionado para nossas análises de predição funcional proteica com finalidade de impedir a falha na identificação de alguma variante por problemas de cobertura, sequenciamento ou falhas na chamada de SNPs/indels.

4.4. Classificação em COG dos CDS carreando mutações em *M. caprae*

Os CDS (*coding DNA sequence*) contendo os SNPs não-sinônimos e Indels presentes em pelo menos 95% das estirpes de *M. caprae* foram classificados funcionalmente em COGs (*clusters of orthologous groups*) utilizando eggNOG (HUERTA-CEPAS et al., 2015, 2017, 2018) com parâmetros padrões. Para CDS não classificados com eggNOG, Mycobrowser database (KAPOPOULOU; LEW; COLE, 2011) foi utilizado.

4.5. Predição de mutações deletérias em proteínas de *M. caprae*

As previsões dos efeitos das substituições de aminoácidos nas proteínas foram realizadas pela ferramenta PROVEAN *protein* (CHOI et al., 2012b, 2012a; CHOI; CHAN, 2015) conforme reportado previamente (OFORI-ANYINAM et al., 2019). Foram considerados potencialmente deletérios proteínas que apresentaram um ou mais SNP's onde as substituições obtiveram score $\leq - 2,5$.

4.6. Predições metabólicas em *M. caprae*

Mapas de vias metabólicas de *M. tuberculosis* H37Rv disponíveis na Enciclopédia de Genes e Genomas de Kyoto (KEGG) (KANEHISA; GOTO, 2000) foram utilizados como base para predição dos efeitos metabólicos das proteínas com mutações deletérias preditas pelo PROVEAN *protein*. Quando necessário, alinhamento entre sequências de *Mycobacterium caprae* e *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv foram realizadas utilizando Uniprot database (PUNDIR; MARTIN; O'DONOVAN, 2017).

4.7. Disponibilização de códigos

Todos os *scripts* utilizados neste estudo encontram-se disponíveis nos endereços: <https://github.com/LaPAM-USP/Romano-2020> (script de detecção de RDs e variantes core) e <https://github.com/LaPAM-USP/Zimpel-2019> (mapeamento e *variant calling*) (ZIMPEL et al., 2020).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Variantes core de estirpes de *Mycobacterium caprae*

Foram detectadas 1.577 variações presentes em pelo menos 95% dos genomas de *M. caprae* em comparação ao *M. tuberculosis* estirpe H37Rv. Dentre estas variações, observam-se 175 variações em regiões intergênicas (163 SNPs e 12 indels) e 1.402 variações em regiões codificantes (1,366 SNPs e 36 indels). Excluindo mutações sinônimas (n=513) e outras mutações em regiões não codificantes, como pseudogenes e lincRNA (n=8), observamos o total de 881 variantes (Anexo III); 845 SNPs não sinônimos e 36 indels em regiões codificantes). Todos os 36 indels em CDS reportados são anotados, pelo snpEff, como causando *frameshift* (Anexo IV).

As 881 variações estão presentes em um total de 731 proteínas, sendo que 15 proteínas apresentam mais de uma variação (e.g. mais de um SNP; SNP e *frameshift* e etc.). Um total de 410 (56.08%) dessas 731 proteínas não puderam ser classificadas em COGs pelo EggNOG, por serem proteínas hipotéticas de função desconhecida (Tabela 2). As 321 proteínas restantes foram então classificadas em 13 classes funcionais de COG, possuindo ou não mais de uma classificação (Tabela 2). Semelhante ao já observado na literatura sobre mutações em membros do MTBC (ZIMPEL et al., 2017a; SILVA-PEREIRA et al., 2019), as classes I, Q, E, S concentram a maioria das proteínas com mutações (Tabela 2), uma vez que os metabolismos de lipídeos, metabólitos secundários e aminoácidos são vias metabólicas importantes para persistência e virulência do MTBC (QUEIROZ; RILEY, 2017).

Tabela 2. Tabela esquemática apresentando as vias com maior quantidade e proteínas mutadas e sua (s) respectiva (s) classe (s) e COGs.

COGs	Definição	Nº Proteínas mutadas do total	% Proteínas mutadas do total
I	Transporte e metabolismo de lipídeos	38	5,19%
Q	Biossíntese, transporte e catabolismo de metabólitos secundários	37	5,06%
E	Transporte e metabolismo de aminoácidos	28	3,83%
S	Função desconhecida	28	3,83%
C	Produção e conversão de energia	26	3,55%
L	Replicação, recombinação e reparo	23	3,14%
H	Transporte e metabolismo de coenzimas	23	3,14%
P	Transporte e metabolismo de íons inorgânicos	21	2,87%
F	Transporte e metabolismo de nucleotídeos	19	2,59%
G	Transporte e metabolismo de carboidratos	18	2,46%
J	Tradução, estrutura ribossômica e biogênese	18	2,46%
K	Transcrição	18	2,46%
M	Parede celular / membrana / biogênese de envelopes	17	2,32%
T	Mecanismos de transdução de sinal	16	2,18%
O	Modificação pós-tradução, renovação de proteínas e chaperonas	9	1,23%
D	Controle do ciclo celular, divisão celular, particionamento cromossômico	5	0,68%
V	Mecanismos de defesa	5	0,68%
U	Tráfego intracelular, secreção e transporte vesicular	4	0,54%
Total S/ Classificação	Proteínas hipotéticas	410	56,08%
Total		731	100%

Legenda: Tabela apresentando a quantidade de proteínas mutadas em cada classificação COG diferente. Valores são redundantes devido a participação de uma mesma proteína em mais de uma via.

Fonte: Autoria própria.

5.2. Avaliação do impacto das mutações nas proteínas de *M. caprae* utilizando PROVEAN

Em seguida nós utilizamos o *software* PROVEAN para predizer se 822 dos 845 SNPs não-sinônimos causam efeitos deletérios nas respectivas proteínas. Os 23 SNPs restantes (Tabela 3) levaram a perda de perda de códon iniciador (n=4), perda de códon terminador (n=8), ao aparecimento de um códon de parada (n=11), ou estão presentes simultaneamente em proteínas com *frameshift* (n=13). Nestes casos, e nos casos de genes com *frameshifts* (n=36), todas as respectivas proteínas foram consideradas como deletérias. Assim, dentre as 731 proteínas mutadas descritas acima, 203 (27.77%) apresentaram mutações possivelmente deletérias para a mesma. Isso inclui 180 proteínas com SNPs não-sinônimos deletérios e 36 com *frameshifts*, sendo que 13 proteínas possuem tanto SNPs não-sinônimos deletérios quanto *frameshifts*.

A classificação em COG das 203 proteínas com lesões deletérias indica que a classe S, proteínas com função desconhecida, constitui o maior percentual das proteínas (37,36%), seguida da classe funcional de biossíntese, transporte e catabolismo de metabólitos secundários (8,42%) e transporte e metabolismo de lipídeos (8,42%) (Tabela 4). Dentre as proteínas classificadas como função desconhecida (classe S) destacam-se alguns reguladores transcricionais e proteínas homólogas de sistema toxina-antitoxina *vapC* e sistema de secreção do tipo VII ESX, que podem ser responsáveis por variações em virulência deste micro-organismo. Por outro lado, variações em classes associadas ao metabolismo de *M. caprae* trazem uma nova perspectiva em relação a capacidade desse micro-organismo em replicar e persistir *in vitro* e *in vivo* que serão discutidas a seguir, uma vez que o metabolismo de lipídeos, por exemplo, é amplamente conhecido por sua extrema relevância em micobactérias (WHEELER; RATLEDGE, 1994), assim como o transporte e metabolismo de carboidratos, considerado o principal e mais importante em diversas espécies, onde observamos a presença de proteínas deletérias (RHEE et al., 2011).

Tabela 3. Tabela esquemática apresentando classificação de genes onde a presença de SNPs levou a um truncamento e um códon de parada precoce, ou a uma extensão de cauda de aminoácidos de tamanho desconhecido, ou perda de códon de iniciação.

Gene ID	Definição	Característica da mutação	Alteração em aminoácidos
Rv0197	Possível oxiredutase	Códon de parada prematuro	Tyr749*
Rv0257	Proteína hipotética conservada	Códon de parada prematuro	Arg23*
Rv0325	Proteína hipotética	Extensão na porção C-terminal de tamanho desconhecido	Ter75Glnext*?
Rv0586	Provável proteína reguladora da transcrição (Mce2R)	Perda de códon de Iniciação	Met1?
Rv0621	Possível proteína de membrana	Extensão na porção C-terminal de tamanho desconhecido	Ter355Trpext*?
Rv0836c	Proteína hipotética	Extensão na porção C-terminal de tamanho desconhecido	Ter218Trpext*?
Rv0930	Provável transportador ABC de membrana integral de transporte de fosfato (PstA1)	Códon de parada prematuro	Arg305*
Rv1005c	Provável para-aminobenzoato sintase componente I (PABD)	Perda de códon de Iniciação	Leu1?
Rv1180	Provável beta-cetoacil sintase (Pks3)	Extensão na porção C-terminal de tamanho desconhecido	Ter489Tyrext*?
Rv1351	Proteína hipotética	Códon de parada prematuro	Leu78*
Rv1498A	Proteína conservada	Perda de códon de Iniciação	Met1?
Rv1870c	Proteína hipotética conservada	Extensão na porção C-terminal de tamanho desconhecido	Ter212Leuext*?
Rv2286c	Proteína hipotética conservada	Códon de parada prematuro	Gln134*
Rv2402	Proteína conservada	Códon de parada prematuro	Tyr538*
Rv2690c	Provável proteína integral de membrana rica em alanina, valina e leucina	Extensão na porção C-terminal de tamanho desconhecido	Ter658Argext*?
Rv2762c	Proteína hipotética conservada	Códon de parada prematuro	Gln44*
Rv2818c	Proteína hipotética	Códon de parada prematuro	Gln304*
Rv2958c	Possível glicosil-transferase	Códon de parada prematuro	Arg376*
Rv3303c	NAD (P) H quinona redutase (LpdA)	Códon de parada prematuro	Cys472*
Rv3373	Provável enoil-CoA hidratase (EchA18)	Extensão na porção C-terminal de tamanho desconhecido	Ter214Glyext*?
Rv3402c	Proteína hipotética conservada	Códon de parada prematuro	Tyr351*
Rv3753c	Proteína conservada	Perda de códon de Iniciação	Met1?
Rv3898c	Proteína hipotética conservada	Extensão na porção C-terminal de tamanho desconhecido	Ter111Glnext*?

Fonte: Autoria própria. Gene ID de acordo com *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

Tabela 4. Tabela esquemática apresentando quantidade e porcentagem de todas as proteínas de *Mycobacterium caprae* consideradas deletérias (substituição de aminoácidos e *frameshifts*) e sua (s) respectiva (s) classificação (ões).

COGs	Definição	Nº Deletérias	% Deletérias
Q	Biossíntese, transporte e catabolismo de metabólitos secundários	17	8,37%
I	Transporte e metabolismo de lipídeos	13	6,40%
S	Função desconhecida	9	4,43%
C	Produção e conversão de energia	8	3,94%
F	Transporte e metabolismo de nucleotídeos	7	3,45%
J	Tradução, estrutura ribossômica e biogênese	7	3,45%
L	Replicação, recombinação e reparo	6	2,96%
E	Transporte e metabolismo de aminoácidos	6	2,96%
K	Transcrição	6	2,96%
M	Parede celular / membrana / biogênese de envelopes	5	2,46%
H	Transporte e metabolismo de coenzimas	5	2,46%
G	Transporte e metabolismo de carboidratos	4	1,97%
T	Mecanismos de transdução de sinal	3	1,48%
V	Mecanismos de defesa	3	1,48%
P	Transporte e metabolismo de íons inorgânicos	2	0,98%
O	Modificação pós-tradução, renovação de proteínas e chaperonas	2	0,98%
D	Controle do ciclo celular, divisão celular, particionamento cromossômico	1	0,49%
U	Tráfego intracelular, secreção e transporte vesicular	1	0,49%
S/ classificação	Proteínas hipotéticas	104	51,23%
Total	Proteínas deletérias totais	203	100%

Legenda: Tabela apresentando a quantidade de mutações deletérias (substituições de aminoácidos e *frameshifts*) e suas respectivas percentagens e classificação COG. Valores são redundantes devido a participação de uma mesma proteína em mais de uma via.

Fonte: Autoria própria.

Em alguns vírus, como Varicela-Zoster, foi reportado que um SNP na região codificante da proteína ORF0, uma proteína de membrana, levou a uma perda de stop códon, gerando uma extensão de aminoácidos. Este fenômeno, por sua vez é associado a atenuação do vírus (PETERS et al., 2012). É proposto que caso a cauda de aminoácidos na região C-terminal for conservada em outras espécies, a sua alteração ou exclusão podem levar a um efeito deletério na função proteica (CINGOLANI et al., 2012). Considerando os achados, é impossível dizer se o efeito de extensões e stop códons prematuros podem ser prejudiciais ou benéficos para *M. caprae* apenas por suas presenças ou ausências em determinado gene, sendo imprescindível o estudo individual de cada proteína mutada e sua região C-terminal deletada ou estendida. Por outro lado, em micobactérias, mais precisamente em *M. tuberculosis*, é reportado que diferentes SNPs em diferentes posições do gene *pncA*, por exemplo, levaram a um *stop* códon prematuro e essa mutação está extensamente associada com a resistência a Pirazinamida (PZA) (SREEVATSAN et al., 1997; LEE; LEE; JUNG, 2001; ZHANG et al., 2015). Por serem bactérias clonais e evoluírem quase que exclusivamente por SNPs e indels, a perda de genes por meio da introdução de *frameshifts* e mutações do tipo *nonsense* ocorre com frequência e contribuem para o remodelamento gênico dessas bactérias ao longo da evolução (BOLOTIN; HERSHBERG, 2015).

5.2. Principais mutações deletérias em proteínas do metabolismo central de carbono em *Mycobacterium caprae*

Usando como referência enzimas descritas como parte do metabolismo central de carbono em *M. tuberculosis*, a tabela 5 mostra as proteínas encontradas possuindo mutações deletérias em *M. caprae*, enquanto a figura 3 mostra a posição de cada uma das enzimas afetadas no metabolismo central de carbono de *M. caprae*. Nossas análises confirmaram a presença do SNP deletério resultando em um ácido aspártico (Asp) no lugar de um ácido glutâmico (Glu) na posição 220 no gene da piruvato quinase (*pykA*) já reportado em estirpes de *M. bovis* (KEATING et al., 2005), corroborando o sucesso da nossa abordagem em detectar proteínas com mutações deletérias. É descrito que essa mutação impede

a atividade desta enzima em *M. bovis* (KEATING et al., 2005; CHAVADI et al., 2009; NOY et al., 2016). Também é reportado que a inatividade da piruvato quinase, em mutantes de *M. tuberculosis* $\Delta pykA$, resulta na inibição alostérica da enzima isocitrato desidrogenase (*idh*) no TCA pelo fosfoenolpiruvato, devido ao acúmulo de fosfoenolpiruvato, uma vez cultivado em meio com glicose e/ou ácidos graxos (NOY et al., 2016; EHRT; SCHNAPPINGER; RHEE, 2018). Mutantes de *M. tuberculosis* $\Delta pykA$ possuem crescimento atenuado ao utilizar glicose e ácidos graxos de cadeia ímpar ou par como fontes de carbono, mas também ao utilizar somente ácidos graxos como fonte de carbono. A deleção da *pykA* levou ao acúmulo de fosfenolpiruvato, mas também de citrato e aconitrato, demonstrando a inibição da isocitrato desidrogenase. Esse bloqueio só foi contornado com a adição do glutamato, que é precursor de alfa-cetoglutarato (NOY et al., 2016). Desta forma, a mutação em *pykA* é o motivo pelo qual piruvato de sódio é adicionado ao meio Middlebrook 7H9-OADC para o crescimento de *M. bovis* e outras micobactérias animais.

Tabela 5. Principais mutações encontradas em proteínas associadas ao metabolismo central de carbono em *Mycobacterium caprae* em relação a *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv e seus scores dados pelo programa PROVEAN protein.

Gene ID	Proteína afetada	Mutação	PROVEAN score	Efeito da mutação
Rv1617	Piruvato quinase (<i>pykA</i>)	Glu220Asp	-2,982	Deletéria
Rv0951	Succinil-CoA sintetase (<i>sucC</i>)	Val261Ala	-3,979	Deletéria
Rv0186	Provável beta-glicosidase (<i>bgIS</i>)	Pro532Arg	-3,789	Deletéria
Rv1844c	6-Fosfogluconato desidrogenase (<i>gnd1</i>)	Gly405fs	<i>Frameshift</i>	Deletéria
Rv1604	Inositol-monofosfatase (<i>impA</i>)	Pro124Gln Pro251Leu	3,705 -7,991	Neutra Deletéria

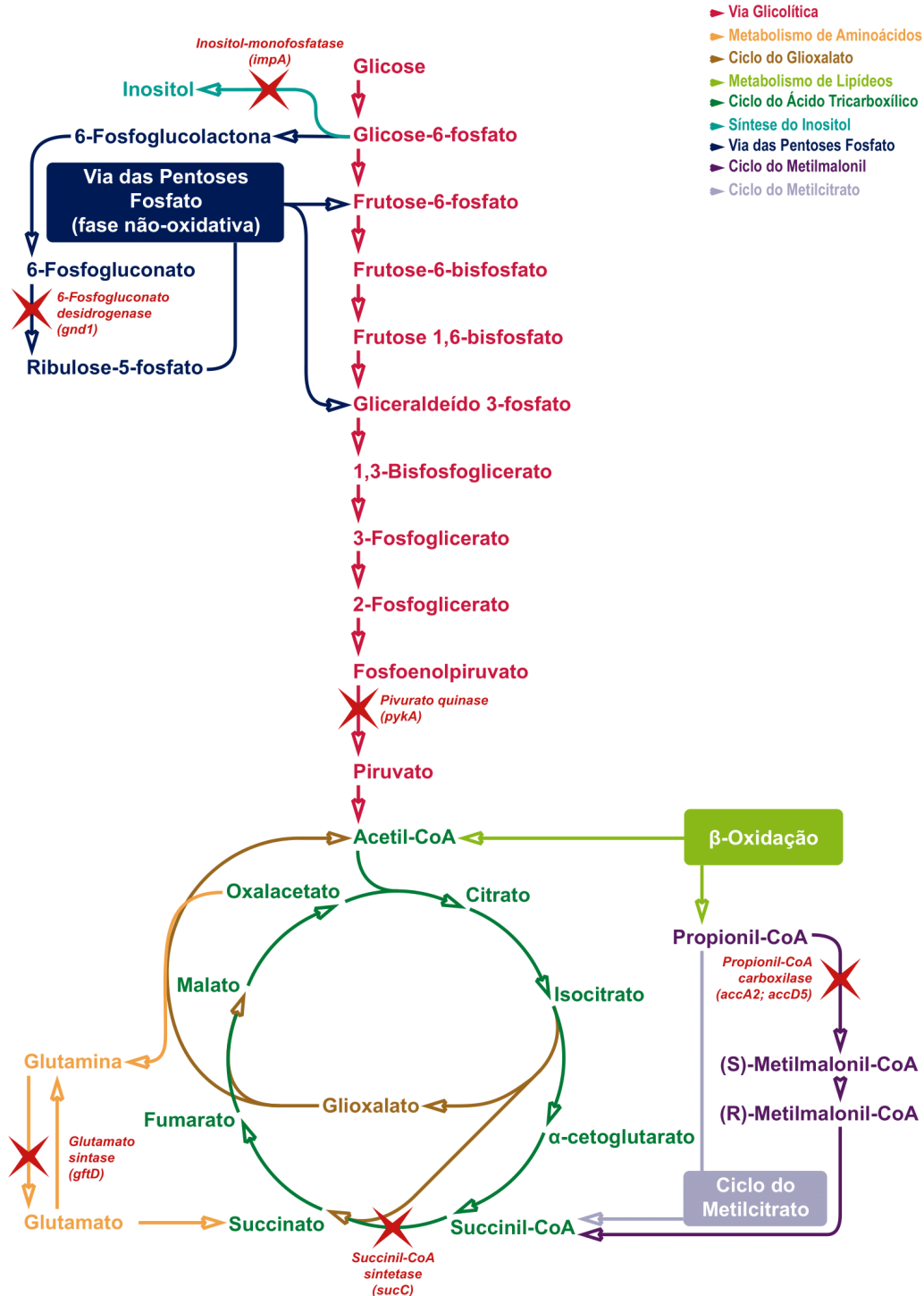
Fonte: Autoria própria.

Somado a isso, nossas análises mostram a presença de um SNP com efeito deletério resultando em uma alanina (Ala) na posição 261 no lugar de uma valina (Val) na sequência codificante da cadeia beta da succinil-CoA sintetase (*sucC*) (Tabela 5 e Figura 3). Esta proteína é responsável pela conversão de succinil-CoA em succinato no TCA e a sua consequente liberação de ATP (RHEE et al., 2011) (Figura 2). O succinato é um substrato de função dupla para a enzima seguinte no TCA, a succinato desidrogenase, presente tanto no ciclo TCA quanto na cadeia transportadora de elétrons, combinando o fluxo de carbono com a síntese de ATP com uma eficiência maior que NADH (EOH; RHEE, 2013). É reportado que o succinato possui papel importante para *M. tuberculosis*, uma vez que este micro-organismo é capaz de modular o TCA e ativar a via do glioxalato, durante baixa tensão de O₂, a fim de produzir mais succinato e, com isso, sustentar o potencial de membrana, sintetizar ATP e desempenhar anaplerose, independente da fonte de carbono (glicose ou ácidos-graxos) (WATANABE et al., 2011; EOH; RHEE, 2013). Portanto, é provável que a mutação em *sucC*, associada a possível inibição da isocitrato desidrogenase (*idh*) pelo acúmulo de fosfenolpiruvato, possa levar a impactos metabólicos importantes em *M. caprae*, diminuindo assim a disponibilidade de succinato. Durante seu crescimento *in vitro*, a interrupção do TCA ou seu funcionamento limitado, devido as mutações relatadas acima, podem levar a baixos saldos de ATP e baixo poder redutor, uma vez que não há succinato e, conseqüentemente fumarato, e a produção de FADH₂ pode acabar diminuída.

A maneira alternativa de produção de succinato seria pelo GABA *shunt*, a partir da metabolização do glutamato. Porém, a produção de glutamato poderá também diminuir devido a inibição da isocitrato desidrogenase pela inatividade da piruvato quinase, o que tem sido contornado *in vitro* pela adição de glutamato ao meio de cultura Middlebrook 7H9-OADC (NOY et al., 2016). Por outro lado, durante infecção no hospedeiro, onde o micro-organismo está sobre estresse devido baixas concentrações de O₂, limitações na produção de succinato, pela via canônica, podem influenciar o estresse metabólico deste micro-organismo.

Algumas micobactérias, durante o cultivo *in vitro*, como *M. tuberculosis* estirpe H37Rv, são capazes de utilizar glicerol como única fonte de carbono, mas não *M. bovis*, pela mutação no gene *pykA* e consequente acúmulo de fosfenolpiruvato (KEATING et al., 2005). Uma outra mutação que pode ter contribuído para incapacidade de *M. bovis* metabolizar glicerol nos estudos prévios é uma *frameshift* no gene *glpK*, codificante da glicerol quinase, enzima que catalisa a fosforilação do glicerol (KEATING et al., 2005), que não foi simultaneamente analisada. Hoje sabemos que essa mutação não é presente em todas as estirpes de *M. bovis* e foi recentemente associada a um mecanismo de variação de fase em estirpes de *M. tuberculosis* devido a presença de uma sequência homopolimérica de nucleotídeos (BELLEROSE et al., 2019; SAFI et al., 2019). Apesar da proximidade filogenética entre *M. bovis* e *M. caprae* (BRITES et al., 2018), não foi encontrada qualquer mutação no caráter de *frameshift* na *glpK* no genoma core de *M. caprae*, apenas um SNP A → G, resultando na substituição de uma valina (Val) para Ala na posição 460, o que, de acordo com PROVEAN, é uma mutação de caráter neutro. Desta forma, assim como observado em *M. bovis*, ainda que *M. caprae* alcançasse um crescimento sutil em caldo Middlebrook 7H9-OADC com glicerol, a mutação na piruvato quinase levaria a um acúmulo de fosfoenolpiruvato e inibição da isocitrato desidrogenase, resultando em déficit de carreadores de elétrons e ATP naturalmente formados no TCA e ATP sintase.

Figura 3. Representação ilustrativa do metabolismo central de carbono e proteínas carregando mutações deletérias envolvidas no processo em *Mycobacterium caprae*.



Legenda: Metabolismo central de carbono em *Mycobacterium caprae* e suas respectivas mutações (destacadas com um "X" em vermelho) encontradas em genômica comparativa

utilizando *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv como referência. O metabolismo central de carbono é composto pela via glicolítica (flechas em rosa), TCA (flechas em verde), Ciclo de glioxalato (flechas em laranja), via das pentoses fosfato (flechas em azul marinho), ciclo do metilcitrato (flechas em azul claro), ciclo do metilmalonil (flechas em roxo) e suas integrações com a beta oxidação de ácidos graxos (em amarelo mostarda). Outras fontes de carbono estão representadas em flechas na cor preta. A inibição da enzima isocitrato desidrogenase (idh), resultante do acúmulo de fosfoenolpiruvato é representada em flecha vermelha.
Fonte: Autoria própria.

Dentre nossos resultados, o gene *bglS* e *impA* apresentaram SNPs com efeitos deletérios. O gene *bglS* é provavelmente responsável por codificar uma beta-glicosidase responsável pela conversão de Celobiose, Beta-glicosideo e Celodextrina em glicose e considerado um alvo em potencial para drogas antimicrobianas (ANISHETTY; PULIMI; PENNATHUR, 2005). Esse gene já foi visto superexpresso durante a exposição a diferentes antimicrobianos, sinalizando sua possível participação no metabolismo dessas moléculas (WADDELL et al., 2004). Por outro lado, o gene *impA*, é codificante de uma provável inositol-monofosfatase, envolvida no metabolismo de inositol fosfato. Estudos mostram que *impA* seria responsável pela síntese de inositol a partir de glicose-6-fosfato. Por sua vez, o inositol é importante para a ancoragem de lipoarabinomanana (LAM), lipomanana (LM) e manosídeos de fosfatidilinositol (PIMs) na superfície do envelope celular e é um componente importante de um micotiol (1-D-mio-inositol-2 [N-acetil-L-cisteinil] amido-2-desoxi-alfa-D-glucopiranosídeo). Porém, existem outros três homólogos do gene *impA* no genoma de *M. tuberculosis* e, desta forma, a redundância pode significar que a produção de inositol não seria afetada pela inatividade de ImpA. É importante ressaltar que é reportado que *M. smegmatis* incapaz de produzir micotiol é altamente sensível a espécies reativas de oxigênio e apresenta dificuldades no crescimento, sendo a síntese de inositol um provável alvo terapêutico (MOVAHEDZADEH et al., 2010).

Identificamos ainda um importante *frameshift* com provável efeito deletério no gene *gnd1*. Este gene codifica uma 6-fosfogluconato desidrogenase, uma proteína da via das pentoses fosfato (PPP) que é responsável pela conversão de 6-fosfogluconato em ribulose-5-fosfato com a liberação de um carreador de

elétron (RHEE et al., 2011). Porém, existem duas isoformas dessa enzima, codificadas pelos genes *gnd1* e *gnd2*. Em *Saccharomyces cerevisiae*, apesar de a enzima Gnd1 corresponder por 80% da atividade enzimática em questão, a Gnd2 também exerce o mesmo papel (HE et al., 2007). Assim, é possível que o gene *gnd2* assuma a conversão de 6-fosfogluconato em ribulose-5-fosfato na ausência de um *gnd1* funcional. Interessantemente, esse gene é também considerado um pseudogene em estirpes de *M. bovis*, justamente devido a esse *frameshift* (dados não publicados). Os efeitos da possível perda de *impA* e *gnd1* devem explorados experimentalmente em relação ao estresse oxidativo, como mencionado acima para *impA*, e, uma vez que *gnd1* é um importante gerador de NADPH, contribuindo para geração dos antioxidantes tioredoxina e glutatona e protegendo a célula contra estresse oxidativo.

Em geral a via PPP é primordial e amplamente conservada em seres-vivos, importante por promover a homeostase do carbono, fornecendo precursores para a biossíntese de aminoácidos e nucleotídeos, além de moléculas que combatem o estresse oxidativo e, como já mencionado, moléculas redutoras (STINCONE et al., 2015). De maneira sucinta, a PPP é requerida durante o estresse oxidativo, onde a via glicolítica é inibida pela inatividade das enzimas piruvato quinase e gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase, enquanto a PPP continua ativa. A inibição da via glicolítica favorece a demanda de intermediários para a via das pentoses fosfato (STINCONE et al., 2015). Curiosamente, além de o gene *pykA* desempenhar papel importante na regulação da PPP durante a hipóxia em *M. tuberculosis* (ZHONG et al., 2019), a literatura também reporta diferença de expressão de *gnd1* em diferentes linhagens e isolados *M. tuberculosis in vitro*, levantando a hipótese de que a via das pentoses fosfato, mais necessariamente a conversão de 6-gluconato em ribulose-5-fosfato, possui papel importante na obtenção de carreadores de elétrons nestas estirpe (MEHAFFY et al., 2010; YIMER et al., 2017). O ramo oxidativo da via PPP desempenha um papel primordial no fornecimento de agentes redutores, além de desempenhar papel importante durante estresse oxidativo e hipóxia. Associado a mutação deletéria na enzima piruvato quinase, importante reguladora da via PPP, podemos

hipotetizar que *M. caprae* seja ligeiramente mais susceptível ao estresse oxidativo do que *M. tuberculosis* devido as mutações deletérias em *gnd1* e *impA*, além de apresentar menos carreadores de elétrons, imprescindíveis para a síntese de ATP através da fosforilação oxidativa.

5.3. Principais mutações no metabolismo de lipídeos em *Mycobacterium caprae*

Nossos resultados indicam uma maior percentagem de proteínas com mutações deletérias na classe funcional de metabolismo de lipídeos (Tabela 6). Micobactérias possuem, como característica morfológica principal, um envelope rico em lipídeos (LEE; BRENNAN; BESRA, 1996). Por esse motivo, presume-se uma porcentagem significativa de genes associados a biossíntese e/ou degradação de lipídeos. Essas atividades tem papel importante no curso da doença, sendo reportado que, durante a infecção em camundongos, os lipídeos são a única fonte de carbono para o bacilo (MUÑOZ-ELÍAS; MCKINNEY, 2005; QUEIROZ; RILEY, 2017). Assim, no genoma de *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv já foram anotados mais de 30 genes que codificam proteínas formadoras de Adenilato (*fadD*), sendo que alguns desses genes foram encontradas carreando mutações deletérias em *M. caprae* (Tabela 5). Ainda que a função da maioria destas proteínas seja desconhecida, várias delas estão envolvidas na síntese de lipídeos essenciais para sobrevivência e virulência, incluindo a síntese de ácido micólico (DUNPHY et al., 2010; CASABON et al., 2013a; LIU et al., 2013).

Tabela 6. Principais mutações encontradas em proteínas associadas ao metabolismo e transporte de lipídeos em *Mycobacterium caprae* em relação a *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv e seus scores dados pelo programa PROVEAN protein.

Gene ID	Proteína afetada	Mutação	PROVEAN score	Efeito da mutação
Rv0972c	Acil-CoA desidrogenase (fadE12)	Gln236His	-4,618	Deletéria
Rv0973c	Propionil-CoA carboxilase sub. alfa (accA2)	Ile220Phe	-3,821	Deletéria
Rv3280	Propionil-CoA carboxilase sub. beta (accD5)	Val448Ala	-3,354	Deletéria
Rv1550	Provável Ácido-graxo-CoA ligase (fadD11)	Leu286Ser	-3,718	Deletéria
Rv2187	Ácido-graxo-CoA ligase de cadeia longa (fadD15)	Leu91fs Thr100Ile Gly379Glu	<i>Frameshift</i> -5.163 -1.029	Deletéria Deletéria Neutra
Rv0166	Ácido-graxo-CoA ligase (fadD5)	Val123Ala Ser192Ala	2.341 -2.951	Neutra Deletéria
Rv0860	Provável proteína de oxidação de ácidos graxos (fadB)	Ala701Thr	-3,557	Deletéria
Rv2590	Provável Ácido-graxo-CoA ligase (fadD9)	Phe309Tyr	-2,645	Deletéria
Rv2724c	Acil-CoA desidrogenase (fadE20)	Ile127Thr	-4,461	Deletéria
Rv3561	HIP-CoA ligase (fadD3)	Thr404Asn	-4,935	Deletéria
Rv0206c	Proteína de transporte transmembrana (mmpL3)	Phe384Ile Asp466Glu	-4,785 -1,288	Deletéria Neutra
Rv3234c	Triacilglicerol sintetase (tgs3)	Ser267fs	<i>Frameshift</i>	Deletéria

Fonte: Autoria própria.

Curiosamente, o gene *fadD5*, reportado carregando uma mutação deletéria em *M. caprae*, pertence ao operon *mce1* (CAMACHO et al., 1999), um possível transportador de moléculas hidrofóbicas que foi recentemente associado com a reciclagem de ácidos micólicos da parede celular (FORRELLAD et al., 2014; QUEIROZ et al., 2015). Dunphy et al, (2010) também mostraram que *fadD5*

parece ter importância *in vitro* e *in vivo*, uma vez que o mutante *M. tuberculosis* Δ *fadD5*, ainda que viável, cresce lentamente em meio mínimo, contendo ácido micólico e nenhum ácido-graxo de cadeia longa, quando comparado a *M. tuberculosis* selvagem. Além disso, o grupo de camundongos infectados com este mutante teve menor taxa de mortalidade e houve uma prolongação do estado latente da infecção. Todos estes dados levantam a hipótese de que *fadD5* é indispensável para a fase latente de infecção, sendo proposto desempenhar a “reciclagem” de ácidos micólicos de bacilos que morrem durante o processo de infecção, enquanto *fadD15* (sintetase de ácidos graxos), que possui um *frameshift* em *M. caprae*, e outras sete sintetases de ácidos graxos promovem a elongação de ácido graxo, ao adicionar acil-CoA à cadeia de ácido graxo (BESPYATYKH et al., 2016). Esse achado pode explicar o fenótipo diferenciado de *M. caprae* em relação a *M. tuberculosis*, já que, junto com sua capacidade de alta persistência no hospedeiro, é evolutivamente vantajoso para a espécie manter-se no hospedeiro sem ser detectado pelo sistema imunológico. Por outro lado, durante cultivo *in vitro*, essa mutação em *fadD5* pode trazer implicações quando o micro-organismo atinge fase estacionária, prejudicando a reciclagem de ácidos micólicos da parede celular como fonte de energia.

Outras mutações interessantes estão nos genes *fadE12*, *fadD11*, *fadD9*, *fadE12*, *fadE20* e *fadB*. Embora o conhecimento sobre estas proteínas seja limitado, Mycobrowser consegue predizer, via comparação de sequência de aminoácidos (*blast*), que são envolvidas na degradação de lipídeos devido sua alta similaridade com acil-CoA desidrogenase de outras espécies bacterianas. É possível que desempenhem importante função no metabolismo de lipídeos *in vivo*, visto que estes genes parecem não serem indispensáveis para crescimento de *M. tuberculosis in vitro* (SASSETTI; RUBIN, 2003; DEJESUS et al., 2017). Com exceção de *fadE20*, que não foi possível predizer (DE SOUZA et al., 2011), são encontradas majoritariamente na membrana celular (GU et al., 2003; MAWUENYEGA et al., 2005). Além destas, encontramos um *frameshift* no gene *tgs3*. Este gene codifica uma subunidade da possível triacilglicerol sintase em *M. tuberculosis*, responsável por incorporar acetil-CoA em 1,2-diacil-sn-glicerol, que

apesar de parecer ser dispensável para o crescimento *in vitro* (GRIFFIN et al., 2011), como as proteínas citadas acima, é descrita expressa no período inicial de infecção em cobaias (KRUH et al., 2010). É reportado também, que *M. tuberculosis*, em condições hiperglicêmicas, possuem crescimento favorecido em células THP-1 hospedeiras pela superexpressão de *tgs3* e sua participação no metabolismo lipídico sob estresse (KUNDU et al., 2019). Esses dados sugerem que essas proteínas desempenham papel importante para micobactérias durante a infecção e, apresentando mutações deletérias, *M. caprae* pode não usar a expressão destas como visto em *M. tuberculosis*, mudando o fenótipo do quadro infeccioso entre ambas espécies.

Outra mutação envolvendo *fadD* que nos chamou a atenção foi a mutação no gene *fadD3*. *FadD3* é uma das quatro acil-CoA sintetases potencialmente envolvidas no catabolismo do colesterol. Mais especificamente, este gene é responsável por codificar a enzima HIP-CoA sintetase, responsável pelo catabolismo dos anéis C/D do colesterol (CASABON et al., 2013b). Sua inatividade poderia impossibilitar a conversão de HIP em HIP-CoA, assim como já observado em estudos utilizando mutantes de *fadD3* de *M. tuberculosis* (CASABON et al., 2013a). Apesar do metabolismo HIP ser pouco caracterizado, sabemos que essa conversão permite que HIP-CoA, produto da ação da HIP-CoA sintetase, alivie de maneira única a associação do repressor *kstR2* ao fragmento genético responsável por codificar diversos genes envolvidos no catabolismo e degradação do colesterol, possibilitando as atividades metabólicas a partir do colesterol hospedeiro pela expressão destes genes (CROWE et al., 2015), um fator crucial para *M. tuberculosis* durante a infecção da célula hospedeira (CROWE et al., 2017). Junto a dados obtidos das mutações citadas acima, nossa hipótese de que seu metabolismo de lipídeos diferenciado é, também, responsável por sua atenuação quando comparado a *M. tuberculosis*, uma vez que *M. caprae* seria incapaz de promover a expressão destes genes associados ao catabolismo de colesterol a seu favor. Essa deficiência, porém, não seria importante durante crescimento *in vitro*, uma vez que colesterol não é adicionado ao meio Middlebrook 7H9-OADC. Porém, pode ter efeito no meio comumente

usado em diagnóstico, Stonebrink e Löwestein Jensen, uma vez que os mesmos são a base de ovos.

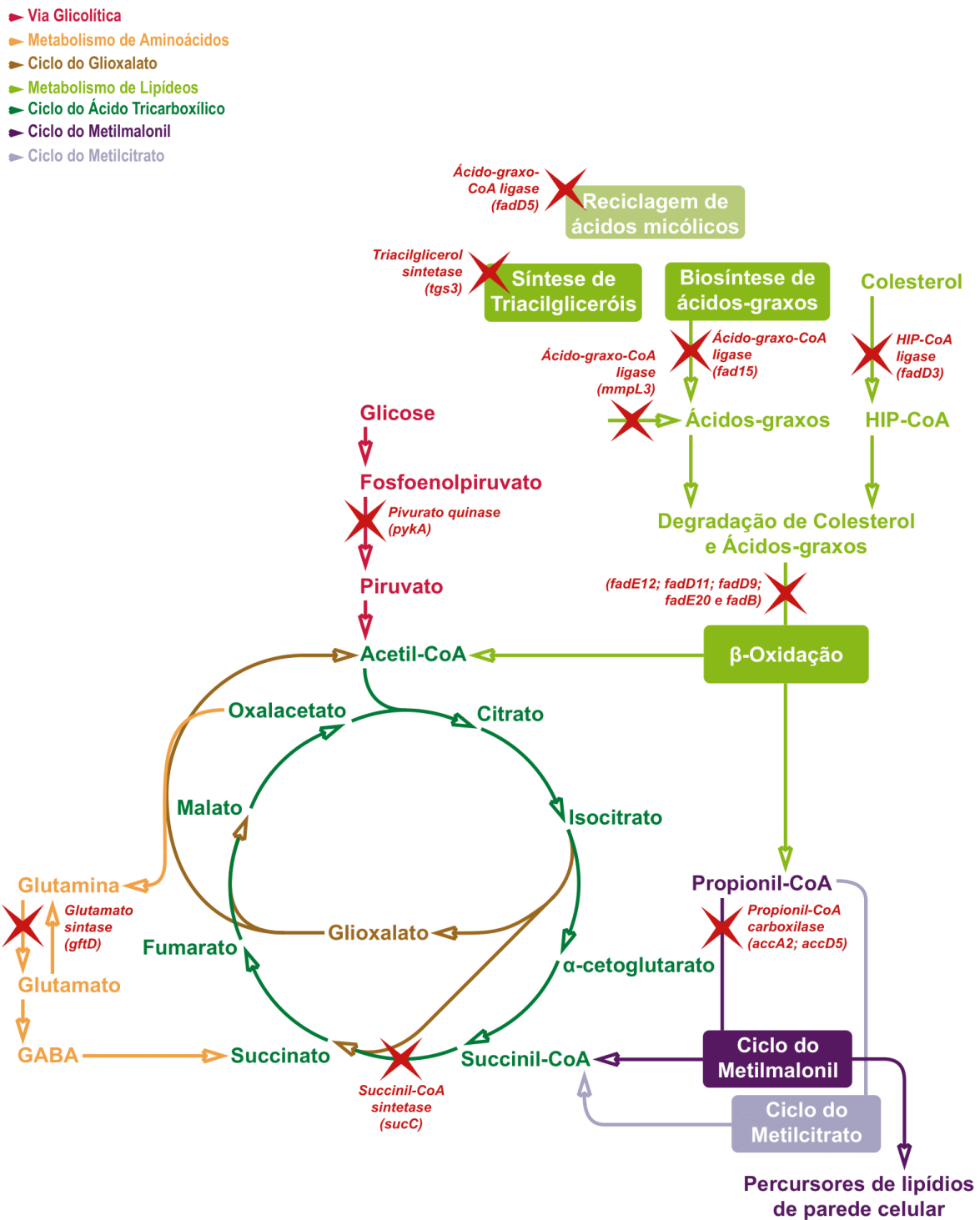
Foi possível, também, encontrar mutações no gene *mmpL3*. Apesar de *M. tuberculosis* possuir mais de 10 proteínas da família *mmpL* e essas estarem associadas com o transporte de lipídeos e influenciarem na virulência e replicação de micobactérias (DOMENECH; REED; BARRY, 2005), *mmpL3* parece ser essencial para o transporte de ácidos micólicos em *M. tuberculosis* (BELARDINELLI et al., 2016). O transportador integral de membrana codificado por *mmpL3* (XIONG et al., 2005), devido sua alta relevância para a micobactéria, é estudado como alvo de terapia antimicrobianas, sendo reportado que sua necessidade para a replicação *in vitro* e *in vivo*, em camundongos, durante a fase aguda e crônica da doença pode ser interrompida por inibidores do transportador *mmpL3* (LI et al., 2014; BELARDINELLI et al., 2016; ZHENG et al., 2018). A partir da caracterização deste transportador, é possível que, apesar da presença de uma mutação deletéria no gene *mmpL3*, *M. caprae* não sofra alterações estruturais tão importantes a ponto de não possuir um transportador funcional, visto a importância deste transportador. Ou seja, é possível que a mutação leve a alterações mínimas, que não impeçam o transportador de desempenhar sua função em *M. caprae*.

Nossos resultados ainda mostraram SNPs com efeitos deletérios em outros genes importantes relacionados ao metabolismo de lipídeos em *M. caprae*: *accA2* e *accD5*. Esses codificam subunidades alfa e beta da enzima propionil-CoA carboxilase, respectivamente. Essa enzima é responsável por encaminhar o propionil-CoA, proveniente da beta-oxidação de ácidos-graxos de cadeia ímpar e do catabolismo de isoleucina, valina, metionina e treonina, para sua metabolização pelo ciclo do metilmalonil (Figura 2 e 3). A partir do ciclo de metilcitrate e metilmalonil, assim como o ciclo de glioxalato, é possível formar intermediários do TCA, como citrato, malato e succinato, mostrando a necessidade destes para o TCA (MUÑOZ-ELÍAS et al., 2006) (Figura 2 e 3). Curiosamente, uma possível falha na propionil-CoA carboxilase poderia levar ao

acúmulo de propionato dentro da célula, uma vez que apenas o ciclo do metilcitrato funcionaria para o redirecionamento da molécula. Porém, durante o crescimento *in vitro* em meio Middlebrook 7H9-OADC com piruvato de sódio, o ácido graxo provido é um ácido oleico, com 18 carbonos. Sua beta oxidação não resulta em propionil-coA. Propionil-coA durante o crescimento em 7H9-OADC só poderia ser produzido por meio do catabolismo dos aminoácidos listados acima ou pela eventual reciclagem de ácidos graxos de cadeia ímpar do envelope celular. Assim, não acreditamos que exista um acúmulo de propionil-coA durante o crescimento do *M. caprae* em meio Middlebrook 7H9-OADC com piruvato de sódio.

Por outro lado, o efeito do possível acúmulo de propionil-coA durante a infecção do macrófago por *M. caprae* ainda é desconhecido. Mesmo que o efeito tóxico do acúmulo do propionil-CoA ainda seja pouco conhecido em micobactérias, ele é reportado inibindo a ação da enzima piruvato desidrogenase em hepatócitos de camundongos (BRASS, 1992) e em *Rhodobacter sphaeroides* (MARUYAMA; KITAMURA1, 1985), não convertendo piruvato em acetil-CoA, além de ser reportada, também, inibindo intensamente a atividade de outras enzimas, como ATP citrato liase, succinil-CoA sintetase e todo o complexo piruvato desidrogenase em *Aspergillus nidulans*. (BROCK; BUCKEL, 2004) Acreditamos que, mesmo com a existência do ciclo do metilcitrato, o acúmulo de propionato gerado pela interrupção inicial do ciclo do metilmalonil seria inevitável e, poderia prejudicar a replicação de *M. caprae in vivo*. Além disso, sem o direcionamento de propionil-CoA para o ciclo de metilmalonil, é possível ainda que exista uma baixa produção de succinil-CoA e, posteriormente de succinato, fumarato e malato. Esse fenômeno, juntamente com a mutação da succinil-CoA sintetase, atuaria intensificando problemas no TCA, diminuindo o saldo de ATP liberado pelo TCA. Por fim, o encaminhamento de propionil-coA pode resultar em um acúmulo de intermediários do ciclo do metilcitrato, que tem sido descritos como tóxicos para micobactérias tuberculosas (LEE et al., 2018).

Figura 4. Representação ilustrativa da integração da beta-oxidação de ácidos-graxos e seus produtos finais com o TCA.



Legenda: Representação ilustrativa do metabolismo e transporte de lipídeos em *Mycobacterium caprae* e suas respectivas mutações (destacadas com um "X" em vermelho) encontradas em genômica comparativa utilizando *Mycobacterium tuberculosis*

estirpe H37Rv como referência. Na representação a via glicolítica destaca-se flechas em rosa), TCA (flechas em verde), Ciclo de glioxalato (flechas em laranja), ciclo do metilcitrato (caixa em azul claro). Outras mutações envolvendo síntese de triacilgliceróis, biossíntese de ácidos-graxos e a reciclagem de ácidos micólicos encontram-se em caixas no canto esquerdo da imagem. O efeito da provável interrupção do ciclo do Metilmalonil e consequente acúmulo de Propionil-CoA, levando a inatividade da enzima piruvato desidrogenase e a diminuição do saldo de ATP gerado pelo TCA em *Mycobacterium caprae* é representada por uma flecha em vermelho. Uma vez que intermediários do ciclo do Metilmalonil não são formados, é esperado alterações na síntese de parede celular, podendo alterar antígenos de parede.

Fonte: Autoria própria.

Acrescentando à análise metabólica para fins de obter energia, a mutação na enzima propionil-CoA carboxilase, além de não direcionar propionil-CoA para o ciclo do metilmalonil, não haveria a formação dos intermediários (S)-metilmalonil-CoA e (R)-metilmalonil-CoA. Estes intermediários são importantes para a micobactéria pois podem ser usados como tijolos para a construção de lipídeos da parede celular de *M. caprae*, assim como ocorre em *M. tuberculosis*, evitando a toxicidade do acúmulo de propionil-CoA (COX et al., 1999). Essa informação pode nos levar a concluir que a demanda de propionil-CoA enviado para a via de metilmalonil é grande a ponto de seus intermediários possuírem propósito antes de convertidos a succinil-CoA e, posteriormente succinato, indispensável para condições de hipóxia, fornecendo ATP e intermediários do TCA (WARNER, 2015), intensificando a hipótese de que a toxicidade causada pelo acúmulo de propionato possa limitar o crescimento de *M. caprae*, junto com o acúmulo de fosfoenolpiruvato e a consequente inibição da isocitrato desidrogenase no TCA devido a inatividade da piruvato quinase. É possível, também, que a ausência de intermediários do ciclo de metilmalonil leve a alterações na construção da parede celular, alterando antígenos de reconhecimento de *M. caprae*, tornando-o menos virulento e apresentar crescimento limitado naturalmente, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, independente da composição do meio de cultura. Por fim, a toxicidade por propionato poderia ser exacerbada pela mutação deletéria encontrada em no gene *gltD*, codificador da glutamato sintase, como descrito a seguir.

5.4. Principais mutações no metabolismo de aminoácidos e de nitrogênio em *Mycobacterium caprae*

A aquisição e o metabolismo de aminoácidos são importantes para a patogênese de micobactérias tuberculosas. Além de usar lipídeos do hospedeiro para sintetizar compostos importantes para seu metabolismo, é creditado que *M. tuberculosis* obtém a maior parte de seus aminoácidos não pela síntese *de novo*, mas pela obtenção através do hospedeiro (BORAH et al., 2019), sendo interessante que a célula obtenha a maioria dos seus compostos nitrogenados, como aminoácidos através de outros compostos como hidróxido de amônio (NH₃) (WHEELER; RATLEDGE, 1994), ou ácido glutâmico e sulfato de amônio, no caso do meio Middlebrook 7H9-OADC (DUBOS; MIDDLEBROOK, 1947; AGAPOVA et al., 2019). Nossos resultados de genômica comparativa envolvendo metabolismo de aminoácidos e nitrogênio indicam a existência de mutações importantes em nove genes (Tabela 7).

Tabela 7. Principais mutações encontradas em proteínas associadas ao metabolismo e transporte de lipídeos em *Mycobacterium caprae* em relação a *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv e seus scores dados pelo programa PROVEAN protein.

Gene ID	Proteína afetada	Mutação	PROVEAN score	Efeito da mutação
Rv1605	Imidazol glicerol-fosfato sintase (hisF)	Pro121Leu	-9,955	Deletéria
Rv1077	Cistationa beta sintase (cbs)	Pro444Ser	-5,475	Deletéria
Rv2124c	Metionina sintase (methH)	Ile752Val	-0,985	Neutra
Rv3858c	Glutamato sintase (gltD)	Asp1080Tyr	-7,118	Deletéria
Rv1161	Nitrato redutase (narG)	Arg423His	-4852	Deletéria
Rv1736	Nitrato redutase (narX)	Asp821Gly	-4,686	Deletéria
Rv1736	Nitrato redutase (narX)	Asp77Gly	6,533	Neutra
Rv1736	Nitrato redutase (narX)	Asp53His	-6,286	Deletéria
Rv1736	Nitrato redutase (narX)	Gln150fs	Frameshift	Deletéria
Rv0070c	Serina hidroximetiltransferase (glyA2)	Glu265Gly	-3,479	Deletéria
Rv2495c	Cetoácido desidrogenase E2 (bkdC)	Arg208Trp	-0,198	Neutra
Rv2495c	Cetoácido desidrogenase E2 (bkdC)	Thr107Ala	-4,203	Deletéria
Rv2780	Alanina desidrogenase (ald)	Gln89fs	Frameshift	Deletéria

Fonte: Autoria própria.

Um SNP no gene *bkdC* (também chamado de PdhC), que foi originalmente anotado como subunidade E2 do complexo piruvato desidrogenase (PHD) (RHEE et al., 2011), mas recentemente estabelecido como um componente do complexo de alfa-cetoácido desidrogenase de cadeia ramificada (BCKADH) subunidade E2 (GIRARDIN; MCDONOUGH, 2020), foi apontado como deletério, apresentando uma substituição T → C, resultando em uma Alanina (Ala) ao invés de uma Treonina (Thr) na posição 107. O complexo BCKADH possibilita que *M. tuberculosis* metabolize aminoácidos de cadeia ramificada na carência de glicose *in vivo*, assim como evita o acúmulo de piruvato. Metabolizar aminoácidos de cadeia ramificada é importante para assim evitar o acúmulo destes e de

cetoácidos com ação tóxica sobre *M. tuberculosis*. A BkdC é reportada sendo requerida para a adaptabilidade ao hospedeiro e crítica para a patogênese de *M. tuberculosis* (SHI; EHRT, 2006; VENUGOPAL et al., 2011). Gene igualmente importante em *M. tuberculosis* e também mutado em *M. caprae*, *ald* é codificador da enzima alanina desidrogenase, responsável pela conversão de piruvato em alanina dependente de NAD e amônio (TRIPATHI; RAMACHANDRAN, 2008). Esta proteína é superexpressa por *M. tuberculosis* em condições escassez de nutrientes e hipóxia, sendo muito importante para a formação da parede celular micobacteriana, visto que a alta concentração desta enzima é associada a geração de alanina para a síntese de peptídeoglicano (BETTS et al., 2002; STARCK et al., 2004). Porém, outra enzima foi recentemente descrita como desempenhando papel semelhante, como uma alanina transaminase (Rv0337c, *aspC*), produzindo L-alanina e alfa-cetoglutarato a partir de piruvato e L-glutamato (JANSEN et al., 2020); podendo então suprir a necessidade de alanina a partir do piruvato na ausência de uma Ald funcional.

Estirpes de *M. tuberculosis* possuem dois conjuntos de genes, *narGHJI* e *narX* do operon *narK2X* que possuem homologia com nitrato redutases bacterianas (SOHASKEY; WAYNE, 2003). O gene *narG* do operon NarGHJI, mutado de maneira deletéria em *M. caprae*, codifica uma enzima com atividade de nitrato redutase associada a membrana e com funções respiratórias (OHNO et al., 2003). Mutantes para *narG* de *M. tuberculosis* são incapazes de crescerem utilizando o nitrato e uma foi observado uma atenuação evidente em camundongos infectados com *M. bovis* estirpe BCG mutante para o mesmo gene (OHNO et al., 2003; MALM et al., 2009). Com a atividade de NarG, o nitrato é reduzido a nitrito, que pode então ser convertido em amônio e servir como fonte de nitrogênio para o metabolismo da micobactéria, como síntese de aminoácidos, por exemplo (MALM et al., 2009). Por outro lado, para a enzima NarX, também observada com mutação deletéria em seu gene em *M. caprae*, as informações são escassas. Essa enzima possui homologia com diferentes subunidades de nitrato redutase multimérica NarGHJI, aparentando ser expressa apenas em cenários de anaerobiose, podendo funcionar como uma nitrato redutase

respiratória ou com outra função ainda não bem elucidada (HUTTER; DICK, 1999; SHERMAN et al., 2001; OHNO et al., 2003). Aparentemente essas proteínas, que se caracterizam como nitrato redutase, são importantes para a sobrevivência de *M. tuberculosis* durante a infecção, uma vez visto que quando a tensão de O₂ baixa dentro do macrófago e os níveis de óxido nítrico (NO) aumentam, ocorre uma modulação da expressão genica modulada através do regulon DosR, que leva a micobactéria ao processo de dormência, retardando a replicação e inibindo a respiração aeróbica (VOSKUIL et al., 2003).

Por muitos anos se utilizou a produção de nitrito como uma classificação fenotípica entre *M. bovis* e *M. tuberculosis* (ESCOTO; DE KANTOR, 1978). Estirpes de *M. bovis* produzem baixas quantidades de nitrito, o que tem sido atribuído expressão gênica diferenciada entre *M. bovis* e *M. tuberculosis* dos operons *nark2X* e *narGHJI* (SOHASKEY; MODESTI, 2009). A redução do nitrato permite que *M. tuberculosis* mantenha atividade respiratória em condições de hipóxia e microaerofilia (SOHASKEY; WAYNE, 2003; SOHASKEY, 2008; TAN et al., 2010). O nitrato é um eficiente receptor terminal de elétrons para esta espécie bacteriana, sendo essencial para a rápida adaptação a anaerobiose e ao ambiente ácido e microaerofílico intracelular (SOHASKEY; WAYNE, 2003; SOHASKEY, 2008). É possível que a diminuição do pool de enzimas homólogas a nitrato redutase contribua para esse fenótipo observado em *M. bovis*, a estirpe mais filogeneticamente próxima de *M. caprae*.

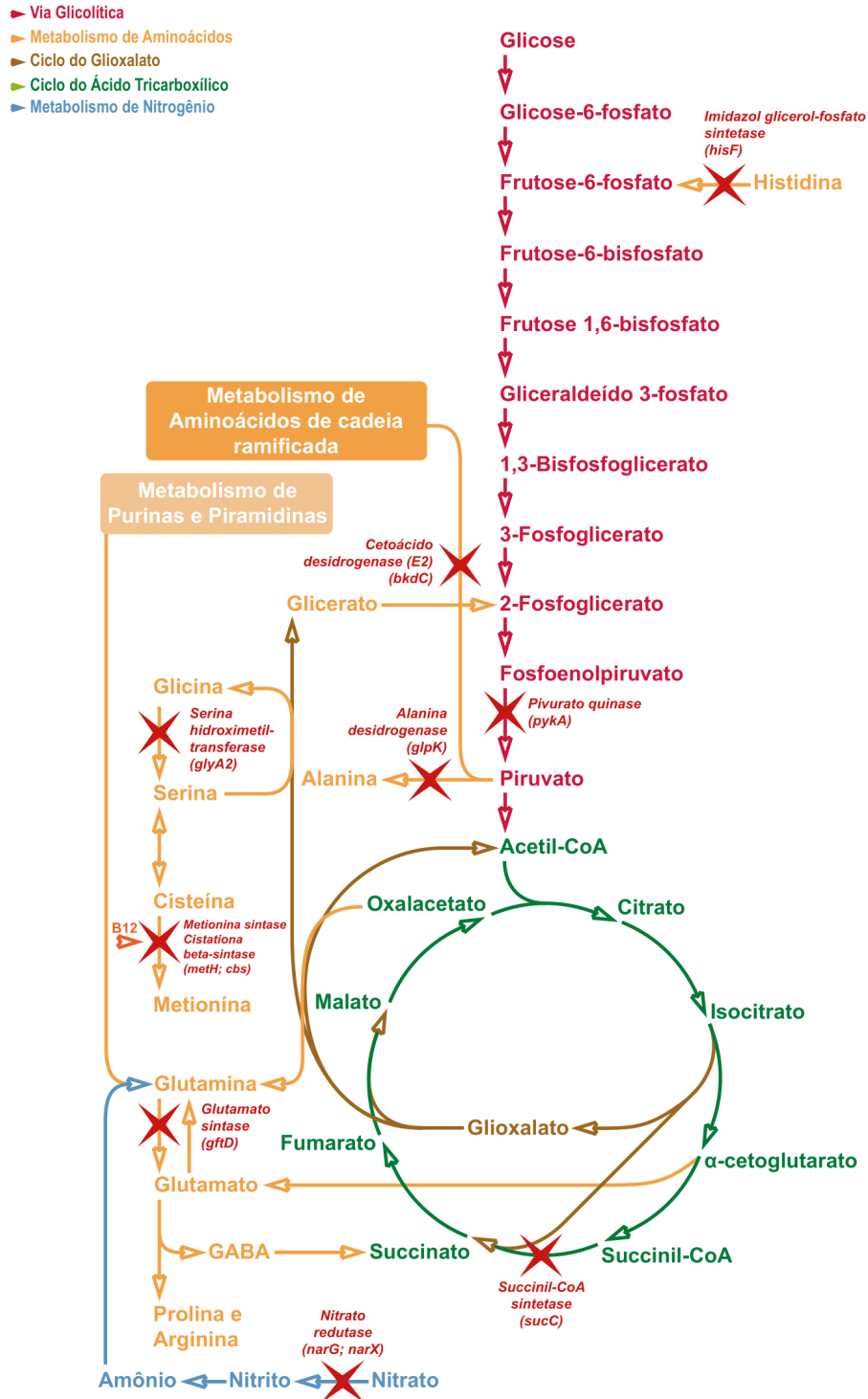
O glutamato, um dos principais aminoácidos requeridos durante o cultivo de micobactérias (GINSBURG; DUNN, 1957; LYON; HALL; COSTAS-MARTINEZ, 1970) e um dos maiores componentes da parede celular de micobactérias patogênicas (HARTH; HORWITZ, 1999), é obtido pela conversão da glutamina ao glutamato pela ação da glutamato sintetase. Ainda que sua função possa ser dispensável para alguns micro-organismos (BECKERS; NOLDEN; BURKOVSKI, 2001), estudos *in silico* mais recentes descrevem a função indispensável da glutamato sintase para *Mycobacterium tuberculosis* (LAMICHHANE et al., 2003). *M. tuberculosis*, como uma estratégia adaptativa, utiliza a atividade da glutamato

sintase a fim de reduzir a toxicidade de Propionil-CoA ao utilizar o ciclo de metilcitrato através de um *cross-talking*, caracterizando-se como um importante alvo para terapia antimicobacterianas (LEE et al., 2018). Em conclusão, provavelmente a mutação deletéria no gene *gltD* não apresenta alta relevância para *M. caprae* durante crescimento *in vitro*, uma vez que o glutamato é adicionado ao meio. Na deficiência da produção de succinato devido a inibição da isocitrato desidrogenase pelo acúmulo de fosfenolpiruvato e pela mutação deletéria na succinil-CoA sintetase, o glutamato aparece como um importante provedor de succinato via GABA *shunt*. É possível que a quantidade de glutamato adicionada ao meio não seja suficiente para suprir toda a demanda de succinato necessária na presença desses defeitos metabólicos.

No metabolismo de metionina, a enzimas *methH* de *M. caprae* carrega uma mutação considerada deletéria, porém, acreditamos que a mutação não afete *M. caprae* de forma importante. A enzima MetH, assim como MetE, corresponde à enzima metionina sintase, que converte homocisteína em metionina. Entretanto, ao contrário de MetE, MetH é dependente da biodisponibilidade de vitamina B₁₂ (Figura 4). Essa dependência de vitamina B₁₂, apesar de não ser bem descrita, é similar à observada por *mutAB*, metimalonil-CoA mutase, enzima responsável por catalisar a reação de conversão de (R)-metimalonil-CoA em succinil-CoA, no ciclo do metilmalonil, crítico para a diminuição de níveis tóxicos de Propionil-CoA (Figura 5) (GOPINATH et al., 2013). É possível que, assim como achados em *Escherichia coli*, a MetH dependente de vitamina B₁₂ seja mais bioativa que MetE, mas quando superexpressa consiga suprir a demanda metabólica a favor do bacilo (BANDARIAN; MATTHEWS, 2001). É provável que, ao detectar déficit na síntese de metionina, *M. caprae* siga o mesmo caminho reportado em *E. coli* e comece a expressar *metE* extensivamente, uma vez que *methH* é mutada em *M. caprae* e a vitamina B₁₂ não faz parte do meio 7H9-OADC meio de cultura são escassas. Induzindo a superexpressão de *metE*, supriria suas necessidades metabólicas independente de vitamina B₁₂. Estudos envolvendo expressão gênica diferencial desses genes poderia elucidar essa hipótese.

Juntamente, os genes *hisF* e *cbs* também apresentaram SNPs com consequências deletérias em *M. caprae*. O gene *hisF* é responsável pela expressão da enzima imidazol glicerol fosfato sintase, importante para a via de síntese de histidina em micro-organismos (BANFIELD et al., 2001). Apesar de análises concluírem que sua relevância incerta, sabemos que a atividade de *hisF* pode direcionar ribonucleotídeo aminoimidazol carboxamida (AICAR) para o metabolismo de nitrogênio, além de AICAR ser considerado importante para o metabolismo de purinas, se caracterizando como um possível alvo de terapias antimicrobianas (LUNARDI et al., 2013). Ainda que as informações sobre *cbs* sejam extremamente escassas, esse gene codifica a enzima cistationa beta-sintase (TANAKA et al., 2002). Essa informação nos leva a acreditarmos que a mutação em *hisF* não leve a impactos negativos no metabolismo de *M. caprae*, assim como as mutações em *methH*. Entretanto, a mutações deletéria envolvendo o metabolismo de nitrogênio (*narX* e *narG*) e o gene *cbs* possa ter impacto na utilização de corpos aminados no metabolismo e na quantidade de cistationa, respectivamente. Baixa concentração de cistationa pode intensificar os efeitos da mutação de *methH*, já que a cistationa é requerida na via de síntese de metionina, ou seja, pensando na provável diminuição do substrato da metionina sintase, essa potencialmente deletéria, leva o bacilo a intensificar a expressão de *metE* em compensação a *methH*, a fim de compensar a baixa ou total inatividade em *methH*, intensificada por baixos níveis de substrato obtidos a partir de cistationa (Figura 5).

Figura 5. Representação ilustrativa da integração da glicólise e do ciclo tricarboxílico (TCA) e as mutações encontradas envolvendo o metabolismo de aminoácidos, intensificados por mutações no metabolismo de nitrogênio envolvendo o gene *narG* e *narX*.



Legenda: Representação ilustrativa do metabolismo de aminoácidos em *Mycobacterium*

caprae e suas respectivas mutações (destacadas com um “X” em vermelho) encontradas em genômica comparativa utilizando *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv como referência. Na representação a via glicolítica destaca-se com flechas em rosa, TCA (flechas em verde), Ciclo de glioxalato (flechas em laranja), metabolismo de aminoácidos representados por flechas em marrom. A representação elucida o déficit de fonte o nitrogênio utilizado o metabolismo de aminoácidos. A mutação em *gltD* pode não ser significativa pela suplementação de glutamato exógeno (*in vitro*) e demais mutações podem levar a baixos níveis de aminoácidos histidina e metionina.

Fonte: Autoria própria.

5.5. Mutações encontradas na cadeia carreadora de elétrons

Surpreendentemente, nossos resultados mostram a presença de duas mutações deletérias importantes envolvidas na cadeia transportadora de elétrons (Tabela 8). A cadeia transportadora de elétrons é o destino final de NADH⁺ e FADH₂ gerados pelo micro-organismo em diferentes reações enzimáticas, onde estes agentes reduzidos são oxidados e os elétrons provenientes dos carreadores passam por complexos proteicos com ajuda de citocromos, levando a formação de gradiente eletroquímico. Uma vez que o próton passa pela ATP sintase, esta consegue formar ATP unindo ADP ao fosfato inorgânico (COOK et al., 2009; SHEPHERD; POOLE, 2013).

Tabela 8. Mutações encontradas em proteínas associadas a cadeia transportadora de elétrons em *Mycobacterium caprae* em relação a *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv e seus scores dados pelo programa PROVEAN protein.

Gene ID	Proteína afetada	Mutação	PROVEAN score	Efeito da mutação
Rv1451	Fator de montagem de Citocromo c oxidase (<i>ctaB</i>)	Ala68Thr	-3,392	Deletéria
Rv3232c	Polifosfato quinase (<i>ppk2</i>)	Thr83Ala	-3,433	Deletéria

Fonte: Autoria própria.

Em *M. tuberculosis*, a síntese de ATP ocorre tanto pela fosforilação em nível de substrato, onde a há transferência de fosfato para ADP em processos enzimáticos, quanto pela fosforilação oxidativa (via F₁ F₀ ATPsintase ligadas à membrana) (COOK et al., 2009), sendo a cadeia respiratória extremamente

necessária para as micobactérias (COOK et al., 2014), visto que a funcionalidade da ATP sintase para *M. tuberculosis* e *M. smegmatis* se mostrou indispensável (SASSETTI; RUBIN, 2003; TRAN; COOK, 2005). Porém, para que ocorra a última etapa da fosforilização oxidativa é necessário que toda a cadeia transportadora de elétrons seja funcional. Acreditamos que mutação encontrada no gene *ctaB* de *M. caprae*, codificante para fator de montagem do citocromo c oxidase, de alguma forma, não possui grande impacto sobre o citocromo c, uma vez que transtornos neste gene estão associados a crescimento defeituoso em *M. tuberculosis* (DEJESUS et al., 2017), o que não é compatível com o observado durante o cultivo de *M. caprae* em nosso laboratório.

Por outro lado, a mutação no gene da enzima polifosfato quinase, responsável pela metabolização de polifosfato inorgânico (PPPi em PPI) para geração de ATP, poderia resultar em diminuição importante da produção de ATP pela ATP sintase. Mutantes de *ppk2* de *M. tuberculosis* apresentam aumento do *pool* de polifosfato (PPPi), acompanhado de reduzida capacidade de persistir em macrófagos THP-1 e J774, reduzida virulência em modelos animais e aumento de quatro vezes na concentração inibitória mínima (CIM) do antibiótico isoniazida em comparação a estirpe selvagem (CHUANG; BELCHIS; KARAKOUSIS, 2013; SINGH et al., 2016). Levantamos então a hipótese de que essa mutação faria com que *M. caprae*, ao contrário do esperado, produzisse baixas quantidades de ATP via fosforilação oxidativa, potencializado pela baixa biodisponibilidade de agentes redutores liberados em outros processos enzimáticos comentados nos tópicos acima. Como consequência, *M. caprae* sintetizaria uma concentração menor de ATP via fosforilação oxidativa, o que levaria a crescimento limitado devido baixas concentrações de ATP, a moeda energética metabólica.

5.6. Outras mutações importantes encontradas em *Mycobacterium caprae*

Durante nossas análises notamos mutações deletérias em 7 genes importantes, alguns destes possivelmente caracterizados como fatores de virulência (Tabela 9). Micobactérias são micro-organismos muito bem adaptados aos hospedeiros. Além de possuírem uma ampla flexibilidade metabólica, como

discutido acima, um elemento importante durante o período de infecção são os fatores de virulência, que podem ser usados em diversos momentos, desde a inibição da fusão do fagossomos com o lisossomo, a sua capacidade de entrar em dormência, mantando-se viável e segura no interior da célula hospedeira, sendo assim, podemos afirmar que esses fatores são determinantes para o sucesso do patógeno (MISHRA et al., 2010; FORRELLAD et al., 2013; ORGEUR; BROSCH, 2018).

Tabela 9. Outras mutações importantes encontradas em *Mycobacterium caprae* em relação a *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv e seus scores dados pelo programa PROVEAN protein.

Gene ID	Proteína afetada	Mutação	PROVEAN score	Efeito da mutação
Rv0642c	Ácido metóxi-micólico sintase 4 (<i>mmaA4</i>)	Phe95Leu	-3,730	Deletéria
Rv1009	Fator promotor de ressuscitação RpfB (<i>RpfB</i>)	Gly282Glu	-6,502	Deletéria
Rv0644c	Ciclopropano sintase (<i>mmaA2</i>)	Arg114Leu	-6,616	Deletéria
Rv1037c	Proteína similar a ESAT-6 (Mtb) (<i>EsxL</i>)	Gln20Leu	-3,618	Deletéria
Rv1198	Proteína similar a ESAT-6 (Mtb) (<i>EsxL</i>)	Ala12Asp	-2,964	Deletéria
Rv0005	DNA girasse sub. B (<i>gyrB</i>)	Ala403Ser	-2,552	Deletéria

Fonte: Autoria própria.

Um importante gene com mutação deletéria encontrado em *M. caprae* foi o *rpfB*, responsável pela codificação do fator promotor de ressuscitação. Micobactérias possuem a capacidade de sobreviver em um hospedeiro por longos períodos de tempos devido a sua capacidade de entrar em estado de dormência em situações de estresse celular, como a baixa tensão de oxigênio. A TB é

considerada ativa uma vez que o patógeno sai do seu estado de dormência e volta a se replicar, levando ao quadro clínico característico de TB em cada hospedeiro (SHEPHERD; CHAPMAN, 2016; FURIN; COX; PAI, 2019; PETERSEN et al., 2019; LONG et al., 2020). Os fatores promotores de ressuscitação (Rfps) são proteínas que, além de apresentam homologia com lisozimas (COHEN-GONSAUD et al., 2005), são extensamente associados com a capacidade de diferentes micro-organismos saírem de seu estado de latência e voltar a seu estado replicativo (MUKAMOLOVA et al., 1998). Estirpes de *M. tuberculosis* possuem 5 genes homólogos a *Rfps*, possuindo uma região de 70 aminoácidos conservados em relação a *Micrococcus luteos*. Tufariello et al., (2004), durante o estudo de Rfps, notou que ambos mutantes de *M. tuberculosis* para Rfps individuais não diferem em imunopatologia ou crescimento em relação a estirpe selvagem durante infecção pulmonar em camundongos e que todos os cinco homólogos de Rfps são expressos em *M. tuberculosis* obtidos de culturas em fase estacionária estendida, sugerindo a possibilidade de que Rfps pode desempenhar um papel na reativação dos bacilos em dormência. Dois anos depois documentou que *knockout* de *M. tuberculosis* para *rpfB* (Rv1009) em modelo murino foi incapaz de reativar-se. Esse efeito prolongou a sobrevivência dos camundongos infectados e uma baixa carga bacteriana no organismo destes animais em relação a estirpe selvagem, estendendo a fase de latência da infecção (TUFARIELLO et al., 2006). Além disso, mutantes em estado não cultivável podem voltar a crescer pela adição de filtrado de culturas de bactérias selvagens, mostrando que ainda que viáveis, bactérias mutantes para *Rfps* são incapazes de replicar (KANA et al., 2008). Ainda que não seja reportado os efeitos de *RpfB* em *M. caprae*, os dados da literatura sugerem que a persistência de *M. caprae* em hospedeiros pode ser devido a mutações em *rpfB*, retardando a ativação da TB, porém se mantendo viável, o que caracterizaria uma vantagem evolutiva para a espécie.

O grupo de genes *mma* é composto por *mmaA1*, *mmaA2* (anteriormente denominada *cmaA2*); *mmaA3* e *mmaA4* (GOUDE; PARISH, 2008). Destes, *M. caprae* apresenta mutações em *mmaA2* e *mmaA4* que codificam uma ciclopropano distal sintase de alfa micolatos e ácido metóxi-micólico sintase 4,

respectivamente (GLICKMAN, 2003; ALAHARI et al., 2009). Ambas estão associadas com a homeostase e manutenção de parede celular, mais especificamente com a síntese de ácidos micólicos. É reportado na literatura que a funcionalidade destas enzimas para a patogênese de *M. tuberculosis* apresenta um papel significativo. *M. tuberculosis* mutantes para o gene *mmaA4* estimulam macrófagos infectados a produzirem níveis altos de Interleucina (IL) 12p40 e Fator de necrose Tumoral alfa (TNF-alfa), além de apresentar fenótipo menos virulento, o que o caracteriza como um importante gene de evasão do sistema imunológico (DAO et al., 2008). Por outro lado, a perda de *mmaA2* leva *M. tuberculosis* à hipervirulência com uma resposta inflamatória (RAO et al., 2006). Com base na literatura, acreditamos que a ausência de enzimas funcionais relacionadas ao grupo de genes *mma* seja responsável por peculiaridades nos ácidos micólicos da parede celular de *M. caprae*, um dos mais importantes antígenos das micobactérias. A mutação deletéria pode estar associada a formação de estruturas diferentes, ou a ausência delas, resultando em antígenos diferentes e, portanto, diferentes respostas ao seu reconhecimento (Figura 5). Além do mais, ambas enzimas são potenciais alvos para terapias em estudo, fortificando a hipótese da importância destas em *M. caprae*, assim como em micobactérias patogênicas (BARKAN et al., 2009).

Um dos mecanismos de virulência mais estudados em *M. tuberculosis* são os sistemas de secreção do tipo VII, também conhecidos como ESX-1 a 5 (MISHRA et al., 2010; JIA et al., 2017; YIMER et al., 2017; BUTLER et al., 2020). Este sistema de secreção é responsável pela liberação de um antígeno de 6 kDa denominado ESAT-6, dentre outros, que é essencial para o sucesso da infecção (HSU et al., 2003). A secreção do ESAT-6 é um dos principais fatores que levam à ativação do inflamassoma NLRP3 em macrófagos infectados por *M. tuberculosis*, podendo levar a célula à piroptose (MISHRA et al., 2010; BECKWITH et al., 2020). Operons ESX são reportados em *M. bovis* como fator crucial para escape celular (BUTLER et al., 2020), sendo que ausência de um desses operons (ESX-1) em *M. bovis* estirpe vacinal BCG é o principal fator de atenuação e principal característica de diferenciação de micobactérias patogênicas (HARBOE

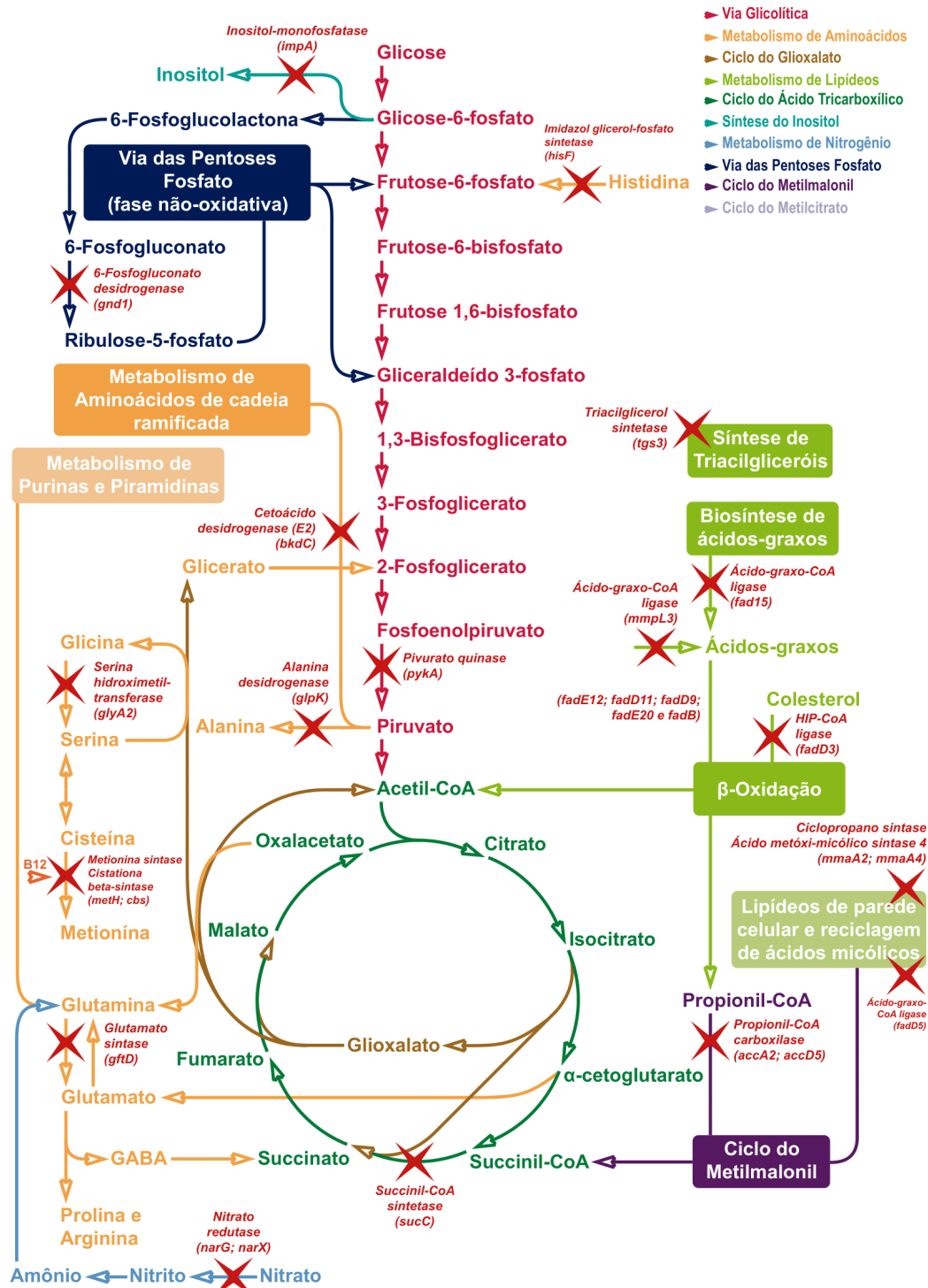
et al., 1996; GRÖSCHEL et al., 2016). Hipotetizamos que, assim como é encontrado em *M. bovis* (POLLOCK; ANDERSEN, 1997) e outras micobactérias, *M. caprae* tenha o sistema de secreção, porém, devido a particularidades genômicas adquiridas durante a evolução, esse sistema de secreção não secrete os mesmos produtos, ou similares aos observados em *M. tuberculosis*. Alterações em fatores de virulência secretados, concomitante a todos os outros achados reportados neste trabalho poderiam indicar um perfil imunogênico diferente em *M. caprae* em relação a *M. tuberculosis*.

Nossos achados ainda mostram mutações associadas a replicação celular. A mutação em *gyrB*, gene responsável pela expressão da subunidade B da enzima girase, foi reportada previamente (ARANAZ et al., 2003) e utilizada como diferencial entre espécies do MTBC (RICHTER et al., 2003). A girase é a única enzima capaz de introduzir o superenrolamento negativo na fita de DNA e possui papel relevante na replicação em *Escherichia coli* (GROMPONE; EHRLICH; MICHEL, 2003), inclusive já sendo reportado que mutações em girase levam ao acúmulo de superenrolamentos próximos à forquilha de replicação, protelando a replicação em relação a estirpe selvagem (KHODURSKY et al., 2000). Entretanto, Grampone et al., (2003) mostraram que, ao menos que mutações em *gyrB* sejam acompanhadas da inativação de *PriA*, *E. coli* permanece viável. Com base nos estudos em *E. coli*, em nossos resultados não foi encontrado mutação (deletéria ou neutra) em *PriA* (Rv1402), levando-nos a concluir que, ainda que a mutação em *gyrB* possa levar ao processo lento de replicação, e mutações no gene *gyrB* estejam relacionados com resistência a drogas antimicrobianas em micobactérias (DISRATTHAKIT et al., 2016), não afetaria a viabilidade de *M. caprae*. Acreditamos também, que genes de relevância para atividades básicas celulares como transcrição e tradução seriam incompatíveis com a vida destes microorganismos, visto a alta adaptabilidade que possuem e a complexidade de expressão de diversos genes *in vitro* e principalmente *in vivos* importantes para a sobrevivência das micobactérias, incluindo *M. caprae*.

5.7. Hipóteses para desenvolvimento de meios de cultivo para *M. caprae*

A fim de elucidar nossos resultados criamos uma imagem apontando os principais achados de forma sistêmica e conjunta, mostrando o impacto de cada mutação em conjunto e seu conseqüente efeito e limitações sobre o metabolismo de *Mycobacterium caprae* (Figura 6).

Figura 6. Representação ilustrativa da integração do metabolismo de *Mycobacterium caprae* apresentando as principais mutações encontradas em genômica comparativa e suas implicações e limitações metabólicas.



Legenda: Representação ilustrativa do metabolismo *Mycobacterium caprae* em cross-

talking com as respectivas mutações deletérias (destacadas com um “X” em vermelho) encontradas em genômica comparativa utilizando *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv como referência. Na representação a interação entre a via glicolítica (flechas em rosa), TCA (flechas em verde), Ciclo de glioxalato (flechas em laranja), ciclo do metilmalonil (caixa em roxo), metabolismo de aminoácidos (flechas em marrom), via das pentoses fosfato (flechas em azul marinho), além de outros processos celular importantes para *M. caprae*. Efeitos do acúmulo de propionil-CoA e fosfoenolpiruvato estão representados com flechas em vermelho. O efeito destas prováveis mutações pode acarretar uma interrupção do ciclo do Metilmalonil e consequente acúmulo de Propionil-CoA, levando a inatividade da enzima piruvato desidrogenase e a diminuição do saldo de ATP gerado pelo TCA em *Mycobacterium caprae*. Além das mutações comentadas, a diminuição de agentes redutores, devidos mutações encontradas, pode levar a uma limitação de quantidade de ATP liberado durante a fosforilação oxidativa. Uma vez que intermediários do ciclo do Metilmalonil não são formados, junto a demais mutações reportadas, é esperado alterações na síntese de parede celular, podendo alterar antígenos de parede.

Fonte: Autoria própria.

5.7.2. Hipótese do Propionil-CoA e seus efeitos *in vivo*

Hipotetizamos que durante o crescimento *in vivo* e *in vitro* (para meios a base de ovos, como Stonebrink), onde há metabolização de colesterol, ácidos graxos de cadeia ímpar e aminoácidos de cadeia ramificada, *M. caprae* pode sofrer acúmulo de propionil-CoA, que não conseguiria ser metabolizado pelo ciclo do metilmalonil, fornecendo intermediários para a síntese de parede celular e succinil-CoA, alimentando o TCA. Mesmo que o propionil-CoA seja direcionado para ciclo do metilcitrate, a fim de formar acetil-CoA, o TCA ainda sofreria devido as mutações reportadas acima, o acúmulo de propionil-CoA e a baixa atividade da isocitrato desidrogenase. Como reportado, sem o direcionamento de propionil-CoA para ciclo de metilmalonil, é possível ainda que exista uma baixa produção de succinil-CoA, que juntamente com a mutação da succinil-CoA sintetase, atuaria intensificando problemas no TCA, diminuindo o saldo de ATP liberado pelo TCA, resultando em acúmulo de intermediários do ciclo do metilcitrate descritos como tóxicos para micobactérias tuberculosas. Esse estresse levaria *M. caprae* a entrar em fase não-replicativa, que seria irreversível por sua mutação em RpfB, alterando sua dinâmica de infecção em comparação com demais espécies do complexo MTBC, mesmo outras micobactérias animais, como *M. bovis*.

Por outro lado, acreditamos que algumas mutações trariam ganhos evolutivos para *M. caprae*, como sua mutação em FadD3, que poderia funcionar de maneira protetora ao acúmulo de propionil-CoA gerado pela metabolização de colesterol hospedeiro, uma vez que *M. caprae* poderia ser incapaz de metabolizá-lo. Além desta, é possível que outras mutações descritas acima afetem características estruturais de parede, como a mutação em enzimas precursoras e ácidos micólicos e intermediários sintetizados durante o ciclo do metilmalonil, podendo trazer vantagens evolutivas durante a infecção de células hospedeiras, promovendo persistência e diminuindo o perfil imunogênico de *M. caprae*.

5.7.2. Um meio de cultura espécie-específico para *Mycobacterium caprae* a base de Middlebrook 7H9 enriquecido com OADC e piruvato de sódio

Com base em nossos achados, hipotetizamos que durante o crescimento *in vitro* utilizando meio Middlebrook 7H9 enriquecido com OADC e piruvato de sódio, *M. caprae* utilize o ácido oleico e o piruvato como principais fontes de carbono. Entretanto, sua mutação na piruvato quinase leva a um acúmulo de fosfoenolpiruvato, tanto por glicólise (devido a presença de dextrose) quanto por gluconeogênese. Como já descrito acima, o fosfoenolpiruvato leva a uma inibição alostérica da enzima isocitrato desidrogenase, interrompendo, assim, a via glicolítica e o TCA em mais um ponto assim que esse acúmulo ocorre. A presença da enzima succinil-CoA sintetase mutada intensificaria ainda mais as falhas no TCA. Neste cenário, *M. caprae* teria se adaptado evolutivamente em eleger o ciclo do glioxalato e o GABA shunt como principais fontes de succinato e, conseqüentemente fumarato e malato. Entretanto, vimos que *M. caprae* apresenta mutações potencialmente importantes na cadeia transportadora de elétrons, que podem comprometer sistematicamente seu funcionamento, podendo ser a fosforilação a nível de substrato uma importante fonte de ATP para *M. caprae*. Não o suficiente, com mais de um ponto do TCA sendo prejudicado e a mutação na fosfogluconato desidrogenase (*gnd1*), a quantidade de agentes redutores formados durante o metabolismo seria insuficiente para conter o estresse oxidativo em *M. caprae*.

Acreditamos que apesar de seu crescimento particularmente limitado devido suas particularidades no TCA e na cadeia transportadora de elétrons, a formulação de um meio de cultura contendo concentração superior de glutamato (maior do já estabelecido em caldo Middlebrook 7H9), possa incorrer na maior síntese de alfa-cetoglutarato, facilitando *M. caprae* a obter mais succinato através do ciclo do glioxalato e do GABA shunt. A adição de succinato ao meio também é uma opção. Complementando nossa hipótese, o estresse oxidativo de *M. caprae* devido a mutação em PPP, juntamente com o baixo poder redutor, seja contornado com a adição de concentrações superiores de agentes protetores antioxidantes, como catalase (já presente no suplemento OADC) ou tiouréia, e também de NAD. Por fim, é necessário também avaliar se em condições de microaerofilia existe uma maior ativação do ciclo do glioxalato (WAYNE; LIN, 1982) e, conseqüentemente o GABA shunt para facilitar a utilização dessas fontes de carbono. Acreditamos que essas alterações sejam suficientes para aumentarmos a fase logarítmica de *M. caprae* durante o cultivo *in vitro* utilizando meio base Middlebrook 7H9 enriquecido com OADC e piruvato de sódio, sendo que esses testes estão em curso no laboratório.

6. CONCLUSÃO

Esse é o primeiro estudo a avaliar mutações em genes relacionados ao metabolismo de *M. caprae* em comparação a *M. tuberculosis*, trazendo importante informações geradoras de hipóteses para compreensão das alterações metabólicas encontradas nessa espécie bacteriana. A genômica comparativa trouxe a possibilidade de analisar genes e genomas de diferentes patógenos humanos e animais de maneira global, minimizando tentativas e erros de ensaios fenotípicos em laboratório. O tipo de análise realizada neste estudo, por meio de da identificação de SNPs e indels ao invés de diversidade genética, só é possível porque membros do MTBC possuem evolução clonal, alta similaridade genômica e não sofrem transferência horizontal de genes. Juntos, nossos achados auxiliam a enxergar um novo cenário, onde uma série de mutações consideradas deletérias podem explicar a limitação do cultivo de *M. caprae* em meio Middlebrook 7H9-

OADC com piruvato de sódio em comparação com *M. tuberculosis* e o filogeneticamente mais próximo, *M. bovis*.

Portanto, de acordo com nossos achados, hipotetizamos que as mutações descritas neste trabalho afetam diretamente a replicação *in vitro* e *in vivo*, onde *M. caprae*, durante a infecção, entre em estado não replicativo irreversível, devido sua mutação em RpfB e seu funcionamento anormal do TCA. Apesar de limitarem o crescimento de *M. caprae in vivo*, as mutações, principalmente mutações que estão extensamente associadas a fatores de virulência, reciclagem de ácidos micólicos e síntese de parede celular, podem ser uma grande vantagem evolutiva, permitindo que este patógeno, de perfil generalista, se mantenha em hospedeiros de maneira ábdita do sistema imunológico. Nossos achados também sugerem que o crescimento reduzido desta microbactéria pode ser limitante para seu uso em alguns ensaios laboratoriais, devido mutações e sua tendência ao estresse oxidativo. Sugerimos, então, a formulação de um meio de cultura suplementado com maiores concentrações de catalase e glutamato, possivelmente succinato e NAD, aumentando o de *M. caprae* crescimento *in vitro* em caldo Middlebrook 7H9 com OADC e piruvato de sódio. É necessário também avaliar se em condições de microaerofilia existe uma maior ativação do ciclo do glioxalato em conjunto com o GABA shunt para facilitar a utilização dessas fontes de carbono.

REFERÊNCIAS

AGAPOVA, A.; SERAFINI, A.; PETRIDIS, M.; HUNT, D. M.; GARZA-GARCIA, A.; SOHASKEY, C. D.; DE CARVALHO, L. P. S. Flexible nitrogen utilisation by the metabolic generalist pathogen *Mycobacterium tuberculosis*. **eLife**, v. 8, 31 jan. 2019.

AGUILAR-AYALA, D. A.; TILLEMANN, L.; VAN NIEUWERBURGH, F.; DEFORCE, D.; PALOMINO, J. C.; VANDAMME, P.; GONZALEZ-Y-MERCHAND, J. A.; MARTIN, A. The transcriptome of *Mycobacterium tuberculosis* in a lipid-rich dormancy model through RNAseq analysis. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 17665, 15 dez. 2017.

AGUILAR LEÓN, D.; ZUMÁRRAGA, M. J.; JIMÉNEZ OROPEZA, R.; GIOFFRÉ, A. K.; BERNARDELLI, A.; OROZCO ESTÉVEZ, H.; CATALDI, A. A.; HERNÁNDEZ PANDO, R. *Mycobacterium bovis* with different genotypes and from different hosts induce dissimilar immunopathological lesions in a mouse model of tuberculosis. **Clinical and experimental immunology**, v. 157, n. 1, p. 139–47, jul. 2009.

ALAHARI, A.; ALIBAUD, L.; TRIVELLI, X.; GUPTA, R.; LAMICHHANE, G.; REYNOLDS, R. C.; BISHAI, W. R.; GUERARDEL, Y.; KREMER, L. Mycolic acid methyltransferase, MmaA4, is necessary for thiacetazone susceptibility in *Mycobacterium tuberculosis*. **Molecular Microbiology**, v. 71, n. 5, p. 1263–1277, 1 mar. 2009.

ALEXANDER, K. A.; LAVER, P. N.; MICHEL, A. L.; WILLIAMS, M.; VAN HELDEN, P. D.; WARREN, R. M.; VAN PITTIUS, N. C. G. Novel mycobacterium tuberculosis complex pathogen, *M. Mungi*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 8, p. 1296–1299, 2010.

ALLIX-BÉGUEC, C.; FAUVILLE-DUFAUX, M.; STOFFELS, K.; OMMESLAG, D.; WALRAVENS, K.; SAEGERMAN, C.; SUPPLY, P. Importance of identifying *Mycobacterium bovis* as a causative agent of human tuberculosis. **The**

European respiratory journal, v. 35, n. 3, p. 692–4, 1 mar. 2010.

AMATO, B.; CAPUCCHIO, T. M.; BIASIBETTI, E.; MANGANO, E.; BONIOTTI, B. M.; PACCIARINI, L. M.; MIGLIORE, S.; VITALE, M.; FIASCONARO, M.; DI MARCO LO PRESTI, V. Pathology and genetic findings in a rare case of *Mycobacterium caprae* infection in a sow. **Veterinary Microbiology**, v. 205, p. 71–74, 1 jun. 2017.

AMID, C.; ALAKO, B. T. F.; BALAVENKATARAMAN KADHIRVELU, V.; BURDETT, T.; BURGIN, J.; FAN, J.; HARRISON, P. W.; HOLT, S.; HUSSEIN, A.; IVANOV, E.; JAYATHILAKA, S.; KAY, S.; KEANE, T.; LEINONEN, R.; LIU, X.; MARTINEZ-VILLACORTA, J.; MILANO, A.; PAKSERESHT, A.; RAHMAN, N.; RAJAN, J.; REDDY, K.; RICHARDS, E.; SMIRNOV, D.; SOKOLOV, A.; VIJAYARAJA, S.; COCHRANE, G. The European Nucleotide Archive in 2019. **Nucleic Acids Research**, v. 48, n. D1, p. D70–D76, 13 nov. 2019.

ANISHETTY, S.; PULIMI, M.; PENNATHUR, G. Potential drug targets in *Mycobacterium tuberculosis* through metabolic pathway analysis. **Computational Biology and Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 368–378, 1 out. 2005.

ARANAZ, A.; COUSINS, D.; MATEOS, A.; DOMÍNGUEZ, L. Elevation of *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* Aranaz et al. 1999 to species rank as *Mycobacterium caprae* comb. nov., sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, n. 6, p. 1785–1789, 1 nov. 2003.

ARANAZ, A.; LIEBANA, E.; GOMEZ-MAMPASO, E.; GALÁN, J. C.; COUSINS, D.; ORTEGA, A.; BLÁZQUEZ, J.; BAQUERO, F.; MATEOS, A.; SÚAREZ, G.; DOMÍNGUEZ, L. *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* subsp. nov.: A taxonomic study of a new member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated from goats in Spain. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 49, n. 3, p. 1263–1273, 1999a.

ARANAZ, A.; LIEBANA, E.; GOMEZ-MAMPASO, E.; GALÁN, J. C.; COUSINS,

D.; ORTEGA, A.; BLÁZQUEZ, J.; BAQUERO, F.; MATEOS, A.; SÚAREZ, G.; DOMÍNGUEZ, L. *Mycobacterium tuberculosis* subsp. *caprae* subsp. nov.: A taxonomic study of a new member of the *Mycobacterium tuberculosis* complex isolated from goats in Spain. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 49, n. 3, p. 1263–1273, 1 jul. 1999b.

BANDARIAN, V.; MATTHEWS, R. G. Quantitation of rate enhancements attained by the binding of cobalamin to methionine synthase. **Biochemistry**, v. 40, n. 16, p. 5056–5064, 24 abr. 2001.

BANFIELD, M. J.; LOTT, J. S.; ARCUS, V. L.; MCCARTHY, A. A.; BAKER, E. N. Structure of HisF, a histidine biosynthetic protein from *Pyrobaculum aerophilum*. **Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography**, v. 57, n. 11, p. 1518–1525, 1 nov. 2001.

BARKAN, D.; LIU, Z.; SACCHETTINI, J. C.; GLICKMAN, M. S. Mycolic Acid Cyclopropanation is Essential for Viability, Drug Resistance, and Cell Wall Integrity of *Mycobacterium tuberculosis*. **Chemistry and Biology**, v. 16, n. 5, p. 499–509, 29 maio 2009.

BAYRAKTAR, B.; TOGAY, A.; GENCER, H.; KOCKAYA, T.; DALGIC, N.; BARIS, A. B.; BULUT, E. *Mycobacterium caprae* causing lymphadenitis in a child. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 30, n. 11, p. 1012–103, 2011.

BECKERS, G.; NOLDEN, L.; BURKOVSKI, A. Glutamate synthase of *Corynebacterium glutamicum* is not essential for glutamate synthesis and is regulated by the nitrogen status. **Microbiology**, v. 147, n. 11, p. 2961–2970, 1 nov. 2001.

BECKWITH, K. S.; BECKWITH, M. S.; ULLMANN, S.; SÆTRA, R. S.; KIM, H.; MARSTAD, A.; ÅSBERG, S. E.; STRAND, T. A.; HAUG, M.; NIEDERWEIS, M.; STENMARK, H. A.; FLO, T. H. Plasma membrane damage causes NLRP3 activation and pyroptosis during *Mycobacterium tuberculosis* infection. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 1–18, 1 dez. 2020.

BEHR, M. A. Comparative Genomics of Mycobacteria: Some Answers, Yet More New Questions. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 2, p. a021204–a021204, 1 fev. 2015.

BELARDINELLI, J. M.; YAZIDI, A.; YANG, L.; FABRE, L.; LI, W.; JACQUES, B.; ANGALA, S. K.; ROUILLER, I.; ZGURSKAYA, H. I.; SYGUSCH, J.; JACKSON, M. Structure-Function Profile of MmpL3, the Essential Mycolic Acid Transporter from *Mycobacterium tuberculosis*. **ACS Infectious Diseases**, v. 2, n. 10, p. 702–713, 14 out. 2016.

BELLEROSE, M. M.; BAEK, S. H.; HUANG, C. C.; MOSS, C. E.; KOH, E. I.; PROULX, M. K.; SMITH, C. M.; BAKER, R. E.; LEE, J. S.; EUM, S.; SHIN, S. J.; CHO, S. N.; MURRAY, M.; SASSETTI, C. M. Common variants in the glycerol kinase gene reduce tuberculosis drug efficacy. **mBio**, v. 10, n. 4, p. 1–15, 2019.

BERNEY, M.; COOK, G. M. Unique flexibility in energy metabolism allows mycobacteria to combat starvation and hypoxia. **PLoS ONE**, v. 5, n. 1, 7 jan. 2010.

BESPYATYKH, J.; SHITIKOV, E.; BUTENKO, I.; ALTUKHOV, I.; ALEXEEV, D.; MOKROUSOV, I.; DOGONADZE, M.; ZHURAVLEV, V.; YABLONSKY, P.; ILINA, E.; GOVORUN, V. Proteome analysis of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 cluster. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1–11, 30 jun. 2016.

BESTE, D. J. V.; MCFADDEN, J. **System-level strategies for studying the metabolism of *Mycobacterium tuberculosis*** *Molecular BioSystems* Royal Society of Chemistry, , 8 dez. 2010.

BESTE, D. J. V.; NÖH, K.; NIEDENFÜHR, S.; MENDUM, T. A.; HAWKINS, N. D.; WARD, J. L.; BEALE, M. H.; WIECHERT, W.; MCFADDEN, J. ¹³C-flux spectral analysis of host-pathogen metabolism reveals a mixed diet for intracellular mycobacterium tuberculosis. **Chemistry and Biology**, v. 20, n. 8, p. 1012–1021, 22 ago. 2013.

- BETTS, J. C.; LUKEY, P. T.; ROBB, L. C.; MCADAM, R. A.; DUNCAN, K. Evaluation of a nutrient starvation model of *Mycobacterium tuberculosis* persistence by gene and protein expression profiling. **Molecular Microbiology**, v. 43, n. 3, p. 717–731, 1 fev. 2002.
- BEZOS, J.; DE JUAN, L.; ROMERO, B.; ÁLVAREZ, J.; MAZZUCHELLI, F.; MATEOS, A.; DOMÍNGUEZ, L.; ARANAZ, A. Experimental infection with *Mycobacterium caprae* in goats and evaluation of immunological status in tuberculosis and paratuberculosis co-infected animals. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 133, n. 2–4, p. 269–275, 15 fev. 2010.
- BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114–2120, 1 abr. 2014.
- BOLOTIN, E.; HERSHBERG, R. Gene Loss Dominates As a Source of Genetic Variation within Clonal Pathogenic Bacterial Species. **Genome Biology and Evolution**, v. 7, n. 8, p. 2173–2187, ago. 2015.
- BORAH, K.; BEYSS, M.; THEORELL, A.; WU, H.; BASU, P.; MENDUM, T. A.; NÖH, K.; BESTE, D. J. V.; MCFADDEN, J. Intracellular *Mycobacterium tuberculosis* Exploits Multiple Host Nitrogen Sources during Growth in Human Macrophages. **Cell Reports**, v. 29, n. 11, p. 3580- 3591.e4, 10 dez. 2019.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. e A. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT). p. 184, 2006.
- BRASS, E. P. Interaction of carnitine and propionate with pyruvate oxidation by hepatocytes from clofibrate-treated rats: Importance of coenzyme A availability. **Journal of Nutrition**, v. 122, n. 2, p. 234–240, 1 fev. 1992.
- BRITES, D.; LOISEAU, C.; MENARDO, F.; BORRELL, S.; BONIOTTI, M. B.; WARREN, R.; DIPPENAAR, A.; PARSONS, S. D. C.; BEISEL, C.; BEHR, M. A.; FYFE, J. A.; COSCOLLA, M.; GAGNEUX, S. A New Phylogenetic Framework for

the Animal-Adapted *Mycobacterium tuberculosis* Complex. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2820, nov. 2018.

BROCK, M.; BUCKEL, W. On the mechanism of action of the antifungal agent propionate. Propionyl-CoA inhibits glucose metabolism in *Aspergillus nidulans*. **European Journal of Biochemistry**, v. 271, n. 15, p. 3227–3241, 1 ago. 2004.

BROECKL, S.; KREBS, S.; VARADHARAJAN, A.; STRAUBINGER, R. K.; BLUM, H.; BUETTNER, M. Investigation of intra-herd spread of *Mycobacterium caprae* in cattle by generation and use of a whole-genome sequence. **Veterinary Research Communications**, v. 41, n. 2, p. 113–128, 1 jun. 2017.

BROSCH, R.; GORDON, S. V.; MARMIESSE, M.; BRODIN, P.; BUCHRIESER, C.; EIGLMEIER, K.; GARNIER, T.; GUTIERREZ, C.; HEWINSON, G.; KREMER, K.; PARSONS, L. M.; PYM, A. S.; SAMPER, S.; VAN SOOLINGEN, D.; COLE, S. T. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 6, p. 3684–3689, 19 mar. 2002.

BROSCH, R.; PYM, A. S.; GORDON, S. V.; COLE, S. T. **The evolution of mycobacterial pathogenicity: Clues from comparative genomics** *Trends in Microbiology* Elsevier Current Trends, , 1 set. 2001. .

BUTLER, R. E.; SMITH, A. A.; MENDUM, T. A.; CHANDRAN, A.; WU, H.; LEFRANÇOIS, L.; CHAMBERS, M.; SOLDATI, T.; STEWART, G. R. *Mycobacterium bovis* uses the ESX-1 Type VII secretion system to escape predation by the soil-dwelling amoeba *Dictyostelium discoideum*. **ISME Journal**, v. 14, n. 4, p. 919–930, 1 abr. 2020.

CAMACHO, L. R.; ENSERGUEIX, D.; PEREZ, E.; GICQUEL, B.; GUILHOT, C. Identification of a virulence gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* by signature-tagged transposon mutagenesis. **Molecular Microbiology**, v. 34, n. 2, p. 257–267, 1 out. 1999. Acesso em: 11 ago. 2020.

CASABON, I.; CROWE, A. M.; LIU, J.; ELTIS, L. D. FadD3 is an acyl-CoA synthetase that initiates catabolism of cholesterol rings C and D in actinobacteria. **Molecular Microbiology**, v. 87, n. 2, p. 269–283, 1 jan. 2013a.

CASABON, I.; CROWE, A. M.; LIU, J.; ELTIS, L. D. FadD3 is an acyl-CoA synthetase that initiates catabolism of cholesterol rings C and D in actinobacteria. **Molecular Microbiology**, v. 87, n. 2, p. 269–283, 1 jan. 2013b.

CHAVADI, S.; WOUFF, E.; COLDHAM, N. G.; SRITHARAN, M.; HEWINSON, R. G.; GORDON, S. V.; WHEELER, P. R. Global effects of inactivation of the pyruvate kinase gene in the Mycobacterium tuberculosis complex. **Journal of Bacteriology**, v. 191, n. 24, p. 7545–7553, 2009.

CHOI, Y.; CHAN, A. P. PROVEAN web server: a tool to predict the functional effect of amino acid substitutions and indels. **Bioinformatics**, v. 31, n. 16, p. 2745–2747, 15 ago. 2015.

CHOI, Y.; SIMS, G. E.; MURPHY, S.; MILLER, J. R.; CHAN, A. P. Predicting the Functional Effect of Amino Acid Substitutions and Indels. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, p. 46688, 2012a.

CHOI, Y.; SIMS, G. E.; MURPHY, S.; MILLER, J. R.; CHAN, A. P. Predicting the Functional Effect of Amino Acid Substitutions and Indels. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, p. e46688, 8 out. 2012b.

CHUANG, Y.-M.; BELCHIS, D. A.; KARAKOUSIS, P. C. The Polyphosphate Kinase Gene Ppk2 Is Required for Mycobacterium Tuberculosis Inorganic Polyphosphate Regulation and Virulence. **mBio**, v. 4, n. 3, p. e00039-13, maio 2013.

CINGOLANI, P.; PLATTS, A.; WANG, L. L.; COON, M.; NGUYEN, T.; WANG, L.; LAND, S. J.; LU, X.; RUDEN, D. M. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3. **Fly**, v. 6, n. 2, p. 80–92, 27

abr. 2012.

COCKLE, P. J.; GORDON, S. V.; LALVANI, A.; BUDDLE, B. M.; HEWINSON, R. G.; VORDERMEIER, H. M. Identification of novel *Mycobacterium tuberculosis* antigens with potential as diagnostic reagents or subunit vaccine candidates by comparative genomics. **Infection and Immunity**, v. 70, n. 12, p. 6996–7003, 1 dez. 2002.

COHEN-GONSAUD, M.; BARTHE, P.; BAGNÉRIS, C.; HENDERSON, B.; WARD, J.; ROUMESTAND, C.; KEEP, N. H. The structure of a resuscitation-promoting factor domain from *Mycobacterium tuberculosis* shows homology to lysozymes. **Nature Structural and Molecular Biology**, v. 12, n. 3, p. 270–273, 20 fev. 2005.

COLE, S. T.; BROSCHE, R.; PARKHILL, J.; GARNIER, T.; CHURCHER, C.; HARRIS, D.; GORDON, S. V.; EIGLMEIER, K.; GAS, S.; BARRY, C. E.; TEKAIA, F.; BADCOCK, K.; BASHAM, D.; BROWN, D.; CHILLINGWORTH, T.; CONNOR, R.; DAVIES, R.; DEVLIN, K.; FELTWELL, T.; GENTLES, S.; HAMLIN, N.; HOLROYD, S.; HORNSBY, T.; JAGELS, K.; KROGH, A.; MCLEAN, J.; MOULE, S.; MURPHY, L.; OLIVER, K.; OSBORNE, J.; QUAIL, M. A.; RAJANDREAM, M. A.; ROGERS, J.; RUTTER, S.; SEEGER, K.; SKELTON, J.; SQUARES, R.; SQUARES, S.; SULSTON, J. E.; TAYLOR, K.; WHITEHEAD, S.; BARRELL, B. G. **Deciphering the biology of mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence** Nature Publishing Group, , 11 jun. 1998. .

COOK, G. M.; BERNEY, M.; GEBHARD, S.; HEINEMANN, M.; COX, R. A.; DANILCHANKA, O.; NIEDERWEIS, M. **Physiology of Mycobacteria** Advances in Microbial Physiology Academic Press, , 1 jan. 2009. .

COOK, G. M.; HARDS, K.; VILCHÈZE, C.; HARTMAN, T.; BERNEY, M. Energetics of Respiration and Oxidative Phosphorylation in Mycobacteria. **Microbiology Spectrum**, v. 2, n. 3, 20 jun. 2014.

COPIN, R.; WANG, X.; LOUIE, E.; ESCUYER, V.; COSCOLLA, M.; GAGNEUX,

S.; PALMER, G. H.; ERNST, J. D. Within Host Evolution Selects for a Dominant Genotype of *Mycobacterium tuberculosis* while T Cells Increase Pathogen Genetic Diversity. **PLoS Pathogens**, v. 12, n. 12, 14 dez. 2016.

CORNER, L. A. Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. **Veterinary Microbiology**, v. 40, n. 1–2, p. 53–63, 1 maio 1994.

COSCOLLA, M.; GAGNEUX, S. Consequences of genomic diversity in *Mycobacterium tuberculosis*. **Seminars in Immunology**, v. 26, n. 6, p. 431–444, dez. 2014.

COX, J. S.; CHESS, B.; MCNEIL, M.; JACOBS, W. R. Complex lipid determines tissue-specific replication of *Mycobacterium tuberculosis* in mice. **Nature**, v. 402, n. 6757, p. 79–83, 4 nov. 1999.

CROWE, A. M.; CASABON, I.; BROWN, K. L.; LIU, J.; LIAN, J.; ROGALSKI, J. C.; HURST, T. E.; SNIECKUS, V.; FOSTER, L. J.; ELTISA, L. D. Catabolism of the last two steroid rings in *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria. **mBio**, v. 8, n. 2, 1 mar. 2017.

CROWE, A. M.; STOGIOS, P. J.; CASABON, I.; EVDOKIMOVA, E.; SAVCHENKO, A.; ELTIS, L. D. Structural and functional characterization of a ketosteroid transcriptional regulator of *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 2, p. 872–882, 9 jan. 2015.

CVETNIC, Z.; KATALINIC-JANKOVIC, V.; SOSTARIC, B.; SPICIC, S.; OBROVAC, M.; MARJANOVIC, S.; BENIC, M.; KIRIN, B. K.; VICKOVIC, I. *Mycobacterium caprae* in cattle and humans in Croatia. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 11, n. 6, 1 jun. 2007.

DAO, D. N.; SWEENEY, K.; HSU, T.; GURCHA, S. S.; NASCIMENTO, I. P.; ROSHEVSKY, D.; BESRA, G. S.; CHAN, J.; PORCELLI, S. A.; JACOBS, W. R. Mycolic Acid Modification by the *mmaA4* Gene of *M. tuberculosis* Modulates IL-12 Production. **PLoS Pathogens**, v. 4, n. 6, p. e1000081, 6 jun. 2008.

DE CARVALHO, L. P. S.; FISCHER, S. M.; MARRERO, J.; NATHAN, C.; EHRT, S.; RHEE, K. Y. Metabolomics of Mycobacterium Tuberculosis Reveals Compartmentalized Co-Catabolism of Carbon Substrates. **Chemistry & biology**, v. 17, n. 10, p. 1122–1131, out. 2010.

DE JONG, B. C.; ANTONIO, M.; GAGNEUX, S. **Mycobacterium africanum—review of an important cause of human tuberculosis in West Africa** **PLoS Neglected Tropical Diseases** Public Library of Science, , set. 2010. .

DE LA FUENTE, J.; DÍEZ-DELGADO, I.; CONTRERAS, M.; VICENTE, J.; CABEZAS-CRUZ, A.; TOBES, R.; MANRIQUE, M.; LÓPEZ, V.; ROMERO, B.; BEZOS, J.; DOMINGUEZ, L.; SEVILLA, I. A.; GARRIDO, J. M.; JUSTE, R.; MADICO, G.; JONES-LÓPEZ, E.; GORTAZAR, C. Comparative Genomics of Field Isolates of Mycobacterium bovis and M. caprae Provides Evidence for Possible Correlates with Bacterial Viability and Virulence. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 11, p. e0004232, 19 nov. 2015.

DE SOUZA, G. A.; LEVERSEN, N. A.; MÅLEN, H.; WIKER, H. G. Bacterial proteins with cleaved or uncleaved signal peptides of the general secretory pathway. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 2, p. 502–510, 21 dez. 2011.

DEJESUS, M. A.; GERRICK, E. R.; XU, W.; PARK, S. W.; LONG, J. E.; BOUTTE, C. C.; RUBIN, E. J.; SCHNAPPINGER, D.; EHRT, S.; FORTUNE, S. M.; SASSETTI, C. M.; IOERGER, T. R. Comprehensive essentiality analysis of the Mycobacterium tuberculosis genome via saturating transposon mutagenesis. **mBio**, v. 8, n. 1, 1 jan. 2017.

DIPPENAAR, A.; PARSONS, S. D. C.; SAMPSON, S. L.; VAN DER MERWE, R. G.; DREWE, J. A.; ABDALLAH, A. M.; SIAME, K. K.; GEY VAN PITTIUS, N. C.; VAN HELDEN, P. D.; PAIN, A.; WARREN, R. M. Whole genome sequence analysis of Mycobacterium suricattae. **Tuberculosis**, v. 95, n. 6, p. 682–688, 1 dez. 2015.

DISRATTHAKIT, A.; PRAMMANANAN, T.; TRIBUDDHARAT, C.;

THAIPISUTTIKUL, I.; DOI, N.; LEECHAWENGWONGS, M.; CHAIPRASERT, A. Role of gyrB mutations in pre-extensively and extensively drug-resistant tuberculosis in Thai clinical isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 9, p. 5189–5197, 1 set. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27041111/>. Acesso em: 29 ago. 2020.

DOMENECH, P.; REED, M. B.; BARRY, C. E. Contribution of the Mycobacterium tuberculosis MmpL protein family to virulence and drug resistance. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 6, p. 3492–3501, 1 jun. 2005. Disponível em: www.pasteur.fr. Acesso em: 29 ago. 2020.

DORN-IN, S.; KÖRNER, T.; BÜTTNER, M.; HAFNER-MARX, A.; MÜLLER, M.; HEURICH, M.; VARADHARAJAN, A.; BLUM, H.; GAREIS, M.; SCHWAIGER, K. Shedding of Mycobacterium caprae by wild red deer (Cervus elaphus) in the Bavarian alpine regions, Germany. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 67, n. 1, p. 308–317, 26 jan. 2020a. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tbed.13353>. Acesso em: 17 jun. 2020.

DORN-IN, S.; KÖRNER, T.; BÜTTNER, M.; HAFNER-MARX, A.; MÜLLER, M.; HEURICH, M.; VARADHARAJAN, A.; BLUM, H.; GAREIS, M.; SCHWAIGER, K. Shedding of Mycobacterium caprae by wild red deer (Cervus elaphus) in the Bavarian alpine regions, Germany. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 67, n. 1, p. 308–317, 26 jan. 2020b. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tbed.13353>. Acesso em: 9 set. 2020.

DUBOS, R. J.; MIDDLEBROOK, G. Media for Tubercle Bacilli . **American Review of Tuberculosis**, v. 56, n. 4, p. 334–345, 1947. Disponível em: <https://www.atsjournals.org/doi/pdf/10.1164/art.1947.56.4.334>. Acesso em: 13 ago. 2020.

DUNPHY, K. Y.; SENARATNE, R. H.; MASUZAWA, M.; KENDALL, L. V.; RILEY,

L. W. Attenuation of *Mycobacterium tuberculosis* Functionally Disrupted in a Fatty Acyl-Coenzyme A Synthetase Gene *fadD5*. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 201, n. 8, p. 1232–1239, 15 abr. 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1086/651452>>.

DYE, C. **Global epidemiology of tuberculosis** *Lancet* Elsevier Limited, , 18 mar. 2006. . Disponível em: <www.thelancet.com>. Acesso em: 24 out. 2020.

DYE, C.; WATT, C. J.; BLEED, D. M.; HOSSEINI, S. M.; RAVIGLIONE, M. C. Evolution of tuberculosis control and prospects for reducing tuberculosis incidence, prevalence, and deaths globally. **Journal of the American Medical Association**, v. 293, n. 22, p. 2767–2775, 8 jun. 2005. Disponível em: <www.jama.com>. Acesso em: 24 out. 2020.

EHRT, S.; SCHNAPPINGER, D.; RHEE, K. Y. **Metabolic principles of persistence and pathogenicity in *Mycobacterium tuberculosis*** *Nature Reviews Microbiology* Nature Publishing Group, , 1 ago. 2018. . Disponível em: <www.nature.com/nrmicro>. Acesso em: 13 ago. 2020.

EL-SAYED, A.; EL-SHANNAT, S.; KAMEL, M.; CASTAÑEDA-VAZQUEZ, M. A.; CASTAÑEDA-VAZQUEZ, H. Molecular Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in Humans and Cattle. **Zoonoses and Public Health**, v. 63, n. 4, p. 251–264, jun. 2016.

EOH, H.; RHEE, K. Y. Multifunctional essentiality of succinate metabolism in adaptation to hypoxia in *Mycobacterium tuberculosis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 16, p. 6554–6559, 16 abr. 2013. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC3631649/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23484441/)>. Acesso em: 28 ago. 2020.

ESCOTO, M. L.; DE KANTOR, I. N. Nitrate reductase activity of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* in the presence of electron donors. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 7, n. 6, p. 601–602, 1978.

IEWEGER, R. A.; WILBURN, K. M.; VANDERVEN, B. C. **Comparing the metabolic capabilities of bacteria in the mycobacterium tuberculosis complex***Microorganisms*MDPI AG, , 1 jun. 2019. .

FITZGERALD, S. D.; KANEENE, J. B. Wildlife Reservoirs of Bovine Tuberculosis Worldwide: Hosts, Pathology, Surveillance, and Control. v. 50, n. 3, p. 11, 2012.

FLYNN, J. L.; CHAN, J. Immunology of Tuberculosis. **Annual Review of Immunology**, v. 19, n. 1, p. 93–129, 28 abr. 2001. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.immunol.19.1.93>>. Acesso em: 15 jun. 2020.

FORRELLAD, M. A.; KLEPP, L. I.; GIOFFRÉ, A.; GARCÍA, J. S.; MORBIDONI, H. R.; DE LA PAZ SANTANGELO, M.; CATALDI, A. A.; BIGI, F. **Virulence factors of the mycobacterium tuberculosis complex***Virulence*Taylor and Francis Inc., , 1 jan. 2013. . Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/viru.22329>>. Acesso em: 23 jun. 2020.

FORRELLAD, M. A.; MCNEIL, M.; SANTANGELO, M. de la P.; BLANCO, F. C.; GARCÍA, E.; KLEPP, L. I.; HUFF, J.; NIEDERWEIS, M.; JACKSON, M.; BIGI, F. Role of the Mce1 transporter in the lipid homeostasis of Mycobacterium tuberculosis. **Tuberculosis**, v. 94, n. 2, p. 170–177, mar. 2014.

FURIN, J.; COX, H.; PAI, M. **Tuberculosis***The Lancet*Lancet Publishing Group, , 20 abr. 2019. .

GAGNEUX, S. Ecology and evolution of Mycobacterium tuberculosis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 4, p. 202–213, 19 fev. 2018.

GAGNEUX, S.; SMALL, P. M. Global phylogeography of Mycobacterium tuberculosis and implications for tuberculosis product development. **Lancet Infectious Diseases**, v. 7, n. 5, p. 328–337, 2007.

GAGO, G.; DIACOVICH, L.; GRAMAJO, H. **Lipid metabolism and its**

implication in mycobacteria–host interaction**Current Opinion in**

MicrobiologyElsevier Ltd, , 1 fev. 2018. . Disponível em:

</pmc/articles/PMC5862736/?report=abstract>. Acesso em: 22 jun. 2020.

GALAGAN, J. E. Genomic insights into tuberculosis. **Nat Rev Genet**, v. 15, n. 5, 2014.

GARCÍA-JIMÉNEZ, W. L.; BENÍTEZ-MEDINA, J. M.; FERNÁNDEZ-LLARIO, P.; ABECIA, J. A.; GARCÍA-SÁNCHEZ, A.; MARTÍNEZ, R.; RISCO, D.; ORTIZ-PELÁEZ, A.; SALGUERO, F. J.; SMITH, N. H.; GÓMEZ, L.; HERMOSO DE MENDOZA, J. Comparative Pathology of the Natural infections by

Mycobacterium bovis and by *Mycobacterium caprae* in Wild Boar (*Sus scrofa*).

Transboundary and Emerging Diseases, v. 60, n. 2, p. 102–109, 1 abr. 2013.

Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1865-1682.2012.01321.x>>.

Acesso em: 18 jun. 2020.

GARNIER, T.; EIGLMEIER, K.; CAMUS, J.-C.; MEDINA, N.; MANSOOR, H.; PRYOR, M.; DUTHOY, S.; GRONDIN, S.; LACROIX, C.; MONSEMPE, C.; SIMON, S.; HARRIS, B.; ATKIN, R.; DOGGETT, J.; MAYES, R.; KEATING, L.; WHEELER, P. R.; PARKHILL, J.; BARRELL, B. G.; COLE, S. T.; GORDON, S. V.; HEWINSON, R. G. The complete genome sequence of *Mycobacterium bovis*.

Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 100, n. 13, p. 7877–

7882, jun. 2003.

GIBSON, A. M.; BRATCHELL, N.; ROBERTS, T. A. Predicting microbial growth: growth responses of salmonellae in a laboratory medium as affected by pH,

sodium chloride and storage temperature. **International Journal of Food**

Microbiology, v. 6, n. 2, p. 155–178, 1 mar. 1988.

GINSBURG, B.; DUNN, M. S. Effect of glutamic acid derivatives on growth and inhibition of *Mycobacteria*. **American review of tuberculosis**, v. 75, n. 4, p.

688–691, 1 abr. 1957.

GIRARDIN, R. C.; MCDONOUGH, K. A. Small RNA Mcr11 requires the

transcription factor AbmR for stable expression and regulates genes involved in the central metabolism of *Mycobacterium tuberculosis*. **Molecular Microbiology**, v. 113, n. 2, p. 504–520, 16 fev. 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/mmi.14436>>. Acesso em: 28 ago. 2020.

GLICKMAN, M. S. The *mmaA2* gene of *Mycobacterium tuberculosis* encodes the distal cyclopropane synthase of the α -mycolic acid. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 10, p. 7844–7849, 7 mar. 2003. Disponível em: <<http://www.jbc.org/>>. Acesso em: 17 ago. 2020.

GOLDMAN, D. S. ENZYME SYSTEMS IN THE MYCOBACTERIA. XV. INITIAL STEPS IN THE METABOLISM OF GLYCEROL. **Journal of bacteriology**, v. 86, n. 1, p. 30–37, 1 jul. 1963.

GOPINATH, K.; MOOSA, A.; MIZRAHI, V.; WARNER, D. F. Vitamin B2 metabolism in *Mycobacterium tuberculosis*. **Future Microbiology**, v. 8, n. 11, p. 1405–1418, 7 nov. 2013. Disponível em: <<https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fmb.13.113>>. Acesso em: 14 ago. 2020.

GOUDE, R.; PARISH, T. The genetics of cell wall biosynthesis in *Mycobacterium tuberculosis*. **Future Microbiology**, v. 3, n. 3, p. 299–313, 28 jun. 2008. Disponível em: <<https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/17460913.3.3.299>>. Acesso em: 17 ago. 2020.

GOUZY, A.; POQUET, Y.; NEYROLLES, O. Amino acid capture and utilization within the *Mycobacterium tuberculosis* phagosome. **Future Microbiology**, v. 9, n. 5, p. 631–637, 2014a.

GOUZY, A.; POQUET, Y.; NEYROLLES, O. Nitrogen metabolism in *Mycobacterium tuberculosis* physiology and virulence. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 11, p. 729–737, 1 jan. 2014b. Disponível em:

<<https://www.nature.com/articles/nrmicro3349>>. Acesso em: 22 jun. 2020.

GRIFFIN, J. E.; GAWRONSKI, J. D.; DEJESUS, M. A.; IOERGER, T. R.; AKERLEY, B. J.; SASSETTI, C. M. High-resolution phenotypic profiling defines genes essential for mycobacterial growth and cholesterol catabolism. **PLoS Pathogens**, v. 7, n. 9, set. 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21980284/>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

GROMPONE, G.; EHRLICH, S. D.; MICHEL, B. Replication restart in gyrB Escherichia coli mutants. **Molecular Microbiology**, v. 48, n. 3, p. 845–854, 9 abr. 2003. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2958.2003.03480.x>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

GRÖSCHEL, M. I.; SAYES, F.; SIMEONE, R.; MAJLESSI, L.; BROSCHE, R. **ESX secretion systems: Mycobacterial evolution to counter host immunity** *Nature Reviews Microbiology* Nature Publishing Group, , 1 nov. 2016. Disponível em: <www.nature.com/nrmicro>. Acesso em: 17 ago. 2020.

GU, S.; CHEN, J.; DOBOS, K. M.; BRADBURY, E. M.; BELISLE, J. T.; CHEN, X. Comprehensive proteomic profiling of the membrane constituents of a Mycobacterium tuberculosis strain. **Molecular & cellular proteomics : MCP**, v. 2, n. 12, p. 1284–1296, 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14532352/>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

HANSEN, N.; SEILER, C.; RUMPF, J.; KRAFT, P.; DLASKE, H.; ABELE-HORN, M.; MUELLGES, W. Human Tuberculous Meningitis Caused by Mycobacterium caprae. **Case Reports in Neurology**, v. 4, n. 1, p. 54–60, jan. 2012. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/337299>>. Acesso em: 17 jun. 2020.

HARBOE, M.; OETTINGER, T.; WIKER, H. G.; ROSENKRANDS, I.; ANDERSEN, P. Evidence for occurrence of the ESAT-6 protein in Mycobacterium tuberculosis and virulent Mycobacterium bovis and for its absence in Mycobacterium bovis BCG. **Infection and Immunity**, v. 64, n. 1, 1996.

HARTH, G.; HORWITZ, M. A. An inhibitor of exported Mycobacterium tuberculosis glutamine synthetase selectively blocks the growth of pathogenic mycobacteria in axenic culture and in human monocytes: Extracellular proteins as potential novel drug targets. **Journal of Experimental Medicine**, v. 189, n. 9, p. 1425–1435, 3 maio 1999. Disponível em: <<http://www.jem.org>>. Acesso em: 14 ago. 2020.

HE, W.; WANG, Y.; LIU, W.; ZHOU, C. Z. Crystal structure of *Saccharomyces cerevisiae* 6-phosphogluconate dehydrogenase Gnd1. **BMC Structural Biology**, v. 7, p. 1–9, 2007.

HSU, T.; HINGLEY-WILSON, S. M.; CHEN, B.; CHEN, M.; DAI, A. Z.; MORIN, P. M.; MARKS, C. B.; PADIYAR, J.; GOULDING, C.; GINGERY, M.; EISENBERG, D.; RUSSELL, R. G.; DERRICK, S. C.; COLLINS, F. M.; MORRIS, S. L.; KING, C. H.; JACOBS, W. R. The primary mechanism of attenuation of bacillus Calmette-Guérin is a loss of secreted lytic function required for invasion of lung interstitial tissue. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 21, p. 12420–12425, 14 out. 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14557547/>>. Acesso em: 17 ago. 2020.

HUARD, R. C.; DE OLIVEIRA LAZZARINI, L. C.; BUTLER, W. R.; VAN SOOLINGEN, D.; HO, J. L. PCR-based method to differentiate the subspecies of the *Mycobacterium tuberculosis* complex on the basis of genomic deletions. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 4, p. 1637–1650, 1 abr. 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1253936/>>. Acesso em: 9 set. 2020.

HUERTA-CEPAS, J.; FORSLUND, K.; COELHO, L. P.; SZKLARCZYK, D.; JENSEN, L. J.; VON MERING, C.; BORK, P. Fast Genome-Wide Functional Annotation through Orthology Assignment by eggNOG-Mapper. **Molecular Biology and Evolution**, v. 34, n. 8, p. 2115–2122, 29 abr. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/molbev/msx148>>.

HUERTA-CEPAS, J.; SZKLARCZYK, D.; FORSLUND, K.; COOK, H.; HELLER, D.; WALTER, M. C.; RATTEI, T.; MENDE, D. R.; SUNAGAWA, S.; KUHN, M.; JENSEN, L. J.; VON MERING, C.; BORK, P. eggNOG 4.5: a hierarchical orthology framework with improved functional annotations for eukaryotic, prokaryotic and viral sequences. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. D1, p. D286–D293, 17 nov. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/nar/gkv1248>>.

HUERTA-CEPAS, J.; SZKLARCZYK, D.; HELLER, D.; HERNÁNDEZ-PLAZA, A.; FORSLUND, S. K.; COOK, H.; MENDE, D. R.; LETUNIC, I.; RATTEI, T.; JENSEN, L. J.; VON MERING, C.; BORK, P. eggNOG 5.0: a hierarchical, functionally and phylogenetically annotated orthology resource based on 5090 organisms and 2502 viruses. **Nucleic Acids Research**, v. 47, n. D1, p. D309–D314, 12 nov. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/nar/gky1085>>.

HUTTER, B.; DICK, T. Up-regulation of narX, encoding a putative ‘fused nitrate reductase’ in anaerobic dormant *Mycobacterium bovis* BCG. **FEMS Microbiology Letters**, v. 178, n. 1, p. 63–69, 1 set. 1999. Disponível em: <<https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13760.x>>. Acesso em: 14 ago. 2020.

JANSEN, R. S.; MANDYOLI, L.; HUGHES, R.; WAKABAYASHI, S.; PINKHAM, J. T.; SELBACH, B.; GUINN, K. M.; RUBIN, E. J.; SACCHETTINI, J. C.; RHEE, K. Y. Aspartate aminotransferase Rv3722c governs aspartate-dependent nitrogen metabolism in *Mycobacterium tuberculosis*. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 1–13, 2020.

JIA, X.; YANG, L.; DONG, M.; CHEN, S.; LV, L.; CAO, D.; FU, J.; YANG, T.; ZHANG, J.; ZHANG, X.; SHANG, Y.; WANG, G.; SHENG, Y.; HUANG, H.; CHEN, F. The bioinformatics analysis of comparative genomics of *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) provides insight into dissimilarities between intraspecific groups differing in host association, virulence, and epitope diversity. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, n. MAR, 21

mar. 2017. Disponível em: </pmc/articles/PMC5360109/?report=abstract>.
Acesso em: 23 jun. 2020.

KAHLA, I.; HENRY, M.; BOUKADIDA, J.; DRANCOURT, M. **Pyrosequencing assay for rapid identification of Mycobacterium tuberculosis complex species***BMC Research Notes*BioMed Central Ltd., , 19 out. 2011. .

KANA, B. D.; GORDHAN, B. G.; DOWNING, K. J.; SUNG, N.; VOSTROKTUNOVA, G.; MACHOWSKI, E. E.; TSENOVA, L.; YOUNG, M.; KAPRELYANTS, A.; KAPLAN, G.; MIZRAHI, V. The resuscitation-promoting factors of Mycobacterium tuberculosis are required for virulence and resuscitation from dormancy but are collectively dispensable for growth in vitro. **Molecular Microbiology**, v. 67, n. 3, p. 672–684, 1 fev. 2008. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2958.2007.06078.x>>.
Acesso em: 17 ago. 2020.

KANEHISA, M.; GOTO, S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. **Nucleic Acids Research**, v. 28, n. 1, p. 27–30, 1 jan. 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>>.

KAPOPOULOU, A.; LEW, J. M.; COLE, S. T. The MycoBrowser portal: A comprehensive and manually annotated resource for mycobacterial genomes. **Tuberculosis**, v. 91, n. 1, p. 8–13, jan. 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20980200/>>. Acesso em: 8 ago. 2020.

KARIMPOUR-FARD, A.; LEACH, S. M.; HUNTER, L. E.; GILL, R. T. The topology of the bacterial co-conserved protein network and its implications for predicting protein function. **BMC Genomics**, v. 9, n. 1, p. 1–17, 30 jun. 2008. Disponível em: <<https://link.springer.com/articles/10.1186/1471-2164-9-313>>.
Acesso em: 21 set. 2020.

KEATING, L. A.; WHEELER, P. R.; MANSOOR, H.; INWALD, J. K.; DALE, J.; HEWINSON, R. G.; GORDON, S. V. The pyruvate requirement of some members of the Mycobacterium tuberculosis complex is due to an inactive

pyruvate kinase: implications for in vivo growth. **Molecular Microbiology**, v. 56, n. 1, p. 163–174, 4 fev. 2005. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2958.2005.04524.x>>. Acesso em: 19 jun. 2020.

KHODURSKY, A. B.; PETER, B. J.; SCHMID, M. B.; DERISI, J.; BOTSTEIN, D.; BROWN, P. O.; COZZARELLI, N. R. Analysis of topoisomerase function in bacterial replication fork movement: Use of DNA microarrays. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 17, p. 9419–9424, 15 ago. 2000. Disponível em: <www.pnas.org>. Acesso em: 29 ago. 2020.

KINSELLA, R. J.; FITZPATRICK, D. A.; CREEVEY, C. J.; MCINERNEY, J. O. Fatty acid biosynthesis in *Mycobacterium tuberculosis*: Lateral gene transfer, adaptive evolution, and gene duplication. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 18, p. 10320–10325, 2 set. 2003. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC193559/?report=abstract](http://www.pmc/articles/PMC193559/?report=abstract)>. Acesso em: 22 jun. 2020.

KOBOLDT, D. C.; ZHANG, Q.; LARSON, D. E.; SHEN, D.; MCLELLAN, M. D.; LIN, L.; MILLER, C. A.; MARDIS, E. R.; DING, L.; WILSON, R. K. VarScan 2: Somatic mutation and copy number alteration discovery in cancer by exome sequencing. **Genome Research**, v. 22, n. 3, p. 568–576, 1 mar. 2012. Disponível em: <<http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.129684.111>>. Acesso em: 27 ago. 2020.

KOZIŃSKA, M.; KRAJEWSKA-WĘDZINA, M.; AUGUSTYNOWICZ-KOPEĆ, E. *Mycobacterium caprae* – the first case of the human infection in Poland. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 27, n. 1, p. 151–153, 17 mar. 2020.

KREMER, K.; VAN SOOLINGEN, D.; VAN EMBDEN, J.; HUGHES, S.; INWALD, J.; HEWINSON, G. ***Mycobacterium microti*: More widespread than**

previously thought Journal of Clinical MicrobiologyAmerican Society for Microbiology Journals, , 1 set. 1998. .

KRUH, N. A.; TROUDT, J.; IZZO, A.; PRENNI, J.; DOBOS, K. M. Portrait of a pathogen: The Mycobacterium tuberculosis proteome In vivo. **PLoS ONE**, v. 5, n. 11, 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21085642/>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

KUBICA, T.; RÜSCH-GERDES, S.; NIEMANN, S. Mycobacterium bovis subsp. caprae caused one-third of human M. bovis-associated tuberculosis cases reported in Germany between 1999 and 2001. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 7, p. 3070–3077, 1 jul. 2003.

KUNDU, J.; VERMA, A.; VERMA, I.; BHADADA, S. K.; SHARMA, S. Proteomic changes in Mycobacterium tuberculosis H37Rv under hyperglycemic conditions favour its growth through altered expression of Tgs3(Rv3234c) and supportive proteins (Rv0547c, AcrA1 and Mpa). **Tuberculosis**, v. 115, p. 154–160, 1 mar. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30948171/>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

LAHLOU, O.; MILLET, J.; CHAOUI, I.; SABOUNI, R.; FILALI-MALTOUF, A.; AKRIM, M.; EL MZIBRI, M.; RASTOGI, N.; EL AOUAD, R. The Genotypic Population Structure of Mycobacterium tuberculosis Complex from Moroccan Patients Reveals a Predominance of Euro-American Lineages. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, 15 out. 2012.

LAMICHHANE, G.; ZIGNOL, M.; BLADES, N. J.; GEIMAN, D. E.; DOUGHERTY, A.; GROSSET, J.; BROMAN, K. W.; BISHAI, W. R. A postgenomic method for predicting essential genes at subsaturation levels of mutagenesis: Application to Mycobacterium tuberculosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 12, p. 7213–7218, 10 jun. 2003. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12775759/>>. Acesso em: 13 out. 2020.

LAMINE-KHEMIRI, H.; MARTÍNEZ, R.; GARCÍA-JIMÉNEZ, W. L.; BENÍTEZ-MEDINA, J. M.; CORTÉS, M.; HURTADO, I.; ABASSI, M. S.; KHAZRI, I.; BENZARTI, M.; HERMOSO-DE-MENDOZA, J. Genotypic characterization by spoligotyping and VNTR typing of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae* isolates from cattle of Tunisia. **Tropical Animal Health and Production**, v. 46, n. 2, p. 305–311, fev. 2014. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24158359/>>. Acesso em: 17 set. 2020.

LEE, J. J.; LIM, J.; GAO, S.; LAWSON, C. P.; ODELL, M.; RAHEEM, S.; WOO, J.; KANG, S.-H.; KANG, S.-S.; JEON, B.-Y.; EOH, H. Glutamate mediated metabolic neutralization mitigates propionate toxicity in intracellular *Mycobacterium tuberculosis*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 8506, 2018.

LEE, K. W.; LEE, J. M.; JUNG, K. S. Characterization of *pncA* mutations of pyrazinamide-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Korea. **Journal of Korean Medical Science**, v. 16, n. 5, p. 537–543, 2001. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11511111/>>. Acesso em: 8 ago. 2020.

LEE, R. E.; BRENNAN, P. J.; BESRA, G. S. *Mycobacterium tuberculosis* Cell Envelope. In: SHINNICK, T. M. (Ed.). **Tuberculosis**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1996. p. 1–27.

LESSLIE, I. W. A Comparison of Biological and some Cultural Methods for the Primary Isolation of *Mycobacterium Tuberculosis*. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v. 69, n. 1, p. 1–10, jan. 1959. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13620786/>>. Acesso em: 24 out. 2020.

LI, H. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. **Bioinformatics**, v. 27, n. 21, p. 2987–2993, 8 set. 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr509>>.

LI, H.; DURBIN, R. Fast and accurate long-read alignment with Burrows–Wheeler transform. **Bioinformatics**, v. 26, n. 5, p. 589–595, 15 jan. 2010. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp698>>.

LI, W.; UPADHYAY, A.; FONTES, F. L.; NORTH, E. J.; WANG, Y.; CRANS, D. C.; GRZEGORZEWICZ, A. E.; JONES, V.; FRANZBLAU, S. G.; LEE, R. E.; CRICK, D. C.; JACKSON, M. Novel insights into the mechanism of inhibition of MmpL3, a target of multiple pharmacophores in Mycobacterium tuberculosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 11, p. 6413–6423, 1 nov. 2014. Disponível em: <<http://www.newtdrugs.org>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

LIU, Z.; IOERGER, T. R.; WANG, F.; SACCHETTINI, J. C. Structures of mycobacterium tuberculosis FadD10 protein reveal a new type of adenylate-forming enzyme. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 25, p. 18473–18483, 21 jun. 2013. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC3689989/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC3689989/?report=abstract)>. Acesso em: 11 ago. 2020.

LONG, B.; LIANG, S. Y.; KOYFMAN, A.; GOTTLIEB, M. **Tuberculosis: a focused review for the emergency medicine clinician** *American Journal of Emergency Medicine* W.B. Saunders, , 1 maio 2020. .

LUNARDI, J.; EDUARDO S. NUNES, J.; V. BIZARRO, C.; AUGUSTO BASSO, L. A.; SANTIAGO SANTOS, D.; MACHADO, P. Targeting the Histidine Pathway in Mycobacterium tuberculosis. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 22, p. 2866–2884, 1 nov. 2013.

LYON, R. H.; HALL, W. H.; COSTAS-MARTINEZ, C. Utilization of Amino Acids During Growth of Mycobacterium tuberculosis in Rotary Cultures. **Infection and Immunity**, v. 1, n. 6, p. 513–520, 1970. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC415935/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC415935/?report=abstract)>. Acesso em: 14 ago. 2020.

MALM, S.; GHOMA LINGUISSI, L. S.; TEKWU, E. M.; VOUVOUNGUI, J. C.; KOHL, T. A.; BECKERT, P.; SIDIBE, A.; RÜSCH-GERDES, S.; MADZOU-LABOUM, I. K.; KWEDI, S.; BENG, V. P.; FRANK, M.; NTOUMI, F.; NIEMANN, S. New Mycobacterium tuberculosis complex sublineage, Brazzaville, Congo. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 3, p. 423–429, 1 mar. 2017. Disponível

em: </pmc/articles/PMC5382753/?report=abstract>. Acesso em: 27 ago. 2020.

MALM, S.; TIFFERT, Y.; MICKLINGHOFF, J.; SCHULTZE, S.; JOOST, I.; WEBER, I.; HORST, S.; ACKERMANN, B.; SCHMIDT, M.; WOHLLEBEN, W.; EHLERS, S.; GEFFERS, R.; REUTHER, J.; BANGE, F. C. The roles of the nitrate reductase NarGHJ, the nitrite reductase NirBD and the response regulator GlnR in nitrate assimilation of *Mycobacterium tuberculosis*.

Microbiology, v. 155, n. 4, p. 1332–1339, 1 abr. 2009. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.023275-0>>. Acesso em: 13 ago. 2020.

MALONE, K. M.; GORDON, S. V. Strain variation in the *Mycobacterium tuberculosis* complex: its role in biology, epidemiology and control. v. 1019, 2017.

MARCOTTE, E. M.; PELLEGRINI, M.; NG, H. L.; RICE, D. W.; YEATES, T. O.; EISENBERG, D. Detecting protein function and protein-protein interactions from genome sequences. **Science**, v. 285, n. 5428, p. 751–753, 30 jul. 1999. Disponível em: <<http://www.doe-mbi.ucla.edu>>. Acesso em: 21 set. 2020.

MARRI, P. R.; BANNANTINE, J. P.; GOLDING, G. B. Comparative genomics of metabolic pathways in *Mycobacterium* species: Gene duplication, gene decay and lateral gene transfer. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 30, n. 6, p. 906–925, 1 nov. 2006. Disponível em: <<https://academic.oup.com/femsre/article/30/6/906/494109>>. Acesso em: 25 out. 2020.

MARTÍN-HERNANDO, M. P.; TORRES, M. J.; AZNAR, J.; NEGRO, J. J.; GANDÍA, A.; GORTÁZAR, C. Distribution of Lesions in Red and Fallow Deer Naturally Infected with *Mycobacterium bovis*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 142, n. 1, p. 43–50, jan. 2010.

MARUYAMA, K.; KITAMURA¹, H. **Mechanisms of Growth Inhibition by Propionate and Restoration of the Growth by Sodium Bicarbonate or Acetate in *Rhodopseudomonas sphaeroides* SJ**. **Biochem.** [s.l: s.n.].

MAWUENYEGA, K. G.; FORST, C. V.; DOBOS, K. M.; BELISLE, J. T.; CHEN, J.; BRADBURY, E. M.; BRADBURY, A. R. M.; CHEN, X. Mycobacterium tuberculosis functional network analysis by global subcellular protein profiling. **Molecular Biology of the Cell**, v. 16, n. 1, p. 396–404, jan. 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15525680/>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

MEHAFFY, C.; HESS, A.; PRENNI, J. E.; MATHEMA, B.; KREISWIRTH, B.; DOBOS, K. M. Descriptive proteomic analysis shows protein variability between closely related clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis. **PROTEOMICS**, v. 10, n. 10, p. 1966–1984, 1 maio 2010. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/pmic.200900836>>. Acesso em: 28 ago. 2020.

MIGNARD, S.; PICHAT, C.; CARRET, G. Mycobacterium bovis infection, Lyon, France. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 9, p. 1431–1433, 2006.

MISHRA, B. B.; MOURA-ALVES, P.; SONAWANE, A.; HACOEN, N.; GRIFFITHS, G.; MOITA, L. F.; ANES, E. Mycobacterium tuberculosis protein ESAT-6 is a potent activator of the NLRP3/ASC inflammasome. **Cellular Microbiology**, v. 12, n. 8, p. 1046–1063, ago. 2010.

MOSTOWY, S.; COUSINS, D.; BRINKMAN, J.; ARANAZ, A.; BEHR, M. A. Genomic Deletions Suggest a Phylogeny for the Mycobacterium tuberculosis Complex. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 186, n. 1, p. 74–80, jul. 2002.

MOVAHEDZADEH, F.; WHEELER, P. R.; DINADAYALA, P.; AV-GAY, Y.; PARISH, T.; DAFFÉ, M.; STOKER, N. G. Inositol monophosphate phosphatase genes of Mycobacterium tuberculosis. **BMC Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 1–15, 18 fev. 2010. Disponível em: <<https://link.springer.com/articles/10.1186/1471-2180-10-50>>. Acesso em: 10 ago. 2020.

MUKAMOLOVA, G. V.; KAPRELYANTS, A. S.; YOUNG, D. I.; YOUNG, M.; KELL, D. B. A bacterial cytokine. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 15, p. 8916–8921, 21 jul. 1998. Disponível em: <www.pnas.org>. Acesso em: 17 ago. 2020.

MUÑOZ-ELÍAS, E. J.; MCKINNEY, J. D. Mycobacterium tuberculosis isocitrate lyases 1 and 2 are jointly required for in vivo growth and virulence. **Nature Medicine**, v. 11, n. 6, p. 638–644, jun. 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15895072/>>. Acesso em: 11 ago. 2020.

MUÑOZ-ELÍAS, E. J.; UPTON, A. M.; CHERIAN, J.; MCKINNEY, J. D. Role of the methylcitrate cycle in Mycobacterium tuberculosis metabolism, intracellular growth, and virulence. **Molecular Microbiology**, v. 60, n. 5, p. 1109–1122, 1 jun. 2006. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2958.2006.05155.x>>. Acesso em: 11 ago. 2020.

NEBREDA, T.; ÁLVAREZ-PRIDA, E.; BLANCO, B.; REMACHA, M. A.; SAMPER, S.; JIMÉNEZ, M. S. Peritoneal tuberculosis due to Mycobacterium caprae. **IDCases**, v. 4, p. 50–52, 1 jan. 2016.

NIEMANN, S.; RICHTER, E.; RÜSCH-GERDES, S. Differentiation among members of the Mycobacterium tuberculosis complex by molecular and biochemical features: Evidence for two pyrazinamide- susceptible subtypes of M. bovis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 152–157, 2000.

NOY, T.; VERGNOLLE, O.; HARTMAN, T. E.; RHEE, K. Y.; JACOBS, W. R.; BERNEY, M.; BLANCHARD, J. S. Central role of pyruvate kinase in carbon co-catabolism of mycobacterium tuberculosis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n. 13, p. 7060–7069, 25 mar. 2016. Disponível em: <<http://www.jbc.org/>>. Acesso em: 13 ago. 2020.

O'CONNOR, C. M.; ABID, M.; WALSH, A. L.; BEHBOD, B.; ROBERTS, T.; BOOTH, L. V.; THOMAS, H. L.; SMITH, N. H.; PALKOPOULOU, E.; DALE, J.; NUNEZ-GARCIA, J.; MORGAN, D. Cat-to-human transmission of Mycobacterium bovis, United Kingdom. **Emerging Infectious Diseases**, v. 25, n. 12, p. 2284–2286, 2019.

OFORI-ANYINAM, B.; RILEY, A. J.; JOBARTEH, T.; GITTEH, E.; SARR, B.; FAAL-JAWARA, T. I.; RIGOUTS, L.; SENGHORE, M.; KEHINDE, A.;

ONYEJEPU, N.; ANTONIO, M.; DE JONG, B. C.; GEHRE, F.; MEEHAN, C. J. Comparative Genomics Shows Differences in the Electron Transport and Carbon Metabolic Pathways of Mycobacterium Africanum Relative to Mycobacterium Tuberculosis and Suggests an Adaptation to Low Oxygen Tension.

Tuberculosis, v. 120, p. 101899, jan. 2020.

OFORI-ANYINAM, B.; RILEY, A. J.; JOBARTEH, T.; GITTEH, E.; SARR, B.; FAAL-JAWARA, T. I.; RIGOUTS, L.; SENGHORE, M.; KEHINDE, A.; ONYEJEPU, N.; ANTONIO, M.; JONG, B. C. de; GEHRE, F.; MEEHAN, C. J. Comparative Genomics Shows Differences in the Electron Transport and Carbon Metabolic Pathways of Mycobacterium africanum relative to Mycobacterium tuberculosis and suggests an adaptation to low oxygen tension. **bioRxiv**, p.

792762, 2019. Disponível em:

<<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/792762v1.abstract>>. Acesso em: 20 nov. 2019.

OHNO, H.; ZHU, G.; MOHAN, V. P.; CHU, D.; KOHNO, S.; JACOBS, W. R.; CHAN, J. **The effects of reactive nitrogen intermediates on gene expression in Mycobacterium tuberculosis** **Cellular Microbiology** John Wiley & Sons, Ltd,

, 1 set. 2003. . Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1462-5822.2003.00307.x>>.

Acesso em: 14 ago. 2020.

OIE. **Zoonotic Tuberculosis**. Disponível em: <<http://www.who.int/tb/areas-of-work/zoonotic-tb/en>>. Acesso em: 9 jan. 2019.

OLEA-POPELKA, F.; MUWONGE, A.; PERERA, A.; DEAN, A.; MUMFORD, E.; ERLACHER-VINDEL, E.; FORCELLA, S.; SILK, B.; DITIU, L.; IDRISSE, A. EI; RAVIGLIONE, M.; COSIVI, O.; LOBUE, P.; FUJIWARA, P. Zoonotic tuberculosis in human beings caused by Mycobacterium bovis - a call for action. **Lancet Infectious Disease**, v. 17, n. 1, p. e21–e25, 2017.

ORGEUR, M.; BROSCH, R. **Evolution of virulence in the Mycobacterium**

tuberculosis complex *Current Opinion in Microbiology* Elsevier Ltd, , 1 fev. 2018. .

OZTURK-GURGEN, H.; RIESEBERG, B.; LEIPIG-RUDOLPH, M.; STRAUBINGER, R. K.; HERMANN, W. Morphology of Naturally-Occurring Tuberculosis in Cattle Caused by *Mycobacterium caprae*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 174, p. 120–139, 1 jan. 2020.

PAI, M.; BEHR, M. A.; DOWDY, D.; DHEDA, K.; DIVANGAHI, M.; BOEHME, C. C.; GINSBERG, A.; SWAMINATHAN, S.; SPIGELMAN, M.; GETAHUN, H.; MENZIES, D.; RAVIGLIONE, M. Tuberculosis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, p. 16076, 27 out. 2016.

PARREIRAS, P. M.; ANDRADE, G. I.; DO NASCIMENTO, T. de F.; OELEMANN, M. C.; GOMES, H. M.; DE ALENCAR, A. P.; DE ASSIS, R. A.; COELHO MOTA, P. M. P.; PEREIRA, M. A. da S.; LOBATO, F. C. F.; LAGE, A. P.; SUFFYS, P. N. Spoligotyping and variable number tandem repeat analysis of *Mycobacterium bovis* isolates from cattle in Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 1, p. 64–73, 2012.

PATE, M.; ŠVARA, T.; GOMBAČ, M.; PALLER, T.; ŽOLNIR-DOVČ, M.; EMERŠIČ, I.; PRODINGER, W. M.; BARTOŠ, M.; ZDOVC, I.; KRT, B.; PAVLIK, I.; CVETNIĆ, Ž.; POGAČNIK, M.; OCEPEK, M. Outbreak of tuberculosis caused by *Mycobacterium caprae* in a zoological garden. **Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v. 53, n. 8, p. 387–392, out. 2006. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17010043/>>. Acesso em: 17 set. 2020.

PÉREZ DE VAL, B.; LÓPEZ-SORIA, S.; NOFRARÍAS, M.; MARTÍN, M.; VORDERMEIER, H. M.; VILLARREAL-RAMOS, B.; ROMERA, N.; ESCOBAR, M.; SOLANES, D.; CARDONA, P. J.; DOMINGO, M. Experimental model of tuberculosis in the domestic goat after endobronchial infection with *Mycobacterium caprae*. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 18, n. 11, p.

1872–1881, 1 nov. 2011.

PESCIAROLI, M.; ALVAREZ, J.; BONIOTTI, M. B.; CAGIOLA, M.; DI MARCO, V.; MARIANELLI, C.; PACCIARINI, M.; PASQUALI, P. Tuberculosis in domestic animal species. **Research in Veterinary Science**, v. 97, n. S, p. S78–S85, 1 out. 2014.

PETERS, G. A.; TYLER, S. D.; CARPENTER, J. E.; JACKSON, W.; MORI, Y.; ARVIN, A. M.; GROSE, C. The Attenuated Genotype of Varicella-Zoster Virus Includes an ORF0 Transitional Stop Codon Mutation. **Journal of Virology**, v. 86, n. 19, p. 10695–10703, 1 out. 2012. Disponível em: <<http://jvi.asm.org/>>. Acesso em: 8 ago. 2020.

PETERSEN, E.; CHAKAYA, J.; JAWAD, F. M.; IPPOLITO, G.; ZUMLA, A. **Latent tuberculosis infection: diagnostic tests and when to treat** **The Lancet Infectious Diseases** Lancet Publishing Group, , 1 mar. 2019. . Disponível em: <<http://www.thelancet.com/article/S1473309919300593/fulltext>>. Acesso em: 21 ago. 2020.

POLLOCK, J. M.; ANDERSEN, P. Predominant recognition of the ESAT-6 protein in the first phase of interferon with *Mycobacterium bovis* in cattle. **Infection and Immunity**, v. 65, n. 7, 1997.

PRICE-CARTER, M.; BRAUNING, R.; DE LISLE, G. W.; LIVINGSTONE, P.; NEILL, M.; SINCLAIR, J.; PATERSON, B.; ATKINSON, G.; KNOWLES, G.; CREWS, K.; CRISPELL, J.; KAO, R.; ROBBE-AUSTERMAN, S.; STUBER, T.; PARKHILL, J.; WOOD, J.; HARRIS, S.; COLLINS, D. M. Whole Genome Sequencing for Determining the Source of *Mycobacterium bovis* Infections in Livestock Herds and Wildlife in New Zealand. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 5, n. OCT, p. 272, 30 out. 2018. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fvets.2018.00272/full>>. Acesso em: 27 ago. 2020.

PRODINGER, W. M.; BRANDSTÄTTER, A.; NAUMANN, L.; PACCIARINI, M.;

KUBICA, T.; BOSCHIROLI, M. L.; ARANAZ, A.; NAGY, G.; CVETNIC, Z.; OCEPEK, M.; SKRYPNYK, A.; ERLER, W.; NIEMANN, S.; PAVLIK, I.; MOSER, I. Characterization of *Mycobacterium caprae* isolates from Europe by mycobacterial interspersed repetitive unit genotyping. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 10, p. 4984–4992, out. 2005.

PRODINGER, W. M.; INDRA, A.; KOKSALAN, O. K.; KILICASLAN, Z.; RICHTER, E. **Mycobacterium caprae** infection in humans **Expert Review of Anti-Infective Therapy** Expert Reviews Ltd., , 1 dez. 2014. .

PUNDIR, S.; MARTIN, M. J.; O'DONOVAN, C. UniProt protein knowledgebase. In: **Methods in Molecular Biology**. [s.l.] Humana Press Inc., 2017. 1558p. 41–55.

QUEIROZ, A.; MEDINA-CLEGHORN, D.; MARJANOVIC, O.; NOMURA, D. K.; RILEY, L. W. Comparative metabolic profiling of *mce1* operon mutant vs wild-type *Mycobacterium tuberculosis* strains. **Pathogens and Disease**, v. 73, n. 8, p. ftv066, nov. 2015.

QUEIROZ, A.; RILEY, L. W. **Bacterial immunostat: Mycobacterium tuberculosis lipids and their role in the host immune response** **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, , 2017. . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822017000100009&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 9 set. 2020.

RAJWANI, R.; YAM, W. C.; ZHANG, Y.; KANG, Y.; WONG, B. K. C.; LEUNG, K. S. S.; TAM, K. K. G.; TULU, K. T.; ZHU, L.; SIU, G. K. H. Comparative Whole-Genomic Analysis of an Ancient L2 Lineage *Mycobacterium tuberculosis* Reveals a Novel Phylogenetic Clade and Common Genetic Determinants of Hypervirulent Strains. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, 12 jan. 2018. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcimb.2017.00539/full>>. Acesso em:

20 nov. 2019.

RAO, V.; GAO, F.; CHEN, B.; JACOBS, W. R.; GLICKMAN, M. S. Trans-cyclopropanation of mycolic acids on trehalose dimycolate suppresses *Mycobacterium tuberculosis*-induced inflammation and virulence. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 6, p. 1660–1667, 1 jun. 2006. Disponível em: <<http://www.jci.org/volume>>. Acesso em: 17 ago. 2020.

RHEE, K. Y.; CARVALHO, L. P. S. de; BRYK, R.; EHRT, S.; MARRERO, J.; PARK, S. W.; SCHNAPPINGER, D.; VENUGOPAL, A.; NATHAN, C. **Central carbon metabolism in *Mycobacterium tuberculosis*: An unexpected frontier***Trends in Microbiology* Elsevier Current Trends, , 1 jul. 2011. .

RHYAN, J. C.; SAARI, D. A. A comparative study of the histopathologic features of bovine tuberculosis in cattle, fallow deer (*Dama dama*), sika deer (*Cervus nippon*), and red deer and elk (*Cervus elaphus*). **Veterinary pathology**, v. 32, n. 3, p. 215–220, 1995.

RIBEIRO-GUIMARÃES, M. L.; PESSOLANI, M. C. V. **Comparative genomics of mycobacterial proteases***Microbial Pathogenesis* Academic Press, , 1 nov. 2007. .

RICHARDS, M. A.; CASSEN, V.; HEAVNER, B. D.; AJAMI, N. E.; HERRMANN, A.; SIMEONIDIS, E.; PRICE, N. D. MediaDB: A Database of Microbial Growth Conditions in Defined Media. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, p. e103548, 6 ago. 2014. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0103548>>. Acesso em: 22 set. 2020.

RICHTER, E.; WEIZENEGGER, M.; RÜSCH-GERDES, S.; NIEMANN, S. Evaluation of genotype MTBC assay for differentiation of clinical *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 6, p. 2672–2675, 1 jun. 2003. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC156502/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/156502/)>. Acesso em: 29 ago. 2020.

RIOJAS, M. A.; MCGOUGH, K. J.; RIDER-RIOJAS, C. J.; RASTOGI, N.; HAZBÓN, M. H. Phylogenomic analysis of the species of the mycobacterium tuberculosis complex demonstrates that mycobacterium africanum, mycobacterium bovis, mycobacterium caprae, mycobacterium microti and mycobacterium pinnipedii are later heterotypic synonyms of mycobacterium tuberculosis. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 68, n. 1, p. 324–332, 1 jan. 2018.

RODRIGUEZ-CAMPOS, S.; SMITH, N. H.; BONIOTTI, M. B.; ARANAZ, A. Overview and phylogeny of Mycobacterium tuberculosis complex organisms: Implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis. **Research in Veterinary Science**, v. 97, p. S5–S19, out. 2014.

ROE, W. D.; LENTING, B.; KOKOSINSKA, A.; HUNTER, S.; DUIGNAN, P. J.; GARTRELL, B.; ROGERS, L.; COLLINS, D. M.; DE LISLE, G. W.; GEDYE, K.; PRICE-CARTER, M. Pathology and molecular epidemiology of Mycobacterium pinnipedii tuberculosis in native New Zealand marine mammals. **PLOS ONE**, v. 14, n. 2, p. e0212363, 12 fev. 2019. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0212363>>. Acesso em: 17 jun. 2020.

ROMERO, R. E.; GARZÓN, D. L.; MEJÍA, G. A.; MONROY, W.; PATARROYO, M. E.; MURILLO, L. A. Identification of Mycobacterium bovis in bovine clinical samples by PCR species-specific primers. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 2, p. 101–106, abr. 1999.

RUSSELL, D. G.; VANDERVEN, B. C.; LEE, W.; ABRAMOVITCH, R. B.; KIM, M. J.; HOMOLKA, S.; NIEMANN, S.; ROHDE, K. H. **Mycobacterium tuberculosis wears what it eats** *Cell Host and Microbe* Cell Press, , 22 jul. 2010. .

SAFI, H.; GOPAL, P.; LINGARAJU, S.; MA, S.; LEVINE, C.; DARTOIS, V.; YEE, M.; LI, L.; BLANC, L.; LIANG, H. P. H.; HUSAIN, S.; HOQUE, M.; SOTEROPOULOS, P.; RUSTAD, T.; SHERMAN, D. R.; DICK, T.; ALLAND, D. Phase variation in Mycobacterium tuberculosis glpK produces transiently

heritable drug tolerance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 116, n. 39, p. 19665–19674, 2019.

SASSETTI, C. M.; RUBIN, E. J. Genetic requirements for mycobacterial survival during infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 22, p. 12989–12994, 28 out. 2003. Disponível em: <www.pnas.org>. Acesso em: 11 ago. 2020.

SEVILLA, I. A.; ARNAL, M. C.; FUERTES, M.; MARTÍN, E.; COMENGE, J.; ELGUEZABAL, N.; FERNÁNDEZ DE LUCO, D.; GARRIDO, J. M. Tuberculosis outbreak caused by *Mycobacterium caprae* in a rabbit farm in Spain. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 67, n. 1, p. 431–441, 30 jan. 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tbed.13366>>. Acesso em: 18 jun. 2020.

SHEPHERD, J. G.; CHAPMAN, A. L. N. Assessment and management of active and latent TB. In: Practitioner, 1798, **Anais...CMP Information Ltd.**, 1 nov. 2016.

SHEPHERD, M.; POOLE, R. K. Bacterial Respiratory Chains. In: **Encyclopedia of Biophysics**. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2013. p. 172–177.

SHERMAN, D. R.; VOSKUIL, M.; SCHNAPPINGER, D.; LIAO, R.; HARRELL, M. I.; SCHOOLNIK, G. K. Regulation of the mycobacterium tuberculosis hypoxic response gene encoding α -crystallin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 13, p. 7534–7539, 19 jun. 2001. Disponível em: <www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.261577598>. Acesso em: 14 ago. 2020.

SHI, S.; EHRT, S. Dihydrolipoamide acyltransferase is critical for *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 1, p. 56–63, 1 jan. 2006. Disponível em: <www.molecular-beacons.org>. Acesso em: 28 ago. 2020.

SILVA-PEREIRA, T. T.; IKUTA, C. Y.; ZIMPEL, C. K.; CAMARGO, N. C. S.; DE SOUZA FILHO, A. F.; FERREIRA NETO, J. S.; HEINEMANN, M. B.;

GUIMARÃES, A. M. S. Genome sequencing of *Mycobacterium pinnipedii* strains: Genetic characterization and evidence of superinfection in a South American sea lion (*Otaria flavescens*). **BMC Genomics**, v. 20, n. 1, 30 dez. 2019.

SINGH, M.; TIWARI, P.; ARORA, G.; AGARWAL, S.; KIDWAI, S.; SINGH, R. Establishing Virulence Associated Polyphosphate Kinase 2 as a drug target for *Mycobacterium tuberculosis*. **Scientific Reports**, v. 6, n. November 2015, p. 1–13, 2016.

SINTCHENKO, V.; JELFS, P.; DALLY, M.; CRIGHTON, T.; GILBERT, G. L. A case of urinary tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* subspecies *caprae*. **Pathology**, v. 38, n. 4, p. 376–378, 1 ago. 2006.

SMITH, N. H.; KREMER, K.; INWALD, J.; DALE, J.; DRISCOLL, J. R.; GORDON, S. V.; VAN SOOLINGEN, D.; GLYN HEWINSON, R.; MAYNARD SMITH, J. Ecotypes of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. **Journal of Theoretical Biology**, v. 239, n. 2, p. 220–225, 21 mar. 2006. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022519305003838>>. Acesso em: 17 jun. 2020.

SOHASKEY, C. D. Nitrate Enhances the Survival of *Mycobacterium Tuberculosis* during Inhibition of Respiration. **Journal of bacteriology**, v. 190, n. 8, p. 2981–2986, abr. 2008.

SOHASKEY, C. D.; MODESTI, L. Differences in Nitrate Reduction between *Mycobacterium Tuberculosis* and *Mycobacterium Bovis* Are Due to Differential Expression of Both *NarGHJI* and *NarK2*. **FEMS microbiology letters**, v. 290, n. 2, p. 129–134, jan. 2009.

SOHASKEY, C. D.; WAYNE, L. G. Role of *NarK2X* and *NarGHJI* in Hypoxic Upregulation of Nitrate Reduction by *Mycobacterium Tuberculosis*. **Journal of bacteriology**, v. 185, n. 24, p. 7247–7256, dez. 2003.

SOMOSKOVI, A.; DORMANDY, J.; MAYRER, A. R.; CARTER, M.; HOOPER, N.;

SALFINGER, M. "Mycobacterium canettii" isolated from a human immunodeficiency virus-positive patient: First case recognized in the United States. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 1, p. 255–257, 1 jan. 2009.

SREEVATSAN, S.; PAN, X.; ZHANG, Y.; KREISWIRTH, B. N.; MUSSER, J. M. Mutations associated with pyrazinamide resistance in pncA of Mycobacterium tuberculosis complex organisms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 3, p. 636–640, 1 mar. 1997. Disponível em: <<http://aac.asm.org/>>. Acesso em: 8 ago. 2020.

STALEY, J. T.; KONOPKA, A. **MEASUREMENT OF IN SITU ACTIVITIES OF NONPHOTOSYNTHETIC MICROORGANISMS IN AQUATIC AND TERRESTRIAL HABITATS**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <www.annualreviews.org>. Acesso em: 22 set. 2020.

STARCK, J.; KÄLLENIUS, G.; MARKLUND, B. I.; ANDERSSON, D. I.; ÅKERLUND, T. Comparative proteome analysis of Mycobacterium tuberculosis grown under aerobic and anaerobic conditions. **Microbiology**, v. 150, n. 11, p. 3821–3829, 1 nov. 2004. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.27284-0>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

STERMANN, M.; SEDLACEK, L.; MAASS, S.; BANGE, F.-C. A Promoter Mutation Causes Differential Nitrate Reductase Activity of Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium bovis. **Journal of Bacteriology**, v. 186, n. 9, p. 2856 LP – 2861, 1 maio 2004. Disponível em: <<http://jb.asm.org/content/186/9/2856.abstract>>.

STINCONE, A.; PRIGIONE, A.; CRAMER, T.; WAMELINK, M. M. C.; CAMPBELL, K.; CHEUNG, E.; OLIN-SANDOVAL, V.; GRÜNING, N. M.; KRÜGER, A.; TAUQEER ALAM, M.; KELLER, M. A.; BREITENBACH, M.; BRINDLE, K. M.; RABINOWITZ, J. D.; RALSER, M. The return of metabolism: Biochemistry and physiology of the pentose phosphate pathway. **Biological**

Reviews, v. 90, n. 3, p. 927–963, 1 ago. 2015. Disponível em: [</pmc/articles/PMC4470864/?report=abstract>](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25711111/). Acesso em: 29 ago. 2020.

SUPPLY, P.; MARCEAU, M.; MANGENOT, S.; ROCHE, D.; ROUANET, C.; KHANNA, V.; MAJLESSI, L.; CRISCUOLO, A.; TAP, J.; PAWLIK, A.; FIETTE, L.; ORGEUR, M.; FABRE, M.; PARMENTIER, C.; FRIGUI, W.; SIMEONE, R.; BORITSCH, E. C.; DEBRIE, A. S.; WILLERY, E.; WALKER, D.; QUAIL, M. A.; MA, L.; BOUCHIER, C.; SALVIGNOL, G.; SAYES, F.; CASCIOFERRO, A.; SEEMANN, T.; BARBE, V.; LOCHT, C.; GUTIERREZ, M. C.; LECLERC, C.; BENTLEY, S. D.; STINEAR, T. P.; BRISSE, S.; MÉDIGUE, C.; PARKHILL, J.; CRUVEILLER, S.; BROSCH, R. Genomic analysis of smooth tubercle bacilli provides insights into ancestry and pathoadaptation of *Mycobacterium tuberculosis*. **Nature Genetics**, v. 45, n. 2, p. 172–179, 6 fev. 2013.

SZEWZYK, R.; SVENSON, S. B.; HOFFNER, S. E.; BÖLSKE, G.; WAHLSTRÖM, H.; ENGLUND, L.; ENGVALL, A.; KÄLLENIUS, G. Molecular epidemiological studies of *Mycobacterium bovis* infections in humans and animals in Sweden. **Journal of clinical microbiology**, v. 33, n. 12, p. 3183–5, 1 dez. 1995. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8586698>. Acesso em: 17 jun. 2020.

TAN, M. P.; SEQUEIRA, P.; LIN, W. W.; PHONG, W. Y.; CLIFF, P.; NG, S. H.; LEE, B. H.; CAMACHO, L.; SCHNAPPINGER, D.; EHRT, S.; DICK, T.; PETHE, K.; ALONSO, S. Nitrate Respiration Protects Hypoxic *Mycobacterium tuberculosis* Against Acid- and Reactive Nitrogen Species Stresses. **PLOS ONE**, v. 5, n. 10, p. e13356, out. 2010.

TANAKA, Y.; YOSHIKAWA, O.; MARUHASHI, K.; KURANE, R. The *cbs* mutant strain of *Rhodococcus erythropolis* KA2-5-1 expresses high levels of Dsz enzymes in the presence of sulfate. **Archives of Microbiology**, v. 178, n. 5, p. 351–357, 2002. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00203-002-0466-7>. Acesso em: 14 ago. 2020.

TRAN, S. L.; COOK, G. M. The F₁F_o-ATP synthase of *Mycobacterium smegmatis* is essential for growth. **Journal of Bacteriology**, v. 187, n. 14, p. 5023–5028, 1 jul. 2005. Disponível em: <www.tigr.org>. Acesso em: 29 ago. 2020.

TRIPATHI, S. M.; RAMACHANDRAN, R. Overexpression, purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of Rv2780 from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. **Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications**, v. 64, n. 5, p. 367–370, 5 abr. 2008. Disponível em: <<http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?en5292>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

TUFARIELLO, J. A. M.; JACOBS, W. R.; CHAN, J. Individual *Mycobacterium tuberculosis* Resuscitation-Promoting Factor Homologues Are Dispensable for Growth In Vitro and In Vivo. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 1, p. 515–526, 1 jan. 2004. Disponível em: <<http://genolist.pasteur.fr>>. Acesso em: 17 ago. 2020.

TUFARIELLO, J. A. M.; MI, K.; XU, J.; MANABE, Y. C.; KESAVAN, A. K.; DRUMM, J.; TANAKA, K.; JACOBS, W. R.; CHAN, J. Deletion of the *Mycobacterium tuberculosis* resuscitation-promoting factor Rv1009 gene results in delayed reactivation from chronic tuberculosis. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 5, p. 2985–2995, 1 maio 2006. Disponível em: <<http://genolist.pasteur.fr>>. Acesso em: 17 ago. 2020.

VAN INGEN, J.; RAHIM, Z.; MULDER, A.; BOEREE, M. J.; SIMEONE, R.; BROSCH, R.; VAN SOOLINGEN, D. Characterization of *Mycobacterium orygis* as *M. tuberculosis* complex subspecies. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 653–655, abr. 2012.

VAN NIEL, E. W. J.; HAHN-HÄGERDAL, B. **Nutrient requirements of lactococci in defined growth media** *Applied Microbiology and Biotechnology* Springer, , 1999. . Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s002530051569>>. Acesso em: 22 set.

2020.

VARTOUKIAN, S. R.; PALMER, R. M.; WADE, W. G. Strategies for culture of 'unculturable' bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, v. 309, n. 1, p. no-no, 27 abr. 2010. Disponível em: <<https://academic.oup.com/femsle/article-lookup/doi/10.1111/j.1574-6968.2010.02000.x>>. Acesso em: 22 set. 2020.

VENUGOPAL, A.; BRYK, R.; SHI, S.; RHEE, K.; RATH, P.; SCHNAPPINGER, D.; EHRT, S.; NATHAN, C. Virulence of mycobacterium tuberculosis depends on lipoamide dehydrogenase, a member of three multienzyme complexes. **Cell Host and Microbe**, v. 9, n. 1, p. 21–31, 20 jan. 2011.

VERDUYN, C.; POSTMA, E.; SCHEFFERS, W. A.; VAN DIJKEN, J. P. Effect of benzoic acid on metabolic fluxes in yeasts: A continuous-culture study on the regulation of respiration and alcoholic fermentation. **Yeast**, v. 8, n. 7, p. 501–517, 1 jul. 1992. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/yea.320080703>>. Acesso em: 22 set. 2020.

VOSKUIL, M. I.; SCHNAPPINGER, D.; VISCONTI, K. C.; HARRELL, M. I.; DOLGANOV, G. M.; SHERMAN, D. R.; SCHOOLNIK, G. K. Inhibition of respiration by nitric oxide induces a Mycobacterium tuberculosis dormancy program. **Journal of Experimental Medicine**, v. 198, n. 5, p. 705–713, 1 set. 2003. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC2194188/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12711111/)>. Acesso em: 14 ago. 2020.

WADDELL, S. J.; STABLER, R. A.; LAING, K.; KREMER, L.; REYNOLDS, R. C.; BESRA, G. S. The use of microarray analysis to determine the gene expression profiles of Mycobacterium tuberculosis in response to anti-bacterial compounds. **Tuberculosis**, v. 84, n. 3–4, p. 263–274, 1 jan. 2004.

WARNER, D. F. Mycobacterium tuberculosis metabolism. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 4, 2015.

WARREN, R. M.; GEY VAN PITTIUS, N. C.; BARNARD, M.; HESSELING, A.;

ENGELKE, E.; DE KOCK, M.; GUTIERREZ, M. C.; CHEGE, G. K.; VICTOR, T. C.; HOAL, E. G.; VAN HELDEN, P. D. Differentiation of Mycobacterium tuberculosis complex by PCR amplification of genomic regions of difference [Short Communication]. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, v. 10, n. 7, 2006.

WATANABE, S.; ZIMMERMANN, M.; GOODWIN, M. B.; SAUER, U.; BARRY, C. E.; BOSHOFF, H. I. Fumarate Reductase Activity Maintains an Energized Membrane in Anaerobic Mycobacterium tuberculosis. **PLoS Pathogens**, v. 7, n. 10, p. e1002287, 6 out. 2011. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1002287>>. Acesso em: 28 ago. 2020.

WAYNE, L. G.; LIN, K. Y. Glyoxylate metabolism and adaptation of Mycobacterium tuberculosis to survival under anaerobic conditions. **Infection and Immunity**, v. 37, n. 3, p. 1042–1049, jul. 1982. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC347645/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1311111/)>. Acesso em: 23 out. 2020.

WHEELER, P. R.; RATLEDGE, C. Metabolism of Mycobacterium tuberculosis. In: **Tuberculosis**. [s.l.] American Society of Microbiology, 1994. p. 353–385.

WHO. Global tuberculosis report 2019. **WHO**, 17 out. 2020.

WILBURN, K. M.; FIEWEGER, R. A.; VANDERVEN, B. C. Cholesterol and fatty acids grease the wheels of Mycobacterium tuberculosis pathogenesis. **Pathogens and Disease**, v. 76, n. 2, 1 mar. 2018. Disponível em: <<https://academic.oup.com/femspd/article/76/2/fty021/4931720>>. Acesso em: 22 jun. 2020.

WINDER, F. G.; BRENNAN, P. J. Initial steps in the metabolism of glycerol by Mycobacterium tuberculosis. **Journal of Bacteriology**, v. 92, n. 6, p. 1846–1847, dez. 1966.

WORLD HEALTH ORGANIZATION; NATIONS, F. and A. O. of the U.; HEALTH, W. O. for A. Roadmap for zoonotic tuberculosis. **World Health Organization**, p.

21, 2017.

XIONG, X.; WANG, R.; DENG, D.; CHEN, Y.; LIU, H.; WANG, T.; WANG, J.; ZHU, X.; ZHU, X.; ZHU, Y.; LU, X.; CHEN, H.; ZHENG, H.; GUO, A. Comparative Genomics of a Bovine Mycobacterium tuberculosis Isolate and Other Strains Reveals Its Potential Mechanism of Bovine Adaptation. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. DEC, p. 2500, 12 dez. 2017. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.02500/full>>. Acesso em: 25 out. 2020.

XIONG, Y.; CHALMERS, M. J.; GAO, F. P.; CROSS, T. A.; MARSHALL, A. G. Identification of Mycobacterium tuberculosis H37Rv integral membrane proteins by one-dimensional gel electrophoresis and liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Proteome Research**, v. 4, n. 3, p. 855–861, maio 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15952732/>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

YIMER, S. A.; BIRHANU, A. G.; KALAYOU, S.; RIAZ, T.; ZEGEYE, E. D.; BEYENE, G. T.; HOLM-HANSEN, C.; NORHEIM, G.; ABEBE, M.; ASEFFA, A.; TØNJUM, T. Comparative Proteomic Analysis of Mycobacterium tuberculosis Lineage 7 and Lineage 4 Strains Reveals Differentially Abundant Proteins Linked to Slow Growth and Virulence. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. MAY, p. 795, 9 maio 2017. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.00795/full>>. Acesso em: 28 ago. 2020.

YOSHIDA, S.; SUGA, S.; ISHIKAWA, S.; MUKAI, Y.; TSUYUGUCHI, K.; INOUE, Y.; YAMAMOTO, T.; WADA, T. Mycobacterium caprae infection in captive Borneo Elephant, Japan. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 10, p. 1937–1940, 1 out. 2018.

ZENG, W.; ZHANG, Y.; ZHAO, X.; HUANG, G.; JIANG, Y.; DONG, H.; LI, X.; WAN, K.; HE, C. Occurrence of non-tuberculous mycobacteria species in

livestock from northern China and first isolation of *Mycobacterium caprae*. **Epidemiology and Infection**, v. 141, n. 7, p. 1545–1551, jul. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23298678/>>. Acesso em: 17 set. 2020.

ZHANG, S.; CHEN, J.; CUI, P.; SHI, W.; ZHANG, W.; ZHANG, Y. Identification of novel mutations associated with clofazimine resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 9, p. 2507–2510, 4 jun. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jac/dkv150>>.

ZHANG, Y.; LAMICHHANE, G.; DRANCOURT, M.; OSMAN, D. A.; BOUZID, F.; CANAAN, S. Smooth Tubercle Bacilli: neglected Opportunistic Tropical Pathogens. **Front. Public Health**, v. 3, n. 3, p. 2833389–283, 2016.

ZHENG, H.; WILLIAMS, J. T.; COULSON, G. B.; HAIDERER, E. R.; ABRAMOVITCH, R. B. HC2091 kills mycobacterium tuberculosis by targeting the MmpL3 mycolic acid transporter. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 7, 1 jul. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/AAC.02459-17>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

ZHONG, W.; GUO, J.; CUI, L.; CHIONH, Y. H.; LI, K.; EL SAHILI, A.; CAI, Q.; YUAN, M.; MICHELS, P. A. M.; FOTHERGILL-GILMORE, L. A.; WALKINSHAW, M. D.; MU, Y.; LESCAR, J.; DEDON, P. C. Pyruvate Kinase Regulates the Pentose-Phosphate Pathway in Response to Hypoxia in *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Molecular Biology**, v. 431, n. 19, p. 3690–3705, 6 set. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31381898/>>. Acesso em: 29 ago. 2020.

ZIMPEL, C. K.; BRANDÃO, P. E.; DE SOUZA FILHO, A. F.; DE SOUZA, R. F.; IKUTA, C. Y.; FERREIRA NETO, J. S.; CAMARGO, N. C. S.; HEINEMANN, M. B.; GUIMARÃES, A. M. S. Complete Genome Sequencing of *Mycobacterium bovis* SP38 and Comparative Genomics of *Mycobacterium bovis* and *M. tuberculosis* Strains. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2389, dez. 2017a.

ZIMPEL, C. K.; BRANDÃO, P. E.; DE SOUZA FILHO, A. F.; DE SOUZA, R. F.;

IKUTA, C. Y.; FERREIRA NETO, J. S.; CAMARGO, N. C. S.; HEINEMANN, M. B.; GUIMARÃES, A. M. S. Complete Genome Sequencing of Mycobacterium bovis SP38 and Comparative Genomics of Mycobacterium bovis and M. tuberculosis Strains. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2389, 5 dez. 2017b.

ZIMPEL, C. K.; PATANÉ, J. S. L.; GUEDES, A. C. P.; DE SOUZA, R. F.; SILVA-PEREIRA, T. T.; CAMARGO, N. C. S.; DE SOUZA FILHO, A. F.; IKUTA, C. Y.; NETO, J. S. F.; SETUBAL, J. C.; HEINEMANN, M. B.; GUIMARAES, A. M. S. Global Distribution and Evolution of Mycobacterium bovis Lineages. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 843, 2020.

ANEXOS

Anexo I. Lista de todas as referências numeradas, onde é descrito o isolamento de *Mycobacterium caprae* nos continentes Europa, Ásia e África até setembro de 2020 (As numerações são correspondentes às presentes na Figura 1).

Nº	REFERÊNCIA
1	AIMÉ, B.; LEQUEN, L.; BALAGEAS, A.; HADDAD, N.; MAUGEIN, J. Infections à <i>M. bovis</i> et <i>M. caprae</i> en Aquitaine : Étude clinico-épidémiologique de 15 cas. Pathologie Biologie , v. 60, n. 3, p. 156–159, 1 jun. 2012.
2	AMATO, B.; CAPUCCHIO, T. M.; BIASIBETTI, E.; MANGANO, E.; BONIOTTI, B. M.; PACCIARINI, L. M.; MIGLIORE, S.; VITALE, M.; FIASCONARO, M.; DI MARCO LO PRESTI, V. Pathology and genetic findings in a rare case of <i>Mycobacterium caprae</i> infection in a sow. Veterinary Microbiology , v. 205, p. 71–74, 1 jun. 2017.
3	AMATO, L.; PACCIARINI, M. L.; SCHIAVON, E.; ZANONI, M.; BONIOTTI, M. B.; FERRONATO, A.; MONTAGNA, A.; COSTA, S.; BRICHESE, M.; BONFANTI, L. Identification of <i>Mycobacterium caprae</i> in a dairy farm in north-eastern Italy. International Journal of Infectious Diseases , v. 53, p. 71, 1 dez. 2016. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2016.11.178 >. Acesso em: 17 set. 2020.
4	ARANAZ, A.; COUSINS, D.; MATEOS, A.; DOMÍNGUEZ, L. Elevation of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> subsp. <i>caprae</i> Aranaz et al. 1999 to species rank as <i>Mycobacterium caprae</i> comb. nov., sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology , v. 53, n. 6, p. 1785–1789, 1 nov. 2003.
5	ARANAZ, A.; DE JUAN, L.; MONTERO, N.; SANCHEZ, C.; GALKA, M.; DELSO, C.; ALVAREZ, J.; ROMERO, B.; BEZOS, J.; VELA, A. I.; BRIONES, V.; MATEOS, A.; DOMINGUEZ, L. Bovine Tuberculosis (<i>Mycobacterium bovis</i>) in Wildlife in Spain. Journal of Clinical Microbiology , v. 42, n. 6, p. 2602–2608, jun. 2004.
6	AUGUSTYNOWICZ-KOPEĆ, E.; KRAJEWSKA, M.; ZABOST, A.; NAPIÓRKOWSKA, A.; ZWOLSKA, Z. CHARACTERISATION OF MYCOBACTERIUM BOVIS STRAINS ISOLATED FROM FARM AND WILD ANIMALS IN POLAND <i>Bull Vet Inst Pulawy</i> . [s.l.: s.n.].
7	BĂRBUCEANU, F.; STAMATE, D.; BĂRĂIȚĂREANU, S.; IONESCU, M.; PREDOI, G. MANAGEMENT OF THE BOVINE TUBERCULOSIS DIAGNOSTIC IN ROMANIAN FARMS, IN THE LIGHT OF THE MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS EMERGENCE. FARMACIA , v. 68, p. 3, 2020. Disponível em: < https://doi.org/10.31925/farmacia.2020.3.23 >. Acesso em: 18 set. 2020.
8	BAYRAKTAR, B.; BULUT, E.; BARIŞ, A. B.; TOKSOY, B.; DALGIC, N.; CELIKKAN, C.; SEVGI, D. Species distribution of the <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex in clinical isolates from 2007 to 2010 in Turkey: A prospective study. Journal of Clinical Microbiology , v. 49, n. 11, p. 3837–3841, nov. 2011a. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21940474/ >. Acesso em: 17 set. 2020.

9	BAYRAKTAR, B.; TOGAY, A.; GENCER, H.; KOCKAYA, T.; DALGIC, N.; BARIS, A. B.; BULUT, E. Mycobacterium caprae causing lymphadenitis in a child. The Pediatric infectious disease journal , v. 30, n. 11, p. 1012–103, 2011b.
10	BENAVIDES-NIETO, M.; OLBRICH, P.; OBANDO-SANTAELLA, I.; FALCON-NEYRA, L.; NETH, O.; GONZALEZ-GALAN, V.; LUQUE, R. Congenital Tuberculosis Due to Confirmed Mycobacterium caprae. The Pediatric Infectious Disease Journal , v. 35, n. 11, p. 1278–1279, 1 nov. 2016. Disponível em: < http://journals.lww.com/00006454-201611000-00034 >. Acesso em: 17 set. 2020.
11	BEŠIROVIĆ, H.; ALIĆ, A.; ŠPIČIĆ, S.; CVETNIĆ, Ž.; PRAŠOVIĆ, S.; VELIĆ, L.; HAJRUDIN, P.; DVM, B. Bovine tuberculosis in Bosnia and Herzegovina caused by Mycobacterium caprae. VETERINARSKI ARHIV , v. 82, n. 4, p. 341–349, 4 jul. 2012.
12	BEZOS, J.; ÁLVAREZ, J.; DE JUAN, L.; ROMERO, B.; RODRÍGUEZ, S.; FERNÁNDEZ-DE-MERA, I. G.; HEWINSON, R. G.; VORDERMEIER, M.; MATEOS, A.; DOMÍNGUEZ, L.; ARANAZ, A. Assessment of in vivo and in vitro tuberculosis diagnostic tests in Mycobacterium caprae naturally infected caprine flocks. Preventive Veterinary Medicine , v. 100, n. 3–4, p. 187–192, 1 jul. 2011. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21546104/ >. Acesso em: 17 set. 2020.
13	BEZOS, J.; ÁLVAREZ, J.; MORENO, I.; DE JUAN, L.; ROMERO, B.; RODRÍGUEZ, S.; DOMÍNGUEZ, M.; TORAÑO, A.; MATEOS, A.; DOMÍNGUEZ, L.; ARANAZ, A. Study of peripheral blood cell populations involved in the immune response of goats naturally infected with Mycobacterium caprae. Research in Veterinary Science , v. 93, n. 1, p. 163–167, 1 ago. 2012.
14	BEZOS, J.; CASAL, C.; DÍEZ-DELGADO, I.; ROMERO, B.; LIANDRIS, E.; ÁLVAREZ, J.; SEVILLA, I. A.; DE JUAN, L.; DOMÍNGUEZ, L.; GORTÁZAR, C. Goats challenged with different members of the Mycobacterium tuberculosis complex display different clinical pictures. Veterinary Immunology and Immunopathology , v. 167, n. 3–4, p. 185–189, 15 out. 2015. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26235598/ >. Acesso em: 17 set. 2020.
15	BEZOS, J.; DE JUAN, L.; ROMERO, B.; ÁLVAREZ, J.; MAZZUCHELLI, F.; MATEOS, A.; DOMÍNGUEZ, L.; ARANAZ, A. Experimental infection with Mycobacterium caprae in goats and evaluation of immunological status in tuberculosis and paratuberculosis co-infected animals. Veterinary Immunology and Immunopathology , v. 133, n. 2–4, p. 269–275, 15 fev. 2010.
16	BROECKL, S.; KREBS, S.; VARADHARAJAN, A.; STRAUBINGER, R. K.; BLUM, H.; BUETTNER, M. Investigation of intra-herd spread of Mycobacterium caprae in cattle by generation and use of a whole-genome sequence. Veterinary Research Communications , v. 41, n. 2, p. 113–128, 1 jun. 2017. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28194548/ >. Acesso em: 31 ago. 2020.
17	CANO-TERRIZA, D.; RISALDE, M. A.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, P.; NAPP, S.; FERNÁNDEZ-MORENTE, M.; MORENO, I.; BEZOS, J.; FERNÁNDEZ-MOLERA, V.; SÁEZ, J. L.; GARCÍA-BOCANEGRA, I. Epidemiological surveillance of Mycobacterium tuberculosis complex in extensively raised pigs in the south of Spain. Preventive Veterinary Medicine , v. 159, p. 87–91, 1 nov. 2018. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30314795/ >. Acesso em: 17 set. 2020.
18	CHIARI, M.; ZANONI, M.; ALBORALI, L. G.; ZANARDI, G.; AVISANI, D.; TAGLIABUE, S.;

	GAFFURI, A.; PACCIARINI, M. L.; BONIOTTI, M. B. Isolation of <i>Mycobacterium caprae</i> (Lechtal genotype) from red deer (<i>Cervus elaphus</i>) in Italy. Journal of Wildlife Diseases , v. 50, n. 2, p. 330–333, 14 abr. 2014. Disponível em: </doi/abs/10.7589/2013-06-135>. Acesso em: 17 set. 2020.
19	CSIVINCSIK, Á.; RÓNAI, Z.; NAGY, G.; SVÉDA, G.; HALÁSZ, T. Surveillance of <i>Mycobacterium caprae</i> infection in a wild boar (<i>Sus scrofa</i>) population in south-western Hungary . Veterinarnski Arhiv , v. 86, n. 6, dez. 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/311434816_Surveillance_of_Mycobacterium_caprae_infection_in_a_wild_boar_Sus_scrofa_population_in_south-western_Hungary>. Acesso em: 17 set. 2020.
20	CSIVINCSIK, A.; RÓNAI, Z. G. N. Post mortem examination of submandibular lymph node in wild boars (<i>Sus scrofa</i>) as a beneficial part of bovine tuberculosis surveillance systems. Acta Agraria Kaposváriensis , v. 19, n. 1, dez. 2015. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/287216504_Post_mortem_examination_of_submandibular_lymph_node_in_wild_boars_Sus_scrofa_as_a_beneficial_part_of_bovine_tuberculosis_surveillance_systems>. Acesso em: 17 set. 2020.
21	CUNHA, M. V.; MATOS, F.; CANTO, A.; ALBUQUERQUE, T.; ALBERTO, J. R.; ARANHA, J. M.; VIEIRA-PINTO, M.; BOTELHO, A. Implications and challenges of tuberculosis in wildlife ungulates in Portugal: A molecular epidemiology perspective. Research in Veterinary Science , v. 92, n. 2, p. 225–235, 1 abr. 2012.
22	CVETNIC, Z.; KATALINIC-JANKOVIC, V.; SOSTARIC, B.; SPICIC, S.; OBROVAC, M.; MARJANOVIC, S.; BENIC, M.; KIRIN, B. K.; VICKOVIC, I. <i>Mycobacterium caprae</i> in cattle and humans in Croatia. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease , v. 11, n. 6, 1 jun. 2007.
23	CVETNIC, Z.; SPICIC, S.; KATALINIC-JANKOVIC, V.; MARJANOVIC, S.; OBROVAC, M.; BENIC, M.; MITAK, M.; PAVLIK, I. <i>Mycobacterium caprae</i> infection in cattle and pigs on one family farm in Croatia: A case report. Veterinarni Medicina , v. 51, n. 11, p. 523–531, 2006.
24	DE LA FUENTE, J.; DÍEZ-DELGADO, I.; CONTRERAS, M.; VICENTE, J.; CABEZAS-CRUZ, A.; MANRIQUE, M.; TOBES, R.; LÓPEZ, V.; ROMERO, B.; DOMÍNGUEZ, L.; GARRIDO, J. M.; JUSTE, R.; GORTAZAR, C. Complete genome sequences of field isolates of <i>Mycobacterium bovis</i> and <i>Mycobacterium caprae</i> . Genome Announcements , v. 3, n. 3, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26112781/>. Acesso em: 17 set. 2020.
25	DOMOGALLA, J.; PRODINGER, W. M.; BLUM, H.; KREBS, S.; GELLERT, S.; MÜLLER, M.; NEUENDORF, E.; SEDLMAIER, F.; BÜTTNER, M. Region of difference 4 in alpine <i>Mycobacterium caprae</i> isolates indicates three variants. Journal of Clinical Microbiology , v. 51, n. 5, p. 1381–1388, 2013. Disponível em: </pmc/articles/PMC3647898/?report=abstract>. Acesso em: 17 set. 2020.
26	DORN-IN, S.; KÖRNER, T.; BÜTTNER, M.; HAFNER-MARX, A.; MÜLLER, M.; HEURICH, M.; VARADHARAJAN, A.; BLUM, H.; GAREIS, M.; SCHWAIGER, K. Shedding of <i>Mycobacterium caprae</i> by wild red deer (<i>Cervus elaphus</i>) in the Bavarian alpine regions, Germany. Transboundary and Emerging Diseases , v. 67, n. 1, p. 308–317, 26 jan. 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tbed.13353>. Acesso em: 17 jun. 2020.
27	DUARTE, E. L.; DOMINGOS, M.; AMADO, A.; BOTELHO, A. Spoligotype diversity of <i>Mycobacterium bovis</i> and <i>Mycobacterium caprae</i> animal isolates. Veterinary

	Microbiology , v. 130, n. 3–4, p. 415–421, 25 ago. 2008.
28	FINK, M.; SCHLEICHER, C.; GONANO, M.; PRODINGER, W. M.; PACCIARINI, M.; GLAWISCHNIG, W.; RYSER-DEGIORGIS, M. P.; WALZER, C.; STALDER, G. L.; LOMBARDO, D.; SCHOBESBERGER, H.; WINTER, P.; B Ü TTNER, M. Red deer as maintenance host for bovine tuberculosis, alpine region. Emerging Infectious Diseases , v. 21, n. 3, p. 464–467, 2015. Disponível em: </pmc/articles/PMC4344270/?report=abstract>. Acesso em: 17 set. 2020.
29	GARCÍA-JIMÉNEZ, W. L.; BENÍTEZ-MEDINA, J. M.; FERNÁNDEZ-LLARIO, P.; ABECIA, J. A.; GARCÍA-SÁNCHEZ, A.; MARTÍNEZ, R.; RISCO, D.; ORTIZ-PELÁEZ, A.; SALGUERO, F. J.; SMITH, N. H.; GÓMEZ, L.; HERMOSO DE MENDOZA, J. Comparative Pathology of the Natural infections by Mycobacterium bovis and by Mycobacterium caprae in Wild Boar (Sus scrofa). Transboundary and Emerging Diseases , v. 60, n. 2, p. 102–109, 1 abr. 2013. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1865-1682.2012.01321.x>. Acesso em: 18 jun. 2020.
30	GARCÍA-JIMÉNEZ, W. L.; CORTÉS, M.; BENÍTEZ-MEDINA, J. M.; HURTADO, I.; MARTÍNEZ, R.; GARCÍA-SÁNCHEZ, A.; RISCO, D.; CERRATO, R.; SANZ, C.; HERMOSO-DE-MENDOZA, M.; FERNÁNDEZ-LLARIO, P.; HERMOSO-DE-MENDOZA, J. Spoligotype diversity and 5-year trends of bovine tuberculosis in Extremadura, southern Spain. Tropical Animal Health and Production , v. 48, n. 8, p. 1533–1540, 1 dez. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27524741/>. Acesso em: 17 set. 2020.
31	GHIEMMETTI, G.; SCHERRER, S.; FRIEDEL, U.; FREI, D.; SUTER, D.; PERLER, L.; WITTENBRINK, M. M. Epidemiological tracing of bovine tuberculosis in Switzerland, multilocus variable number of tandem repeat analysis of Mycobacterium bovis and Mycobacterium caprae. PLOS ONE , v. 12, n. 2, p. e0172474, 21 fev. 2017. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0172474>. Acesso em: 17 set. 2020.
32	GORMLEY, E.; CORNER, L. A. L.; COSTELLO, E.; RODRIGUEZ-CAMPOS, S. Bacteriological diagnosis and molecular strain typing of Mycobacterium bovis and Mycobacterium caprae. Research in Veterinary Science , v. 97, n. S, p. S30–S43, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24833269/>. Acesso em: 17 set. 2020.
33	GORTAZAR, C.; VICENTE, J.; SAMPER, S.; GARRIDO, J. M.; FERNÁNDEZ-DE-MERA, I. G.; GAVÍN, P.; JUSTE, R. A.; MARTÍN, C.; ACEVEDO, P.; DE LA PUENTE, M.; HÖFLE, U. Molecular characterization of Mycobacterium tuberculosis complex isolates from wild ungulates in south-central Spain. Veterinary Research , v. 36, n. 1, p. 43–52, jan. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15610722/>. Acesso em: 17 set. 2020.
34	HANSEN, N.; SEILER, C.; RUMPF, J.; KRAFT, P.; DLASKE, H.; ABELE-HORN, M.; MUELLGES, W. Human Tuberculous Meningitis Caused by Mycobacterium caprae. Case Reports in Neurology , v. 4, n. 1, p. 54–60, jan. 2012. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/FullText/337299>. Acesso em: 17 jun. 2020.
35	IKONOMOPOULOS, J.; BALASKAS, C.; SECHI, A. L.; GAZOULI, M. Outbreak of acute tuberculosis in a goat herd: first report of Mycobacterium caprae isolation in Greece . Online Journal of Veterinary Research , v. 10, n. 2, mar. 2006. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/43648352_Outbreak_of_acute_tuberculosis_in_a_goat_herd_first_report_of_Mycobacterium_caprae_isolation_in_Greece>. Acesso em: 17 set. 2020.
36	INDRA, A.; HOFER, E.; PRODINGER, W. Cluster of human Mycobacterium caprae-infections in Austria 2010/2011 is unrelated to prevalent animal tuberculosis . Wiener

	Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria , p. 55–59, dez. 2011.
37	JAVED, M. T.; ARANAZ, A.; DE JUAN, L.; BEZOS, J.; ROMERO, B.; ÁLVAREZ, J.; LOZANO, C.; MATEOS, A.; DOMÍNGUEZ, L. Improvement of spoligotyping with additional spacer sequences for characterization of <i>Mycobacterium bovis</i> and <i>M. caprae</i> isolates from Spain. Tuberculosis , v. 87, n. 5, p. 437–445, 1 set. 2007.
38	KOZIŃSKA, M.; KRAJEWSKA-WĘDZINA, M.; AUGUSTYNOWICZ-KOPEĆ, E. <i>Mycobacterium caprae</i> – the first case of the human infection in Poland. Annals of Agricultural and Environmental Medicine , v. 27, n. 1, p. 151–153, 17 mar. 2020.
39	KRAJEWSKA-WĘDZINA, M.; AUGUSTYNOWICZ-KOPEĆ, E.; WEINER, M.; ORŁOWSKA, B.; ANUSZ, K.; SZULOWSKI, K. TUBERCULOSIS IN POLISH ZOOS AS HEALTH RISK FOR HUMANS. Health Problems of Civilization , v. 11, n. 4, p. 233–238, 2017a. Disponível em: < https://doi.org/10.5114/hpc.2017.71892 >. Acesso em: 17 set. 2020.
40	KRAJEWSKA-WĘDZINA, M.; OLECH, W.; KOZIŃSKA, M.; AUGUSTYNOWICZ-KOPEĆ, E.; WEINER, M.; SZULOWSKI, K. Bovine tuberculosis outbreak in farmed American bison (<i>Bison bison</i>) in Poland. Polish journal of veterinary sciences , v. 20, n. 4, p. 819–821, 1 dez. 2017b. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29611649/ >. Acesso em: 17 set. 2020.
41	KRAJEWSKA, M.; ZABOST, A.; WELZ, M.; LIPIEC, M.; ORŁOWSKA, B.; ANUSZ, K.; BREWCZYŃSKI, P.; AUGUSTYNOWICZ-KOPEĆ, E.; SZULOWSKI, K.; BIELECKI, W.; WEINER, M. Transmission of <i>Mycobacterium caprae</i> in a herd of European bison in the Bieszczady Mountains, Southern Poland. European Journal of Wildlife Research , v. 61, n. 3, p. 429–433, 1 jun. 2015. Disponível em: < https://link.springer.com/article/10.1007/s10344-015-0912-x >. Acesso em: 17 set. 2020.
42	LAMINE-KHEMIRI, H.; MARTÍNEZ, R.; GARCÍA-JIMÉNEZ, W. L.; BENÍTEZ-MEDINA, J. M.; CORTÉS, M.; HURTADO, I.; ABASSI, M. S.; KHAZRI, I.; BENZARTI, M.; HERMOSO-DE-MENDOZA, J. Genotypic characterization by spoligotyping and VNTR typing of <i>Mycobacterium bovis</i> and <i>Mycobacterium caprae</i> isolates from cattle of Tunisia. Tropical Animal Health and Production , v. 46, n. 2, p. 305–311, fev. 2014. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24158359/ >. Acesso em: 17 set. 2020.
43	LANTOS, Á.; NIEMANN, S.; MEZŐSI, L.; SÓS, E.; ERDÉLYI, K.; DÁVID, S.; PARSONS, L. M.; KUBICA, T.; RÜSCH-GERDES, S.; SOMOSKÖVI, Á. Pulmonary Tuberculosis due to <i>Mycobacterium bovis</i> subsp. <i>caprae</i> in Captive Siberian Tiger. Emerging Infectious Diseases , v. 9, n. 11, p. 1462–1464, 2003.
44	LETH, C.; REVILLA-FERNÁNDEZ, S.; FINK, M.; HOFER, E.; SCHMOLL, F. Bovine tuberculosis in the Austrian alpine region. International Journal of Infectious Diseases , v. 79, p. 62, 1 fev. 2019. Disponível em: < https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.11.160 >. Acesso em: 17 set. 2020.
45	LOISEAU, C.; MENARDO, F.; ASEFFA, A.; HAILU, E.; GUMI, B.; AMENI, G.; BERG, S.; RIGOUTS, L.; ROBBE-AUSTERMAN, S.; ZINSSTAG, J.; GAGNEUX, S.; BRITES, D. An African origin for <i>Mycobacterium bovis</i> . Evolution, Medicine, and Public Health , v. 2020, n. 1, p. 49–59, 1 jan. 2020. Disponível em: < https://academic.oup.com/emph/article/2020/1/49/5719036 >. Acesso em: 17 set. 2020.
46	MAGNANI, R.; CAVALCA, M.; PIERANTONI, M.; LUPPI, A.; CANTONI, A. M.; PROSPERI, A.; PACCIARINI, M.; ZANONI, M.; TAMBA, M.; SANTI, A.; BONARDI, S. Infection by <i>Mycobacterium caprae</i> in three cattle herds in Emilia-Romagna Region, Northern Italy.

	Italian Journal of Food Safety , v. 9, n. 1, 2020. Disponível em: </pmc/articles/PMC7154599/?report=abstract>. Acesso em: 17 set. 2020.
47	MALONE, K. M.; GORDON, S. V. Mycobacterium tuberculosis complex members adapted to wild and domestic animals. In: Advances in Experimental Medicine and Biology . [s.l.] Springer New York LLC, 2017. 1019p. 135–154.
48	MATOS, F.; CUNHA, M. V.; CANTO, A.; ALBUQUERQUE, T.; AMADO, A.; BOTELHO, A. Snapshot of Mycobacterium bovis and Mycobacterium caprae infections in livestock in an area with a low incidence of bovine tuberculosis. Journal of Clinical Microbiology , v. 48, n. 11, p. 4337–4339, nov. 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20844227/>. Acesso em: 17 set. 2020.
49	MUÑOZ MENDOZA, M.; JUAN, L. de; MENÉNDEZ, S.; OCAMPO, A.; MOURELO, J.; SÁEZ, J. L.; DOMÍNGUEZ, L.; GORTÁZAR, C.; GARCÍA MARÍN, J. F.; BALSEIRO, A. Tuberculosis due to Mycobacterium bovis and Mycobacterium caprae in sheep. Veterinary Journal , v. 191, n. 2, p. 267–269, fev. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21703887/>. Acesso em: 17 set. 2020.
50	NEBREDA, T.; ÁLVAREZ-PRIDA, E.; BLANCO, B.; REMACHA, M. A.; SAMPER, S.; JIMÉNEZ, M. S. Peritoneal tuberculosis due to Mycobacterium caprae. IDCases , v. 4, p. 50–52, 1 jan. 2016.
51	NIEMANN, S.; RICHTER, E.; RÜSCH-GERDES, S. Differentiation among members of the Mycobacterium tuberculosis complex by molecular and biochemical features: Evidence for two pyrazinamide- susceptible subtypes of M. bovis. Journal of Clinical Microbiology , v. 38, n. 1, p. 152–157, 2000.
52	NIGSCH, A.; GLAWISCHNIG, W.; BAGÓ, Z.; GREBER, N. Mycobacterium caprae infection of red deer in western Austria-optimized use of pathology data to infer infection dynamics. Frontiers in Veterinary Science , v. 5, n. JAN, p. 350, 21 jan. 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6348259/?report=abstract>. Acesso em: 17 set. 2020.
53	ORŁOWSKA, B.; AUGUSTYNOWICZ-KOPEĆ, E.; KRAJEWSKA, M.; ZABOST, A.; WELZ, M.; KACZOR, S.; ANUSZ, K. Mycobacterium caprae transmission to free-living grey wolves (Canis lupus) in the Bieszczady Mountains in Southern Poland. European Journal of Wildlife Research , v. 63, n. 1, p. 1–5, 1 fev. 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10344-017-1079-4>. Acesso em: 17 set. 2020.
54	OZTURK-GURGEN, H.; RIESEBERG, B.; LEIPIG-RUDOLPH, M.; STRAUBINGER, R. K.; HERMANN, W. Morphology of Naturally-Occurring Tuberculosis in Cattle Caused by Mycobacterium caprae. Journal of Comparative Pathology , v. 174, p. 120–139, 1 jan. 2020.
55	PATE, M.; ŠVARA, T.; GOMBAČ, M.; PALLER, T.; ŽOLNIR-DOVČ, M.; EMERŠIČ, I.; PRODINGER, W. M.; BARTOŠ, M.; ZDOVC, I.; KRT, B.; PAVLIK, I.; CVETNIČ, Ž.; POGAČNIK, M.; OCEPEK, M. Outbreak of Tuberculosis Caused by Mycobacterium caprae in a Zoological Garden. Journal of Veterinary Medicine Series B , v. 53, n. 8, p. 387–392, 1 out. 2006. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0450.2006.01000.x>. Acesso em: 18 jun. 2020.
56	PAVLIK, I.; DVORSKA, L.; BARTOS, M.; PARMOVA, I.; MELICHAREK, I.; JESENSKA, A.; HAVELKOVA, M.; SLOSAREK, M.; PUTOVA, I.; MARTIN, G.; ERLER, W.; KREMER, K.; VAN SOOLINGEN, D. Molecular epidemiology of bovine tuberculosis in the Czech Republic and Slovakia in the period 1965-2001 studied by spoligotyping <i>Vet. Med.-</i>

	Czech. [s.l: s.n.].
57	PÉREZ DE VAL, B.; LÓPEZ-SORIA, S.; NOFRARÍAS, M.; MARTÍN, M.; VORDERMEIER, H. M.; VILLARREAL-RAMOS, B.; ROMERA, N.; ESCOBAR, M.; SOLANES, D.; CARDONA, P. J.; DOMINGO, M. Experimental model of tuberculosis in the domestic goat after endobronchial infection with <i>Mycobacterium caprae</i> . Clinical and Vaccine Immunology , v. 18, n. 11, p. 1872–1881, 1 nov. 2011.
58	PIRS, T.; PATE, M.; ZAJC, U.; ŠPIČIĆ, S.; CVETNIĆ, Ž.; ZDELAR-TUK, M.; DUVNJAK, S. Outbreak of bovine tuberculosis in a beef cattle herd in Slovenia. 37th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology , p. 55–55, jul. 2016. Disponível em: < https://www.bib.irb.hr/829393?rad=829393 >. Acesso em: 17 set. 2020.
59	PRODINGER, W. M.; BRANDSTÄTTER, A.; NAUMANN, L.; PACCIARINI, M.; KUBICA, T.; BOSCHIROLI, M. L.; ARANAZ, A.; NAGY, G.; CVETNIC, Z.; OCEPEK, M.; SKRYPNYK, A.; ERLER, W.; NIEMANN, S.; PAVLIK, I.; MOSER, I. Characterization of <i>Mycobacterium caprae</i> isolates from Europe by mycobacterial interspersed repetitive unit genotyping. Journal of Clinical Microbiology , v. 43, n. 10, p. 4984–4992, out. 2005.
60	PRODINGER, W. M.; INDRA, A.; KOKSALAN, O. K.; KILICASLAN, Z.; RICHTER, E. Mycobacterium caprae infection in humans Expert Review of Anti-Infective Therapy Expert Reviews Ltd., , 1 dez. 2014. .
61	REIS, A. C.; ALBUQUERQUE, T.; BOTELHO, A.; CUNHA, M. V. Polyclonal infection as a new scenario in <i>Mycobacterium caprae</i> epidemiology. Veterinary Microbiology , v. 240, p. 108533, 1 jan. 2020.
62	RETTINGER, A.; BROECKL, S.; FINK, M.; PRODINGER, W. M.; BLUM, H.; KREBS, S.; DOMOGALLA, J.; JUST, F.; GELLERT, S.; STRAUBINGER, R. K.; BÜTTNER, M. The Region of Difference Four is a Robust Genetic Marker for Subtyping <i>Mycobacterium caprae</i> Isolates and is Linked to Spatial Distribution of Three Subtypes. Transboundary and Emerging Diseases , v. 64, n. 3, p. 782–792, 1 jun. 2017. Disponível em: < http://doi.wiley.com/10.1111/tbed.12438 >. Acesso em: 9 set. 2020.
63	RODRÍGUEZ, E.; SÁNCHEZ, L. P.; PÉREZ, S.; HERRERA, L.; JIMÉNEZ, M. S.; SAMPER, S.; IGLESIAS, M. J. Human tuberculosis due to <i>Mycobacterium bovis</i> and <i>M. caprae</i> in Spain, 2004-2007. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease , v. 13, n. 12, p. 1536–1541, 1 dez. 2009. Disponível em: < https://europepmc.org/article/med/19919773 >. Acesso em: 17 set. 2020.
64	RODRÍGUEZ, S.; BEZOS, J.; ROMERO, B.; DE JUAN, L.; ÁLVAREZ, J.; CASTELLANOS, E.; MOYA, N.; LOZANO, F.; TARIQ JAVED, M.; SÁEZ-LLORENTE, J. L.; LIÉBANA, E.; MATEOS, A.; DOMÍNGUEZ, L.; ARANAZ, A. <i>Mycobacterium caprae</i> infection in livestock and wildlife, Spain. Emerging Infectious Diseases , v. 17, n. 3, p. 532–535, mar. 2011. Disponível em: < pmc/articles/PMC3165998/?report=abstract >. Acesso em: 17 set. 2020.
65	SAHRAOUI, N.; MÜLLER, B.; GUETARNI, D.; BOULAHBAL, F.; YALA, D.; OUZROUT, R.; BERG, S.; SMITH, N. H.; ZINSSTAG, J. Molecular characterization of <i>Mycobacterium bovis</i> strains isolated from cattle slaughtered at two abattoirs in Algeria. BMC Veterinary Research , v. 5, p. 4, 27 jan. 2009. Disponível em: < pmc/articles/PMC2640374/?report=abstract >. Acesso em: 17 set. 2020.
66	SANTOS, N.; CORRELA-NEVES, M.; GHEBREMICHAEL, S.; KÄLLENIUS, G.; SVENSON, S. B.; ALMEIDA, V. Epidemiology of <i>Mycobacterium bovis</i> infection in wild boar (<i>Sus scrofa</i>) from Portugal. Journal of Wildlife Diseases , v. 45, n. 4, p. 1048–1061, 2009. Disponível

	em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19901381/ >. Acesso em: 17 set. 2020.
67	SCHOEPP, K.; PRODINGER, W. M.; GLAWISCHNIG, W.; HOFER, E.; REVILLA-FERNANDEZ, S.; HOFRICHTER, J.; FRITZ, J.; KÖFER, J.; SCHMOLL, F. A Two-Years' Survey on the Prevalence of Tuberculosis Caused by <i>Mycobacterium caprae</i> in Red Deer (<i>Cervus elaphus</i>) in the Tyrol, Austria. ISRN Veterinary Science , v. 2012, p. 1–7, 2012. Disponível em: < /pmc/articles/PMC3671721/?report=abstract >. Acesso em: 17 set. 2020.
68	SEVILLA, I. A.; ARNAL, M. C.; FUERTES, M.; MARTÍN, E.; COMENGE, J.; ELGUEZABAL, N.; FERNÁNDEZ DE LUCO, D.; GARRIDO, J. M. Tuberculosis outbreak caused by <i>Mycobacterium caprae</i> in a rabbit farm in Spain. Transboundary and Emerging Diseases , v. 67, n. 1, p. 431–441, 30 jan. 2020. Disponível em: < https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tbed.13366 >. Acesso em: 18 jun. 2020.
69	STEINPARZER, R.; STANCLOVA, G.; BAGÓ, Z.; REVILLA-FERNÁNDEZ, S.; LETH, C.; HOFER, E.; POHL, B.; SCHMOLL, F. Generalized Tuberculosis due to <i>Mycobacterium caprae</i> in a Red Fox (<i>Vulpes vulpes</i>) in Austria. Journal of Wildlife Diseases , v. 56, n. 4, 13 maio 2020. Disponível em: < www.openagrar.org >. Acesso em: 17 set. 2020.
70	TAFAJ, S.; MOKROUSOV, I.; BORRONI, E.; TROVATO, A.; KAPISYZI, P.; BARDHI, D.; HAFIZI, H.; BALA, S.; BULO, A.; BINO, S.; RASTOGI, N.; CIRILLO, D. Peculiar features of the <i>Mycobacterium tuberculosis</i> population structure in Albania. Infection, Genetics and Evolution , v. 78, p. 104136, 1 mar. 2020.
71	VALCHEVA, V.; SAVOVA-LALKOVSKA, T.; VYAZOVAYA, A.; DIMITROVA, A.; BONOVSKA, M.; NAJDENSKI, H. First insight into phylogeography of <i>Mycobacterium bovis</i> and <i>M. caprae</i> from cattle in Bulgaria. Infection, Genetics and Evolution , v. 81, p. 104240, 1 jul. 2020.
72	WEINER, M.; KRAJEWSKA, M.; ZABOST, A.; AUGUSTYNOWICZ-KOPEĆ, E.; SZULOWSKI, K. ANALYSIS OF RESISTANCE TO ANTIMYCOBACTERIAL DRUGS AMONG MTBC STRAINS ISOLATED FROM CATTLE IN POLAND AS A THREAT TO HUMAN HEALTH. Health Problems of Civilization , v. 14, n. 1, p. 24–28, 2020. Disponível em: < https://doi.org/10.5114/hpc.2020.92423 >. Acesso em: 17 set. 2020.
73	YOSHIDA, S.; SUGA, S.; ISHIKAWA, S.; MUKAI, Y.; TSUYUGUCHI, K.; INOUE, Y.; YAMAMOTO, T.; WADA, T. <i>Mycobacterium caprae</i> infection in captive Borneo Elephant, Japan. Emerging Infectious Diseases , v. 24, n. 10, p. 1937–1940, 1 out. 2018.
74	ZENG, W.; ZHANG, Y.; ZHAO, X.; HUANG, G.; JIANG, Y.; DONG, H.; LI, X.; WAN, K.; HE, C. Occurrence of non-tuberculous mycobacteria species in livestock from northern China and first isolation of <i>Mycobacterium caprae</i> . Epidemiology and Infection , v. 141, n. 7, p. 1545–1551, jul. 2013. Disponível em: < https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23298678/ >. Acesso em: 17 set. 2020.
75	ZIVANOVIC, I.; VUKOVIC, D.; DAKIC, I.; SAVIC, B. Species of mycobacterium tuberculosis complex and nontuberculous mycobacteria in respiratory specimens from Serbia. Archives of Biological Sciences , v. 66, n. 2, p. 553–561, 2014. Disponível em: < http://www.doiserbia.nb.rs/Article.aspx?ID=0354-46641402553Z >. Acesso em: 29 out. 2020.

Anexo II. Lista de todas as 78 reads utilizadas na análise com seus respectivos números de acesso, origem dos isolados e data de publicação.

Reads de <i>M. caprae</i>	Nº de acesso	Local	Publicado	Referências	Parâmetros de qualidade
<i>M. caprae</i> EPDC01	DRR120408	Japão	15/02/2018	(YOSHIDA et al., 2018)	Aceito
<i>M. caprae</i> EPDC02	DRR120409	Japão	15/02/2018	(YOSHIDA et al., 2018)	Aceito
<i>M. caprae</i> 1694-00	ERR551023	República Democrática do Congo	05/08/2015	(MALM et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 9577-99	ERR551704	República Democrática do Congo	05/08/2015	(MALM et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8986-99	ERR552526	República Democrática do Congo	05/08/2015	(MALM et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 1_01	ERR1462574	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 1_02	ERR1462575	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 1_03	ERR1462576	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 1_04	ERR1462577	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 1_05	ERR1462578	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 2_01	ERR1462579	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 2_02	ERR1462580	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 2_03	ERR1462581	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 2_04	ERR1462582	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 2_05	ERR1462583	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 3_01	ERR1462584	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 3_02	ERR1462585	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 3_03	ERR1462586	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 3_04	ERR1462587	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 4_01	ERR1462588	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 4_02	ERR1462589	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 4_03	ERR1462590	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 4_04	ERR1462591	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 4_05	ERR1462592	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 4_06	ERR1462593	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 4_07	ERR1462594	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 4_08	ERR1462595	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 4_09	ERR1462596	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 4_10	ERR1462597	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 4_11	ERR1462598	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 5_01	ERR1462599	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito

<i>M. caprae</i> 5_02	ERR1462600	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 5_03	ERR1462601	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 5_04	ERR1462602	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 5_05	ERR1462603	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 5_06	ERR1462604	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 5_07	ERR1462605	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 5_08	ERR1462606	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 5_09	ERR1462607	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 5_10	ERR1462608	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 6_01	ERR1462609	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 6_02	ERR1462610	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 6_03	ERR1462611	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 6_04	ERR1462612	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 6_05	ERR1462613	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 7_01	ERR1462614	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 7_02	ERR1462615	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 7_03	ERR1462616	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 7_04	ERR1462617	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 7_05	ERR1462618	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 7_06	ERR1462619	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 7_07	ERR1462620	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 7_08	ERR1462621	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8_01	ERR1462622	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8_02	ERR1462623	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8_03	ERR1462624	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8_04	ERR1462625	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8_05	ERR1462626	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8_06	ERR1462627	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8_07	ERR1462628	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8_08	ERR1462629	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8_09	ERR1462630	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8_10	ERR1462631	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> 8_11	ERR1462632	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> C1_5_04	ERR1462633	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> C2_5_06	ERR1462634	Alemanha	31/12/2016	(BROECKL et al., 2017)	Aceito
<i>M. caprae</i> MCNLA000201913	SRR12404592	Brasil	06/08/2020	Dados não publicados	Aceito
<i>M. caprae</i> 09-0454	SRR1792164	China	11/03/2015	(PRICE-CARTER et al., 2018)	Aceito
<i>M. caprae</i> 09-0455	SRR1792165	China	11/03/2015	(PRICE-CARTER et al., 2018)	Aceito
<i>M. caprae</i> 01-0490	SRR3135068	Nova Zelândia	03/02/2016	(PRICE-CARTER et al., 2018)	Aceito

<i>M. caprae</i> AgR600	SRR7617662	China	01/11/2018	(PRICE-CARTER et al., 2018)	Aceito
<i>M. caprae</i> 09-0453	SRR3135069	Nova Zelândia	03/02/2016	(PRICE-CARTER et al., 2018)	Aceito
<i>M. caprae</i> G00247	ERR2642516	Suiça	25/10/2018	(GAGNEUX, 2018)	Excluído Single End
<i>M. caprae</i> 7140_99	ERR841382	Suiça	31/07/2013	(GAGNEUX, 2018)	Excluído Single End
<i>M. caprae</i> RW044	SRR650219	Alemanha	23/01/2013	(DORN-IN et al., 2020b)	Excluído Baixa cobertura (10,69%) depois de trimmada.
<i>M. caprae</i> RW079	SRR650221	Alemanha	23/01/2013	(DORN-IN et al., 2020b)	Excluído Cobertura de mapeamento < 95%
<i>M. caprae</i> D102	SRR650226	Alemanha	23/01/2013	(DORN-IN et al., 2020b)	Excluído Cobertura de mapeamento < 95%
<i>M. caprae</i> D028	SRR650227	Alemanha	23/01/2013	(DORN-IN et al., 2020b)	Excluído Cobertura de mapeamento < 95%

Anexo III. Lista de todas variantes (excluindo sinônimas e intergênicas) encontradas em genômica comparativa entre *Mycobacterium caprae* e *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv.

POSITION	REF	ALT	FORMATO	GENE	GENE ID	MUTAÇÃO
467	A	G	missense_variant	dnaA	Rv0001	His156Arg
3751	T	G	missense_variant	recF	Rv0003	Leu158Val
3943	G	A	missense_variant	recF	Rv0003	Glu222Lys
4013	T	C	missense_variant	recF	Rv0003	Ile245Thr
6446	G	T	missense_variant	gyrB	Rv0005	Ala403Ser
7362	G	C	missense_variant	gyrA	Rv0006	Glu21Gln
7585	G	C	missense_variant	gyrA	Rv0006	Ser95Thr
9304	G	A	missense_variant	gyrA	Rv0006	Gly668Asp
11879	A	G	missense_variant	Rv0008c	Rv0008c	Ser145Pro
13197	G	C	missense_variant	Rv0010c	Rv0010c	Thr121Ser
14401	A	G	missense_variant	Rv0012	Rv0012	Lys105Glu
14785	T	C	missense_variant	Rv0012	Rv0012	Cys233Arg
15117	C	G	missense_variant	trpG	Rv0013	Ile68Met
21819	A	C	missense_variant	pstP	Rv0018c	Ser455Ala
23174	C	A	missense_variant	pstP	Rv0018c	Arg3Leu
24421	G	A	missense_variant	fhaA	Rv0020c	Pro342Ser
24534	T	C	missense_variant	fhaA	Rv0020c	Tyr304Cys
24780	T	C	missense_variant	fhaA	Rv0020c	Asp222Gly
26053	C	G	missense_variant	Rv0021c	Rv0021c	Ala277Pro
28934	GC	G	frameshift_variant	Rv0024	Rv0024	Asn193fs
42281	C	A	missense_variant	Rv0039c	Rv0039c	Cys24Phe
44823	A	C	missense_variant	leuS	Rv0041	Glu421Ala
47976	C	T	missense_variant	Rv0043c	Rv0043c	Gly42Glu
50557	T	C	missense_variant	ino1	Rv0046c	Arg190Gly
51949	A	G	missense_variant	Rv0048c	Rv0048c	Val250Ala
52028	C	T	missense_variant	Rv0048c	Rv0048c	Gly224Ser
62049	A	G	missense_variant	dnaB	Rv0058	Arg552Gly
69989	G	A	missense_variant	Rv0064	Rv0064	Gly457Asp
70267	G	T	missense_variant	Rv0064	Rv0064	Val550Phe
71731	C	T	missense_variant	vapB1	Rv0064A	Ala48Val
74161	C	G	missense_variant	icd2	Rv0066c	Lys117Asn
75940	G	C	missense_variant	Rv0068	Rv0068	Val214Leu
78103	T	C	missense_variant	glyA2	Rv0070c	Glu265Gly

89200	G	T	missense_variant	Rv0080	Rv0080	Gly60Val
94303	T	C	missense_variant	hycQ	Rv0086	Met118Thr
96101	G	A	missense_variant	hycE	Rv0087	Val230Ile
100589	A	G	missense_variant	ctpA	Rv0092	Thr3Ala
103600	A	G	missense_variant	Rv0093c	Rv0093c	Cys22Arg
103778	G	A	missense_variant	Rv0094c	Rv0094c	Arg296Cys
103836	G	T	missense_variant	Rv0094c	Rv0094c	Asn276Lys
122109	A	G	missense_variant	ctpB	Rv0103c	Leu22Ser
123520	T	C	missense_variant	Rv0104	Rv0104	Tyr402His
126563	C	A	missense_variant	ctpl	Rv0107c	Ala1327Ser
126803	A	G	missense_variant	ctpl	Rv0107c	Ser1247Pro
130135	G	A	missense_variant	ctpl	Rv0107c	Ala136Val
138301	G	A	missense_variant	gmhB	Rv0114	Gly121Arg
143207	T	C	missense_variant	oxcA	Rv0118c	Ser224Gly
146087	T	C	missense_variant	fusA2	Rv0120c	Asn562Ser
4147456	G	A	missense_variant	gshA	Rv3704c	Pro244Leu
154283	T	C	missense_variant	mak	Rv0127	Ser18Pro
160953	G	T	missense_variant	Rv0133	Rv0133	Val29Phe
170083	A	G	missense_variant	Rv0143c	Rv0143c	Phe34Leu
181672	T	C	missense_variant	ptbB	Rv0153c	Asp105Gly
194305	C	CGG	frameshift_variant	mce1R	Rv0165c	Gly171fs
195360	T	C	missense_variant	fadD5	Rv0166	Val123Ala
195566	T	G	missense_variant	fadD5	Rv0166	Ser192Ala
199470	T	G	missense_variant	mce1A	Rv0169	Ser313Ala
200430	T	C	missense_variant	mce1B	Rv0170	Ile179Thr
201567	G	C	missense_variant	mce1C	Rv0171	Glu212Asp
206339	T	C	missense_variant	mce1F	Rv0174	Leu370Pro
210442	C	T	missense_variant	lprO	Rv0179c	Arg124His
217863	C	G	missense_variant	bglS	Rv0186	Pro532Arg
223942	T	C	missense_variant	Rv0192	Rv0192	Ser127Pro
225323	T	C	missense_variant	Rv0193c	Rv0193c	Lys417Glu
225668	C	T	missense_variant	Rv0193c	Rv0193c	Gly302Ser
227098	T	C	missense_variant	Rv0194	Rv0194	Met74Thr
227860	C	T	missense_variant	Rv0194	Rv0194	Pro328Leu
233364	G	C	missense_variant	Rv0197	Rv0197	Arg378Ser
234477	T	G	stop_gained	Rv0197	Rv0197	Tyr749*
234496	C	CGT	frameshift_variant	Rv0197	Rv0197	Pro756fs
243598	A	G	missense_variant	Rv0205	Rv0205	His72Arg
244393	T	C	missense_variant	Rv0205	Rv0205	Val337Ala

245921	G	C	missense_variant	mmpL3	Rv0206c	Asp466Glu
246169	A	T	missense_variant	mmpL3	Rv0206c	Phe384Ile
249146	C	T	missense_variant	Rv0209	Rv0209	Arg37Cys
249522	T	C	missense_variant	Rv0209	Rv0209	Val162Ala
251575	G	A	missense_variant	Rv0210	Rv0210	Ala486Thr
256182	G	C	missense_variant	fadD4	Rv0214	Gly40Ala
260282	G	T	missense_variant	lipW	Rv0217c	Pro184Thr
261869	T	C	missense_variant	Rv0218	Rv0218	Cys316Arg
275367	G	T	missense_variant	php	Rv0230c	Asp199Glu
278681	C	G	missense_variant	nrdB	Rv0233	His33Asp
283614	T	C	missense_variant	aftD	Rv0236c	Ser1080Gly
283884	T	C	missense_variant	aftD	Rv0236c	Thr990Ala
285618	T	C	missense_variant	aftD	Rv0236c	Met412Val
289435	G	T	missense_variant	vapC24	Rv0240	Ala31Ser
300317	C	G	missense_variant	Rv0248c	Rv0248c	Glu163Gln
309765	C	T	stop_gained	Rv0257	Rv0257	Arg23*
310973	G	A	missense_variant	Rv0259c	Rv0259c	Ala182Val
331588	G	A	missense_variant	Rv0275c	Rv0275c	Ser24Leu
342146	A	C	missense_variant	eccA3	Rv0282	Glu6Ala
346275	C	G	missense_variant	eccC3	Rv0284	Pro214Arg
354280	G	A	missense_variant	eccD3	Rv0290	Ala400Thr
356528	A	G	missense_variant	eccE3	Rv0292	Asn217Asp
381030	A	G	missense_variant	Rv0312	Rv0312	Ser159Gly
382243	C	T	missense_variant	Rv0312	Rv0312	Pro563Leu
384380	A	C	missense_variant	Rv0315	Rv0315	Lys260Thr
386432	C	G	missense_variant	Rv0318c	Rv0318c	Gly223Ala
386574	C	T	missense_variant	Rv0318c	Rv0318c	Gly176Ser
389129	A	G	missense_variant	dcd	Rv0321	Tyr183Cys
390828	T	C	missense_variant	Rv0323c	Rv0323c	Ser142Gly
391853	A	G	missense_variant	Rv0324	Rv0324	Thr168Ala
392261	T	C	stop_lost&splice_region_variant	Rv0325	Rv0325	Ter75Glnext*?
394935	C	G	missense_variant	Rv0329c	Rv0329c	Trp129Ser
403980	G	A	missense_variant	Rv0338c	Rv0338c	Ala621Val
404326	T	C	missense_variant	Rv0338c	Rv0338c	Arg506Gly
411100	A	G	missense_variant	iniA	Rv0342	Asn88Ser
412280	T	G	missense_variant	iniA	Rv0342	His481Gln
422379	C	T	missense_variant	grpE	Rv0351	Ser224Leu
438271	G	A	missense_variant	Rv0359	Rv0359	Ala252Thr
442971	A	C	missense_variant	Rv0364	Rv0364	Ile193Leu

445780	C	T	missense_variant	Rv0368c	Rv0368c	Arg249His
447442	C	T	missense_variant	Rv0370c	Rv0370c	Gly201Glu
451439	A	G	missense_variant	Rv0373c	Rv0373c	Phe122Ser
455325	C	G	missense_variant	Rv0377	Rv0377	Pro302Arg
468357	A	G	missense_variant	purT	Rv0389	Glu8Gly
469329	T	C	missense_variant	purT	Rv0389	Ile332Thr
475178	T	C	missense_variant	Rv0395	Rv0395	Val80Ala
489935	G	C	missense_variant	pkc6	Rv0405	Arg1402Pro
492150	G	C	missense_variant	pta	Rv0408	Gly122Ala
502589	C	G	missense_variant	thiG	Rv0417	Ser75Cys
505974	G	A	missense_variant	lpqM	Rv0419	Ala297Thr
506553	G	T	missense_variant	lpqM	Rv0419	Asp490Tyr
513257	T	C	missense_variant	ctpH	Rv0425c	Met689Val
514657	T	G	missense_variant	ctpH	Rv0425c	Glu222Ala
517358	T	C	missense_variant	Rv0428c	Rv0428c	Asp149Gly
519185	T	G	missense_variant	Rv0431	Rv0431	Val38Gly
519331	A	G	missense_variant	Rv0431	Rv0431	Thr87Ala
522081	A	G	missense_variant	Rv0434	Rv0434	Thr190Ala
524891	C	A	missense_variant	pssA	Rv0436c	Gly167Val
527316	C	G	missense_variant	moeA2	Rv0438c	Met15Ile
533239	C	T	missense_variant	rskA	Rv0444c	Gly184Glu
533470	C	T	missense_variant	rskA	Rv0444c	Gly107Asp
555991	A	G	missense_variant	Rv0465c	Rv0465c	Cys106Arg
556201	T	C	missense_variant	Rv0465c	Rv0465c	Asn36Asp
573384	T	G	missense_variant	Rv0484c	Rv0484c	Ile140Leu
581821	G	A	missense_variant	Rv0492c	Rv0492c	Leu520Phe
584171	T	C	missense_variant	Rv0493c	Rv0493c	Ser174Gly
590763	G	C	missense_variant	proC	Rv0500	Glu227Asp
598475	G	A	missense_variant	mmpL2	Rv0507	Arg426His
598723	G	T	missense_variant	mmpL2	Rv0507	Asp509Tyr
599363	C	G	missense_variant	mmpL2	Rv0507	Ser722Cys
605338	A	G	missense_variant	hemB	Rv0512	Glu246Gly
630722	G	C	missense_variant	Rv0538	Rv0538	Arg228Pro
637319	G	A	missense_variant	pitA	Rv0545c	Pro49Ser
640365	CA	C	frameshift_variant	vapC3	Rv0549c	Gly93fs
642005	GA	G	frameshift_variant	fadD8	Rv0551c	Phe269fs
648002	T	G	missense_variant	Rv0556	Rv0556	Leu15Arg
658923	C	G	missense_variant	Rv0567	Rv0567	Phe201Leu
665293	A	G	missense_variant	Rv0572c	Rv0572c	Phe31Leu

668383	A	C	missense_variant	Rv0574c	Rv0574c	Asn4Lys
668707	C	CG	frameshift_variant	Rv0575c	Rv0575c	Ala347fs
670545	G	A	missense_variant	Rv0576	Rv0576	Arg233His
679497	A	G	missense_variant	Rv0584	Rv0584	Asp90Gly
684411	T	C	start_lost	mce2R	Rv0586	Met1?
686972	T	C	missense_variant	mce2A	Rv0589	Phe51Ser
687353	T	C	missense_variant	mce2A	Rv0589	Leu178Pro
689204	C	T	missense_variant	mce2C	Rv0591	Thr49Met
690248	C	A	missense_variant	mce2C	Rv0591	Thr397Asn
699718	C	T	missense_variant	tcrA	Rv0602c	Val28Ile
700776	T	C	missense_variant	lpqO	Rv0604	Ser180Pro
705602	T	C	missense_variant	Rv0610c	Rv0610c	Asn103Ser
712192	G	GA	frameshift_variant	galTa	Rv0618	Pro220fs
712693	A	G	missense_variant	galTb	Rv0619	Thr174Ala
713310	T	C	missense_variant	galK	Rv0620	Cys199Arg
713802	C	T	missense_variant	galK	Rv0620	Arg363Cys
715266	A	G	stop_lost&splice_region_variant	Rv0621	Rv0621	Ter355Trpext*?
722434	GC	G	frameshift_variant	recB	Rv0630c	Arg860fs
722583	C	A	missense_variant	recB	Rv0630c	Val811Phe
727321	C	T	missense_variant	recC	Rv0631c	Gly329Glu
734759	C	T	missense_variant	nusG	Rv0639	Ala169Val
735865	A	G	missense_variant	rplA	Rv0641	Thr117Ala
736919	G	T	missense_variant	mmaA4	Rv0642c	Phe95Leu
738820	C	A	missense_variant	mmaA2	Rv0644c	Arg114Leu
741741	C	T	missense_variant	Rv0647c	Rv0647c	Ala293Thr
743317	C	T	missense_variant	Rv0648	Rv0648	Ser200Leu
754186	A	G	missense_variant	Rv0658c	Rv0658c	Leu75Pro
775639	T	C	missense_variant	mmpL5	Rv0676c	Ile948Val
776100	G	A	missense_variant	mmpL5	Rv0676c	Thr794Ile
793082	C	G	missense_variant	pqqE	Rv0693	Ala309Gly
815236	T	C	missense_variant	rplO	Rv0723	Ile16Thr
820483	G	T	missense_variant	fucA	Rv0727c	Ala6Asp
820752	C	T	missense_variant	serA2	Rv0728c	Arg242His
821907	T	C	missense_variant	xylB	Rv0729	Leu134Pro
831566	A	G	missense_variant	Rv0739	Rv0739	Met238Val
844209	A	G	missense_variant	fadE9	Rv0752c	Val69Ala
852606	G	A	missense_variant	phoR	Rv0758	Gly71Ser
852607	G	T	missense_variant	phoR	Rv0758	Gly71Val
852910	C	T	missense_variant	phoR	Rv0758	Pro172Leu

867697	A	C	missense_variant	Rv0774c	Rv0774c	Ser219Ala
871271	A	C	missense_variant	purB	Rv0777	Thr422Pro
880562	G	T	missense_variant	Rv0785	Rv0785	Cys408Phe
882257	T	C	missense_variant	Rv0787	Rv0787	Tyr267His
887846	GT	G	frameshift_variant	Rv0794c	Rv0794c	Thr264fs
893733	T	G	missense_variant	pepC	Rv0800	Leu139Arg
906857	A	G	missense_variant	Rv0812	Rv0812	Ile145Met
911261	T	C	missense_variant	Rv0818	Rv0818	Leu97Pro
912830	C	G	missense_variant	phoT	Rv0820	Phe35Leu
916046	T	G	missense_variant	Rv0822c	Rv0822c	His89Pro
917259	C	A	missense_variant	Rv0823c	Rv0823c	Gly130Cys
920514	G	A	missense_variant	Rv0826	Rv0826	Arg294Gln
921813	C	G	missense_variant	Rv0829	Rv0829	Ala80Gly
931437	A	G	missense_variant	lpqQ	Rv0835	Asp162Gly
932280	T	C	stop_lost&splice_region_variant	Rv0836c	Rv0836c	Ter218Trpext*?
937677	G	T	missense_variant	Rv0841	Rv0841	Val29Phe
941845	C	A	missense_variant	Rv0845	Rv0845	Ala219Glu
944725	C	T	missense_variant	lpqS	Rv0847	Ala128Val
945214	G	A	missense_variant	cysK2	Rv0848	Gly93Ser
948294	T	C	missense_variant	Rv0851c	Rv0851c	Ser59Gly
955524	A	G	missense_variant	fadA	Rv0859	Ser150Gly
958393	G	A	missense_variant	fadB	Rv0860	Ala701Thr
959379	A	G	missense_variant	ercc3	Rv0861c	Val258Ala
960367	A	G	missense_variant	Rv0862c	Rv0862c	Leu749Ser
979704	G	C	missense_variant	Rv0881	Rv0881	Gly115Arg
990001	G	C	missense_variant	Rv0890c	Rv0890c	Pro866Ala
993346	A	C	missense_variant	Rv0891c	Rv0891c	Val37Gly
1000732	A	G	missense_variant	gltA2	Rv0896	Thr421Ala
1010204	C	CG	frameshift_variant	Rv0907	Rv0907	Cys25fs
1011100	C	T	missense_variant	Rv0907	Rv0907	Pro322Leu
1014815	T	G	missense_variant	Rv0909	Rv0909	His45Gln
1024346	A	G	missense_variant	Rv0918	Rv0918	Ser46Gly
1026070	G	T	missense_variant	Rv0920c	Rv0920c	Asp249Glu
1037012	T	C	missense_variant	pstA1	Rv0930	Met5Thr
1037911	C	T	stop_gained	pstA1	Rv0930	Arg305*
1040706	A	C	missense_variant	pstS2	Rv0932c	Ser115Ala
1043169	T	C	missense_variant	pstS1	Rv0934	Val352Ala
1047165	T	C	missense_variant	ligD	Rv0938	Cys344Arg
1054784	C	G	missense_variant	Rv0945	Rv0945	Arg180Gly

1062745	T	C	missense_variant	sucC	Rv0951	Val261Ala
1063765	G	A	missense_variant	sucD	Rv0952	Arg209Lys
1070702	T	C	missense_variant	Rv0958	Rv0958	Ser274Pro
1074558	G	A	missense_variant	lprP	Rv0962c	Pro186Leu
1076309	G	T	missense_variant	Rv0964c	Rv0964c	Pro124Thr
1077280	A	C	missense_variant	Rv0966c	Rv0966c	Trp186Gly
1077312	A	G	missense_variant	Rv0966c	Rv0966c	Val175Ala
1080192	G	A	missense_variant	ctpV	Rv0969	Asp484Asn
1083043	C	A	missense_variant	fadE12	Rv0972c	Gln236His
1085093	T	A	missense_variant	accA2	Rv0973c	Ile220Phe
1087193	G	C	missense_variant	accD2	Rv0974c	Asn51Lys
1097023	G	A	missense_variant	mprA	Rv0981	Gly68Ser
1098523	T	A	missense_variant	mprB	Rv0982	Leu339His
1100234	T	C	missense_variant	pepD	Rv0983	Leu390Pro
1102484	G	T	missense_variant	Rv0986	Rv0986	Val228Leu
1104690	T	G	missense_variant	Rv0987	Rv0987	Phe717Val
1105284	G	A	missense_variant	Rv0988	Rv0988	Val57Ile
1105518	T	G	missense_variant	Rv0988	Rv0988	Tyr135Asp
1106422	T	C	missense_variant	grcC2	Rv0989c	Ile321Val
1107940	A	C	missense_variant	Rv0990c	Rv0990c	Ser54Ala
1109163	C	G	missense_variant	Rv0992c	Rv0992c	Met3Ile
1109975	A	G	missense_variant	galU	Rv0993	Gln235Arg
1110956	T	G	missense_variant	moeA1	Rv0994	Cys230Gly
1113267	T	A	missense_variant	Rv0996	Rv0996	Ile295Asn
1113290	G	C	missense_variant	Rv0996	Rv0996	Glu303Gln
1119597	C	G	missense_variant	Rv1002c	Rv1002c	Val115Leu
1123597	A	G	start_lost	pabB	Rv1005c	Leu1?
1125316	C	T	missense_variant	Rv1006	Rv1006	Pro535Ser
1126889	G	C	missense_variant	metS	Rv1007c	Arg39Gly
1127648	C	A	missense_variant	tatD	Rv1008	Thr187Asn
1128935	G	A	missense_variant	rpfB	Rv1009	Gly282Glu
1131229	C	CG	frameshift_variant	Rv1012	Rv1012	Glu35fs
1131300	G	A	missense_variant	Rv1012	Rv1012	Ser58Asn
1143832	A	C	missense_variant	lpqU	Rv1022	Thr33Pro
1144585	A	G	missense_variant	eno	Rv1023	Arg8Gly
1150585	G	A	missense_variant	kdpD	Rv1028c	Pro368Ser
1150803	C	T	missense_variant	kdpD	Rv1028c	Gly295Asp
1160770	T	A	missense_variant	esxl	Rv1037c	Gln20Leu
1203046	C	T	missense_variant	cbs	Rv1077	Pro444Ser

1203824	T	C	missense_variant	pra	Rv1078	Ile171Thr
1205308	G	C	missense_variant	greA	Rv1080c	Ser164Cys
1211369	A	C	missense_variant	Rv1086	Rv1086	Ser259Arg
1220680	T	C	missense_variant	glyA1	Rv1093	Val36Ala
1225198	C	T	missense_variant	Rv1096	Rv1096	Pro272Ser
1226077	G	A	missense_variant	Rv1097c	Rv1097c	Pro23Leu
1230778	G	A	missense_variant	mazF3	Rv1102c	Thr65Ile
1238483	G	A	missense_variant	Rv1112	Rv1112	Val77Ile
1240241	T	C	missense_variant	Rv1115	Rv1115	Ser19Pro
1248382	A	G	missense_variant	Rv1125	Rv1125	Ser101Gly
1250357	T	G	missense_variant	ppdK	Rv1127c	Thr350Pro
1251199	C	T	missense_variant	ppdK	Rv1127c	Gly69Glu
1252164	T	C	missense_variant	Rv1128c	Rv1128c	Glu270Gly
1273250	G	GA	frameshift_variant	mmpL13a	Rv1145	Leu277fs
1280689	T	C	missense_variant	omt	Rv1153c	Asp53Gly
1280741	C	T	missense_variant	omt	Rv1153c	Ala36Thr
1281118	T	C	missense_variant	Rv1154c	Rv1154c	Thr123Ala
1281771	T	C	missense_variant	Rv1155	Rv1155	Ser115Pro
1289789	A	G	missense_variant	narG	Rv1161	Asp821Gly
1306281	A	C	missense_variant	fadH	Rv1175c	Ile649Ser
1307598	C	G	missense_variant	fadH	Rv1175c	Cys210Ser
1307958	G	T	missense_variant	fadH	Rv1175c	Thr90Asn
1310316	C	T	missense_variant	Rv1178	Rv1178	Ala318Val
1315191	A	C	stop_lost&splice_region_variant	pkS3	Rv1180	Ter489Tyrext*?
1316927	A	C	missense_variant	pkS4	Rv1181	Asp565Ala
1328687	G	C	missense_variant	Rv1186c	Rv1186c	Pro207Ala
1341040	C	A	missense_variant	esxL	Rv1198	Ala12Asp
1352604	C	T	missense_variant	gpgS	Rv1208	Thr154Ile
1355349	C	T	missense_variant	glgA	Rv1212c	Val105Ile
1358940	C	A	missense_variant	Rv1215c	Rv1215c	Ala169Ser
1362006	T	C	missense_variant	Rv1218c	Rv1218c	Gln243Arg
1366736	T	C	missense_variant	htrA	Rv1223	Phe288Leu
1367208	G	A	missense_variant	htrA	Rv1223	Ser445Asn
1367484	T	G	missense_variant	tatB	Rv1224	Trp8Gly
1368947	A	G	missense_variant	Rv1226c	Rv1226c	Val450Ala
1373909	A	G	missense_variant	Rv1230c	Rv1230c	Ser97Pro
1374065	T	C	missense_variant	Rv1230c	Rv1230c	Ser45Gly
1375724	A	C	missense_variant	Rv1232c	Rv1232c	Cys149Gly
1382628	T	C	missense_variant	corA	Rv1239c	Lys139Glu

1387580	C	A	missense_variant	lpqZ	Rv1244	Gln242Lys
1390763	C	T	missense_variant	Rv1248c	Rv1248c	Val764Met
1393003	T	G	missense_variant	Rv1248c	Rv1248c	Glu17Ala
1393700	C	T	missense_variant	Rv1249c	Rv1249c	Ala95Thr
1395010	A	G	missense_variant	Rv1250	Rv1250	Arg278Gly
1400396	A	G	missense_variant	deaD	Rv1253	Met143Val
1409018	TG	T	frameshift_variant	Rv1260	Rv1260	Met260fs
1410062	G	C	missense_variant	Rv1262c	Rv1262c	Pro104Arg
1414021	C	T	missense_variant	pknH	Rv1266c	Arg607Gln
1424699	T	C	missense_variant	lprB	Rv1274	Leu168Pro
1425641	T	A	missense_variant	Rv1276c	Rv1276c	Thr92Ser
1457144	C	T	missense_variant	hemK	Rv1300	Arg194Cys
1458144	C	A	missense_variant	Rv1301	Rv1301	Pro196Gln
1459364	T	G	missense_variant	rfe	Rv1302	Val357Gly
1478850	A	G	missense_variant	alkA	Rv1317c	Met90Thr
1479085	T	C	missense_variant	alkA	Rv1317c	Ile12Val
1482627	T	C	missense_variant	Rv1320c	Rv1320c	Thr531Ala
1484708	A	C	missense_variant	Rv1321	Rv1321	Ser144Arg
1490905	A	G	missense_variant	glgB	Rv1326c	Ser470Pro
1490911	G	A	missense_variant	glgB	Rv1326c	Pro468Ser
1492194	T	C	missense_variant	glgB	Rv1326c	Asp40Gly
1496964	G	T	missense_variant	glgP	Rv1328	Ala801Ser
1499274	C	G	missense_variant	pncB1	Rv1330c	Gly429Ala
1508682	T	G	missense_variant	lprD	Rv1343c	Glu81Ala
1518463	T	A	stop_gained	Rv1351	Rv1351	Leu78*
1523791	A	G	missense_variant	moeY	Rv1355c	Leu81Pro
1534303	A	C	missense_variant	Rv1362c	Rv1362c	Val103Gly
1536251	G	T	missense_variant	Rv1364c	Rv1364c	Ala465Glu
1537926	C	T	missense_variant	rsfA	Rv1365c	Glu82Lys
1538651	C	G	missense_variant	Rv1366	Rv1366	Leu88Val
1540141	T	C	missense_variant	Rv1367c	Rv1367c	Ile169Val
1543806	T	TA	frameshift_variant	Rv1371	Rv1371	Phe150fs
1546703	C	T	missense_variant	Rv1373	Rv1373	Pro231Leu
1547125	T	C	missense_variant	Rv1374c	Rv1374c	Thr136Ala
1548087	G	A	missense_variant	Rv1375	Rv1375	Gly86Arg
1550755	G	A	missense_variant	Rv1377c	Rv1377c	Pro155Ser
1552547	G	A	missense_variant	Rv1378c	Rv1378c	Arg37Trp
1554752	G	T	missense_variant	pyrC	Rv1381	Val189Phe
1556323	C	G	missense_variant	carA	Rv1383	Ala118Gly

1559562	C	A	missense_variant	carB	Rv1384	Ala821Glu
1570566	C	A	missense_variant	cyp132	Rv1394c	Arg135Leu
1574206	T	C	missense_variant	vapC10	Rv1397c	Asp103Gly
1577083	G	A	missense_variant	Rv1401	Rv1401	Ala52Thr
1584379	A	C	missense_variant	fmu	Rv1407	Ile427Leu
1585283	A	C	missense_variant	ribG	Rv1409	Lys30Asn
1585404	G	A	missense_variant	ribG	Rv1409	Ala71Thr
1600685	C	T	missense_variant	Rv1425	Rv1425	Pro343Leu
1608276	A	C	missense_variant	Rv1431	Rv1431	Asn65Thr
1609445	A	C	missense_variant	Rv1431	Rv1431	Lys455Gln
1624791	C	G	missense_variant	opcA	Rv1446c	Arg192Pro
1627351	T	C	missense_variant	tal	Rv1448c	Thr244Ala
1630148	A	C	missense_variant	tkt	Rv1449c	Tyr18Asp
1635230	G	A	missense_variant	ctaB	Rv1451	Ala68Thr
1639594	C	A	missense_variant	Rv1453	Rv1453	Pro405Gln
1645802	T	C	missense_variant	Rv1459c	Rv1459c	Lys113Glu
1646982	C	T	missense_variant	Rv1460	Rv1460	Ala266Val
1650072	A	G	missense_variant	Rv1462	Rv1462	Asn183Asp
1659994	C	T	missense_variant	echA12	Rv1472	Pro78Ser
1676290	C	A	missense_variant	Rv1486c	Rv1486c	Lys198Asn
1689349	C	T	missense_variant	Rv1498c	Rv1498c	Arg191His
1690345	A	G	start_lost	Rv1498A	Rv1498A	Met1?
1693561	A	G	missense_variant	Rv1502	Rv1502	Tyr213Cys
1694199	C	T	missense_variant	Rv1503c	Rv1503c	Glu116Lys
1754572	T	C	missense_variant	fadD11	Rv1550	Leu286Ser
1760292	A	G	missense_variant	frdC	Rv1554	Met40Val
1766620	C	T	missense_variant	treZ	Rv1562c	Ala175Thr
1778430	T	C	missense_variant	bioD	Rv1570	Met191Thr
1792777	T	C	missense_variant	Rv1592c	Rv1592c	Ile322Val
1797577	A	G	missense_variant	nadC	Rv1596	Asn64Asp
1798355	G	A	missense_variant	Rv1597	Rv1597	Gly21Asp
1803265	G	A	missense_variant	hisH	Rv1602	Ser201Asn
1804409	C	A	missense_variant	impA	Rv1604	Pro124Gln
1804790	C	T	missense_variant	impA	Rv1604	Pro251Leu
1805214	C	T	missense_variant	hisF	Rv1605	Pro121Leu
1816848	G	T	missense_variant	pykA	Rv1617	Glu220Asp
1817976	A	T	missense_variant	tesB1	Rv1618	His121Leu
1826054	T	C	missense_variant	Rv1624c	Rv1624c	Thr178Ala
1834859	G	A	missense_variant	rpsA	Rv1630	Ala440Thr

1839759	G	C	missense_variant	Rv1634	Rv1634	Gly198Arg
1849205	T	C	missense_variant	lysX	Rv1640c	Asp944Gly
1854300	T	C	missense_variant	tsnR	Rv1644	Leu232Pro
1856777	G	C	missense_variant	Rv1647	Rv1647	Ala2Pro
1859559	C	A	missense_variant	pheS	Rv1649	Ala276Asp
1860392	C	T	missense_variant	pheT	Rv1650	Ala212Val
1878829	T	C	missense_variant	pks7	Rv1661	Ser1176Pro
1885481	C	G	missense_variant	pks8	Rv1662	Arg1260Gly
1885772	G	A	missense_variant	pks8	Rv1662	Ala1357Thr
1888128	G	A	missense_variant	pks9	Rv1664	Ala35Thr
1888893	A	C	missense_variant	pks9	Rv1664	Ile290Leu
1889073	G	C	missense_variant	pks9	Rv1664	Ala350Pro
1900800	A	G	missense_variant	cmr	Rv1675c	Val59Ala
1908084	G	A	missense_variant	Rv1683	Rv1683	Arg164His
1912024	C	A	missense_variant	Rv1686c	Rv1686c	Val20Phe
1931179	C	A	missense_variant	cycA	Rv1704c	Arg93Leu
1935695	T	G	missense_variant	Rv1707	Rv1707	Ser272Ala
1936194	G	A	missense_variant	Rv1707	Rv1707	Arg438Gln
1936525	G	A	missense_variant	Rv1708	Rv1708	Ala56Thr
1944107	A	G	missense_variant	Rv1716	Rv1716	Ser178Gly
1944402	T	C	missense_variant	Rv1716	Rv1716	Val276Ala
1945801	A	G	missense_variant	Rv1719	Rv1719	Asn54Ser
1952827	C	T	missense_variant	Rv1726	Rv1726	His326Tyr
1960284	C	A	missense_variant	Rv1733c	Rv1733c	Gln68His
1963738	TG	T	frameshift_variant	narX	Rv1736c	Gln150fs
1963957	T	C	missense_variant	narX	Rv1736c	Asp77Gly
1964030	C	G	missense_variant	narX	Rv1736c	Asp53His
1967237	C	A	missense_variant	Rv1739c	Rv1739c	Arg134Leu
1968116	A	C	missense_variant	vapC34	Rv1741	Lys67Thr
1973110	G	A	missense_variant	pknF	Rv1746	Ala325Thr
1980552	T	C	missense_variant	Rv1751	Rv1751	Met311Thr
1993808	A	T	missense_variant	Rv1760	Rv1760	Glu219Val
2011627	C	G	missense_variant	cyp144	Rv1777	His324Gln
2017861	G	A	missense_variant	eccB5	Rv1782	Arg41His
2021564	G	A	missense_variant	eccC5	Rv1783	Val770Met
2033021	G	A	missense_variant	eccD5	Rv1795	Gly261Asp
2055271	A	G	missense_variant	Rv1812c	Rv1812c	Leu30Pro
2057774	A	T	missense_variant	Rv1815	Rv1815	Ile83Phe
2062922	T	C	missense_variant	bacA	Rv1819c	Ile603Val

2072190	A	C	missense_variant	gcvH	Rv1826	Glu80Ala
2077218	A	G	missense_variant	gcvB	Rv1832	Thr448Ala
2090776	A	G	missense_variant	Rv1842c	Rv1842c	Leu437Ser
2093974	GC	G	frameshift_variant	gnd1	Rv1844c	Gly405fs
2097144	G	C	missense_variant	Rv1847	Rv1847	Val90Leu
2099793	A	T	missense_variant	ureF	Rv1851	Met34Leu
2107511	C	T	missense_variant	modC	Rv1859	Thr313Met
2108141	T	C	missense_variant	apa	Rv1860	Phe136Leu
2120796	T	A	stop_lost&splice_region_variant	Rv1870c	Rv1870c	Ter212Leuext*?
2122625	A	G	missense_variant	lldD2	Rv1872c	Val176Ala
2122976	C	G	missense_variant	lldD2	Rv1872c	Gly59Ala
2140920	GC	G	frameshift_variant	Rv1894c	Rv1894c	Ala317fs
2143328	G	C	missense_variant	Rv1895	Rv1895	Val270Leu
2143523	C	CT	frameshift_variant	Rv1895	Rv1895	Arg336fs
2145878	A	G	missense_variant	lppD	Rv1899c	Leu123Pro
2147022	A	C	missense_variant	lipJ	Rv1900c	Ile204Met
2151345	C	T	missense_variant	Rv1904	Rv1904	Thr131Met
2151678	G	T	missense_variant	aoa	Rv1905c	Pro240Thr
2154724	C	A	missense_variant	katG	Rv1908c	Arg463Leu
2160998	G	A	missense_variant	aceAa	Rv1915	Gly179Asp
2172012	G	C	missense_variant	Rv1920	Rv1920	Met130Ile
2175390	G	A	missense_variant	lipD	Rv1923	Gly73Asp
2180535	C	T	missense_variant	Rv1928c	Rv1928c	Gly228Asp
2181558	C	A	missense_variant	Rv1929c	Rv1929c	Ala117Ser
2194204	A	G	missense_variant	Rv1941	Rv1941	Thr181Ala
2199052	C	G	missense_variant	Rv1948c	Rv1948c	Gly5Arg
2199416	A	G	missense_variant	Rv1949c	Rv1949c	Phe207Leu
2222308	T	C	missense_variant	Rv1979c	Rv1979c	Asp286Gly
2225175	A	C	missense_variant	nrdF1	Rv1981c	Leu5Arg
2243034	T	G	missense_variant	Rv1998c	Rv1998c	Ser230Arg
2247169	G	A	missense_variant	Rv2001	Rv2001	Arg113His
2258216	A	G	missense_variant	vapB15	Rv2009	Asn63Asp
2264782	C	A	missense_variant	Rv2017	Rv2017	Ala262Glu
2269376	G	A	missense_variant	Rv2024c	Rv2024c	Arg289Cys
2269780	T	C	missense_variant	Rv2024c	Rv2024c	Asp154Gly
2270102	A	G	missense_variant	Rv2024c	Rv2024c	Trp47Arg
2271939	C	T	missense_variant	Rv2026c	Rv2026c	Gly270Asp
2274463	A	C	missense_variant	dosT	Rv2027c	Leu16Val
2280081	C	T	missense_variant	acg	Rv2032	Pro318Leu

2282376	C	T	missense_variant	Rv2036	Rv2036	Ala93Val
2282787	C	T	missense_variant	Rv2037c	Rv2037c	Cys312Tyr
2285251	C	A	missense_variant	Rv2039c	Rv2039c	Val131Phe
2294848	C	A	missense_variant	pkc12	Rv2048c	Ala4047Ser
2295304	C	T	missense_variant	pkc12	Rv2048c	Gly3895Ser
2295943	A	G	missense_variant	pkc12	Rv2048c	Cys3682Arg
2296042	G	C	missense_variant	pkc12	Rv2048c	Pro3649Ala
2328163	G	GT	frameshift_variant	cobK	Rv2070c	His21fs
2328543	T	C	missense_variant	cobM	Rv2071c	Ile145Met
2329533	A	G	missense_variant	cobL	Rv2072c	Leu205Pro
2335075	A	G	missense_variant	Rv2078	Rv2078	Glu6Gly
2335494	A	G	missense_variant	Rv2079	Rv2079	Tyr47Cys
2336001	C	T	missense_variant	Rv2079	Rv2079	Pro216Leu
2337373	T	C	missense_variant	lppJ	Rv2080	Val23Ala
2338811	A	G	missense_variant	Rv2082	Rv2082	Lys35Glu
2338866	T	G	missense_variant	Rv2082	Rv2082	Leu53Arg
2338961	G	A	missense_variant	Rv2082	Rv2082	Val85Ile
2338994	G	A	missense_variant	Rv2082	Rv2082	Ala96Thr
2339255	A	G	missense_variant	Rv2082	Rv2082	Thr183Ala
2341030	G	A	missense_variant	Rv2083	Rv2083	Ala54Thr
2341636	C	G	missense_variant	Rv2083	Rv2083	Leu256Val
2348446	C	G	missense_variant	Rv2090	Rv2090	Phe358Leu
2351522	G	A	missense_variant	helY	Rv2092c	Thr178Met
2369186	G	C	missense_variant	prcA	Rv2109c	Arg182Gly
2369326	C	G	missense_variant	prcA	Rv2109c	Arg135Pro
2372550	G	C	missense_variant	dop	Rv2112c	Pro7Arg
2373248	A	C	missense_variant	Rv2113	Rv2113	Thr207Pro
2382830	C	A	missense_variant	metH	Rv2124c	Asp1080Tyr
2383814	T	C	missense_variant	metH	Rv2124c	Ile752Val
2386389	G	A	missense_variant	Rv2125	Rv2125	Gly33Ser
2388641	G	A	missense_variant	ansP1	Rv2127	Gly9Asp
2388745	G	A	missense_variant	ansP1	Rv2127	Gly44Ser
2392387	C	T	missense_variant	mshC	Rv2130c	Ala25Thr
2413131	A	G	missense_variant	murG	Rv2153c	Leu74Pro
2413246	C	A	missense_variant	murG	Rv2153c	Val36Leu
2415656	G	C	missense_variant	murD	Rv2155c	Arg247Gly
2421816	A	G	missense_variant	Rv2160A	Rv2160A	Cys155Arg
2437259	G	T	missense_variant	mptA	Rv2174	Ala451Ser
2437837	G	A	missense_variant	Rv2175c	Rv2175c	Pro17Leu

2438094	T	G	missense_variant	pknL	Rv2176	Ser52Ala
2440926	G	T	missense_variant	aroG	Rv2178c	Asp265Glu
2448430	CT	C	frameshift_variant	fadD15	Rv2187	Leu91fs
2448458	C	T	missense_variant	fadD15	Rv2187	Thr100Ile
2449295	G	A	missense_variant	fadD15	Rv2187	Gly379Glu
2454932	G	A	missense_variant	Rv2191	Rv2191	Ala372Thr
2459234	G	C	missense_variant	qcrA	Rv2195	Met281Ile
2461545	C	A	missense_variant	Rv2197c	Rv2197c	Ala202Ser
2472956	T	C	missense_variant	cobS	Rv2208	Leu155Ser
2478967	C	G	missense_variant	pepB	Rv2213	Phe210Leu
2499726	G	A	missense_variant	Rv2226	Rv2226	Asp299Asn
2502757	C	T	missense_variant	Rv2229c	Rv2229c	Arg239Gln
2509140	G	C	missense_variant	cobD	Rv2236c	Ser79Cys
2509362	G	A	missense_variant	cobD	Rv2236c	Thr5Ile
2511712	G	T	missense_variant	Rv2240c	Rv2240c	Thr190Lys
2525722	CG	C	frameshift_variant	Rv2250A	Rv2250A	Gly109fs
2529798	G	C	missense_variant	Rv2256c	Rv2256c	Ala26Gly
2546707	T	C	missense_variant	mazF8	Rv2274c	Ile33Met
2559170	G	A	stop_gained	Rv2286c	Rv2286c	Gln134*
2562783	T	C	missense_variant	lppO	Rv2290	Val62Ala
2563958	A	C	missense_variant	sseB	Rv2291	Glu262Ala
2576251	G	A	missense_variant	Rv2305	Rv2305	Gly148Asp
2577246	A	G	missense_variant	Rv2306A	Rv2306A	Ile47Val
2577994	G	A	missense_variant	Rv2307c	Rv2307c	Arg235Trp
2578626	A	G	missense_variant	Rv2307c	Rv2307c	Met24Thr
2589216	G	C	missense_variant	uspA	Rv2316	Val127Leu
2591577	C	G	missense_variant	uspC	Rv2318	Leu354Val
2593028	TC	T	frameshift_variant	rocE	Rv2320c	Thr376fs
2595933	C	T	missense_variant	Rv2323c	Rv2323c	Ala113Thr
2604875	A	C	missense_variant	Rv2331A	Rv2331A	Ile46Leu
2605293	G	T	missense_variant	mez	Rv2332	Glu62Asp
2606092	A	C	missense_variant	mez	Rv2332	Ile329Leu
2606797	G	GC	frameshift_variant	stp	Rv2333c	Leu509fs
2606813	G	T	missense_variant	stp	Rv2333c	His503Gln
2608117	C	A	missense_variant	stp	Rv2333c	Asp69Tyr
2612632	C	A	missense_variant	Rv2337c	Rv2337c	Gly119Val
2614823	C	T	missense_variant	mmpL9	Rv2339	Ala44Val
2631840	A	T	missense_variant	plcA	Rv2351c	Met79Lys
2641840	A	G	missense_variant	zur	Rv2359	His64Arg

2642383	C	T	missense_variant	Rv2360c	Rv2360c	Ala66Thr
2656225	A	G	missense_variant	mbtH	Rv2377c	Val69Ala
2660319	C	G	missense_variant	mbtF	Rv2379c	Glu589Asp
2675050	C	T	missense_variant	mbtB	Rv2383c	Arg263Gln
2689193	G	A	missense_variant	ggtB	Rv2394	Arg395Gln
2690202	C	CT	frameshift_variant	Rv2395	Rv2395	Ile45fs
2691713	T	C	missense_variant	Rv2395	Rv2395	Ser548Pro
2695378	C	G	missense_variant	cysW	Rv2398c	Gly141Ala
2700142	C	A	stop_gained	Rv2402	Rv2402	Tyr538*
2700912	C	G	missense_variant	lppR	Rv2403c	Val127Leu
2701538	G	A	missense_variant	lepA	Rv2404c	Arg571Cys
2712913	C	A	missense_variant	Rv2415c	Rv2415c	Arg291Leu
2713270	T	C	missense_variant	Rv2415c	Rv2415c	Asp172Gly
2731555	A	C	missense_variant	Rv2435c	Rv2435c	Ser399Ala
2734074	T	C	missense_variant	rbsK	Rv2436	Val282Ala
2737572	C	A	missense_variant	proB	Rv2439c	Ala226Ser
2751804	C	T	missense_variant	rpfE	Rv2450c	Arg126Gln
2752448	A	G	missense_variant	Rv2451	Rv2451	Asn63Asp
2760152	A	G	missense_variant	mmuM	Rv2458	Tyr125Cys
2764939	G	A	missense_variant	tig	Rv2462c	Pro118Leu
2772954	T	C	missense_variant	Rv2469c	Rv2469c	Ser28Gly
2779136	T	C	missense_variant	gdh	Rv2476c	Ser1043Gly
2786952	A	G	missense_variant	plsB2	Rv2482c	Cys778Arg
2790458	A	C	missense_variant	plsC	Rv2483c	Cys189Gly
2791098	C	T	missense_variant	Rv2484c	Rv2484c	Gly466Asp
2807486	C	A	missense_variant	Rv2492	Rv2492	Ala70Asp
2809318	G	A	missense_variant	bkdC	Rv2495c	Arg208Trp
2809621	T	C	missense_variant	bkdC	Rv2495c	Thr107Ala
2810382	C	T	missense_variant	bkdB	Rv2496c	Gly201Ser
2818246	C	T	missense_variant	accD1	Rv2502c	Gly77Ser
2830525	C	A	missense_variant	Rv2513	Rv2513	Thr122Lys
2841022	A	G	missense_variant	fas	Rv2524c	Cys2771Arg
2853913	GC	G	frameshift_variant	Rv2529	Rv2529	Val348fs
2858669	G	T	missense_variant	nusB	Rv2533c	Ala19Asp
2865760	A	G	missense_variant	Rv2542	Rv2542	Thr211Ala
2875808	C	G	missense_variant	alaS	Rv2555c	Lys226Asn
2878980	C	T	missense_variant	Rv2559c	Rv2559c	Gly317Asp
2880702	G	C	missense_variant	Rv2560	Rv2560	Val210Leu
2886400	G	A	missense_variant	Rv2566	Rv2566	Gly10Ser

2887180	G	T	missense_variant	Rv2566	Rv2566	Ala270Ser
2888201	T	C	missense_variant	Rv2566	Rv2566	Leu610Pro
2891728	A	G	missense_variant	Rv2567	Rv2567	Gln645Arg
2896019	CT	C	frameshift_variant	aspS	Rv2572c	Gln595fs
2896260	G	A	missense_variant	aspS	Rv2572c	Ala515Val
2907009	G	T	missense_variant	ppiB	Rv2582	Val66Phe
2910461	G	T	missense_variant	apt	Rv2584c	Ala147Glu
2911293	C	G	missense_variant	Rv2585c	Rv2585c	Cys462Ser
2913087	C	T	missense_variant	secF	Rv2586c	Ala309Thr
2918796	T	A	missense_variant	fadD9	Rv2590	Phe309Tyr
2925962	T	C	missense_variant	vapC40	Rv2596	Cys77Arg
2927511	G	T	missense_variant	Rv2599	Rv2599	Ser12Ile
2932890	A	G	missense_variant	tesB2	Rv2605c	Phe85Leu
2939373	G	C	missense_variant	Rv2611c	Rv2611c	Ser197Cys
2939657	T	C	missense_variant	Rv2611c	Rv2611c	Ile102Met
2954118	T	TG	frameshift_variant	Rv2627c	Rv2627c	Met211fs
2954439	T	C	missense_variant	Rv2627c	Rv2627c	Arg104Gly
2955233	C	T	missense_variant	Rv2628	Rv2628	Ser59Leu
2984740	A	G	missense_variant	Rv2668	Rv2668	His3Arg
2984932	G	C	missense_variant	Rv2668	Rv2668	Gly67Ala
2985216	G	A	missense_variant	Rv2668	Rv2668	Glu162Lys
2988630	C	G	missense_variant	Rv2672	Rv2672	His317Asp
2997325	C	T	missense_variant	Rv2681	Rv2681	Ala196Val
3000362	T	C	missense_variant	Rv2683	Rv2683	Leu84Ser
3003115	C	G	missense_variant	arsB1	Rv2685	Ala378Gly
3005185	G	T	missense_variant	Rv2688c	Rv2688c	Pro156Thr
3007238	A	G	stop_lost&splice_region_variant	Rv2690c	Rv2690c	Ter658Argext*?
3009692	A	G	missense_variant	ceoB	Rv2691	Thr117Ala
3010420	A	G	missense_variant	ceoC	Rv2692	Ile133Val
3011566	G	T	missense_variant	Rv2694c	Rv2694c	Arg68Ser
3013119	C	T	missense_variant	Rv2696c	Rv2696c	Asp164Asn
3017465	T	C	missense_variant	ppgK	Rv2702	Ile203Thr
3021942	C	G	missense_variant	Rv2709	Rv2709	Thr35Ser
3027606	C	G	missense_variant	Rv2714	Rv2714	Ser181Trp
3027798	T	C	missense_variant	Rv2714	Rv2714	Val245Ala
3031168	A	G	missense_variant	Rv2719c	Rv2719c	Tyr124His
3032137	T	C	missense_variant	lexA	Rv2720	Val117Ala
3036912	A	G	missense_variant	fadE20	Rv2724c	Ile127Thr
3041679	G	A	missense_variant	Rv2729c	Rv2729c	Ala266Val

3041871	G	T	missense_variant	Rv2729c	Rv2729c	Ala202Glu
3069167	A	G	missense_variant	hsdM	Rv2756c	Leu306Pro
3072927	G	A	stop_gained	Rv2762c	Rv2762c	Gln44*
3080795	A	G	missense_variant	Rv2771c	Rv2771c	Leu80Pro
3086728	C	T	missense_variant	Rv2779c	Rv2779c	Met9Ile
3087084	CA	C	frameshift_variant	ald	Rv2780	Gln89fs
3097368	A	C	missense_variant	sirR	Rv2788	Asp137Ala
3103682	T	C	missense_variant	pptT	Rv2794c	Met87Val
3105144	C	A	missense_variant	lppV	Rv2796c	Cys159Phe
3112877	G	A	missense_variant	Rv2804c	Rv2804c	Ala73Val
3112923	C	T	missense_variant	Rv2804c	Rv2804c	Ala58Thr
3113872	A	T	missense_variant	Rv2807	Rv2807	Glu72Val
3118000	A	G	missense_variant	Rv2812	Rv2812	Arg395Gly
3118449	A	G	missense_variant	Rv2813	Rv2813	Ile76Val
3125235	G	A	stop_gained	Rv2818c	Rv2818c	Gln304*
3133536	T	C	missense_variant	Rv2825c	Rv2825c	Lys2Glu
3137058	G	A	missense_variant	vapB22	Rv2830c	Ala56Val
3139964	G	A	missense_variant	ugpB	Rv2833c	Pro174Leu
3142580	G	A	missense_variant	dinF	Rv2836c	Pro350Leu
3152257	C	T	missense_variant	proS	Rv2845c	Ala232Thr
3154588	G	C	missense_variant	efpA	Rv2846c	Thr15Arg
3157785	C	G	missense_variant	cobO	Rv2849c	Trp120Cys
3159237	C	T	missense_variant	Rv2850c	Rv2850c	Arg273Gln
3174496	A	G	missense_variant	Rv2862c	Rv2862c	Cys50Arg
3174591	C	G	missense_variant	Rv2862c	Rv2862c	Arg18Pro
3180988	C	A	missense_variant	rip	Rv2869c	Val259Phe
3186860	T	G	missense_variant	dipZ	Rv2874	Tyr672Asp
3187792	T	C	missense_variant	Rv2876	Rv2876	Trp44Arg
3188769	A	G	missense_variant	Rv2877c	Rv2877c	Tyr35His
3194241	C	CG	frameshift_variant	Rv2885c	Rv2885c	Gly438fs
3194392	T	A	missense_variant	Rv2885c	Rv2885c	Lys386Ile
3198332	G	A	missense_variant	tsf	Rv2889c	Thr259Met
3206759	G	A	missense_variant	Rv2897c	Rv2897c	Ala395Val
3213089	C	T	missense_variant	lepB	Rv2903c	Asp256Asn
3228143	G	T	missense_variant	Rv2917	Rv2917	Arg594Leu
3236716	A	C	missense_variant	smc	Rv2922c	Leu364Arg
3244414	A	G	missense_variant	fadD26	Rv2930	Met240Val
3246547	A	C	missense_variant	ppsA	Rv2931	Asn368Thr
3247316	C	G	missense_variant	ppsA	Rv2931	Asp624Glu

3247579	G	A	missense_variant	ppsA	Rv2931	Arg712Gln
3247851	G	A	missense_variant	ppsA	Rv2931	Ala803Thr
3248074	G	A	missense_variant	ppsA	Rv2931	Arg877His
3254880	G	T	missense_variant	ppsB	Rv2932	Arg1270Leu
3262628	G	A	missense_variant	ppsD	Rv2934	Met127Ile
3267715	A	C	missense_variant	ppsD	Rv2934	Glu1823Ala
3271037	A	G	missense_variant	ppsE	Rv2935	Asn1101Asp
3273138	C	G	missense_variant	drrA	Rv2936	His309Asp
3282079	T	A	missense_variant	mas	Rv2940c	Ser213Cys
3283492	A	G	missense_variant	fadD28	Rv2941	Gln53Arg
3292275	G	A	missense_variant	pkc1	Rv2946c	Ala1360Val
3292506	A	C	missense_variant	pkc1	Rv2946c	Val1283Gly
3296721	C	G	missense_variant	pkc15	Rv2947c	Gly374Arg
3296843	A	G	missense_variant	pkc15	Rv2947c	Val333Ala
3301252	C	T	missense_variant	fadD29	Rv2950c	Ala402Thr
3308466	C	T	missense_variant	Rv2955c	Rv2955c	Arg27His
3309377	T	C	missense_variant	Rv2956	Rv2956	Ile237Thr
3310875	G	A	stop_gained	Rv2958c	Rv2958c	Arg376*
3326554	A	C	missense_variant	Rv2971	Rv2971	Asn152His
3335297	T	C	missense_variant	Rv2979c	Rv2979c	Asp151Gly
3335708	G	C	missense_variant	Rv2979c	Rv2979c	Pro14Arg
3336825	T	C	missense_variant	ddlA	Rv2981c	Thr365Ala
3338603	G	C	missense_variant	gpdA2	Rv2982c	Pro133Ala
3348258	G	A	missense_variant	Rv2991	Rv2991	Ala93Thr
3352919	A	G	missense_variant	leuB	Rv2995c	Phe184Leu
3358235	A	T	missense_variant	lppY	Rv2999	Met212Leu
3371260	T	C	missense_variant	gatA	Rv3011c	Ile59Val
3398271	T	G	missense_variant	Rv3037c	Rv3037c	Asp7Ala
3402816	C	T	missense_variant	serB2	Rv3042c	Gly116Glu
3402955	C	A	missense_variant	serB2	Rv3042c	Ala70Ser
3420825	A	G	missense_variant	cyp136	Rv3059	Asp445Gly
3425854	C	T	missense_variant	ligB	Rv3062	Pro91Ser
3428446	G	T	missense_variant	cstA	Rv3063	Gly402Cys
3428917	C	A	missense_variant	cstA	Rv3063	Arg559Ser
3429041	T	C	missense_variant	cstA	Rv3063	Leu600Pro
3440468	G	C	missense_variant	Rv3077	Rv3077	Gly310Arg
3445339	G	A	missense_variant	pknK	Rv3080c	Ala217Val
3448783	G	A	missense_variant	Rv3083	Rv3083	Val94Ile
3454263	C	G	missense_variant	Rv3087	Rv3087	Leu447Val

3462135	G	C	missense_variant	Rv3093c	Rv3093c	Cys210Trp
3464629	A	G	missense_variant	Rv3096	Rv3096	Glu28Gly
3466919	C	G	missense_variant	lipY	Rv3097c	Gly58Ala
3470168	T	C	missense_variant	ftsX	Rv3101c	Asn171Ser
3474427	G	A	missense_variant	fprA	Rv3106	Val141Ile
3475159	A	G	missense_variant	fprA	Rv3106	Asn385Asp
3480474	G	A	missense_variant	Rv3113	Rv3113	Gly134Glu
3480645	T	G	missense_variant	Rv3113	Rv3113	Leu191Arg
3480789	T	C	missense_variant	Rv3114	Rv3114	Ser11Pro
3488556	G	T	missense_variant	Rv3122	Rv3122	Arg156Ser
3488687	G	A	missense_variant	Rv3123	Rv3123	Arg40Gln
3498418	A	G	missense_variant	devS	Rv3132c	Ile283Thr
3503895	C	T	missense_variant	Rv3137	Rv3137	Pro168Leu
3518167	A	G	missense_variant	nuoG	Rv3151	Ile474Met
3518555	A	G	missense_variant	nuoG	Rv3151	Thr604Ala
3521044	A	G	missense_variant	nuoI	Rv3153	Thr180Ala
3525557	G	A	missense_variant	nuoM	Rv3157	Val476Ile
3530955	C	G	missense_variant	Rv3161c	Rv3161c	Val62Leu
3540144	G	A	missense_variant	hpx	Rv3171c	Thr201Met
3542163	T	C	missense_variant	Rv3174	Rv3174	Val9Ala
3544697	CG	C	frameshift_variant	mesT	Rv3176c	Val202fs
3555699	A	G	missense_variant	Rv3190c	Rv3190c	Val330Ala
3556275	A	G	missense_variant	Rv3190c	Rv3190c	Leu138Pro
3560645	C	T	missense_variant	Rv3193c	Rv3193c	Arg843Gln
3571834	T	G	missense_variant	nudC	Rv3199c	Gln237Pro
3573636	T	C	missense_variant	Rv3200c	Rv3200c	Asn12Asp
3577958	A	G	missense_variant	Rv3202c	Rv3202c	Val748Ala
3581414	A	G	missense_variant	Rv3204	Rv3204	Thr34Ala
3591063	T	C	missense_variant	Rv3213c	Rv3213c	Lys144Glu
3597396	C	T	missense_variant	Rv3220c	Rv3220c	Asp47Asn
3601528	C	T	missense_variant	Rv3225c	Rv3225c	Ala305Thr
3609511	T	C	missense_variant	ppk2	Rv3232c	Thr83Ala
3610391	A	AC	frameshift_variant	tgs3	Rv3234c	Ser267fs
3623730	G	A	missense_variant	lpqB	Rv3244c	Ser394Leu
3624486	T	C	missense_variant	lpqB	Rv3244c	Asp142Gly
3625065	T	G	missense_variant	mtrB	Rv3245c	Met517Leu
3636471	C	T	missense_variant	Rv3256c	Rv3256c	Arg282Gln
3638093	G	A	missense_variant	pmmA	Rv3257c	Ser206Leu
3647041	A	G	missense_variant	rmID	Rv3266c	Ser257Pro

3654487	A	G	missense_variant	Rv3272	Rv3272	Asn347Ser
3658266	C	G	missense_variant	purE	Rv3275c	Gly125Arg
3660692	C	T	missense_variant	Rv3277	Rv3277	Ser272Leu
3661382	C	T	missense_variant	birA	Rv3279c	Asp211Asn
3663404	T	C	missense_variant	accD5	Rv3280	Val448Ala
3664615	G	T	missense_variant	Rv3282	Rv3282	Ala133Ser
3674418	G	T	missense_variant	pcd	Rv3293	Gly273Cys
3679949	A	G	missense_variant	lhr	Rv3296	Lys1059Glu
3685354	C	T	missense_variant	atsB	Rv3299c	Gly204Ser
3689523	G	T	stop_gained	lpdA	Rv3303c	Cys472*
3690016	A	G	missense_variant	lpdA	Rv3303c	Leu308Ser
3690854	T	C	missense_variant	lpdA	Rv3303c	Thr29Ala
3697708	A	G	missense_variant	sapM	Rv3310	Thr171Ala
3702543	G	A	missense_variant	deoA	Rv3314c	Arg309Trp
3702606	C	T	missense_variant	deoA	Rv3314c	Gly288Arg
3704596	G	C	missense_variant	sdhD	Rv3317	Val54Leu
3714211	G	T	missense_variant	sigJ	Rv3328c	Pro41Gln
3714757	A	C	missense_variant	Rv3329	Rv3329	Gln122His
3718357	C	T	missense_variant	sugI	Rv3331	Pro423Leu
3769445	T	C	missense_variant	Rv3354	Rv3354	Val112Ala
3770588	T	G	missense_variant	folD	Rv3356c	Gln21Pro
3785946	A	G	missense_variant	Rv3371	Rv3371	Arg339Gly
3786033	A	G	missense_variant	Rv3371	Rv3371	Ile368Val
3788365	T	G	stop_lost&splice_region_variant	echA18	Rv3373	Ter214Glyext*?
3791135	T	C	missense_variant	Rv3377c	Rv3377c	Ile407Val
3794281	C	T	missense_variant	dxs2	Rv3379c	Cys196Tyr
3798095	A	C	missense_variant	idsB	Rv3383c	Val132Gly
3808103	T	C	missense_variant	cmaA1	Rv3392c	Asn112Ser
3811327	C	T	missense_variant	Rv3395c	Rv3395c	Val104Met
3811629	G	A	missense_variant	Rv3395c	Rv3395c	Ala3Val
3817117	C	A	missense_variant	Rv3399	Rv3399	Ala330Glu
3820839	G	C	stop_gained	Rv3402c	Rv3402c	Tyr351*
3826684	C	T	missense_variant	vapC47	Rv3408	Ser46Leu
3844992	T	A	missense_variant	Rv3428c	Rv3428c	Ser327Cys
3845328	T	C	missense_variant	Rv3428c	Rv3428c	Met215Val
3851887	A	C	missense_variant	Rv3433c	Rv3433c	Ser443Ala
3857161	T	C	missense_variant	Rv3437	Rv3437	Leu84Pro
3864995	T	C	missense_variant	eccC4	Rv3447c	Ser1082Gly
3874722	AT	A	frameshift_variant	Rv3453	Rv3453	Tyr108fs

3879288	C	A	missense_variant	rpsK	Rv3459c	Lys135Asn
3885886	T	C	missense_variant	Rv3468c	Rv3468c	Ile62Val
3893290	G	A	missense_variant	kgtP	Rv3476c	Ala144Val
3893480	G	A	missense_variant	kgtP	Rv3476c	Leu81Phe
3896340	T	G	missense_variant	Rv3479	Rv3479	Leu174Arg
3898869	C	A	missense_variant	Rv3479	Rv3479	Thr1017Asn
3909235	G	C	missense_variant	otsA	Rv3490	Val334Leu
3912636	T	C	missense_variant	mce4F	Rv3494c	Asp245Gly
3924350	C	T	missense_variant	fadE27	Rv3505	Ala218Val
3952800	G	A	missense_variant	echA19	Rv3516	Gly86Asp
3954930	TG	T	frameshift_variant	cyp142	Rv3518c	Thr198fs
3958403	A	G	missense_variant	Rv3521	Rv3521	Asn295Asp
3959418	C	T	missense_variant	ltp4	Rv3522	Thr324Ile
3989914	G	T	missense_variant	Rv3551	Rv3551	Ala7Ser
3994898	A	G	missense_variant	Rv3555c	Rv3555c	Trp268Arg
3999774	G	A	missense_variant	Rv3559c	Rv3559c	Ala221Val
4002847	C	A	missense_variant	fadD3	Rv3561	Thr404Asn
4005114	G	C	missense_variant	fadE32	Rv3563	Trp275Ser
4008747	A	G	missense_variant	hsaB	Rv3567c	Ile179Thr
4012219	T	C	missense_variant	hsaA	Rv3570c	Asn18Asp
4018709	G	A	missense_variant	lppH	Rv3576	Asp118Asn
4021489	T	G	missense_variant	Rv3579c	Rv3579c	Glu302Ala
4028752	A	G	missense_variant	Rv3586	Rv3586	Thr288Ala
4034827	C	T	missense_variant	lpqF	Rv3593	Ala159Val
4034908	A	G	missense_variant	lpqF	Rv3593	Asn186Ser
4047039	A	C	missense_variant	Rv3604c	Rv3604c	Val153Gly
4055801	G	A	missense_variant	espA	Rv3616c	Thr192Ile
4067044	G	A	missense_variant	Rv3627c	Rv3627c	Ala81Val
4067152	G	A	missense_variant	Rv3627c	Rv3627c	Ala45Val
4069292	G	A	missense_variant	Rv3630	Rv3630	Ala40Thr
4078292	T	G	missense_variant	Rv3639c	Rv3639c	Lys53Asn
4078863	C	T	missense_variant	Rv3640c	Rv3640c	Gly296Glu
4089058	T	C	missense_variant	Rv3649	Rv3649	Leu93Pro
4095001	CG	C	frameshift_variant	Rv3655c	Rv3655c	Ser100fs
4099060	G	A	missense_variant	Rv3660c	Rv3660c	Pro30Leu
4099764	T	C	missense_variant	Rv3661	Rv3661	Ser40Pro
4101936	C	T	missense_variant	Rv3662c	Rv3662c	Ala34Thr
4105757	C	T	missense_variant	dppA	Rv3666c	Arg443Gln
4107074	T	C	missense_variant	dppA	Rv3666c	Gln4Arg

4112429	T	C	missense_variant	Rv3671c	Rv3671c	Ile363Val
4138377	A	G	missense_variant	glpK	Rv3696c	Val460Ala
4140143	C	T	missense_variant	vapC48	Rv3697c	Gly34Arg
4140690	G	C	missense_variant	Rv3698	Rv3698	Met66Ile
4141190	C	G	missense_variant	Rv3698	Rv3698	Pro233Arg
4154224	C	A	missense_variant	leuA	Rv3710	Pro162His
4156099	C	A	missense_variant	dnaQ	Rv3711c	Val211Leu
4156239	A	G	missense_variant	dnaQ	Rv3711c	Val164Ala
4156503	C	T	missense_variant	dnaQ	Rv3711c	Gly76Asp
4158032	A	C	missense_variant	Rv3712	Rv3712	Lys351Thr
4162339	A	G	missense_variant	Rv3719	Rv3719	Thr12Ala
4170964	G	GA	frameshift_variant	Rv3725	Rv3725	Gly251fs
4172173	A	C	missense_variant	Rv3726	Rv3726	Arg251Ser
4176262	G	A	missense_variant	Rv3728	Rv3728	Gly464Arg
4182695	G	A	missense_variant	ligC	Rv3731	Arg313His
4197555	G	A	missense_variant	Rv3748	Rv3748	Gly107Asp
4200220	A	G	start_lost	Rv3753c	Rv3753c	Met1?
4200868	A	C	missense_variant	tyrA	Rv3754	Met150Leu
4204847	G	A	missense_variant	proX	Rv3759c	Ala176Val
4205120	A	G	missense_variant	proX	Rv3759c	Leu85Pro
4207844	A	G	missense_variant	Rv3762c	Rv3762c	Tyr345His
4210274	A	G	missense_variant	tcrY	Rv3764c	Cys246Arg
4210876	T	C	missense_variant	tcrY	Rv3764c	His45Arg
4215484	G	C	missense_variant	Rv3770c	Rv3770c	Pro98Ala
4217557	A	G	missense_variant	hisC2	Rv3772	Thr142Ala
4222073	A	G	missense_variant	Rv3776	Rv3776	Met329Val
4223172	T	C	missense_variant	Rv3777	Rv3777	Val160Ala
4247646	A	C	missense_variant	embB	Rv3795	Glu378Ala
4250836	C	T	missense_variant	Rv3796	Rv3796	Thr320Ile
4259579	G	C	missense_variant	pks13	Rv3800c	Ala523Gly
4261499	G	A	missense_variant	fadD32	Rv3801c	Ala523Val
4267858	T	C	missense_variant	aftB	Rv3805c	Ile327Val
4269387	T	G	missense_variant	ubiA	Rv3806c	Glu149Asp
4278968	A	G	missense_variant	Rv3813c	Rv3813c	Met83Thr
4287361	C	T	missense_variant	Rv3822	Rv3822	Ala214Val
4289953	A	G	missense_variant	mmpL8	Rv3823c	Val526Ala
4290827	C	G	missense_variant	mmpL8	Rv3823c	Gly235Arg
4302036	T	C	missense_variant	Rv3827c	Rv3827c	Thr252Ala
4304847	C	A	missense_variant	Rv3829c	Rv3829c	Glu54Asp

4307179	G	A	missense_variant	Rv3833	Rv3833	Val105Ile
4313128	C	T	missense_variant	Rv3839	Rv3839	Pro122Ser
4316322	C	T	missense_variant	Rv3843c	Rv3843c	Arg92His
4316566	C	G	missense_variant	Rv3843c	Rv3843c	Gly11Arg
4321317	T	C	missense_variant	sodA	Rv3846	Ile205Thr
4330238	C	T	missense_variant	gltD	Rv3858c	Arg423His
4334425	G	C	missense_variant	gltB	Rv3859c	Gln553Glu
4337468	T	C	missense_variant	Rv3860	Rv3860	Val231Ala
4344041	C	T	missense_variant	eccA1	Rv3868	Ala243Val
4357597	C	G	missense_variant	espK	Rv3879c	Cys729Ser
4365743	T	G	missense_variant	eccA2	Rv3884c	Thr366Pro
4366195	T	C	missense_variant	eccA2	Rv3884c	Glu215Gly
4379680	C	G	missense_variant	eccC2	Rv3894c	Arg258Pro
4382103	TA	T	frameshift_variant	Rv3896c	Rv3896c	Tyr250fs
4382275	G	T	missense_variant	Rv3896c	Rv3896c	Gln193Lys
4382296	T	C	missense_variant	Rv3896c	Rv3896c	Ile186Val
4382604	T	C	missense_variant	Rv3896c	Rv3896c	Asp83Gly
4383655	A	G	stop_lost&splice_region_variant	Rv3898c	Rv3898c	Ter111Glnext*?
4386257	G	C	missense_variant	Rv3900c	Rv3900c	Pro18Ala
4390466	T	C	missense_variant	esxE	Rv3904c	Met82Val
4394210	G	C	missense_variant	Rv3909	Rv3909	Gly7Arg
4395387	A	G	missense_variant	Rv3909	Rv3909	Asn399Ser
4395804	C	T	missense_variant	Rv3909	Rv3909	Ala538Val
4398035	T	C	missense_variant	Rv3910	Rv3910	Val480Ala
4401897	A	G	missense_variant	trxB2	Rv3913	Asp57Gly
4408570	G	A	missense_variant	Rv3920c	Rv3920c	Arg110Trp
4408985	T	C	missense_variant	Rv3921c	Rv3921c	Lys362Arg
2772741	C	A	missense_variant	Rv2469c	Rv2469c	Ala99Ser
2896260	G	A	missense_variant	aspS	Rv2572c	Ala515Val

Anexo IV. Lista de todas frameshifts encontradas em genômica comparativa entre *Mycobacterium caprae* e *Mycobacterium tuberculosis* estirpe H37Rv.

Posição Genômica	Sequência original	Indel	Gene/Gene ID	frameshift
28934	GC	G	Rv0024	Asn193fs
194305	C	CGG	<i>mce1R</i>	Gly171fs
234496	C	CGT	Rv0197	Pro756fs
640365	CA	C	<i>vapC3</i>	Gly93fs
642005	GA	G	<i>fadD8</i>	Phe269fs
668707	C	CG	Rv0575c	Ala347fs
712192	G	GA	<i>galTa</i>	Pro220fs
722434	GC	G	<i>recB</i>	Arg860fs
887846	GT	G	Rv0794c	Thr264fs
1010204	C	CG	Rv0907	Cys25fs
1131229	C	CG	Rv1012	Glu35fs
1273250	G	GA	<i>mmpL13a</i>	Leu277fs
1409018	TG	T	Rv1260	Met260fs
1543806	T	TA	Rv1371	Phe150fs
1963738	TG	T	<i>narX</i>	Gln150fs
2093974	GC	G	<i>gnd1</i>	Gly405fs
2140920	GC	G	Rv1894c	Ala317fs
2143523	C	CT	Rv1895	Arg336fs
2328163	G	GT	<i>cobK</i>	His21fs
2448430	CT	C	<i>fadD15</i>	Leu91fs
2525722	CG	C	Rv2250A	Gly109fs
2593028	TC	T	<i>rocE</i>	Thr376fs
2606797	G	GC	<i>stp</i>	Leu509fs
2690202	C	CT	Rv2395	Ile45fs
2853913	GC	G	Rv2529	Val348fs
2896019	CT	C	<i>aspS</i>	Gln595fs
2954118	T	TG	Rv2627c	Met211fs
3087084	CA	C	<i>ald</i>	Gln89fs
3194241	C	CG	Rv2885c	Gly438fs
3544697	CG	C	<i>mesT</i>	Val202fs
3610391	A	AC	<i>tgs3</i>	Ser267fs

3874722	AT	A	Rv3453	Tyr108fs
3954930	TG	T	<i>cyp142</i>	Thr198fs
4095001	CG	C	Rv3655c	Ser100fs
4170964	G	GA	Rv3725	Gly251fs
4382103	TA	T	Rv3896c	Tyr250fs