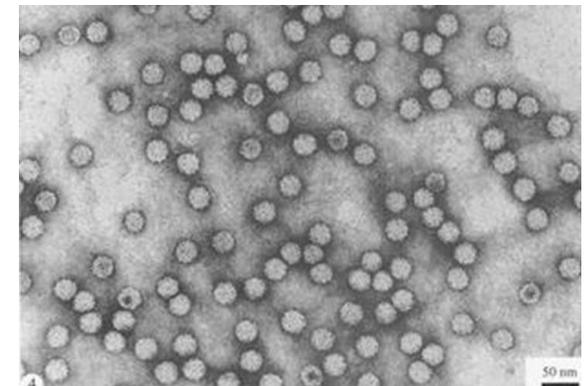
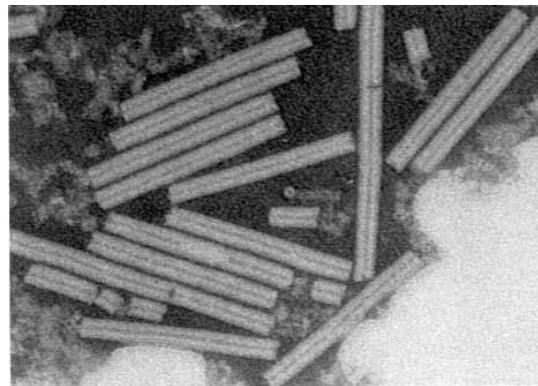
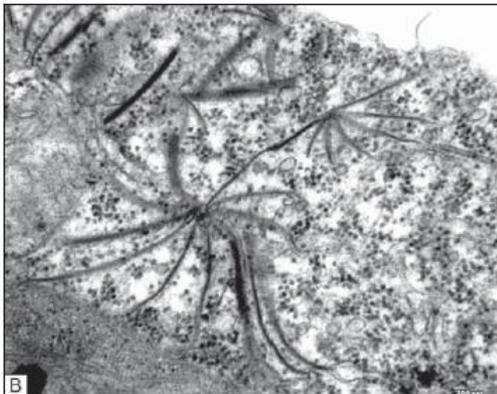




Vírus: características gerais

MICROBIOLOGIA GERAL – Teórica



Histórico

- **Cerca de 1500 a.c.:** Registros de sintomas da poliomielite



Hieroglifo egípcio
3700 a.c.

- **752:** Poema amarelo do *Eupatorium lindleyanum*
“*Tobacco leaf curl virus*”



1600 - 1660: “Tulipomania” na Holanda (“Tulip breaking virus”, 1926)



Fig. 10. Flower-breaking symptoms in *Tulip breaking virus*-infected tulips (Madame Spoor). Light and dark breaking symptoms can be observed. Reproduced from Brunt et al. (9).

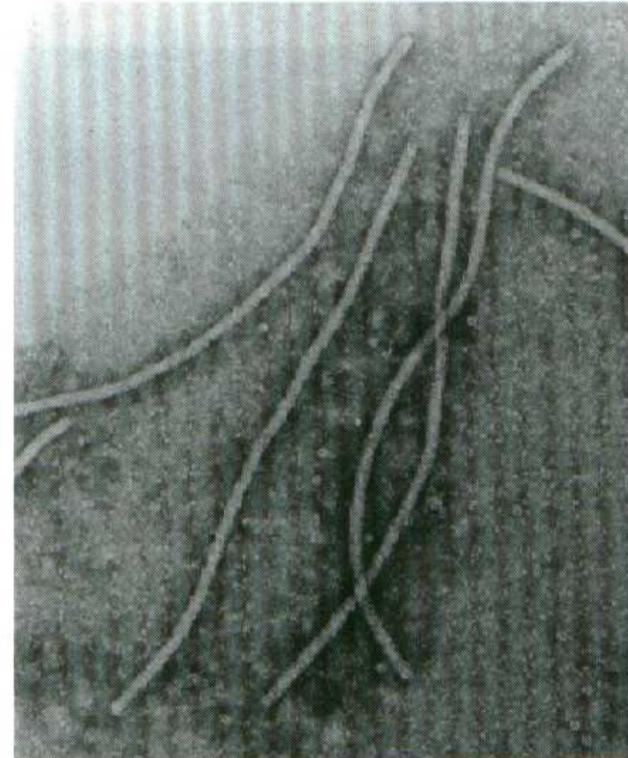


Fig. 9. Negatively stained virions of *Tulip breaking virus*. The particles are filamentous, usually flexuous, 750 to 775 nm long and 14 nm wide. Reproduced from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Wintkey/Images/a1.gif>

Valores de mercadorias = tulipa rara (*Semper Augustus*) 1626-1636

Guilders (Dutch florins)

8 porcos gordos	240
4 bois gordos	480
12 carneiros gordos	120
24 ton. de trigo	448
48 ton. de cevada	558
2 barris de vinho	70
4 barris de cerveja	32
2 ton. de manteiga	192
~500 Kg de queijo	120
Um copo de prata	60
Um “pacote” de roupas	80
Uma cama, colchão e roupa de cama	100
Um barco	500
TOTAL	3000

3000 Florins = US\$ 900.000,00

(Hull, R., 2009)

Vírus humano – descoberta da vacina

- **1789 Edward Jenner: varíola**
 - Os animais tinham uma versão mais leve da doença (varíola bovina)
 - 1796: mulheres responsáveis pela ordenha quando expostas ao vírus bovino tinham uma versão mais suave da doença
 - Início das pesquisas em crianças
 - **1798: primeira vacina**

**Estava descoberta assim a propriedade de
imunização!**

- **1886: ADOLF MAYER**

- Transmissão agente causal mosaico do fumo por injeções
- Comprovou que a doença era causada por um agente biótico
- Propõe que se trata de um fungo ou bactéria (não consegue isolar)



ADOLF MAYER



- **1892: DMITRI IVANOWISKI**

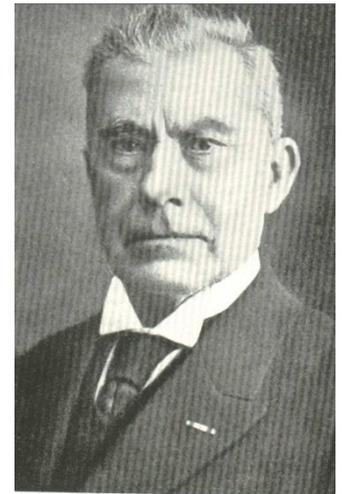
- Agente do mosaico do fumo passa por filtro que retém bactéria (extrato de plantas doentes permanecia infeccioso após passagem em filtros)
- Não confiou em seus resultados



DMITRI IVANOWSKI

- **1898: MARTINUS BEIJERINK**

- Repetiu testes de IVANOWISKI
- Propõe novo agente etiológico
- Fluido vivo contagioso



MARTINUS WILLEM BEIJERINCK

- **1935: STANLEY**

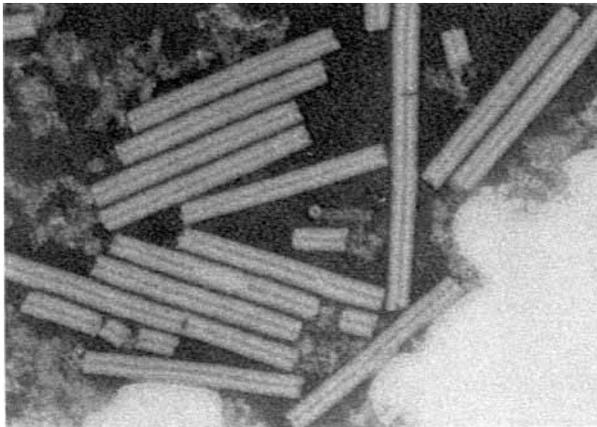
- Purificou TMV
- continha proteína
- Prêmio nobel

- **1935: BAWDEN & PIRIE**

- TMV continha RNA

- **1939: KAUCHE ET AL**

- TMV no microscópio eletrônico



Luta contra a poliomielite

- Até os anos 50, aterrorizava a população americana.
- O vírus da doença penetra no sistema nervoso levando à paralisia e às vezes até à morte

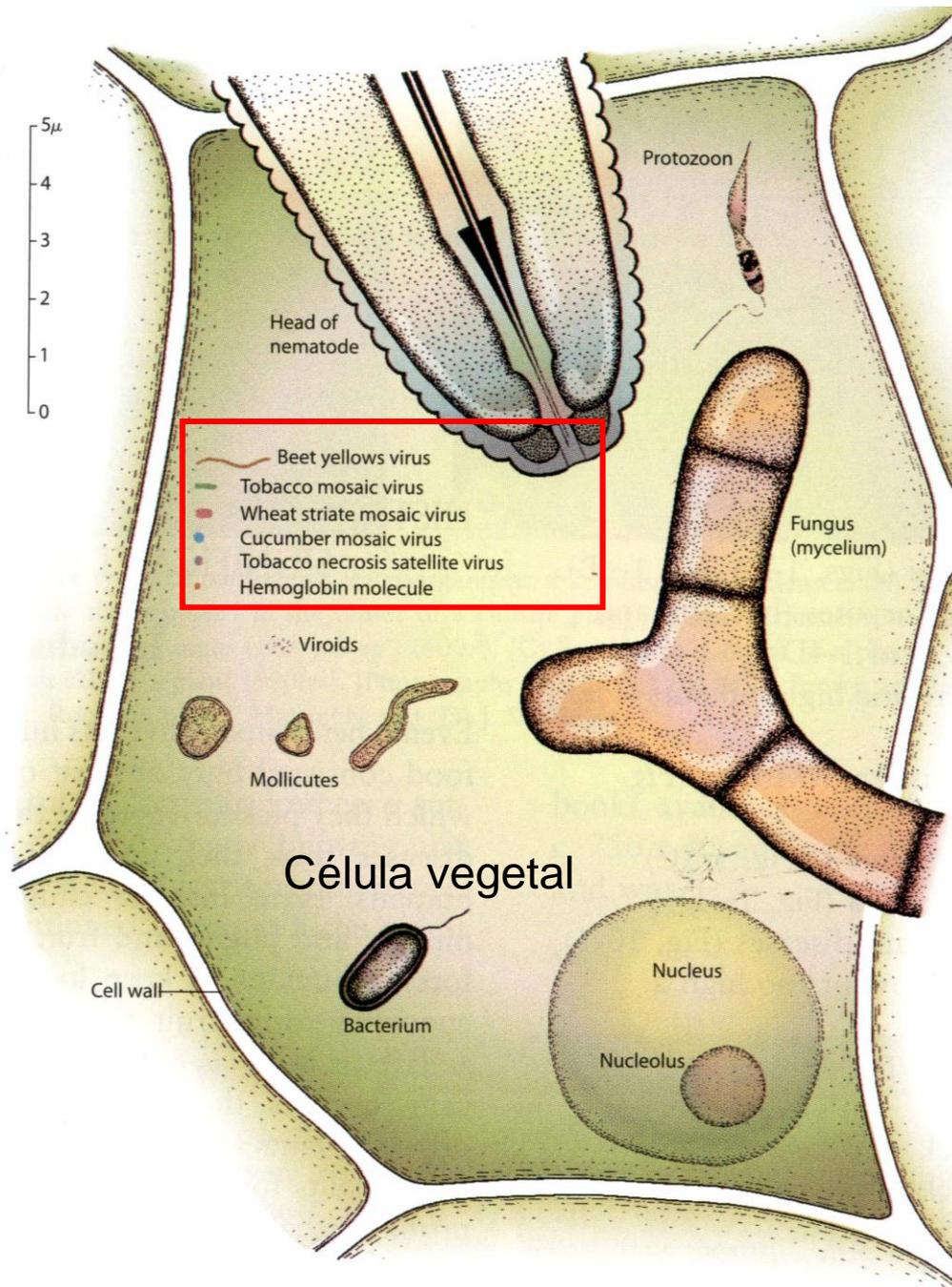
Vacinas Poliomielite Sabin e Salks

- 1955 Jonas Edward Salk (vírus inativado)
 - sistema imunológico podia ser ativado sem infecção, só com um vírus inativo ou morto
- 1961 Albert Sabin (vírus atenuado) “gotinha”
 - necessário criar uma leve infecção, usando um vírus vivo



Os vírus são partículas infecciosas não celulares cujo genoma pode ser DNA ou RNA. Replicam-se somente em células vivas, utilizando toda a maquinaria de biossíntese e de produção de energia da célula para a síntese e transferência de cópias de seu próprio genoma para outras células.

Tamanho dos vírus em relação a uma célula vegetal e alguns microrganismos



Partículas - tamanho de
20 - 300 nm
(0,02 a 0,3 μm)

- 10 a 100 vezes menores do
que as bactérias

(1 nm = 1×10^{-9} m)

Vírus – importância

Causam doenças em vertebrados, invertebrados, fungos, bactérias, plantas.

HUMANOS

- AIDS
- Resfriado comum
- Herpes
- Poliomielite
- Hepatite
- Dengue



PLANTAS

- Mosaico do fumo



ANIMAIS

- Febre aftosa



Nomenclatura e classificação

Situação atual da taxonomia de vírus

Ordem = 8

Famílias = 122

Sub-família = 35

Gênero = 604

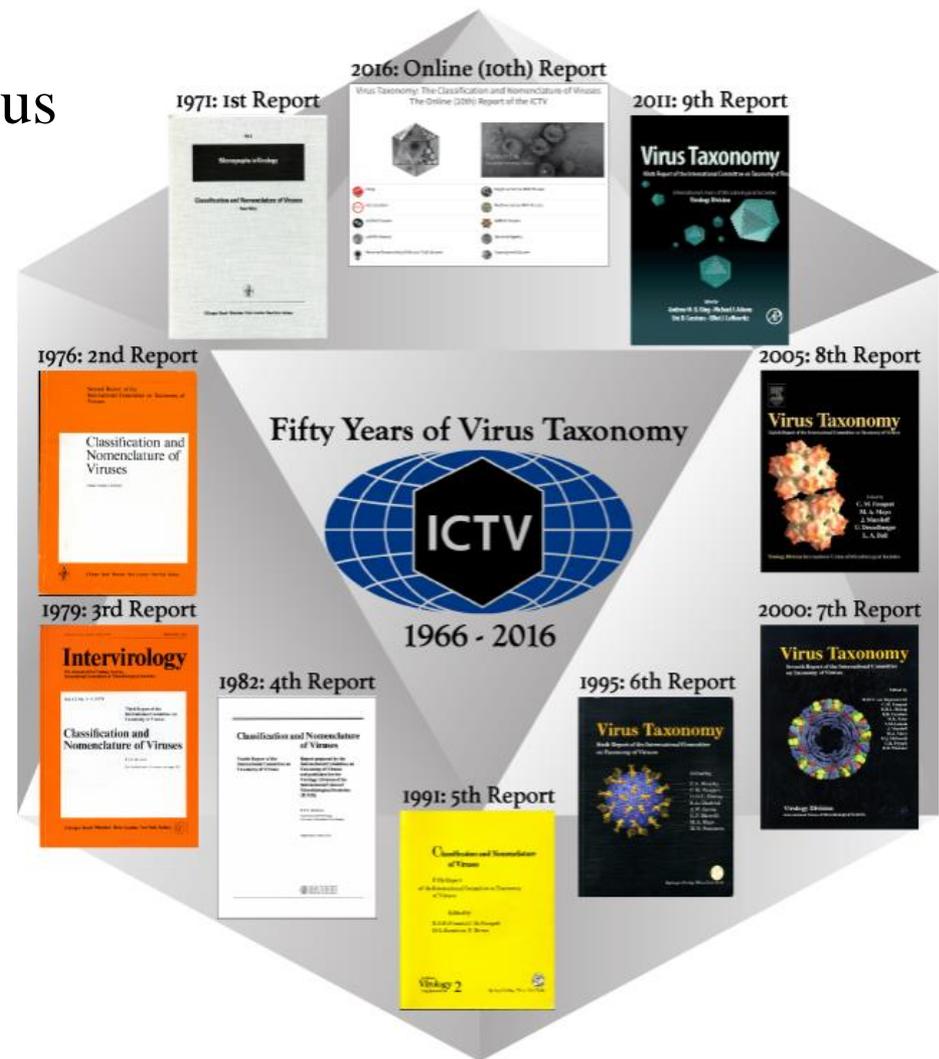
Espécies = 4.405

Viróides

Famílias = 2

Gêneros = 8

Espécies = 32

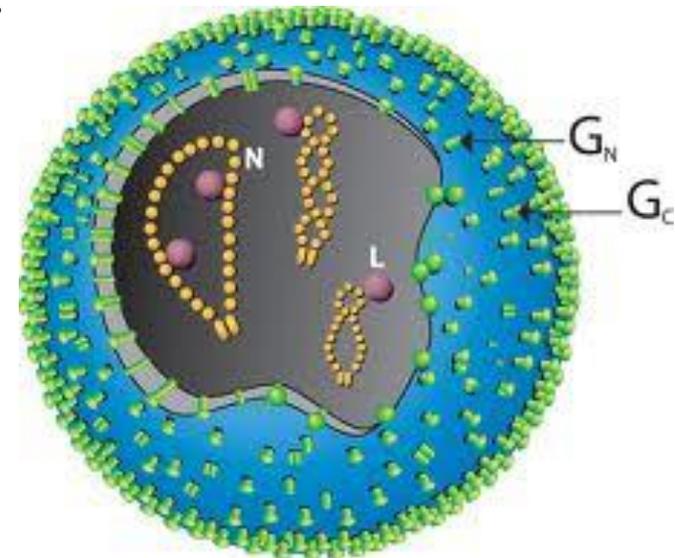


Características utilizadas para identificação de família e gênero

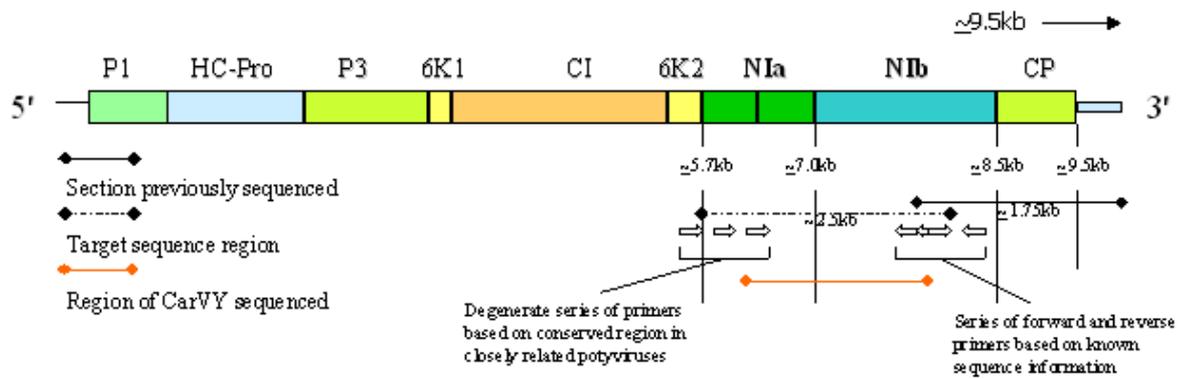
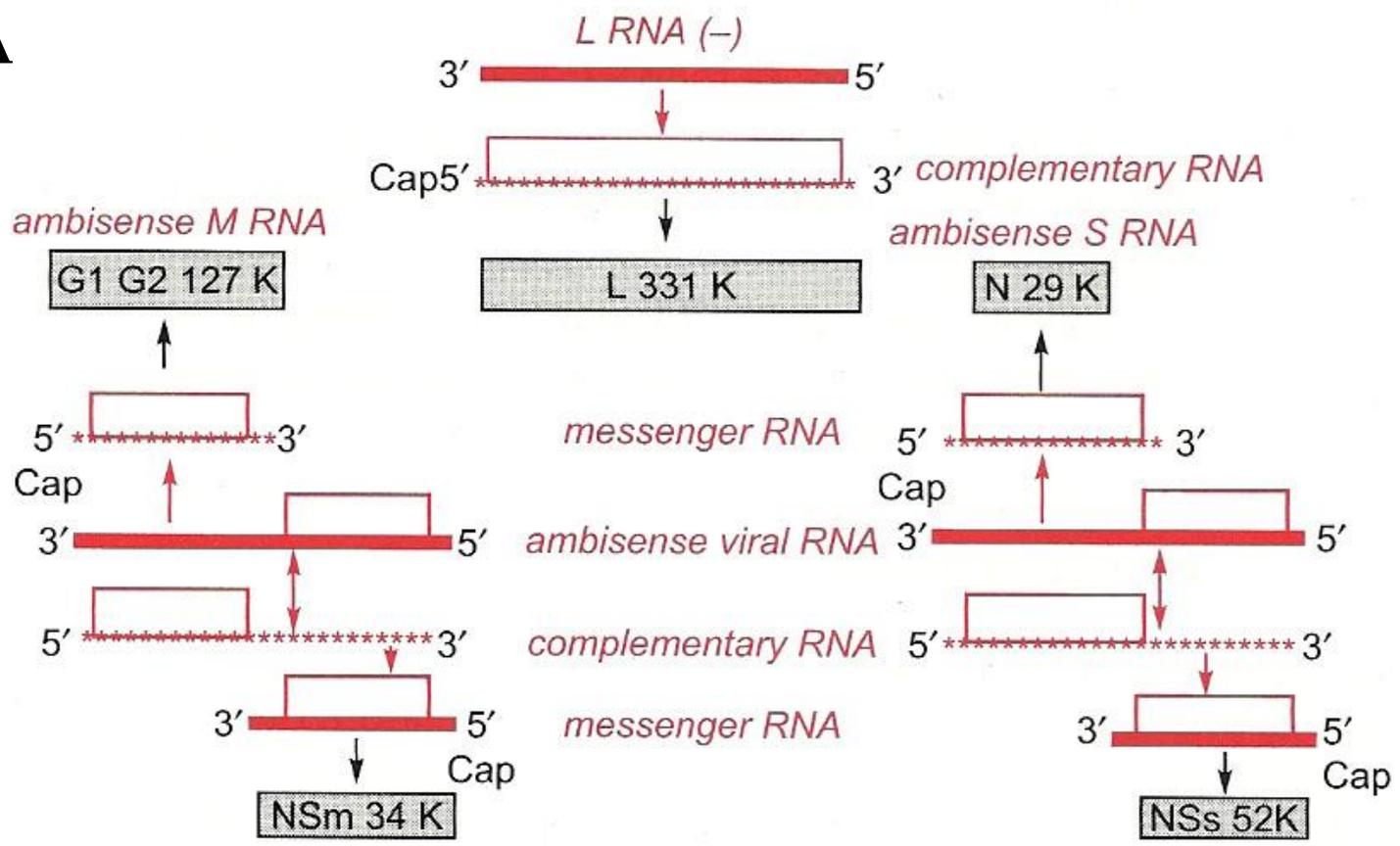
- Morfologia da partícula
 - Organização do genoma
 - Método de replicação
 - Número e tamanho das proteínas (estruturais e não estruturais)
-

Família *Bunyaviridae*

Compartilham virion esférico ou pleomórfico, 80 – 120 nm de diâmetro, genoma constituído por três moléculas de RNA negativo ou ambisense, todos possuem 4 proteínas estruturais, projeções glicoproteicas, envelope proveniente do complexo de Golgi ou membrana celular, replicam-se no citoplasma.



GENOMA



GÊNEROS

Orthobunyavirus

Nairovirus

Phlebovirus

Replicam-se em vertebrados e artrópodes
Transmitidos por pernilongos, mosquitos
(Phebotominae), carrapatos

Hantavirus

Replicam-se em vertebrados, sem vetor
Hospedeiro primário roedores. Homem sec.
Transmitidos principalmente por aerossol

Tospovirus

Replicam-se em plantas e tripes
Transmitidos por tripes

Características utilizadas para distinguir espécies

- Relacionamento da sequência do genoma
 - Círculo de hospedeiros naturais
 - Movimento na célula e tecidos
 - Patogenicidade e citopatologia
 - Modo de transmissão
 - Propriedades físico-químicas do vírion
 - Propriedades antigênicas das proteínas
-

GÊNERO TOSPOVIRUS:

- Espécies \Rightarrow - Sorologia/ Proteína N (nucleocapsídeo)
- Sequência aa proteína N (<90% identidade)
- Especificidade vetor
- Circulo de hospedeiras

Ex: *Tomato spotted wilt virus*: Vira cabeça do tomateiro

GÊNERO HANTAVIRUS:

Espécies \Rightarrow <93% de identidade aa gene glicoproteína e proteína N.

espécies não formam recombinantes

Ex: *Sin Nombre virus*: Síndrome pulmonar por hantavírus (mortal)

Peromyscus maniculatus



ORTOGRAFIA

BOX 1.5

EXAMPLE OF VIRUS CLASSIFICATION, NOMENCLATURE AND ORTHOGRAPHY

Taxa	Example	Suffix
Order	<i>Mononegavirales</i>	<i>-virales</i>
Family	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>-viridae</i>
Subfamily		<i>-virinae</i>
Genus	<i>Nucleorhabdovirus</i>	<i>-virus</i>
Species	<i>Sonchus yellow net virus</i>	
Acronym	SYNV	

Picornavirales

Picornaviridae

Enterovirus

Human enterovirus C (poliovirus)

Vírus – o vírion

Vírion = partícula viral em sua forma extracelular

Ácido nucléico **Capa protéica**

Ácido nucléico

RNA ou DNA

Fita simples (fs ou ss)

Fita dupla (fd ou ds)

- Capa protéica

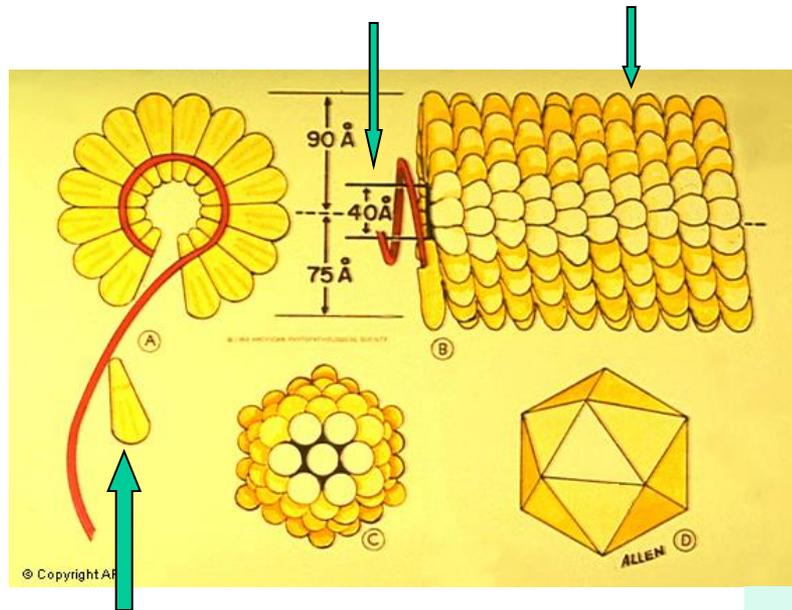
- Envelope (alguns)

- Espículas (alguns)

- Replicação na hospedeira

- Parasitas obrigatórios

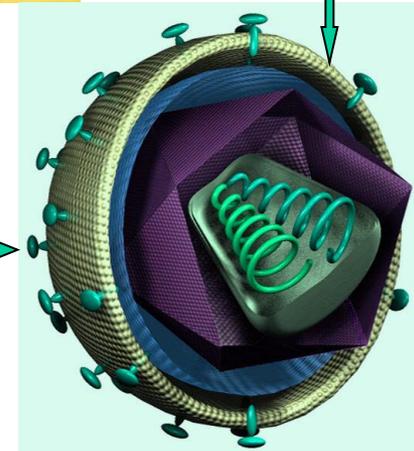
- Visualizados somente no microscópio eletrônico



Capsômero

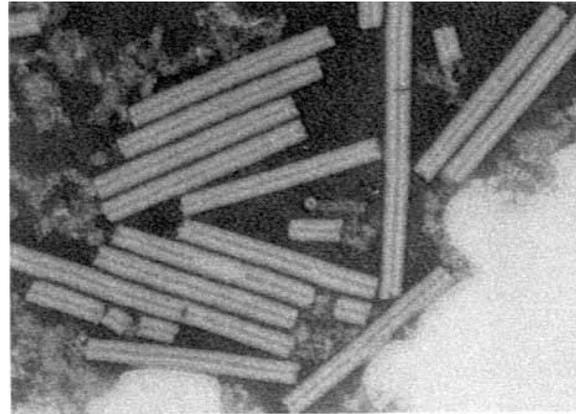
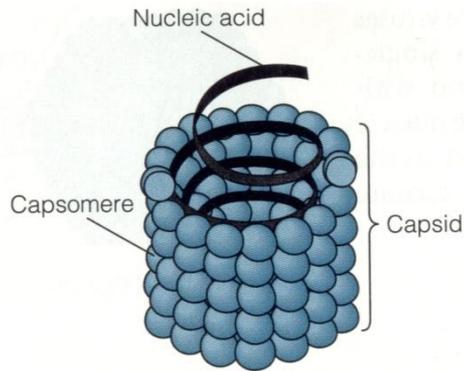
Envelope

Espículas

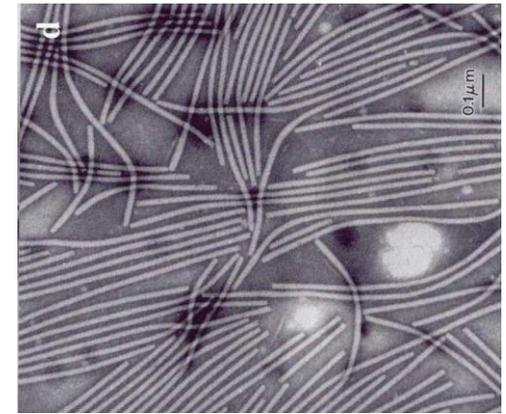


Vírus – formas básicas

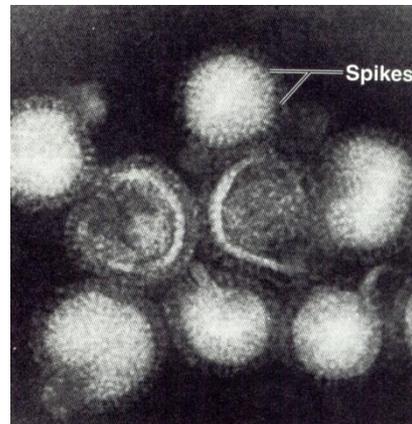
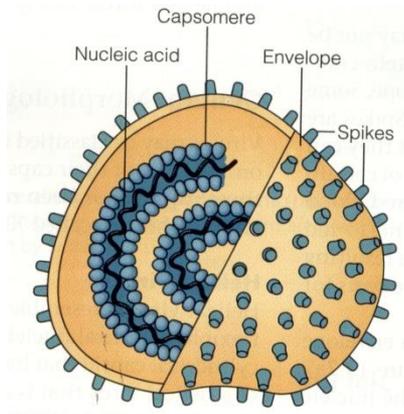
1. Helicoidal: rígido ou flexuoso com ou sem envelope



RÍGIDO (TMV)



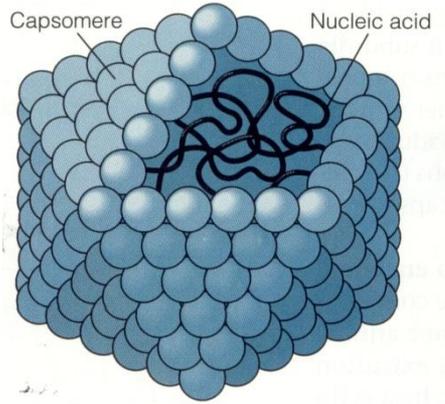
FLEXUOSO (Potyvirus)



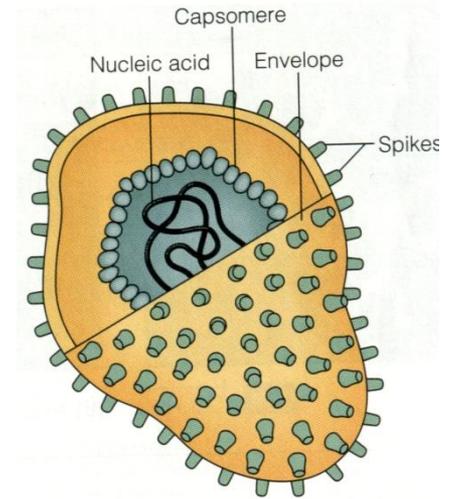
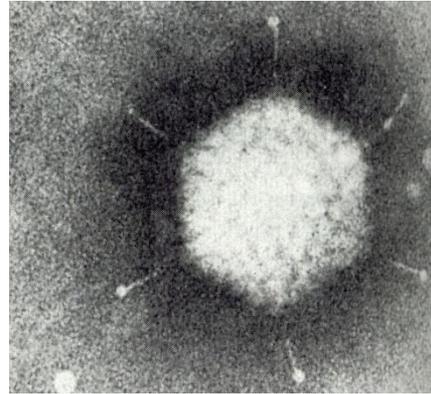
ISOMÉTRICO (Esférico)
(Influenzavirus)

Vírus – formas básicas

2. Poliédrico: Icosaédrico (maioria)

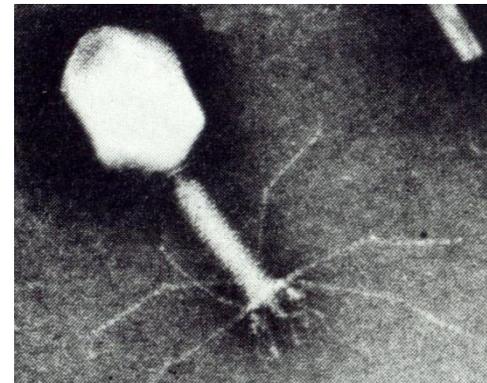
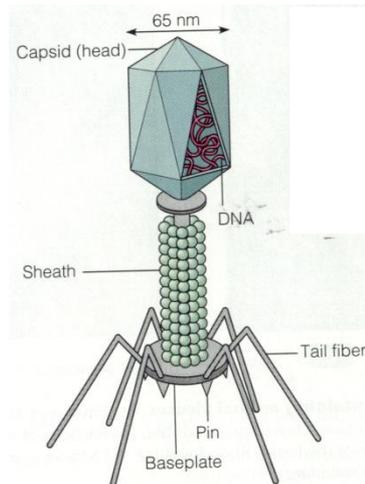


Sem envelope



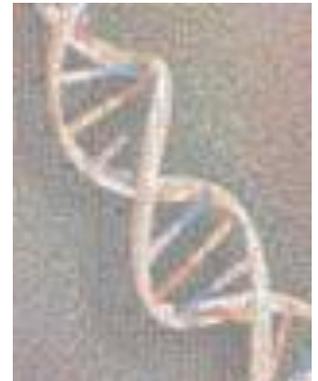
Com envelope

3. Complexa



Características do genoma

- Ácido nucléico pode ser fita dupla ou simples
 - RNAs; RNAd; DNAs e DNAd
- RNAs: positiva ou negativa
- O ácido nucléico pode estar segmentado
- Genoma pequeno
- Genes codificam proteínas:
 - Estruturais = capa protéica
 - Não estruturais = RNA polimerase;
 - transcriptase reversa (HIV);
 - lisosima (bacteriófagos); etc

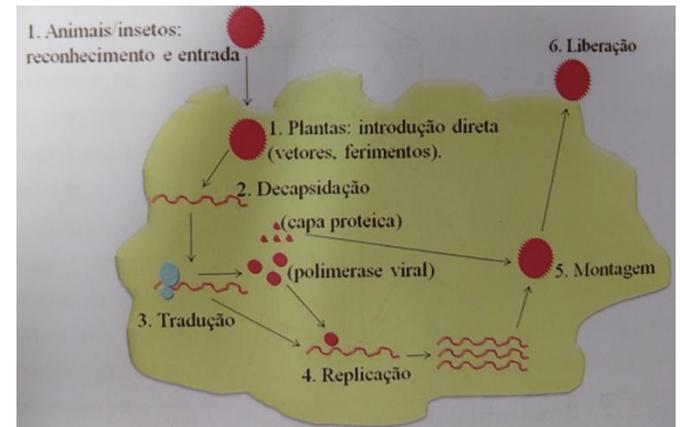


Tamanho do genoma

Tobamovirus	RNA	6.395 nt
Poliovirus	RNA	7.433 nt
HIV	RNA	9.200 nt
Variola virus	DNA	150.000 nt

Ciclo do vírus na célula hospedeira

- Reconhecimento das proteínas virais e proteínas da célula hospedeira (vírus animais e humano)
- Entrada (vírus de planta)
- Fusão ou endocitose
- Decapsidação
- Tradução do RNA em proteínas virais
- Replicação do ácido nucléico
- Montagem
- Brotamento (vírus envelopado)
- Liberação



Vírus – entrada na célula

A. Vírus de animal

a) Adsorção: contato com a célula

Proteínas ou glicoproteínas da partícula.

Receptores na superfície da célula.

(glicoproteínas ou lipoproteínas)

b) Penetração: entrada no citoplasma

- Vírus sem envelope: translocação por endocitose

- Vírus com envelope:

Endocitose: Partícula é presa numa invaginação da célula, e liberada dentro desta na forma de vesícula.

Fusão: envelope viral funde-se com a membrana e o virion passa diretamente para dentro.

Poliovirus

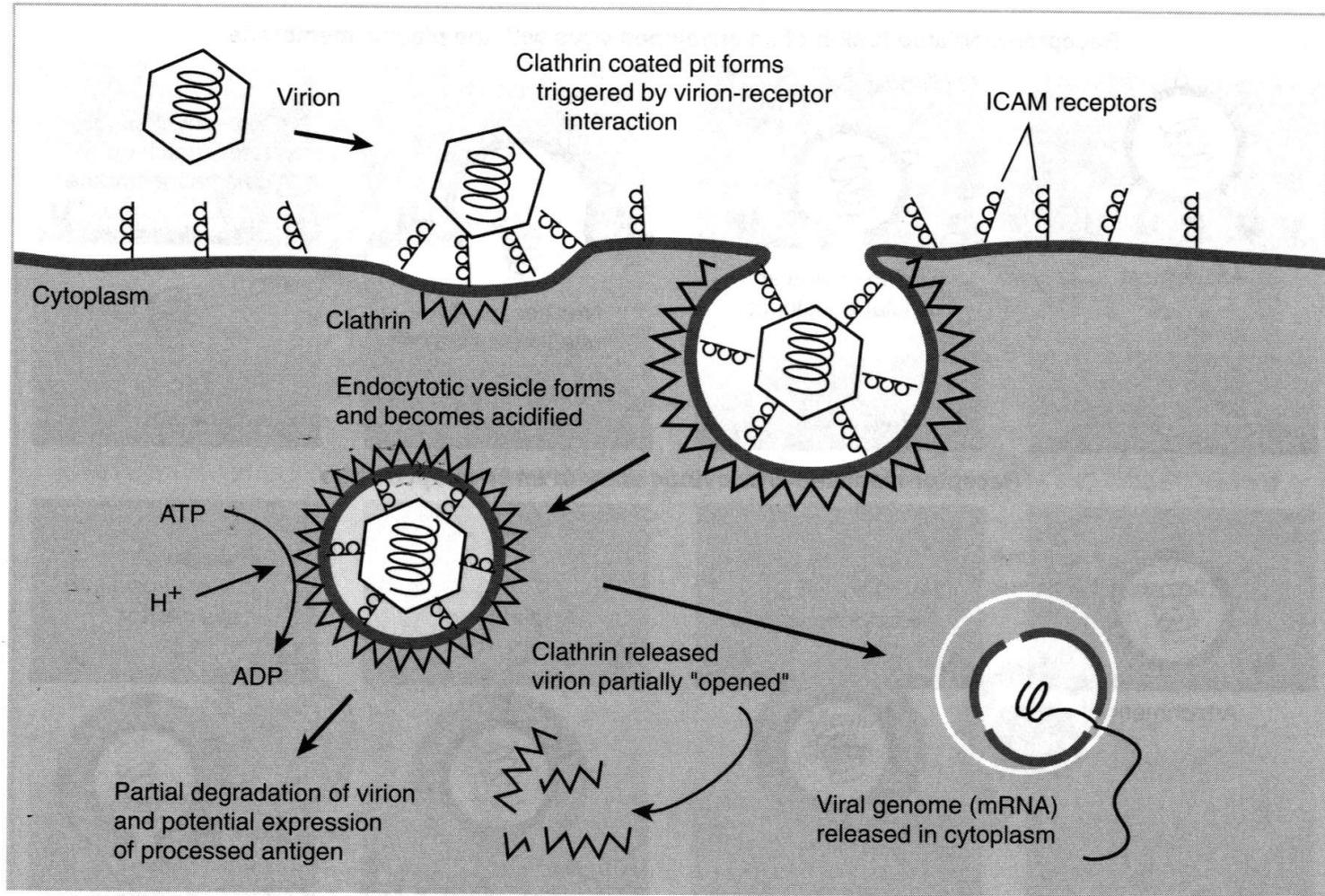


Fig. 6.2 Schematic of receptor-mediated endocytosis utilized by poliovirus for entry into the host cell. The endocytotic vesicle forms as a consequence of close association between the poliovirus-receptor complex and the plasma membrane.

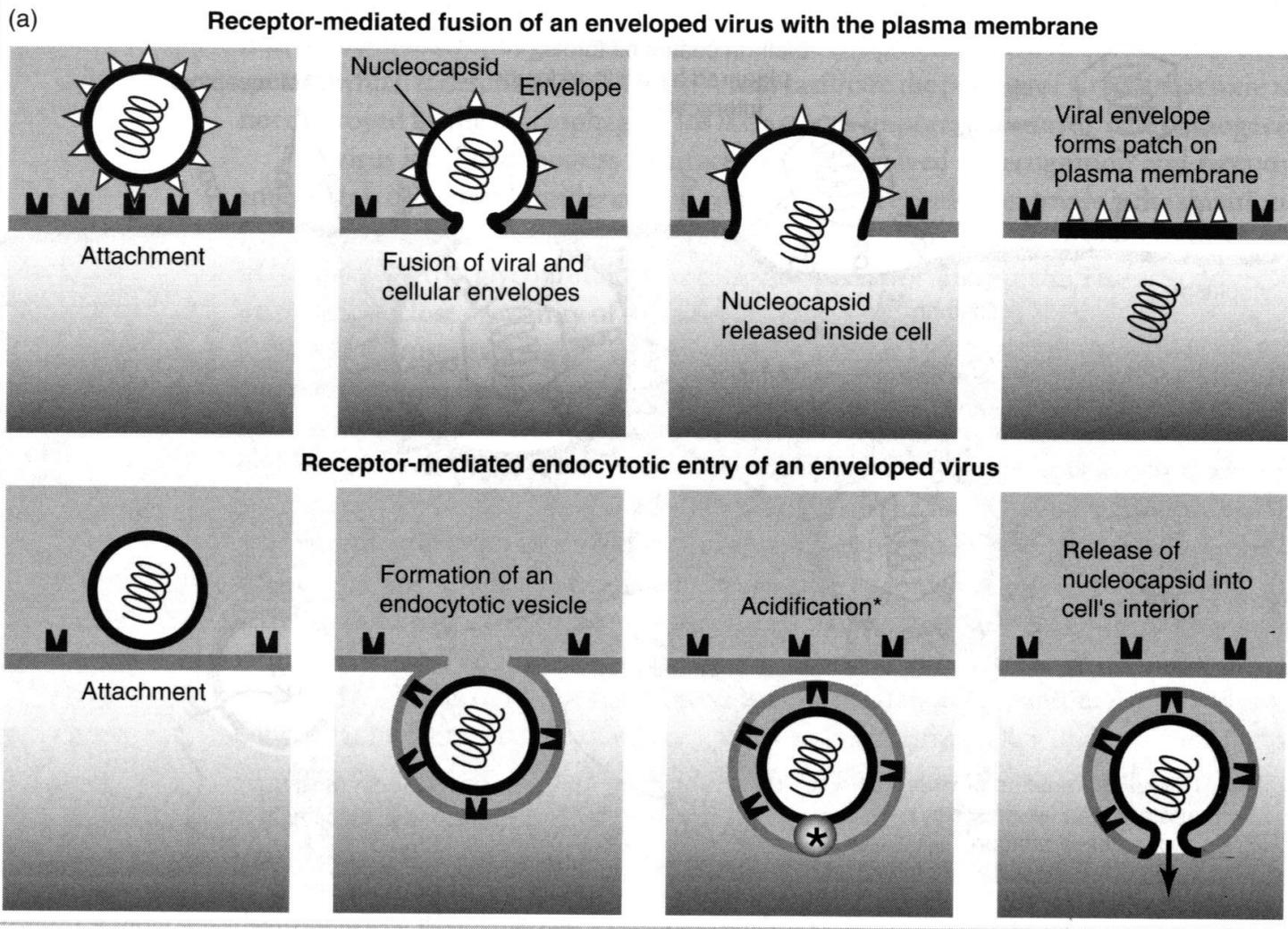


Fig. 6.3 *a*. The two basic modes of entry of an enveloped animal virus into the host cell. Membrane-associated viral glycoproteins either can interact with cellular receptors to initiate a fusion between the viral membrane and the cell plasma membrane, or can induce endocytosis. The fate of the input virus membrane differs in the two processes. *b*. The fusion of pseudorabies virus with the plasma membrane of an infected cultured cell is shown in this series of electron micrographs (the bars represent 150 nm). Although each electron micrograph represents a single event “frozen in time,” a logical progression from the initial association between viral envelope glycoproteins and the cellular receptor on the plasma membrane through the fusion event is shown. The final micrograph contains colloidal gold particles bound to antibodies against the viral envelope glycoproteins (dense dots). With them, the envelope can be seen clearly to remain at the surface of the infected cell. (Micrographs reprinted with the kind permission of the American Society for Microbiology from Granzow, H., Weiland, F., Jöns, A., Klupp, B., Karger, A., and Mettenleiter, T. Ultrastructural analysis of the replication cycle of pseudorabies virus in cell culture: a reassessment. *Journal of Virology* 1997;71:2072–82.)

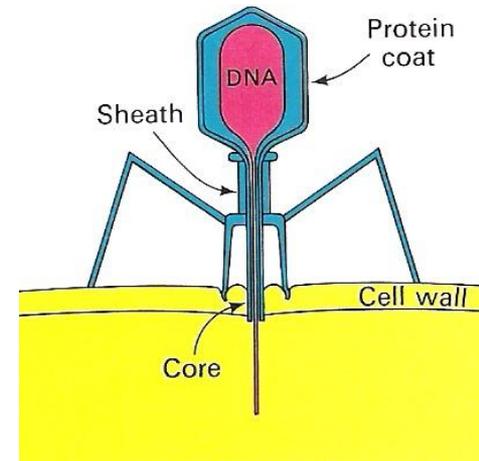
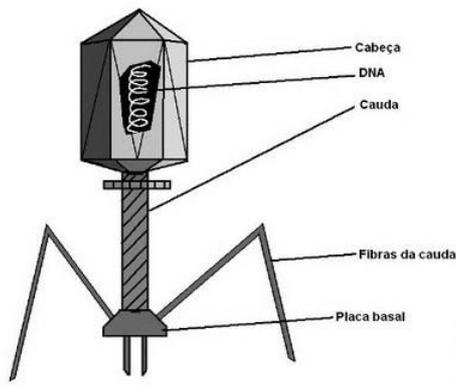
B. Vírus de bactéria (bacteriófagos)

a) Adsorção

Fibras longas: reconhecimento e aderência na célula.
Glicoproteínas, lipopolissacarídeos,

b) Penetração

c) Retirada da capa protéica



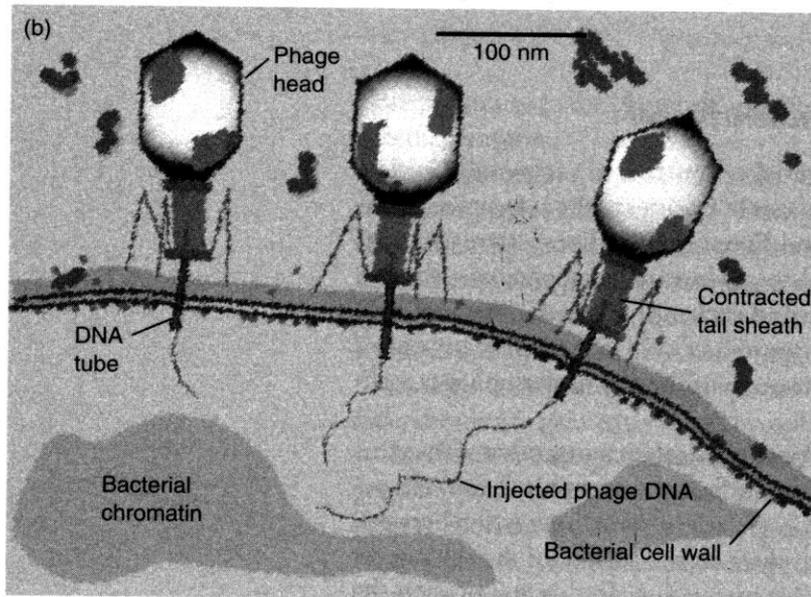
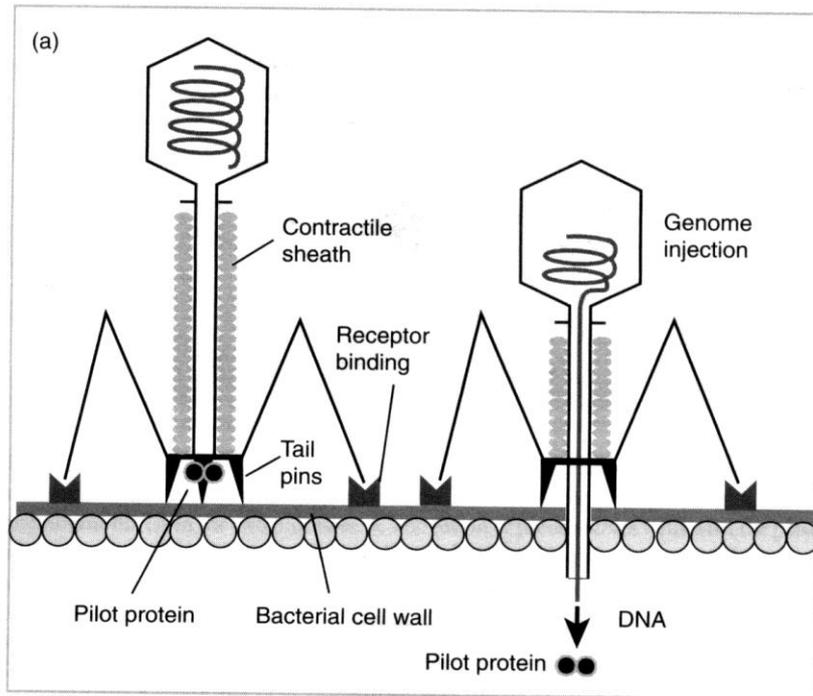


Fig. 6.4 Entry of T4 bacteriophage DNA into an *E. coli* cell. Initial attachment is between the fibers to the ompC lipopolysaccharide receptor on the bacterial cell wall (a). The binding of protein pins on the base plate to the cell wall leads to contraction of the tail fibers and sheath proteins, leading to insertion of the tail tube through the cell wall. As shown in the electron micrograph (b), phage pilot protein (arrow) allows the highly charged viral DNA genome to penetrate the bacterial plasma membrane and enter the cell. Phage DNA can be seen as shadowy lines emanating from the tail tube. (From Dimmock, N.J., and Primrose, S.B. *Introduction to Modern Virology*, 4th edn. Boston: Blackwell Science, 1994.)

C. Vírus de plantas : inoculação por ferimento

a) Adsorção

- Não há evidências de que a capa protéica tem função de reconhecimento ou adsorção.
- Não há evidências de que há receptores de vírus nas células da planta.

b) Penetração

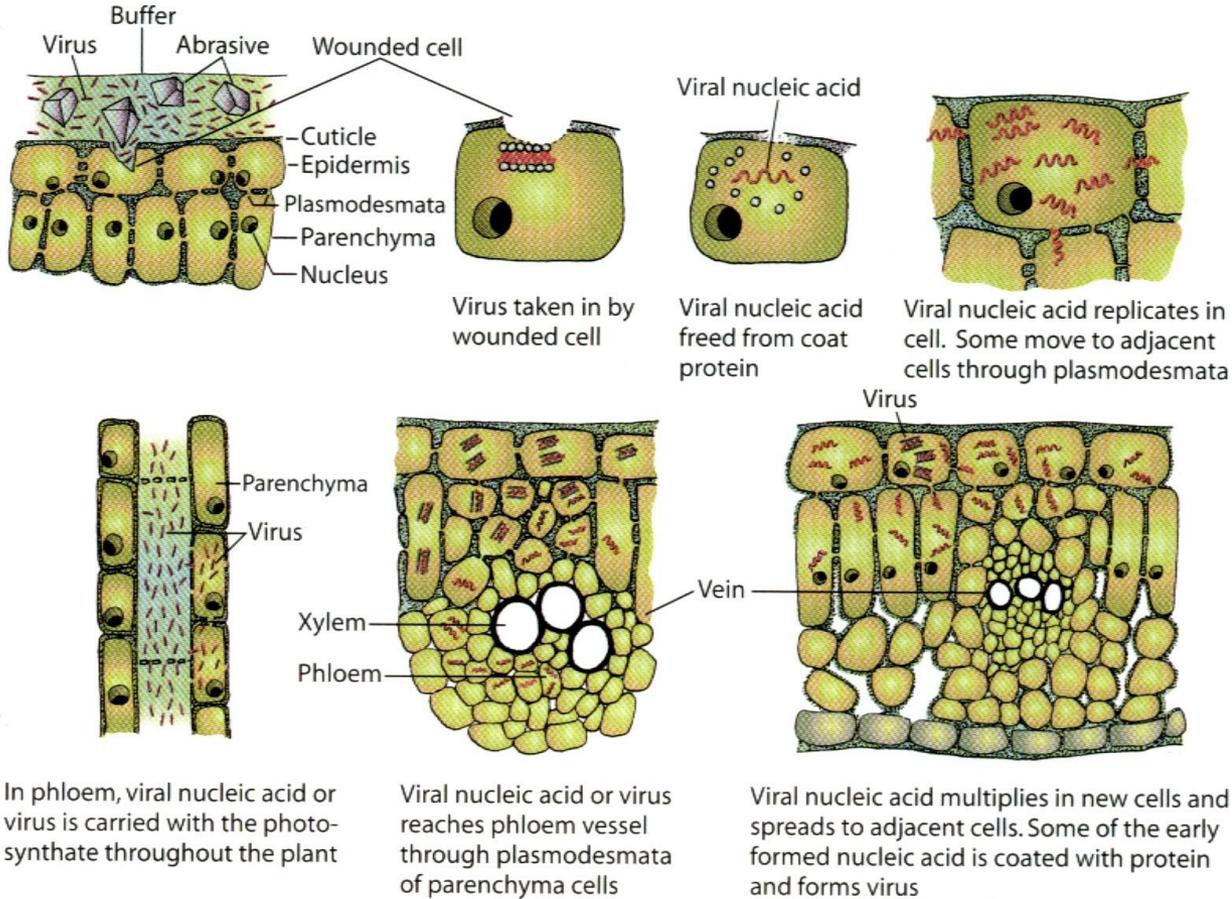
- Dano na parede celular: entrada direta.

c) Retirada da capa protéica

- Ácido nucleico é retirado da capa em alguns minutos.

INOCULAÇÃO POR FERIMENTO

Transmissão mecânica experimental

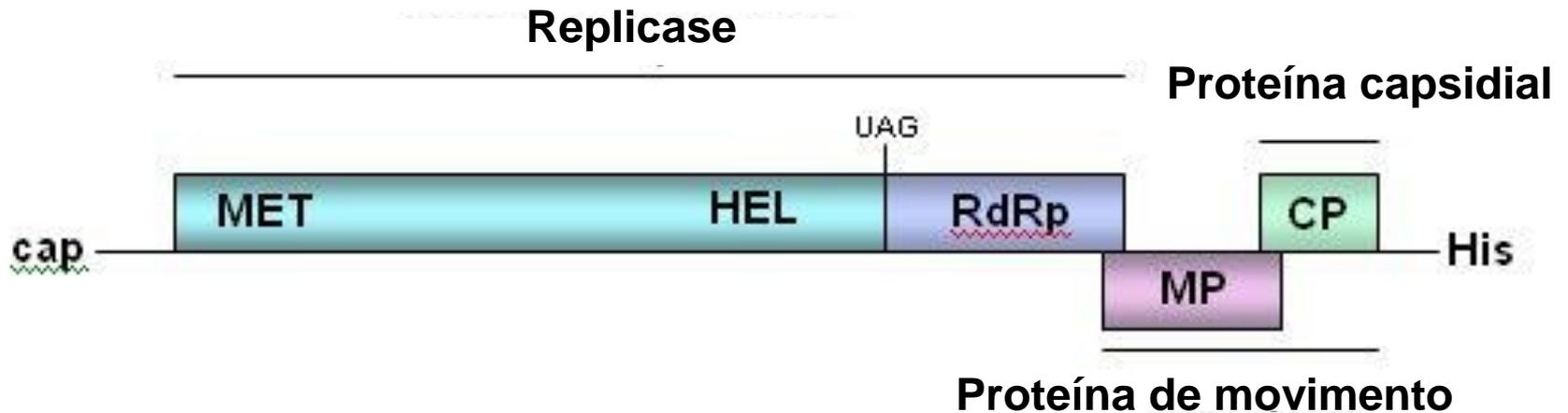


Vetor



Partícula viral RNA fd (+)

Organização do genoma viral
Modelo: *Tobacco mosaic virus* (TMV)

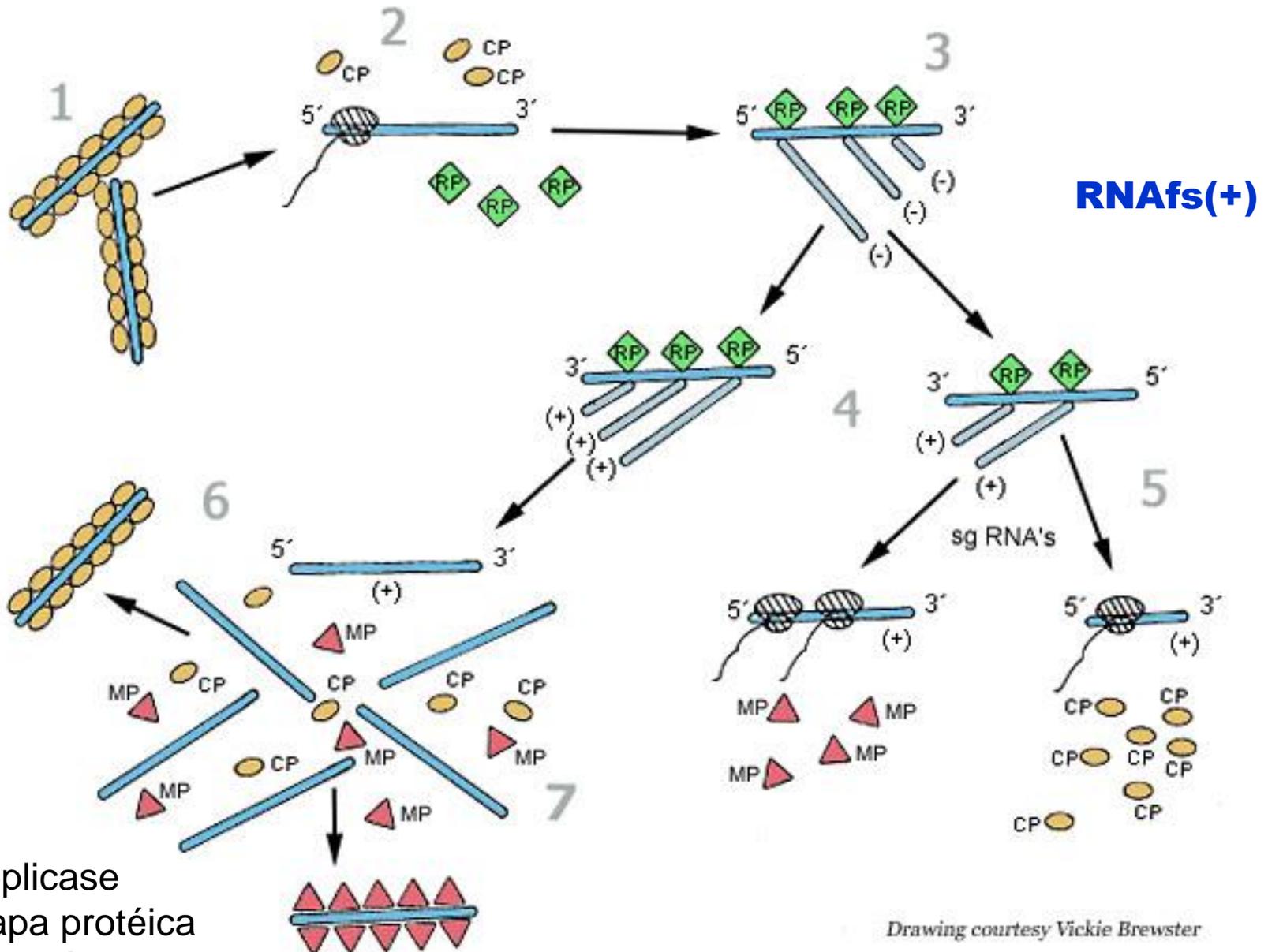


6.395 nt

ETAPAS DO CICLO DE REPLICAÇÃO DO TMV

1. O TMV entra na célula por ferimentos;
 2. A capa protéica é retirada e ao mesmo tempo os ribossomos traduzem o RNA para síntese das replicases (RP);
 3. As replicases transcrevem o RNA viral (fs+) produzindo cópias complementares (RNAs_{fs-});
 4. O RNAs_{fs-} serve de molde para gerar RNA viral (fs+);
 5. Ao mesmo tempo o RNAs_{fs-} serve de molde para gerar RNAs sub-genômicos, que serão usados para sintetizar as proteínas de movimento (MP) e capsidial (CP);
 6. Parte do RNA viral (fs+) é encapsulado pelas proteínas capsidias;
 7. Parte do RNA viral é “protegido” pela proteína de movimento para mover-se para a célula vizinha e novo ciclo de replicação.
-

Tobacco mosaic virus - TMV



RP = replicase
CP = capa protéica
MP = Proteína de movimento

Drawing courtesy Vickie Brewster

ROTAS PARA A EXPRESSÃO DE GENOMAS VIRAIS

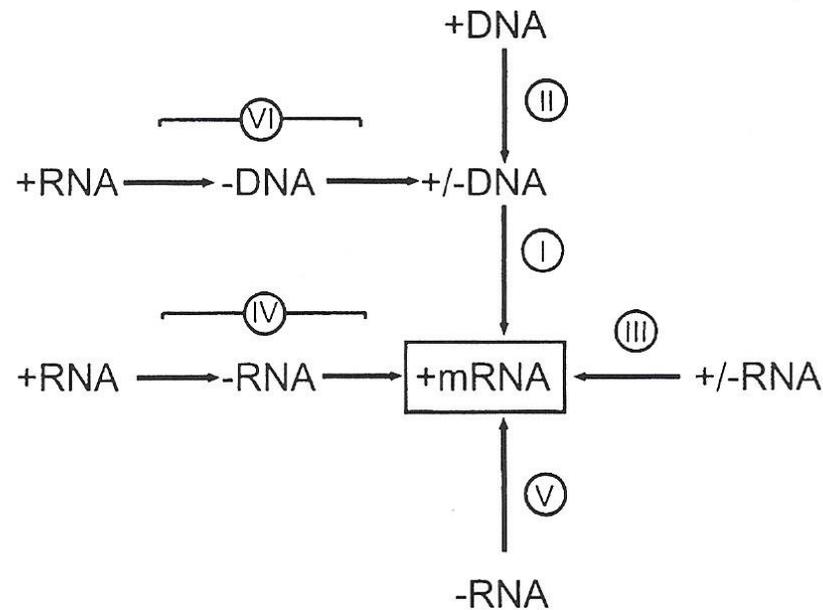


Fig. 7.1 Routing of viral genome expression through mRNA. Route I is transcription of dsDNA usually by host DNA-dependent RNA polymerase. Route II is the transcription of ssDNA to give the dsDNA template for I (e.g. geminiviruses). Route III is transcription of dsRNA, usually by virus-coded RdRp (e.g. reoviruses). Route IV is replication of (+)-strand RNA via a (-)-strand template by virus-coded RdRp—the viral (+) strand is often the template for early translation (the (+)-strand RNA viruses). Route V is transcription of (-)-strand virus genome by virus-coded RdRp (e.g. tospoviruses). Route VI is reverse transcription of RNA stage of retro- and pararetro-viruses leading to the dsDNA template for mRNA transcription. From Baltimore (1971), with permission.

Etapas do ciclo de replicação de outros vírus

A. Replicação de vírus animal: HIV

<https://www.youtube.com/watch?v=ej7MaNEZ09g&t=75s>

Consulta extra-classe

B. Replicação de Bacteriófago Lambda e outros vírus

www.blackwellpublishing.com/wagner/animation.asp#

Vírus – disseminação

A. VÍRUS DE PLANTAS



Afídeos (pulgões)



Mosca branca



Tripes

Outros vetores: Ácaros; Cigarrinhas; Besouros; Fungos; Nematóides

- Sementes: 1/7 dos vírus, taxa variável
- Pólen
- Propagação vegetativa e enxertia
- Mecânica: operações culturais

B. VÍRUS HUMANO

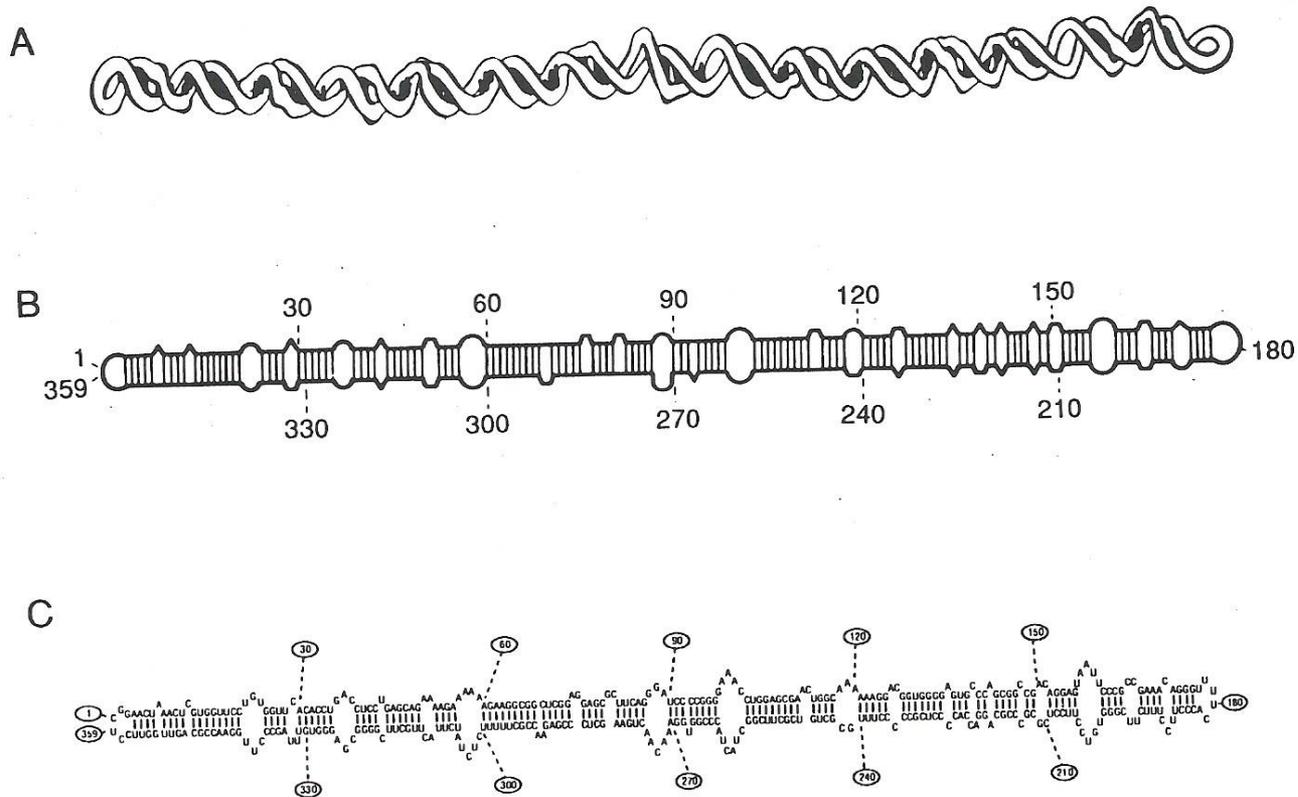
VÍRUS	VETOR	HOSPEDEIRO
Poliovirus	Fezes humana (água/alimento)	Homem
HIV	Injeção direta no sangue	Homem
Catapora	Aerossol	Homem
Febre amarela	Mosquito	Macaco tropical
Dengue	Mosquito	Homem, mosquito, primata
Hepatite A	Fezes humana (água/alimento)	Homem
Hepatite B e C	Injeção direta no sangue	Homem
Raiva	Mordida animal infectado	Vertebrado
Rhinovirus (resfriados)	Aerossol	Homem

VIRÓIDES

- Menor agente infeccioso capaz de causar doença
- Molécula de RNA circular: < 400 nt
- Infecta somente plantas
- Transmissão mecânica, pólen, semente e vetor (?)



Viróide do tubérculo
afilado da batata



Potato spindle tuber viroid (PSTVd): A = representação tridimensional da molécula; B = estrutura secundária proposta e C = sequência de nucleotídeos (Matthews, 1991)