

A Ciência e os caminhos do desenvolvimento

Caracterização do antígeno APA isolado do sobrenadante de cultura
M. avium subsp. paratuberculosis e de fezes de animais com
paratuberculose

Anderson Cardozo da Costa, Giliane da S. de Souza Cabral, Efranci S. Ribeiro, Fabrício Moreira Almeida, Olga L. T. Machado, Jucélia da Silva Araújo, Elena Lassounskaia

A Paratuberculose bovina (PTB) ou doença de Johne está entre os problemas veterinários nos países de agropecuária industrial, como o Brasil. 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. O MAP é eliminado nas fezes e leite de animais infectados, tanto durante a manifestação clínica quanto na fase subclínica da infecção, contaminando a pastagem e outros animais. Nosso grupo demonstrou que os antígenos secretados por micobactérias (ex. antígeno APA) podem ser excretados também 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 (PTB-Detect), utilizando anticorpos monoclonais (mAb) e policlonais produzidos (patente submetida em 2015). No presente estudo, objetivamos isolar e purificar o antígeno APA a partir do sobrenadante de cultura MAP e fezes de animais com PTB, utilizando ensaios de imunoprecipitação e cromatografia de afinidade. Foram coletadas amostras de fezes em diferentes rebanhos leiteiros com histórico da PTB e obtido o sobrenadante de cultura de *M. avium*. O isolamento do antígeno foi realizado através da imunoprecipitação pelo mAb anti-APA e confirmado por *Western blotting*. No sobrenadante de cultura, a APA foi representada por uma banda de 60 kDa, já na amostra de fezes, foi observada banda dupla de polipeptídeos de 60 e 70 kDa, sugerindo 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. Após o isolamento, o antígeno será utilizado no kit diagnóstico anti-APA PTB-Detect como antígeno-teste para compor a curva de calibração.

Palavras-chave: Paratuberculose, Imunodiagnóstico, Antígeno APA.

Instituição de fomento: CNPq, UENF.