

NOME DO PRIMEIRO AUTOR

THAÍS DE ANDRADE FARIAS



5ª Jornada Científica da Embrapa Gado de Corte
21 a 23 de outubro de 2009
Campo Grande - MS

TÍTULO

PRODUÇÃO DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES PARA AVALIAÇÃO DE RESPOSTA CELULAR CONTRA *Mycobacterium bovis*

AUTORES

FARIAS, T. A. (1)*; ARAÚJO, F. R. (2); RAMOS, C. A. N. (3); SOUZA, I. I. F. (1); RUSSI, L. S. (1); LUIZ, H. L. (4); BACANELLI, G. (4); ROSINHA, G. M. S. (2); SOARES, C. O. (2); ELISEI, C. (1); OSÓRIO, A. L. A. R. (5); JORGE, K. S. G. (5); SANTOS, L. R. (1)

CHAMADA DE RODAPÉ

(1) Bolsista DTI/CNPq na Embrapa Gado de Corte, farias@cnpqc.embrapa.br. (2) Pesquisador na Embrapa Gado de Corte. (3) Doutorando na Universidade Federal Rural de Pernambuco. (4) Mestranda na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. (5) Pesquisador na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

RESUMO

Tuberculose bovina é uma enfermidade infecciosa, causada pela bactéria *Mycobacterium bovis*. Esta enfermidade tem acometido rebanhos de vários países, inclusive do Brasil, causando problemas econômicos e de saúde pública. Animais infectados com *M. bovis*, primariamente, apresentam resposta imune celular e, devido a isso, o teste intradérmico com PPD (*Purified Protein Derivative*) é amplamente utilizado nos programas de controle da doença. Entretanto, a tuberculinização possui algumas desvantagens, como a detecção de reações cruzadas e necessidade de imobilização dos animais em dois momentos distintos. Além disso, bovinos submetidos à intradermorreação tornam-se temporariamente anérgicos, e em casos de reações inconclusivas, não podem ser re-testados por pelo menos 60 dias. Uma forma de minimizar esses problemas é o desenvolvimento de testes de diagnósticos *in vitro*, nos quais a capacidade de antígenos estimularem a liberação de citocinas é mensurada. O objetivo deste trabalho foi produzir as proteínas PE5 e ESAT-6 de *M. bovis* em sistema heterólogo de expressão para posterior avaliação da indução de resposta celular de bovinos. Os genes *pe5* e *esat-6* foram amplificados por PCR (*Polymerase Chain Reaction*), clonados em plasmídeo pGEM-T *Easy* e subclonados em plasmídeo pRSet-C. A expressão dos genes foi verificada por eletroforese em gel de SDS-poliacrilamida, bem como por *Western blot* com anticorpo monoclonal anti-histidina. Foi possível observar proteínas de 15 e 16 kDa, que correspondem, respectivamente, às massas moleculares estimadas das proteínas recombinantes PE5 e ESAT-6 fusionadas a cauda de histidina. No *Western blot*, as proteínas recombinantes foram reconhecidas pelo anticorpo monoclonal. ESAT-6 é um dos antígenos de *M. bovis* mais bem documentados, demonstrando sensibilidade de moderada a alta em diversos testes de diagnóstico e a proteína PE-5 demonstrou anteriormente alta especificidade. Portanto, a utilização destas proteínas, individualmente ou em conjunto, poderá incrementar o diagnóstico da tuberculose bovina em testes de tuberculinização intradérmica e de dosagem de interferon- γ .

PARCERIA/APOIO FINANCEIRO

Embrapa Gado de Corte, UFRPE, UFMS, CNPq e Fundect

*autor correspondente