

ANÁLISE DA ATIVIDADE VIRUCIDA DO PEPTÍDEO ANTIMICROBIANO P34 SOBRE OS VÍRUS DA ARTERITE EQUINA(EAV) E HERPESVÍRUS BOVINO TIPO1 (BoHV-1)

CORRÊA, Rayra Almeida¹; SILVA, Débora Scopel e¹; CASTRO, Clarissa Caetano de¹; FERNANDES, Maureen Hoch Vieira¹; LOBO, Raulene Rodrigues¹; MOTTA, Amanda de Souza da²; HÜBNER, Silvia de Oliveira¹

¹Centro de Pesquisa em Imunologia e Virologia Animal, Faculdade de Veterinária, UFPel, Pelotas/RS, Brasil – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900; ² Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, UFPel, Pelotas/RS, Brasil.

²Instituto de Ciências Básicas da Saúde-ICBS/Departamento de Microbiologia UFRGS
rayraalmeidac@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

Muitos organismos empregam substâncias químicas ativas para se defender de predadores e microorganismos patogênicos. Dentre essas substâncias destacam-se os peptídeos que podem ser encontrados em bactérias, fungos, plantas, insetos, peixes, anfíbios, aracnídeos e mamíferos (Verly, 2010).

O peptídeo antimicrobiano P34 é produzido por uma nova espécie de *Bacillus*, isolada do conteúdo intestinal de um peixe da região Amazônica, denominado Piau-com-pinta (*Leporinus* sp.). Esse peptídeo é capaz de produzir atividade inibitória contra diversos agentes patogênicos, inclusive *Listeria monocytogenes*. A produção de componentes antimicrobianos é comum para a maioria das bactérias. Uma quantidade admirável de sistemas de defesa microbiana é produzida, incluindo os antibióticos de amplo espectro (MOTTA et al. 2004). Entretanto, encontram-se poucos medicamentos antivirais efetivos disponíveis (MEDEIROS et al. 2010). O estudo realizado teve como objetivo avaliar a capacidade do peptídeo P34 de destruir as partículas do vírus da arterite equina (EAV) e herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1).

A arterite viral equina 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). Esse vírus é associado a diversas manifestações clínicas em equinos, incluindo doença respiratória, morte súbita em potros, abortos e infecções brandas ou subclínicas em animais adultos (TYMONEY, 2003). Garanhões infectados tornam-se fonte infectante e podem eliminar o vírus no sêmen por longos períodos (DEL PIERO, 2000).

O BoHV-1 é membro da família *Herpesviridae*, subfamília *Alphaherpesvirinae* (PORTERFIELD, 1989). O BoHV-1 tem sido associado a várias síndromes, tais como rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), vulvovaginite infecciosa (IPV), balanopostite, conjuntivite e abortos, tipicamente com alta morbidade e baixa mortalidade (GIBBS & RWEYEMAMU 1977; KAHRS, 1977). Uma vez tendo sofrido infecção primária, o animal será portador do BoHV-1 por toda a sua vida, atuando como fonte de infecção para indivíduos suscetíveis, assegurando a permanência do vírus no rebanho (LEMAIRE et al., 1994).

2 METODOLOGIA

O EAV foi incubado a 37°C, 20°C e 4°C por 6h, 12h ou 24h na ausência ou presença do peptídeo P34. O BoHV-1 foi incubado a 4°C e 20°C por 6h e a 37°C por 6h, 12h e 24h, com e sem o P34. Após a incubação foi realizada titulação conforme descrito por Behrens and Kärber (MAYR et al., 1982) em monocamadas confluentes de células RK13 (*Rabbit Kidney*) para EAV ou MDBK (*Madin-Darby Bovine Kidney*) para BoHV-1. Foi feita a leitura da titulação após 48 horas, em microscópio invertido. Todos os testes foram realizados em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando EAV foi exposto a 37 °C por 24h foi observado total inativação viral, mesmo na ausência do peptídeo, o que reflete a susceptibilidade do vírus a alta temperatura por um longo período de tempo. Quando o EAV foi incubado por 6h a essa mesma temperatura, na presença do peptídeo P34 ocorreu redução do título viral de 10^5 TCID₅₀/100µl para $10^{3,50}$ TCID₅₀/100µl com o P34. Na incubação por 12h foi observada a diferença de $10^{4,25}$ TCID₅₀/100µl sem o P34 e $10^{0,25}$ TCID₅₀/100µl com o P34. Quando o EAV foi incubado na temperatura de 20 °C por um período de 24h houve diferença na titulação, sendo que com o P34 o título foi de $10^{5,75}$ TCID₅₀/100µl e sem o P34 foi 10^5 TCID₅₀/100µl. No período de 12h e 6 h de incubação não houve diferença significativa entre os títulos virais, na presença ou ausência do peptídeo. Da mesma forma, na incubação a 4°C não houve diferença significativa entre os títulos em todos os períodos de incubação (6,12 e 24h).

Com relação ao BoHV-1 a leitura das placas em que foram realizadas as titulações mostrou que não houve diferença significativa entre a presença e a ausência do P34, podendo-se dizer que não houve efeito virucida contra o BoHV-1, em nenhuma das temperaturas avaliadas.

4 CONCLUSÃO

Nesse estudo foi observado que o peptídeo P34 não apresenta atividade virucida sobre o BoHV-1. Entretanto o peptídeo demonstra atividade virucida sobre o EAV sendo a inibição viral dependente da temperatura e do tempo de exposição.

5 REFERÊNCIAS

DEL PIERO, F. Equine viral arteritis. **Vet Pathol**, v.37, p.287-296, 2000.

GIBBS, E.P.J. & RWEYEMAMU, M.M. Bovine herpesvirus. Part. I. Bovine herpesvirus 1. **Vet. Bulletin** 47:(5)317-343. 1977.

KAHRS R.F. Infectious bovine rinotracheitis: a review and update. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 171:1055-1064. 1977.

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. In: **XXI ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA**, Gramado, 2010. Resumos, Rio de Janeiro: Fiocruz, out. 2010. p. 254.

MAYR, A.; BACHMANN, P. A.; BIBRACK, B. M.; WITHMANN, G. **Virologische Arbeitsmethoden** - Band IV - Sicherheit bei virologischen arbeiten: Biometrische Methoden. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1982.

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.

PORTERFIELD J.S. **Andrewes's Viruses of Vertebrates**. 5 ed. Baillière. 1989.

TIMONEY, P.J. Equine viral arteritis. **International Veterinary Information Service**, 2003.

VERLY, R.M. **Peptídeos Antimicrobianos: Síntese, Ensaios Biológicos, Estudos Termodinâmicos e Análise Estrutural por RMN em Meios Biomiméticos**. 2010. Tese (Doutorado). Departamento Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais.