



Isolamento e caracterização do antígeno APA em sobrenadante de cultura de *M. avium* subsp. *paratuberculosis* em fezes de animais com paratuberculose

Anderson Cardozo da Costa, Giliane da S. de Souza Cabral, Efranci S. Ribeiro, Olga L. T. Machado, Elena Lassounskaia

A Paratuberculose bovina (PTB) ou doença de Johne continua entre os maiores problemas veterinários nos países de agropecuária industrial, como o Brasil. Ela é uma infecção intestinal crônica de ruminantes, causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Os animais doentes apresentam sinais como a diarreia, perda de peso, redução da produção de leite, levando aos prejuízos econômicos. A eliminação do MAP nas fezes começa nos cursos iniciais da infecção e aumenta ao longo da progressão da doença, o que sugere que antígenos secretados por micobactérias podem ser excretados nas fezes. Nosso grupo já demonstrou que o antígeno (APA) secretado pelo MAP, pode ser detectado no intestino e fezes de vacas com PTB utilizando um anticorpo monoclonal específico (mAb), nas fezes. Foi então sugerida uma nova abordagem para o diagnóstico da PTB baseado na imunodeteção do antígeno APA em material fecal por ELISA SANDUICHE (patente submetida em 2015). No presente estudo, objetivamos isolar e purificar o antígeno APA secretado pelo MAP em sobrenadante de cultura e no sobrenadante fecal de animais com PTB por imunoprecipitação e cromatografia de afinidade, com intuito de utilizá-lo posteriormente para compor o kit de diagnóstico (PTB-Detect). Foram coletadas amostras de fezes de bovinos em diferentes rebanhos leiteiros com histórico da PTB e o sobrenadante da cultura de *M. avium*. O isolamento do antígeno foi realizado através da imunoprecipitação pelo mAb anti-APA e confirmado por *Western blotting*. Na amostra de fezes, a APA foi representada por uma banda dupla de polipeptídeos de 60/70 kDa, e no sobrenadante de cultura – por uma banda de 60 kDa. Os resultados sugerem maior nível de glicosilação da proteína produzida pela bactéria no intestino da vaca infectada. Os experimentos de isolamento da APA através da cromatografia de afinidade estão em andamento. Diante dos fatos mencionados, o trabalho e os resultados obtidos nele são de grande importância para o desenvolvimento de novos métodos de diagnósticos para a paratuberculose bovina.

Palavras-chave: Paratuberculose, Imunodiagnóstico, Antígeno APA.

Instituição de fomento: CNPq, UENF.