

Biossegurança





Biossegurança

Conjunto de procedimentos adotados com o objetivo de dar proteção e segurança ao profissional e à sua equipe.

Para evitar disseminação e contaminações devem ser empregadas medidas de controle de infecção como a utilização de equipamento de proteção individual (EPI), esterilização de materiais, desinfecção de ambiente e equipamentos.

Equipamentos de Proteção Individual (EPI)

Equipamentos de Proteção Coletiva (EPC)

**Todo dispositivo ou produto de uso individual ou coletivo, utilizado pelo
trabalhador destinados a proteção de riscos que podem ameaçar a
segurança e a saúde no trabalho**

Equipamentos de Proteção Individual - EPI



Equipamento Conjugado de Proteção Individual

Nível de Biossegurança (NB)

- NB é o nível de contenção que permita o trabalho em laboratório com materiais infecciosos de forma segura e com risco mínimo
- Existem quatro níveis de biossegurança: NB-1, NB-2, NB-3 e NB-4, crescentes no maior grau de contenção e complexidade do nível de proteção.
- O NB será determinado segundo o organismo de maior **classe de risco** envolvido no experimento.

Níveis de Biossegurança

NB-1



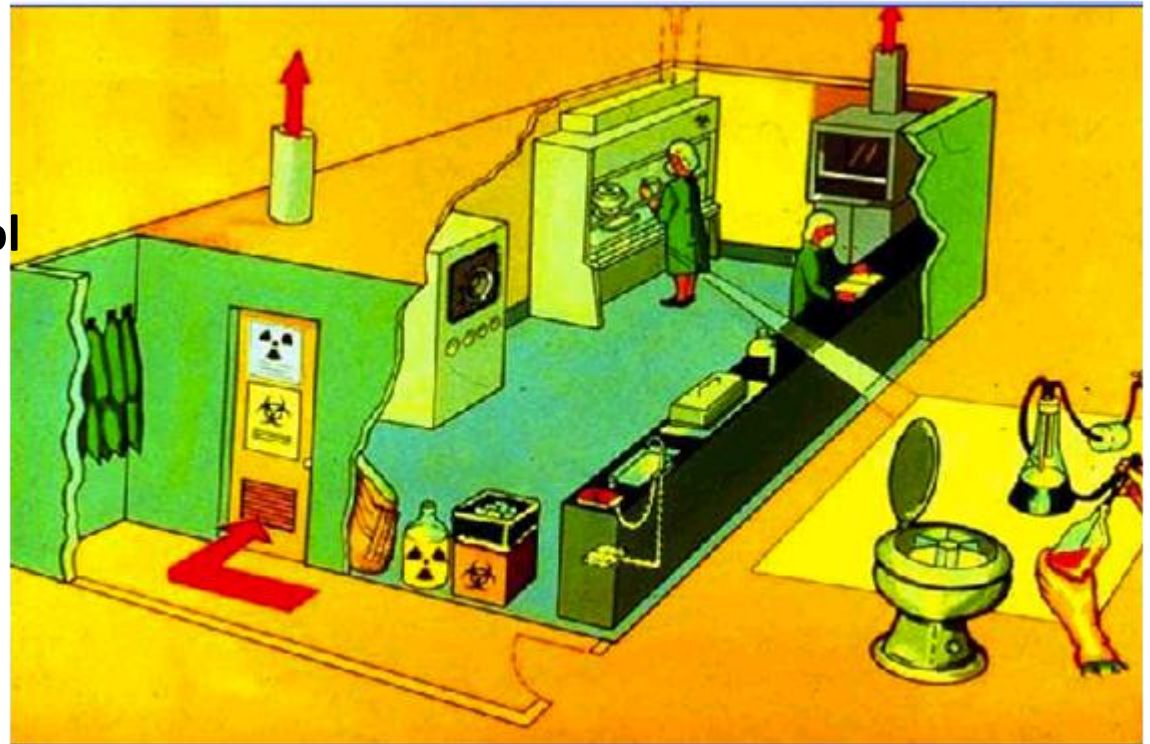
Níveis de Biossegurança

NB-2



Níveis de Biossegurança NB-3

- Fluxo de ar sempre de fora para dentro;
- Filtro de ar para troca de ar do ambiente;
- Usar equipamento de contenção de bioaerossol



Níveis de Biossegurança NB-3



**Respirador →
Com filtro HEPA**



Laboratório – NB3



Níveis de Biossegurança

NB-4



Níveis de Biossegurança NB-4

Sala de troca de roupas



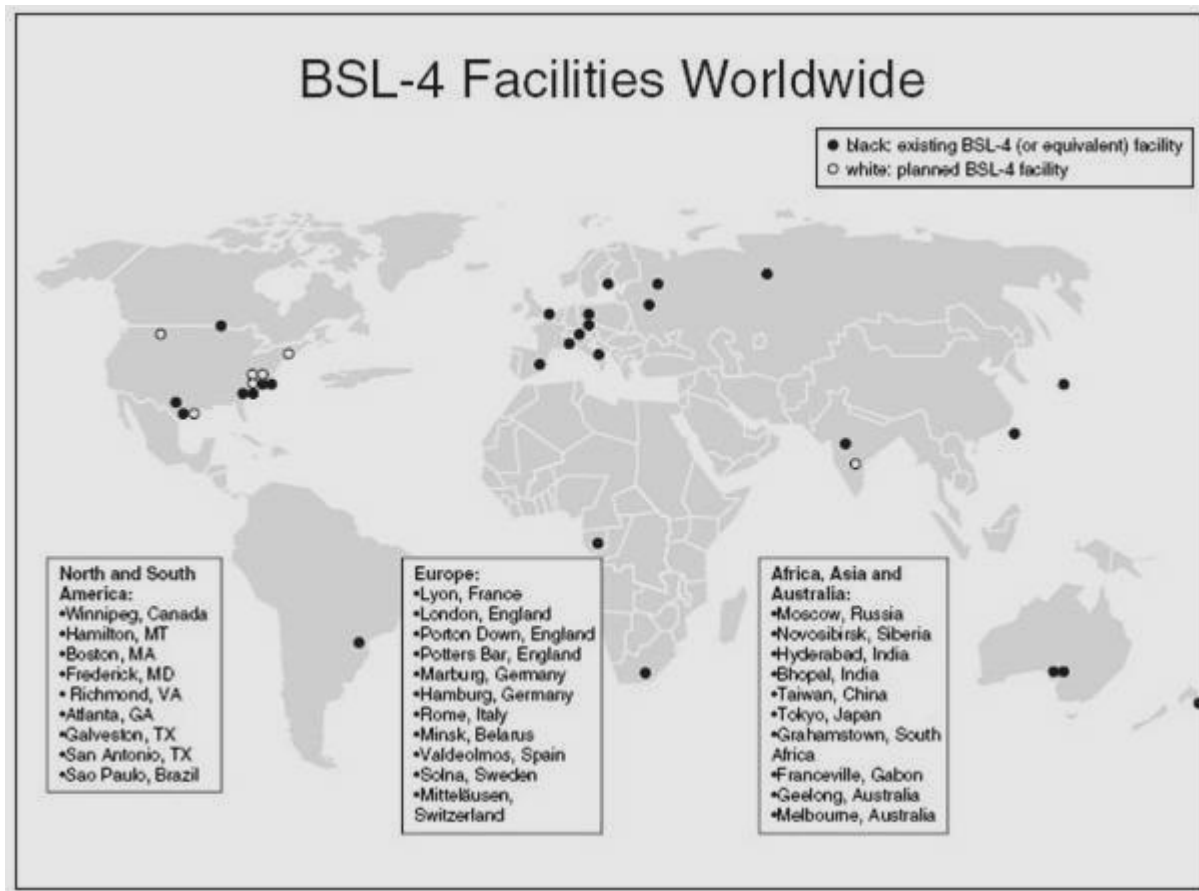
Níveis de Biossegurança

NB-4



Níveis de Biossegurança

NB-4



A grayscale electron micrograph of a virus particle, likely a bacteriophage, showing a distinct head, tail, and tail fibers. The word "Virus" is superimposed in large, bold, black letters with a slight drop shadow.

Virus

Biologia IV

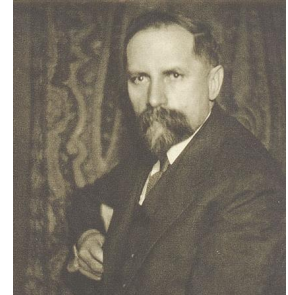
Profa. Dra. Ilana L. B. C. Camargo

Vírus

- Os **vírus** são elementos genéticos que conseguem se replicar apenas no interior de uma célula viva, denominada **célula hospedeira**.
- Os vírus possuem seu próprio genoma e, neste sentido, são independentes do genoma da célula hospedeira.
- No entanto, os vírus dependem da célula hospedeira para energia, intermediários metabólicos e síntese proteica. Os vírus são, portanto, *parasitas intracelulares obrigatórios*.

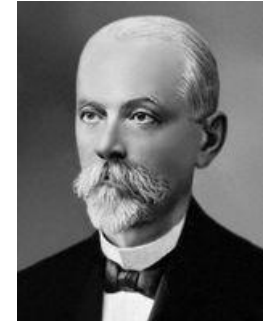
Vírus – Um pouco de história

- **1886**, químico holandês Adolf Mayer: demonstrou que a doença do mosaico do tabaco (DMT) era transmissível de uma planta doente para uma sadia, mas não conseguiu cultivar o agente infeccioso (*não satisfaz os Postulados de Koch*).



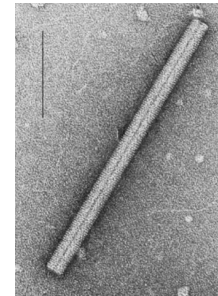
- **1892**: bacteriologista russo Dmitri Iwanowsky tentou isolar o agente da DMT filtrando a seiva de plantas doentes em um filtro de porcelana utilizado para reter bactérias.

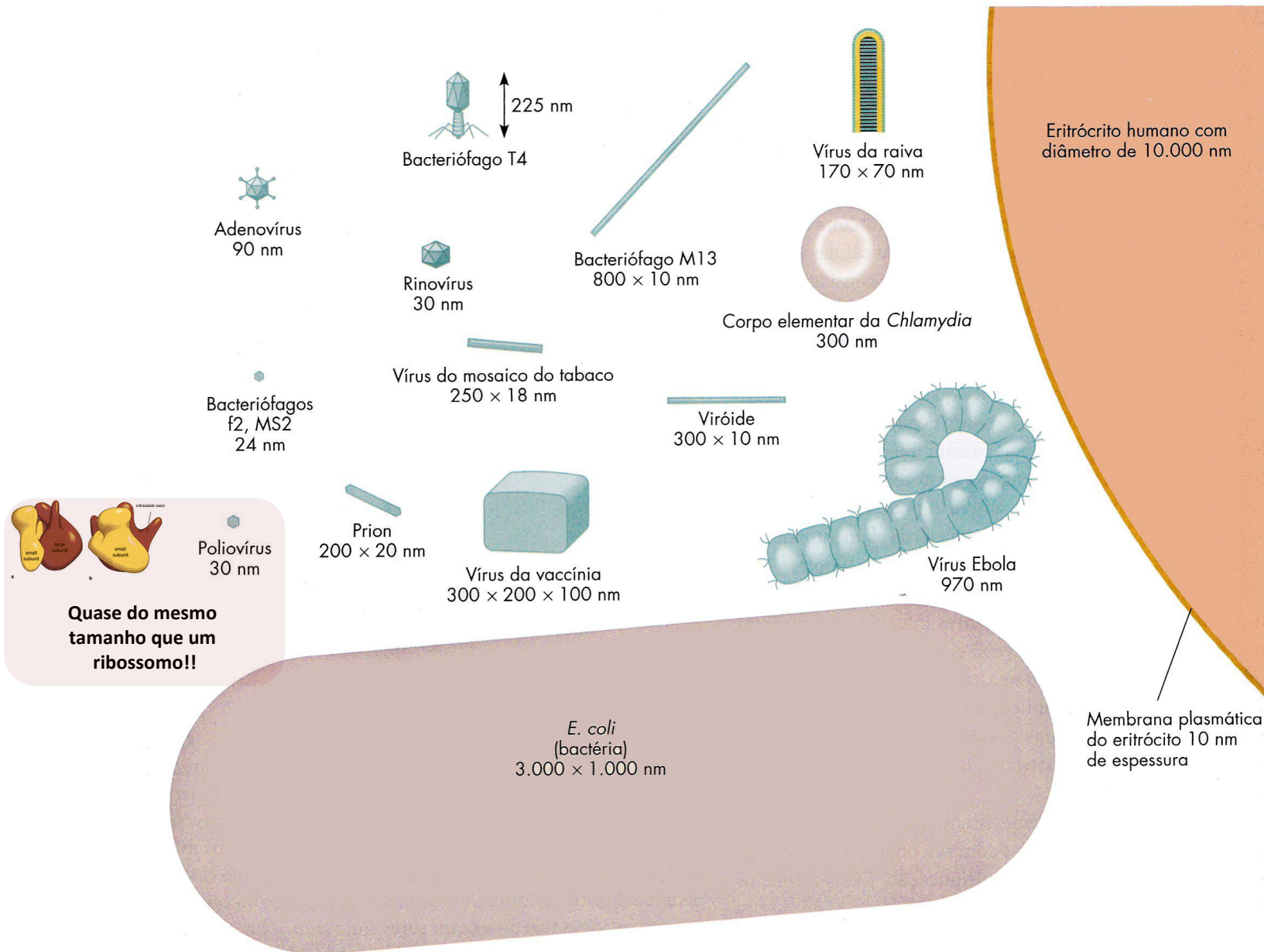
- o agente infeccioso passava pelos poros dos filtros!



- Década de **1930**: uso do termo **virus** (palavra latina para 'veneno') para designar os **agentes filtráveis**.

- **1935**: químico americano Wendell Stanley isolou o vírus do mosaico do tabaco, tornando possível sua visualização no ME.





Tamanho dos vírus (20 – 300 nm). Os vírus estão representados em azul.

Vírus – Características gerais

- Parasitas intracelulares obrigatórios.
- Possuem um único tipo de ácido nucléico: DNA ou RNA.
- Possuem uma cobertura protéica envolvendo o ácido nucléico (às vezes recoberta com um envelope de lipídeos, proteínas e carboidratos).
- Multiplicam-se dentro de células vivas usando a ‘maquinaria’ de síntese das células (não se replicam sozinhos).

Vírus – Características gerais

- Induzem a síntese de estruturas especializadas capazes de transferir o ácido nucléico viral para outras células.
- Possuem poucas enzimas próprias ou mesmo nenhuma para seu metabolismo.
- Infectam invertebrados, vertebrados, plantas, protistas, fungos, bactérias (a maioria infecta tipos específicos de células).
- **Bacteriófagos:** vírus que infectam bactérias
- **Virologia** – ciência que estuda os vírus

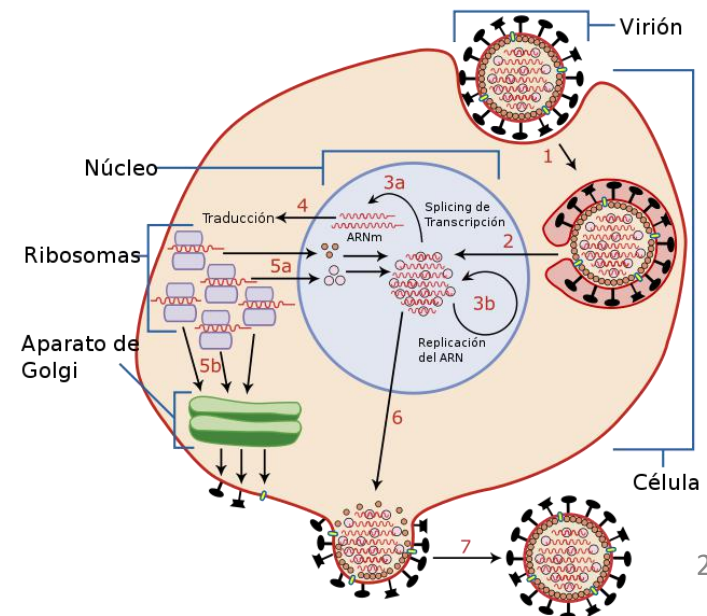
Vírus – segundo Microbiologia de Brock

Forma extracelular dos Vírus não apresenta algumas propriedades características dos sistemas vivos → na ausência de células, vírus não podem existir!!

Vírião – partícula viral completa (estado extracelular): com ácido nucléico envolto por capa proteica e, em alguns casos, outras macromoléculas

Metabolicamente inerte!!
Sem função de respiração ou biossíntese

Corresponde à estrutura que transporta o genoma viral de uma célula para outra



Vírus – Estrutura

Alguns vírions contêm enzimas que desempenham importantes papéis no processo infeccioso:

- **Lisozima** (auxiliam na infecção e lise da parede celular da bactéria);
- **Polimerases de ácidos nucléicos** (ex.: transcriptase reversa que transcreve o RNA viral em um intermediário de DNA, ou ainda RNA polimerase por serem incapazes de sintetizar DNA ou RNA a partir de um molde de RNA);
- **Neuraminidases** (auxiliam a liberação dos vírus de dentro das células animais por clivar as ligações glicosídicas de glicoproteínas e glicolipídios de células animais)

Vírus – Taxonomia

- 1966: Comitê Internacional de Taxonomia Viral (CITV - <https://talk.ictvonline.org/>).
- Agrupamento dos vírus em famílias, baseado:
 - no tipo de ácido nucléico
 - no modo de replicação
 - na morfologia
- Sufixo **–ales**: usado para ordens
- Sufixo **–viridae** : usado para as famílias
- Sufixo **–virus** : usado para os gêneros.
- Espécies: designadas pelo **nome vulgar**
- Subespécie: por **número**

Vírus – Taxonomia

- **Espécie viral** → grupo de vírus que compartilham a mesma informação genética e o mesmo nicho ecológico
- Não foram designados epítetos específicos: espécies virais são designadas por nomes vulgares, ex.: vírus da imunodeficiência humana (HIV)
- Exemplo:

Família Herpesviridae

Gênero *Simplexvirus*

Espécie e subespécie: vírus do herpes humano tipo 2

(Ver tabela 13.2 do livro do Tortora para mais exemplos de famílias de vírus que afetam os seres humanos.)

Classificação de Baltimore

David Baltimore – 1975 Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina com Howard Temin e Renato Dulbecco

Baseado na relação entre o genoma viral e seu mRNA

Table 9.2 *The Baltimore classification system of viruses*

Class	Description of genome and replication strategy	Examples	
		Bacterial viruses	Animal viruses
I	Double-stranded DNA genome	Lambda, T4	Herpesvirus, pox virus
II	Single-stranded DNA genome	φX174	Chicken anemia virus
III	Double-stranded RNA genome	φ6	Reoviruses (↻ Section 21.10)
IV	Single-stranded RNA genome of plus configuration	MS2	Poliovirus
V	Single-stranded RNA genome of minus configuration		Influenza virus, rabies virus
VI	Single-stranded RNA genome that replicates with DNA intermediate		Retroviruses
VII	Double-stranded DNA genome that replicates with RNA intermediate		Hepatitis B virus

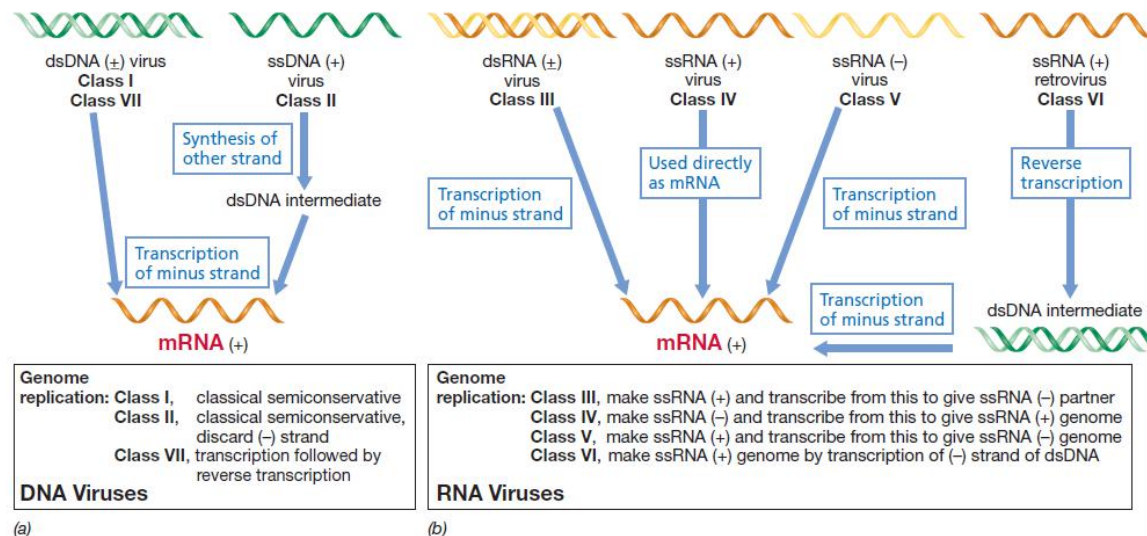


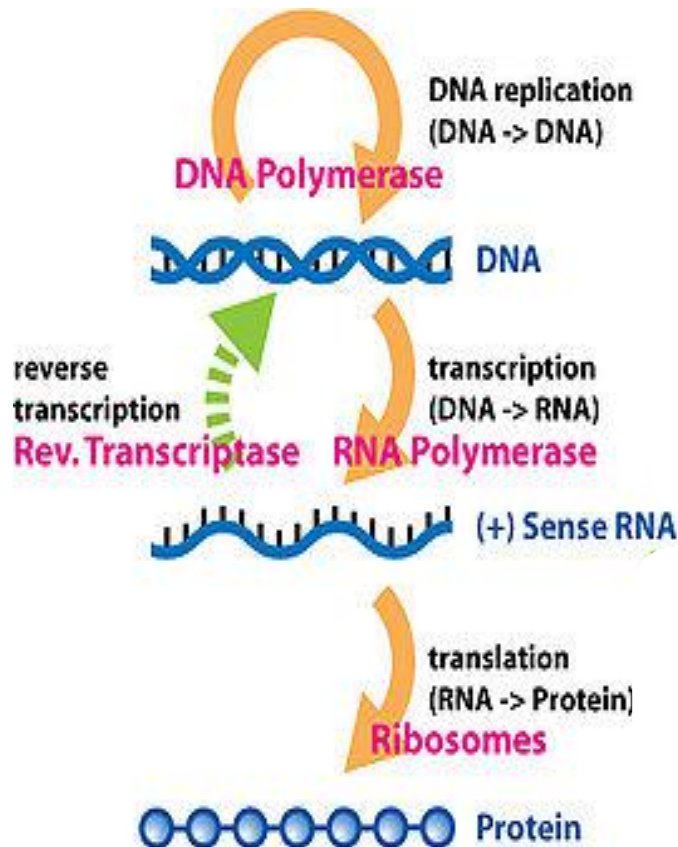
Figure 9.11 Formation of mRNA and new genomes in (a) DNA viruses and (b) RNA viruses. By convention, mRNA is always considered to be of the plus (+) orientation. Examples of each class of virus are given in Table 9.2.

Vírus – Estrutura

Apesar da diversidade,

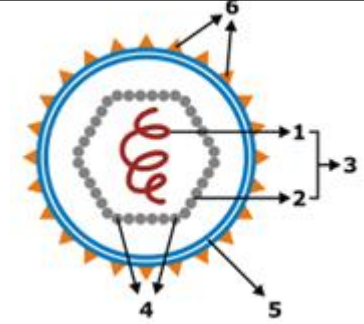
os vírus obedecem ao ***Dogma central*** da biologia:

toda informação genética flui do ácido nucléico para a proteína



→ Automontagem

Vírus – Estrutura



- **Vírião**: partícula viral completa e infecciosa.

- Composta de:

1) **ácido nucléico**: DNA (fs), DNA (fd), RNA (fs) ou RNA (fd); linear ou circular.

2) **capsídeo**: cobertura protéica do ácido nucléico;
subunidades – **capsômeros (conjuntos de proteínas) (4)**.

3) **Nucleocapsídeo**

5) **envelope**: presente em alguns vírus; composto de carboidratos, proteínas e lipídeos; pode ser a própria membrana plasmática da célula hospedeira.

- podem apresentar **espículas (6)**: projeções de carboidrato-proteína na superfície do envelope; função de ancoragem na célula hospedeira. Podem ser usadas na identificação.

- *Influenzavirus*: alterações constantes nas espículas, por mutações, dificultam imunização permanente.

Vírus – Estrutura

- **Vírus que não são cobertos por envelopes: não envelopados**

→ **capsídeo** que protege o genoma viral do ataque pelas nucleases dos líquidos biológicos e que promove o ancoramento da partícula às células sensíveis

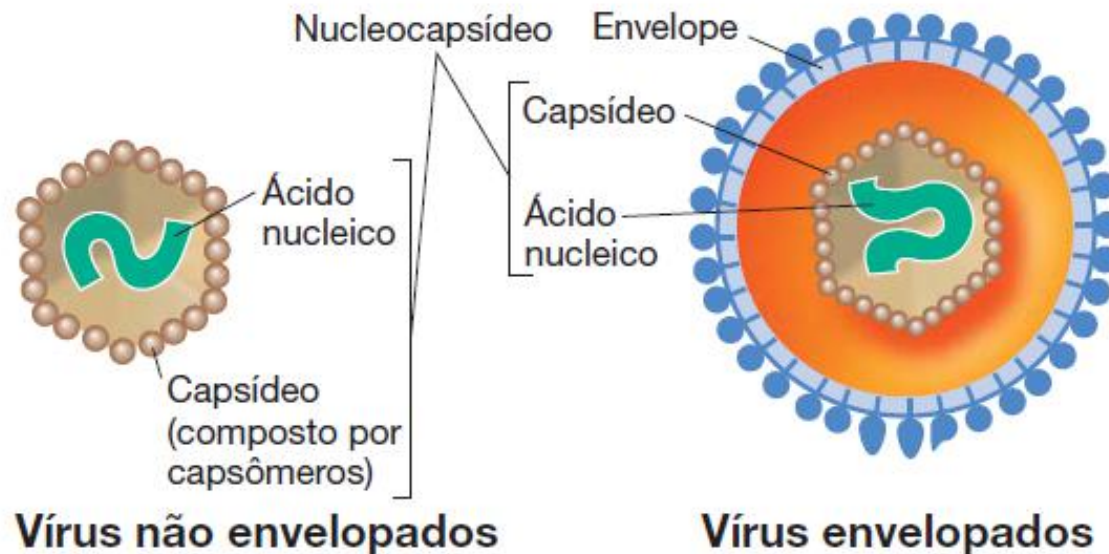


Figura 8.1 Comparação entre vírus não envelopados e envelopados. O envelope origina-se da membrana citoplasmática do hospedeiro.

Vírus – Estrutura

- Capsômero – menor unidade morfológica que pode ser visualizada ao microscópio eletrônico
- Informação para dobramento e associação adequados das proteínas nos capsômeros está contida na estrutura das próprias proteínas → montagem do vírion = auto-montagem

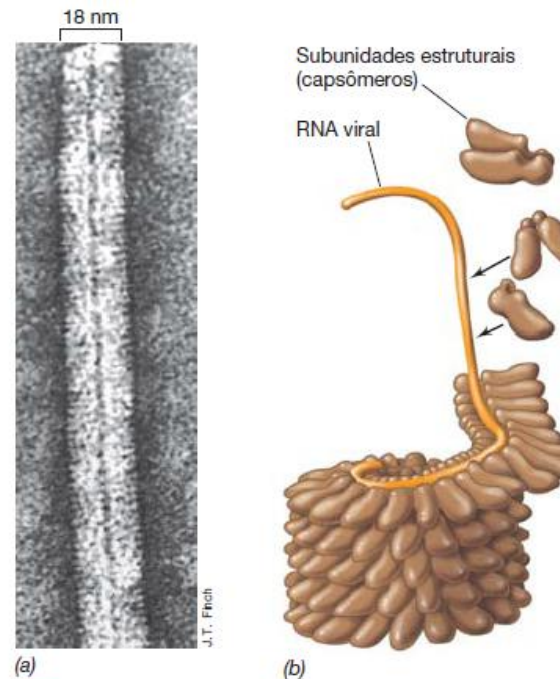
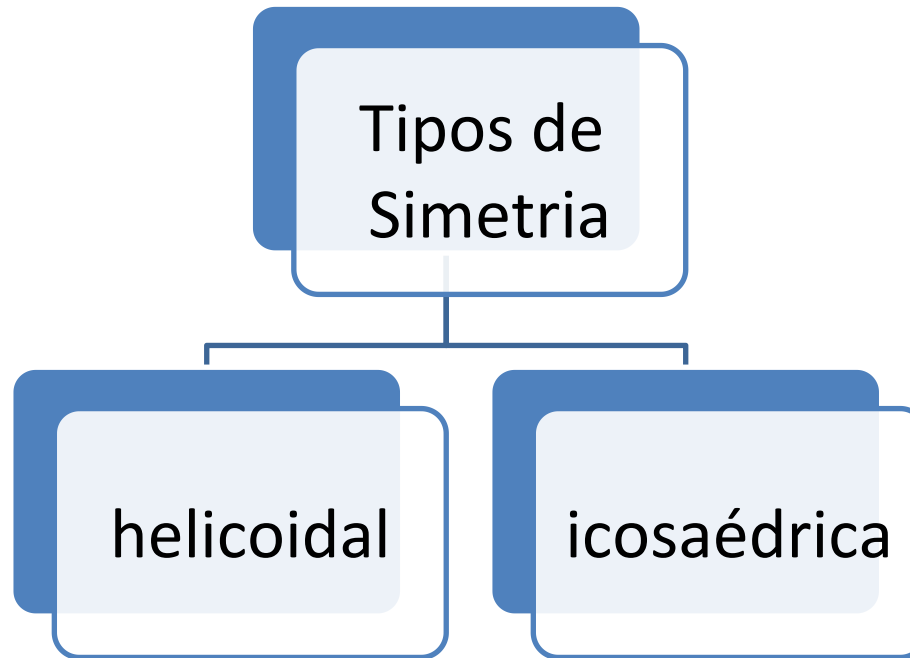


Figura 8.3 Arranjo do RNA e da capa proteica em um vírus simples, o vírus do mosaico do tabaco. (a) Micrografia eletrônica de alta resolução de uma porção da partícula do vírus do mosaico do tabaco. (b) Montagem mostrando a estrutura do vírion. O RNA assume uma configuração helicoidal, sendo circundado por subunidades proteicas (capsômeros). O centro da partícula é oco.

Vírus – Morfologia

Baseada na arquitetura do nucleocapsídeo

Como os capsômeros estão organizados no capsídeo



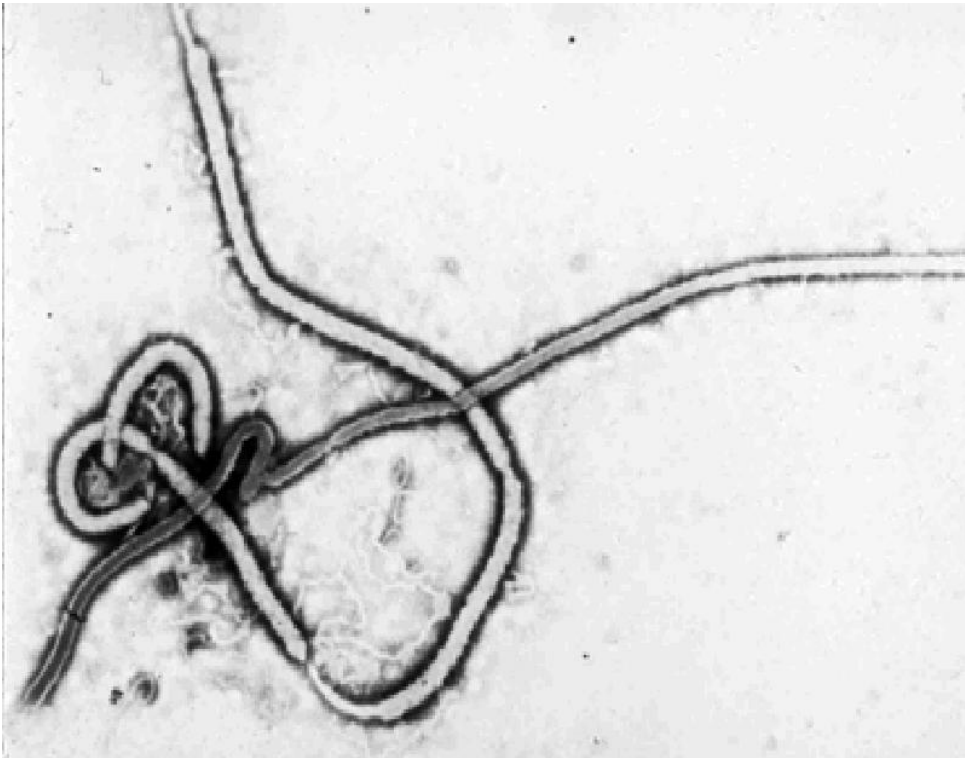
Forma do vírus:

cilíndrica

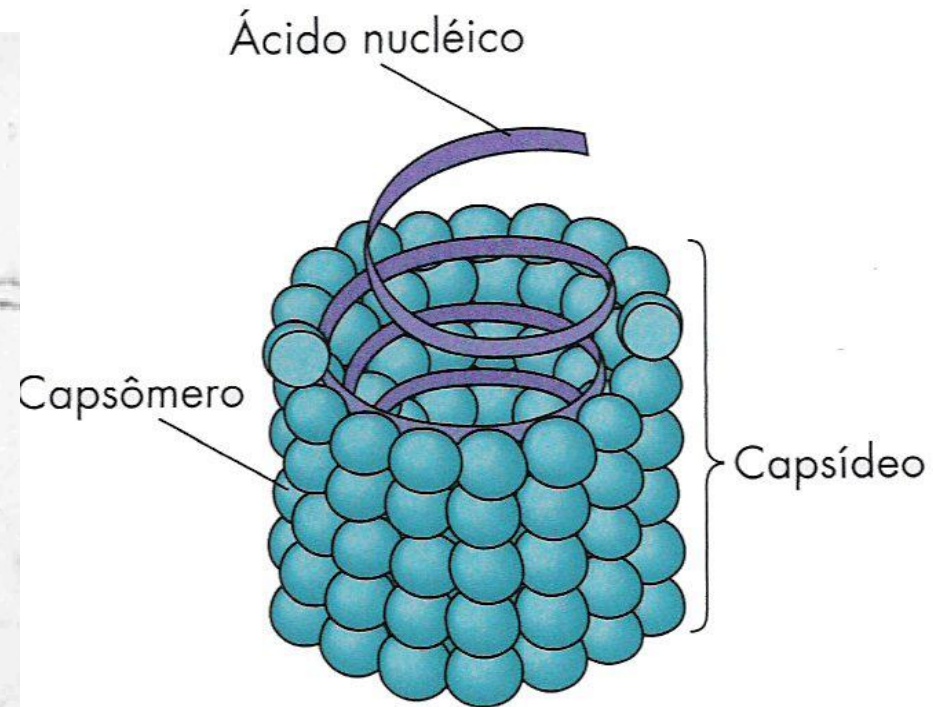
esféricos

- **Vírus helicoidais**
- **Vírus Poliédricos**
- **Vírus Envelopados**
- **Vírus Complexos**

Vírus helicoidal.



Vírus Ebola



(a) Vírus helicoidal

“longos bastões” – rígidos ou flexíveis

Genoma viral no interior do capsídeo cilíndrico oco com estrutura helicoidal

Vírus poliédrico não-envelopado.

Poliedro é um sólido geométrico cuja superfície é composta por um número finito de faces, em que cada uma das faces é um polígono. Os seus elementos mais importantes são as faces, as arestas e os vértices

Icosaedro – 20 faces e 12 vértices
Morfologia ligeiramente esférica

Arranjo mais eficiente
Com menor número de unidades
para construir o envoltório
fechado

Arranjo mais simples de
capsômeros corresponde a 3 por
face, com total de 60 por vírion

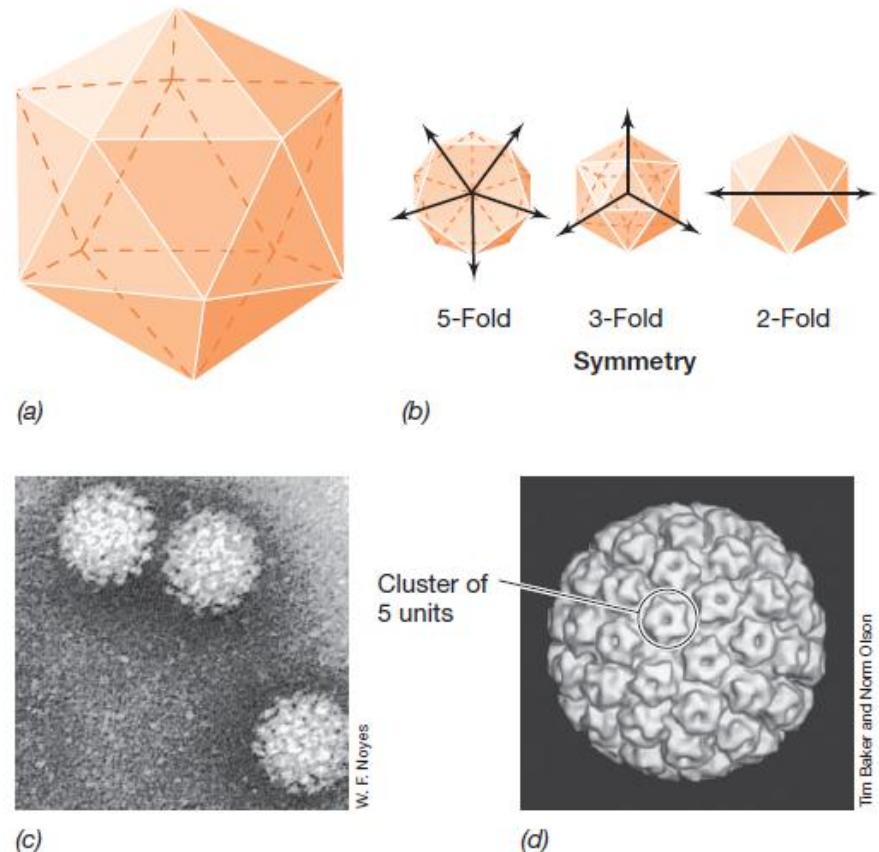
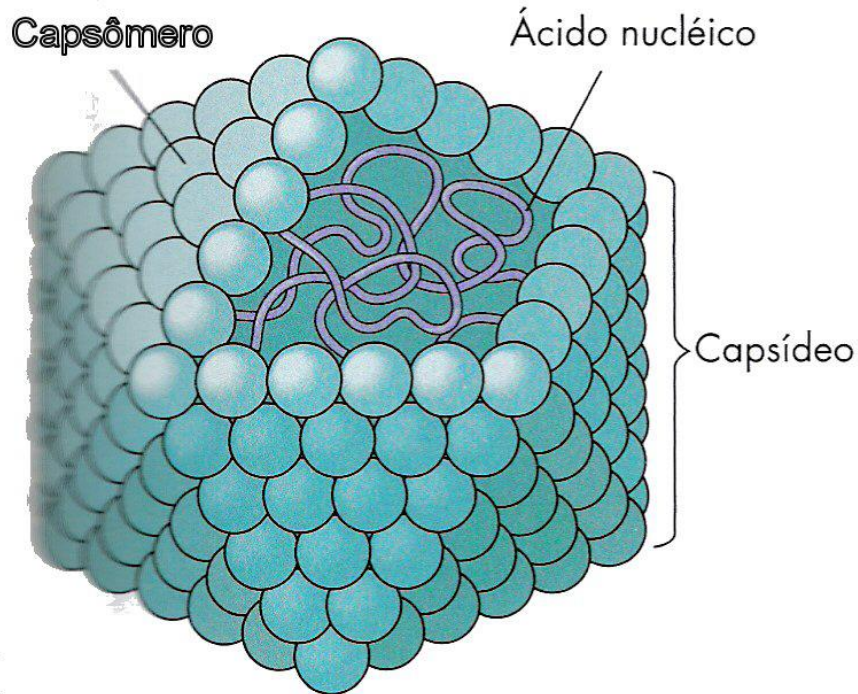
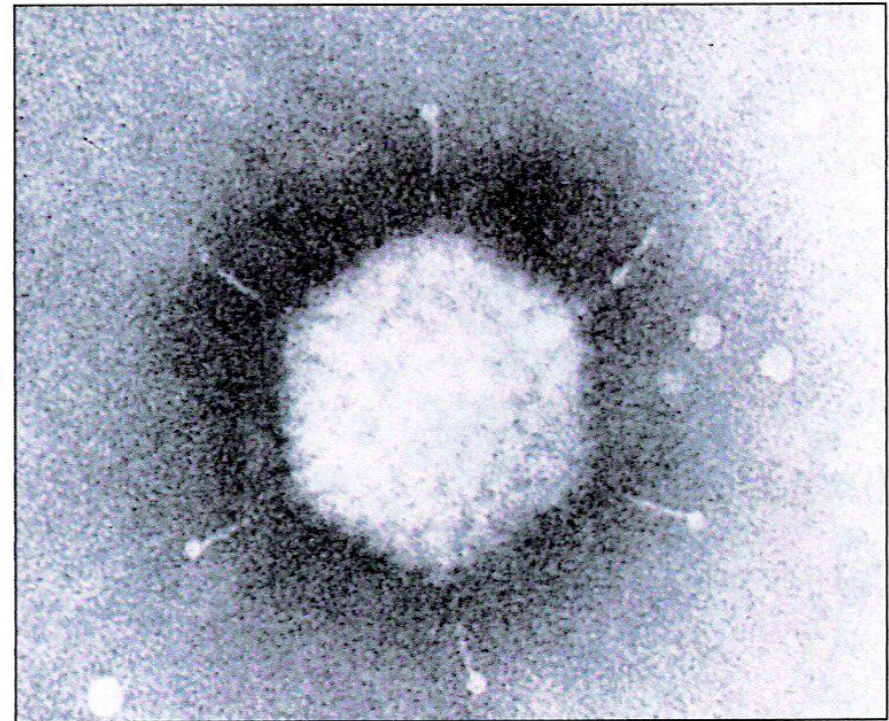


Figure 9.4 Icosahedral symmetry. (a) A model of an icosahedron. (b) Three views of an icosahedron showing the 5-3-2 symmetry. (c) Electron micrograph of human papillomavirus, a virus with icosahedral symmetry. The virion is about 55 nm in diameter. (d) Three-dimensional reconstruction of human papillomavirus calculated from images of frozen hydrated virions. The virus contains 360 units arranged in 72 clusters of 5 each.

Vírus poliédrico não-envelopado.



Vírus poliédrico



(b) Mastadenovirus

MET 40 nm

* (Vírus que infecta mamíferos e que está associado a infecções gastrointestinais, urinárias e respiratórias)

Icosaédrico

Capsômero de cada face: triângulo equilátero

Ex. Vírus da raiva

Vírus envelopado

Envelope: bicamada lipídica com proteínas (Glicoproteínas)

Lipídeos derivados da membrana das células hospedeiras

Proteínas são codificadas pelos genes virais

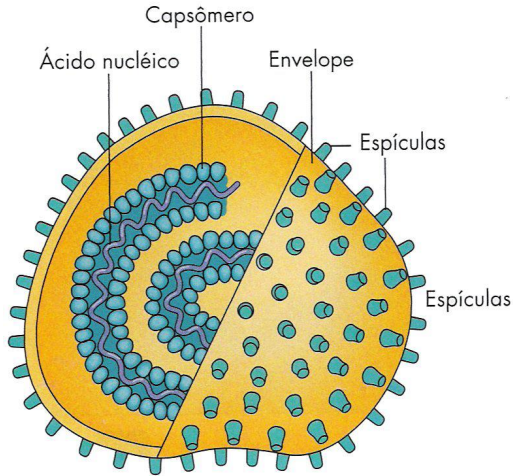


Críticas para adesão do vírion à célula hospedeira durante a infecção ou para liberação do vírion após replicação.

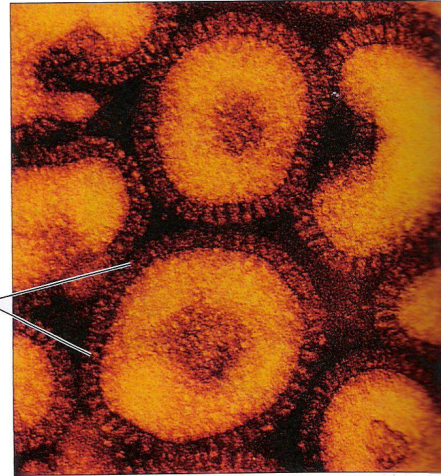
Especificidade da infecção viral e alguns aspectos da penetração do vírus são controlados, em parte, pelas características dos envelopes virais

Vírus helicoidal envelopado.

Influenzavirus



(a) Vírus helicoidal envelopado



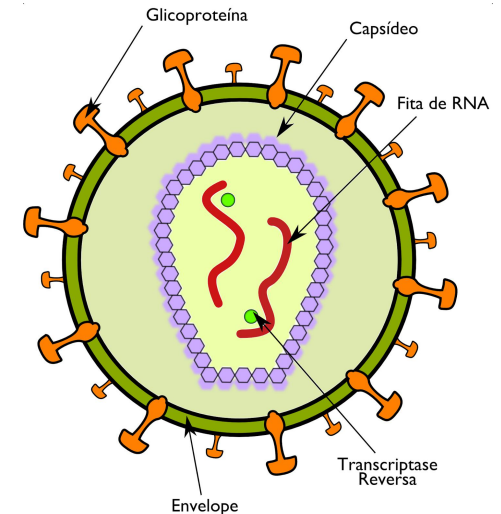
(b) Influenzavirus

**Simetria expressa pelo nucleocapsídeo
no interior do envelope**

~ esféricos

Ex.: Vírus da gripe (gênero *Influenza*)

HIV



Vírus complexo. Bacteriófago T-par.

Poliédrico

Cabeça
Capsídeo

Helicoidal

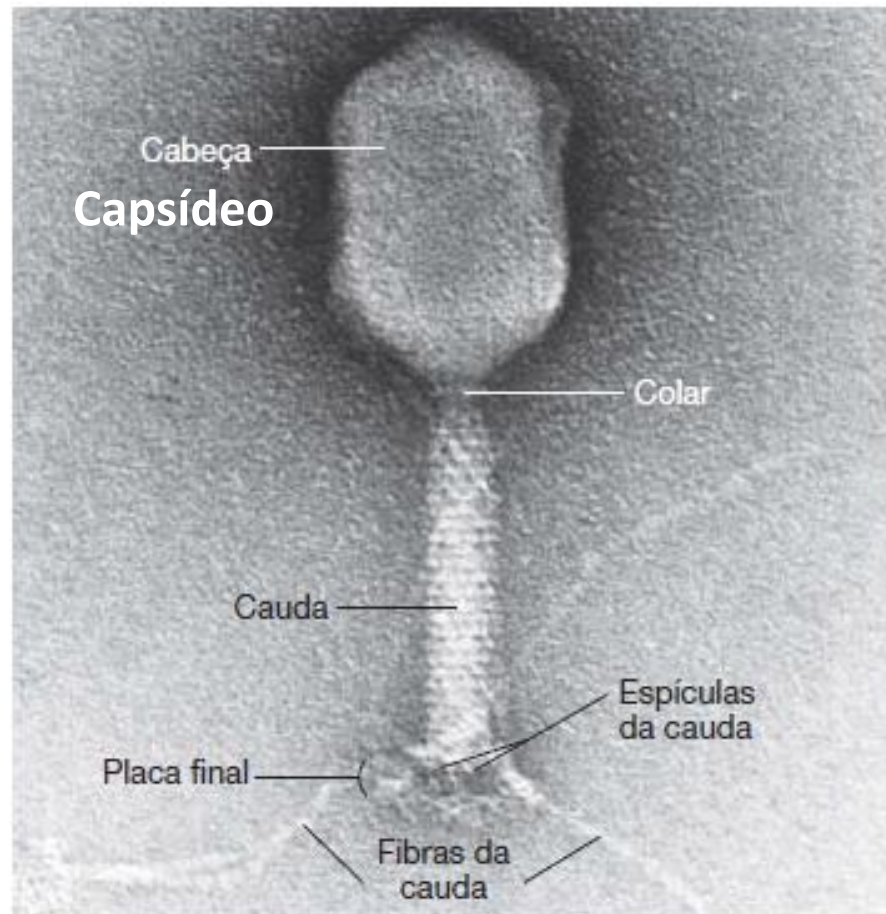


Figura 8.20 Estrutura de T4, um bacteriófago complexo. Micrografia eletrônica de transmissão do bacteriófago T4 de *Escherichia coli*. Os componentes da cauda atuam na ligação do vírion ao hospedeiro e na injeção do ácido nucleico (ver Figura 8.11). A cabeça T4 tem cerca de 85 nm de diâmetro.

Receptores de bacteriófagos

Ligação

O principal fator determinante para a especificidade de um vírus é a *ligação*. O próprio vírion possui uma ou mais proteínas na superfície externa que interagem com componentes específicos da superfície celular, denominados *receptores*. Na au-

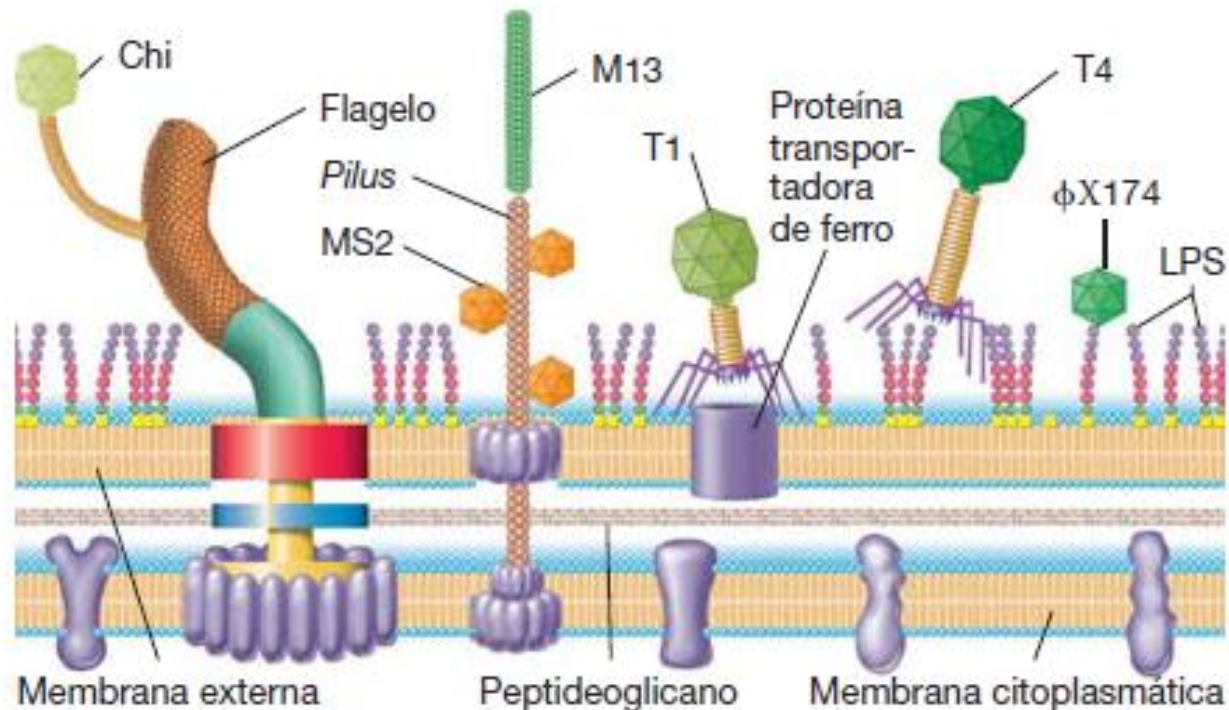
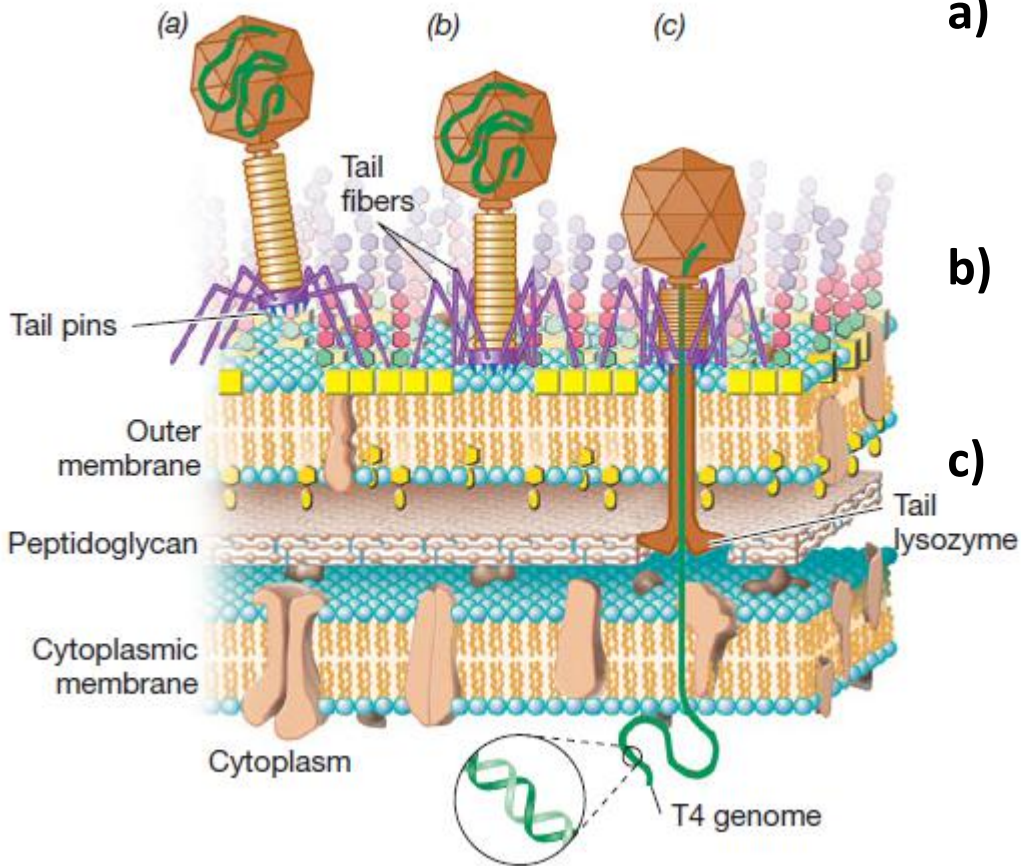


Figura 8.10 Receptores de bacteriófagos. Exemplos de sítios de receptores celulares utilizados por diferentes bacteriófagos que infectam *Escherichia coli*. Todos os fagos retratados são fagos de DNA, exceto MS2.

Vírus complexo. Bacteriófago T-par.



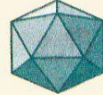
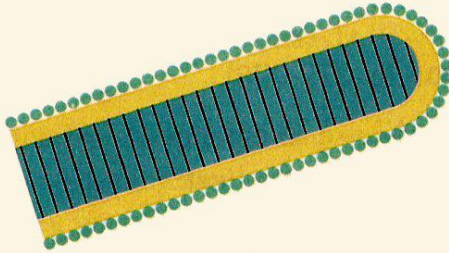
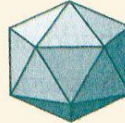
- a) **Ligação do vírion T4 à parede celular pela interação das longas fibras da cauda com o lipopolissacarídeo;**
- b) **Contato das espículas da cauda com a parede celular;**
- c) **Contração da bainha da cauda e injeção do genoma de T4. O tubo da cauda penetra na membrana externa e a lisozima da cauda cria uma pequena abertura através do peptideoglicano**

Comparação entre Vírus e Bactérias

Table 13.1 Viruses and Bacteria Compared

	Bacteria		Viruses
	Typical Bacteria	Rickettsias/Chlamydias	
Intracellular Parasite	No	Yes	Yes
Plasma Membrane	Yes	Yes	No
Binary Fission	Yes	Yes	No
Pass through Bacteriological Filters	No	No/Yes	Yes
Possess Both DNA and RNA	Yes	Yes	No
ATP-Generating Metabolism	Yes	Yes/No	No
Ribosomes	Yes	Yes	No
Sensitive to Antibiotics	Yes	Yes	No
Sensitive to Interferon	No	No	Yes

Alguns dos principais vírus de plantas

Características	Família Viral	Gêneros Virais ou Membros sem Classificação	Morfologia	Método de Transmissão
DNA de dupla fita, não-envelopado	Papovaviridae	Vírus do mosaico da couve-flor		Afídios
RNA de simples fita, positiva, não-envelopado	Picornaviridae	Vírus do mosaico do feijão		Pólen
	Tetraviridae	<i>Tobamovirus</i>		Lesões
RNA de simples fita, negativa, envelopado	Rhabdoviridae	Vírus do nanismo amarelo da batata		Cigarras e afídios
RNA de dupla fita, não-envelopado	Reovírus	<i>Wound tumor virus</i>		Cigarras

Replicação viral

- Para um vírus se replicar, deve induzir uma célula hospedeira viva a sintetizar todos os componentes essenciais à produção de mais vírus.
- Replicação é dividida em 5 etapas:
 - 1) **Ligação/Adsorção**
 - 2) **Penetração**
 - 3) Síntese de ácidos nucleicos e proteínas virais/**Biossíntese**
 - 4) **Maturação** = Montagem dos capsídeos + empacotamento
 - 5) **Liberação** de vírions maduros

Replicação viral

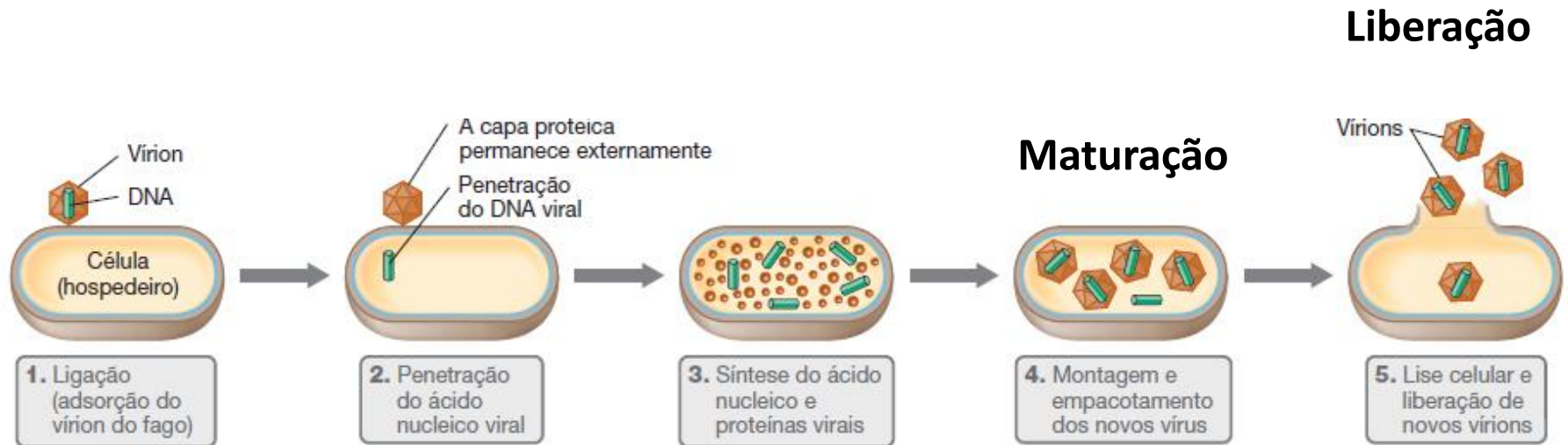


Figura 8.6 Ciclo de replicação de um vírus bacteriano. Os vírions e a célula não estão representados em escala. O tamanho da população liberada pode ser de uma centena ou mais vírions por célula.

Proteínas virais

mRNA produzido → proteínas virais

Categorias:

- 1) Proteínas sintetizadas logo após a infecção, necessárias para replicação do ácido nucleico viral → **Proteínas precoces**

Atuam cataliticamente e são produzidas em menor quantidade

- 2) Proteínas sintetizadas posteriormente que incluem as da capa viral → **Proteínas tardias**

Normalmente são componentes estruturais e produzidas em maior quantidade

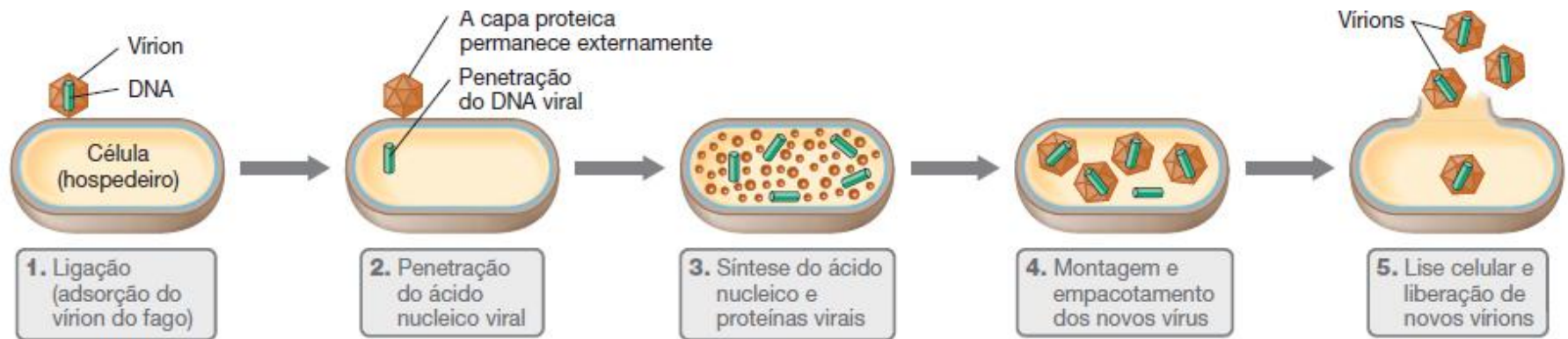
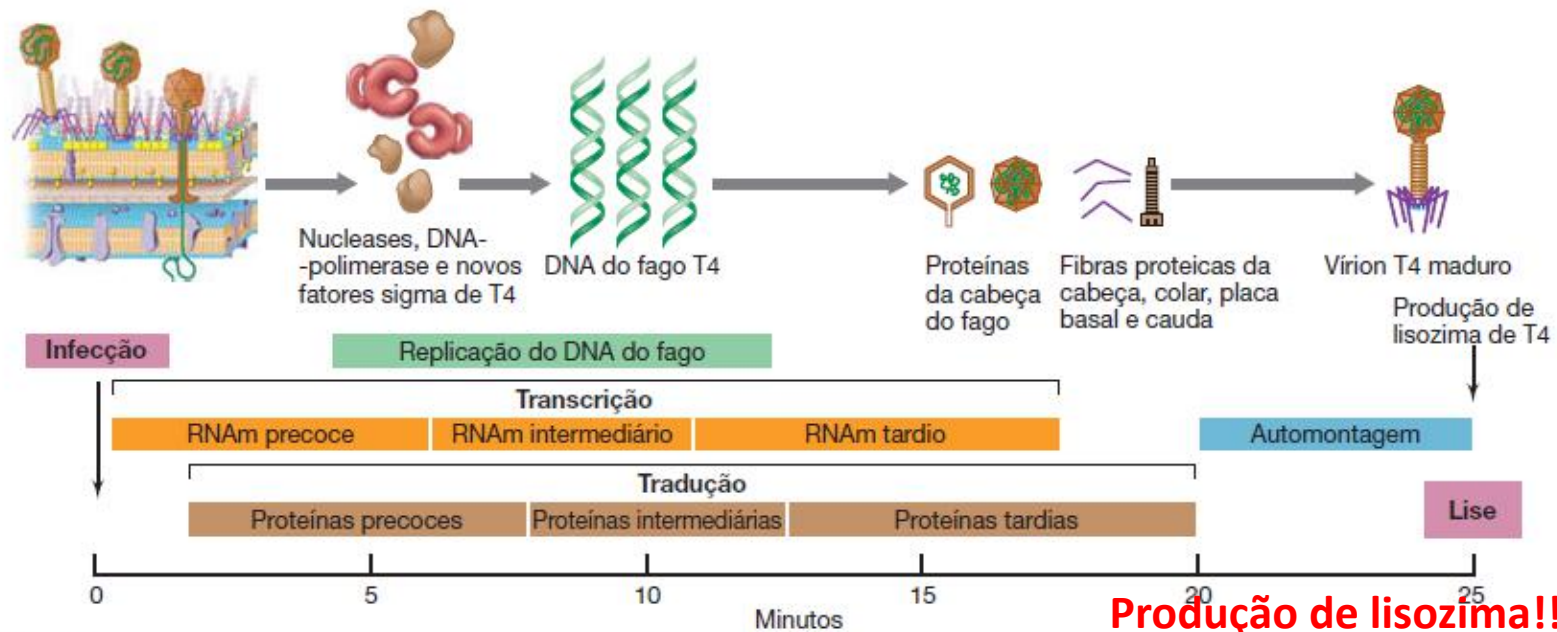


Figura 8.6 Ciclo de replicação de um vírus bacteriano. Os vírions e a célula não estão representados em escala. O tamanho da população liberada pode ser de uma centena ou mais vírions por célula.



Produção de lisozima!!

Figura 8.13 Tempo de duração dos eventos que ocorrem na infecção pelo fago T4. Após a injeção de DNA, são produzidos os RNAm precoces e intermediários, que codificam nucleases, DNA-polimerase de T4, novos fatores

sigma específicos do fago e outras proteínas necessárias à replicação de DNA. O RNAm tardio codifica as proteínas estruturais do vírion do fago e a lisozima T4, necessária à lise celular e à liberação dos novos vírions.

Infectividade das partículas virais desaparece
(desnudamento das partículas)

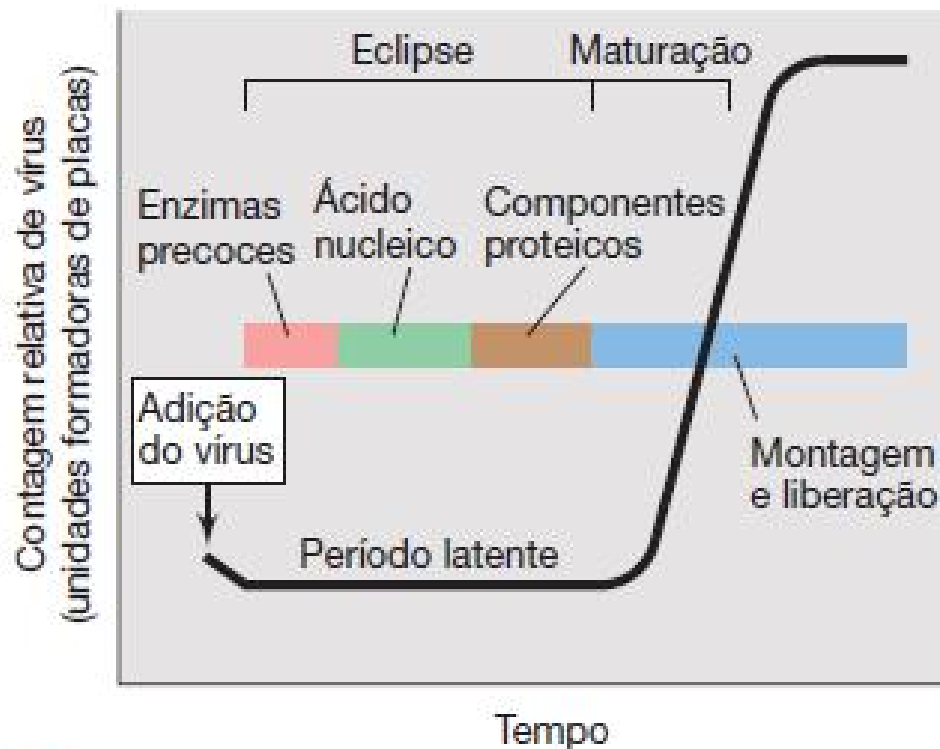


Figura 8.7 Curva de replicação viral em ciclo único. Após a adsorção, vírions infecciosos não podem ser detectados no meio de cultura, um fenômeno denominado *eclipse*. Durante o período latente, que inclui a eclipse e as fases precoces de maturação, o ácido nucleico viral é replicado e ocorre a síntese proteica. Durante o período de maturação, o ácido nucleico viral e as proteínas são agrupados para formar vírions maduros, os quais são, então, liberados da célula hospedeira.

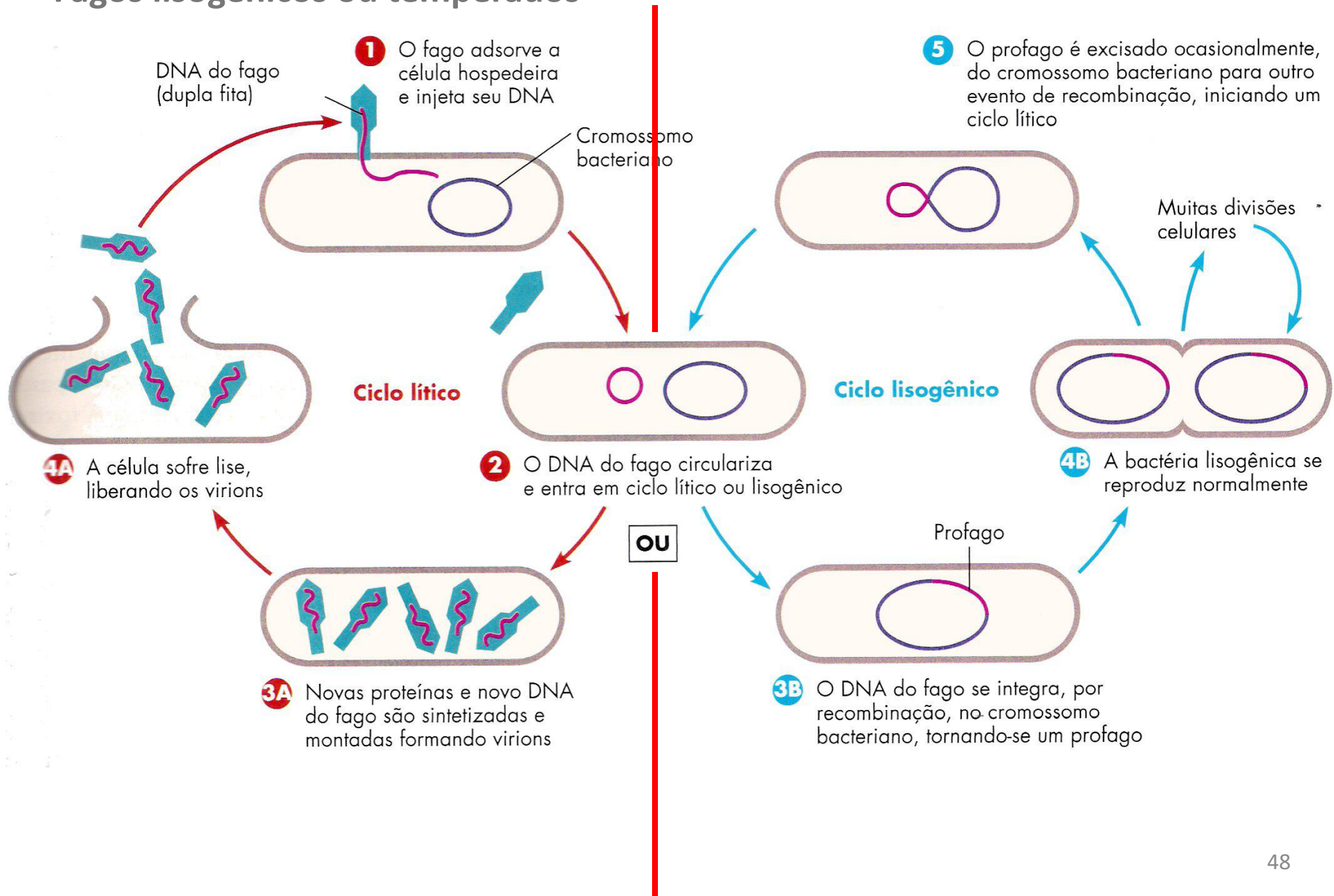
Multiplicação Viral

- Ácido nucléico viral codifica poucos genes necessários à biossíntese de novos vírus.
 - proteínas do capsídeo
 - algumas enzimas envolvidas na replicação do ácido nucléico
- Célula hospedeira geralmente “fornece”: enzimas para a síntese protéica, ribossomos, tRNA e ATP.
- Ciclo de vida viral melhor conhecido é o dos bacteriófagos.
 - **ciclo lítico** (lise e morte da célula hospedeira).
 - **ciclo lisogênico** (célula hospedeira permanece viva).



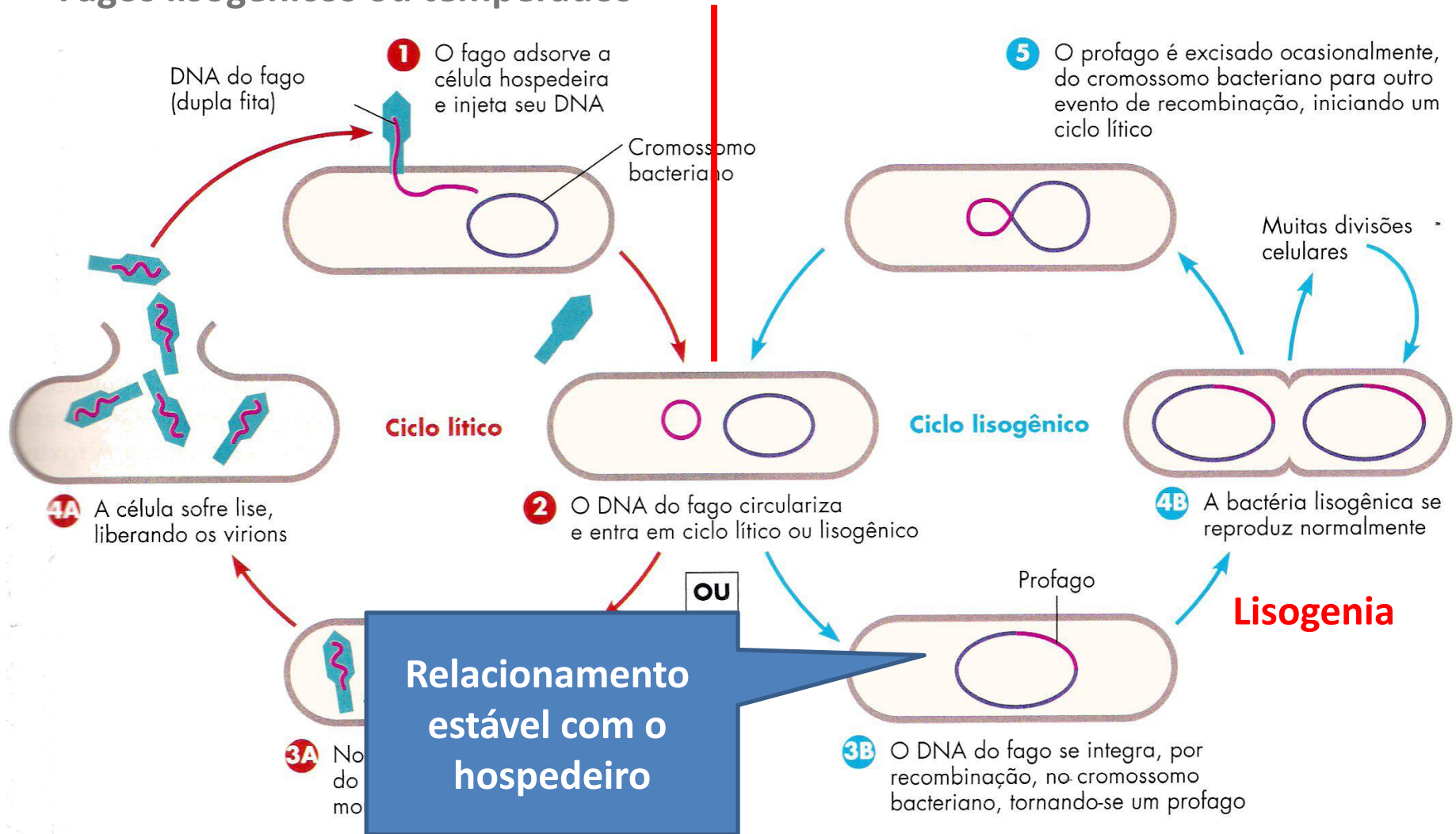
Ciclos Lítico e Lisogênico do bacteriófago λ em *E. coli*.

Fagos lisogênicos ou temperados



Ciclos Lítico e Lisogênico do bacteriófago λ em *E. coli*.

Fagos lisogênicos ou temperados



Lisogenia

- Apresenta 3 consequências para a célula hospedeira:
 1. célula lisogênicas **são imunes à reinfecção pelo mesmo fago** (mas não a outros tipos)
 2. **fago conversão**: adquirem novas propriedades. Exemplo: toxina de *Corynebacterium diphtheriae* é sintetizada a partir de um gene do profago.
 3. **transdução especializada**: transferência de determinados genes bacterianos via profago.

Vírus – Cultivo

Vírus + células = cultivo!

Procariotos

Eucariotos

Plantas

Animais

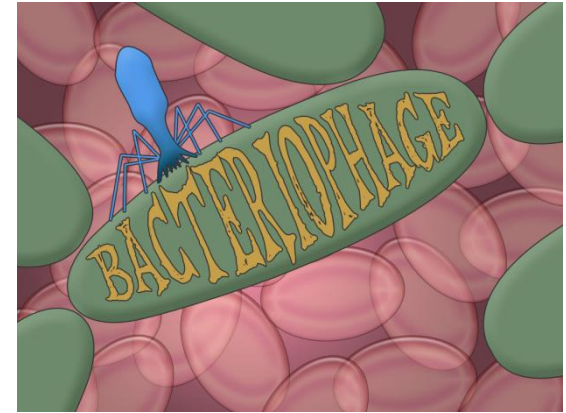


<http://www.giantmicrobes.com/us/products/T4.html>

Vírus – Cultivo

- Vírus + células = cultivo!

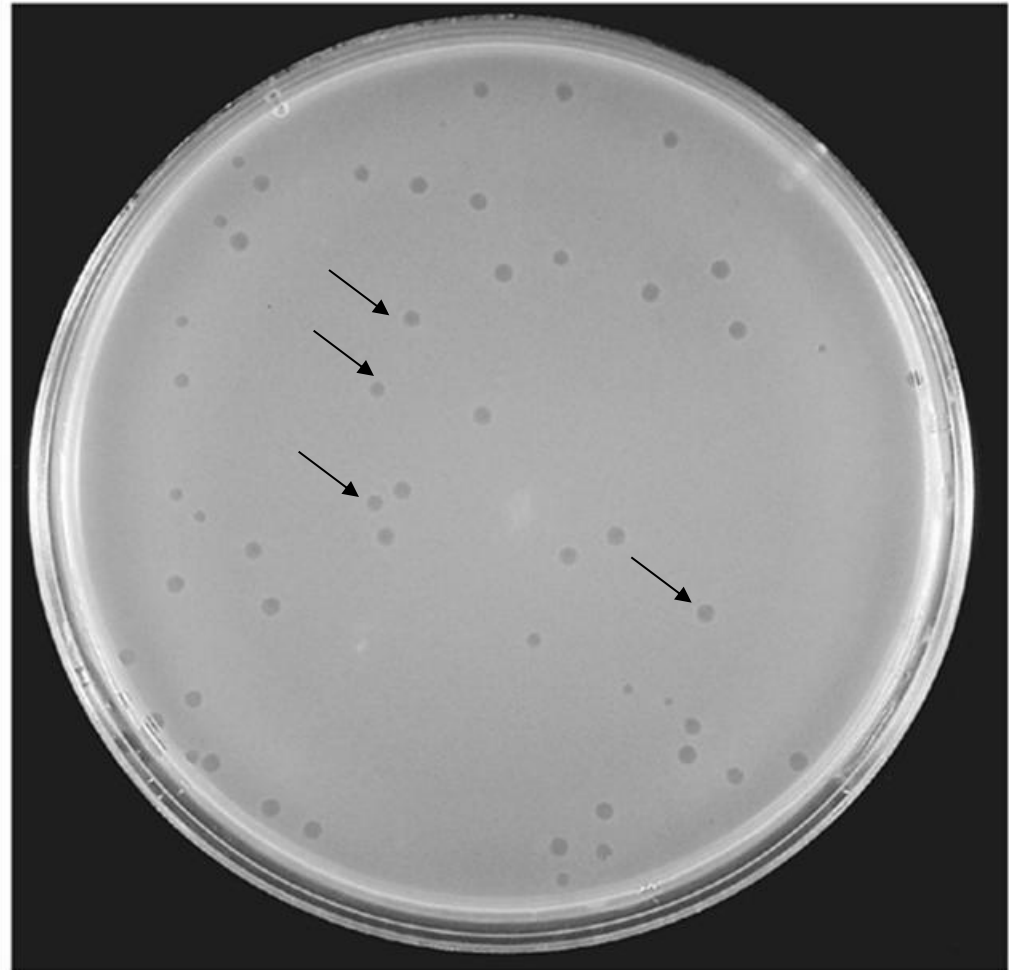
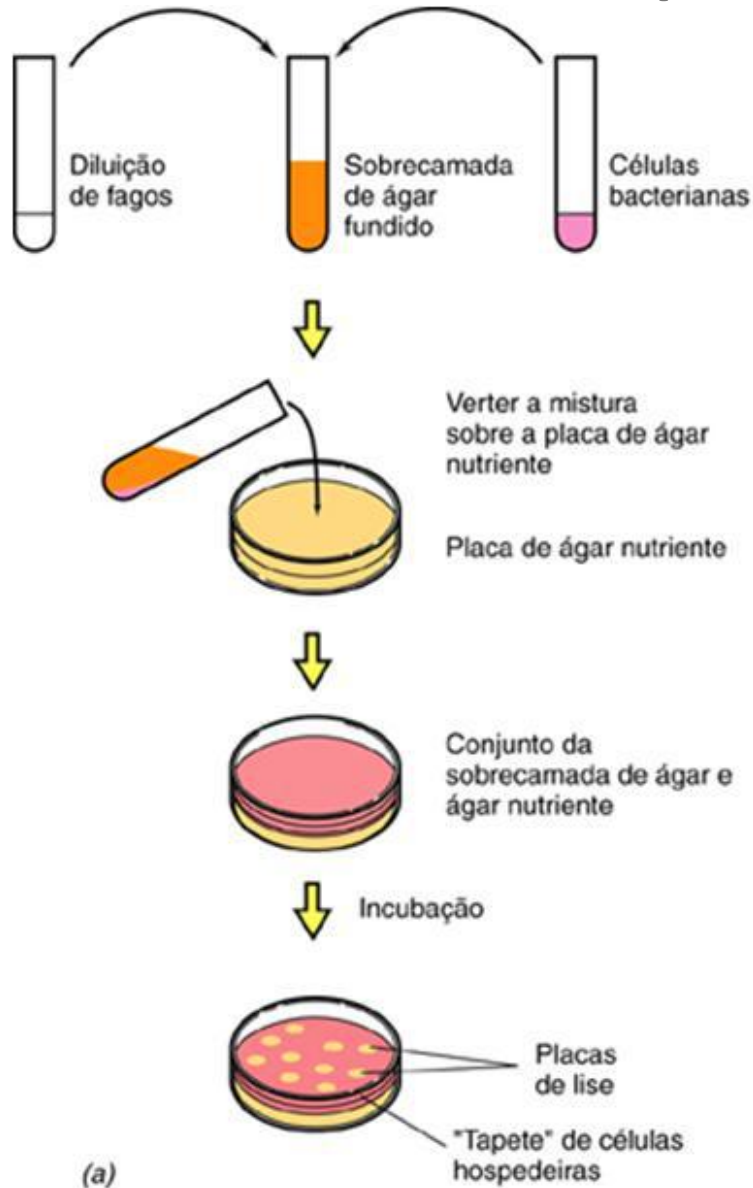
Requerem laboratórios de nível de biossegurança 2 ou 3 dependendo do vírus



- Cultivo de bacteriófagos em laboratório
 - crescem em meio líquido e sólido com células bacterianas em cultura pura
 - *método da placa de lise*: detecção e contagem de partículas virais

Vírus – Cultivo vírus bacterianos

Método de placa: detecção e contagem



Quantificação de vírus bacterianos utilizando o ensaio de formação de placas de lise pela técnica de sobrecamada de ágar. Unidades formadoras de placas (UFP)

Vírus – Cultivo vírus bacterianos

Método de placa: detecção e contagem



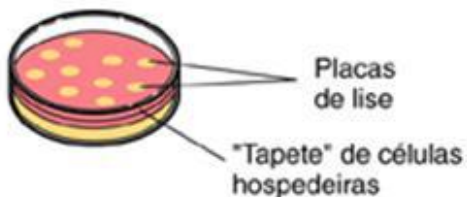
Quando um vírion inicia uma infecção → placa de lise (zona clara ou zona de lise)

Convencionou-se que cada placa de lise origina-se a partir da replicação de um único vírion

O número de *unidades formadoras de pacas de lise* corresponde ao número de unidades virais infecciosas presentes na amostra inicial em termos de *título viral*



Camada turva = células bacterianas



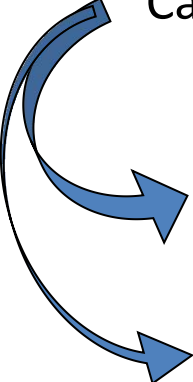
(a)

Quantificação de vírus bacterianos utilizando o ensaio de formação de placas de lise pela técnica de sobrecamada de ágar.
Unidades formadoras de placas (UFP)

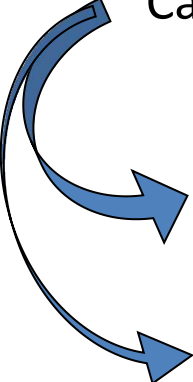
Vírus – Cultivo de vírus animais

1. Cultivo em animais experimentais

Camundongos, coelhos e cobaias



Estudos da resposta imune à infecção



Procedimento diagnóstico na identificação e isolamento

AIDS e a falta de modelos animais naturais

Chimpanzés são infectados por HIV-1 (*Lentivirus*), mas não apresentam sintomas da doença → não podem ser usados no estudo dos efeitos da multiplicação viral nem no tratamento da doença

Testes de vacinas em seres humanos

Vírus – Cultivo de vírus animais

2. Cultivo em ovos embrionados

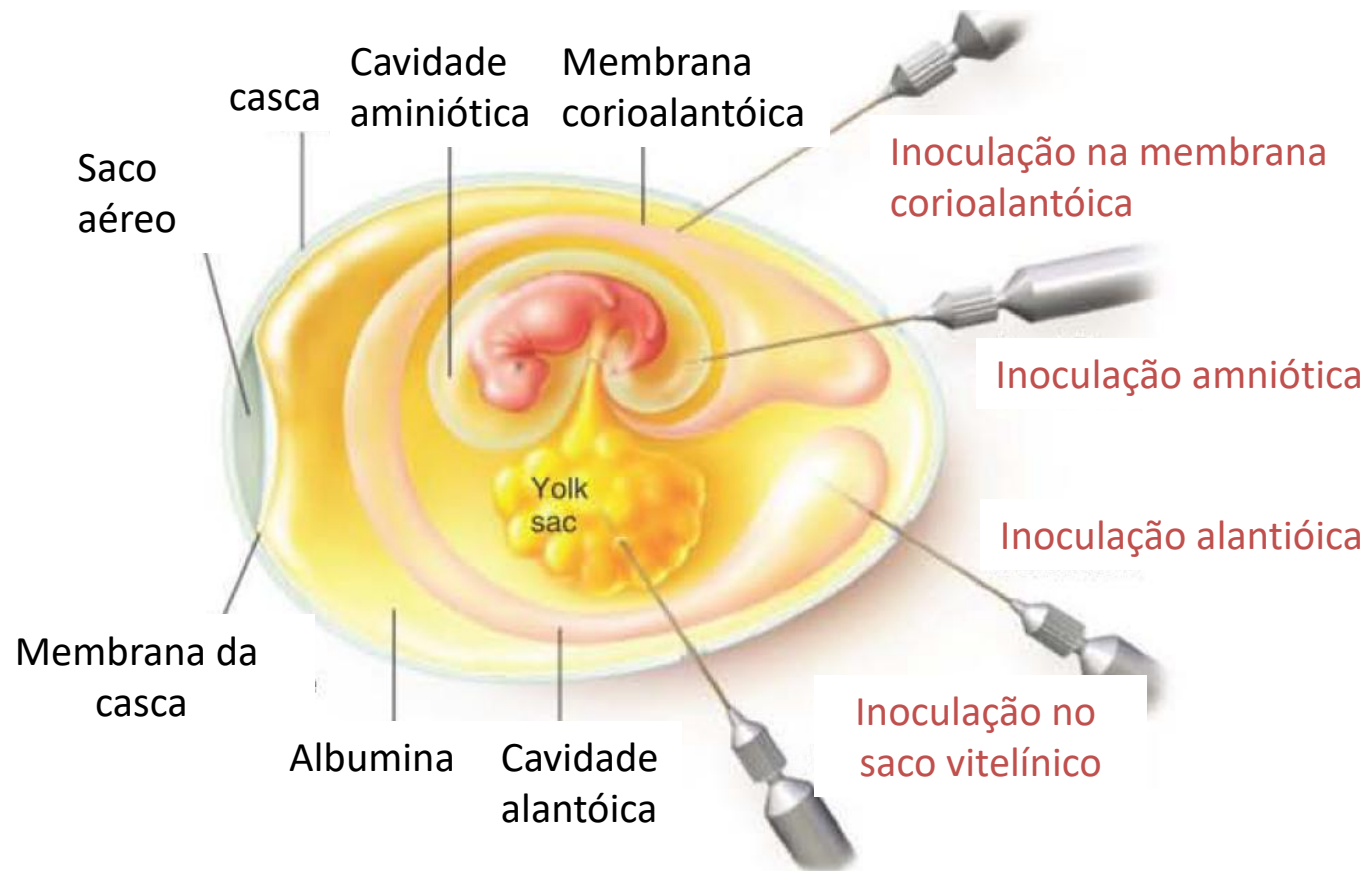


Figure 13.7 Inoculation of an embryonated egg. The injection site determines the membrane on which the viruses will grow.

Crescimento viral se manifesta pela morte do embrião

Usado na produção de vacinas (por isso a pergunta se somos alérgicos a ovo!!)

Vírus – Cultivo de vírus animais

3. Cultivos celulares



Culturas primárias: Rim ou pulmão, dissociação de células a partir de fragmentos do órgão → períodos limitados de cultivo



Linhagens celulares permanentes: células de subcultivos das culturas primárias que crescem indefinidamente

Linhagens diplóides: são sensíveis para o isolamento de vírus - Resistem de 30 a 50 subcultivos - preparo de vacinas

Linhagens celulares estabelecidas: 70 passagens. Tecidos com **caráter neoplásico (HeLA)** ou de **células normais (Vero)**. Fins de diagnóstico, para isolamento, não utilizadas para vacinas

Temperatura ótima: 36°C a 37°C, 35°C (monocamada)

pH fisiológico: CO₂-bicarbonato, estufa de CO₂

RPMI: manutenção de algumas linhagens celulares

Vírus – Cultivo de vírus animais

3. Cultivos celulares

Substituem ovos embrionados

Células crescem no laboratório em cultivos semelhantes à bactéria

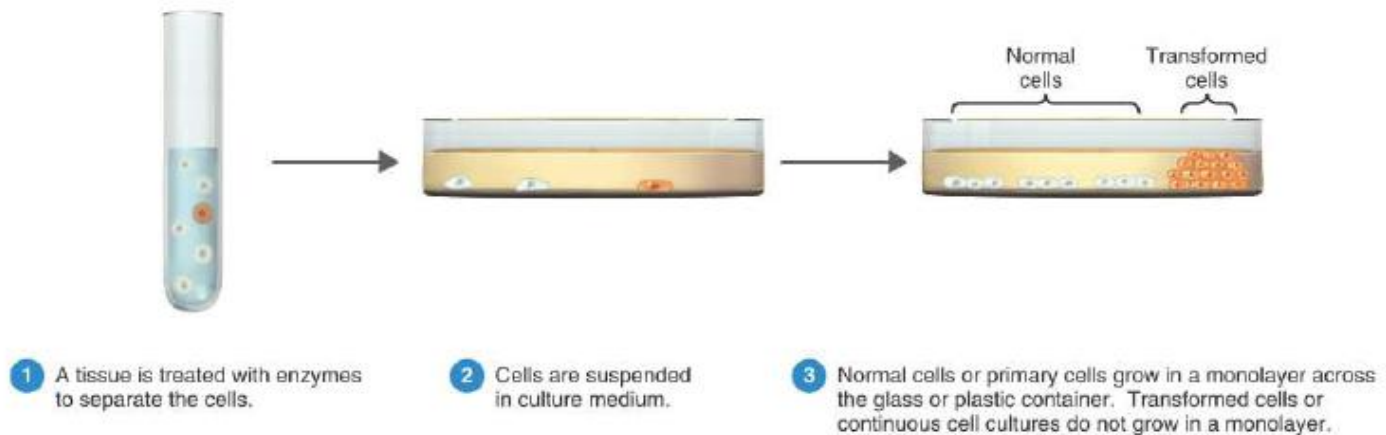


Figure 13.8 Cell cultures. Transformed cells can be grown indefinitely in laboratory culture.



Vírus – Identificação

Cultura de células:

Efeito citopatológico (danos na monocamada)

Hemadsorção → Agregação de eritrócitos à superfície de células animais, em meio de cultura, após infecção por vírus.

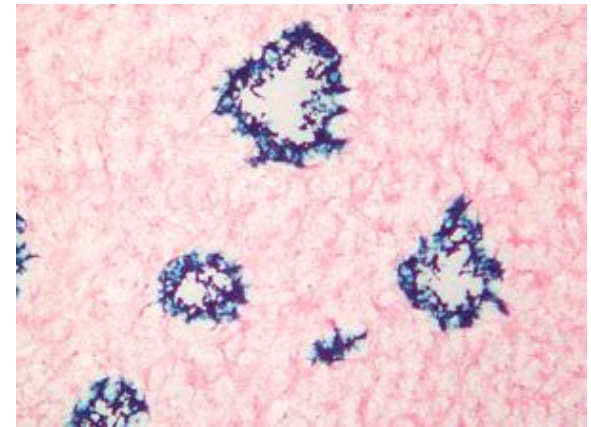
Hemaglutinação → vírus se ligam a eritrócitos formando pontes entre eles (auxílio das espículas)

Microscopia óptica: inclusões virais

colorações Hematoxilina-eosina, Papanicolau ou laranja-de-acridina

Microscopia eletrônica:

Morfologia ultra-estrutural



Células Vero infectadas por Vírus da Herpes Simplex (HSV)

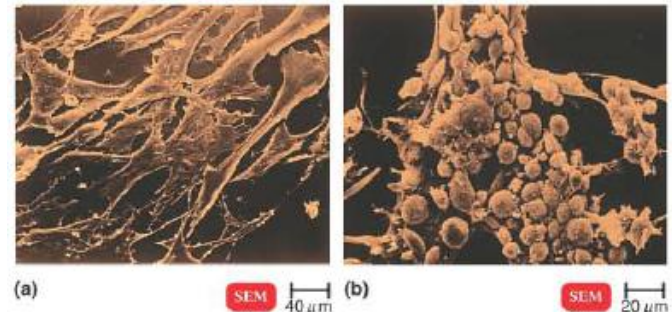
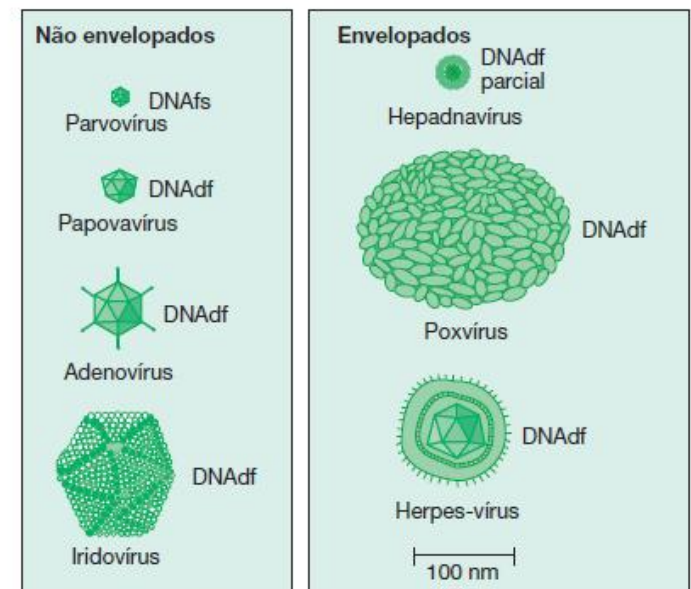


Figure 13.9 The cytopathic effect of viruses. (a) Uninfected mouse cells align next to each other, forming a monolayer. (b) The same cells 24 hours after infection with vesicular stomatitis virus (VSV) (see Figure 13.18a). Notice the cells pile up and "round up."

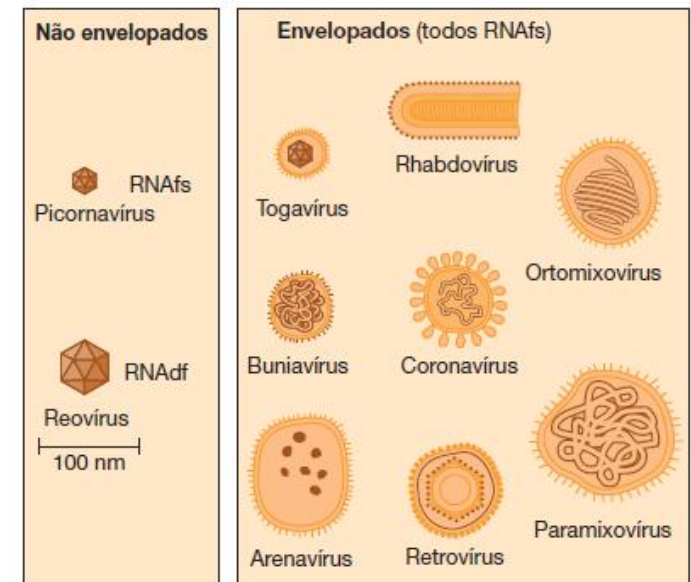
Vírus animais

Vírião completo se insere na célula

Célula eucariótica possui núcleo onde muitos vírus são replicados



(a) Vírus de DNA



(b) Vírus de RNA

Figura 8.21 Diversidade dos vírus de animais. Formas e tamanhos relativos dos principais grupos de vírus de vertebrados. O genoma do hepadnavírus apresenta uma fita de DNA completa e parte da fita complementar.

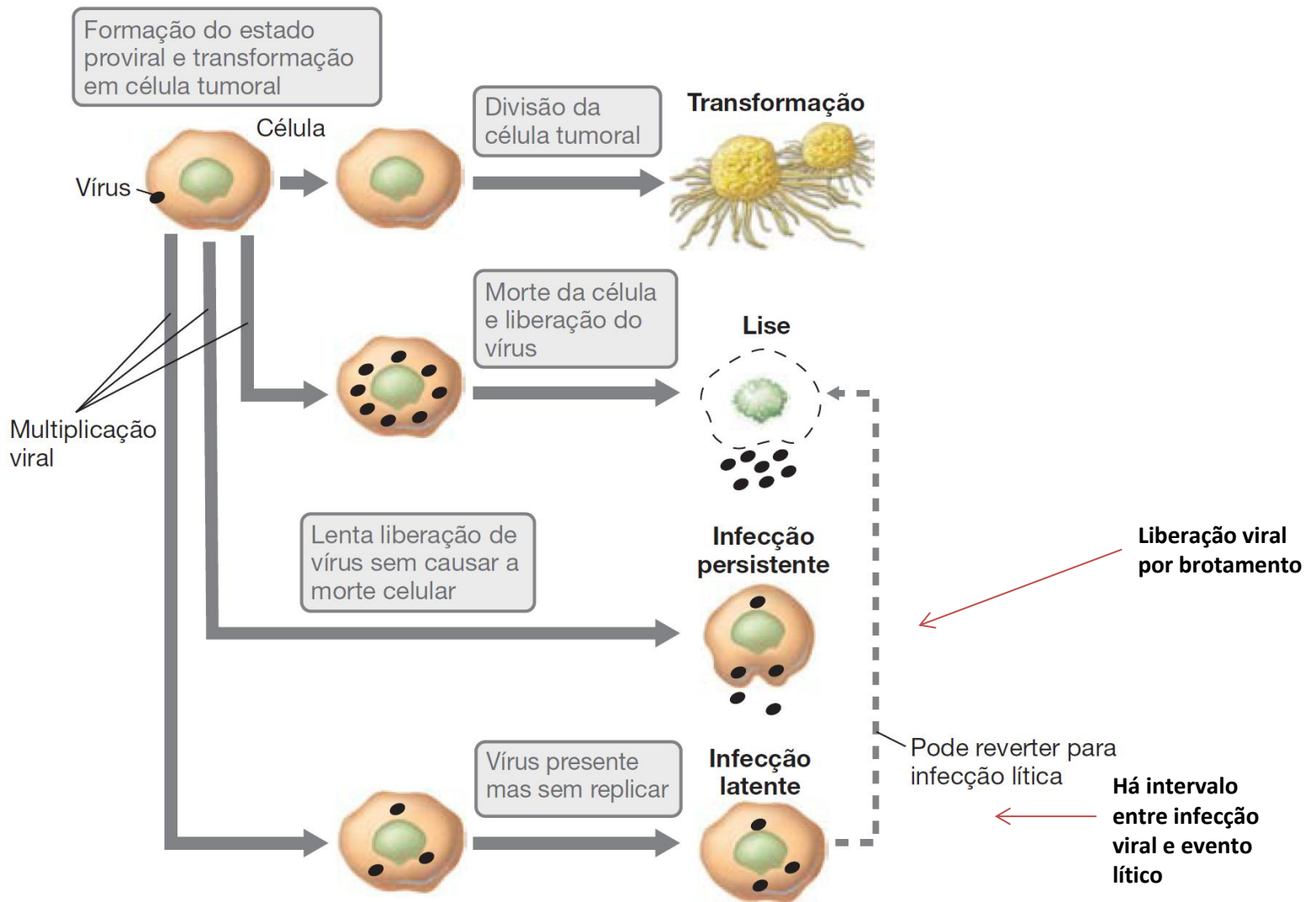


Figura 8.22 Possíveis efeitos causados por vírus de animais em células infectadas. A maioria dos vírus de animais é lítica e somente poucos são reconhecidos como cancerígenos, por causarem transformação celular.

Família Retroviridae

- Vírus de RNA
 - *Retro* = “para trás”
 - Transferem informações de maneira reversa (de RNA para DNA)
 - Muitos retrovírus infectam vertebrados
 - Gênero *Lentivirus* inclui as subespécies HIV-1 e HIV-2 que causam a AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida)
 - Carregam sua própria polimerase que é DNA polimerase dependente de RNA (Transcriptase reversa) (RNA→DNA)
-
- *gag* → proteínas estruturais
 - *pol* → transcriptase reversa e integrase
 - *env* → proteínas do envelope

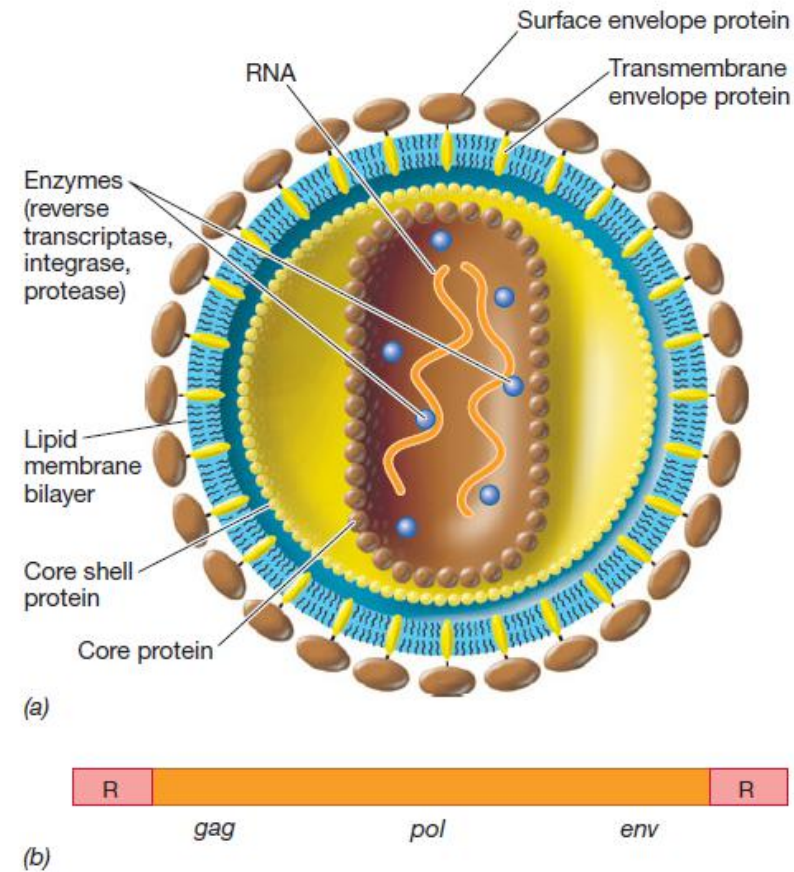


Figure 9.23 Retrovirus structure and function. (a) Structure of a retrovirus. (b) Genetic map of a typical retrovirus genome. Each end of the genomic RNA contains direct repeats (R).

Família

Retroviridae

- Transcriptase reversa usa o RNA do vírus para sintetizar uma fita de DNA complementar que é replicada para formar um DNA fita dupla.
- Iniciador é um tRNA específico codificado pelo hospedeiro e empacotado no vírion anteriormente
- Esta enzima degrada o RNA viral original
- DNA é integrado ao DNA cromossômico da célula hospedeira (**provirus**) e **nunca abandona o cromossomo**.
 - Estágio latente
 - Transcrição (produzir novos retrovírus)

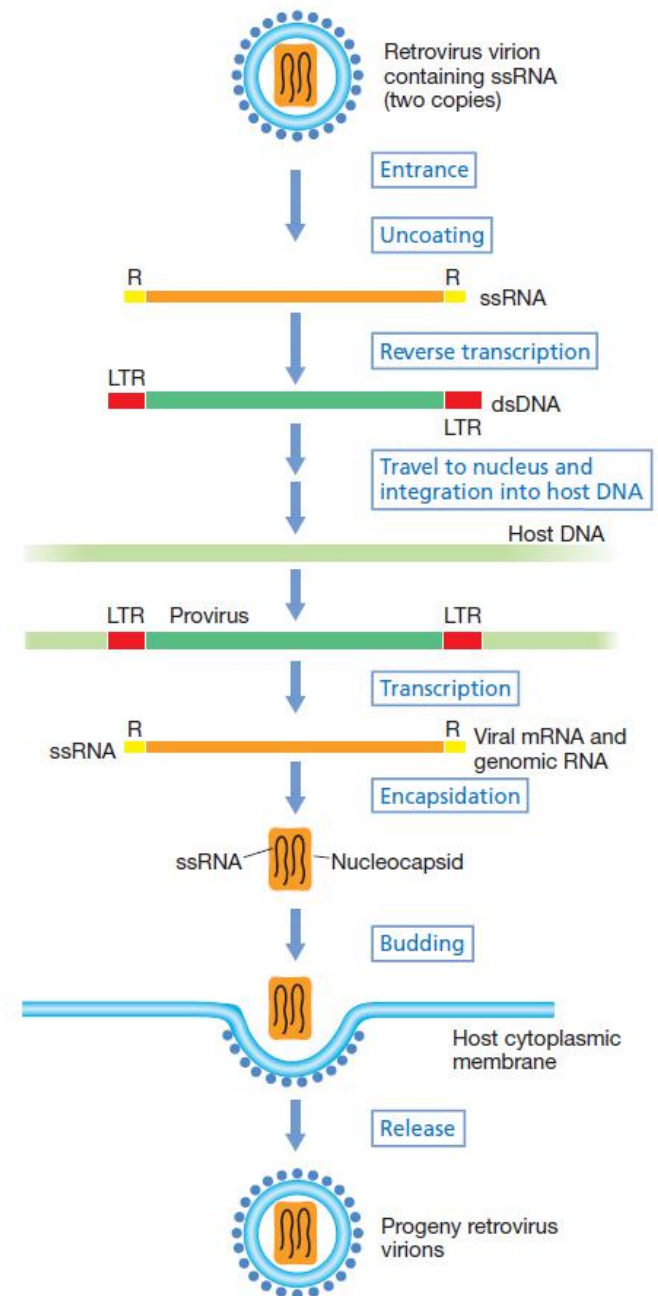
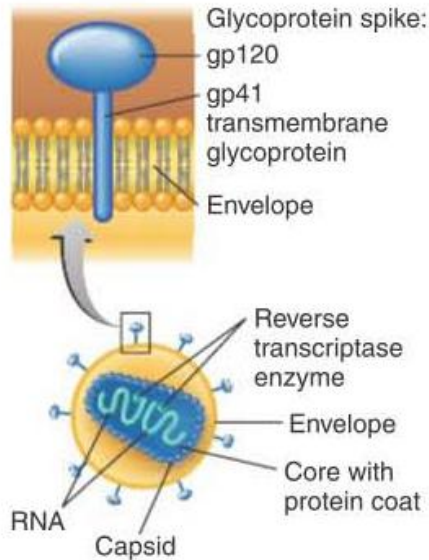


Figure 9.24 Replication process of a retrovirus. R, direct repeats; LTR, long terminal repeats. For more details on the conversion of RNA to DNA (reverse transcription, step 3), refer to Section 21.11.

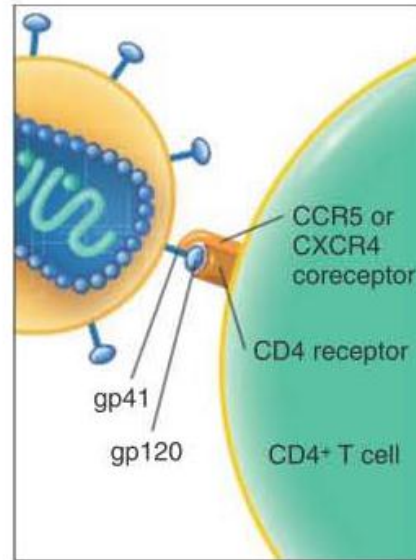
Família Retroviridae

Sítio de adsorção



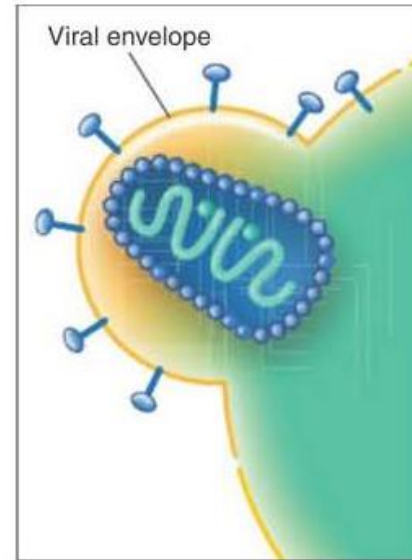
Structure of HIV and infection of a CD4⁺ T cell. The gp120 glycoprotein spike on the membrane attaches to a receptor on the CD4⁺ cell. The gp41 transmembrane glycoprotein probably facilitates fusion by attaching to a proposed fusion receptor on the CD4⁺ cell.

Adsorção



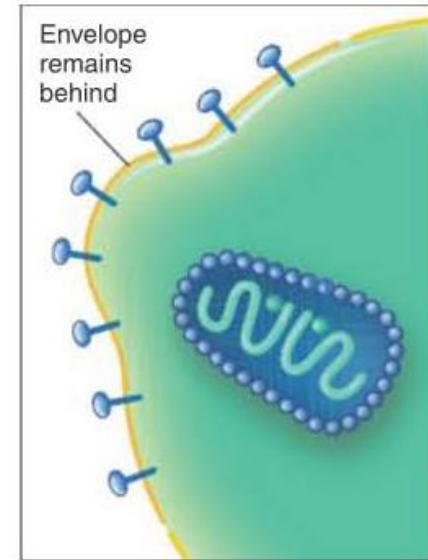
1 Attachment. The gp120 spike attaches to a receptor and to a CCR5 or CXCR4 coreceptor on the cell.

Fusão



2 Fusion. The gp41 participates in fusion of the HIV with the cell.

Penetração

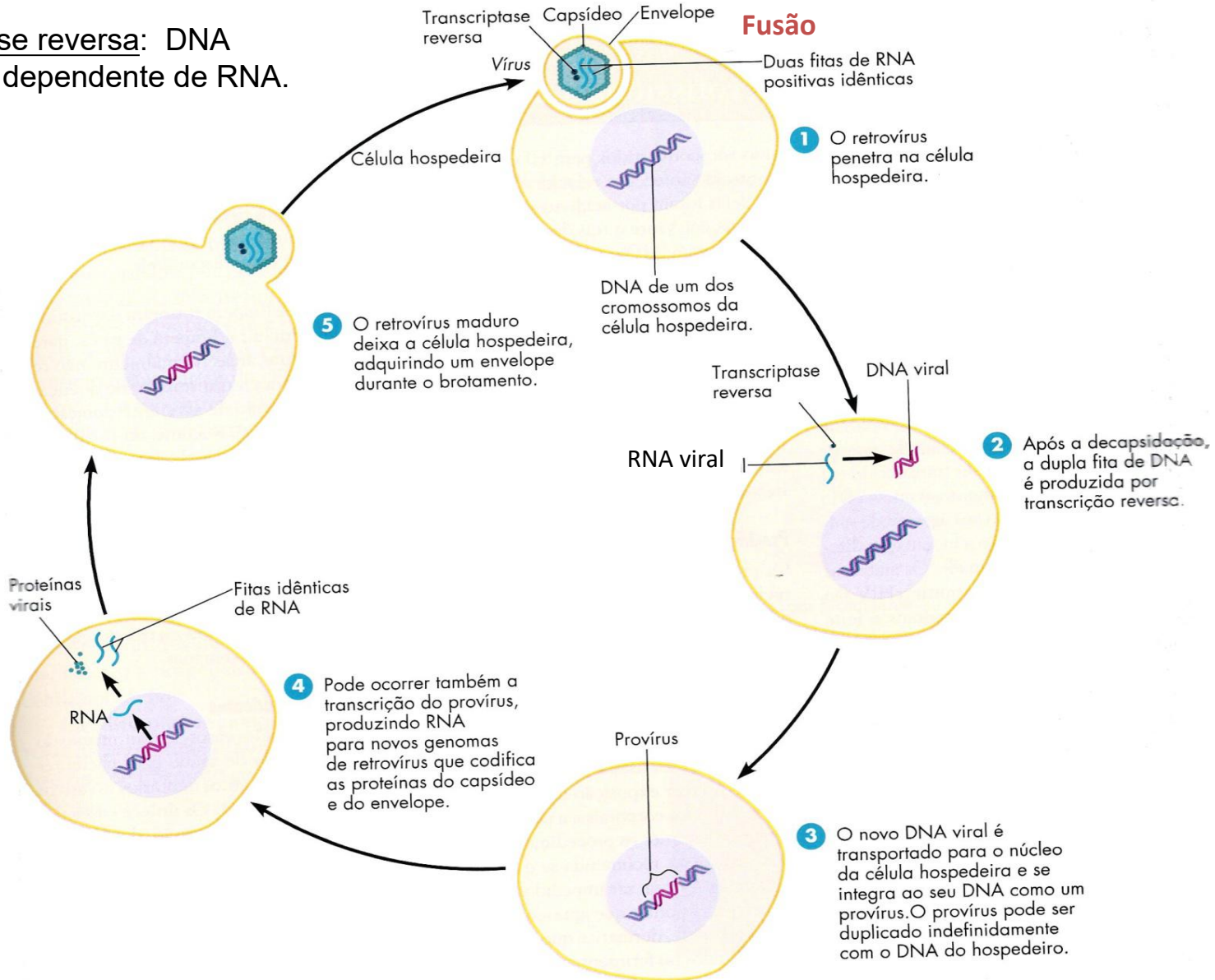


3 Entry. Following fusion with the cell, an entry pore is created. After entry, the viral envelope remains behind and the HIV uncoats, releasing the RNA core (see Figure 19.14b) for directing synthesis of the new viruses.

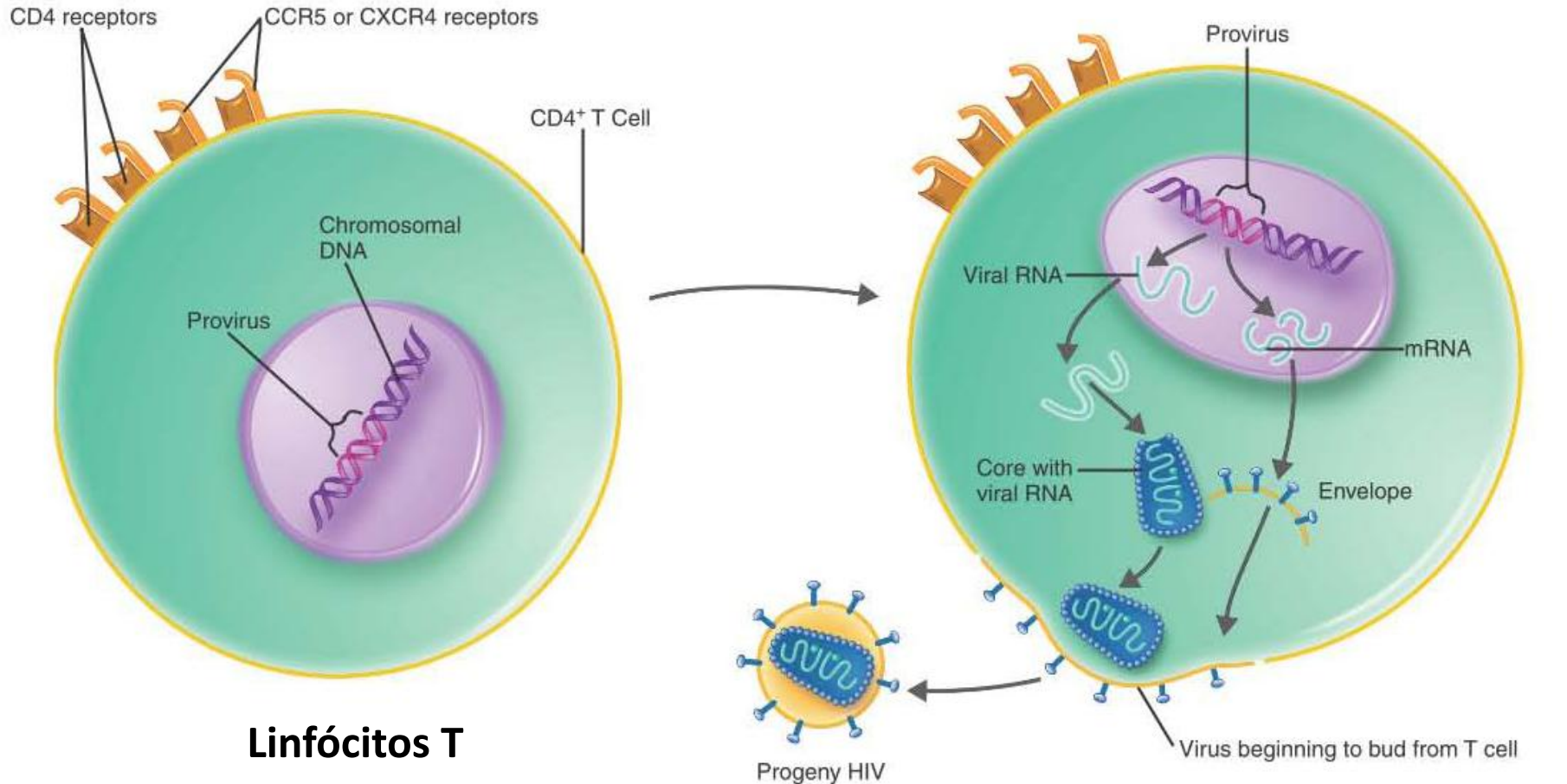
Figure 19.13 HIV structure and attachment to receptors on target T cell.

Processo de multiplicação e herança dos Retroviridae. Um retrovírus pode se tornar um provírus que se replica em estado latente, podendo também, produzir novos retrovírus.

Transcriptase reversa: DNA polimerase dependente de RNA.



Família Retroviridae



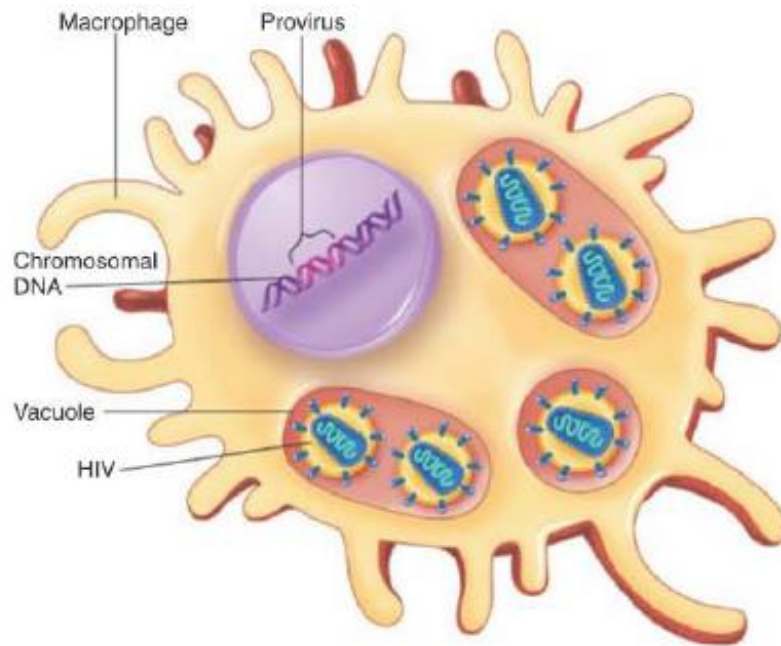
(a) Latent infection. Viral DNA is integrated into cellular DNA and forms a provirus (see page 389) that can later be activated to produce infective viruses.

(b) Active infection. The provirus is activated, allowing it to control the synthesis of new viruses, which bud from the host cell. Final assembly takes place at the cell membrane, taking up the viral envelope proteins as the virus buds from the cell.

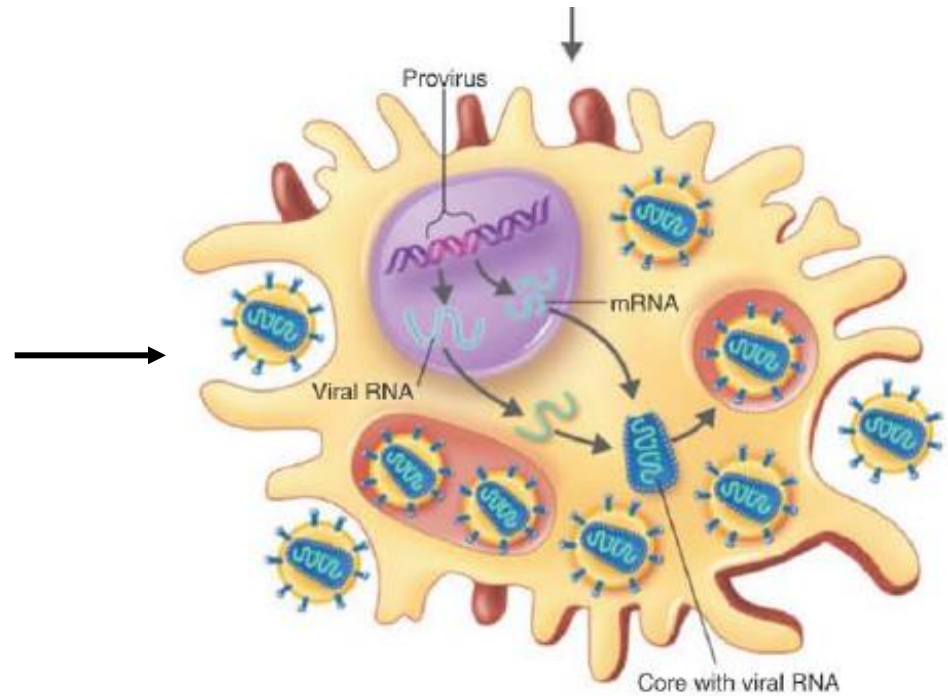
Figure 19.14 Latent and active HIV infection in CD4⁺ T cells.

Família Retroviridae

Macrófago



(a) Latently infected macrophage. HIV can persist either as a provirus or as a complete virion in vacuoles.



(b) Activated macrophage. New viruses are produced from provirus. Completed virions are either released or persist in the macrophage within vacuoles.

Figure 19.15 Latent and active HIV infection in macrophages.

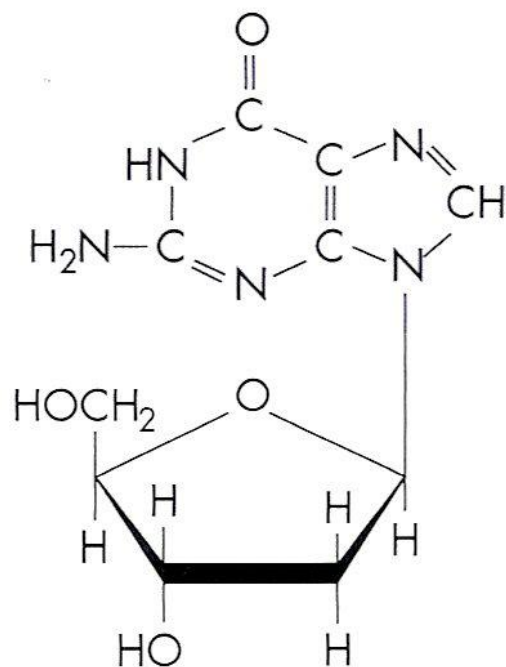
Principais vacinas para doenças virais

Doença	Vacina	Indicação
Gripe	Vírus inativado	Pessoas saudáveis com mais de 65 anos; pessoas com doenças respiratórias crônicas
Sarampo	Vírus atenuado	Lactentes com 15 meses de idade
Caxumba	Vírus atenuado	Lactentes com 15 meses de idade
Rubéola	Vírus atenuado	Lactentes com 15 meses de idade; mulheres em idade fértil que não estejam grávidas
Varicela	Vírus atenuado	Lactentes com 12 meses de idade
Poliomielite	Vírus inativado (Salk) ou atenuado (Sabin)	Crianças; adultos, qd risco justifica
Raiva	Vírus inativado	Profissionais em contato com vida selvagem em áreas endêmicas ou mordidas por animais; veterinários
Hepatite B	Fragmentos antigênicos do vírus	Crianças; adultos (profissionais da saúde, usuários de drogas injetáveis, pessoas com múltiplos parceiros sexuais, familiares em contato com portador)
Hepatite A	Vírus inativado	Pessoas em viagem para áreas endêmicas e durante surtos
Varíola	Vírus da vaccínia vivo	Certas pessoas ligadas ao serviço de saúde ou militar

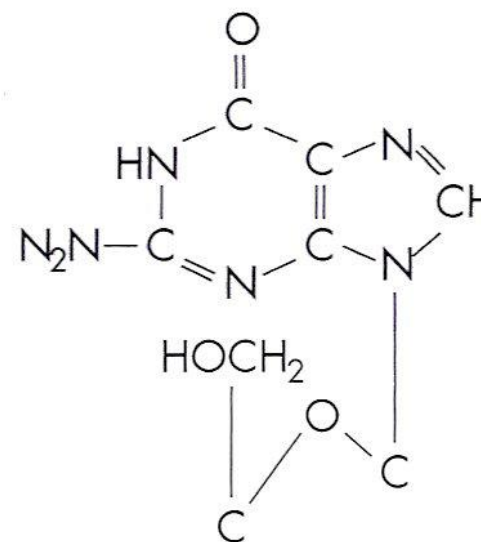
Drogas antivirais

Droga Antiviral		Modo de ação	Comentários
Análogos de nucleosídeos e nucleotídeos			
Aciclovir , ganciclovir, ribavirina, lamivudina		Inibem a síntese de DNA ou RNA	Usados principalmente contra herpesvírus
Cidofovir		Inibe a síntese de DNA ou RNA	Possivelmente eficaz contra a varíola
Zidovudina (AZT) , didanosina, zalcitabina, tenofovir		Antiretrovirais que bloqueiam a síntese de DNA pela transcriptase reversa	Usado para quimioterapia contra HIV
Outros inibidores enzimáticos			
Indinavir, saquinavir		Inibe a protease viral	Usado para quimioterapia contra HIV
Fixação e decapsidação			
Zanamivir, fosfato de oseltamivir		Inibem a neuraminidase no vírus da gripe	Tratamento da gripe
Amantadina, zimantadina		Inibem a decapsidação	Tratamento da gripe
Interferons			
α -interferon		Inibe a disseminação do vírus para novas células	Hepatite viral 69

Guanina



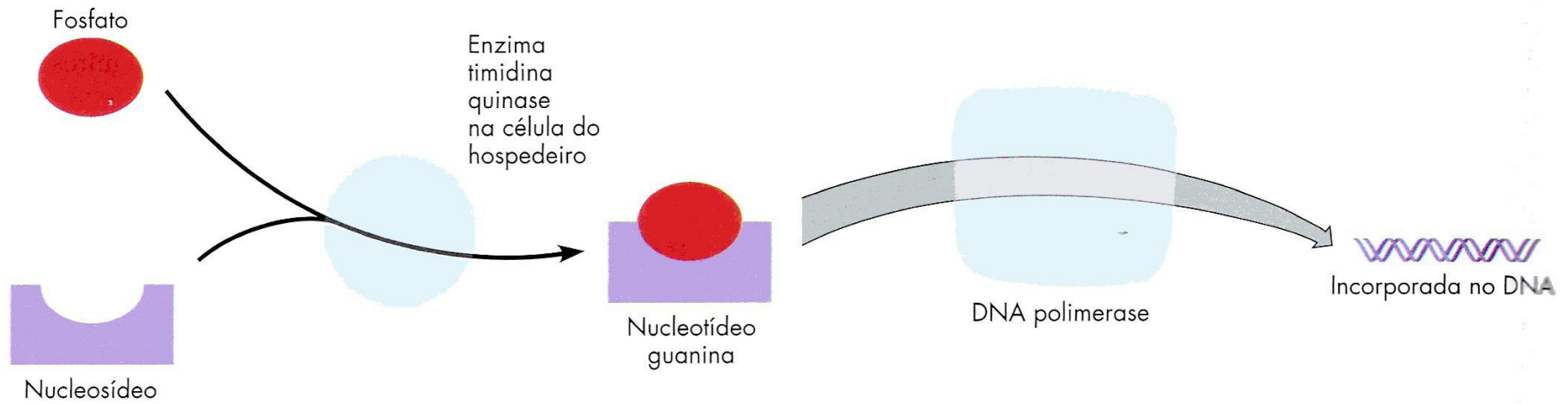
Deoxiguanina



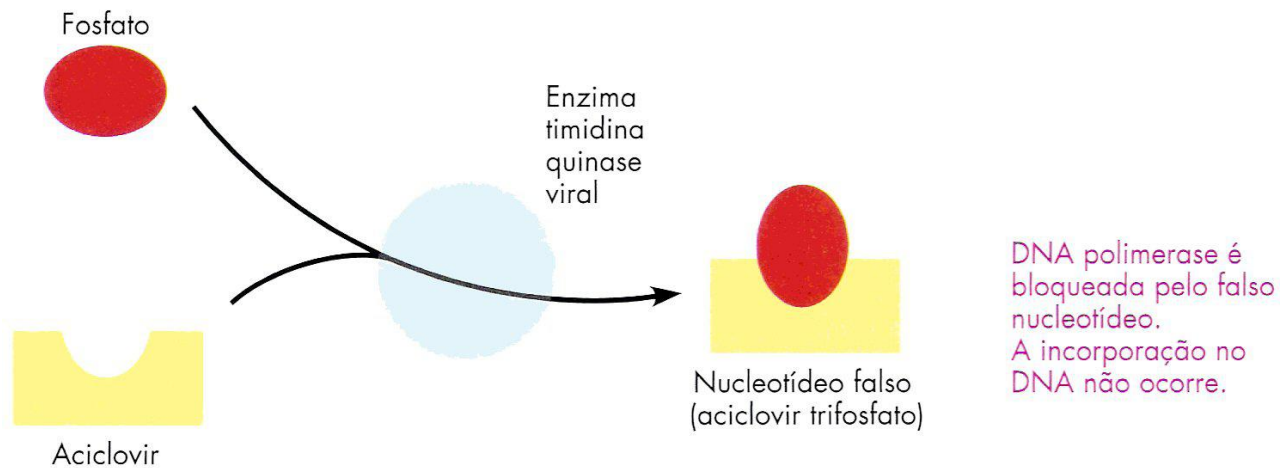
Aciclovir

(a) Semelhança estrutural entre aciclovir e o nucleosídeo contendo guanina

Estrutura da droga anti-viral Aciclovir.



(b) Síntese do nucleotídeo guanina do DNA viral normal



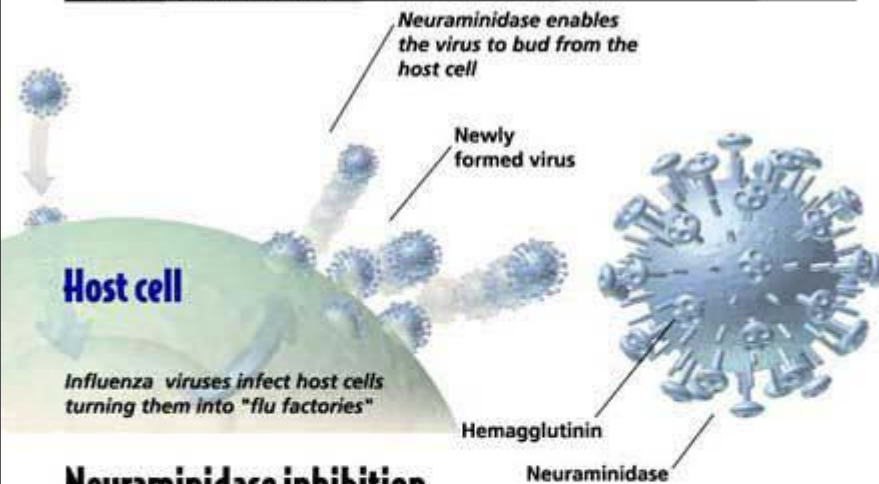
(c) A síntese do falso nucleotídeo do DNA viral na presença de aciclovir

Mecanismo de ação da droga anti-viral Aciclovir.

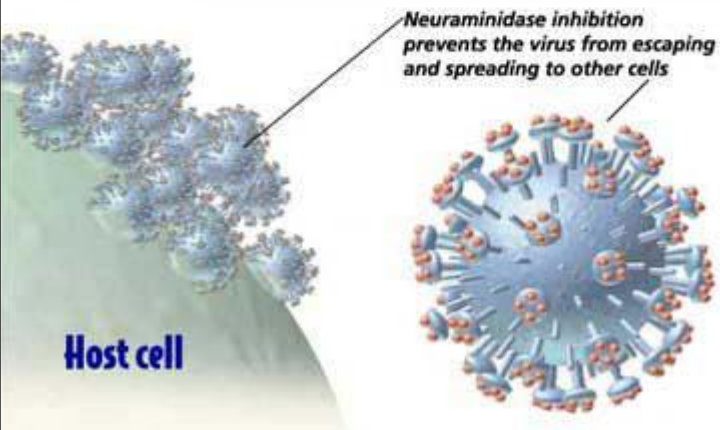
Neuraminidase auxiliam a liberação dos vírus de dentro das células animais por clivar as ligações glicosídicas de glicoproteínas e glicolipídios de células animais

The concept of neuraminidase inhibition

Influenza infection



Neuraminidase inhibition



Entidades subvirais

Príons

- **Forma extracelular distinta de natureza totalmente proteica**
- **Não contém DNA ou RNA**

- 1982: neurobiologista Stanley Prusiner – sugeriu que proteínas infecciosas eram a causa do *scrapie* (doença neurológica de ovelhas).
- 1997 – Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina
- Causam doenças neurológicas animais do tipo **encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSEs)**.
 - bovinos: “doença da vaca louca” (BSE)
 - Humanas: doença de Creutzfeldt-Jakob variante (CJDv)
- Podem ser transmitidos por meio de carne/tecido contaminado ou por ração feita a partir de animais contaminados.

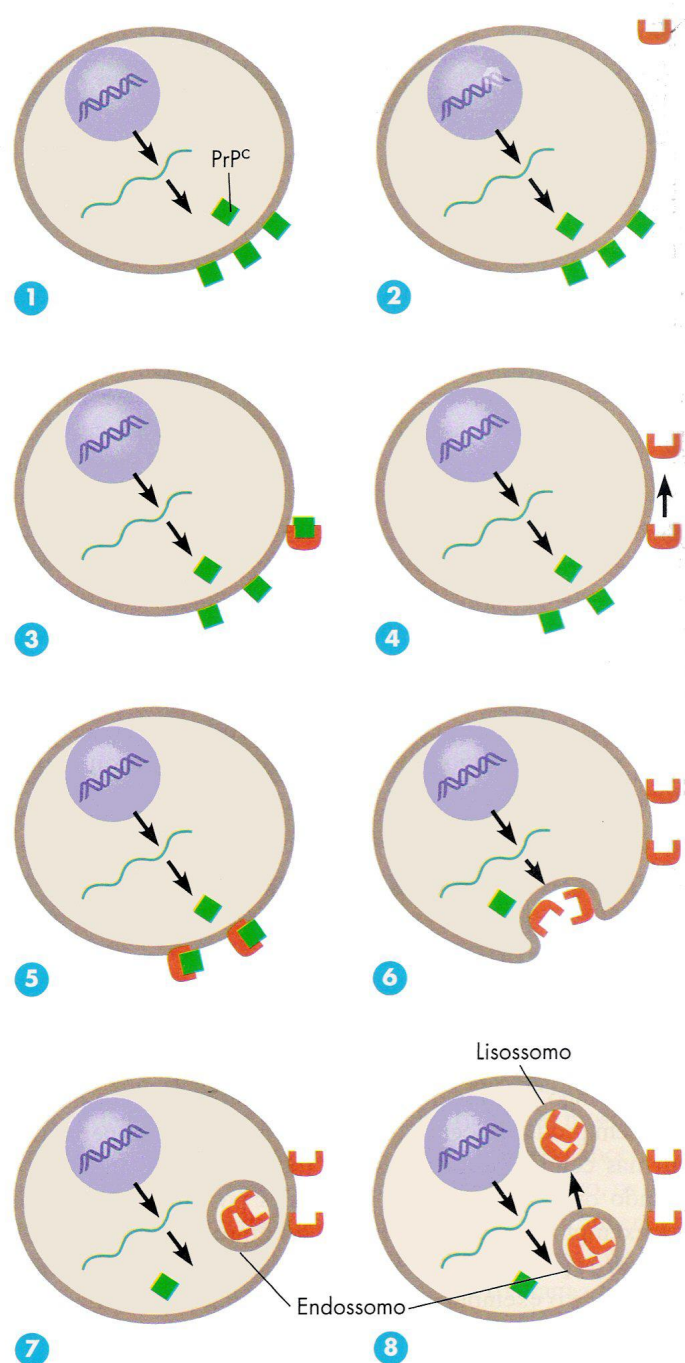
Prions

•**1 e 2:** gene para PrP^C está no cromossomo 20. A PrP^C é produzida e secretada para a superfície celular.

•Principalmente neurônios

•**3 a 5:** a PrP^{Sc} reage com a PrP^C na superfície, convertendo-se em PrP^{Sc}.

•**6 a 8:** a PrP^{Sc} é absorvida por endocitose e seus agregados se acumulam nos lisossomos.



Como uma proteína pode ser infecciosa.

PrP^C – proteína priônica celular (normal).

PrP^{Sc} forma infecciosa da proteína priônica celular (anormal).

PrP^{Sc} induz a conformação incorreta das PrP^C e as acumula na célula.

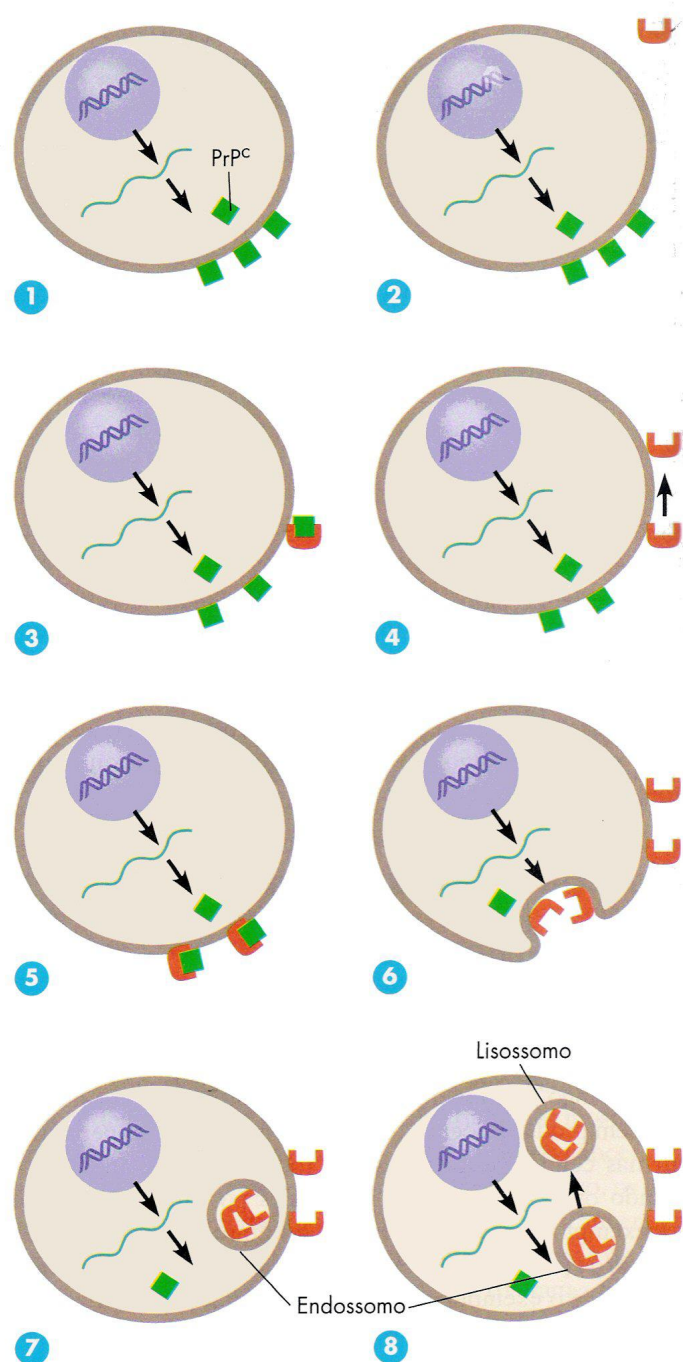
Prions

• **1 e 2:** gene para PrP^C está no cromossomo 20. A PrP^C é produzida e secretada para a superfície celular.

• Principalmente neurônios

• **3 a 5:** a PrP^{Sc} reage com a PrP^C na superfície, convertendo-se em PrP^{Sc}.

• a PrP^{Sc} contém mais folha beta-pregueada, provocando perda da função normal da proteína a qual se torna resistente à proteases → insolúveis



Como uma proteína pode ser infecciosa.

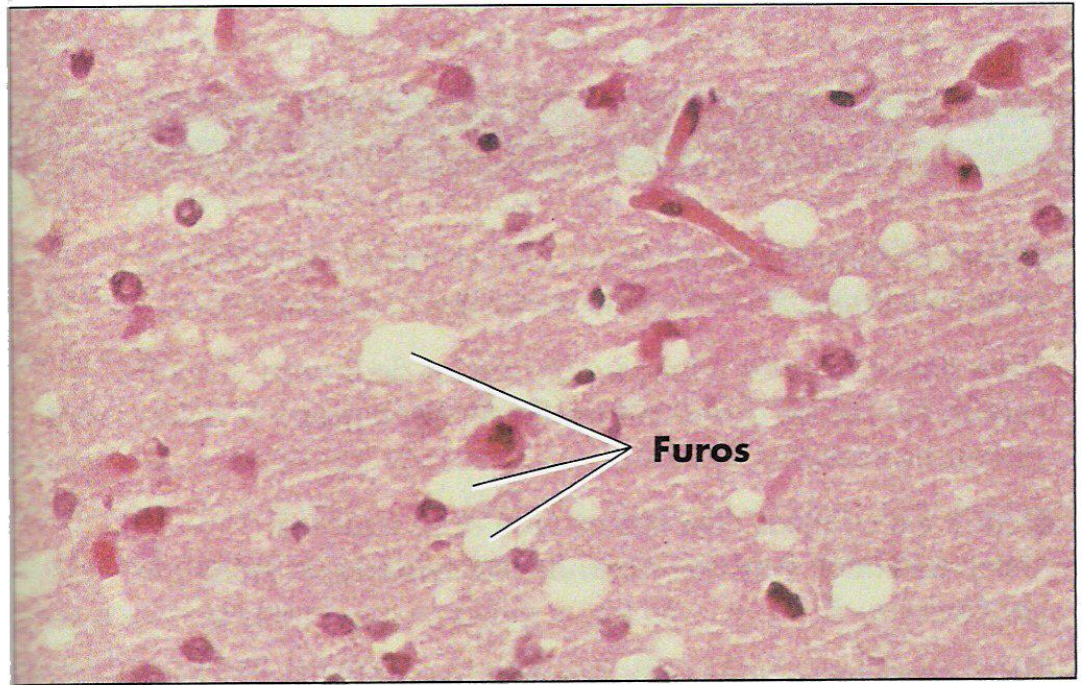
PrP^C – proteína priônica celular (normal).

PrP^{Sc} forma infecciosa da proteína priônica celular (anormal).

PrP^{Sc} induz a conformação incorreta das PrP^C e as acumula na célula.

Prions

**Há destruição do tecido
Porém não se sabe ao
certo se esta se deve ao
acúmulo dos príons nas
células!!**



(a) Tecido cerebral mostrando lesões espongiformes

MO | 25 μ m

Mecanismos pelos quais podem ser observados a doença:

- 1) Doença priônica infecciosa** – transmissão da proteína priônica entre humanos e animais;
- 2) Doença priônica esporádica** – dobramento incorreto aleatório em indivíduo normal e não infectado (atinge 1 indivíduo em 1 milhão);
- 3) Doença priônica herdada** – mutação no gene que codifica o príon

Bibliografia

**-Madigan et al., Microbiologia de Brock. Ed. ArtMed, Porto Alegre, 14ª ed., 2016.
(Capítulo 8 – Vírus e virologia)**

Diagnóstico

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)

Detectando antígeno
ou
Anticorpo
no soro do paciente

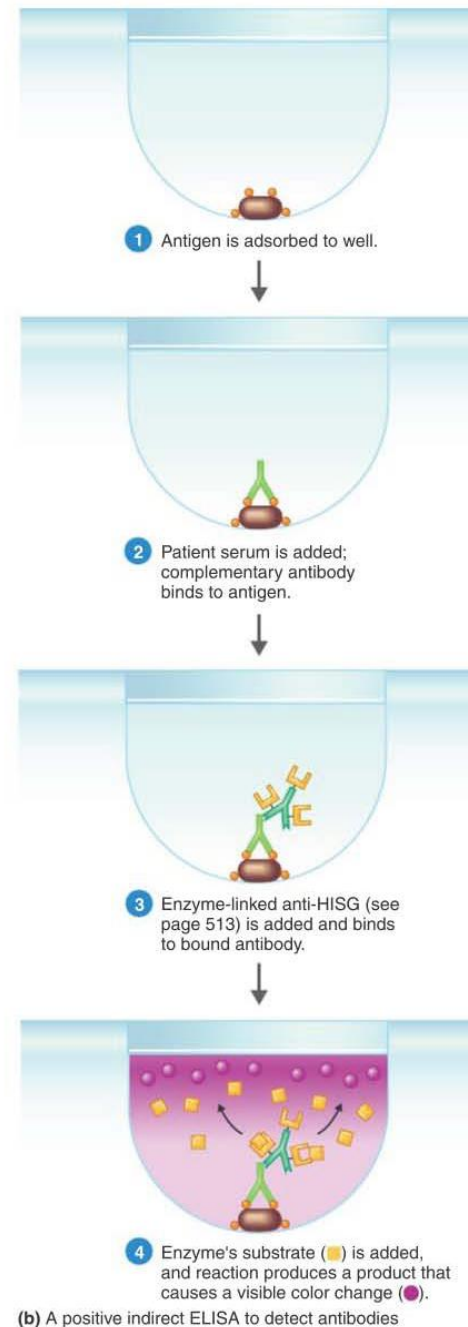
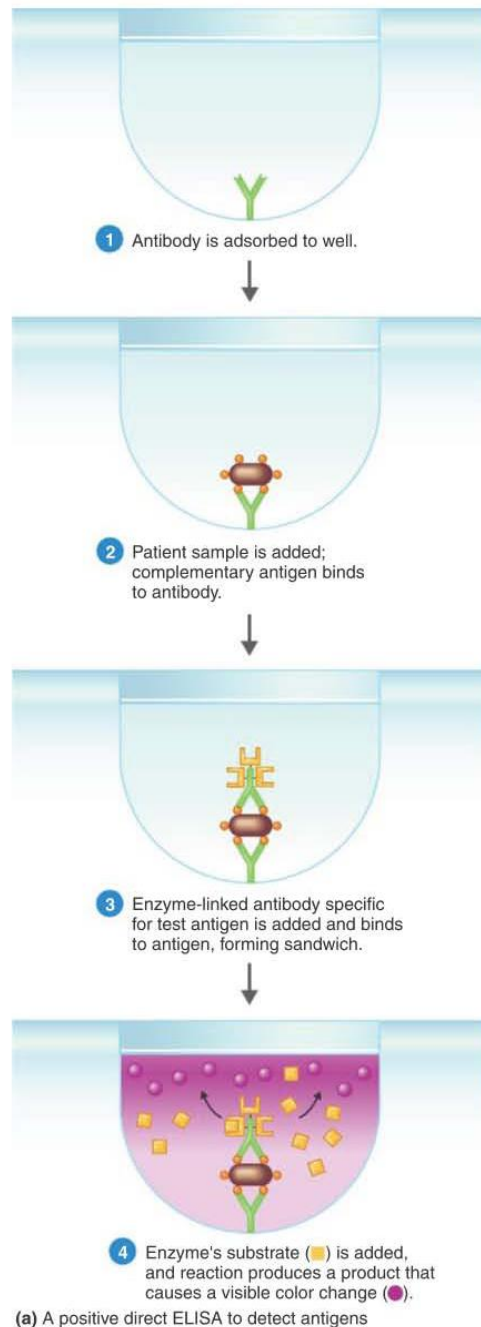


Figure 18.14 The ELISA method. The components are usually contained in small wells of a microtiter plate. An illustration of a technician carrying out an ELISA test on such a microtiter plate and the use of a computer to the results, see Figure 10.11 on page 288.

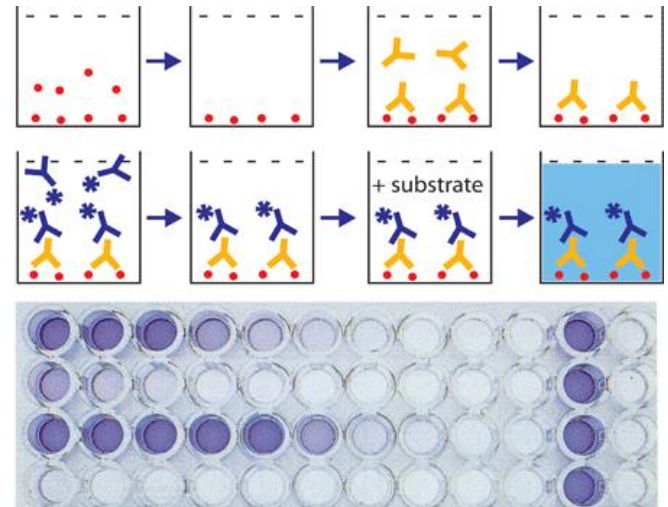
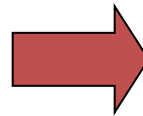
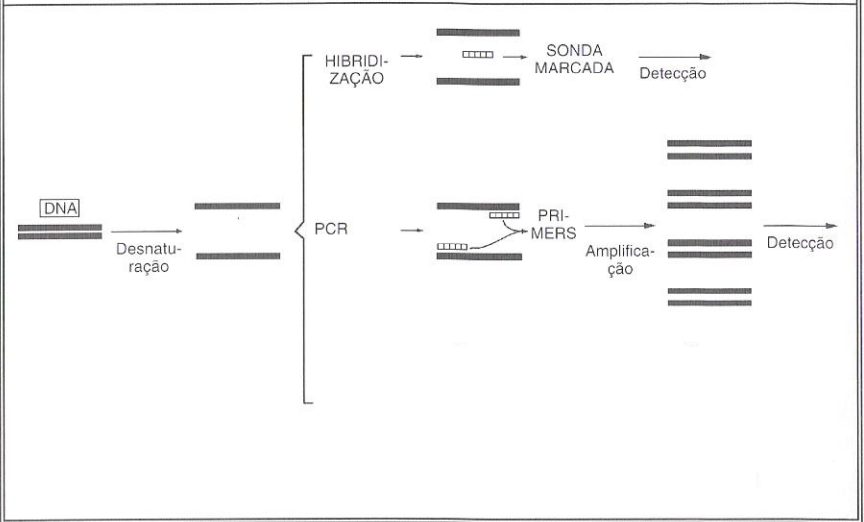
Diagnóstico imunológico

a) Principais técnicas sorológicas (ELISA) utilizadas para a detecção dos marcadores imunológicos das hepatites por vírus

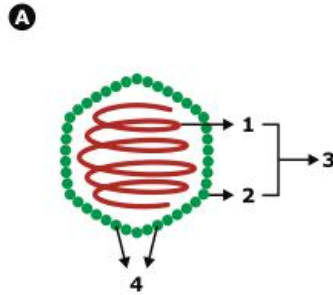
A - Tipo "SANDUÍCHE"						Exemplo	
	+		+		+		AgHBs
	+		+		+		{ Anti-HBs Anti-HDV Anti-HCV
	+		+		+		
B - Tipo COMPETIÇÃO							
	+		+				Anti-HBc (total)
	+		+				AgHBe
	+		+				Anti-HBe
C - Tipo IMUNOCAPTURA							
	+		+		+		Anti-HBc-IgM
	+		+		+		Anti-HAV-IgM
	soro				fase sólida		
	Ac IgG				Ac IgM		
	Ag				enzima		
	sistema de revelação						

Diagnóstico Molecular

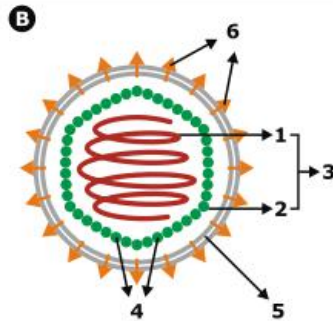
b) Comparação entre as três técnicas de Biologia Molecular mais utilizadas para o estudo das hepatites por vírus







Não envelopado



Envelopado

1) ácido nucléico:

2) capsídeo:

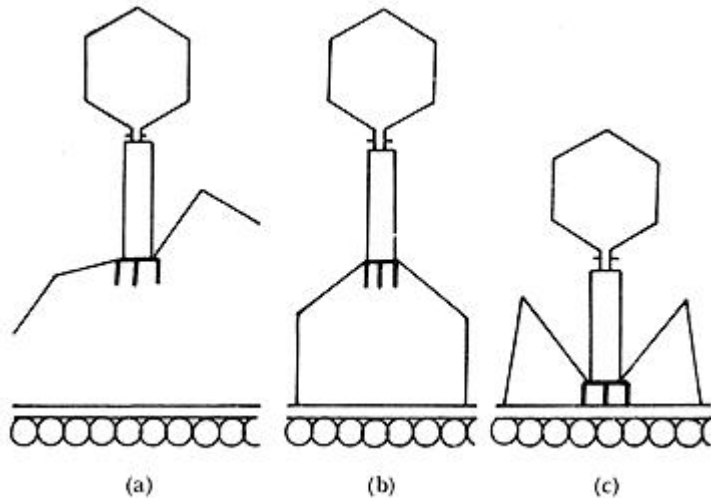
subunidades – capsômeros (4).

3) Nucleocapsídeo

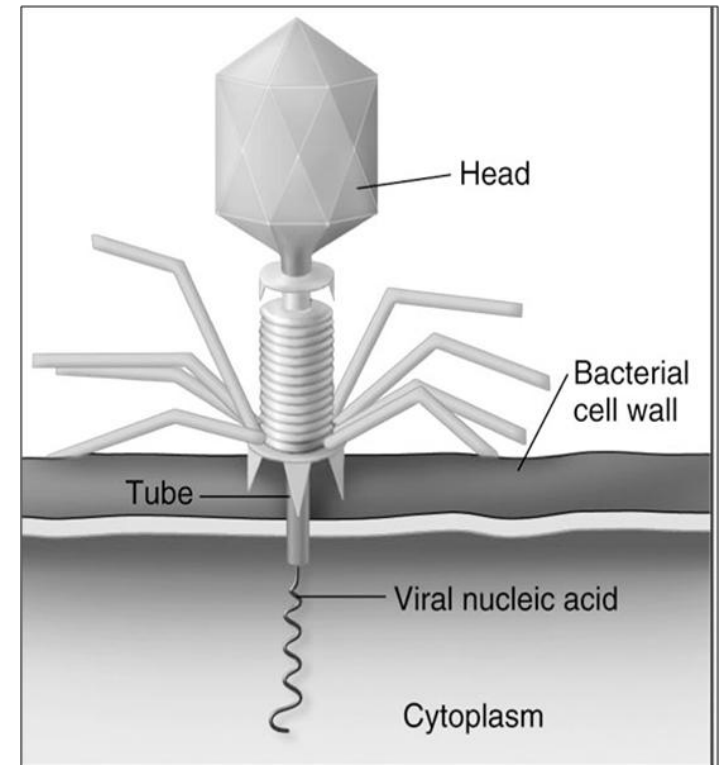
5) envelope:

- podem apresentar espículas (6):

Vírus complexo. Bacteriófago T-par.

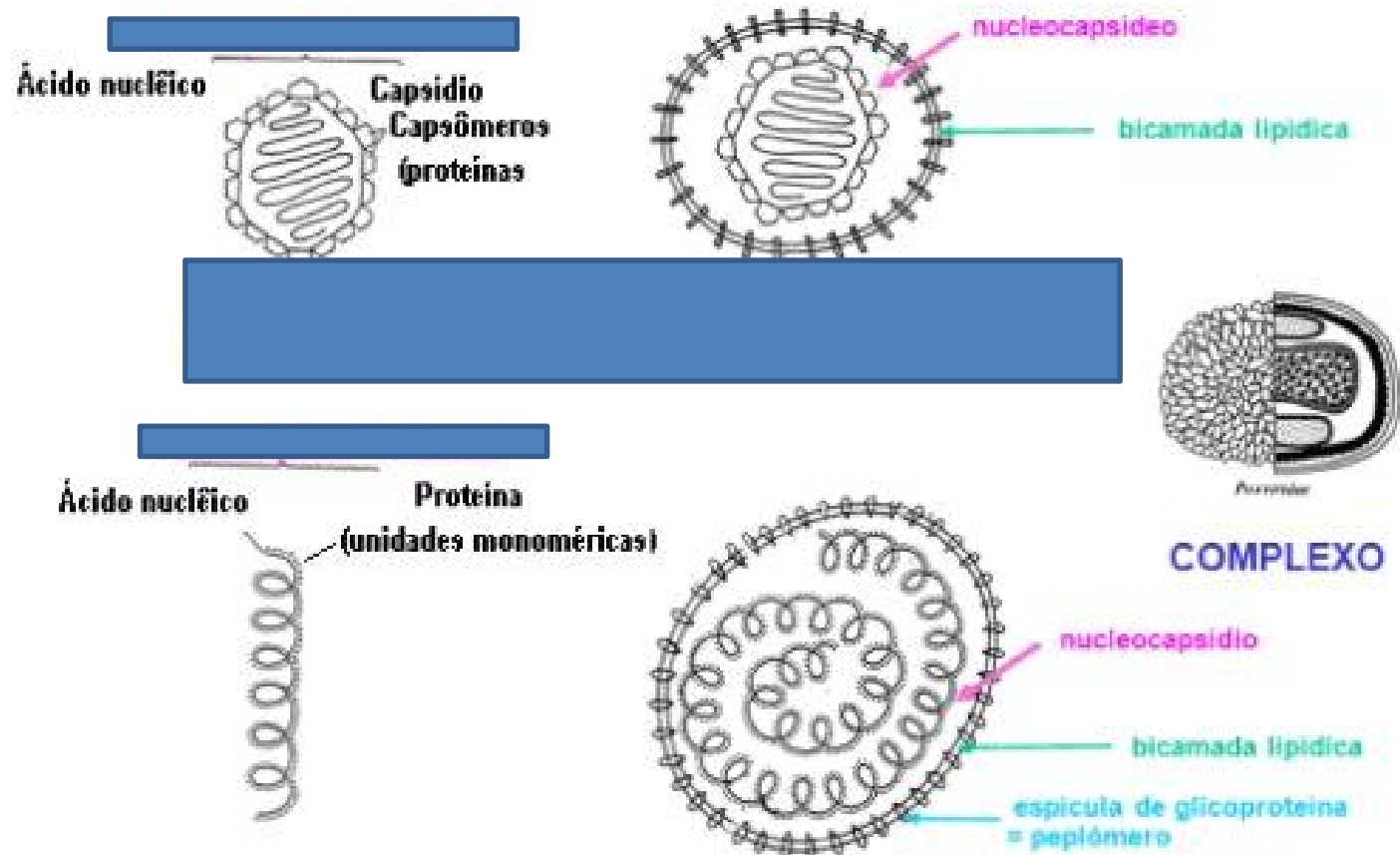


Adsorção do bacteriófago em uma bactéria através das fibras da cauda



Vírus – Morfologia

Baseada na arquitetura do nucleocapsídeo



Adaptado de Schaechter et al., Mecanismos de Doenças Microbianas

Doenças virais do sistema nervoso

- Poliomielite (poliovírus)
- Raiva (rabdovírus)
- Encefalite arboviral (arbovírus)

Doenças virais do sistema digestivo

- Caxumba (paramixovírus)
- Hepatite (HVA, HVB, HVC, HVD, HVE)
- Gastroenterite viral (rotavírus, vírus tipo Norwalk)

Doenças virais do sistema reprodutor

- Herpes genital (vírus herpes simples tipo 2 ou 1)
- Verrugas genitais (papilomavírus)
- AIDS (HIV - *Lentivirus*)

Doenças virais dos sistemas cardiovascular e linfático

- Linfoma de Burkitt (vírus Epstein-Barr)
- Mononucleose infecciosa (vírus Epstein-Barr)
- Febres hemorrágicas virais clássicas
 - febre amarela (arbovírus do gênero *Flavivirus*)
 - dengue (arbovírus do gênero *Flavivirus*)
 - Zika (gênero *Flavivirus*)
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/pt/>
- Febres hemorrágicas virais emergentes
 - Hantavirose (hantavírus)
 - Ebola (filovírus)

Doenças virais do sistema respiratório

- Sistema respiratório superior
 - Resfriado comum (adenovirus)
- Sistema respiratório inferior
 - pneumonia viral
 - gripe (*Influenzavirus*)

Doenças virais da pele

- Verrugas
- Varíola (ortopoxvírus)
- Varicela (catapora) e Herpes Zoster (cobreiro) – herpesvírus varicela zoster
- Herpes simples (herpes simples tipo 1 e 2)
- Sarampo (*Morbilivirus*)
- Rubéola (*Rubivirus*)

Letter

**Zika virus genomic RNA possesses conserved G-
quadruplexes characteristic of the Flaviviridae family**

Aaron M. Fleming, Yun Ding, Anton Y. Alenko, and Cynthia J. Burrows

ACS Infect. Dis., Just Accepted Manuscript • DOI: 10.1021/acsinfecdis.6b00109 • Publication Date (Web): 07 Aug 2016

Downloaded from <http://pubs.acs.org> on August 9, 2016**Just Accepted**

"Just Accepted" manuscripts have been peer-reviewed and accepted for publication. They are posted online prior to technical editing, formatting for publication and author proofing. The American Chemical Society provides "Just Accepted" as a free service to the research community to expedite the dissemination of scientific material as soon as possible after acceptance. "Just Accepted" manuscripts appear in full in PDF format accompanied by an HTML abstract. "Just Accepted" manuscripts have been fully peer reviewed, but should not be considered the official version of record. They are accessible to all readers and citable by the Digital Object Identifier (DOI®). "Just Accepted" is an optional service offered to authors. Therefore, the "Just Accepted" Web site may not include all articles that will be published in the journal. After a manuscript is technically edited and formatted, it will be removed from the "Just Accepted" Web site and published as an ASAP article. Note that technical editing may introduce minor changes to the manuscript text and/or graphics which could affect content, and all legal disclaimers and ethical guidelines that apply to the journal pertain. ACS cannot be held responsible for errors or consequences arising from the use of information contained in these "Just Accepted" manuscripts.

Zika virus is in the genus Flavivirus in the Flaviviridae viral family.

Characteristics of the Flaviviridae family include mammalian and human hosts with infections spread by arthropod vectors, as in the case of Zika Aedes mosquitoes.

Flavivirus particles are enveloped, possess icosahedral-like symmetry, and have a diameter of ~40 nm.³ More importantly, flaviviruses have positive-sense, single-stranded RNA genomes of ~11 kilobases in length.^{2,3} Their genomes have a 5'-capped untranslated region (UTR), a code for 10 proteins, three structural (C, prM, and E) and seven non-structural (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, and NS5), as well as a 3'-UTR essential for viral replication.

The proteins are translated directly from the RNA genome as a polyprotein that is cleaved to the individual proteins by host and viral proteases.

A cryo-EM structure for the Zika virus particle has recently been determined,⁵ as well as an x-ray structures for NS1, the NS3 helicase, and the NS2B-NS3 protease. ⁶⁻⁸ In contrast, the global structure of the RNA genome is not known.⁹