

## **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIVIRAL DE UM PEPTÍDEO ANTIMICROBIANO (P34) FRENTE A VÍRUS PATOGÊNICOS AOS ANIMAIS DOMÉSTICOS**

**SILVA, Débora Scopel e<sup>1</sup>; CASTRO, Clarissa Caetano de<sup>2</sup>; FERNANDES,  
Maureen Hoch Vieira<sup>3</sup>; CORRÊA, Rayra Almeida<sup>3</sup>; MOTTA, Amanda de Souza  
da<sup>4</sup>; HÜBNER, Sílvia de Oliveira<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Veterinária – Laboratório de Virologia e Imunologia Animal/ LabVir- [scopeldebora@yahoo.com.br](mailto:scopeldebora@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Veterinária – Laboratório de Virologia e Imunologia Animal/ LabVir

<sup>3</sup> Bolsistas de Iniciação Científica do Laboratório de Virologia e Imunologia Animal/ LabVir

<sup>4</sup> Instituto de Ciências Básicas da Saúde - Departamento de Microbiologia - UFGRS

<sup>5</sup> Professora Adjunta da Disciplina de Imunologia/ Faculdade de Veterinária – [sohubner@yahoo.com.br](mailto:sohubner@yahoo.com.br)

### **1. INTRODUÇÃO**

A maioria dos seres vivos está constantemente exposta a microrganismos potencialmente danosos através do contato, ingestão e inalação (HULTMARK, 2003). O impacto da crescente resistência desses microrganismos a medicamentos e substâncias específicas tem movimentado vários grupos de pesquisa (MOTTA, 2006). Um número considerável de peptídeos, induzidos ou constitutivos, com atividade contra diferentes tipos de microrganismos foi encontrado em quase todos os grupos de animais e mostraram potencial de uso como antiviral (ANDREU & RIVAS, 1998).

Recentemente, na região da Bacia Amazônica, foi isolada do conteúdo intestinal do peixe Piau-com-pinta (*Leporinus sp*) uma nova espécie de *Bacillus* que produz um peptídeo com atividade antimicrobiana (MOTTA et al, 2004). O peptídeo foi purificado, caracterizado e identificado como P34 (MOTTA et al, 2007). Sua atividade inibitória foi detectada contra diversas bactérias gram-positivas como *Listeria monocytogenes* e *Bacillus cereus* (MOTTA et al, 2004) além de atividade contra o herpesvírus bovino tipo-1 (MEDEIROS et al, 2010).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antiviral do peptídeo P34 frente ao vírus da cinomose canina (CDV), vírus da parvovirose canina tipo 2 (CPV-2), calicivírus felino (FCV), herpesvírus felino tipo 1 (FHV-1), adenovírus canino tipo 2 (CAV-2), vírus da influenza equina (EIV) e coronavírus canino (CCoV).

### **2. MATERIAL E MÉTODOS**

A atividade antiviral do P34 foi avaliada por meio de crescimento e titulação viral na presença e na ausência do peptídeo. As titulações foram realizadas conforme descrito por Behrens e Kärber (1935) em microplacas de 96 cavidades, utilizando células das linhagens MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney*) e CRFK (*Crandell Rees Feline Kidney*). Os testes foram realizados em triplicata e as leituras foram feitas em 48 ou 72h. Anteriormente à pesquisa de atividade antiviral, ensaios de citotoxicidade foram realizados em células MDCK e CRFK para a determinação das concentrações não citotóxicas do P34.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade antiviral do peptídeo antimicrobiano P34 foi pesquisada contra vírus com características genóticas e fenotípicas diferentes. Foram expostos ao P34 o CPV, CAV-2 e FHV-1, todos possuindo genoma DNA, tendo envelope somente o FHV-1. Os vírus de material genético RNA analisados foram o FCV, EIV, CDV e CCoV, sendo todos envelopados, com exceção do FCV.

Os resultados das titulações demonstraram que a presença do peptídeo P34 não teve efeito significativo sobre a produção de partículas virais do FCV, CPV-2, CAV-2, CDV e EIV. Contudo, ocorreu uma redução significativa do título viral quando incubado juntamente com o herpesvírus felino-1. O título do FHV-1 foi de  $10^{4,5}$  TCID<sub>50</sub>/100 $\mu$ L na presença do P34 e  $10^{5,75}$  TCID<sub>50</sub>/100  $\mu$ L na ausência do P34, o que indica que o P34 teve ação sobre o FHV-1. Semelhante ação foi descrita por MEDEIROS et al (2010) sobre o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1).

Com base nos resultados obtidos fica evidenciado que o peptídeo P34 não possui atividade antiviral abrangente. Embora seja possível ação antiviral contra outras famílias de vírus não utilizadas no presente trabalho, a ação contra o FHV-1 e BoHV-1 indica atividade direcionada à Família *Herpesviridae*. É possível que o peptídeo P34 interfira nos processos de adsorção, penetração ou replicação viral, ou ainda, exerça competição com as partículas virais pelos receptores celulares utilizados para infecção. Outros estudos deverão ser realizados para esclarecer o mecanismo da ação antiviral.

### 4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que o peptídeo P34 possui atividade antiviral contra o herpesvírus felino tipo 1. Não foram detectadas atividades contra o vírus da cinomose canina, vírus da parvovirose canina, calicivírus felino, herpesvírus felino, adenovírus canino, vírus da influenza equina e coronavírus canino. Porém, mais estudos serão realizados na pesquisa de efeito virucida do P34 contra os vírus avaliados neste trabalho.

### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREU, D.; RIVAS, L. Animal antimicrobial peptides: an overview. **Biopolymers (Peptide Science)**, Michigan, v.47, n.6, p.415-433, 1998.

BEHRENS, B.; KÄRBER, C. Wie sind reihenversuche fur biologische auswertungen am zweckmassigsten anzwordnen? **Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, Ingelheim, v.177, n.2-4, p.379-388, 1935.

HULTMARK, D. Drosophila immunity: paths and patterns. **Current Opinion in Immunology**, Denver, v.15, n.1, p.12-19, 2003.

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. In: **XXI ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA**, Gramado, 2010, **Anais do XXI Encontro Nacional de Virologia**, 2010, v.1, p.254.

MOTTA, A. S. **Produção, purificação e caracterização de um peptídeo antimicrobiano produzido por uma linhagem de *Bacillus* sp. P34.** 2006. 153f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

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

MOTTA, A. S.; LORENZINI, D. M.; BRANDELLI, A. Purification and partial characterization of an antimicrobial peptide produced by a novel *Bacillus* sp. Isolated from the Amazon Basin. **Current Microbiology**, Nova Iorque, v.54, n. 4, p.282-286, 2007