

### **B3 Análise da marcação do Anticorpo Monoclonal anti-PBP2a com 99mTc para diagnóstico de *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA)**

Janio da Silva Mororó<sup>1</sup>, Natália Plínio de Souza<sup>2</sup>, Marcelo Mamede Lewer<sup>1</sup>, José Procópio Senna<sup>2</sup>, João Alberto Osso Júnior<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Diretoria de Radiofarmácia, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>2</sup> Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Bio-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), RJ, Brasil

<sup>3</sup> Departamento de Anatomia e Imagem, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), MG, Brasil

**Introdução:** *Staphylococcus aureus* é um dos principais microorganismos causadores de infecção em humanos, sendo as formas mais graves da doença bacteremia e endocardite nos indivíduos infectados. Diversas cepas desta bactéria apresentam resistência a vários tipos de antibióticos, dentre eles a metilina e amoxicilina, como no caso da bactéria *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA/SARM). A Proteína ligadora de Penicilina 2a (PBP2a) tem sido identificada como a principal enzima responsável por conferir resistência para a MRSA aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, sendo uma molécula promissora para terapia com anticorpos monoclonais (AcM). Assim como na terapia, o diagnóstico desta doença também não apresenta elevada eficiência, apresentando algumas desvantagens, como longo tempo para os resultados, elevados custos dos exames, a necessidade da obtenção da amostra de um paciente, e a incapacidade de estimar a presença de focos bem como o grau de infecção no paciente. Com isso é importante que sejam desenvolvidos técnicas de diagnóstico para detectar infecções causadas por MRSA.

**Objetivo:** Promover estudos de radioimunomarcagem do AcM anti-PBP2a, desenvolvido em Bio-Manguinhos/FioCruz, utilizando o elemento radioativo Tecnécio-99-mestável (99mTc), para realizar diagnóstico *in situ* da bactéria MRSA.

**Metodologia:** O AcM anti-PBP2a foi inicialmente reduzido com o agente redutor 2-mercaptoetanol (2-ME) para gerar grupos sulfidrilas (-SH), local onde se ligam os átomos de 99mTc. Logo após, foram utilizados dois diferentes métodos de radiomarcagem, variando as concentrações dos reagentes, tempo de reação e a atividade radioativa do 99mTc com o objetivo de produzir maior quantidade de AcM marcado com 99mTc (AcM-99mTc). Em seguida foram realizados ensaios de avaliação funcional para analisar a integridade e imunorreatividade do AcM após a radioimunomarcagem, utilizando os métodos de eletroforese em gel SDS-PAGE não redutor;

*immunoblotting*; ELISA; ensaio de neutralização *in vitro* e análise do tempo de meia-vida plasmática.

**Resultados:** A quantidade média de grupos sulfidrilas produzidos por AcM foi de 5 e o Método 2 de marcação apresentou bons rendimentos de marcação, sendo o maior rendimento de 73,5% de AcM-99mTc, que se manteve com boa estabilidade após 2 horas. O Método 2 de marcação utilizou um kit comercial, o kit do MDP, e o maior rendimento de marcação obtido foi com 15 minutos de reação. Nos Ensaio de Avaliação Funcional verificou-se que o AcM manteve a integridade e imunorreatividade à enzima PBP2a após os processos de redução e radiomarcção.

**Conclusão:** Neste trabalho foi obtido um radioimunoanticorpo que apresentou bom rendimento de marcação e que manteve suas propriedades e atividade funcional após a marcação, na qual o método mais eficiente demonstrou ser prático e simples por utilizar um kit de marcação pronto (kit do MDP), obtendo bons resultados com apenas 15 minutos de reação. Os resultados obtidos nos permitirão realizar ensaios em modelo animal para avaliar a capacidade do anticorpo radiomarcado de reconhecer focos infecciosos *in situ*.

**Palavras-Chave:** MRSA, Anticorpo Monoclonal, Diagnóstico, Radiomarcção