

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE REMOÇÃO DO SARS-COV-2 PELA ALGA DA ANTÁRTICA, *Gigartina Skottsbergii*.

PATRÍCIA DAIANE ZANK¹ ; ANDRESSA DE OLIVEIRA BLANKE HELLWIG²;
VICTOR DOS SANTOS BARBOZA²; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PE-
REIRA²; JANICE LUEHRING GIONGO² ; RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER³.

¹Universidade Federal de Pelotas – patricia-zank@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – andressa-blank@hotmail.com; victorbarboza10@gmail.com;
claudiochemistry@gmail.com

²Faculdade Anhanguera de Pelotas – janicegiongo@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – rdvaucher@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 ou SARS-CoV-2 que causa a doença coronavírus 2019 ou COVID-19, se espalhou pelo mundo, causando uma pandemia. Diante desta situação, ocorre uma grande pressão no sistema de saúde para o desenvolvimento de terapias preventivas e curativas (ATZRODT et al., 2020).

As plantas aquáticas fornecem à indústria farmacêutica diversos compostos com atividade biológica medicinal como opção para combater e tratar diversas doenças. Esse fato torna as algas uma alternativa para remoção de vírus. (ASIF et al., 2020; KOWALCZYK et al., 2020). Diante disso, diversas literaturas relatam a atividade antiviral dos polissacarídeos sulfatados obtidos das algas marinhas contra vírus envelopados, cuja ação está associada à interferência nas etapas iniciais do processo de infecção viral, incluindo a entrada do vírus, mascarando a carga positiva dos receptores de superfície do vírus (VASCONCELOS 2015).

Apesar desse cenário, atualmente, ainda não se dispõe de um antiviral contra COVID-19. Entretanto, a obtenção de polissacarídeos sulfatados provenientes de algas pode ser uma alternativa promissora, em razão dos baixos custos de produção, do fato de serem biodegradáveis e biocompatíveis, além de, na sua grande maioria, serem seguros e não tóxicos (ÁLVAREZ-VIÑAS 2021).

Este estudo foi utilizada a macroalga *Gigartina skottsbergii* extraída da antártica, rica em carragenina do grupo de polissacarídeos sulfatados, e tem como objetivo avaliar a atividade antiviral do uso da planta aquática, como pioneiro para remoção do vírus SARS-CoV-2.

2. METODOLOGIA

Para o experimento de remoção do vírus, adicionamos 10 mg de *Gigartina skottsbergii* em um microtubo contendo 1,5 mL de água ultrapura estéril livre de RNase e 150 µL da suspensão viral SARS-CoV-2 inativada ($2,5 \times 10^6$ cópias/mL), seguido de incubação a 28°C com agitação a 200 rpm por 24h, pH 7,0. Para o controle positivo, adicionamos 750uL de água DEPC e 750uL da solução de SARS-CoV-2.

Após a incubação, o sobrenadante de *Gigartina skottsbergii* foi transferido para um novo microtubo e o RNA viral foi extraído. A extração do RNA foi realizada utilizando o kit QuickExtract RNA Extraction (Lucigen, Hoddesdon, Ucrânia). Após a extração, os RNAs foram quantificados em NanoDrop™ (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA). Uma concentração de aproximadamente 10 ng de RNA foi usada para realizar RT-qPCR.

O primer e a sonda usados nas reações de PCR foram projetados de acordo com as sequências publicadas pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, 2020). Resumidamente, uma reação de 25 µL do volume final foi usada, com os seguintes volumes adicionados 1x do master mix concentrado: 5 µL de RNA de amostra, 12,5 µL de 2x tampão de reação, 1 µL de Superscript™ III One-Step com Platinum™ Taq DNA Polimerase (Invitrogen, Darmstadt, Alemanha), 0,4 mM de cada dNTP, 0,4 µL de uma solução 50 mM de MgSO₄ (Invitrogen), 1 µg de albumina bovina não acetilada (Roche), 10 µM de cada primer 2019-nCoV N1 (5'-GACCCCAAATCAGCGAAAT3'), 2019-nCoV N1 (5'-TCTGGTTACTGCCAGTTGAACTTG3') e sonda 2019-nCoV N1 (5'-FAM – ACCCCGCATTACGTTTGGTGGACC – BBQ 3') e água DEPC. A reação ocorreu no StepOne™ Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) na seguinte ciclagem: 55°C por 10 min para transcrição reversa, seguido de 95°C por 3 min e 40 ciclos de 95 °C por 15s, 58 °C por 30s.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1. Limiar do ciclo (C_T), carga viral (cópias mL⁻¹) e remoção obtida após 24 h de incubação.

	<i>Gigartina skottsbergii</i>	Controle negativo	Controle positivo
Controle CT	-	UND	19.44
Carga viral no controle (cópias mL ⁻¹)	-	UND	7,11 x 10 ⁻⁵
Sobrenadante CT	27.44	UND	-
Carga viral no sobrenadante (cópias mL ⁻¹)	1.82 x10 ⁻⁸	UND	-
Material CT (copia mL ⁻¹)	24.41	UND	-
Carga viral no material (cópias mL ⁻¹)	2,23 x 10 ⁻⁷	UND	-
Remoção (%)	99,6%	UND	

Os valores são média $\pm$ desvio padrão. As médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes ao nível de confiança de 95% (teste de Tukey). A sigla UND indica que não houve fluorescência

O valor limite do ciclo (C_T) na análise RT-qPCR é referido como o número de ciclos de amplificação que são necessários para que o gene exceda o nível limite. Os valores detectados para C_T são inversos ao conteúdo de carga viral, e representa um método indireto de detecção do número de cópias do RNA viral (RAO et al., 2020).

Em média, títulos de RNA SARS-CoV-2 de $5,1 \pm 0,3$, $5,5 \pm 0,2$ e $5,5 \pm 0,3$ log¹⁰ gc/L foram quantificados em águas residuais usando misturas de primer/sonda N1, N2 e N3, respectivamente. Títulos de 4 e 5 a mais de 6 log¹⁰ gc/L foram relatados em Massachusetts e França, respectivamente (WU et al., 2020; WURTZEL et al., 2020)

Em termos de porcentagem de remoção, pode-se destacar os excelentes resultados do potencial de remoção do SARS-CoV-2 pelo material estudado. O potencial de remoção encontrado foi de 99,6% para *Gigartina skottsbergii*.

4. CONCLUSÕES

Concluimos que este estudo destaca a possibilidade de utilização *Gigartina skottsbergii* para remoção de SARS-CoV-2, como uma excelente alternativa para tratamento antiviral.

Portanto a incorporação da *Gigartina skottsbergii* ao desenvolvimento de um antiviral de baixo custo, atenderia diversos países e consequentemente reduziria a propagação viral da COVID-19, assim interferindo nas situações atuais e futuras de pandemia.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁLVAREZ-VIÑAS, Milena; SOUTO Sandra; FERNÁNDEZ, Noeli Flórez; TORRES, Maria Dolores; BANDÍN, Isabel; DOMÍNGUEZ, hermínia. Antiviral Activity of Carageenans and Processing Implications. **Marine Drugs**, Espanha, v.19, n.8, p 437,2021

ATZRODT, Cassandra L.; MAKNOJIA Insha; MCCARTHY Robert D. P. ; OLDFIELD Tiara M. ; PO Jonathan; TA Kenny T. L. ; STEPP ; CLEMENTS Thomas P. A Guide to COVID-19: a global pandemic caused by the novel coronavirus SARS-CoV-2. **FEBS Press Journal**, USA, v.287,n.17, p. 3633-3650,2020.

ASIF, Muhammad; SALEEM,Mohammad; SAADULLAH,Malik; YASEEN, Hafiza Sidra; Zarzour, Raghdah Al. COVID-19 and therapy with essential oils having antiviral, anti-inflammatory, and immunomodulatory properties. **Inflammopharmacology**, Pakistan, v. 28, p.1153–1161, 2020.

KARBOWNIK, Michal Seweryn; DOBIELSKA, Maria; PAUL,Ewelina; KOWALCZYK,Radoslaw Przemyalaw; KOWALCZYK Edward. Health-, medication- and dietary supplement-related behaviors and beliefs relatively unchanged during the COVID-19 pandemic lockdown. **Research in Social and Administrative Pharmacy**, Poland, v.17, n.8, p. 1501-1506, 2021.

RAO, S.N., Manissero, D., STEELE, V.R., PAREJA, J. A narrative systematic review of the clinical utility of cycle threshold values in the context of COVID-19.**Infect. Dis. Ther**, p. 1-14, 2020.

WURTZER, S.S., MARECHAL, V., MOUCHEL, J.M., MOULIN, L.Time course quantitative detection of SARS-CoV-2 in Parisian wastewaters correlates with COVID-19 confirmed cases , **medRxiv** (2020).

VASCONCELOS, Andreanne Gomes; ARAÚJO Karla Vasconcelos de; SANTANA, Lucas de Araújo Bastos. Polissacarídeos extraídos de algas marinhas e suas aplicações biotecnológicas: uma revisão. **Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde**, Brasil, 2015.