



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 viroses no contexto
de saúde única – Departamento de Virologia Instituto de
Microbiologia Paulo de Góes – CCS – UFRJ.

PROVA ESCRITA

CANDIDATO: 843983

Tópico 4: Replicação de vírus com genoma DNA:

Os vírus de genoma DNA adotam diferentes estratégias replicativas apesar de compartilharem o material genético. A estrutura do genoma viral também é um fator que impacta a replicação visto que, os parvovírus e hepadnavírus não possuem uma dupla fita completa de DNA. Para estes dois vírus, o DNA viral precisa ser reparado pela maquinaria celular para então seguir com a replicação do genoma. Os vírus DNA dependem então da maquinaria celular para seu ciclo, porém essa dependência varia com o tamanho do genoma e o local de replicação. Os vírus das famílias parvoviridae, polyomaviridae e papillomaviridae possuem genomas pequenos que não são capazes de codificar todas as proteínas necessárias à replicação e por isso dependem tanto da DNA polimerase II quanto da RNA polimerase celular para sua replicação. Os adenovírus possuem genoma intermediário enquanto os herpes e poxvírus possuem genomas grandes, dependendo menos das enzimas celulares para replicação. Os poxvírus juntamente com os ~~arbovírus~~ arbovírus adotam uma estratégia ainda mais específica pois se replicam no citoplasma celular. Dessa forma, estes vírus codificam as proteínas necessárias para a síntese do genoma e RNA mensageiro visto que esse aparato não se encontra disponível no citoplasma celular.

2

Uma característica específica da replicação dos vírus DNA é a dependência da fase do ciclo celular para a ocorrência da replicação. Devido a necessidade de dNTPs, enzimas e fatores associados à duplicação do DNA serem essenciais a estes vírus, a entrada da célula na fase S e/ou a manutenção desse estágio celular é essencial à replicação viral. Assim, alguns vírus só infectam células quiescentes como os parvovírus enquanto outras famílias enduzem o estágio celular desejado, como adeno e herpesvírus. Neste caso, proteínas virais são produzidas no início da infecção para modular vias de sinalização celular, principalmente as vias de p53 e proteína de retinoblastoma (pRb). Estas duas vias são essenciais no controle do ciclo celular, reparo de DNA e apoptose, mecanismos que são extremamente ~~contro-~~ regulados na célula eucariótica. Estas proteínas podem levar ao fenômeno da transformação celular e ao desenvolvimento de câncer mesmo quando células não permissivas são infectadas. Isso acontece por exemplo para os polyoma-vírus onde a produção de antígenos T (large e small - LT e ST) em células que não produzem partículas virais infecciosas levam a transformação celular.

Após a adsorção e entrada na célula, o genoma da maioria dos vírus DNA é ~~fora~~ encaminhado para o núcleo celular (com exceção dos pox, asfa e ictovírus) onde então ele é reparado (no caso dos parvo- e hepadnavírus) e, com a formação da dupla fita de DNA este pode ser transcrito nos RNAs mensageiros virais. No caso dos pox, asfa e ictovírus, este processo ocorre no citoplasma celular nas denominadas fábricas virais, que são estruturas protegidas por membrana onde ocorre a replicação. Com a transcrição do genoma, inicialmente são sintetizadas proteínas iniciais, que tem como funções codificar fatores essenciais para o início de

replicação do genoma; fatores de controle do ciclo celular e de regulação da resposta imune inata. A síntese das proteínas iniciais acaba por gerar uma cascata transcricional, onde ~~estes~~ o acúmulo destas proteínas leva a ativação de outros genes virais intermediários (no caso de adenovírus) ou tardios (demais vírus). No caso dos adenovírus, o acúmulo dos produtos dos genes intermediários leva a síntese dos genes tardios. Os genes tardios se associam principalmente às proteínas estruturais dos vírus e a sua síntese em etapas posteriores à replicação do genoma garante que estas proteínas sejam produzidas somente na etapa da montagem de novos vírus. Assim, os vírus de DNA controlam temporalmente as proteínas produzidas durante a replicação.

Para os herpesvírus, a replicação conta com um processo exclusivo: a retrotranscrição. Após a entrada no núcleo, o genoma, que possui dupla fita parcial de DNA, é reparado e circularizado formando um RNA pré genômico. Este RNA servirá de molde tanto para a síntese das proteínas virais como molde para a síntese de novos genomas e, ao ser direcionado ao capsídeo viral, este é utilizado como molde para a retrotranscrição do genoma. No entanto, esse processo não ocorre completamente fazendo com que a fita de DNA possua seja incompleta e ainda contenha um fragmento de DNA nas novas partículas virais.

Após a replicação do genoma e produção das proteínas estruturais, novas partículas são montadas e direcionadas para a saída do vírus. O genoma pode ser replicado por círculo rotante (como para poliomavírus) ou bidirecional (como nos herpesvírus). Durante o processo de replicação, pode ocorrer a recombinação do genoma, onde a polimerase utiliza fitas diferentes do DNA como molde para a síntese de uma nova fita ou, quando ocorre a quebra de uma das fitas de DNA seguido do seu reparo. A recombinação é o princi-

(4)

pel mecanismo envolvido na variabilidade dos vírus DNA. Estes vírus possuem taxas de mutação menores quando comparados aos vírus RNA devido a maior fidelidade da DNA polimerase em corrigir erros de incorporação durante a replicação do genoma devido à sua capacidade de exonuclease.

tópico 2: Patogênese das infecções virais

Os vírus ~~os~~ precisam obrigatoriamente de uma célula hospedeira para sua propagação e manutenção no ambiente. A interação das células e o ciclo replicativo estabelecem uma relação que altera o metabolismo celular normal e pode estabelecer doença no hospedeiro de um vírus. O processo de interação entre o vírus e a célula e todas as suas consequências englobam o estudo da patogênese.

A patogênese depende tanto de fatores virais quanto do hospedeiro e pode ou não estabelecer uma doença e, neste caso, a doença pode ~~variar~~ ter graus variados, como: assintomática, leve, moderada e grave. A doença pode ser completamente curada e o hospedeiro se recuperar ou o hospedeiro pode vir a óbito.

O processo de patogênese se inicia com a exposição do hospedeiro ao vírus e a entrada do mesmo no organismo. Em humanos, várias barreiras primárias impedem a ~~entrada~~ entrada dos vírus, como a pele; pH ~~de~~ específico de algumas regiões; enzimas presentes na saliva, lágrimas e mucosas; produção de muco por exemplo. Assim, as principais vias de entrada dos vírus ocorrem pelo trato respiratório, trato gastro-intestinal, mucosas; ~~por~~ inoculação por artrópodes e objetos perfurocortantes e transmissão direta da mãe para o feto. A porta de entrada dos vírus é determinante para o estabelecimento inicial da infecção pois o vírus precisa atingir

células susceptíveis e permissivas à infecção, ou seja, células que possuam os receptores necessários à ligação e entrada dos vírus (susceptíveis) e que possuam todo o aparato necessário à replicação viral (permissivas). Células que não possuem estas duas características não aderem e não permitem a criação de novos vírus infecciosos, porém podem contribuir para a patogênese pois podem ativar vias de sinalização do sistema imune e até mesmo produzir antígenos virais que impactam no metabolismo celular (por exemplo o antígeno T de poliomavírus que é associado à transformação celular).

Os vírus possuem mecanismos de driblar as barreiras iniciais da infecção, como: capsídeo resistente ao pH ácido do estômago como os poliovírus e outros transmitidos por via fecal-oral; resistência a lisozimas e outras proteases presentes na pele e trato urinário; a perda de integridade da pele para vírus transmitidos por artrópodes (dengue; chikungunya; Zika).

O estabelecimento da infecção no sítio de entrada pode levar a uma replicação inicial neste sítio ~~especifico~~, como para os poliovírus ou HIV que se replicam no trato gastrointestinal, o influenza que se replica no trato respiratório superior. A replicação inicial leva a um espalhamento inicial dos vírus (viremia) que pode levá-los a outros órgãos onde ocorrerá uma nova replicação e espalhamento (viremia secundária). Para outros vírus, a porta de entrada não é o local de replicação e o vírus precisa atingir o local propício a replicação pela via sanguínea; pelos linfonodos (ex: sarampo) ou pelo sistema nervoso central (ex: lyssavírus - vírus da raiva).

A viremia secundária pode atingir órgãos diversos e causar doenças graves em alguns indivíduos, como para os vírus do sarampo e poliovírus, que atingem o sistema nervoso central seja pelo cruzamento através da barreira hematoencefálica (sarampo) ou, pela infecção de neurônios através do axônio (poliovírus). A infecção de alguns sistemas contribui para a

(6)

evadas do sistema imune visto que ~~o sistema~~ o alcance do e atuação deste sistema é desigual entre os órgãos, fazendo com que alguns sistemas, como o sistema nervoso por exemplo, seja pouco capaz de controlar infecções. Esse fenômeno denominando imunoprivilegio faz com que algumas infecções virais persistam e não sejam eliminadas. Outro exemplo é a infecção de células do próprio sistema imune, como no caso do HIV, vírus epstein-barr e citomegalovírus que infectam leucócitos e linfócitos. Especificamente no caso do HIV, além da perda de células, ocorre o fenômeno da exaustão do sistema imune, onde as células produzidas encontram um constante estímulo gerado pela produção de partículas virais ou proteínas e assim estas células são constantemente ativadas e perdem a capacidade de funcionar corretamente.

O ciclo replicativo necessita da maquinaria celular para ocorrer e vários intermediários de replicação, como RNA fita dupla; RNA fita negativa; DNA fita simples e perfis específicos de metilação e fosforilação gerados exclusivamente pela replicação viral são reconhecidos pela célula como exógenos e ativam as vias de defesa associadas principalmente a produção de interferon, citocinas e quimiocinas. Estes fatores irão recrutar outras células de defesa além de induzir genes associados a vários mecanismos, como síntese de proteínas; autofagia e apoptose visando eliminar ~~o sistema~~ a infecção. Os vírus são capazes de contornar estes mecanismos através de proteínas sintetizadas pelo genoma viral, ~~tais como~~ que atuam em diversos mecanismos, tais como: shut-off de proteínas celulares (poliovírus); vias alternativas de tradução, como a via IRES (vírus da hepatite C); sequestro de CAP de RNAs mensageiros celulares (influenza); modulação negativa de proteínas associadas à sinalização celular, como MHC (HIV); síntese de víscinas e

virorreceptores (porreirus). contra alicação de proteímas que impedem a saída do vírus da célula (neuraminidase que cliva o ácido siálico - influenza; vpu que contra alicia a teloxina - HIV).

Assim, o estabelecimento de uma infecção envolve fatores virais e do hospedeiro e o estabelecimento de uma doença ocorre quando a replicação viral consegue suplantar, mesmo que momentaneamente, a resposta imune e o vírus consegue produzir uma progênie infecciosa e se disseminar pelo organismo. A produção de progênie permite que o vírus consiga ser eliminado e se propague para novos hospedeiros perpetuando o ciclo replicativo. As portas de saída envolvam o sangue; trato respiratório; saliva; contato direto através da pele e mucosas; fezes e urina. A transmissão também pode ocorrer da mãe para o feto durante a gestação; no momento do parto ou via aleitamento. No entanto, a infecção de alguns hospedeiros não sustenta a propagação viral apesar de a infecção ser produtiva nestes hospedeiros, como por exemplo o vírus west-nile e hendra onde os humanos não propagam a infecção, sendo o fim de linha para os vírus.

A infecção viral envolve os seguintes períodos:

- 1- exposição: quando o indivíduo tem contato com o vírus. A infecção pode ou não se estabelecer no indivíduo.
- 2- período onde ocorre a replicação viral e disseminação viral sem que haja sintomas.
- 3- período onde sintomas inespecíficos a várias viroses são observados (prodromico). Ex: febre é um sintoma associado a várias infecções.
- 4- período sintomático onde os sintomas são específicos da doença. Ex: pústulas para mpx.
- 5- período de convalescência: onde o sistema imune consegue eliminar o patógeno. Esta fase pode não ser atingida para todas as infecções ou, para todas as indivíduos infecta-

(8)

das pelo mesmo vírus.

O período que o indivíduo é capaz de excretar partículas infecciosas e infectar novos indivíduos susceptíveis varia de acordo com a infecção e pode se iniciar mesmo na ausência de sintomas. Indivíduos que são infectados e não apresentam sintomas também são fonte importante de transmissão.

A replicação viral pode levar a dois tipos principais de infecção:

1) infecção aguda → caracterizada pela alta taxa de replicação, produção de partículas infecciosas e excreção. A infecção dura um curto período e ~~pode~~ pode levar a três desfechos: a eliminação do patógeno, cura e geração de memória imunológica; o óbito do indivíduo; ou o estabelecimento de uma infecção ~~aguda~~ crônica. Ex: dengue, Sarampo.

2) infecção crônica → por fatores virais e do hospedeiro, não há controle da infecção inicial e o vírus consegue se estabelecer de forma persistente no organismo. É atingido um equilíbrio entre a ação da imunidade pelo vírus; a produção baixa ou ausente de novos vírus e a manutenção do genoma viral fazendo com que o vírus não seja eliminado e que possam ocorrer episódios de reativação. Ex: HIV e herpes zoster (HHV-3).

A resposta imune também é um fator que leva a alterações na patogênese. Vários sinais e sintomas das doenças virais como febre e inflamação são resultado da ação das citocinas e quimiocinas secretadas e liberadas no organismo. A exacerbção ou falta de controle da resposta imune leva ao fenômeno da tempestade de citocinas que pode estar associado a quadros graves de algumas infecções agudas, como a infecção pelo SARS-CoV-2. A infecção pelo vírus da hepatite C também pode ser agravada pelos danos gerados aos hepatócitos pela resposta imune.

Fatores do hospedeiro como sexo, idade, estado nutricional e imunossupressão podem impactar na patogênese além de fatores genéticos, como ocorre na infecção pelo HIV onde alguns genótipos de HLA foram associados a maior progressão para a fase de aids. Infecções agudas como o sarampo, podem causar casos graves de infecção do sistema nervoso central em indivíduos imunocomprometidos.

Além de fatores do hospedeiro, fatores virais como: carga viral inicial; virulência; variabilidade e capacidade de escape do sistema imune podem alterar a patogênese. Como exemplo, o vírus ebola Reston tem menor patogenicidade em humanos comparado ao ebola Zaïre, responsável por várias mortes em humanos.

topico 8: Estratégias de prevenção e controle.

A manutenção dos vírus no ambiente depende da cadeia de infecção, formada por: agente viral → hospedeiro → transmissão → rota de entrada → disseminação → rota de saída → indivíduo susceptível. A quebra de qualquer elo desta cadeia impede a conclusão e o sucesso da replicação viral e por isso, estratégias de prevenção e controle podem ser adotadas para impedir a infecção de indivíduos susceptíveis ou para controlar a disseminação de um patógeno.

Tanto para a prevenção quanto para o controle de vírus, a vigilância epidemiológica é um passo essencial para traçar estratégias específicas contra um determinado vírus. A vigilância passiva envolve o registro compulsório de casos de algumas doenças, por exemplo o HIV, nos hospitais e atendimentos de saúde. Já a vigilância ativa engloba a pesquisa de agentes virais organizada por órgãos competentes e que necessita de metodologias como, testes moleculares ou sorológicos. Em ambos os casos, a vigi-



10

lância permite detectar ~~os vírus~~ os vírus que se encontram em circulação, os indivíduos que estão sendo afetados e até mesmo a gravidade da doença causada permitindo o desenvolvimento de estratégias específicas de prevenção e controle.

Neste sentido, o diagnóstico das viroses é uma ferramenta essencial para determinar o agente viral responsável por uma doença ~~em~~ e os indivíduos infectados por ele. Além disso, é possível determinar alterações no ~~patógeno~~ agente viral que podem alterar sua patogênese. Um exemplo recente, na pandemia de Covid-19 que exigiu um diagnóstico rápido e confiável dos indivíduos infectados para determinar medidas de isolamento social, de quebra de contatos e liberação para o retorno das atividades. O diagnóstico também foi importante para diferenciar as infecções pelo SARS-CoV-2 de outros vírus respiratórios como influenza e RSV permitindo uma correta identificação dos casos associados a pandemia. O diagnóstico também é de importância na prevenção de infecções sexualmente transmissíveis, especialmente no contexto de produtos hemoderivados doados e órgãos transplantados. O diagnóstico sensível e específico através de exames moleculares permite a redução da transmissão de vírus como o HIV, HBV e HCV.

As ações de prevenção e controle podem ser compartilhadas por vírus que possuem vias de transmissão ~~por~~ similares, como:

- 1) via fecal-oral, como norovírus e poliovírus: lavagem de mãos e utensílios; frutas e verduras e principalmente o tratamento adequado da água e redes de esgoto adequadas.
- 2) vírus respiratórios, como influenza, RSV e SARS-CoV-2: podem ser transmitidos tanto por contato direto quanto por gotículas no ambiente ou em superfícies. O uso de máscaras, lavagem de mãos e distanciamento social são medidas de prevenção e controle.

12

apresentar reversão da atenuação, sendo limitada ao uso em pessoas imunocomprometidas.

2) Vacinas inativadas → um vírus parental é utilizado e sua virulência atenuada por meios físicos ou químicos e administrada ao indivíduo. É uma vacina mais segura com baixo risco de ~~reversão~~ reversão porém, possui menor imunogenicidade o que faz com que sejam necessárias doses de reforço e o uso de adjuvantes, que potencializam a resposta imune. Ex: vacina Salk contra poliomielite

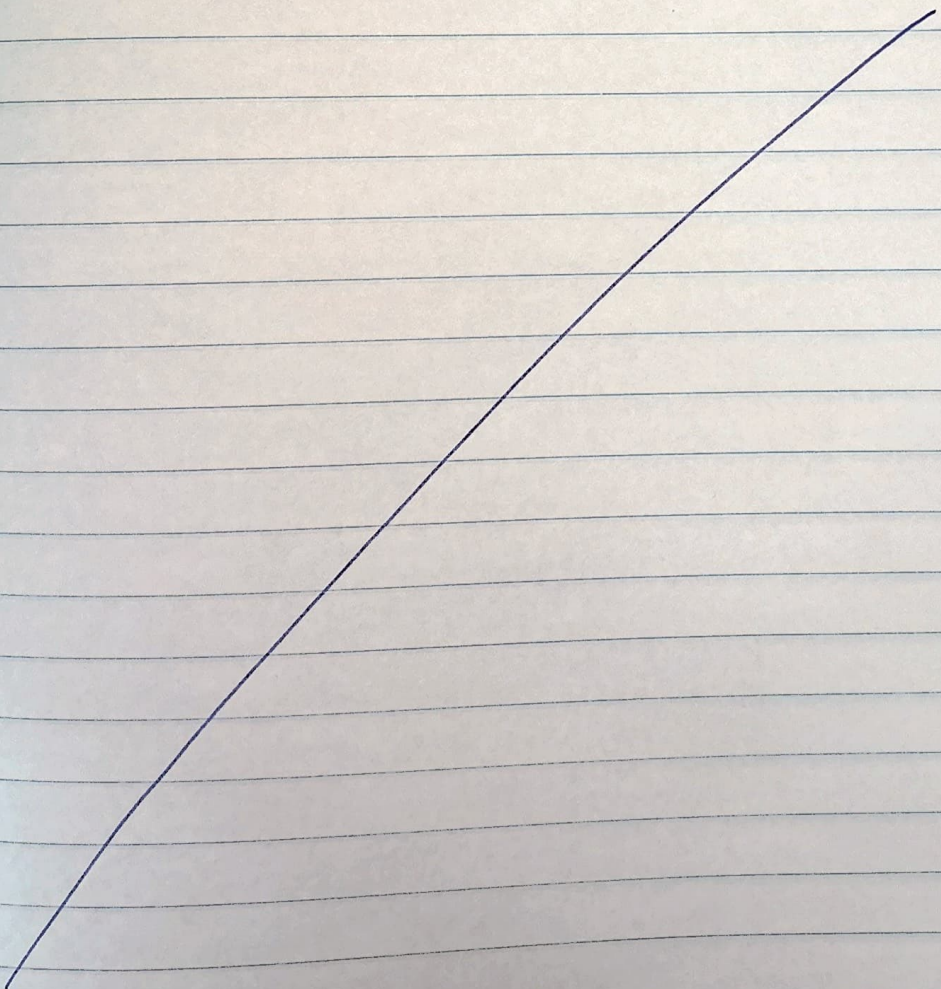
3) Vacinas de RNA → vacinas que carregam o RNA mensageiro de uma proteína viral reconhecida pelo sistema imune. Esse RNA será traduzido e a proteína produzida será reconhecida como exógena gerando a resposta. O método de carregamento do RNA pode variar mas, na vacina Pfizer contra o SARS-Cov-2, o método de lipossoma é o utilizado.

4) Vacina de subunidades → algumas proteínas virais de capsídeos tem capacidade de se montarem em estrutura igual a do capsídeo viral, mesmo na ausência de outras proteínas. Como exemplo, a proteína L1 do capsídeo do HPV é produzida em leveduras, purificada e capaz de formar uma VLP (virus like particle) utilizada na imunização.

5) Vacina de vetor viral → o capsídeo de um vírus é utilizado para carrear o genoma de outro vírus até a célula. Pode haver edição do genoma para retirar genes de virulência ou mesmo combinar genomas de diferentes sorotipos de vírus. Ex: vacina do Ebola que utiliza um adenovírus que codifica a glicoproteína do Ebola; a vacina da dengue que usa como vetor o vírus da febre amarela para carrear o gene da proteína pré-M dos 4 sorotipos de dengue; a vacina contra o SARS-Cov-2 que utiliza um vetor de adenovírus para carrear o

gene que codifica a spike viral.

A imunização também pode ocorrer de forma passiva onde imunoglobulinas produzidas em sistemas in vitro ou derivadas de pacientes convalescentes são administradas ao indivíduo infectado. Nesse caso, a resposta imune é rápida mas não é duradoura e não forma memória imunológica. O tratamento para o controle de infecções agudas e graves como as causadas pelo vírus da raiva, Ebola e SARS-CoV-2. No entanto ela é limitada ao uso único pois é montada uma resposta contra a imunoglobulina utilizada.



[Handwritten signature]