



Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Instituto de Microbiologia Paulo de Góes  
Concurso Público para provimento efetivo de vagas no cargo de  
Professor da Carreira de Magistério Superior

Edital UFRJ nº 54, de 30 de janeiro de 2024 (Consolidado com  
seus editais de retificação) Versão inicial publicada no DOU em:  
02/02/2024 | Edição: 24 | Seção: 3 | Página: 71 a 80, código  
CR-001 – Setor: Vigilância e patogênese de víruses no contexto  
de saúde única – Departamento de Virologia Instituto de  
Microbiologia Paulo de Góes – CCS – UFRJ.

## PROVA ESCRITA

CANDIDATO: 420610

### Ponto 4: Replicação de vírus com genoma DNA

Os vírus com genoma de DNA são classificados nas classes I (Vírus DNA fita dupla), II (Vírus DNA fita simples) e VII (Vírus DNA com transcrição reversa), de acordo com a classificação de Baltimore. Suas estruturas e peculiaridades genômicas, bem como seus tamanhos e capacidades codificantes irão determinar suas estratégias de replicação e expressão de proteínas / regulação gênica.

De um modo geral, as etapas de biosíntese dos vírus de DNA, bem como os mecanismos por eles utilizados para a síntese de novos genomas e novas partículas vem sendo bem documentados nos últimos anos. Em parte, isso se deve ao fato de os vírus de DNA, em sua maioria, utilizarem o aparato enzimático já existente no hospedeiro (entretanto, existem vírus de DNA que codificam replicases com características específicas, como o vírus da hepatite B - HBV), e em parte, o aumento de informações se deve ao surgimento de novas tecnologias que permitem uma melhor compreensão



não da história natural de um vírus, como o sequenciamento de alto rendimento, aprimoramentos de linhagens celulares e produtos relacionados à cultura celular, ensaios fenotípicos, novas estratégias de engenharia genética, entre outros.

Os vírus de DNA, para a sua biointeracção, seguem as etapas fundamentais para a infecção viral de um modo geral. São elas: Adesão, com ligação ao seu receptor ou receptores específicos; internalização da partícula ou de seu material genético através de mecanismos diversos como fusão do envelope, fusão mediada por receptores, ~~fagocitose~~ endocitose, translocação ~~por transporte transmembranar~~, ~~ou por~~ ~~meios~~ ~~de~~ ~~transporte~~ ~~de~~ ~~material~~ ~~genético~~ ~~no~~ ~~sítio~~ ~~onde~~ ~~irá~~ ~~ocorrer~~ ~~a~~ ~~re-~~ ~~plificação~~; transcrição do DNA nos RNAs mensageiros responsáveis pela síntese das proteínas iniciais; replicação do material genético; síntese das proteínas intermediárias/tardias; montagem, maturação (a depender do vírus) e liberação da progênie viral.

Apesar de suas etapas serem comuns à maioria dos vírus, existem particularidades nas estratégias replicativas dos vírus de DNA que serão abordadas com maior profundidade.

É importante mencionar que a maior parte dos vírus de DNA possuem replicação nuclear, ~~que~~ o que pode demonstrar uma seleção evolutiva pelo compartimento celular onde estão disponíveis fatores fundamentais para a replicação da maioria dos vírus, como as polimerases celulares e ácidos nucleicos. Algumas das exceções são as famílias Poxviridae e Herpesviridae, cuja replicação ocorre no citoplasma



celular. O tamanho genômico e sua capacidade codificante não são outros fatores relevantes no processo replicativo.

Os poxvírus, por exemplo, que realizam sua replicação no citoplasma, empacotam proteínas importantes e possuem um genoma robusto que garante relativa independência da maquinaria celular em comparação com outros vírus, como os papilomavírus, por exemplo.

Replicação das famílias Parvoviridae, Papillomaviridae e Polyomaviridae:

Apesar de consistirem em famílias virais distintas e possuírem peculiaridades em suas estratégias replicativas, essas famílias apresentam pontos em comum que permitem resumir suas estratégias replicativas em duas fases principais: fase pré-replicativa, onde são sintetizados fatores de transcrição, moduladores celulares e outras proteínas fundamentais para a replicação bem-sucedida do seu genoma, e fase replicativa, onde ocorre a replicação do DNA propriamente dita, com a montagem de novas partículas em seus estágios finais.

No caso da família Parvoviridae, por ser composta por vírus que possuem genoma DNA de fita simples, o início do ciclo depende da entrada espontânea da célula em divisão celular. Durante a mitose, o genoma do parvovírus ~~adquire uma dupla fita~~ é convertido em DNA de fita dupla, que assume a conformação de gram po (hairpin). Esse genoma é, então, transcrito por RNA mensageiros que darão origem às proteínas iniciais NS1 e NS2. A proteína NS1 terá um papel fundamental na replicação genômica que ocorrerá pelo mecanismo de "rolling hairpin", onde são geradas concatâ-



unidade de genoma que serão, posteriormente, clivados em genomas individuais para serem empacotados no vírion. Resumidamente, a proteína NS1 se liga à extremidade 3' ~~do genoma~~ de uma das fitas, promovendo uma dobra que funcionará como iniciador à 5'.

A partir daí, segue-se a incorporação de nucleotídeos pela polimerase celular, formando as estruturas genômicas concatenadas em formato de cruz. A separação das estruturas ocorre no fim do ciclo e os novos genomas são envolvidos pelas proteínas estruturais VP1 e VP2, que possuem sinal de transporte através do <sup>pore nuclear</sup>.

Em relação aos papilomavírus, a expressão de proteínas depende da fase de diferenciação celular. A infecção ocorre em células bastante pouco diferenciadas, onde há a expressão das proteínas virais E1 e E2. À medida em que o ciclo progride, há a expressão de outras proteínas com E4, E5, E6 e E7, sendo estas últimas, imunomoduladoras associadas à evasão viral e à transformação celular/carcinogênese, pois atuam, respectivamente, na degradação das proteínas p53 e pRb (proteína do Retinoblastoma), que controlam a apoptose celular. Em função disso, as células do epitélio já em estágios avançados de diferenciação formam as lesões características do HPV.

~~As proteínas E1 e E2 são responsáveis pela replicação do vírus após a transcrição do DNA de transporte das proteínas VP1 e VP2.~~  
Famílias Herpesviridae, Poxviridae e Adenoviridae

A expressão proteica que regula as fases iniciais do ciclo de um vírus consiste na transcrição de RNAs que darão origem a fatores de transcrição, intermediários para a produção de nucleotídeos e outras proteínas



como imunomodulador, que atuará no sucesso da replicação do vírus. A replicação ocorre à semelhança da replicação cromossômica humana, a partir de uma origem de replicação e da ligação da maquinaria de síntese ~~em promotores~~ às regiões promotoras. Não sintetizadas, então, as genes estruturais (tardios, no caso do adenovírus) e intermediários e tardios, no caso dos herpesvírus e poxvírus. No caso dos herpesvírus, que fazem latência, diversas proteínas envolvidas no processo de persistência não produzidas, além de proteínas ligadas à imunomodulação e neuroinvasividade, como a glicoproteína D do herpesvírus humano tipo 1 (HHV-1). Vale ressaltar, ainda, que no caso dos herpesvírus ~~o~~ o genoma viral pode ser replicado junto com o cromossomo celular, no estágio de latência, mas também pode ter ~~um~~ foci de replicação ativa, formando concatâmeros, cujos genomas, após separados serão englobados na formação de novos vírus que sairão da célula por lise celular (ciclo lítico). Proteínas que serão utilizadas nos foci iniciais também não produzidas e empacotadas na partícula formada.

### Família Hepadnaviridae

Os hepadnavírus, como o vírus da hepatite B, possuem uma estratégia única de replicação. Após sua entrada na célula, seu genoma de fita parcialmente dupla é convertido por enzimas celulares no DNA circular covalentemente fechado (cccDNA, do inglês "circular covalently closed" DNA), uma molécula que se estabelece como um epissoma no núcleo celular e que dará origem aos RNA virais. Além da forma-

5



cão de neoplasia, que fica no núcleo conjugado a histona, o HBV possui a capacidade de se integrar no cromossomo celular, em um processo associado à proteína multifuncional X do vírus.

O DNA viral será transcrito em diferentes RNAs.

O RNA m de 3,5 kb será responsável pela síntese das proteínas do capsídeo e da polimerase, além da proteína do pré-core. Este RNA é também o RNA pré-genômico que posteriormente será convertido em DNA pela transcriptase reversa viral.

Outros RNAs subgenômicos também serão produzidos e darão origem a outras proteínas virais, como as proteínas do envelope (HBsAg, composto pelas proteínas large [L], middle [M] e small [S]) e a ~~proteína~~ proteína multifuncional X, que tem papel regulatório.

A síntese do DNA genômico ocorre durante a montagem da partícula viral. A ligação da polimerase viral ao fator Epsilon (E) no RNA pré-genômico guia a montagem do capsídeo em torno de um complexo. O domínio de transcriptase reversa da polimerase viral sintetiza a fita negativa do DNA a partir do RNA pré-genômico, que é degradado pela ação da RNAse H, também presente na polimerase viral. Inicia-se, então a síntese da fita positiva, a medida que o vírus migra através do sistema trans-Golgi pelo retículo endoplasmático e ~~golgi~~ complexo de Golgi para a aquisição do envelope. Como o substrato para a síntese da fita de DNA complementar (fita +) não é limitado no microambiente da partícula em formação, a fita +



não pode ser completada e possui entre 50 e 90% do tamanho da fita negativa quando o vírion é liberado.

## Ponto 2: Patogênese das infecções virais

O curso de uma infecção viral depende de diversos fatores, como a quantidade de inóculo; a disponibilidade de células suscetíveis e permissivas no ou próxima ao local da infecção; o "status" imunológico do hospedeiro, que é regido por fatores como idade, estado nutricional, imunidade prévia, entre outros; modo de transmissão, entre outros.

Assim, como observado por Lewis Carroll em seu livro "Alice através do espelho", a teoria da Rainha Vermelha preconiza que "... é preciso correr o mais rápido possível para permanecer no mesmo lugar". ~~Embora~~ Embora se trate de um registro literário, essa teoria vem sendo extrapolada para ~~o~~ exemplificar a co-evolução de patógenos e hospedeiros que, através das suas interações, estão constantemente buscando a preservação de suas espécies e sua posição e perpetuação no ambiente.

Com base nesses fatores, a medida em que o ambiente é alterado, são selecionadas características virais que permitem ao vírus estabelecer sua existência como parasita intracelular obrigatório.

~~Embora~~ ~~Embora~~ ~~Embora~~ ~~Embora~~ ~~Embora~~

Após entrar em contato com o hospedeiro, para a viabilidade da infecção, o vírus terá que evadir às barreiras de proteção da imunidade inata. ~~Como~~ A rota de entrada mais comum não a via respiratória,

7



onde há a presença de muco, células ciliadas e de substâncias viscosas como defensinas; a via gastrointestinal, que é um ambiente hostil com variações extremas de pH; a via ~~respiratória~~ genitourinária, onde a presença de muco e pH ácido são barreiras importantes; a via epitelial, onde a pele é coberta por um epitélio queratinizado rico em defensinas. Todos estes ambientes contam, ainda, com a presença de células de defesa da imunidade inata, como macrófagos teciduais, células dendríticas e células Natural-Killer.

Uma vez sendo inoculado em condições propícias que permitam ao vírus evadir as suas barreiras (quantidade suficiente de inóculo, sítio compatível, células suscetíveis e permissivas), o vírus pode estabelecer infecção primária, se replicando próximo ao sítio de infecção. No caso de vírus com tropismo restrito, a infecção pode se manter localizada (ex: alguns serotipos do vírus do papiloma de humanos) ou, se vírus com tropismo mais amplo, se disseminar para outros órgãos e tecidos por via sanguínea ou linfática, por exemplo, onde irá infectar o ou os órgãos alvos, levando à viremia secundária.

Algumas das infecções virais têm caráter agudo e auto-limitado, como a infecção por vírus entéricos como rotavírus, norovírus ou o vírus da hepatite A. No caso dos vírus anteriormente citados, sua excreção no ambiente através das fezes e/ou vômitos (principalmente no caso dos norovírus), será uma importante fonte de transmissão para outros indivíduos. No caso dos vírus entéricos, como o rotavírus, por exemplo, apesar da destruição extensa das células do epitélio intestinal, em poucos dias o vírus



é eliminado do organismo e, na ausência de complicações maiores associadas à desidratação, <sup>de corrente da diarreia</sup> em alguns dias o indivíduo se recupera plenamente.

No caso da hepatite A, o vírus não é citopático, de modo que a inflamação no fígado é imuno-mediada. É sintomático, na fase prodromica, o indivíduo pode ter sintomas inespecíficos, como náusea, vômitos, fadiga, podendo evoluir para sintomas mais específicos como colúria, acolia fecal e icterícia. Entretanto, na ausência de complicações, como hepatite fulminante, que acomete menos de 1% dos infectados, o indivíduo se recupera completamente e adquire imunidade.

Alguns vírus, entretanto, causam infecções persistentes, que podem ser: Infecção persistente crônica, como <sup>causada pelo</sup> vírus das hepatites B e C, ~~infecções persistentes~~ ~~de longa~~ na qual há replicação viral ao longo de anos e décadas, tornando o portador um importante reservatório viral e fonte de novas infecções, se não for tratado. Infecção persistente lenta, como a causada pelo vírus linfotrópico de células T de humanos (HTLV), que possui a capacidade de integrar seu genoma ~~no~~ pró-viral no genoma do hospedeiro (provírus), podendo levar à manifestações clínicas anos depois, como o desenvolvimento de leucemia, linfoma de células T e paraparesia espástica tropical. Por último, existem as infecções persistentes latentes, causadas, por exemplo, pelo herpesvírus, que se estabelecem em nervos periféricos e nódios de privilégio, ficando quiescentes na ausência e/ou baixa produção de proteínas virais (ciclo latente), se replicando junto com o genoma



do hospedeiro. Entretanto, em situações de imunodepressão podem se reativar e realizar o ciclo lítico, com produção de partículas virais infecciosas.

Quanto aos modos de transmissão, os vírus podem ser transmitidos por contato com gotículas e secreções respiratórias ou através do ar, como influenza e SARS-CoV-2, através de contato sexual com pele e ~~mucosas~~ mucosas com micro-abraches, ~~ou~~ ou secreções (eritema, fluido vaginal), como o HBV e o vírus da imunodeficiência de humanos; pela via alimentar (fecal-oral) através do consumo de água e alimentos contaminados, como os vírus causadores de gastroenterites, rotavírus, norovírus, vírus da hepatite A e hepatite E; por vetores, como a picada de insetos, como os vírus da dengue, zika, chikungunya e febre amarela; através da saliva de animais infectados, como o vírus da raiva, pelo contato com vesículas ou partículas, como o MPox, entre outros.

Além disso, fatores como duração do período de incubação, "shedding" viral, infecções subclínicas podem desempenhar um papel na disseminação viral. ~~Estudo de transmissão~~

Como a disseminação viral, depende, em certas situações, do comportamento do hospedeiro, vem sendo sugerido que vírus transmitidos, por exemplo, por via sexual, como o HBV e HIV, podem ter sido evolutivamente selecionados como causadores de infecções crônicas. Em vírus evadem às defesas do hospedeiro por mecanismos diversos, como variações genéticas e o desenvolvimento de quantificações, proporcionadas por taxas de substituição elevadas. Em vírus,



normalmente, levam longos anos para o aparecimento de sintomas, deixando o portador "apto" para contato sexual (e, conseqüentemente, para a transmissão viral) por períodos prolongados. O aperto ocorre, por exemplo, com arbovírus, como o vírus da dengue (DENV). Por precisar manter seu fitness viral e aptidão para infectar espécies distintas, ~~baixas~~ taxas de substituição extremamente altas são deletérias. Este vírus causa uma infecção aguda e, muitas vezes debilitante. Entretanto, a transmissão viral não requer um comportamento ativo do hospedeiro, ~~pois~~ já que depende apenas da picada do inseto vetor.



Ponto 8: Estratégias de prevenção e controle das viroses no contexto de saúde única.

Vírus emergentes e re-emergentes são importantes desafios de saúde pública mundial. Em um mundo cada vez mais globalizado, com alto trânsito de pessoas e produtos de origem animal e agrícola, é fundamental que uma abordagem voltada para a saúde de pessoas, animais, plantas e ecossistemas seja extensivamente adotada.

Nesse contexto, a abordagem "One Health", apesar de ter seu início muitas décadas atrás, renasce como ferramenta importante para a prevenção e controle de novas epidemias como as Emergências em Saúde Pública de importância internacional, como a COVID-19 em 2020 e a MPox em 2022.

"One health" ou saúde única consiste em uma abordagem multidisciplinar e intersetorial visando a saúde humana, animal, vegetal e dos ecossistemas, como elementos interligados e interdependentes. Entre outros fatores, essa abordagem alcançou notoriedade a partir da observação de que muitas das ameaças à vida humana possuem relação com os animais e com o meio-ambiente, levando à conclusão lógica de que a saúde humana não será plena se não houver saúde animal e equilíbrio nos ecossistemas.

De acordo com estudos recentes, vem sendo observado que mais de 70% dos patógenos humanos com potencial epidêmico/pandêmico são zoonoses.

Os desequilíbrios ambientais causados pelos ~~des~~ desflorestamentos, levando humanos e animais a coexistirem



em ambientes próximos, a destruição de ecossistemas, a alta demanda por proteína animal e outros produtos derivados de animais, a elevada mobilidade populacional e os deslocamentos forçados resultantes de guerras, conflitos, crises climáticas e catástrofes, são elementos condutores no ~~desem~~ surgimento de pandemias.

Nesse contexto, resoluções importantes foram ~~tomadas~~ <sup>tomadas</sup> por uma organização quadripartite, formada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), Organização Mundial da Saúde Animal, Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação e Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente. Dentro dessas resoluções, está o Plano de Ação Conjunta (2022-2026), que preconiza ações intersectoriais formuladas por equipes de trabalho interdisciplinares ~~para~~ com o objetivo de prever, prevenir e responder rapidamente a ameaças à saúde pública.

Um dos principais desafios é o controle de zoonoses, que são, em grande parte, causadas por infecções virais. Nesse contexto, vírus com genomas de RNA, que possuem altas taxas de substituição, ~~causadas~~ ~~para~~ ~~causadas~~ causadas por altas taxas de mutação na ausência de enzima com atividade corretora, alta velocidade de replicação (tempo de geração), tamanho genômico reduzido (o SARS-CoV é uma das exceções), e modos de transmissão eficientes e elaboradas estratégias de evasão do sistema imune e de fármacos (resistência), desempenham um papel importante como potenciais agentes de epidemias. ~~Alguns~~ Alguns desses vírus possuem uma ampla gama de receptores.



que permitem a infecção de diferentes órgãos e tecidos, e podem ser compartilhados entre humanos e outros animais. Esses fatores, em um cenário de desequilíbrio ambiental que coloque animais e humanos em convivência próxima e constante podem levar a eventos de transbordamento (spill over), onde o vírus consegue cruzar a barreira espécie-específica e infectar outras espécies. Entretanto, para que uma epidemia se estabeleça, é necessário que, além de infectar, o vírus possa ser eficientemente transmitido entre humanos.

Para controlar esses eventos e promover uma rápida resposta a uma possível epidemia, minimizando os riscos de ameaça internacional, o Regulamento Sanitário para infecções de importância internacional define regras claras a serem atendidas.

Na existência de um evento inesperado, transmissível, com possibilidade de impactar viagens e comércio, os países acometidos têm até 24 horas para notificar à OMS, que auxiliará na investigação. É recomendado, portanto, que os países intensifiquem ações de vigilância em nível nacional e regional, aprimorem a comunicação e a notificação de agravos aos sistemas oficiais, invistam em capacitação e sensibilização da comunidade quanto à conservação de espécies e ecossistemas e invistam em medidas preventivas, como vacinações, quando disponível.

Um exemplo de ação bem sucedida no Brasil, na abordagem de saúde única, foi o controle da raiva. Tais ações consistiram na vacinação de cães e gatos e outros animais domésticos, controle de morcegos através da redução e monitoramento de potenciais abrigos, como



lagos de água próximas a locais de mata, vacinação  
e acesso a zero, no caso de suspeita de infecção huma-  
na ou contato com animais suspeitos.

Handwritten signature or initials.