



Utilização de anticorpos monoclonais anti-APA para identificação de micobactérias do complexo *Mycobacterium avium* como uma nova ferramenta de diagnóstico

Luciana dos Santos Barros Manhães, Nayara Vigneron de Oliveira, Fabrício Moreira Almeida, Sanderson Dias Calixto, Vinicius Mussi, Elena B. Lassounskaia, Giliane da Silva de Souza Cabral

A incidência de doença pulmonar causada por micobactérias não tuberculosas (MNTs) tem aumentado em vários países do mundo, incluindo países com muitos casos de tuberculose, como o Brasil. Entre as MNTs patogênicas, o complexo *Mycobacterium avium* (MAC) é a causa mais prevalente de doença pulmonar, indistinguível da tuberculose em achados clínicos e radiológicos. A utilização de anticorpos específicos contra antígenos micobacterianos secretados por *M. avium* ou *M. tuberculosis* (Mtb) permitem a identificação das bactérias em culturas isoladas dos pacientes, contribuindo no diagnóstico da doença pulmonar. Um novo antígeno, que pode ser utilizado como alvo para a discriminação entre espécies micobacterianas, foi recentemente identificado pelo nosso grupo de pesquisa. A proteína APA (*alanine-proline antigen*) é uma das proteínas micobacterianas secretadas e diferentemente expressa em bactérias do Mtb e do complexo MAC. Anteriormente, nosso grupo produziu anticorpos monoclonais (Mab) e policlonais que reconheceram seletivamente o antígeno APA do *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), a micobactéria de MAC que causa a paratuberculose bovina. Neste trabalho nós verificamos se os anticorpos monoclonais anti-APA podem ser usados para detecção do *M. avium* (Mav) em culturas de micobactérias isoladas dos pacientes humanos ou de animais. Para a produção de anticorpos monoclonais anti-APA, as células de hibridoma 6F/9/3/2 foram descongeladas e 2×10^6 células foram injetadas intraperitonealmente em camundongos para induzir a produção de líquido ascítico. Diferentes cepas laboratoriais e isolados clínicos de pacientes com doença pulmonar foram cultivados (*M. avium* subespécies *paratuberculosis* e *hominissuis*, *M. kansasii*, *M. tuberculosis*). Os sobrenadantes de culturas foram submetidos ao teste ELISA anti-APA e a ensaios de *Western Blotting*. O anticorpo anti-APA demonstrou reconhecer o antígeno APA apenas nas culturas de *M. avium* subespécies *hominissuis* ou *paratuberculosis* (MAC) e não nas culturas de Mtb. Esses dados demonstram que o anticorpo anti-APA e o respectivo kit ELISA produzido em nosso Laboratório é uma ferramenta poderosa para a detecção específica do antígeno APA em culturas do complexo *M. avium* que pode ser empregada para o diagnóstico diferencial de infecções por *M. avium* e Mtb em pacientes com doença pulmonar.