

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE VIRUCIDA DE UM PEPTÍDEO ANTIMICROBIANO (P34) PRODUZIDO POR UMA LINHAGEM DE *Bacillus sp* SOBRE O VÍRUS DA ARTERITE EQUINA

SCOPEL, Débora¹; CASTRO, Clarissa Caetano¹; SILVA, Fábio da Silva e¹; MEDEIROS, Daiana Maciel¹; MOTTA, Amanda de Souza da¹; HÜBNER, Sílvia de Oliveira¹

¹ Centro de Pesquisa em Virologia e Imunologia Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas – UFPel – CP 354 – 96010-900 – Pelotas – RS – Brasil.
scopeldebora@yahoo.com

1. Introdução

A produção de componentes antimicrobianos parece ser um fenômeno para a maioria das bactérias. Um arsenal admirável de sistemas de defesa microbianos é produzido, incluindo os antibióticos de amplo espectro (MOTTA et al. 2004). Em contraste com a enorme quantidade de medicamentos antibacterianos e antifúngicos, encontram-se disponíveis apenas alguns poucos medicamentos antivirais efetivos (MEDEIROS et al. 2010).

Os compostos que inibem ou causam a morte viral são também tóxicos às células hospedeiras, em diferentes intensidades (KLEYMANN, 2003). Neste contexto, a pesquisa, purificação e caracterização química, biológica e estrutural de novas substâncias antimicrobianas provenientes da fauna e flora brasileiras são valiosas, uma vez que a própria evolução tratou de selecionar um vastíssimo espectro de substâncias eficientes que atuem contra infecções. Algumas substâncias antimicrobianas são peptídeos que têm sido isolados a partir de diversas espécies vivas, incluindo bactérias, fungos, insetos, moluscos, crustáceos, aracnídeos, plantas, pássaros, anfíbios, peixes e mamíferos (MOTTA et al. 2007). Essas proteínas são chamadas de peptídeos antimicrobianos devido ao seu amplo espectro de atividade, as quais podem incluir a capacidade de destruir ou neutralizar bactérias, fungos, parasitas e vírus (JENSSEN et al. 2006). A arterite viral equina (EAV) é uma doença infectocontagiosa causada por um membro da família *Arteriviridae*, que provoca lesões inflamatórias no endotélio dos vasos sanguíneos, especialmente nas arteríolas (LIMA & OSÓRIO, 2007). O presente trabalho tem o objetivo de relatar os dados preliminares da avaliação da atividade antiviral do peptídeo antimicrobiano P34 frente ao vírus da arterite equina.

2. Material e métodos

Para avaliar a atividade antiviral do peptídeo P34 foram realizados testes em cultivo celular, em microplacas de 96 cavidades. Inicialmente foi avaliada a possibilidade de efeito virucida do peptídeo P34 sobre o EAV. A linhagem celular RK 13 (*Rabbit Kidney*) foi utilizada para a determinação da dose infectante em 50% de tecido celular (TCID⁵⁰) do EAV. O EAV foi incubado, na presença e ausência do peptídeo P34, a 37°C por 6h, 12h e 24h. Após esses períodos, foi realizada a titulação conforme *Behrends and Kärber* em monocamada de RK13

confluente. A leitura foi realizada 24 e 48 horas após a infecção das células com as respectivas diluições virais, com e sem P34, em microscópio invertido. Todos os testes foram realizados em triplicata.

3. Resultados e Discussão

A incubação do vírus a 37°C por 24h resultou em total inativação viral, mesmo na ausência do peptídeo, provavelmente devido à ação da alta temperatura. A leitura das placas em que foram realizadas titulações do vírus incubado por 6h com o P34 revelou redução do título viral. Na leitura em 24h, o título do EAV caiu em média de $10^{3,0}$ TCID₅₀/100 µl sem P34 para um título de $10^{1,5}$ TCID₅₀/100 µl, com P34. Em 48h foi revelado um título de $10^{3,5}$ TCID₅₀/100 µl na presença de P34 e $10^{5,0}$ TCID₅₀/100 µl na ausência de P34.

O título do EAV incubado por 12h a 37 °C, com e sem o P34, foi avaliado também em 24 e 48h. Na leitura em 24h não foi detectada presença de efeito citopático nas amostras com ou sem o P34. No entanto, em 48h o título viral foi de $10^{0,25}$ TCID₅₀/100 µl nas amostras incubadas com P34 e $10^{4,25}$ TCID₅₀/100 µl nas amostras que não continham o P34.

Os resultados obtidos sugerem que o peptídeo antimicrobiano P34 possui ação virucida sobre o EAV, pois foi capaz de diminuir significativamente o título viral. Agentes virucidas geralmente inativam os vírus devido as suas características físicas ou químicas. Mais estudos serão realizados posteriormente para determinar o mecanismo de ação do peptídeo antimicrobiano P34 sobre o EAV.

4. Conclusão

Neste estudo, o peptídeo antimicrobiano P34 demonstra sua atividade virucida sobre o vírus da arterite equina quando inoculado em células RK13. O efeito virucida é dependente do tempo de incubação do vírus com o P34, havendo uma completa inibição viral após sua incubação a 37°C durante 12 horas.

5. Referências Bibliográficas:

JENSSEN, H., HAMILL, P., HANCOCK, R.E.W. Peptide antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 19, n.3, p.491-511, 2006.

KLEYMANN, G. New antiviral drugs that target herpesvirus helicase Primase enzymes. *Herpes*, v. 10, p. 46–52, 2003.

LIMA, M.; OSORIO, F. A. **Arteriviridae**. In: FLORES, E. F. *Virologia Veterinária*. Editora UFSM, Santa Maria/RS, p. 646-649, 2007

MEDEIROS, D.M.; SANT'ANNA, V.; BRANDELLI, A.; MOTTA, A. S.; FINGER, O. F.; FISCHER, G.; VARGAS, G. D.; HÜBNER, S. O. Determination of suppressive activity of the antimicrobial peptide P34 isolated from a Bacillus strain of the aquatic Amazon region on Herpesvirus. XXI Encontro Nacional de Virologia, 2010

MOTTA, A.S.; CLADERA-OLIVERA, F.; BRANDELLI, A. Screening for antimicrobial activity among bacteria isolated from the Amazon basin. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 35, n. 4, p. 307-310, 2004.

MOTTA, A.S.; LORENZINI, D.; BRANDELLI, A. Purification and partial characterization of an antibacterial peptide produced by a novel *Bacillus* sp. strain isolated from Amazon basin. *Current Microbiology*, v. 54, p. 282-286, 2007.