



ANTICORPOS MONOCLONAIS ANTI-APA: UMA ALTERNATIVA DE DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL PARA PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR INFECTADOS PELO *Mycobacterium avium*

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

O *Mycobacterium avium* (Mav) é uma espécie entre as micobactérias não tuberculosas (MNTs) que causa doença pulmonar em humanos com sintomas clínicos semelhantes aos apresentados também na patogênese da tuberculose, que possui como agente infeccioso o *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Para o diagnóstico dos pacientes são utilizados os métodos bioquímicos e moleculares, que na rotina laboratorial possuem alguns obstáculos, como o crescimento lento das micobactérias e o alto custo na manutenção dos equipamentos. Dessa forma, os métodos imunoquímicos são alternativas mais viáveis que permitem identificar a partir de anticorpos específicos, os antígenos micobacterianos secretados por Mav e Mtb em amostras hospitalares como o escarro dos infectados. Um alvo que pode ser usado para esta finalidade é a proteína APA (antígeno alanina-prolina), secretada e expressa diferentemente por essas duas espécies de micobactérias. O nosso grupo de pesquisa anteriormente produziu anticorpos monoclonais (Mabs) e policlonais anti-APA que reconheceram a proteína APA do *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map), que assim como Mav compõe o Complexo *Mycobacterium avium* (MAC) e é o responsável pela patologia paratuberculose bovina. Com esse mesmo propósito, o objetivo deste trabalho foi testar os Mabs anti-APA produzidos em sobrenadantes de culturas de micobactérias isoladas de pacientes humanos ou de animais para verificar a detecção de Mav. Para isto, foram descongeladas e injetadas intraperitonealmente células de hibridomas 6F/9/3/2 em camundongos (2×10^6 células) com a intenção de produzir líquido ascítico. Foram cultivadas cepas laboratoriais e isolados clínicos de pacientes com doença pulmonar (*M. avium* subespécies *paratuberculosis* e *hominissuis*, *M. kansasii*, *M. tuberculosis*) e seus sobrenadantes coletados e aplicados a teste ELISA anti-APA e ensaios de *Western Blotting*. Nos resultados obtidos verificou-se que o anticorpo monoclonal produzido reconheceu apenas a proteína APA nas isoformas de 60/70 kDa nas culturas de MAC e não nas culturas de Mtb. Os sobrenadantes de cultura das micobactérias estão sendo submetido ao isolamento e purificação do antígeno APA por cromatografia de afinidade (coluna de gel NHS-activated Sepharose™ 4 Fast Flow). Como controle positivo foi utilizado sobrenadante fecal de bovino com paratuberculose bovina onde foram detectados picos de absorbância. Mediante a especificidade quanto ao antígeno APA secretado por MAP, os anticorpos monoclonais produzidos podem ser uma alternativa de diagnóstico diferencial de infecções pulmonares por Mav.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Fomento da bolsa (quando aplicável): UENF

