

## **ESTUDO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DOS PRODUTOS DE EXCREÇÃO/SECREÇÃO DE LARVAS DE *Cochliomyia hominivorax***

Giglioti, R.<sup>1</sup>.; Néo, T.A.<sup>2</sup>.; Oliveira-Sequeira, T.C.G.O<sup>3</sup>.; Guimarães, S.<sup>3</sup>.; David, E.B.<sup>4</sup>.; Oliveira, M.C.S.<sup>5</sup>

1-Aluno UNICEP-Bolsista Embrapa; 2- Aluna Uniara-Bolsista PIBIC/CNPq; 3- Departamento de Parasitologia, UNESP-Botucatu; 4- Embrapa Pecuária Sudeste

As miíases provocadas pelas larvas da mosca *Cochliomyia hominivorax* geram graves prejuízos a pecuária nas Américas. Os prejuízos econômicos são decorrentes de gastos com medicamentos, da redução da produção de carne e leite, mutilações, morte e por constituir um fator pré-disponente a outras enfermidades. Em estudos com outros dípteros, cujas larvas produzem miíases, verificou-se que o estabelecimento das larvas é facilitado pela produção de quantidades consideráveis de enzimas digestivas que são secretadas e/ou excretadas para digerirem proteínas integrais dos tecidos. Atualmente existe um grande interesse na investigação de enzimas proteolíticas em diferentes sistemas biológicos, pois verificou-se que podem constituir um alvo potencial para produção de drogas e de imunógenos. Entretanto, estes estudos são ainda incipientes para grande parte dos dípteros causadores de miíases, de maneira especial para as miíases causadas pelas larvas de *C. hominivorax*. Diante destes aspectos, o presente trabalho tem por objetivo caracterizar a atividade proteolítica dos Produtos de Excreção/Secreção (PE/S) dessas larvas. As larvas de terceiro estágio foram colhidas em bovinos naturalmente infestados, criados na fazenda experimental da Embrapa Pecuária Sudeste, localizada em São Carlos, SP. As larvas foram lavadas sucessivamente em solução salina (uma vez), solução salina (uma vez), com solução de Vancomicina (3 vezes) e água destilada estéril (uma vez). Grupos de 30 larvas foram colocadas em placas de Petri contendo 5 ml de meio RPMI adicionado de Vancomicina. Após incubação por 24 horas a 37°C, as larvas foram descartadas e o meio centrifugado. O sobrenadante obtido, foi dividido em alíquotas e mantido em freezer a -80°C, até o momento das análises. A atividade proteolítica foi investigada aplicando-se amostras nativas em gel de poliácridamida (gradiente 5-12,5%) copolimerizado com gelatina a 0,2%. A natureza da proteólise dos PE/S foi avaliada incubando-se as amostras nativas com os seguintes inibidores de proteases: PMSF, TLCK, TPCK, E-64, Elastatinal e EDTA. O perfil de proteólise revelou a presença de hidrólise difusa na faixa que se estende desde a região de massa molecular aparente de > 170 kDa até 29 kDa, destacando-se uma zona de hidrólise mais intensa na região de 170 a 102 kDa e uma banda de 49 kDa. Nos ensaios com inibidores de proteólise específicos, a maior intensidade de inibição foi obtida pelo tratamento das amostras com PMSF, indicando a presença predominante de enzimas do grupo das serina-proteases. Posteriormente serão analisados a atividade proteolítica dos PE/S de larvas de primeiro e segundo estágios, produzidas "in vitro".

Projeto financiado pela Embrapa.