



USO DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS ANTI-MPT64 de *Mycobacterium tuberculosis* produzidos para compor KIT ELISA PARA DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAL DE INFECÇÕES POR *M.tuberculosis* e *M.avium*

Nayara Vigneron de Oliveira, Giliane da Silva de Souza Cabral, Luciana dos Santos Barros Manhães, Fabrício Moreira Almeida, Jucélia da Silva Araújo, Elena Lassounskaia

A tuberculose (TB) continua sendo um dos maiores problemas de saúde pública na maioria dos países em desenvolvimento. Apresentando um crescimento em vários países, as infecções causadas por micobactérias não tuberculosas (MAC) também podem causar doença similar a TB. Destacam-se as bactérias do complexo *Mycobacterium avium* (MAC) uma vez que são mais prevalentes e fazem parte da espécie de MNT, que fazem parte das espécies das MNT, sendo sua infecção pulmonar a forma de apresentação mais comum, podendo também ocorrer infecção disseminada. O diagnóstico diferencial dessas infecções e a TB é essencial, já que os fármacos indicados para o tratamento da TB e MNT são diferentes. Este trabalho aponta a produção de anticorpos monoclonais como ferramenta para diferenciação das micobactérias para compor um kit imunológico indicado para diagnóstico diferencial entre as infecções de TB e MNT. O antígeno MPT64 foi escolhido como alvo de detecção de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), pois é uma proteína que é secretada apenas pelas bactérias do complexo Mtb. Foram produzidos hibridomas através da fusão de células de mieloma com os esplenócitos de camundongos da linhagem BALB/C imunizados com a proteína recombinante MPT64 MTB. Hibridomas específicos foram selecionados e subclonados, resultando em um hibridoma estável. Os anticorpos monoclonais foram avaliados quanto ao reconhecimento desse antígeno em sobrenadantes de culturas micobacterianas, incluindo bactérias do complexo Mtb (cepas H37Rv e M299) e micobactérias não tuberculosas tais como: cepas *M. kansasii*, *M. avium* subsp. *avium*, *M. avium* subsp. *hominissuis*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, por ELISA, Western blotting e por cromatografia de afinidade. Os resultados demonstram que os anticorpos monoclonais anti-MPT64 reconheceram especificamente a proteína MPT64 numa isoforma de 24 kDa somente no sobrenadante de culturas das cepas Mtb e não em culturas das MNT. Utilizando a cromatografia de afinidade, o antígeno MPT64 foi isolado apenas em sobrenadantes de cultura de cepas Mtb corroborando com os resultados do ELISA e Western blotting. Estamos produzindo novos anticorpos monoclonais foi realizada nova fusão e os híbridos estão sendo submetidos ao processo de clonagem. Esses anticorpos monoclonais anti-MPT64 serão utilizados como o anticorpo de detecção no kit ELISA sanduiche em combinação com os anticorpos anti-APA de *M. avium*, que foram produzidos anteriormente para diferenciação entre a Mtb e *M. avium* nas culturas de bactérias isoladas dos pacientes.