



Diários
de
Virologia

Organizadores:
ANA LISA GOMES
JOSÉ CÂNDIDO FERRAZ
DÉBORA OLIVEIRA



Diários de Virologia

Organizadores:

ANA LISA GOMES

JOSÉ CÂNDIDO FERRAZ

DÉBORA OLIVEIRA

Vitória de Santo Antão

2021



Esta obra é disponibilizada nos termos da Licença Creative Commons - Atribuição - Não Comercial - Compartilhamento pela mesma licença 4.0 Internacional. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.

Elaboração e informações:

Universidade Federal de Pernambuco. Centro Acadêmico da Vitória.
R. Alto do Reservatório, S/n - Bela Vista, Vitória de Santo Antão - PE, 55608-680.

Organizadores:

Ana Lisa do Vale Gomes
José Cândido Ferraz Junior
Débora Priscila Lima de Oliveira

Capa e Diagramação:
Jaciane Freire Santana

Revisão:
Amanda Lays Rodrigues da Silva

Catálogo na Fonte
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Ana Lígia F. dos Santos, CRB4/2005

D539

Diários de Virologia / organizado por Ana Lisa Gomes, José Cândido Ferraz, Débora Priscila Lima de Oliveira. - Vitória de Santo Antão: [S. n.], 2021.
195 p.; il.

Inclui referências.
ISBN 978-65-00-26401-2

1. Virologia. 2. Covid-19. 3. Sistema Imunitário. I. Gomes, Ana Lisa do Vale (org.).
II. Ferraz, José Cândido (org). III. Oliveira, Débora Priscila Lima de (org).

614.575 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE - 071/2021

Apresentação

A Virologia tem um importante papel na história da humanidade. Os vírus são capazes de gerar patologias responsáveis por selecionar naturalmente e promover a biodiversidade das espécies. Ao olharmos para trás nos deparamos com diversas pandemias virais que mudaram o rumo da nossa história, como a pandemia da varíola, gripe espanhola, gripe suína, HIV e atualmente a do coronavírus.

No entanto, mesmo fazendo parte desde o início da história do planeta, apenas recentemente pudemos saber um pouco mais sobre essas estruturas e suas propriedades e características. Os vírus são estruturas simples, porém sofisticadas, parasitas infecciosos intracelulares obrigatórios, mas também são responsáveis por gerar equilíbrio em nossa microbiota, além de ser um importante aliado da biotecnologia.

Os vírus são uma importante ferramenta de estudo das ciências devido às suas rápida replicação, capacidade de gerar novos vírus e impacto na evolução. São considerados ferramentas para desenvolvimento de vacinas; metabolismo enzimáticos, estudos sobre a biossíntese molecular, possibilitando os estudos de transcriptoma celular, desenvolvimento de clonagem e expressão de proteínas; células transgênicas e terapia gênica através dos vetores virais.

A 1ª edição do *e-book* Diários de Virologia foi realizada com o objetivo de eternizar a disciplina ministrada sobre vírus em 2020, durante a pandemia da Covid-19, na Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico da Vitória. A disciplina aconteceu de forma excepcionalmente remota e os alunos tiveram como atividade de auto avaliação contínua e colaborativa a elaboração de diários. Nosso *e-book* tem 6 capítulos representando cada um deles o diário de um aluno distinto que teve em sua elaboração as orientações e discussões com os professores e ao final a leitura crítica entre os alunos selecionados para compor o *e-book*.

Tudo começou em 2020, o ano em que vivemos, estudamos e aprendemos sobre uma pandemia viral e continuamos em 2021 a enfrentar esse desafio mundial. Convidamos vocês a realizarem esta leitura, de cunho pessoal, científico e histórico.

Ana Lisa Gomes
José Cândido Ferraz
Débora Oliveira

Sumário

Diário de uma pandemia: o estudo dos vírus para além da patogenicidade <i>Afonso Vinícius Seabra Carneiro da Silva</i>	5
Vivência dos conteúdos abordados nas aulas da disciplina de virologia agregado com pesquisas sobre os principais tópicos de cada aula <i>Ewerton Henrique da Conceição</i>	30
Caminhando no universo da virologia em tempos do COVID-19 <i>Gabriela Cavalcanti Leal</i>	66
Diário das descobertas de uma estudante acerca do mundo chamado Virologia <i>Gabrielly Sthefany Alves da Silva</i>	107
Vírus x Sistema Imunológico: o que precisamos saber? <i>Ruth Cristina Albuquerque Santos</i>	138
Diário de Virologia: as primeiras peças de um quebra-cabeça científico <i>Sandrelly Mirely da Silva Santos</i>	165

Diário de uma pandemia: o estudo dos vírus para além da patogenicidade.

Afonso Vinícius Seabra Carneiro da Silva

Aula 1, (25/08/2020)

A relação do ser humano com os vírus é íntima e bastante antiga. Além do ser humano comportar no seu genoma material genômico viral, a interação do homem com a natureza tem suas origens desde os primórdios. Antes até mesmo dos dinossauros, aproximadamente cerca de 3,5 bilhões de anos, os vírus já existiam e foram classificados como parasitas internos obrigatórios, formados basicamente por proteínas, lipídeos e material genético.

O fato do *Homo Sapiens*, “sabido”, deixar de ser nômade e adotar uma vida sedentária ao longo do tempo trouxe muitas implicações relacionadas à virologia. Os homens conquistaram coisas com o tempo, entre elas algumas que estão relacionadas com a introdução dos vírus: o domínio da agricultura, sua maior conquista. Posteriormente, as construções para moradia, em contato direto com as excretas na forma de lixo e de esgoto, já evidenciavam as primeiras contaminações. Outro fato bastante relevante na história da espécie humana foi a domesticação dos animais, o que hoje se sabe ter sido motivo de tantas mortes, já que humanos, interagindo com animais, estão sujeitos a zoonoses (doenças transmitidas entre animais e pessoas).

É interessante destacar que o desequilíbrio do sistema sociedade e meio ambiente é o motivo causador de proliferação de tantas doenças virais e de larga proporção, como a pandemia de COVID-19. E o ser humano infringindo espaço da natureza, a preponderância de querer dominar tudo, seria uma “seleção artificial” em que o homem, por intitular-se superior, decide quem vive entre as plantas e animais.

Na idade média, Louis Pasteur já alertava sobre infecções através da falta de higienização, criando inclusive a Pasteurização, método de conservação dos

alimentos. Mas as viroses persistiram durante a história, em síntese porque o homem contemporâneo ainda carrega traços pré-históricos, principalmente a alimentação: alimentar-se da caça, hábito de grande risco de infecções.

A descoberta dos vírus, cerca de 1900, foi importante para o esclarecimento de muitas doenças. Inicialmente, eram chamados de estruturas líquidas por serem comparados com bactérias, mas, posteriormente, com o avanço dos estudos, notou-se que o vírus era bastante inferior ao tamanho de uma bactéria. É importante destacar que se evidenciaram, com o passar dos anos, mais de 300 espécies existentes e mais de 150 zoonoses. Todavia, sabe-se que isso ainda não é muita coisa comparada a real dimensão dos tipos existentes.

Referências

AVILA-PIRES, F. D. Lições do coronavírus-19. In: MARQUES, J.; DIAS-LIMA, A. **Ecologia Humana e Pandemias: consequências da Covid-19 para o nosso futuro.** Paulo Afonso: Sociedade Brasileira de Ecologia Humana, 2020. pp. 30-43.

DIAS-LIMA, A. O Mundo do Vírus e o Vírus do Mundo. In: MARQUES, J.; DIAS-LIMA, A. **Ecologia Humana e Pandemias: consequências da Covid-19 para o nosso futuro.** Paulo Afonso: Sociedade Brasileira de Ecologia Humana, 2020. pp. 46-62.

Aula 2 (27/08/2020)

Os vírus estão intrinsecamente ligados à espécie humana e a sua constituição. Um exemplo seria a representatividade viral no material genético humano, a qual lhe confere estabilidade. A partir desse fato, entre inúmeros outros, percebe-se que o vírus, ao estar parasitando o homem, traz diversos benefícios.

O DNA do genoma humano carrega cerca de 8% de material genético viral ancestral (MACFARLAN *et al*, 2012 *apud* VARGAS; LAWALL, 2020), fato relacionado às primeiras relações do ser humano com a natureza desde a época do nomadismo. Os vírus foram evoluindo com o tempo e isso é explicado através da infecção de animais, já que ao entrarem em contato com a célula de um ser vivo o seu material genético está sujeito a mutações. Essa sucessão errônea de cópia vai passando a futuros descendentes, o que pode ocasionar surgimentos de novos tipos de vírus. A exemplificar o excerto, a situação da pandemia de Sars-CoV 2 em

2020, um vírus que já fora notificado no ano de 1930 como causador de bronquite aguda e que foi evoluindo de acordo com a quebra da hierarquia entre homem/natureza.

Há muitos dilemas sobre os vírus na sociedade e o avanço da ciência traz conhecimentos sobre os mesmos. Sabe-se que, atualmente, 60% das doenças infecciosas são causadas por patógenos virais, mas não são apenas descobertas relacionadas a “agressões” ao ser humano que se evidenciam (WHO, 2018). Como anteriormente citado, a vida e o vírus estão sempre interligados, entre outras famílias, o genoma humano também é composto pelo ancestral dos retrovírus que contribui para a formação placentária, condução gestacional e redução de rejeição do feto. Além disso, outro fator que comprova o benefício do vírus sobre a vida é que aproximadamente 67% da microbiota é constituída por vírus, denominado viroma pela comunidade científica.

O fato é que o *Homo Sapiens* está em contato constante com os vírus e existe relação positiva acerca disso. A existência na história de relatos e notificações de grandes episódios de epidemias, endemias e pandemias é a relação direta sobre como o homem se comporta no meio e também como se dá a imunização dos corpos.

Aula 3 (01/09/2020)

Estudar vírus envolve uma série de quebra de paradigmas, principalmente ao vivenciar uma pandemia tão atual – COVID 19 -. Entender que fora de um hospedeiro, ou seja, fora de uma célula viva, o vírus é apenas uma partícula nanométrica formada por proteína, lipídeo e ácido nucleico. Todavia, quando parasita um organismo, ele desempenha inúmeras funções bastante interessantes, como por exemplo, imortalizar uma célula para que a mesma não pare de se replicar em função do mesmo.

Se comparado a multiplicação do vírus com a bactéria, é notória a disparidade de crescimento, pois as bactérias crescem em \log_2 e os vírus em \log_{10} . O grande conhecimento da ciência sobre vírus, atualmente, inclusive um aprendizado paulatino, demonstra a importância diária que o mesmo

desempenha. O baculovírus é uma das famílias que agregam bastante na produção de vacinas e controle biológico de pragas.

A estrutura viral baseia-se em:

- **Capsídeo:** de modo geral, refere-se a rigidez e a proteção viral. É capaz de resistir a severas condições ambientais pela rigidez da proteína. São os vírus não envelopados que sobrevivem ao ressecamento, ao ácido (no trato digestório), a detergentes (processo de emulsificação, tanto químico quanto biológico - bile). Muitos vírus com essa capacidade são transmitidos pela rota fecal - oral e podem preservar a capacidade de transmissão mesmo no esgoto. Um exemplo seria o vírus da Hepatite A.

Sobre o capsídeo ainda há outras nomenclaturas envolvidas:

- **Nucleocapsídeo:** associação das proteínas do capsídeo com as proteínas de ligação do ácido nucleico, uma espécie de conglomerado.
- **Procapsídeo:** seria apenas a constituição proteica sem a composição do ácido nucleico no interior. Também chamado de VLP. Inclusive é utilizado para produção de vacinas do vírus citado anteriormente, Hepatite.
- **Envelope:** é constituído de proteína, lipídeo e glicoproteínas (que ajudam na fixação do vírus no hospedeiro e também são importantes antígenos que desencadeiam a imunidade). Essa membrana que alguns vírus desempenham tem que ser mantida na umidade, e, conseqüentemente, é o inverso da não envelopada quando não está dentro de uma célula, pois não sobrevive ao ressecamento, nem a condições ácidas e nem a detergentes/solventes. Um exemplo seria o SARS- CoV. Por esse vírus possuir essa membrana e ser facilmente eliminado quando inerte ao ambiente, as medidas protetivas físicas são lavar as mãos com frequência e utilizar álcool 70%.

O material genético do vírus pode ser RNA ou DNA. Quanto maior for o genoma, maior será a quantidade de informações (genes) que o vírus pode carregar.

Aula 4 (03/09/2020)

Os vírus possuem artifícios ao seu favor para se manter “confortável” na célula, já que a mesma não desempenha todas as funções para que este se replique. O genoma viral codifica proteínas essenciais e não-essenciais para assegurar sua transmissão e replicação. As proteínas essenciais estão mais relacionadas à constituição do vírus, já as não-essenciais seriam uma espécie de “maquinário” para exercer funções que a célula hospedeira não é capaz. A exemplificar o excerto, o RNA de polaridade negativa não é codificado por enzimas da célula parasitada, mas o genoma viral sintetiza enzima polimerase para codificar. O RNA fita negativa, citado anteriormente, seria o RNA diferente do “sentido da vida”. O RNA positivo, em que os ribossomos das células sintetizam, seria de ordem 5´3´, mas há vírus, como arenavírus, em que o sentido é inverso. A estratégia viral, chamada de Ambissense, é a transcrição no sentido normal e oposto, que é um modo de subverter as funções celulares a seu favor.

Ao penetrar em célula viva, o código genético viral pode sofrer inúmeras mutações. Nesse sentido, é explicável porque em uma pandemia de COVID-19 há tantas variações da doença relacionadas aos sintomas. Um *vírion* pode produzir milhares de partículas virais, mas não necessariamente iguais. Por exemplo, sabe-se que no mundo houve epicentros da COVID-19, a Itália foi fortemente atingida no continente europeu e o primeiro caso da doença em Pernambuco foi de um paciente, em 12 de março, que recentemente tinha viajado para o país anteriormente citado. O interessante é que esse paciente demonstrou sintomas semelhantes aos da Itália, já as pessoas que foram infectadas a partir dele desencadearam características diferentes da doença. Isso pode ser justificado pelas mutações no material genético viral que ocorrem na penetração da célula hospedeira.

O estudo de Paiva et al (2020) aborda que estudos sequenciaram genomas das duas maiores linhagens, A e B de SARS-CoV/2, do início da pandemia em Hubei na China, e perceberam que as duas linhagens se espalharam pelo mundo, mas que a B sobressaiu a A. A linhagem B contaminou a Europa, em essencial a Itália e muitos países da América, assim como o Brasil. No mesmo estudo, fala-se que existem aproximadamente 23 tipos de SARS-CoV/2 agrupados entre si

apenas em Pernambuco, o que denota a transmissão ativa entre bairros e municípios.

Há também a replicação anômala que geralmente produz partículas não infecciosas, que são causadas por falta de genoma viral, ou seja, vírus com conjunto incompleto ou genomas com deleções em um ou mais genes ou procapsídeos.

Referências

FLORES, E. F. **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2007.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

PAIVA, M. H. S. *et al.* Multiple introductions followed by ongoing community spread of SARS-CoV-2 at one of the largest metropolitan areas in the Northeast of Brazil. **Viruses**, Basel, v. 12, n. 12, 2020.

Aula 5 (08/09/2020)

Replicação Viral – Parte 1

A penetração do vírus na célula humana, por si só, não garante que o mesmo consiga se replicar, ou seja, não assegura que se produza a progênie viral. Para que isso aconteça, existem várias etapas bastante importantes, caso o vírus consiga passar por todas, a infecção é dita produtiva, mas se algo der errado, chama-se abortiva.

Existem células que são infectadas naturalmente pelos vírus, são chamadas de susceptíveis. Há também uma característica celular chamada de “permissividade” que está relacionado às condições existentes na célula em questão para que haja a replicação viral. Essas condições estão relacionadas com as propriedades físico-químicas da célula, entre elas: temperatura e pH. Altas temperaturas podem desnaturar proteínas do vírus, sobretudo os de envelope; da mesma forma que o pH da solução pode interromper o funcionamento enzimático do mesmo. As células que suportam o processo de replicação do vírus são consideradas susceptíveis e permissivas.

Os vírus, nas suas mais variadas famílias e tipos, ao infectar o corpo humano, têm predileção por determinadas células e tecidos para se multiplicarem,

essa característica é denominada “tropismo”. Um exemplo seria o vírus da Imunodeficiência Adquirida, que tem preferência em infectar as células de defesa CD4+. O fator responsável pelo tropismo e também a susceptibilidade está relacionado com os receptores virais, que são moléculas que desempenham importantes funções nas células e os vírus utilizam para se ligar e iniciar a infecção. Sobre o fato, o exemplo da infecção do SARS-CoV-2 através do receptor ACE2 pela proteína viral *Spike*. A ACE2 é uma proteína que promove a vasodilatação e diminui a pressão arterial, já a ACE faz o inverso. Com avanços em estudos sobre o novo coronavírus, já se sabe que a via de entrada do SARS-CoV-2 é através da ligação da proteína *Spike* com o receptor ACE2. Por esse mesmo motivo, pessoas com doenças crônicas (hipertensão, diabetes, doenças cardiovasculares) são mais suscetíveis a infecção pelo coronavírus e a sua sintomatologia, pois tomam medicamentos inibidores da proteína ACE e têm maior produção da ACE2.

Referências

FLORES, E. F. **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2007.

ACE2: CONHEÇA a proteína presente em nosso organismo que facilita a entrada do SARS-CoV-2. In: **Bio em Foco**. [S. l.]: Mobius Life Science, 24 abr. 2020. Disponível em: <http://bioemfoco.com.br/noticia/ace2-proteina-que-facilita-entrada-do-sars-cov-2-no-organismo/>. Acesso em: 21 set. 2020.

Aula 6 (10/09/2020)

Replicação Viral - Parte 2

A maioria dos conhecimentos sobre virologia é obtido através dos cultivos em células *in vitro* que são deixadas em repouso e as partículas virais gradativamente comecem a infecção. Esse processo chama-se de “absorção” e é o primeiro processo da entrada do vírus na célula hospedeira e sucessivamente a progênie viral. Há um período chamado de “eclipse” em que o vírus virtualmente desaparece, também conhecido como “período de incubação”, e coincide com as fases iniciais da infecção. A capacidade de um vírus se ligar a diferentes receptores virais confere, ao mesmo, importante vantagem evolutiva, já que o mesmo pode se ligar a diferentes células/ tecidos.

A etapa após a absorção é a penetração que confere a introdução do nucleocapsídeo (genoma viral mais proteínas) no interior da célula. Essa penetração ocorre por fusão ou endocitose ou por fagocitose, para que ocorra posteriormente a expressão gênica e replicação do genoma. A etapa seguinte, desnudamento, refere-se à remoção total ou parcial das proteínas do nucleocapsídeo, evento que é importante para que o genoma viral seja exposto às enzimas e outros fatores que são importantes para transcrição ou tradução.

O movimento intracelular é o percurso pelo qual o genoma viral é transportado até chegar ao local onde ocorrerá a expressão gênica e a replicação. O núcleo geralmente é o local de replicação da maioria dos vírus de DNA e do Ortomixiovírus, no entanto, a membrana nuclear da célula configura uma barreira seletiva para vírus maiores que 39 nm de diâmetro, tendo esses que ser previamente desintegrados e deformados para permitirem a penetração do genoma viral. Após o genoma chegar no núcleo, ocorre a replicação viral.

Referência

FLORES, E. F.; KREUTZ, L. C. Replicação viral. In: FLORES, E. F. (org.) **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2007. pp. 107-135.

Aula 7 (15/09/2020)

Vírus emergentes e reemergentes

Os vírus emergentes estão ligados a doenças que não existiam em determinado local e que tem tendência a aumentar no futuro. Já o termo reemergente está relacionado com as doenças tidas como erradicadas e que tem reaparecimento de casos.

Alguns termos:

- Infecção aguda: está relacionada com o surgimento de um patógeno novo e com a rapidez na propagação, como o Novo Coronavírus;
- Infecção crônica: esse termo refere-se a um patógeno bem adaptado, como o HIV (pandemia vivenciada desde 1982);
- Incidência: corresponde aos novos casos da doença na população;

- Prevalência: refere-se a casos novos e os já existentes. Um exemplo é a pandemia vivenciada em 2020 com a crescente taxa de infectados mais o alto número de pessoas já contaminadas;
- Surtos: referem-se ao alto número de infectados em uma população, a exemplificar os surtos de Ebola que ocorreram na África em 2007-2013-2016 e os novos casos na República do Congo em 2020. Ou seja, o continente africano é constantemente surto de morbidades reemergentes, o que está relacionado com o sistema político/econômico/social;
- Infecções subclínicas: são assintomáticos ou sintomas brandos. São bastante preocupantes no tocante a proliferação do vírus, já que não se tem conhecimento de que houve a infecção. A exemplificar a problemática, o Papiloma Vírus Humano (HPV), que cerca de apenas 5% dos infectados apresentam sintomas. Isso é preocupante, principalmente relacionado a esse vírus, pois em alguns tipos de vírus dessa família estar correlacionado com o surgimento de câncer cervical em mulheres (BIOEMFOCO, 2020);
- Imunidade de rebanho: seria o contato que, em média, cerca de 60-70% da população teve contato com o agente patológico e em ondas sucessivas adquiriria uma imunidade contra o vírus. Mas, ao se falar em cenário de pandemia, a imunidade de rebanho se caracteriza como ineficácia das políticas públicas de contenção e distanciamento social, uma vez que para se atingir esta imunidade em massa muitos indivíduos mais vulneráveis morrem.

O controle e erradicação de alguma doença se deve por:

1. Controle dirigidos a veículos comuns (diminuição da circulação de pessoas);
2. Controle dirigidos a reservatórios (transmissor - exemplo: morcego reservatório do SARAS-CoV-2);
3. Imunização;
4. Isolamento, quarentena e vigilância;
5. Erradicação do patógeno.

Aula 8 (17/09/2020)

Vírus de DNA

O processo de replicação dos vírus de DNA é ministrado pela célula hospedeira e também por fatores codificados pelos vírus. Os vírus pequenos (ex: poliomavírus) utilizam mais do maquinário celular, os seus genomas codificam poucos produtos. Já os maiores codificam muitas enzimas no processo de replicação. Como exemplo pode ser citado o Poxvírus.

Alguns exemplos de vírus de RNA:

- Papiloma vírus (HPV): sem envelope, fita dupla circular. Esse vírus causa comumente lesões proliferativas na derme e mucosa (papiloma ou verruga). É geralmente chamado de “vírus oncológico” por estar relacionado ao surgimento de neoplasias que podem ser malignas. O câncer cervical ou câncer de colo de útero é o acometimento a qual alguns subtipos de HPV têm alto risco de causar. Espécies como HPV-16 e HPV-18 são bastantes frequentes.
- Poliomavírus: não envelopados, os poliomavírus geralmente tem quadro subclínico quando se refere às infecções. No entanto, ao acometer células mais susceptíveis à infecção, não suportam a replicação produtiva e também resulta em surgimento neoplásico.
- Herpes vírus: envelopado com cadeia dupla linear, possuem capacidades de estabelecer infecções latentes em seus hospedeiros. Após a replicação lítica inicial, esses vírus passam longos períodos sem se replicar, ou seja, o indivíduo uma vez infectado vai possuir provavelmente a vida inteira o vírus com título baixo.
- Pox vírus: tem característica peculiar pelo ciclo replicativo acontecer no citoplasma da célula, geralmente frequente em vírus de RNA. Essa mesma característica do *Poxvírus* é evidenciada no vírus da gripe suína africana.

Aula 9 (22/09/2020)

Vírus RNA

Vírus de RNA são de um grupo amplo e diverso. São os únicos com RNA genômico e por esse motivo precisam se adaptar às condições de permissividades

da célula. Como as células eucariontes não possuem maquinário (enzimas) para transcrição ou tradução do RNA, etapa importante para que ocorra a replicação viral, o vírus, através de evoluções, possui as proteínas não- estruturais para codificar a própria enzima replicativa.

Alguns vírus de RNA também apresentam a fita antígenômica, ou seja, fita negativa. Nesse caso, também há especificidade dos vírus, chamados ambissenses, os quais transcrevem sentido positivo e negativo.

Exemplos de vírus de RNA:

- Retrovírus: fita simples negativa. Esse vírus tem especificidade por realizar a enzima transcriptase reversa para criar uma cópia de fita dupla de DNA a partir de um RNA. Vírus da imunodeficiência humana tem como tropismo as células T auxiliar - CD4 e são bastante propensos a mutações, o que justifica que mesmo após aproximadamente quarenta anos do primeiro caso (1982), ainda não existe vacina e nem tratamento de cura.
- Vírus da raiva: fita simples negativa, formato de bala. Esses vírus têm como tropismo os neurônios e período de incubação de 30 a 100 dias. A infecção é geralmente por mordidas de animais contaminados com o vírus. Existe o soro e deve ser injetado quando o indivíduo for exposto ao risco. Caso não haja profilaxia, quase sempre é fatal.
- Vírus Ebola: fita simples negativa. Conhecido como vírus que causa uma febre hemorrágica, o processo replicativo se dá em torno de oito horas. É considerado um vírus frágil por ser suscetível a condições ambientais, de pH, a solventes. O contágio se dá através de fluídos corporais. O vírus acomete atualmente a República do Congo, país pobre, sem recursos e escasso de higiene, o que denota a virulência do vírus.

Referências

PICCONE, M. E.; FLORES, E. F. Replicação dos vírus RNA. In: FLORES, E. F. (org.) **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2007. pp. 165-188.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiologia Médica**. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. cap. 5.

Aula 10 (24/09/2020)

Diagnóstico viral

Os diagnósticos laboratoriais se diferenciam em diretos e indiretos. Os diretos são utilizados para detecção do vírus, antígeno ou ácidos nucleicos virais no momento da infecção, dessa forma pode ser analisado através de amostras clínicas, por multiplicação em cultivos celulares em placa, em ovos embrionados ou animais susceptíveis. Já os métodos indiretos são utilizados para detectar vestígios da resposta imunológica do organismo contra o agente patogênico, nesse sentido é utilizado depois dos sinais clínicos e é chamado também de "testes sorológicos".

A respeito dos métodos diretos para diagnóstico laboratorial viral, têm-se métodos bastantes viáveis no tocante ao custo e à rapidez de resultado. Como exemplo, podemos citar os testes imunoenzimáticos, onde a presença do antígeno reage com o anticorpo específico e é revelado pela mudança da coloração. Porém esse tipo de teste deixa a desejar, pois não tem especificidade e sensibilidade em níveis altos o que aumenta a probabilidade de erros.

No mesmo seguimento é o de Imunofluorescência/imunoperoxidase. Nesse método as proteínas virais são detectadas por anticorpos específicos. Em relação a sensibilidade, também é incluído o isolamento em cultivo celular, em que se observa o efeito citopático ou alguns produtos virais para a detecção do patógeno, porém tem um resultado demorado. Já o teste de hemaglutinação é realizado pela observação dos vírus em processo de aglutinação eritrocitária. Essa técnica possui boa especificidade e sensibilidade, mas só é aplicável a vírus hemaglutinantes.

A microscopia eletrônica é utilizada para visualização de partículas virais no microscópio através de metais pesados. O resultado é bem rápido, disponível em poucas horas, porém tem baixa sensibilidade e o equipamento possui custo elevado. Outro método com maquinaria automatizável e de custo alto, mas bastante eficaz, é a detecção de ácidos nucleicos (PCR/hibridização) que consiste na detecção do RNA ou DNA viral pela marcação de sondas (hibridização).

Os métodos indiretos são geralmente de sensibilidade razoável, de baixo custo e de resultado rápido por serem simples. Mas alguns são mais pertinentes

que outros por ser restrito apenas a alguns vírus. Entre esses métodos está a fixação do complemento que com a presença do antígeno ativa o sistema do complemento e lise dos eritrócitos, como também o de imunofluorescência é usado através de anticorpos presentes no soro que se ligam a anticorpos específicos imobilizados. Os métodos mais utilizados são o de imunodifusão em ágar (IDGA) que funciona com a observação de da linha de precipitação formado pelo antígeno e anticorpo. Há a soroneutralização em que os anticorpos presentes no soro previnem a replicação do vírus e a produção do efeito citopático.

Um teste bastante eficaz é o método imunoenzimático, no qual anticorpos presentes no soro ligam-se aos antígenos imobilizados e detectados por anticorpos conjugados por enzimas. É disponibilizada em classes específicas como IgG, IgM, entre outros. A presença do anticorpo também é revelada pelo teste de imunocromatografia que reage com o antígeno são percebidos pela mudança da coloração.

Em contexto de pandemia, como a da COVID-19, alguns testes são feitos com mais frequência na população: o PCR, como teste direto, e os sorológicos ELISA e Imunocromatografia. O PCR é crucial para o diagnóstico no momento da infecção, uma vez que é o teste direto mais eficaz. Mas como se trata de um teste de alto custo pelo equipamento ser de preço elevado e o intuito é testar toda a população, o governo disponibiliza kits de teste rápidos em centros de testagem em massa. O Imunoenzimático é utilizado tanto o direto como o indireto, assim como o de imunocromatografia. Dessa forma, é possível “rastrear” a quantidade de pessoas que tiveram contato com o vírus e também se secretam imunoglobulinas.

Referências

FLORES, E. F. Diagnóstico laboratorial de infecções víricas. In: FLORES, E. F. **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2007. pp. 295-326.

Aula 11 (29/09/2020)

COVID-19

A COVID-19 é causada pelo SARS-CoV-2, espécie pertencente à família *coronaviridae*. É um vírus de RNA de fita simples, envelopado e com polaridade

positiva. O envelope do vírus apresenta longas espículas que dão aspecto de coroa a partícula viral. Além disso, o processo de replicação viral do coronavírus há alta frequência de recombinação, o que resulta numa grande variação antigênica. Existem sete espécies atualmente identificadas até o momento, com atenção para as que estão ligadas às doenças graves e síndromes respiratórias: SARS-CoV-1, MERS-CoV e o novo SARS-CoV-2.

O início do surto de SARS-CoV-2 foi na cidade de Wuhan, na China, em dezembro de 2019, logo a doença ganhou proporções globais por falta de controle do vírus. Sabe-se que o surgimento do novo coronavírus está relacionado com a forma a qual o ser humano trata a natureza. O *Sapiens* acha que é soberano sobre a natureza, não respeita a hierarquia necessária e se torna refém de seus atos. A forma de alimentação da população da China é o motivo do surgimento de várias epidemias notificadas na história, em especial a de COVID-19, pois pelas grandes proporções é entendido que se deu pelo consumo do morcego, que, por si só, é um reservatório de vírus.

O vírus chegou ao Brasil em 28 de fevereiro de 2020 com a notificação do primeiro paciente infectado. É interessante ressaltar que o vírus ao se propagar em um novo ambiente desenvolve outras características, isso se explica pelas mutações que ocorrem ao parasitar um hospedeiro. Sabe-se que o tropismo do vírus são órgãos respiratórios e que ele é causador da Síndrome Respiratória Aguda Grave e que entre os sintomas gerais, apresenta: febre, tosse, fadiga, anorexia, problemas respiratórios, falta de olfato e paladar, entre outros sintomas.

A entrada do vírus na célula humana é através da ligação da proteína viral *Spike* com o receptor ACE2, sendo esse receptor maior expresso em indivíduos com doenças crônicas (hipertensos, diabéticos). Além disso, pessoas acima do peso têm maior disposição a desenvolver complicações pelo fato do vírus invadir adipócitos.

Referências:

LOVATO, L. T.; DEZENGRINI, R. Coronaviridae. In: FLORES, E. F. (org.) **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2007. pp. 613-638.

VARGAS, K.; LAWALL, S. Reflexões biogeográficas acerca da origem, hipóteses, dispersão e distribuição dos Sars-Cov-2 (Corona Vírus). **Geog Ens Pesq**, Santa Maria, v. 24, e19, 2020.

Aula 12 (01/10/2020)

Resposta imune inata

AO primeiro obstáculo para o vírus no organismo se compreende pelo Interferon-1, que é uma citocina produzida por vários tipos de células quando é acionado. Esse acionamento é pela produção de RNA de fita dupla durante a replicação viral e é justamente essa replicação que é interferido. Esse impedimento acontece porque o interferon é secretado no meio extracelular, comunica-se com células vizinhas e provoca um estado de resistência antiviral: degradação de RNAm e inibição da produção, ou seja, inibe a síntese proteica, o que impossibilita a replicação viral já que os vírus necessitam do maquinário celular para se reproduzir.

Outra importante resposta imunológica inata ou primária é acionada no primeiro contato do hospedeiro com o agente infeccioso (patógeno). Nesse sentido, o corpo desempenha constantemente alguns mecanismos de defesa contra antígenos, já que estamos frequentemente propícios ao contato. A primeira configuração de defesa inata são as barreiras como pele, olhos, pelos, muco, algumas substâncias antivirais e também antibacterianas que o corpo produz. O espirro comum, por exemplo, é uma barreira primária contra agentes patogênicos. Caso houvesse falhas nessa barreira, a infecção poderia ser bem mais grave e mais frequente.

Como dito acima, o ser humano está exposto a diversos microorganismos e, quando há de fato a infecção, outros mecanismos de defesa inata são acionados logo após. Esses mecanismos são os Interferons do tipo 1, a célula natural *killer*, componentes do sistema complemento, além de células dendríticas que interligam, basicamente, a resposta inata com a adaptativa. O objetivo desses componentes é justamente limitar ou extinguir a replicação viral até que a resposta mais específica (adaptativa) seja desenvolvida. A resposta imune inata, portanto, é inespecífica reagindo da mesma forma com todos os patógenos e sem memória posterior à exposição.

A linha de defesa é o sistema complemento, no qual várias proteínas são ativadas através de complexos imunes por vias. A via mais importante, chamada via alternativa, se caracteriza pelo depósito de C3b em superfícies que não possuem ácido siálico (esse ácido quando presente torna mais resistente, pois inibe a ligação do complemento) como alguns vírus. Esse depósito causa a formação do complexo de ataque à membrana, causando a destruição do vírus.

A destruição de células infectadas por vírus é pelas células *Natural Killer*, também responsáveis pela destruição de células tumorais. Alguns autores as chamam de terceira linhagem de linfócitos, já que causam apoptose na ausência de um reconhecimento específico (linfócitos Tc). A detecção de células infectadas por vírus ou células tumorais é feita pelas NK's através dos receptores de inibição da destruição (KIR), que reconhecem moléculas de MHC-1 na membrana e caso a célula expresse pouco MHC-1 é sinal que algo não está normal. É dessa forma que as células Nk diferenciam células normais das células com funções alteradas. Essa apoptose causada pelas células NK acontece com a liberação de perforinas que criam poros na membrana depois da liberação de granzimas que adentram a membrana e induzem a morte celular. Portanto, é uma morte dita "natural".

As células dendríticas além de cumprir importante papel na imunidade secundária, também desempenham na inata. Essas são responsáveis por produzir interferons durante infecções virais e participam da estimulação das células NK.

Referência

KREUTZ, L. C. Resposta imunológica contra vírus. In: FLORES, E. F. (org.) **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2007. pp. 237-260.

Aula 13 (06/10/2020)

Resposta imune adaptativa:

A resposta imune adaptativa ou secundária é desencadeada através de patógenos virais com estimulação direta ou indireta de patógenos virais. É uma resposta imunológica mais específica e com uma memória, isso significa dizer que reage diferentemente se tiver outro contato com determinado agente. Essa resposta pode ser duas: celular ou humoral.

A resposta celular é mediada por linfócitos T auxiliares ou linfócitos T citotóxicos. Os linfócitos T somente são estimulados por antígenos protéicos, ou seja, somente as proteínas virais que fazem que ocorra o reconhecimento e a resposta celular. Os linfócitos T, auxiliares ou *T Help* (Th), reconhecem antígenos virais através de seus receptores de membrana que são TCR's junto com uma molécula acessória CD4+. Um detalhe interessante é que esse reconhecimento só ocorre caso esteja processado e associado a moléculas de MHC-II, lembrando que somente um número pequeno de células expressa essa molécula na membrana. Células que possuem captura, processamento e apresentação de antígeno são denominadas de apresentadoras de antígeno (APC's). O reconhecimento pelos linfócitos T citotóxicos é também feito por TCR's, mas o que muda é que a molécula acessória é CD8+. A forma de apresentação é com proteínas sintetizadas dentro da célula durante a infecção, denominada apresentação endógena, diferente do exterior. Essas proteínas juntamente com as moléculas de MHC-I são expostas na superfície da célula e assim ocorre a apresentação. Os linfócitos *T help* atuam secretando citocinas que estimulam a produção de anticorpos em linfócitos ou a resposta imune mediada por célula. Já os linfócitos T citotóxicos funcionam na destruição celular através de perforinas e granzimas, além da indução para apoptose.

A resposta humoral é mediada pelos linfócitos B e o reconhecimento é através dos receptores de membrana denominada BRC. Esses BRC's são moléculas e imunoglobulinas de IgD e IgM que são capazes de se ligar a uma variedade de antígenos. Também pode acontecer o reconhecimento pelos antígenos virais capturados por células dendríticas. A importância dessa resposta é a resistência a um determinado vírus é frequente, pois apresenta diferentes sorotipos.

Referência

KREUTZ, L. C. Resposta imunológica contra vírus. In: FLORES, E. F. (org.) **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2007. pp. 237-260.

Aula14 (08/0/10/2020)

Estratégias de vacinação I

A estratégia de vacinar a população para obtenção de imunidade era uma prática antiga que já afetou e matou muitas pessoas. No século 18, durante uma grave pandemia de varíola, uma prática chamada de variolação tinha como objetivo expor pessoas a uma pequena quantidade da doença para que houvesse uma contaminação “leve” e, dessa forma, conseguir uma imunização coletiva. Práticas bastante perigosas que resultaram na exposição de muitos indivíduos a doença severa.

O pesquisador Edward Jenner, ao observar os ordenadores de vacas que estavam contaminadas com a varíola bovina, concluiu que esses não adquiriram a doença na forma humana. Então o mesmo, com uma mente perspicaz e avançada, administrou lesões de uma vaca infectada em um menino de oito anos e após meses depois o contaminou com a varíola humana. Observou então que a exposição anterior do patógeno bovino conferiu uma menor virulência do vírus da varíola humana.

As vacinas têm o intuito de formar uma resposta imunológica frente a uma nova exposição, nesse caso o sistema imune será efetiva para introduzir proteção e segura para não causar doença no hospedeiro. Devem estimular os linfócitos T auxiliares e Linfócitos T Citotóxicos, a fim de diferenciar os diferentes epítomos do antígeno vacinal. Nesse sentido, epítomo é a menor porção de um antígeno capaz de gerar uma resposta imune. Além do estímulo de células B como quantidade suficiente de células de memórias com a secreção da Imunoglobulina G como anticorpo mais eficaz e sensível para erradicação de futuros contatos com o hospedeiro. É importante ressaltar que mesmo em animais que são devidamente vacinados o contato com o patógeno ou exposição subsequente é seguida da possibilidade de replicação inicial, mas possivelmente não o quadro clínico já que é o intuito da vacinação. A vacinação de 60% a 70% da população impede que haja a circulação do vírus, o que justifica o termo “Imunidade de rebanho”.

As vacinas replicativas induzem uma imunidade mais eficaz pelo fato de possuírem o vírus vivo. Nesse sentido, ocorre a amplificação do agente patogênico no organismo do hospedeiro e há a sinalização do sistema imune, ou seja, simula a infecção natural.

As vacinas replicativas dividem-se em um grupo de quatro tipos: vírus patogênico, vírus heterólogo, vírus atenuado e vetores vacinais. Os vírus com alto grau de patogenicidade podem conferir uma imunidade permanente e ser utilizado como vacina sem mesmo passar por uma atenuação ou algum tratamento que diminua a virulência. Como exemplo, tem-se a época da varíola como citado no início do texto. A vacina com vírus heterólogo é composta por uma espécie viral que tenha relação com outra que confere a doença ao qual quer erradicar, dessa forma escolhe um vírus que seja não patogênico para a espécie vacina. Por exemplo, o vírus da Influenza 3 de bovinos foi utilizado para imunização de crianças para a *Parainfluenza 3* de humanos. Nesse caso, foi conferida a imunidade pelo contato do agente patogênico com o organismo hospedeiro, mas não houve a reversão virulenta porque as células não são susceptíveis a essa espécie.

Os vírus que apresentam maior grau de virulência e patogenicidade precisam ser submetidos a procedimentos para reduzir e viabilizar a utilização em vacinas. Essas vacinas são chamadas vacinas com vírus atenuado e desempenham imunidade de maior amplitude e duração, desse modo caracteriza bom desempenho. Caso os vírus utilizados não passassem por procedimentos que minimizem a patogenicidade, poderiam causar a doença ou até mesmo a mortalidade da população vacinada. Existem tipos de atenuação, sendo: naturalmente atenuado, atenuado por método clássico, atenuado por manipulação gênica e vírus de temperatura sensível.

Vírus natural ou artificialmente atenuado podem ser utilizados manipulação gênica: carrear um ou mais genes que codificam antígenos virais imunoprotetores de outros vírus. Nesse caso, o gene de interesse é inserido no genoma viral e o resultado vai ser um microrganismo recombinante que sintetiza as suas próprias proteínas. A vacina, então, vai induzir resposta imunológica contra proteínas do vetor. Os vírus devem replicar nos mesmos locais de infecção que os vírus de interesse, pois dessa forma a resposta imune será nos locais naturais da infecção normal, mas com a diferença que a replicação deste vírus será baixa.

Geralmente os *poxvírus*, *adenovírus* e *herpes vírus* são mais utilizados por possuírem o genoma sequenciado e caracterizado, o que facilita a manipulação gênica. Além disso, o tropismo do vírus influencia bastante e a preferência é que seja variável como a do adenovírus. Nessa tecnologia de manipulação gênica, circula no mundo a vacina preventiva contra o HIV que utiliza um adenovírus 26, totalmente inofensivo ao ser humano, que tem o genoma alterado para produção de proteínas do HIV. Como explicado acima, o vírus irá produzir proteínas do HIV e o sistema imune irá combater como se fosse a proteína própria do vírus, o que vai conferir uma resposta imune eficaz caso haja contato com o vírus.

Referências

CANAL, C. W.; VAZ, C. S. L. Vacinas víricas. In: FLORES, E. F. (org.) **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2007. pp. 327-360.

Diário 15 (13/10/2020)

Estratégias de vacinação II

Vacinas não-replicativas não têm o vírus viável, ou seja, não têm o vírus vivo. Dessa forma, esse tipo de vacina é mais segura do que as replicativas por não ter risco de replicação viral no hospedeiro ou não ter risco de reversão virulenta. No entanto, por não ter ampliação de antígeno, não induzem a resposta mediada pelos linfócitos Tc, logo, apresentam uma proteção menor do que as com vírus vivo. As vacinas com vírus não replicativos se distinguem em tipos:

- Vacina com vírus inativo: nesse tipo de vacina, o patógeno é submetido a procedimentos químicos e físicos para diminuição da infectividade de uma forma irreversível. O processo de produção da vacina é feito com o cultivo celular do vírus ou em ovos embrionados, após altos títulos viriais serem denotados, são submetidos a inativação. A vacina produzida pelo Instituto Butantan em parceria com a farmacêutica *Sinovac* contra o novo coronavírus denominada *Coronovac*.
- Vacina de subunidade virais: o corpo humano não reconhece todo o patógeno, mas sim pequenas regiões específicas que variam no grau de imunogenicidade. São regiões denominadas de epítopos, que são sequências de aminoácidos que reconhecidos por células conferem

consequentemente uma imunidade eficaz. A vacina *Pfizer* contra o novo coronavírus é baseada nessa tecnologia, que é recente, mas confere um bom percentual de anticorpos. A manipulação gênica de uma parte do código genético viral é para obtenção das instruções de transformação da proteína de interesse. Dessa forma, o sistema imunológico reconhece essa proteína e ativa a maquinaria de defesa.

- Vacina com proteína recombinante: a produção é semelhante às demais, mas a diferença se encontra na obtenção da proteína viral de interesse: não é extraído de um *vírion*, é produzida em organismo recombinantes como levedura ou bactérias. O gene de interesse é extraído do vírus e é implantado no genoma desses organismos. Dessa forma, possibilita a purificação (não-patogenicidade) e a quantidade maior de imunidade, além da administração vacinal ser de baixo custo. A exemplificar esse tipo de vacina, encontra-se no programa de vacinação no Brasil a vacina contra o Papiloma Vírus Humano (HPV) que está associado a câncer de colo uterino em mulheres. A proteína de interesse do HPV é produzida em levedura e formam estruturas semelhantes a *vírions*, chamados VLP's (*Virus Likes Particles*).
- Vacina com peptídeos sintéticos: são vacinas que contém apenas as sequências de aminoácidos relevantes aos epítomos mais importantes para ativação dos linfócitos B e resposta imunológica. Esse sequenciamento é feito em laboratório a partir da análise do vírus e epítomos mais imunogênicos.
- Vacina de DNA E RNA: é baseado na inoculação do DNA/RNA no animal para que seja produzido a proteína viral nos tecidos do hospedeiro. A elaboração da vacina é realizada com a identificação prévia de um gene que codifica uma determinada proteína dominante e indutora de uma resposta protetora. Essa vacina confere maior vantagem em relação às demais do tipo não- replicativa porque além de estimular os linfócitos T auxiliares, também têm a ação dos linfócitos T citotóxicos (reconhecem proteínas virais através de TCR + CD8+).

Referência

CANAL, C. W.; VAZ, C. S. L. Vacinas víricas. In: FLORES, E. F. (org.) **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2007. pp. 327-360.

Diário 16 (15/10/2020)

Bacteriófagos e terapia do fago

Bacteriófago são vírus que infectam bactérias. Por falar em bactérias, há uma grande resistência atualmente a antibióticos e os vírus bacteriófagos têm capacidade eficiente de cessar infecções importantes virais.

O conhecimento sobre vírus bacteriófagos no tratamento de doenças causadas por bactérias tem mais de cem anos. As primeiras notificações do uso foram em 1921 em crianças com disenteria severa, com pessoas infectadas com peste bubônica, entre outros. Mas, a partir das descobertas de Flemming com os antibióticos, os estudos com fagoterapia foram deixados de lado, porém a problemática é que com as mutações as bactérias estão ficando resistentes.

A região dos “pinos” da estrutura viral é a parte onde ocorre uma interação onde estruturas proteicas interagem com moléculas das superfícies de bactérias com função de infectar. A fagoterapia mais eficiente utiliza o ciclo lítico, pois com o lisogênico há casos de resistência bacteriana. Nesse caso, uma vez infectada a célula é incapaz de utilizar o maquinário celular para que haja a reprodução viral e na fase final ocorre a morte celular e a liberação de partículas víricas. É importante ressaltar que é usado vírus com alta virulência, ou seja, capacidade de matar a célula que o mesmo infecta. Vale ressaltar que isso significa uma vantagem dos antibióticos, já que a maioria deles são bacterioestáticos, ou seja, não inviabilizam a célula. Esse é o motivo pelo qual surgem as cepas virais, responsáveis pelas mutações que a tornam mais resistentes.

O interessante é que na fagoterapia há especificidade e infectam apenas bactérias que tenham receptores de superfície. Desse modo, evita-se o desequilíbrio da microbiota, já que é sabe-se da existência de relações harmônicas e necessárias para o ser humano. Além disso, quando há o tratamento e detecção de bactérias infecciosas, ocorre uma grande produção de vírus para o combate e isso culmina em uma maior eficiência.

Diário 17

Métodos de tratamento de infecções virais

As infecções virais estão ligadas a virulências e a suscetibilidade do indivíduo. A suscetibilidade está relacionada com as condições do organismo para que a infecção ocorra, ou seja, como está a imunidade do mesmo. Já o termo virulência é sobre a capacidade de replicação do vírus, ou seja, o grau de gravidade da doença.

Existem formas de tratamentos para doenças virais que podem ser através de medicamentos sintomáticos ou por antivirais. Os antivirais são mais específicos e têm função de inibição, podendo ser:

- Inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa (vírus do HIV): se incorpora na fita do DNA viral e danifica, impedindo essa síntese;
- Inibidores não- nucleosídico: o mesmo mecanismo, porém sem o nucleocapsídeo (precursor do nucleotídeo);
- Inibidores da protease: o defeito vai ser encontrado na especificidade, já que as proteínas após a tradução não separam as estruturais das não-estruturais;
- Inibidores da DNA polimerase: inibe a replicação da fita;
- Inibidores da fusão do HIV: impede a ligação do vírus nas células TCD4+ (células que o vírus do HIV infecta);
- Inibidores de liberação e desmontagem viral: inibe a neuroaminidase, enzima responsável por auxiliar na saída da célula infectada);
- Imunomodulares: fortalecem o sistema imunológico;

O HIV é umas das maiores pandemias já existentes, pois, desde a década de 80, o vírus se dissemina na população de forma vertiginosa. São números altos devido ao longo período de incubação viral e muitos indivíduos infectados são assintomáticos durante a “janela imunológica”. O fato é que a relação sem preservativo junto com a desinformação gera danos e estatísticas altas. O tratamento do HIV é fornecido pelo *Sistema Único de Saúde* desde 1996 e contém, em média, 22 tipos de medicamentos, os quais têm custo mensal de aproximadamente dois mil reais. O objetivo do tratamento é melhorar a qualidade

de vida e de tempo do paciente. Intitulado “coquetel”, possui uma série de efeitos colaterais como Lipodistrofia, diarreia, náusea, dor de cabeça, entre outros.

Como se trata de uma questão de saúde pública e uma pandemia sem possibilidade de acabar pela dificuldade de uma vacina, o governo disponibiliza profilaxia pós-exposição. É uma espécie de coquetel do dia seguinte disponível desde 2010 para pacientes que sofreram episódios de abuso sexual, acidentes com perfurantes, além de relações inseguras.

Conclusão

Em suma, estudar virologia traz uma compreensão além dos conceitos gerais de vírus e imunologia, pois é capaz de aguçar o senso crítico acerca da história, da atualidade e da relação do ser humano com a natureza. É sobre o entendimento das estruturas do vírus, a patogenicidade, fatores envolvidos na infecção, replicação, resposta do organismo contra a infecção, diagnóstico, entre outros, mas também sobre os danos causados através da preponderância do *Homo Sapiens* sobre a natureza.

É preciso entender que todas as endemias, epidemias e pandemias já vivenciadas durante os anos podem ser novamente vividas se o “*ecocida*”, morte do ecossistema, continuar a acontecer. Com isso, vários fatores são analisados durante a fragilidade humana e a revoltada da natureza: o consumismo capitalista neoliberal fez com que perdêssemos a capacidade de assimilar um genocídio a longo prazo, a ressaltar que a base da pirâmide (maioria) será sempre as “cobaias” à frente de algum vírus com alto poder virulento, a exemplificar o SARS-CoV-2. O fato das pessoas menos favorecidas serem sempre as mais atingidas quando um novo vírus surge, está diretamente ligado à falta de informação e ao acesso a direitos básicos, como uma boa dieta nutricional e a um sistema de saúde de qualidade.

A educação sempre será a melhor arma de combate a disseminação de doenças, mas como uma significativa parte da população não tem acesso, torna-se totalmente indefesa e vítima do sistema negligente e excludente. Portanto, a ciência é o que salva, já que a produção de vacinas através de um trabalho minucioso sobre o detalhamento do vírus em questão com o objetivo de vacinar a

população e cria-se uma “imunidade de rebanho”, termo para definir a não circulação do vírus entre as pessoas.

É importante sempre priorizar a propagação de informações verdadeiras e instruir gerações futuras sobre as mudanças bruscas de comportamentos que o ser humano precisa fazer para que a espécie sobreviva.

Vivência dos conteúdos abordados nas aulas da disciplina de virologia agregado com pesquisas sobre os principais tópicos de cada aula

Ewerton Henrique da Conceição

Aula 1 (25/08/20)

A aula foi iniciada com a abordagem de como será a estrutura da disciplina. Logo após, foi realizada a apresentação da nossa sala virtual e, por fim, foi mostrado o conteúdo programado. No final disso, tivemos a introdução ao conteúdo, onde fomos provocados com algumas perguntas relacionando vírus e evolução.

Mesmo havendo registros históricos de que os vírus existem a milhares de anos, não é provado cientificamente que eles tenham vindo do mesmo ancestral que originou todas as espécies, já que podem ter evoluído em paralelo a isso, o que abre um leque de hipóteses. Em uma breve pesquisa, verifiquei que há três hipóteses principais em relação às origens dos vírus:

- O progressista ou o escape: indica que os vírus se originaram dos elementos genéticos que ganharam a capacidade para se mover entre pilhas;
- O regressivo ou a redução: afirma que os vírus são restos de organismos celulares;
- A virus primeira - hipótese: indica que os vírus coevoluiram com seus anfitriões celulares atuais (MANDAL, 2019).

De acordo com a hipótese progressiva, os vírus se originaram por um processo progressivo, o que ocorreu o móbil das partes móveis do material genético capazes de mover-se dentro de um genoma, de modo que ganhou capacidade para se retirar de uma célula e entrar em outra. Entretanto, os vírus da sensação, de acordo com alguns virologistas, podem ter se originado através da teoria regressiva ou progressista. Como exemplo, podem ser citadas

determinadas bactérias que são obrigatoriamente parasitas intracelulares, como a espécie da clamídia e da rickettsia, evoluída dos antepassados pródigos. Esses tipos de vírus poderiam ter evoluído de organismos mais complexos, possivelmente mais pródigos que a informação genética perdida ao longo do tempo e, assim, tornando-se parasitas em sua réplica. Como espécie, pode ser citado o *minucleocytoplasmic do ADN* (NCLDVs) que ilustram esta hipótese. Já na teoria vírus-primeira hipótese, é sugerido que os patógenos existam antes das pilhas. Koonin e Martin (2005) supõem que os vírus existiram em um mundo pré-celular como unidades auto replicadoras (MANDAL, 2019).

Não existe uma hipótese certa ou errada, entretanto sabe-se da íntima relação dos vírus com todas as espécies existentes no planeta terra. Também é importante destacar que os genomas de diferentes espécies carregam parte de genomas virais e, mesmo que inativos, garantem a estabilidade molecular do DNA.

Tudo isso nos mostra que os vírus não são apenas causadores de doenças, mas também possuem um papel importante no equilíbrio molecular, porque não dizer, no ecossistema do nosso planeta. Também nos faz refletir sobre a importância de ter cada vez mais pesquisas na área de virologia, visto que essa pandemia nos mostrou o quanto é importante o conhecimento científico.

Referência

MANDAL, A. A Origem dos Vírus. In: **News Medical Life Sciences**. Manchester: News Medical, 5 jun. 2019. Disponível em: [https://www.news-medical.net/health/Virus-Origins-\(Portuguese\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Virus-Origins-(Portuguese).aspx). Acesso em: 26 ago. 2020.

Aula 2 (27/08/20)

A aula iniciou com um resgate da exposição anterior e foi dada continuidade a discussão sobre o papel dos vírus na evolução, os quais se encaixam na teoria que partimos de um ancestral comum. É importante destacar que esses patógenos não são apenas agentes patogênicos, eles possuem um papel importante no equilíbrio molecular, de modo que garantem a replicação, como também fazem parte da nossa microbiota e, dessa forma, ajudam na digestão em conjunto com as bactérias e fungos. Todavia não é só na espécie humana que

existe contribuição viral, pois foi verificado que os vírus contribuem no mutualismo de plantas e fungos.

Certos fungos que crescem em tecidos vegetais beneficiam a planta parasitada. Um fenômeno conhecido é a associação de fungos com a resistência ao calor de certas plantas. No entanto, estudo recente mostrou que a resistência ao calor que o fungo *Curvularia protuberata* confere à planta *Dichanthelium lanuginosum*, que vive em solos muito quentes, perto de fontes geotérmicas no Parque Nacional de Yellowstone, nos Estados Unidos, é mediada por um vírus. Denominado vírus da tolerância termal da *Curvularia*, ele é transmitido pelos esporos do fungo. Plantas sem o fungo (ou com o fungo, mas sem o vírus) morrem em solos a temperaturas acima de 65°C. Uma descoberta interessante foi a de que o fungo com o vírus foi capaz de conferir resistência ao calor a diversas espécies de plantas em laboratório (MODENA; ARRUDA; ACRANI, 2012, p. 30).

Além disso, é possível entender, também, que os vírus atuam como agentes que possibilitam a variabilidade genética, visto que possuem capacidade de penetrar em qualquer célula e interagir com as moléculas de DNA desses hospedeiros, ou seja, “passeiam” pelo genoma de qualquer forma de vida do planeta.

Assim, os vírus estariam incluídos na árvore da vida não em um dos ramos dos três domínios, mas sim envolvendo-a inteira, como se aquela árvore estivesse banhada em um ‘mar’ de vírus. Todas as variedades de vírus existentes estariam, portanto, relacionadas a todas as outras formas de vida celulares. Essa perspectiva possibilita entender os vírus como entidades criadoras de genes que podem ser acrescentados aos genomas dos hospedeiros, aumentando a diversidade genética existente. Isso é facilitado pela rápida replicação dos vírus, que têm frequências de mutação bem maiores que as de seus hospedeiros, o que os torna fontes de inovação genética (MODENA; ARRUDA; ACRANI, 2012, p. 28).

O professor questionou, na aula, se o vírus era ou não uma forma de vida, mas sabe-se que essa incerteza é a problemática mais relevante da ciência. No momento, não há uma definição científica sobre isso, o que nos permite ter posicionamentos diferentes e controversos. Uma hipótese abordada foi que o vírus possui dois estágios, um com vida, que é o vírus dentro da célula hospedeira e com capacidade de replicação; e um sem vida chamado de *vírião*, uma partícula de proteínas carregando DNA ou RNA.

Na aula também foi abordado que os vírus são constituídos por DNA ou RNA, mas nunca os dois, o que desmente muitas literaturas que dizem que existe um vírus chamado *Citomegalovírus*, os quais possuem tanto o DNA, quanto o RNA. Todavia, compreende-se que é um vírus de DNA fita dupla e só acontece esta questão de DNA e RNA em sua replicação. (KORSMAN *et al*, 2012)

De forma geral, o material genético do vírus, sua estrutura, tamanho, estratégia de replicação, hospedeiro e doença causada servem para sua classificação. Contudo, existem dois sistemas de classificação, a classificação do International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) e a classificação de Baltimore (KORSMAN *et al*, 2012).

A classificação de Baltimore divide os vírus em sete grupos baseados em uma combinação de tipos de genoma e estratégia de replicação, especificamente como o mRNA é formado. Já o ICTV é semelhante à classificação de organismos celulares em gênero e espécie, de modo que essas relações são determinadas pelo tipo do genoma e similaridade na sequência. Um ponto importante é que os organismos, incluindo os vírus, na atualidade, são classificados mais pela sua sequência gênica do que por aspectos fenotípicos (KORSMAN *et al*, 2012).

Referências

KORSMAN, S. N. J. *et al*. **Virologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

MODENA, J. L. P.; ARRUDA, E.; ACRANI, G. O papel dos Vírus na árvore da vida. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, n. 292, maio 2012.

Aula 03 (01/09/2020)

A aula iniciou com a explicação de como o vírus acompanhou a história. Foram citadas várias pandemias, como por exemplo, a gripe espanhola que ocorreu entre 1918 e 1919 e atingiu todos os continentes e deixou um saldo, em média, de 50 milhões de mortos. Ainda hoje, não é possível identificar seu local de origem, mas sabe-se que ela foi iniciada a partir de uma mutação do vírus Influenza. Entretanto, é possível observar que muitas pandemias e endemias surgiram na China, com características de serem transmissíveis por vias respiratórias e isso tem total relação com a cultura do país. O desequilíbrio ambiental é um dos principais fatores que proporcionam uma pandemia, uma vez

que a pressão ambiental imposta pelo homem junto ao convívio de animais silvestres faz com que mutações ocorram com maior ênfase. É importante mencionar que mutações virais ocorrem independente das pressões ambientais e que os vírus possuem uma capacidade de mutação elevada em comparação aos materiais genéticos de outros seres vivos. Todavia, à medida que ocorrem mais alterações ambientais pelo homem, torna-se mais provável que os vírus comecem a contaminar seres humanos também, como é o caso do SARS-CoV-1, um vírus zoonótico.

Nesse sentido, os morcegos são tidos por muitos como vilões, pois já se sabe que alguns vírus como SARS-CoV-1, e possivelmente, o SARS-CoV-2 são vírus que infectam morcegos e, dessa forma, na aula ficou o questionamento sobre o motivo dos morcegos serem “depósito” viral. A partir disso, surgiu uma dúvida sobre a capacidade de sobrevivência desses animais e algumas pesquisas recentes respondem essa questão. Elas sugerem que a resposta pode estar na maneira das adaptações evolutivas dos morcegos que lhes permitem voar e modificam seu sistema imunológico. Essa teoria, proposta por cientistas da China e de Cingapura em 2018, é a de que para a geração de energia suficiente para alçar voo, as células dos morcegos se rompem e liberam fragmentos de DNA. Normalmente, nosso sistema imunológico responde às partículas virais como se fossem um organismo invasor e os destrói, mas os morcegos parecem ter desenvolvido uma adaptação que modifica a resposta imune de seu organismo, o que faz que não ataquem esses fragmentos não identificados. Portanto, essa modificação faz com que seu sistema imunológico atue efetivamente, mas não de maneira exagerada na presença de um vírus, assim é possível que ele conviva com as partículas virais.

As características gerais dos vírus também foram abordadas. Eles são compostos por capsídeo, um material genético que pode ou não ter envelope. O material genético é composto por DNA ou RNA e pode ser fita simples de DNA (fsDNA) ou fita dupla de DNA (fdDNA), como também fita simples de RNA (fsRNA) e fita dupla de RNA (fdDNA). Outro atributo é que podem ser lineares ou circulares e genomas virais de fita simples podem também ser de senso positivo ou senso negativo, conforme sua sequência de bases. Os genomas virais de senso

positivo apresentam a sequência de bases exatamente igual ao do RNAm viral que será traduzido para formar as proteínas virais. Em contrapartida, os genomas virais de senso negativo são complementares à sequência de bases do RNAm viral. Esta característica interessante de genomas virais requer processos especiais de fluxo de informação genética. Os genomas virais são menores que os genomas bacterianos conhecidos e cerca de 145 pares de quilobases, que codificam cerca de 170 genes (ROEHE, 2007).

Os vírus possuem três formas, que são: Icosaédrica ou cúbica, Helicoidal, Complexa. A simetria icosaédrica corresponde ao arranjo mais eficiente de subunidades em um envoltório fechado, pois utiliza o menor número de unidades para construí-lo. O arranjo mais simples de capsômeros corresponde a três por face triangular, com um total de 60 capsômeros por *virion*. Entretanto, a maioria dos vírus possui uma quantidade de ácido nucleico maior do que a possível de ser empacotada em um envoltório composto por apenas 60 capsômeros e então vírus com 180, 240 ou 360 capsômeros são mais comuns. O capsídeo do vírus humano, o papilomavírus, por exemplo, consiste em 360 capsômeros arranjados em 72 grupos de 5 cada. Podendo ser não-envelopado e envelopado e cada um com suas particularidades. (ROEHE, 2007).

Os vírus icosaédricos não-envelopados estão entre os mais comuns. Eles têm genomas compostos por dsDNA, ssDNA, dsRNA ou (+)ssRNA e são capazes de infectar organismos de todos os grupos de seres vivos, com exceção de Archaea. Eles possuem diâmetro que varia de 18 a 60 μm e são os menores vírus conhecidos. Já os vírus icosaédricos envelopados têm material genético formado por dsDNA, dsRNA ou ssRNA. Sua simetria helicoidal, subunidades proteicas, pode interagir uma com a outra e com o ácido nucléico para formar uma estrutura em fita enrolada. O vírus mais bem estudado com simetria helicoidal é o vírus não envelopado do mosaico do tabaco. A natureza helicoidal deste é muito clara em coloração negativa em micrografias eletrônicas, uma vez que esse patógeno forma uma estrutura rígida em forma de bastão. Nos envelopados, vírus helicoidalmente simétricos, como o da Influenza e o da raiva, o capsídeo é mais flexível, mais longo e aparece em coloração negativa como um fio telefônico. A morfologia helicoidal envelopada é encontrada principalmente entre vírus (-

)ssRNA, os quais se encontram muitos agentes etiológicos de doenças humanas conhecidas. Na simetria Complexa, estão os vírus que se encaixam na simetria helicoidal ou icosaédrica. O exemplo mais conhecido é o bacteriófago, ou simplesmente fagos. Os fagos possuem partícula viral composta por uma "cabeça", chamada de capsídeo, de simetria icosaédrica, e uma cauda helicoidal. Na extremidade da cauda frequentemente são encontradas fibras proteicas que medeiam o contato vírus-célula. Esses patógenos infectam exclusivamente bactérias ou archaea e todos possuem genoma constituído por dsDNA. Além dos fagos, existem outras famílias virais que possuem vírions com características que contrastam com as morfologias mais usuais. Entre estas famílias estão os *Baculoviridae*, *Reoviridae* e *Poxviridae* (CÂMARA, 2020).

Referências

CÂMARA, B. Morfologias Virais. In: **Biomedicina Padrão**. [S. l.]: O Autor, 15 set. 2013. Disponível em: <https://www.biomedicinapadrao.com.br/2011/09/morfologias-virais.html>. Acesso em: 13 set. 2020.

POR QUE os morcegos, considerados possível fonte do coronavírus, transmitem tantas doenças. In: **BBC News**, São Paulo, 12 fev. 2020. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/internacional-51453567>. Acesso em: 13 set. 2020.

ROEHE, P. M. **Curso de Virologia Básica**. Porto Alegre: Labvir/UFRGS, 2007. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/labvir/material/poligrafo1.pdf>. Acesso em: 13 set. 2020.

Aula 04 (03/09/2020)

Nesta aula, deu-se continuidade às características gerais do vírus. Foi lembrado sobre os vírus envelopados e não envelopados e surgiu uma pergunta a respeito disso, se seria favorável para eles serem envelopados ou não. Neste caso, para o *vírião* envelopado não é favorável, pois o envelope composto de carboidratos, lipídeos, proteínas, chamados de lipoproteínas, são facilmente destruídos com sabão e assim perde sua capacidade de contaminação. Porém, isso não ocorre com o *vírião* não envelopado, o qual é mais resistente no meio externo. Todavia, dentro do organismo, o envelope fornece uma camuflagem para os patógenos e permite uma maior eficiência ao passar pelo sistema imunológico, em

razão de os envelopes de alguns vírus possuírem algumas proteínas que não são detectadas ou são inativadas pelas células do sistema imunológico.

O envelope viral, origina-se de membranas da célula hospedeira através de brotamento, que ocorre durante o egresso de vírions maduros da célula hospedeira. Essa membrana, frequentemente, é derivada de uma região da membrana plasmática, mas pode originar-se também das membranas do aparelho de Golgi, do retículo endoplasmático ou da membrana nuclear, isso depende do vírus e do compartimento celular onde ocorre a replicação. Independentemente de sua origem, o envelope é composto de uma camada dupla de lipídios de origem celular com proteínas associadas. As proteínas do envelope são codificadas pelo vírus e constituem-se em sua maioria de glicoproteínas. O número de proteínas do envelope pode variar de uma até mais de dez, dependendo do vírus. As glicoproteínas do envelope desempenham várias funções, as quais incluem a ancoragem inicial do vírion na célula, penetração, fusão e disseminação do vírus entre células. A ancoragem inicial do *vírion*, na superfície da célula, exige que o envelope esteja intacto e que as glicoproteínas estejam em sua conformação natural. Algumas drogas antivirais são dirigidas contra as proteínas do envelope e podem reduzir a capacidade dos vírus de se ligarem na célula e iniciarem a infecção e, assim, diminuir sua infectividade. O processo de brotamento e a consequente aquisição do envelope por vírions recém-formados podem ou não resultar na destruição da célula infectada. A liberação de um número muito grande de vírus simultaneamente pode comprometer a integridade celular e resultar na morte dela. Muitas vezes, a liberação da progênie viral é lenta e resulta em excreção viral contínua e infecção crônica ou persistente. Ao contrário dos vírus sem envelope, cuja liberação é quase sempre acompanhada de morte celular, o egresso de vírus envelopados é muitas vezes compatível com a sobrevivência da célula hospedeira. Portanto, o processo de brotamento representa um mecanismo de liberação de progênie viral sem induzir morte celular (ROEHE, 2007).

Foi visto também que os vírus sofrem várias mutações ao longo de sua vida, entretanto foi verificado que o SARS-CoV-2 não sofreu mutações como esperado. A única mutação vista é a da proteína *Spike*, a qual ainda não se tem

informação se é favorável ou não em relação à vacina, uma vez que a principal vacina utilizada é baseada na proteína *Spike*. Nesse sentido, o mundo todo está de olho nos bancos genômicos, para verificar e acompanhar esse processo. (PAIVA *et al.*, 2020)

Também foi abordada a utilização dos vírus na engenharia genética. Essa utilização acontece para que ocorra transferência de material genético para dentro das células de um indivíduo com o intuito de corrigir genes responsáveis por características patológicas e, assim, tratar doenças. Desse modo, a entrega eficiente e a expressão apropriada dos genes terapêuticos são requisitos fundamentais para a eficiência da terapia gênica. Os vírus se apresentam como importantes sistemas para a transferência de genes e são utilizados como uma excelente estratégia para o tratamento de doenças monogênicas e não monogênicas (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Referências

OLIVEIRA, B. A. *et al.* Vetores virais para uso em terapia gênica. **Rev Pan-Amaz Saude**, Ananindeua, v. 9, n. 2, p. 57-66, jun. 2018. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232018000200057#:~:text=Essa%20habilidade%20de%20entrar%20e,genomas%20de%20DNA%20ou%20RNA. Acesso em: 15 set. 2020.

PAIVA, M. H. S. *et al.* Multiple introductions followed by ongoing community spread of SARS-CoV-2 at one of the largest metropolitan areas in the Northeast of Brazil. **Viruses**, Basel, v. 12, n. 12, 2020.

ROEHE, P. M. **Curso de Virologia Básica**. Porto Alegre: Labvir/UFRGS, 2007. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/labvir/material/poligrafo1.pdf>. Acesso em: 13 set. 2020.

Aula 05 (08/09/2020)

Nesta aula, foi explanado sobre replicação viral, um processo bastante complexo e diverso. Os mecanismos de replicação dependem fundamentalmente do tipo de ácido nucléico e da organização do genoma de cada vírus e embora existe grande diversidade de estratégias de replicação, encontram-se vários aspectos em comum nas diversas etapas de replicação.

O ciclo replicativo de todos os vírus contém as seguintes etapas: adsorção, penetração, desnudamento (se necessário), síntese proteica, replicação do

genoma, montagem e egresso ou liberação. A adsorção ou ligação depende da interação física entre os vírions e a superfície da célula-alvo, ou seja, a célula tem que ser permissiva. Essa fase constitui uma interação ligante-receptor e, como consequência, a especificidade das células-alvo e dos hospedeiros susceptíveis é determinada. É importante destacar que sem esse estágio, a infecção não poderá ocorrer. Por outro lado, nem todos os eventos de adsorção resultam em infecção produtiva, em outras palavras, a adsorção é necessária, mas não assegura que a replicação ocorrerá. A penetração refere-se à introdução do ácido nucléico viral na célula, internalização do nucleocapsídeo via endocitose mediada por receptor ou fusão do envelope viral com a membrana plasmática. Como resultado, o genoma viral é liberado e se localiza no citosol ou em vesículas endocíticas. O desnudamento do genoma das proteínas, componentes do nucleocapsídeo, podem necessitar da participação de proteínas celulares ou outros fatores. Essa etapa é um pré-requisito para a expressão do genoma e, após essa fase, o genoma prossegue no ciclo replicativo ou uma cópia dele é integrada no cromossoma do hospedeiro, a qual permanece latente até ser ativado. Na síntese proteica, que também pode ser chamada de expressão gênica, o RNA mensageiro (RNAm) é produzido e traduzido em proteínas e independentemente do tipo, DNA ou RNA; cadeia simples ou dupla; segmentado ou não-segmentado, o genoma deve ser capaz de originar os RNAs mensageiros que sejam reconhecidos e traduzidos pela maquinaria celular de tradução (ROEHE, 2007).

O processo produtivo de algumas vacinas também foi abordado. Para a criação, são utilizados fragmentos de partículas virais para estimular o sistema imune na produção de uma resposta de memória contra o patógeno em questão. É importante destacar que existem várias técnicas que serão detalhadas em aulas posteriores e uma delas, por sinal muito utilizada na produção da vacina contra os vírus da Influenza, é produzida a partir de ovos. Nesse método, o vírus atenuado é colocado no ovo para que aconteça a replicação viral, uma vez que o ovo é um meio de replicação ideal, pois tem o metabolismo acelerado. Entretanto, as pessoas que possuem formas graves de alergias a esse alimento não podem utilizar a vacina, pois possuem proteínas do ovo na sua composição. (VENTURA, S.d.)

Foram citadas as amostras de vírus em laboratório, a qual foi dado ênfase ao efeito citopático (ECP). Segundo Ventura (S. d.) na apostila de virologia da disciplina de microbiologia básica da USP, após a infecção e durante o processo de multiplicação intracelular, a maioria dos vírus provoca alterações na morfologia das células em cultura. Algumas dessas alterações são típicas para determinados vírus e a simples observação das células ao microscópio óptico pode, além de indicar a presença, também ser útil na sua identificação. Dentre essas alterações típicas destaca-se a presença de corpúsculos de inclusão, como por exemplo, corpúsculos eosinófilos no núcleo que indicam herpesvírus. Eventualmente, o efeito citopático é discreto ou não possibilita distinção entre uma gama de vírus, como modelo pode-se citar o efeito de fusão entre membranas citoplasmáticas de células vizinhas que é provocado por diferentes vírus. Isso leva à formação de sincícios, células grandes e multinucleadas.

Referências

ROEHE, P. M. **Curso de Virologia Básica**. Porto Alegre: Labvir/UFRGS, 2007. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/labvir/material/poligrafo1.pdf>. Acesso em: 13 set. 2020.

VENTURA, A. **Apostila de Virologia**: Cultivo, isolamento e quantificação dos vírus. São Paulo: USP, [S.d.]. Disciplina de Microbiologia Básica para Farmácia-USP. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4381127/mod_resource/content/1/Cultivo%20de%20virus.pdf. Acesso em: 15 set. 2020.

Aula 06 (10/09/2020)

Nesta aula foi possível verificar as diferenças entre inflamação e infecção. A inflamação é uma resposta natural do corpo, ou seja, o sistema imunológico responde contra uma agressão. Já a infecção estimula as respostas inflamatórias e é causada por agentes externos, como por exemplo vírus, bactérias e fungos. É importante destacar que existem dois tipos de inflamação, a aguda e a crônica. A primeira se caracteriza por ter início imediato e duração curta e pode ser ocasionada por patógenos orgânicos, radiação ionizante, agentes químicos ou traumas mecânicos. Os principais sinais da resposta inflamatória aguda estão relacionados à resposta vascular com vasodilatação gerando rubor e calor,

aumento da permeabilidade vascular gerando edema, aumento da pressão tissular causando dor devido à tensão e à compressão das terminações nervosas, o que pode ocasionar a perda da função. Esse processo é mediado por neutrófilos, basófilos, mastócitos, eosinófilos, macrófagos, células dendríticas e epiteliais e os principais mediadores químicos envolvidos são bradicinina, fibrinopeptídeos e prostaglandinas, proteínas do complemento (C3a, C4a e C5a) que induzem a degranulação local dos mastócitos com liberação de histamina, as interleucinas IL-1, IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral TNF- α . No momento que ocorre a lesão, as plaquetas liberam proteínas do complemento e os mastócitos se degranulam liberando histamina e serotonina, fatores que medeiam a vasodilatação e o aumento da permeabilidade. Os neutrófilos são os primeiros a responder à lesão inflamatória e sua migração para o local é induzida por quimiocinas (IL-8). Estes neutrófilos fagocitam os patógenos e liberam mediadores que contribuem na resposta inflamatória, de modo que são mais importantes as quimiocinas, pois atraem os macrófagos para o local de inflamação. Os macrófagos, ao serem ativados, apresentam fagocitose aumentada e liberação elevada de mediadores, como prostaglandinas, leucotrienos e citocinas, as quais atraem os leucócitos. A participação dos eosinófilos está mais ligada à infecção por helmintos, assim como a participação dos basófilos está mais ligada a alérgenos e parasitas. A acumulação de células mortas e micro-organismos, em conjunto com fluidos acumulados e várias proteínas, forma o que é conhecido como pus. Todavia, uma vez que a causa da inflamação é removida, a resposta inflamatória é interrompida e algumas citocinas iniciam o processo de cicatrização.

Já a inflamação crônica é iniciada se o agente causador da inflamação aguda persistir, o que pode vários dias, meses ou anos. Esse tipo de inflamação acontece pela ativação imune persistente com presença dominante de macrófagos no tecido lesionado. Os macrófagos liberam mediadores que, a longo prazo, tornam-se prejudiciais não só para o agente causador da inflamação, mas também para os tecidos da pessoa. Como consequência, é quase sempre acompanhada pela destruição de tecidos. Entre os processos inflamatórios crônicos conhecidos estão: artrite, asma e processos alérgicos, alguns tipos de

câncer, doenças cardiovasculares, síndromes intestinais, doença celíaca e diabetes.

Referência

CANHAS, I. Inflamação. In: **Infoescola**: Navegando aprendendo. [S. l.: s. n.], 20??. Disponível em: <https://www.infoescola.com/sistema-imunologico/inflamacao/>. Acesso em: 16 set. 2020.

Aula 07 (15/09/2020)

A aula foi iniciada abordando sobre imunidade de rebanho, infecções e reinfecções. A imunidade de rebanho, em tese, é a barreira que vai impedir que infecções por determinado vírus continue circulando, é, portanto, quando uma grande parcela da população adquire memória imunológica para o agente infeccioso em questão. Essa resposta imunológica, que chamamos de memória, se dá por meio de uma exposição ao agente infeccioso. A reinfecção, de modo geral, é quando já não temos uma memória imunológica eficaz contra determinado patógeno, e, assim, a infecção retorna. Isso ocorre quando esse patógeno sofre alguma mutação estrutural e a memória imunológica do hospedeiro, por ser específica, não reconhecerá mais o agente infeccioso. Neste dia, também, foi abordado sobre vírus emergentes e reemergentes. O emergente é caracterizado quando ocorre uma grande incidência de infecções ou com tendência a aumentar no futuro, ao passo que o reemergente é determinado por vírus que estão sob controle, mas por algum motivo voltam a causar infecções e surge uma nova epidemia.

Foi vista a diferença entre vetor e veículo. Quando o vírus precisa de um intermediário para conseguir infectar o ser humano, ou outro animal, esse intermediário é o vetor. O exemplo mais clássico é o vírus causador da dengue, pois para causar infecção em seres humanos, ele necessita do mosquito *Aedes aegypti*. Já o veículo é caracterizado no momento que o vírus é passado de um meio para um ser humano ou outro animal. Como exemplo pode-se citar se alguém espirrar em uma borracha e essa estiver contaminada com algum vírus que seja transmitido através de secreções nasais, como é caso do vírus da gripe e da Covid-19, essa borracha ficará contaminada por um certo tempo e alguém utilizar e depois colocar a mão na boca, nariz, ou qualquer região que seja porta

de entrada para esses vírus, sem uma higienização, essa pessoa possivelmente será contaminada, então sendo assim a borracha foi um veículo de contaminação.

Posteriormente, foi iniciada uma discussão mais ampla sobre o que já foi explanado. As principais epidemias e pandemias ganharam forças devido a falhas nas barreiras sanitárias, nas questões políticas e financeiras. O vírus ou até mesmo as bactérias não são os grandes “vilões” da história. Se for analisado, o Ebola é um vírus que ainda está causando infecções e mortes na África, mais precisamente na República Democrática do Congo, e é considerado um patógeno com alta letalidade. Isso deveria ser motivo de destaque na mídia aliado, principalmente, com ações de combate mais firmes. O SARS-CoV-2 só foi preocupante para o mundo quando começou a crescer o grande número de contaminações e mortes na Europa. As devidas restrições e atitudes foram tomadas tardiamente, por questões políticas e financeiras. Nesse contexto, é possível destacar os fatores que levam um vírus a ter uma virulência maior, são eles: questões sociopolíticas, socioeconômicas, culturais, condições pré-existentes do hospedeiro, ou seja, não dependendo exclusivamente da partícula viral.

Aula 08 (17/09/2020)

Neste dia, a aula deu início ao assunto sobre os vírus de DNA, mas antes foi revisado alguns pontos da aula passada. Também foi abordado sobre a classificação viral, que foi visto nas aulas passadas.

Primeiramente, foi discutido sobre o vírus de DNA, o qual foi abordado inicialmente o Citomegalovírus. Esse patógeno é um membro dos herpesvírus considerado linfotrópico, pois infecta o homem e outros animais e possui afinidade especial por glândulas salivares e endócrinas. Infecta também células de diversos órgãos, como pulmões, fígado, pâncreas, rins e cérebro, o que pode resultar no desenvolvimento de inclusões nucleares características, como por exemplo, células em olho de coruja. É uma espécie específica e o homem é o único hospedeiro natural. A infecção aguda ocorre somente em pequena proporção de indivíduos infectados, da forma que acomete principalmente indivíduos imunodeprimidos cuja resposta imunológica celular está comprometida. Com o

controle da rubéola congênita devido à vacinação, o Citomegalovírus passou a ser responsável pela maioria das infecções congênitas. A transmissão desse vírus depende do contato direto entre indivíduos suscetíveis e fluidos biológicos de indivíduos infectados, e as medidas de higiene são de grande importância na tentativa de evitar a disseminação do vírus. A observação de alterações citopatológicas associadas ao citomegalovírus humano em indivíduos imunocomprometidos e em recém-nascidos foi descrita quase 100 anos antes do estabelecimento das culturas de células para isolamento viral.

Posteriormente, abordou-se sobre o HPV, que são pequenos vírus de DNA, em média 50-55nm, pertencentes à família *Parvoviridae* – gênero Papillomavirus, não envelopado e com simetria icosaédrica. Esse patógeno apresenta um genoma de aproximadamente 8.000 pares de base de DNA dupla fita e circular e apesar do tamanho pequeno, sua biologia molecular é bastante complexa. O DNA viral encontra-se associado a proteínas semelhantes a histonas, envoltas por 72 capsômeros formados por duas proteínas estruturais, L1 e L2. Esses patógenos são capazes de infectar seres humanos e grande número de espécies animais, todavia, o homem é o hospedeiro mais estudado. São altamente específicos por espécie e não há relato de exemplos de Papillomavirus de uma espécie causando infecção produtiva em outra. Apresentam tropismo por células epiteliais, de modo que causam infecções na pele e nas mucosas e a sua replicação ocorre no núcleo das células escamosas epiteliais. O ciclo de vida do Papilomavírus está diretamente relacionado ao programa de diferenciação celular da célula hospedeira e é iniciado quando ocorre a infecção das células basais do epitélio, as quais apresentam potencial de diferenciação. As funções vegetativas virais, síntese do DNA e proteínas do capsídeo, bem como a montagem dos novos vírus ocorrem exclusivamente nos queratinócitos diferenciados. Os PVs parecem permanecer no seu hospedeiro por longos períodos de vida e uma grande variedade de tipos diferentes pode ser detectada em sítios aleatórios de pele normal em humanos e animais, o que reforça que o ciclo de vida latente é uma característica frequentemente presente nesses vírus. É importante destacar que esses agentes infecciosos são agrupados nos seguintes gêneros: alfapapilomavírus, betapapilomavírus, gamapapilomavírus, mupapilomavírus e

nupapilomavírus. Por isso, é de suma importância se vacinar antes da primeira relação sexual, pois neste caso é provável que ainda não tenha ocorrido o contato com o vírus, o que faz sua eficácia ser muito maior se comparada aos pacientes que tomaram a vacina e tiveram contato com o vírus (LETO *et al.*, 2011).

O vírus da hepatite B, o HBV, é transmitido, principalmente, por via parenteral e sexual. O resultado desta infecção é uma complicada interação hospedeiro-vírus, que pode resultar em uma doença aguda sintomática ou em uma doença assintomática. É um tipo de patógeno envelopado, pertencente à família *Hepadnaviridae* e possui tropismo por células hepáticas e o seu ciclo de vida é caracterizado pela síntese do DNA de fita dupla parcial, através da transcrição reversa do RNA intermediário. A replicação começa com a ligação do *vírion* com o hepatócito e dentro do núcleo do hepatócito, a síntese dessa fita é completada e o genoma viral é convertido para a forma de DNA circular, que serve como modelo para a transcrição de diversas espécies RNAs genômicas e sub genômicas. O DNA circular é o componente estável do ciclo de replicação que é relativamente resistente à ação de antivirais e ao clareamento (LOPES; SCHINONI, 2011).

Para finalizar a aula, citou-se os Poxvírus, que compreendem uma família de vírus de genoma DNA dupla-fita linear, possuem uma morfologia complexa e replicam exclusivamente no citoplasma celular. O protótipo da família *Poxviridae* é o vírus vaccinia (VACV) pertencente à subfamília *Chordopoxvirinae*, gênero *Orthopoxvirus*, no qual o vírus da varíola é, clínica e historicamente, o mais importante. Esse patógeno tem sido utilizado como ferramenta biotecnológica (VIDA, 2008).

Coincidentemente, este ano marca o início da utilização do vírus vaccinia como vetor de expressão, diversas características destes vírus são vantajosas neste tipo de estratégia como: A simplicidade dos métodos de construção e manipulação genéticos baseados no fenômeno de recombinação homóloga; O tropismo celular a capacidade de suportar a inserção de enormes quantidades de DNA exógeno; A expressão de proteínas recombinantes ocorre naturalmente no citoplasma e as proteínas resultantes são biologicamente ativas; A síntese protéica ocorre em níveis relativamente altos; E o vírus vaccinia é contido dentro de padrões de biossegurança de nível 2. Estas vantagens têm levado a geração e teste de vacinas utilizando vetores que expressam genes de antígenos de vírus, bactérias, parasitas

patogênicos e até mesmo tumores. A existência de vetores não replicativos, como Vaccinia Ankara Modificado (MVA), NYVAC e Avipoxvirus, vem a aumentar a segurança das vacinas utilizando poxvírus como vetores. Também tem se utilizado estes vetores na geração de bibliotecas genômicas e na tecnologia de fermentação. A soma das características intrínsecas a estes vetores e o sucesso obtido até o momento em suas aplicações apontam para um futuro promissor, e até mesmo a geração de um novo paradigma em técnicas de vacinação (VIDA, 2008, p. 3).

Referências

LETO, M. G. P. *et al.* Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 2, p. 306-317, Apr. 2011.

LOPES, T. G. S. L.; SCHINONI, M. I. Aspectos gerais da hepatite B. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 10, n. 3, p. 337-344, set./dez. 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/5715/1/5899-16364-1-PB%5B1%5D.pdf>> Acesso em: 27 set. 2020.

VIDA, C. L. **Poxvirus e sua utilização como ferramenta biotecnológica**. 2008. Monografia (Especialização em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUBD-ADBMS/1/monografia_de_especializa__o__leandro.pdf. Acesso em: 27 set. 2020.

CITOMEGALOVÍRUS - CMV. In: **Portal educação**. São Paulo: UOL Edtech, [S. d.]. Disponível em: <https://siteantigo.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/medicina/citomegalovirus-cmv/33640>. Acesso em: 2 set. 2020.

Aula 09 (22/09/2020)

Neste dia, abordou-se sobre alguns vírus de RNA e a aula foi iniciada com o HIV. Esse patógeno, vírus da imunodeficiência humana, é um retrovírus, isso significa que ele utiliza a enzima transcriptase reversa. Esta enzima é encontrada em outros grupos de vírus, mas nos retrovírus desempenha o papel de suma importância, pois sem ela não acontece a replicação dos vírus que são denominados retrovírus. Tanto o HIV quanto os demais retrovírus incluem um grupo de vírus de RNA que se replica para produzir DNA a partir do RNA. Posteriormente, o DNA é incorporado ao genoma do hospedeiro por meio de uma enzima chamada integrase, portanto, nessa fase, eles são conhecidos como provírus. Daí em diante, o vírus é capaz de se replicar como parte do DNA da

célula do hospedeiro. É importante destacar que esses vírus são um RNA de fita simples, têm como subfamília a *Orthoretrovirinae*, como gênero o lentivírus, são envelopados e possuem cerca de 100nm de diâmetros. A principal célula pela qual eles têm afinidade é o linfócito T CD4 e a transmissão se dá de forma vertical ou horizontal (KORSMAN *et al.*, 2012).

Como citado anteriormente, os retrovírus necessitam da enzima transcriptase reversa para se replicar. Diante disso, os principais fármacos que são utilizados para diminuir a carga viral do HIV atuam como inibidor dessa enzima, mas também outros tipos de medicamento são usados para atingir diferentes enzimas ou proteínas, na tentativa de impedir a replicação viral, já que a cura ainda não foi descoberta (KORSMAN *et al.*, 2012).

Outro vírus abordado em aula foi o da raiva, que pertence ao gênero Lyssavirus. Esse patógeno é da família *Rhabdoviridae*, ordem *Mononegavirales*. Quando uma célula é infectada por ele ocorre em uma série de eventos que vão desde a biossíntese de subestruturas virais no citoplasma celular até a montagem e liberação das novas partículas pela célula hospedeira. O ciclo de replicação é semelhante à maioria dos vírus de RNA não segmentado de fita negativa. Os eventos iniciais de adsorção, penetração e desnudamento resultam na liberação do nucleocapsídeo no citoplasma da célula hospedeira e embora as etapas ocorram simultaneamente no citoplasma celular, é conveniente considerar o processo como uma série linear de acontecimentos. O meio de transmissão mais comum é o ferimento causado pela mordida de um animal raivoso e geralmente resulta na deposição de saliva infectada com vírus no interior dos músculos e tecidos adjacentes. Todavia, também pode ocorrer a propagação após o contato de mucosas íntegras ou da pele lesionada com secreções contaminadas, ou ainda por meio de transplante da córnea de um doador infectado. É importante destacar que é um vírus que acomete células do sistema nervoso central e poucas pessoas sobreviveram após terem sido infectadas, as que sobreviveram tiveram atendimento e diagnóstico antes do agravamento do quadro, e mesmo assim ficaram com sequeladas (KORSMAN *et al.*, 2012).

Já o ebola é um vírus da família *Filoviridae*, envelopado, helicoidal e sua partícula viral é pleomórfica, o que significa que pode surgir de diferentes formas.

Normalmente tem a forma de “U” ou baciliforme, mas também pode apresentar-se de forma circular. Ele foi identificado pela primeira vez em humanos, em 1976 (ALBERTO; PRATES; VIEIRA, 2004). No site BMJ Best Practice, é possível verificar na cartilha elaborada através do levantamento de artigos, que a transmissão entre humanos ocorre pelo contato com fluidos corporais de pacientes infectados. O seu genoma consiste em uma fita simples de 19 kb de RNA de sentido negativo com 7 genes virais transcritos pela polimerase de RNA dependente de RNA presente no *vírion*. A fita simples do RNA é revestida por nucleoproteínas virais NP e VP30 estruturadas em hélice que estão ligadas pelas proteínas da matriz VP24 e VP4 à bicamada lipídica que envolve o *vírion*. O período de incubação, após a infecção, é de 2 a 21 dias. Os Monócitos, macrófagos e células dendríticas são os locais de replicação preferidos pelos filovírus na infecção inicial. As células infectadas migram para os linfonodos regionais, o fígado e o baço e, assim, a infecção é disseminada.

Por último, foi citado o vírus Ebola, que tem amplo tropismo celular e é capaz de infectar diversos tipos de células, mas a replicação viral extensiva ocorre no tecido linfóide, fígado e baço. É importante ressaltar que ele também tem a notável capacidade de modular a expressão dos genes envolvidos na resposta imune do hospedeiro, o que ocasiona a apoptose dos linfócitos e atenuação dos efeitos protetores do interferon. As taxas de fatalidade variam de 25% a mais 80% tornando o ebola um dos patógenos mais virulento que infectam humano, entretanto, como a virulência é multifatorial essas altas taxas de mortalidade podem estar atreladas a outras questões, como a cultura e as condições socioeconômicas das regiões atingidas (ALBERTO; PRATES; VIEIRA, 2004). Para trabalhar com esse vírus em laboratório, é preciso seguir os protocolos da NB-4, que garantem a biossegurança do local, de infraestrutura e equipamentos eletrônicos. O SARS-CoV-2 é NB-2, por isso é possível trabalhar com ele na UFPE-CAV (Universidade Federal de Pernambuco - Centro Acadêmico de Vitória).

Referências

ALBERTO, A.; PRATES, E.; VIEIRA, S. Vírus Ébola – Febre Hemorrágica. In: **Universidade de Évora**, Departamento de Biologia, Évora, 13 jan. 2004.

Disponível em: <http://home.uevora.pt/~sinogas/TRABALHOS/2003/Ebola.htm>. Acesso em: 23 set. 2020.

BEECHING, N. J. *et al.* **BMJ Best Practice: Infecção pelo vírus Ebola**. London: BMJ Publishing Group, 2020. Disponível em: <https://bestpractice.bmj.com/topics/pt-br/1210/aetiology>. Acesso em: 23 set. 2020.

KORSMAN S, N. J. *et al.* **Virologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

Aula 10 (24/09/2020)

Nessa aula, foi abordado sobre diagnóstico laboratorial relacionado a virologia, o qual foi dado ênfase ao RT-PCR, teste rápido e o sorológico. Em pesquisa no site da Faculdade de Medicina-UFMG, foi verificado que o RT-PCR é um teste molecular, considerado o “padrão ouro” ou “padrão de referência”. Esse exame consegue identificar a presença do vírus no organismo através de seu RNA ou DNA pela amplificação do ácido nucleico, através da reação em cadeia da polimerase, ou seja, é um teste direto. Para realização do RT-PCR, é coletado o material da região onde acontece a replicação viral, em outras palavras, a região onde têm células permissivas ao vírus em questão. No caso do SARS-Cov-2, esse material é coletado através de *swabs* (cotonetes) de nasofaringe (nariz) e orofaringe (garganta). O teste de PCR é detectável no período de incubação, é onde ocorre a replicação viral, pois assim as amostras terão grande quantidade de partículas virais e sucessivamente de material genético. O período de incubação pode variar para cada espécie de vírus, todavia, é nesse período que o vírus torna-se detectável pelo teste de RT-PCR. Entretanto, o SARS-CoV-2 tem modificado essa regra, pois alguns estudos mostram a presença de vírus detectável ao RT-PCR após o período de incubação, assim não se sabe ainda o porquê isto ocorre.

O teste sorológico e o teste denominado teste rápido são os testes que verificam o “rastros” deixado pelos vírus, através da resposta imunológica de memória, ou seja, são testes indiretos. No caso do teste rápido, é utilizado uma gota do sangue do paciente, que é colhida ao furar a ponta do dedo e colocada no equipamento, lá se encontra uma parte do vírus, que no caso do SARS-CoV-2, geralmente, é a proteína *Spike*, a qual reagirá caso o paciente tenha tido contato com o SARS-CoV-2 e tenha adquirido anticorpos específicos. Igualmente age os testes sorológicos, mas ao invés de ser usado uma gota de sangue, utiliza-se o

plasma do paciente, onde se encontram os anticorpos necessários para verificação. Outra particularidade é que para verificação se usam técnicas como ELISA, que é uma técnica imunoenzimática. Geralmente os anticorpos utilizados nos testes rápidos e sorológicos são o IgM e IgG, entretanto, o SARS-CoV-2 vem modificando isso, pois é observado um aumento nos níveis de IgA no plasma de pacientes que tiveram a Covid-19, situação atípica já que esses níveis circulantes no sangue são baixos e não é vista essa resposta imunológica para nenhuma outra infecção viral. Sendo assim, tem sido muito utilizado nos testes sorológicos kits de IgA para testagem da Covid-19, por ser um anticorpo tão específico ao SARS-CoV-2.

Referência

RT-PCR ou sorológico? Entenda as diferenças entre os testes para a covid-19. In: **Faculdade de Medicina UFMG**, Belo Horizonte: UFMG, 23 jun. 2020. Disponível em: <https://www.medicina.ufmg.br/rt-pcr-ou-sorologico-entenda-as-diferencas-entre-os-testes-para-a-covid-19/>. Acesso em: 25 set. 2020.

Aula 11 (29/09/2020)

A aula foi iniciada com a história da pandemia, que foi causada pelo SARS-CoV-2. Abordou-se desde sua origem, em média novembro de 2019 até os momentos atuais, e também como foi rápida a sua evolução. É importante destacar que era esperado que o vírus sofresse mutação, devido a sua rápida disseminação entre os países. Todavia, esse patógeno não sofreu alterações consideráveis, apenas algumas na proteína *Spike*, a qual foi detectada no vírus circulante em Pernambuco, através de pesquisas realizadas pela Fiocruz do estado. Sabe-se, até o momento, que o vírus se originou dentro de morcegos, no mercado de Wuhan, essa conclusão veio a partir do sequenciamento genômico do agente infeccioso. O vírus é da família *Coronaviridae*, subfamília *Coronavirinae*, gênero Betacoronavírus.

Logo após a esse resgate histórico, foi aberto perguntas aos alunos, onde surgiram alguns questionamentos interessantes. Houve outras perguntas, mas estas foram as principais:

1. As mães com a Covid-19 precisam parar de amamentar?

Não! Em pesquisa no site da Secretaria de saúde do Ceará, foi visto que a OMS orienta a manutenção da amamentação por falta de elementos que comprovem que o leite materno possa disseminar o SARS-CoV-2. É na amamentação que as mães passam anticorpos para o bebê, ou seja, é muito necessário esse período. Porém, para evitar que a contaminação seja por outros meios, é preciso cuidar da higiene antes de entrar em contato com a criança.

2. Existe contaminação vertical pelo SARS-CoV-2?

Existe a suspeita de infecção vertical na China, que ocorreu após a identificação de altos níveis de anticorpos do tipo IgG e IgM no sangue de cordão do recém-nascido após o nascimento, contudo, sem o isolamento viral. A presença de IgM na circulação fetal não pode ser associada a uma passagem transplacentária, como ocorre com a IgG, corroborando com uma transmissão do SARS-CoV-2 ocorrida durante a gravidez semanas antes do nascimento e início da resposta imunológica do feto. No entanto, um grande problema com essa técnica é a imprecisão relativa dos testes de diagnóstico atualmente disponíveis, tanto em relação a sua sensibilidade, quanto especificidade. Ainda nessa linha de observação da presença de IgM precoce na circulação neonatal, outro estudo chinês, publicado no JAMA Network, evidenciou em gestante testada para Covid19 RT-PCR SARS-Cov-2 positiva e RN infectado. Isso se tratou de uma gestação a termo, em que um parto cesariana foi realizado em uma sala operatória, em isolamento e com pressão negativa. A mãe estava em uso de uma máscara N95 e o bebê não foi apresentado à mesma ao nascer, de modo que foi automaticamente colocado em quarentena na unidade de terapia intensiva neonatal. O teste de secreção vaginal para SARS-CoV-2 deu negativo, porém sem a testagem do líquido amniótico, porém, não existe nada concreto sobre a transmissão vertical do SARS-CoV-2. No momento, o que se sabe é que o vírus foi encontrado nas placentas, a qual é uma barreira contra muitos patógenos (MOREIRA, 2020).

3. Quais são os medicamentos para a Covid-19?

Existem medicamentos em estudos para tratar a Covid-19, como é o caso do *Remdesivir*, que demonstrou certa eficácia quando se diz respeito à

progressão de pacientes para casos graves, mesmo não sendo uma evidência forte nem um medicamento aprovado pela Food and Drug Administration (FDA), nos Estados Unidos. Os estudos realizados não demonstram que a carga viral seja reduzida com o uso deste medicamento. O que existem são medicamentos para tratar as comorbidades, ou seja, pacientes graves fazem uso de protocolos medicamentosos, que ajudam no estado clínico deste paciente e por isso não se devem levar esses protocolos para os que apresentam o estado leve ou moderado da doença (WANG; ZHANG et al, 2020).

Referências

FERNANDEZ, T. Pediatra orienta sobre cuidados durante a amamentação. In: CEARÁ. **Secretaria de Saúde do Ceará**, Fortaleza, 8 abr. 2020. Disponível em: <https://www.saude.ce.gov.br/2020/04/08/pediatra-do-hospital-regional-norte-orienta-sobre-cuidados-durante-a-amamentacao/> Acesso em: 6 out. 2020.

MOREIRA, A. M. A. Atualização da transmissão vertical da Covid-19. In: **Associação de Ginecologia Obstetrícia do Estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro: SGORJ, 2020. Disponível em: <https://sgorj.org.br/noticias/atualizacao-da-transmissao-vertil-da-covid-19/> Acesso em: 6 out. 2020.

PAIVA, M. H. S. *et al.* Multiple introductions followed by ongoing community spread of SARS-CoV-2 at one of the largest metropolitan areas in the Northeast of Brazil. **Viruses**, Basel, v. 12, n. 12, 2020.

WANG, W. *et al.* Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo controlled, multicentre trial. **The Lancet**, Oxford, v. 395, n. 10236, p. 1569-1578, 2020. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)31022-9/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)31022-9/fulltext). Acesso em: 6 out. 2020.

Aula 12 (01/10/2020)

Neste dia, a aula iniciou com uma discussão acerca das vias de detecção de infecção viral, as quais foram feitas associações com a imunidade inata, vista em vídeos aulas de forma assíncrona.

A primeira via vista foi a do TLR'S (Toll-Like Receptores), que são proteínas transmembranas altamente conservadas que desempenham papel importante na detecção e reconhecimento de patógenos microbianos, bem como na geração de sinais para a produção de proteínas e citocinas pró-inflamatórias. Os TLR'S funcionam como receptores de reconhecimento padrão (PRR) presentes

nos macrófagos, nas células dendríticas e nos neutrófilos (leucócitos polimorfonucleares ou PMN), responsáveis pelo reconhecimento dos padrões moleculares associados a patógenos (PAMP), os quais são expressos por um amplo espectro de agentes infecciosos, como os vírus DNA e RNA, mas também as bactérias gram-positivas e gram-negativas, os protozoários e fungos. Dessa forma, a ativação da imunidade inata a partir da associação PRR-PAMP é um passo crucial no desenvolvimento da imunidade adquirida contra os antígenos específicos (FERRAZ *et al*, 2011).

Dentre os diversos Receptores Toll-Like já conhecidos, os TLR2 e TLR4 são os mais bem estudados em razão da grande variedade de células que os expressam em suas superfícies e suas consequentes repercussões no organismo humano. Já o TLR9, expresso nas células dendríticas plasmocitoides, reconhece o dinucleotídeo CpG não metilado, que é relativamente comum no genoma bacteriano, entretanto, o genoma dos vertebrados apresenta dinucleotídeos CpG altamente metilados. A ativação do TLR9 pela administração de agonistas como o CpG-DNA ou oligodeoxinucleotídeo sintético CpG-ODN induz forte ativação imune do Th1 com a secreção de IFN do tipo 1, ativação das células NK, células TCD8+, como forma de proteção intracelular ou na eliminação da infecção crônica. Pesquisas têm mostrado o TLRs9 promissor para o aumento da eficácia da vacinação, e têm surgido o TLRs9 como uma ferramenta poderosa na geração da imunidade adaptativa Th1 (FERRAZ *et al*, 2011).

Outra via existente é a dos STING (stimulator of IFN genes). Quando é detectado ácidos nucleicos de origem patogênica no citoplasma celular, ou seja, DNA ou RNA, o STING induz uma ativação da resposta imune adaptativa logo após estabelecer contato com os ácidos nucléicos. Isso acontece devido à habilidade desse sensor em induzir a transcrição de genes e, conseqüentemente, produção de citocinas importantes da imunidade, como IFN-tipo 1. A sinalização dependente de STING é ativada, o que ocasiona a translocação nuclear de fatores de transcrição como IRF3 e NF- κ B, que funcionam como um motor para iniciar a produção de citocinas contra o patógeno. Deste modo, camundongos geneticamente deficientes para STING são altamente frágeis perante infecções desta origem. Neste processo, também ocorre a autofagia, onde o material

genético do patógeno é envolvido por uma membrana e os lisossomos começam a degradação daquele material (ARAÚJO, 2018).

É importante destacar também as células dendríticas, que se encontram principalmente nos órgãos linfóides, como a medula óssea, timo, baço, tonsilas e linfonodos. Essas células são as principais produtoras de IFN-I durante as infecções virais e participam ativamente da estimulação das células NK. A capacidade das células do sistema imune natural, principalmente das células dendríticas, em reconhecer patógenos depende de componentes inerentes a esses patógenos denominados Padrão Molecular Associado aos Patógenos (PAMP) que se constitui em uma espécie de “código de barras” do patógeno, pelo qual poderá ser identificado por elas. Essas células possuem a capacidade de decifrar esse “código de barras” por meio de receptores específicos, denominados, de forma geral, de Receptores de Reconhecimento Padrão (PRRs). Os vírus presentes no meio extracelular são reconhecidos pelos PRRs presentes na membrana das células imunológicas. Por outro lado, durante a infecção das células, os componentes virais gerados no ambiente intracelular (RNA de fita simples, RNA de fita dupla, DNA com padrão CpG) são reconhecidos por PRRs presentes em organelas intracelulares, principalmente os endolisossomos. A detecção dos componentes virais pelos PRRs é um pré-requisito para a ativação das células dendríticas, as quais ativam, rapidamente, uma cascata de sinais intracelulares que culmina com a produção de interferon tipo I (IFN- I), citocinas e quimiocinas estimulam a expressão de diversos correceptores (CD40, CD80, CD86) e moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC). A produção de IFN-I é de fundamental importância para iniciar um estado de resistência antiviral, e a expressão de moléculas correceptoras é necessária para a etapa subsequente da defesa antiviral, que é o transporte dos antígenos virais até os órgãos imunológicos secundários, principalmente linfonodos, onde os antígenos virais serão transferidos para os linfócitos B, os quais, juntamente com as células dendríticas, irão fazer a “apresentação” desses antígenos aos linfócitos T. O IFN-I produzido pelas células dendríticas é essencial para a ativação das células NK, particularmente na indução da capacidade citotóxica. Outras citocinas derivadas das células dendríticas, como as IL-12 e IL-18, estimulam as células NK

a também produzir IFN-I e a IL-15 estimula a proliferação e sobrevivência das células NK (KREUTZ, 2007). Com isso é possível entender a importância do IFN-I na infecção viral e perceber que os vírus desenvolveram mecanismos que de alguma forma conseguem retardar essa resposta e se multiplicar livremente, uma vez que são capazes de parar um dos principais mecanismos utilizado pela imunidade inata contra as infecções virais.

Referências

ARAÚJO, A. M. **Produção de Interferon do tipo I por células não-parenquimais hepáticas aumenta a necrose induzida por Paracetamol.** 2018. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, [Belo Horizonte], 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/33886/1/Tese%2022-02-18.pdf>. Acesso em: 6 out. 2020.

FERRAZ, E. G. *et al.* Receptores Toll-Like: ativação e regulação da resposta imune. **Rev. gaúch. odontol.**, Porto Alegre, v. 59, n.3, 2011. Disponível em: <http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?pid=S1981-86372011000400019&script=sci_arttext. Acesso em: 6 out. 2020.

KREUTZ, L. C. Resposta imunológica contra virus. In: FLORES, E. F. **Virologia Veterinária.** Santa Maria: Ed da UFSM, 2007. cap. 9. p.237-261.

Aula 13 (06/09/2020)

Neste dia, abordou-se sobre resposta imunológica adaptativa a infecções virais, a aula síncrona foi explanada com o auxílio dos materiais de apoio e aulas assíncronas. Os anticorpos, que podem ser encontrados circulando no sangue, tecido nas secreções mucosas, fazem parte da imunidade humoral e são mediados por moléculas de imunoglobulinas e pelo sistema complemento. Existem várias classes de imunoglobulina, as quais relacionam-se e são produzidas pelos linfócitos B induzido por um antígeno, dentre elas (MACHADO *et al*, 2004):

- **IgA:** encontradas nas mucosas;
- **IgG:** principal imunoglobulina da imunidade adquirida e é encontrada no sangue;
- **IgD:** compõe menos 1% das imunoglobulinas presentes no sangue;
- **IgE:** encontrada nos tecidos e é associada aos processos alérgicos;

- IgM: encontrada também na corrente sanguínea, sendo geralmente a primeira imunoglobulina de resposta, frente a uma infecção.

A ação dos anticorpos é de neutralizar as partículas virais, eles impedem que as proteínas de envelope ou capsídeo, no caso dos vírus não envelopados, conectem-se ao receptor da célula permissiva e, desta forma, impedem a possível replicação e infecção. Outras duas ações dos anticorpos são bem descritas na literatura, eles ativam indiretamente o sistema complemento, que também faz parte da imunidade humoral, quando estão “conectados” a superfície do patógeno e funcionam como uma espécie de sinalizadores, que fazem com que células de defesas identifiquem o agressor e na maioria dos casos fagocite (MACHADO *et al*, 2004).

Outra componente de defesa da imunidade adaptativa contra os vírus, citado em aula, são as células T, mais especificamente as células T CD8. Elas são células citolíticas ou citotóxicas, que reconhecem antígenos intracitoplasmáticos apresentados por moléculas MHC de classe I e são expressas por praticamente todas as células nucleadas. Após o reconhecimento, ocorre a adesão às células alvo apresentando um antígeno associado ao MHC e, assim, induzem a via de morte celular programada (apoptose) na célula alvo pela ação de perforinas e granzimas, o que também pode levar à apoptose pela expressão do receptor *Fas L* (CD95) que interage com a molécula Fas nas células alvo (KREUTZ, 2007).

Destacou-se também sobre os escapes virais. Alguns vírus desenvolvem mecanismos que inibem, “enganam” e até tornam as ações imunológicas ineficazes ou prejudiciais ao próprio organismo. Esses mecanismos são diversos, como foi visto em aulas, o vírus pode introduzir seu material genético junto ao material genético do hospedeiro, assumir um estado de latência e tornar-se indetectável. É capaz de inibir ou retardar ações da imunidade inata, como também das células dendríticas e também infectar as principais células de defesas do organismo, como os linfócitos e destruí-los. Os vírus que possuem alguns dos mecanismos citados anteriormente são de diversos tipos e os mais lembrados são o HIV, responsável pela destruição dos linfócitos e o Herpes (alguns como, Citomegalovírus), responsável por introduzir seu material genético ao material

genético do hospedeiro e assumir um estado de latência, o qual não é detectado pelo sistema imunológico.

Referências

KREUTZ, L. C. Resposta imunológica contra virus. In: FLORES, E. F. (org.). **Virologia Veterinária**, Santa Maria: Ed da UFSM, 2007. cap. 9. p.237-261.

MACHADO, P. R. L. *et al.* Mecanismos de resposta imune às infecções. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 6, p. 647-662, Dec. 2004. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962004000600002. Acesso em: 13 out. 2020.

Aula 14 e 15 (08 e 13/10/2020)

Nestas duas aulas, foram debatidos sobre assuntos gerais de vacinas. Inicialmente, foi levantado brevemente sobre contexto histórico e, posteriormente, citadas as estratégias de vacinas e como são desenvolvidas. Por último, foi debatido como cada uma age no corpo, qual resposta imunológica estimula. Portanto, com base em pesquisas e assuntos abordados em aula, será percorrido a seguir sobre esses temas.

Os relatos científicos evidenciam a história da vacina, que começou de fato com Edward Jenner, em 1773. Jenner ficou sabendo que mulheres que ordenhavam vacas no oeste da Inglaterra não pegavam a varíola e essas ordenhadeiras, tinham lesões em mãos e antebraços, todas parecidas com as da varíola humana. O que acontecia com elas para serem imunes? Jenner não tinha uma ideia formada e nem conhecia o que provocava essa doença e muito menos como a contraía. Todavia, num lampejo de genialidade (ou de loucura), ele extraiu material de infecção do braço de uma ordenhadeira e injetou esse material em uma criança de oito anos - James Phipps - com a aquiescência do pai da criança. Até aí, nenhuma novidade, pois a variolização já era conhecida e praticada. O que coroou o procedimento de Jenner é que, após algum tempo, o cientista injetou na criança o material extraído de um doente com varíola humana e a criança nada apresentou da doença. Após essa e outras experiências similares, surgiu o termo vacinação, que provém da vaca- gado vaccum, a qual se firmou em 14 de maio de 1796, e Jenner ficou conhecido como o criador da vacina. Outro fato interessante é que isso ocorria sob fortes oposições dos médicos e cientistas da época, onde

alguns até com propagandas fortes contra ele diziam ser a vacinação “um monstro que devora pessoas”. O que acontecia para tal fato ocorrer é que a vacinação, na época, por questões técnicas, um número significativo de casos acabava gerando a doença e provocando até mortes. Mas muitas pessoas, também em número significativo, ficaram imunes (PINHEIRO; ALVES, 2013).

Pinheiro e Alves (2013) fazem uma cronologia de vacinas com descobertas, tentativas de produção e inserção no uso rotineiro: 1776/78 - Varíola; 1879 - Cólera; 1882/85 - Raiva; 1890 - Tétano; 1896 - Febre tifóide; 1897 - Peste bubônica; 1921 - Difteria; 1926 - Coqueluche; 1921/27 - Tuberculose; 1932/38 - Febre Amarela; 1937 - Tifo; 1945/48 - Influenza; 1948 - DPT; 1952/55 - Poliomielite; 1954 - Encefalites; 1954 - Antrax; 1957 - Adenovírus; 1962 - Pólio oral; 1963/64 - Sarampo; 1967 - Caxumba; 1970 - Rubéola; 1974 - Varicela; 1976 - Tríplice Viral; 1977 - Pneumococo 23 valente; 1978 - Meningococo; 1981 - Hepatite B; 1985 Influenza tipo B; 1986 - Hepatite B; 1987 /90 - Hemófilo B; 1992 - Hepatite A; 1995 - Varicela; 1996 - DPaT; 1998 - Doença de Lyme . Outras vacinas foram descobertas e produzidas ou estudadas em 1998 - Rotavírus e Pneumococo polissacáride 7 valente; 2005 - Meningococo conjugada; 2006 - Papiloma vírus; H1N1 - 2009.

Ainda existem várias outras em fase de pesquisa e/ou produção que serão citadas adiante. Nessa cronologia, é importante ressaltar que várias vacinas estão em fase de aprovação definitiva para uso em humanos.

Além disso, foram expostas também etapas de desenvolvimento da vacina. Em uma pesquisa no site da UFSM, na revista Arco, é possível acessar um modelo de ensaio, que tem algumas informações sobre as etapas de criação de uma vacina, divididas em fases. A fase laboratorial, é a fase inicial ainda restrita aos laboratórios, momento em que são feitas as primeiras avaliações das moléculas e propostos os possíveis tipos de vacina que melhor compõem o objetivo. Já a fase pré-clínica ocorre quando se decide o componente para determinada vacina e os testes começam a ser realizados em animais, com o objetivo de comprovar os dados que foram obtidos in vitro. Na fase clínica começa a realização dos testes em seres humanos e pode-se dividir essa etapa em três etapas. A fase 1 - tem por objetivo primordial testar a segurança, por isso, são testados poucos voluntários,

em torno de 20 a 80, os quais geralmente são adultos saudáveis. Na fase 2 - continua-se analisando detalhadamente a segurança, todavia, é iniciada também a verificação da eficácia, neste caso, são testados vários voluntários. Por fim, na fase 3 - o objetivo é garantir a segurança e eficácia, sendo assim, os testes são verificados especialmente no público-alvo a que se destina, ou seja, nas pessoas mais vulneráveis e em outras milhares de pessoas, em maior número de pessoas possíveis. Após todos os protocolos serem seguidos, a vacina é sujeita à aprovação e ao licenciamento para uso. Entretanto, mesmo com sua aprovação, os testes e verificações continuam na intenção de identificar possíveis complicações de qualquer gênero.

Em pesquisa no site da Fiocruz sobre estratégias de vacinação, foi visto que a vacina atenuada, aquela em que o vírus se encontra ativo, porém, sem capacidade de produzir a doença, como por exemplo, na vacinação contra caxumba, febre amarela, poliomielite oral - VOP, rubéola, sarampo e varicela, raras vezes, podem reverter para a forma selvagem causando a doença, todavia, essas vacinas são contraindicadas para imunodeprimidos e gestantes. Elas apresentam algumas vantagens importantes sobre as vacinas inativadas e a principal delas é o envolvimento de todos os componentes do sistema imune no desenvolvimento da imunidade contra a partícula vacinal íntegra, que se multiplica no organismo do vacinado. Com isso, a resposta imune é completa e mantém-se por longos períodos, semelhante da resposta à infecção natural. É importante destacar que as vacinas vivas, em geral, apresentam menor custo de produção, o que possibilita a sua utilização em grande escala, como foi o caso das vacinações contra a varíola e poliomielite, ambas com a finalidade de erradicar essas doenças do mundo, necessitando muitas vezes de apenas uma dose (SANTOS, 2020). O Vírus atenuado leva esta denominação porque passa por um processo no qual sua virulência é reduzida a níveis considerados seguros para a vacinação.

Já as vacinas inativadas são utilizadas rotineiramente na prevenção de inúmeras doenças, como a influenza, poliomielite, raiva e hepatite A. Os vírus são inativados por vários métodos químicos, em particular o formol ou detergentes, como na influenza. As vacinas inativadas oferecem como benefício maior

segurança, isso porque não há multiplicação do agente no organismo dos seres humanos. Porém, é importante destacar que possuem grande probabilidade de induzir uma imunidade menos duradoura e a exigir a aplicação de mais de uma dose no esquema de imunização, bem como a repetição das imunizações ao longo dos anos. Um exemplo típico são as vacinas inativadas contra a influenza, que devem ser aplicadas a cada ano. Este fato significa um custo mais alto na utilização desses produtos, pois é preciso aplicação de algumas doses. As vacinas inativadas não estimulam ou estimulam de forma mais leve todas as respostas imunológicas, como por exemplo, as células T CD8 (SANTOS, 2020).

É importante ressaltar que essas vacinas também necessitam do uso de adjuvantes que são substâncias adicionadas à vacina em sua formulação final, com a finalidade de aumentar a resposta imunológica do receptor. Os adjuvantes licenciados para uso humano em larga escala são os sais de alumínio, hidróxido ou fosfato. O processo ocorre quando as proteínas vacinais se unem ionicamente com os sais de alumínio e formam uma suspensão microscópica, da qual os vírus são liberados lentamente no organismo e assim aumentam a resposta humoral de anticorpos. Esses adjuvantes têm pouca ação sobre a formação da imunidade celular, como por exemplo, nas células T CD8. Outro adjuvante, denominado MF59, baseado na formação de uma emulsão água em óleo, foi licenciado recentemente para a influenza. Atualmente, uma série de novos adjuvantes tem sido estudada com resultados variáveis e, em um futuro próximo, será possível que novos produtos sejam introduzidos no mercado (SCHATZMAYR, 2003).

Foram citadas também as vacinas recombinantes que são obtidas por engenharia genética, como, por exemplo, a vacina para hepatites B e a vacina preventiva para infecções com vírus do papiloma humano (HPV). “Nessas vacinas, emprega-se a informação genética do patógeno responsável pela codificação de proteínas que representem antígenos relevantes para a proteção” (DINIZ; FERRERA, 2010, p. 20). Hoje é possível produzir proteínas recombinantes por meio de sistemas de expressão heteróloga através de outros microorganismos como bactérias e leveduras ou, ainda, células de mamíferos ou de insetos, como fonte para os antígenos a serem incorporados nas formulações vacinais. Essas vacinas estimulam a forte resposta da célula T CD8 (DINIZ; FERREIRA, 2010).

Referências

DINIZ, M. O.; FERREIRA, L. C. S. Biotecnologia aplicada ao desenvolvimento de vacinas. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 24, n. 70, p. 19-30, 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142010000300003. Acesso em: 24 out. 2020.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Vacinas virais. In: **Fiocruz**, Rio de Janeiro, 2019. 7 ago. 2019. Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/perguntas-frequentes/perguntas-frequentes-vacinas-menu-topo/131-plataformas/1574-vacinas-virais>. Acesso em: 20 out. 2020.

KLEIN, E. et al. Como funcionam as pesquisas para a criação de uma vacina? **Revista Arco**, Santa Maria, 05 set. 2020. Disponível em: <https://www.ufsm.br/midias/arco/como-funcionam-pesquisas-criacao-vacina/>. Acesso em: 20 out. 2020.

PINHEIRO, R. B.; ALVES, F. A. **Manual da vacina para estudantes de medicina**. Volta Redonda: UniFOA, 2013. Disponível em: https://sites.unifoa.edu.br/portal_ensino/mestrado/mecsma/arquivos/2013/ricardo-barbosa-pd.pdf. Acesso em: 20 out. 2020.

SANTOS, D. A. Tipos de vacina e as evoluções na história. In: **Jornal Dia Dia**, Três Lagoas - MS, 2 out. 2020. Disponível em: <http://jornaldiadia.com.br/2020/2020/10/02/doutor-em-biomedicina-explica-os-tipos-de-vacina-e-as-evolucoes-na-historia/>. Acesso em: 24 out. 2020.

SANTOS, D. A. Tipos de vacina e as evoluções na história. **Jornal do Sudoeste**, 2020. Disponível em: <https://www.jornaldosudoeste.com/doutor-em-biomedicina-explica-os-tipos-de-vacina-e-as-evolucoes-na-historia/#:~:text=%E2%80%9CAs%20vacinas%20inativadas%20s%C3%A3o%20utilizadas,ou%20>. Acesso em: 24 Out. 2020.

SCHATZMAYR, H. G. Novas perspectivas em vacinas virais. **Hist. cienc. saude-Manguinhos**, Rio de Janeiro, v. 10, supl. 2, p. 655-669, 2003. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-59702003000500010#:~:text=Os%20%C3%BAnicos%20adjuvantes%20licenciados%20para,a%20resposta%20humoral. Acesso em: 20 out. 2020.

Aula 16 (15/10/2020)

Esta aula foi uma continuação sobre o assunto das vacinas, especificamente sobre as que estão sendo desenvolvidas para o SARS-CoV-2. Toda pesquisa abaixo foi realizada no site da Secad Artmed e lá é encontrado, em resumo, algumas das vacinas que estão em desenvolvimento:

- Vacina mRNA-1273 – Moderna Therapeutics: produzida nos Estados Unidos, a qual é baseada em um RNA mensageiro, ou seja, não utiliza o

vírus ativo do Sars-Cov-2. A ideia desse imunizante é provocar no organismo uma resposta do sistema imunológico contra a infecção;

- Vacina INO-4800 - Inovio Pharmaceuticals: também é desenvolvida nos Estados Unidos, trata-se de uma vacina considerada mais inovadora. Isso porque os cientistas criaram em laboratório o DNA do vírus, uma vez que o coronavírus só possui RNA para que, no interior das células humanas, sejam produzidos anticorpos;
- Vacina AD5-nCoV - CanSino Biologics: é uma iniciativa oriunda da China, a qual se vale de uma versão do adenovírus para transportar um gene da proteína do novo coronavírus até que o organismo desenvolva uma resposta imune.
- Vacina LV-SMENP-DC: é outra solução chinesa e ela age através de leucócitos que protegem o corpo de antígenos para buscar uma resposta imune;
- Vacina do Instituto de Produtos Biológicos de Wuhan, subordinada ao Grupo Farmacêutico Nacional da China, Sinopharm: originária da cidade do primeiro surto de coronavírus no mundo, Wuhan. O método é o mais próximo do tradicional, que utiliza partículas do vírus inativado, bactéria ou outros patógenos cultivados para gerar resposta imune. Esse tipo de vacina tem maior potencial de aprovação por se tratar de uma tecnologia já existente;
- Vacina de Oxford: é feita com um tipo de adenovírus modificado. Esse vírus carrega um pedaço do material genético do Sars-CoV-2 que produz proteína de membrana, mas especificamente a proteína *Spike*, o que instiga células do nosso corpo a produzirem respostas imunes, ou seja, uma vacina recombinante.

É importante destacar que existe uma vacina chinesa e uma russa que já foram licenciadas e aplicadas no exército, mas as duas possuem muitas ressalvas e consideradas não confiáveis. Na fase três, existem duas, a de Oxford e outra de uma empresa chinesa, a qual utiliza também o adenovírus, que pararam seus testes devido a complicações.

Para finalizar a aula, foi vista uma breve introdução sobre terapia com fagos, ou seja, bacteriófagos.

Referência

O QUE você precisa saber sobre vacinas contra a Covid-19. In: **Secad Artmed**, Porto Alegre: Artmed, jul. 2020. Disponível em: <https://secad.artmed.com.br/blog/coronavirus/vacina-contra-covid-19-novidades/>. Acesso em: 22 out. 2020.

Aula 17 (20/10/2020)

Nesta aula foi abordado o assunto dos antivirais, o qual foi iniciado diferenciando as vacinas dos antivirais. As vacinas são os mecanismos de imunização artificial, que irão treinar o sistema imunológico para quando ele entrar em contato com o vírus em questão, possuir resposta imunológica específica. Já os antivirais atingem diretamente os vírus usando alguns mecanismos, uma vez que podem atuar na absorção do vírus da célula do hospedeiro, como também na penetração do vírus e no seu desnudamento. É atuante na replicação dos componentes virais, na manutenção, liberação do vírus e age também nas proteínas virais. Em todas as possibilidades, os antivirais impedem que os vírus consigam seguir seu ciclo normal, ou seja, em muitos casos não eliminam o vírus, mas impedem grandes infecções e diminui a carga viral.

No final da aula, foi debatido que o *Remdesivir*, em relação ao tempo para melhora clínica, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos testados, com uma média de 21 dias de uso no grupo que recebeu o *Remdesivir* e de 23 dias no grupo placebo. Embora sem diferença significativa, na análise por intenção de tratamento do subgrupo de pacientes com 10 dias de sintomas ou menos, o grupo que recebeu *Remdesivir* teve um tempo para melhora clínica numericamente menor do que o grupo placebo, de acordo o site Pebmed.

Referência

MENDES I. C. M. Remdesivir para Covid-19: veja os resultados de novo estudo randomizado. In: **Pebmed**, [S. l.]: Pebmed, 25 maio 2020. Disponível em:

<https://pebmed.com.br/remdesivir-para-covid-19-veja-os-resultados-de-novo-estudo-randomizado/>. Acesso em: 22 out. 2020.

Aula 18 (22/10/2020)

Nesta aula foi possível retornar ao assunto sobre a terapia com bacteriófagos, que foi visto em aulas anteriores. Apresentou-se a história desta terapia e em pesquisa no site Fagos do Brasil da UFRGS, foi possível observar que, em 1922, d'Herelle publicou o livro *Bacteriophage* com descrições clássicas dos diferentes aspectos dos bacteriófagos e o seu ciclo de vida. No final dos anos vinte e início dos anos 30, algumas companhias da França e Estados Unidos produziram comercialmente algumas preparações para um amplo mercado. Entre 1917 e 1956, foram publicadas, aproximadamente, 800 dirigidas sobre uso de bacteriófagos com aplicação médica. A fagoterapia foi utilizada para tratar disenteria, tifo, paratifo, cólera e infecções do trato urinário, mas foi também usado contra doenças, tais como cálculo biliar ou eczema que não são causados por bactérias. Os resultados foram incoerentes e vários experimentos foram baseados mais no entusiasmo do que no conhecimento científico. É importante mencionar que fagos desconhecidos em concentrações não mencionadas foram dados a pacientes com infecções bacterianas inespecíficas e sem acompanhamento, sem grupo controle e sem placebo. Em 1931, o Conselho de Farmácia e Química da Associação Médica Americana chegou a conclusão que o uso de bacteriófagos no tratamento das infecções é na maioria das vezes contraditório. A pesquisa na antiga União Soviética e Leste Europeu floresceu desde que em 1923 foi fundado o Instituto de Bacteriófagos, Microbiologia e Virologia em Tbilisi - Georgia.

Existe uma grande especificidade destes bacteriófagos que são usados nas terapias, esses são cultivados de forma específica para determinada cepa de bactérias, de modo que são garantidas a sua eficácia e também a sua especificidade. Ainda não existem muitos estudos atuais, nem grandes investimentos, todavia, é uma linha de pesquisa que promete grandes resultados por ser uma alternativa viável e conhecida, já que o uso descontrolado de antibióticos está tornando as bactérias mais resistentes, o que faz ser necessário novas medidas de combate.

Referência

GOMES, M. J. P. Aplicações futuras e alternativas. In: **Fagos do Brasil**, [S. l.]: UFRGS, 20??. Disponível em: http://www.ufrgs.br/fagos/fagos_aplicacao.php. Acesso em: 23 out. 2020.

Caminhando no universo da virologia em tempos do COVID-19

Gabriela Cavalcanti Leal

Módulo I

Terça-feira, 25 de agosto de 2020

Hoje se iniciaram as primeiras atividades e explicações da disciplina de “Virologia”, na Universidade Federal de Pernambuco. A mesma ocorreu de maneira remota, contando com a presença de 3 professores para discutir sobre os assuntos ao longo do semestre de 2020.3, sendo uma disciplina bem pertinente ao momento em que estamos vivendo atualmente, a pandemia do COVID 19 causada pelo SARS- CoV-2. De início foram feitas explicações pela professora Ana Lisa a respeito do plano de aula e de como decorreria as atividades e avaliações, esclarecendo demais dúvidas, fazendo perguntas e estabelecendo uma relação mais próxima com os alunos. Foi compartilhado e explanado um material introdutório sobre vírus, o qual deixou claro que a “virologia é uma ciência integrada”. Dessa forma, foi visto que convivemos diariamente com vírus e que são de uma realidade bem próxima, tal qual comemos e respiramos partículas virais. Exemplo disto, em 1 litro de água tirada do mar haveria uma quantidade de vírus maior que a de pessoas existentes no planeta, sendo assim convivemos com milhares de vírus a todo tempo.

É importante salientar, também, que os vírus estão presentes nos três domínios (*Archaea*, *Bacteria* e *Eukarya*) e infectam qualquer ser vivo. Foi ressaltado que carregamos genomas virais como parte do próprio material genético. Assim, nessa mesma linha de raciocínio, é pertinente citar que por meio do DNA dos microrganismos podemos saber quando e como as epidemias atuais se instalaram e de que maneira condicionou o modo de vida das pessoas. Por outro lado, referiu-se um pouco da história, a respeito das primeiras associações, descobertas e caracterizações de inúmeros vírus.

Posteriormente, foi citada a imunização, a qual se enfatizou também fatos históricos como a "Variolação na China". Ainda não se tinha um conhecimento sobre o agente, mas a técnica implantada gerou sobreviventes protegidos contra a varíola e mais tarde experimentos na Inglaterra estabeleceram a vacinação. Ao término da aula foi feita uma pergunta que dizia: "De onde vieram os vírus?" Não houve uma resposta certa ou errada, pois depende da vertente que cada aluno decide seguir, e tendo um argumento base acreditará que eles vieram de um ancestral comum, que escaparam da evolução ou apresentaram uma evolução totalmente separada dos outros seres vivos do planeta, essa última foi vista como mais conveniente pela minha concepção e na maior parte da turma.

Quinta-feira, 27 de agosto de 2020

Na aula de hoje foi dada continuidade ao slide da aula passada, a qual vimos que os vírus são microrganismos bem antigos. Mas, pelo fato de não terem deixado fósseis para ajudar nas pesquisas sobre sua história, fica difícil definir ao certo seu passado. Estudos mais recentes destacam que eles não são tão pequenos como se pensava e podem ser vistos até em microscopia óptica, os denominados "*pandoravírus*".

Em seguida vimos o conceito de microbiota, o conjunto de microrganismos (bactérias, fungos e vírus) que compõem nosso corpo e assim coexistem conosco em equilíbrio. É pertinente salientar que os estudos e descobertas dos vírus na nossa microbiota são muito recentes e constataram que 67,7% do nosso organismo é composto por vírus, interessante não é mesmo? Desse modo, podemos analisar que vírus não são só agentes patogênicos, mas que também estão no nosso organismo para ajudar no bom funcionamento. Uma vez que estão associados às células, deixando-as mais fortes para se protegerem contra corpos estranhos, além de trazer uma boa estabilidade para o nosso material genético.

O nosso corpo tem contato com inúmeros tipos de vírus, tanto com os que possuem material genético DNA quanto os de RNA. Esse último é mais agressivo, pois destrói as células, geram doenças e podem levar até a morte. Todavia, há um ponto positivo, já que o vírus sensibiliza a célula e a mesma posteriormente terá uma ação imunológica mais eficaz contra aquele determinado vírus. Há também

conceitos importantes sobre os vírus que são de suma importância para darmos continuidade no estudo, são eles:

- Vírus são agentes infecciosos
- Parasitas intracelulares obrigatórios
- Tem DNA ou RNA (apresentam os dois materiais genéticos ao mesmo tempo quando estão se replicando em alguns casos)
- Possui uma cápsula proteica (Capsídeo)
- Podem ou não ter uma membrana envolta do capsídeo (Envelope)

A partir disso, iniciaram-se novos questionamentos na aula sobre uma pergunta que colocava em questão se os vírus seriam ou não seres vivos e mais uma vez não havia uma resposta correta. Nos coube defender um lado com uma base de argumentos que colocassem a resposta em questão. Diante as explicações tomei como mais conveniente o argumento que ele é um organismo de duas fases, visto que de forma isolada e fora da célula ele é apenas uma partícula infecciosa sem vida denominada de *vírion*. Enquanto que dentro da célula ele tem um metabolismo que se reproduz e infecta. Nessa perspectiva, notamos que ele não é um ser vivo em sua totalidade, pois é dependente da célula para viver.

Para finalizar, a professora citou um ponto bem pertinente, expressou que o material genético de um vírus não pode ser comparado com o de um ser humano, pois não apresenta nenhuma proximidade e semelhança. Sendo assim, colocou-me a pensar mais uma vez que não viemos de um ancestral comum, uma vez que não temos semelhanças no material genético e devido a isso embasamos a teoria de que tiveram uma evolução totalmente separada da nossa.

Terça-feira, 01 de setembro de 2020

Nesta aula foram explanados diversos assuntos sobre os vírus, os quais vimos mais uma vez que eles não estão relacionados apenas com patologias, visto que também apresentam diversos benefícios, principalmente para a ciência, pois a mesma poderá estudar e analisar como eles se comportam dentro da célula. Assim, percebemos que a virologia desempenha um importante papel na história

da evolução, já que é possível analisar como e de que modo decorreram suas mutações e como isso interfere na vida em sociedade.

Além disso, foi discutido sobre a vinda de vários vírus da China, uma vez que este fato pode estar ocorrendo devido a nutrição e cultura deles. Estes costumes são divergentes dos nossos, pois quebram uma barreira ao se alimentar de animais silvestres. Estes animais portam vírus que não são nocivos quando estão dentro de seus corpos, no entanto, quando o ser humano se alimenta deste animal, o vírus contido nele pode ser totalmente nocivo aos seres humanos desencadeando assim uma doença.

A professora Ana Lisa levantou a questão e explicou sobre a “reinfecção por Covid-19” (assunto bastante comentado na atualidade). Ela afirmou que o paciente, o qual apresentou positivo novamente para o covid-19, não foi infectado pela covid-19 novamente e sim pelo vírus (SARS-CoV-2), pois não houve sintomas. Portanto, a resposta imunológica foi desenvolvida quando o paciente teve o primeiro contato com o vírus.

Posteriormente, foi explanado o conteúdo de clonagem molecular, de modo que os vírus foram colocados como carreadores da manipulação do material genético. Isso se deu devido a sua capacidade de se replicar rapidamente, sendo possível analisar melhor sua proteína já que terão várias cópias dela e partir disso é possível produzir a vacina. Foi destacado também que todo esse processo exige estudos prévios, pois o vírus manipulado pode se tornar imortal e não parar de se replicar. Os vírus não podem ser filtrados, porque seu tamanho é muito pequeno e como consequência também tem um material genético pequeno e com uma maior taxa de mutação, geralmente. Dessa forma, todo vírus terá na sua estrutura um capsídeo, que consiste em uma proteína que dá rigidez e proteção, e um ácido nucléico, RNA ou DNA, e ainda pode ter um envelope, uma membrana celular provinda da célula que infectou.

Quinta-feira, 03 de setembro de 2020

Na explanação de hoje foi analisado com mais detalhes cada estrutura do vírus. O capsídeo, estrutura indispensável, é uma cápsula proteica que tem a finalidade proteger o material genético e dar forma à partícula.

O envelope é derivado das membranas celulares, presente em apenas alguns vírus. As discussões foram colocadas a respeito se o envelope seria uma vantagem ou não. No meu ponto de vista, depende da situação, pois o vírus envelopado é mais difícil de ser visto pelo sistema imunológico já que carrega parte da membrana celular, porém fora da célula é mais vulnerável. É válido ressaltar sobre o termo virus like particle (VLP), que compreende apenas a cápsula protéica da partícula viral. São usadas na produção de vacinas, não possui material genético do vírus, logo não se replica. Essa descoberta foi feita porque no próprio organismo foi observado esse fenômeno de forma natural. O envelope no seu domínio interno tem a finalidade de empacotar o vírus para garantir o formato final, já o domínio externo é responsável pela fixação do vírus e pela fusão dele na célula que irá infectar. Há sete formas possíveis que o material genético pode assumir o que ele carrega consigo, como a proteína do capsídeo e proteínas não estruturais que irão auxiliar na replicação do vírus na célula. Tornou-se evidente que os vírus são sequenciados rapidamente, devido às tecnologias atuais, tendo em vista que é de suma importância saber o genoma do vírus para analisar suas possíveis mutações e se elas serão mais severas ou não. Portanto, as classificações taxonômicas vêm crescendo muito por vários vírus estarem sendo descobertos.

Terça-feira, 08 de setembro de 2020

No início da aula, foi retomado um assunto pendente da aula anterior a respeito de como interpretar as nomenclaturas que estavam caracterizando os vírus e expondo assim, que cada família viral terá suas características próprias. Consequentemente, foi especificado mais sobre como os vírus encontram as células e se adentram nela, de modo que entendamos como eles se replicam para que seja possível criar maneiras de intervir nesse mecanismo. Este assunto foi bastante pertinente para retornar a falar um pouco mais sobre o SARS-CoV-2.

É fundamental observar todo o processo vírus-célula. Inicialmente, o vírus procura as células que irá infectar, pois é preciso que haja receptores na célula compatíveis com ele para poder se fixar nela, essa etapa é compreendida como adsorção. A fixação não garante sua penetração, pois é o co-receptor quem dirá se a partícula viral entrará ou não na célula. Posteriormente, o vírus irá penetrar utilizando uma estratégia individual, podendo ser por proteína de fusão, endocitose, receptor transmembranar. Após isso, ocorrerá o desnudamento, caracterizado pela perda de sua cápsula proteica (capsídeo), assim seu ácido nucléico ficará exposto. A próxima etapa é a replicação do vírus, haverá a multiplicação das suas proteínas estruturais e não estruturais (auxiliam no metabolismo sintetizando enzimas que farão a célula trabalhar para o vírus), produzindo milhares de cópias delas. Depois disso, a etapa de montagem se inicia com os novos capsídeos e novos ácidos nucleicos e ficam prontos no citoplasma e os que terão envelope já adquirem uma parte da membrana da célula. Por fim, há a liberação dos vírus para o meio extracelular por exocitose, lise celular ou brotamento.

O SARS-CoV-2 tem uma particularidade importante para ser analisada, ele sofrerá como os outros vírus todas essas seis etapas, porém ele faz sua replicação dentro de vesículas membranosas no citoplasma da célula próximo ao retículo endoplasmático para ficar mais próximo das membranas. Assim, há a hipótese que esta é uma estratégia para não ser reconhecido facilmente pelo sistema imunológico e continuar seu metabolismo nas células, além de haver uma afinidade com células de vários tecidos tornando mais difícil contê-lo.

A transcrição dos vírus é uma etapa importante onde os vírus levam consigo todas as proteínas que serão necessárias para realizar tudo que quer dentro da célula. Entre elas estão as proteínas não estruturais, neste processo as polimerases farão a transcrição e realizarão correções para obter uma resposta clara para que a célula trabalhe na etapa de replicação. O vírus precisa de uma célula permissiva, ou seja, possibilitando sua replicação dentro dela e que seja suscetível, tenha receptores para o vírus se fixar e penetrar. Todavia, há células resistentes que não o deixam se adentrar nela. Também foi mostrado o conceito de células contínuas (que perderam a capacidade de replicar-se), como exemplo,

foi destacada a célula *HeLA*. Essas células foram tiradas de um tumor de uma paciente há muito tempo atrás e é usada até hoje em experimentos de laboratórios, já que células imortais são importantes para manter o vírus vivo e ser possível estudá-lo. Para finalizar a aula foi descrito um pouco sobre o efeito citopático.

Quinta-feira, 10 de setembro de 2020

A aula iniciou com uma síntese da aula anterior destacando o que foi abordado no final sobre o cultivo de células. Assim, foi observado que para o vírus crescer é preciso ter um meio de células vivas permissivas, suscetíveis e em laboratórios e ainda é necessário utilizar antifúngicos e antibióticos. Alguns vírus ainda apresentam efeito citopático devido às consequências que ele causa nas células do tecido atingido. O SARS-Cov-2 é um exemplo, no qual através de pesquisas foi observado mudanças nas células.

A patogênese viral é a forma que a infecção viral resultará em doença, então, a partir disso, haverá o surgimento de efeitos provindos da replicação do vírus no hospedeiro e da resposta imune agindo contra o vírus. A imunopatogênese é justamente a reação do nosso corpo frente a todas as alterações realizadas por uma partícula estranha, que nesse caso é o vírus. Desse modo, a febre é uma resposta do corpo humano frente às partículas virais, visto que as células imunes precisam de uma temperatura ótima (um pouco mais elevada que a temperatura normal em um corpo sem infecção, não podendo subir muito porque as células imunes podem se É importante destacar um processo frisado nessa aula, a formação de sincícios, Esse método compreende uma atividade em que várias células começam a se juntar dando origem a uma célula maior com vários núcleos, podendo levar a quadros inflamatórios graves. Porém, o vírus é muito beneficiado nesses quadros porque sua “fábrica” fica mais potente, tendo em vista que ficará escondido nesse grande aglomerado de células.

Diante disso, é válido analisar os ensaios de placa (lesão no tecido) feitos em laboratório. Nesse processo, a diluição dos vírus é realizada para diminuir o efeito citopático a fim de reduzir o número de placas e contar microscopicamente a quantidade delas. Ao final, é feito um cálculo para saber qual a quantidade total

aproximadamente de partículas naquela amostra desnaturada para trabalharem contra o vírus.

As viroses têm sintomas muito parecidos, isso ocorre porque os sintomas não são características específicas dos vírus, visto que os sintomas são uma reação do nosso corpo frente a eles. Além disso, o sistema imunológico vai consumir grande parte da energia do corpo para poder atuar e isso ocasionará indisposição.

Desta maneira, a aula foi prosseguida exprimindo sobre os receptores ACE e o SARS-Cov-2. Esses receptores estão em vários órgãos e, conseqüentemente, afetará vários tecidos caracterizando uma doença sistêmica. Em suma, há maior afinidade com tecidos específicos e nesse caso principalmente na região orofaríngea e parte superior do pulmão, já que há uma maior quantidade desses receptores. Entretanto, é pertinente frisar dois termos importantes na patogênese viral, a infecção e a inflamação. A infecção é o termo relacionado com a invasão do vírus no hospedeiro, já a inflamação é a consequência gerada pelo corpo frente a infecção. Portanto, uma infecção pode ou não ter uma inflamação, uma vez que o corpo pode ter anticorpos potentes contra o vírus.

O período de incubação é iniciado a partir da entrada do vírus e a partir desse momento ele começa a se replicar. Então, quando se estabelecer a infecção, o sistema imunológico entenderá que precisa reagir de modo que a doença poderá se manifestar. Alguns vírus apresentam transmissibilidade nesse período silencioso, um exemplo é o SARS- CoV-2. É importante saber a quantidade de pessoas que tiveram contato com ele e não apresentou sintomas para analisar se precisaram tomar a vacina. Portanto, para finalizar, foram citadas algumas doenças que tiveram muitos de seus casos assintomáticos e que cada vírus tem um comportamento próprio no período de incubação.

Terça-feira, 16 de setembro de 2020

A aula de hoje foi ministrada por Débora, mestranda da professora Ana Lisa, e teve como tema vírus emergentes e reemergentes. Inicialmente, foi explicado sobre inflamações agudas e crônicas. Nas crônicas, o patógeno causa danos mínimos para permanecer no hospedeiro e se manter vivo. Enquanto na

aguda, os danos podem ser mais severos, ou seja, não depende da resposta imunológica e posteriormente ela cessa. Outros termos básicos foram apresentados, como endemia, epidemia, pandemia e surto foram distinguidos. A endemia é caracterizada por uma doença de baixa incidência, pois o vírus apresenta uma baixa virulência ou porque grande parte da população já é imune. A epidemia atinge uma área maior, podendo ser a nível estadual ou nacional e apresenta uma alta incidência de casos. A pandemia se caracteriza quando a doença se alastrou por todo o planeta e o vírus provavelmente apresenta uma alta virulência. Inclusive, o termo virulência indica a medida da capacidade de um vírus causar doença. Há também os surtos, que são doenças que não eram comuns e de repente apresentam altos números de casos.

A progressão da doença acontece em vários estágios, onde o primeiro é a infecção, que consiste no contato inicial com o patógeno. Depois, inicia-se o período de incubação, que vai desde o contato inicial até o surgimento de sintomas, nesse momento o vírus está sempre se replicando e o tempo desse estágio varia entre os vírus. O terceiro estágio é o período agudo, considerado clímax da doença, quando os sinais e sintomas começam a surgir, uma das principais causas é a ocorrência de febre, sendo um grande indicativo para detectar que há algo de errado no organismo. Posteriormente, o período de declínio se faz presente, os sintomas são reduzidos e o corpo já tenta se estabelecer para sua conformação normal. Por fim, decorrerá o período de convalescença, estágio final da doença quando não há mais sintomas e o corpo está recuperado da patogênese.

A imunidade de rebanho, a qual é caracterizada como algo natural frente a um patógeno, segundo qual aos poucos a população vai se imunizando a fim de chegar em um momento em que nem todas as pessoas estarão infectadas. A partir disso, sabe-se que há pessoas infectadas ou imunes que não irão se infectar, criando assim uma barreira natural, pois como não ocorrerá a infecção, elas não transmitirão. Assim, o número crescente de pessoas imunes contribui para redução da transmissibilidade. Todo patógeno apresenta um período de transmissão comum que compreende ao escape do hospedeiro, migração e entrada de um novo hospedeiro. A transmissão pode ser direta, quando um

hospedeiro passa para outro hospedeiro através do contato direto, como a troca de fluídos. Também pode ocorrer de forma indireta, no momento em que um hospedeiro transmite para outro através de um veículo, que pode ser objetos ou agentes vivos como os vetores que se infectam primeiramente e depois ao ter contato com outras pessoas passará o vírus. Os animais podem ser reservatórios de doenças e transmitir para humanos. Dessa forma, é imprescindível entender medidas de combate e erradicação de doenças, onde necessita de um controle dirigido a veículos comuns, ou seja, tratar animais domésticos infectados e sempre mantê-los com as vacinas em dia.

A vacinação é de total relevância para o processo de prevenção na incidência de doenças. Ainda há o isolamento, que deve ocorrer quando pessoas infectadas precisam ficar reclusas das demais para não transmitirem e a quarentena que é necessária para que pessoas saudáveis não entrem em contato com suspeitos e infectados. Além disso, é preciso a vigilância para notificar os casos, a fim de evitar que a doença se expanda e seja mais fácil erradicar o patógeno.

Os vírus emergentes são aqueles que tiveram sua incidência aumentada recentemente ou poderá aumentar no futuro, enquanto os vírus reemergentes já causaram grandes epidemias, pandemias, no passado, e podem vir a infectar novamente a população. Portanto, há fatores de emergência que contribuem para isso, tais como, o aumento da densidade demográfica e comportamento da sociedade. Como visto na China, o aumento populacional levou ao comércio e alimentação de animais silvestres, justificando a incidência de novas doenças que nunca surgiriam caso não houvesse essa invasão ao meio ambiente. Atrelado a isto, o comércio e viagens internacionais contribuem para o transporte do patógeno para outros continentes. Também é possível analisar falhas nas medidas de saúde pública e adaptações do patógeno devido às tecnologias atuais.

Desta maneira, a aula foi finalizada com explanação de algumas epidemias brasileiras como Dengue, Zika, Febre Amarela e pandemias como a Gripe Espanhola, HIV/AIDS que perdura até os dias atuais e ainda não existe vacina. O Ebola, tipo de zoonose que também se faz presente na atualidade e ainda não há cura, e a Gripe Suína, que teve muitos casos incidentes no Brasil há alguns anos. E

por fim, a Covid-19 causado pelo SARS-CoV-2 que corresponde a pandemia que todo o planeta está vivendo na atualidade e muitos pesquisadores estudam a todo momento medidas para diminuir a incidência e como produzir uma vacina eficaz capaz de gerar imunidade na população de todo o mundo.

Quinta-feira, 17 de setembro de 2020

A aula teve início com a assertiva de que os vírus devem ser analisados em uma visão multifatorial, já que é preciso saber quais suas características, qual população irá atingir, se são sintomáticos ou assintomáticos, qual imunização os indivíduos estão adquirindo, sem esquecer também de toda questão ambiental. Logo após, foi citado sobre a cepa viral, que são vírus com diferentes sorotipos, que tiveram assim decorrentes mudanças genéticas e apresentam como resultado diferentes anticorpos. A exemplo disto, tem-se o vírus da dengue que apresenta quatro sorotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4). Ainda foi feita uma desmistificação do que seria virulência, uma vez que o nome remete aos vírus, mas o termo refere-se a capacidade de qualquer microorganismo patogênico causar doença, seja ele uma bactéria, fungo, protozoário, vírus.

Na década de 80, não tinha rastreamento de hepatite C nas doações de sangue e ao decorrer foi surgindo muitos casos de doenças hepáticas, crônicas e cardíacas e as pessoas, principalmente idosos que apresentavam essas manifestações, tinham se submetido a grandes cirurgias. A partir dessa análise, estudos descobriram que o sangue usado para essas cirurgias estava infectado com hepatite C. Assim, na atualidade, analisando esses fatos históricos, é possível perceber a importância de um rastreio sanitário.

É fundamental destacar a explanação feita pela professora a respeito do SARS-CoV-2, onde ela mostra que a mudança de hospedeiro, de animais para humanos, é resultado de uma enorme pressão de seleção, visto que o homem ultrapassa os limites do ecossistema, interferindo diretamente no nicho de microorganismos. Foi observado como um vírus com baixo índice de mutação pode ter ajudado no processo de mudança de hospedeiro, pois vírus que mutam rapidamente não resistem tanto à mudança de populações.

Com isso, podemos analisar os tipos de transmissão dos vírus, que podem ser a transmissão vertical e a transmissão horizontal. A transmissão vertical, considerada a materno-fetal, acontece quando no momento intrauterino o vírus consegue passar pela placenta. Já a transmissão horizontal ocorre através do contato direto entre as pessoas, pela presença de veículos como gotículas de saliva, canetas ou outros objetos que contenham o vírus em sua superfície. Ainda pode acontecer por meio de vetores, que é quando o vírus precisa passar pelo vetor para se transformar na sua forma evolutiva e for capaz de infectar humanos. Nessa situação, a transmissão não vai acontecer através da pessoa infectada-vetor-pessoa saudável. Os vírus conseguem se espalhar rapidamente desde que tenham vetores e/ou veículos suscetíveis e/ou condições ambientais favoráveis. O SARS-CoV-2 é um exemplo de micro-organismo que não possui vetor, sua transmissão é atrelada às outras formas de transmissão horizontal. Nessa mesma vertente de transmissões, o beijo é considerado um veículo da mononucleose mais conhecida como doença do beijo (nome devido a esse grande fator disseminação).

É imprescindível dissertar sobre alguns vírus explanados nessa aula. O primeiro foi o HPV, um vírus da família *papillomaviridae* de DNA de dupla hélice e que não possui envelope. Há mais de 60 espécies dele, o mesmo tem afinidade com mucosas, oral, genital, principalmente colo de útero e existem dois grupos desse vírus que estão associados ao câncer de colo útero. Esse tipo infecta mulheres e homens, sendo o último um grande reservatório. Existe vacina para prevenir suas manifestações mais graves e deve ser tomada o mais cedo possível, pois é considerada uma IST, infecção sexualmente transmissível, então é mais viável tomá-la antes de iniciar a vida sexual. Existe tratamento e o diagnóstico é feito através de exames periódicos na maioria das vezes.

A Hepatite B foi a segunda doença citada e é causada pelo vírus da família *hepadnaviridae*, envelopado de DNA circular. Irá causar infecções hepáticas e é transmitida através de fluidos corporais e geralmente por materiais usados para manutenção da higiene das unhas como alicate, que foram usados em pessoas infectadas e não esterilizados. Existem várias formas de hepatite causadas por famílias virais diferentes.

Em seguida, o citomegalovírus foi outro vírus citado. Esse é da família herpesviridae, de fita simples e que possui afinidade com células do tecido epitelial, com transmissão horizontal e vertical podendo causar problemas congênitos no bebê. Trata-se de um vírus com período de latência lento, ele espera uma queda na imunidade para manifestar-se de forma mais severa.

Por fim, foi falado sobre o *poxviridae* da família da varíola. Suas características são DNA linear, envelopado e icosaédrico. É um vírus bem interessante de se estudar, pois não precisa do núcleo da célula para se replicar e sua replicação acontece no citoplasma, já que carrega todas as proteínas não estruturais que precisa para tal processo.

Terça-feira, 22 de setembro de 2020

A aula teve início com a retomada de algumas dúvidas levantadas na semana passada, como a vacinação do HPV, que atualmente já é ofertada para meninos também e não há indícios ou estudos que comprovem que o HPV esteja com esterilização. Foi explanada uma assertiva sobre os vírus de RNA, que não necessariamente serão mais agressivos ou mutarão constantemente. Como exemplo disso, podemos citar o SARS-CoV-2, um vírus de RNA que mutou pouco e mostrou-se bastante agressivo. Vimos também que existem outros vírus relacionados com doenças respiratórias e a diferença de gripe e resfriado. A gripe tem sintomas mais severos geralmente e são causadas por vários tipos de vírus da influenza, os quais fazem parte da família *Orthomyxoviridae*. Já o resfriado tem sintomas mais leves que costumam cessar em poucos dias, a exemplo temos o Rhinovirus da família *Picornaviridae*, que acomete mais a região de nariz causando coriza.

Sobre o conteúdo da aula, foi abordado sobre as proteínas não estruturais do vírus da Influenza, a Hemaglutinina (H) e Neuraminidase (N), expressas no envelope. A partir disso, sabe-se que irão sofrer diferenciação e mutação, o que explica as nomenclaturas “H1N1”, “H1N2”, que condiz com as mutações sofridas pelo vírus. Assim, é preciso estudar sempre que houver mudanças para verificar se será preciso produzir vacinas para essas novas configurações do vírus.

Tendo em vista as patologias da aula passada, foi iniciada a exposição de outras. O HIV, vírus de RNA + de fita simples, da família *retroviridae*, tem transmissão sanguínea, vertical e sexual, ou seja, por troca de fluidos corporais. Vale ressaltar que os retrovírus são de RNA e para se replicarem precisam de uma cópia de DNA complementar (cDNA) e de sua “mochilinha” de proteínas não estruturais, a transcriptase reversa, que é responsável por esse processo de transcrição viral.

Posteriormente, foi destacado que as drogas anti-retrovirais são responsáveis por silenciar a ação dessas enzimas, mas o vírus ainda pode conseguir escapar e por isso são recomendados os coquetéis, vários medicamentos com estratégias diferentes a fim de combater o vírus e não deixá-lo resistente. Vimos também a importância de não excluir da sociedade pessoas que desenvolveram a AIDS, através da infecção pelo HIV, uma vez que é possível elas terem qualidade de vida e evitar disfunções mais severas se o tratamento for feito adequadamente.

A doença da raiva, citada pela professora, é causada por um vírus da família *Rhabdoviridae*, do gênero *Lyssavirus*. Este vírus circula muito bem em animais, já que eles podem ter a infecção e não manifestar a doença. Portanto, é necessária a vacinação de animais domésticos, pois caso o animal seja portador do vírus o mesmo deve ser eutanasiado, diferente do humano que pode ser submetido a tratamento. Porém como a inoculação desse vírus é lenta, torna-se necessário tratar o paciente antes das manifestações clínicas, logo na suspeita, quando for mordido pelo animal. Tudo isso é primordial para a sobrevivência do paciente, visto que depois que a doença se manifesta não tem como reverter o quadro e os sintomas clínicos evoluem para paralisação. Há pouquíssimos casos de pessoas que sobreviveram ou foram curadas e um dos exemplos é de uma menina que se curou da raiva e, devido a isto, cientistas questionam se ela realmente se infectou. Outro caso é de um menino de Floresta, que tomou medidas um dia após a infecção, sobreviveu e segue em tratamento devido a progressão da doença.

Outro vírus citado foi o Ebola, que é responsável pela doença endêmica na África meridional, tendo pouca visibilidade na mídia por atingir uma região pobre. A doença começa com sintomas de resfriado, mas com grandes chances de evoluir

para hemorragias internas e, além disso, desenvolver hipervolemia. Existe tratamento e não há casos de reinfecção até o momento. Atualmente, existem algumas cepas circulando, umas mais virulentas que outras. Trata-se de um vírus de biossegurança 4, o qual necessita de todo um aparato maior no laboratório ao ser manipulado, como capotes, luvas, toucas e máscaras, pois ele possui alta letalidade e ainda não tem vacina. Esse patógeno é transmitido de pessoa para pessoa e em decorrência disso, é preciso desenvolver políticas públicas efetivas para impedir a circulação dele. Inclusive, foi exibido um caso de um médico da linha de frente da África que foi infectado e recebeu o tratamento por sua mãe, que se equipava com materiais improvisados, como bolsa de plástico, para que ela não contraísse a doença e fosse capaz prestar os cuidados com a finalidade de ajudar o filho a se curar.

Quinta-feira, 24 de setembro de 2020

Na aula de hoje, foi finalizado o primeiro módulo da disciplina. Iniciou-se com uma contextualização de um fato presenciado pela professora Ana Lisa, o qual nos fez perceber ainda mais a importância da educação em saúde. Logo em seguida, foram feitas explicações sobre diagnósticos de vírus. Alguns tópicos primordiais nesse processo são: as informações fornecidas pelo paciente, sintomas e o tempo (quanto tempo faz do surgimento dos sintomas), para que seja indicado o teste mais adequado. Os pacientes assintomáticos não possuem a doença, já que não possuem manifestações clínicas, sendo apenas portadores do vírus.

Há dois tipos de diagnósticos laboratoriais, os quais podemos citar os específicos, que podem ser diretos e indiretos, e os inespecíficos, que identificam apenas que há algo errado com organismo e não detectam necessariamente o vírus. Desse modo, o teste mais indicado depende do tempo. Os testes detectam o material genético, e os testes antigênicos, que detectam as porções dos vírus. Um exemplo é o caso do SARS-CoV-2 que é feita a detecção da proteína *spike*. Logo, é preciso particularizar o que são os diagnósticos específicos indiretos, responsáveis por identificar o estado imunológico, ou seja, se há as proteínas imunológicas depois de ter contato com os vírus, IgM está presente no começo da

infecção e IgG no final. O teste Elisa é um exemplo dessa categoria, pois consegue quantificar o quanto de anticorpo o indivíduo tem.

Existem, ainda, testes rápidos que identificam a presença de anticorpos ou antígenos e esse é um exame que não é muito sensível, porém se sua prevalência for grande sua sensibilidade aumentará no meio do teste, uma vez que será possível determinar o perfil de circulação viral na população. A partir disso, é importante destacar a importância das unidades sentinelas que proporcionam a identificação do vírus, reunindo dados e informações sobre os vírus que estão transmitindo doença e são compartilhados com a OMS, sendo possível observar sua ampliação e contaminação geográfica.

Um exemplo de diagnóstico específico direto é a detecção molecular, que identifica qual vírus está presente através da pesquisa pelo DNA ou RNA viral. Além disso, é feita cultura de células para observar se há efeito citopático (no SARS-CoV-2 foi observado), microscopia eletrônica e imunofluorescência. Destaca-se que para cada vírus existe um diagnóstico de padrão ouro, os quais são incontestáveis. Portanto, se for possível cultivar células com esse método de diagnóstico, não há contra-argumentos. Não existe ainda nenhum diagnóstico direto de padrão-ouro para o SARS-CoV-2, já que foram observados casos assintomáticos e permanência de testes positivos por muito tempo, como também crianças com alta carga viral, que não manifestam a doença, mas transmitem. Assim, é necessário entender o cenário para poder aplicar o exame que oferece uma precisão maior.

O PCR, um diagnóstico direto que através de reação em cadeia polimerase, identifica quantidades muito pequenas de ácido nucleicos e faz ampliações para que possam ser detectados e quantificados. Esse método identifica genoma viral, DNA ou RNA, até mesmo no estágio inicial da infecção, quando não existe ainda uma replicação viral exacerbada, de modo que é considerado o padrão-ouro. Portanto, no caso do SARS-Cov-2, o resultado não afirma estabilização daquele quadro, por isso não oferta uma confirmação concreta que a pessoa está curada ou pode vir a se reinfectar, visto que não se sabe sobre a memória imunológica desse vírus.

Diante de todo material trabalhado nesse módulo da disciplina, aprendi muito, vivi momentos enriquecedores de troca de conhecimento sobre esse universo que é a virologia. Logo depois de todo conteúdo abordado de forma clara e precisa, os acontecimentos cotidianos ficaram mais simples de serem compreendidos. Desse modo, escrever este diário foi uma experiência formidável, um espaço que me proporcionou depositar todo assunto que consegui fixar ao longo das aulas. Com ajuda da professora Ana Lisa, foi possível sanar minhas dúvidas de temáticas que me deixavam incerta, além de tratar de conteúdos atuais, desmistificar termos e esclarecer conceitos, a fim de promover educação em saúde e fazer de nós precursores de informações que contenham credibilidade. Assim, fui capaz de compreender que a virologia é muito mais ampla do que imaginava. Pois apesar dos vírus serem partículas pequenas, são muito ricos em detalhes e estão propensos a mudar a todo o momento. Portanto, os estudos dessa área ajudam a tentar compreender todos os seus mecanismos e particularidades, por isso é tão importante valorizar a ciência.

Módulo II

Terça-feira, 29 de setembro de 2020

Hoje foi dado início ao segundo módulo da disciplina de virologia, que será ministrado pelo professor José Cândido. Assim, foi realizada uma roda de debate com algumas exposições feitas pelos professores José Cândido e Ana Lisa acerca do SARS-CoV-2, onde foram lembradas questões de aulas anteriores e feitas as atualizações pertinentes. Desse modo, estabeleceu-se uma linha cronológica desde quando a pandemia do COVID-19 surgiu em dezembro de 2019, na China, até o momento da disseminação por todo o mundo, principalmente através de viagens internacionais e comércio. Foi salientado também o quanto os estudos estão sendo feitos de forma acelerada, já que é grande a preocupação de conter o vírus.

O HIV demorou quase 10 anos nesse modelo de pesquisa que foi desenvolvido até o momento para o SARS-CoV-2. Isso ocorreu devido a vários fatores complexos, como as condições tecnológicas nos anos 80 que não eram tão desenvolvidas e avançadas como as que existem no mundo hoje em dia. No Brasil,

o primeiro caso surgiu no dia 28 de fevereiro e desde então atentou-se para uma vigilância epidemiológica mais intensa, a qual focou em notificar casos e desenvolver medidas de segurança que evitem o aumento da transmissão do vírus, através do contato pessoa a pessoa, por exemplo. Esse vírus tem uma transmissibilidade alta e não sofre uma pressão de seleção, uma vez que ele consegue mudar facilmente de hospedeiro sem muitos esforços ou algum fenômeno que o pare. O nome COVID-19 refere-se a doença, ou seja, as manifestações clínicas, enquanto o SARS-CoV-2 é o vírus e a tradução é o segundo vírus da família do Coronaviridae que causa a síndrome respiratória aguda grave. O indivíduo acometido pela doença geralmente tem uma congestão nasal sem coriza e perde o olfato por um período maior que pode perdurar até depois da cura da doença.

Sobre a forma de transmissão, ainda não há estudos ainda que comprovem a transmissão vertical, visto que o vírus foi encontrado apenas na parede da placenta da mãe infectada, portanto a maior forma de transmissão descrita pelos cientistas é a de pessoa para pessoa. Dessa maneira, a maior arma que se tem até o momento para conter a disseminação é a proteção do rosto com máscaras que protegem nariz, boca e também o uso de *face shield* ou óculos para proteger os olhos. Enquanto isso, as vacinas estão sendo desenvolvidas e estão em fase de teste. Assim, a aula finalizou com esclarecimento de dúvidas apresentadas pelos alunos.

Quinta-feira, 01 de outubro de 2020

Hoje foi dado início aos primeiros assuntos referentes a esse módulo, ministrado pelo professor José Cândido com o seguinte tema: “Resposta imune inata contra vírus”. A resposta imune inata é uma resposta inicial bem importante e dependendo do tipo de patógeno, o sistema imune monta a melhor resposta específica para ele. As infecções virais são mediadas por Interferons, moléculas capazes de interferir em uma infecção viral, do tipo I (IFN- α e IFN- β) e pela ação de células *Natural Killer* ou assassinas naturais, que são os “linfócitos” do sistema

imune inato. Assim, os interferons e esses linfócitos são responsáveis por combater qualquer infecção viral.

Dessa forma, a imunidade inata com suas células tem a capacidade de reconhecer as moléculas associadas ao patógeno que são os *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMPs). Existem moléculas que foram desenvolvidas ao longo da evolução para detectar essas substâncias e a partir disso há uma sinalização intracelular para produzir os interferons do tipo I, entre outros elementos do sistema imune. Existem várias vias para produzir isso, a exemplo, a via de receptores similares a *toll*, que os seres humanos e vários animais possuem. Algumas células naturais do sistema imune, células dendríticas, têm receptores de reconhecimento padrão, os TLR3, que detectam RNA dupla fita até quando estão dentro dos endossomos, o RNA dupla fita é exclusivo de infecção viral. Ainda existem outras moléculas TLR7, TLR8, TLR9, que detectam RNA fita simples de vírus e apesar do nosso ser fita simples, ele vai estar no citoplasma e se estiver dentro do endossomo as moléculas vão detectar infecção. Então, todo esse sistema que detecta partículas estranhas está presente nas células da imunidade inata, principalmente as células dendríticas. Logo, as proteínas IRF6 e IRF7, fatores reguladores de Interferons, vão entrar no núcleo e irão informar ao DNA da célula que é preciso fabricar interferons do tipo I (IFN- α e IFN- β). Desse modo, a mesma via de sinalização intracelular acaba nas moléculas NF- κ B e elas produzem citocinas pró-inflamatórias. A partir disso, essa defesa que vem junto com os interferons e pode, às vezes, ser acompanhada de citocinas pró-inflamatórias, ou seja, a inflamação também é uma resposta do corpo frente a uma infecção viral. Por vezes, essa resposta aparece porque as vias de sinalização intracelular acabam no local de produção de interferons e mandam uma resposta para o núcleo produzir citocinas pró-inflamatórias.

A via TLR's foi a primeira a ser descoberta, mas existem outras vias de produção de Interferons. Uma das vias responsáveis pela detecção do nucleotídeo viral é a via STING, que estimula os genes e a produção do interferon. Dessa forma, a via STING está presente no retículo endoplasmático, onde há os estímulos RNA ou DNA viral que são capazes de modular essa via. Essa via trabalha melhor com vírus de DNA, mas também detecta os de RNA através do

RNA em transcrição reversa. Então, a proteína chamada cGAS detecta esse DNA dupla fita ou retrovírus, que sabe que é DNA dupla fita viral porque está no citoplasma (o de seres humanos fica no núcleo). Assim, a cGAS detecta o DNA dupla fita e produz cGMP cíclico em uma molécula através de GTP e ATP e dessa maneira STING detecta essa molécula que é formada. A partir disso, a via STING irá entrar em outra via que tem proteínas quinases ativada, fosforilação em ação, onde fosforila esses fatores de transcrição ativos IRF6 e IRF7 que acabam na produção de Interferons do tipo I.

Além disso, se essa via for ativada pode levar ao fenômeno da autofagia. É um processo em que a célula degrada a si mesmo e muitas vezes acabam em morte celular. Dessa maneira, são formadas vesículas no citoplasma para englobar organelas e fundir essa vesícula com lisossomo e o resultado são as enzimas que estão dentro do lisossomo digerirem a organela. Na imunidade inata, ao ativar esse processo, ela vai tentar englobar coisas parecidas com organelas, estruturas grandes dentro do citoplasma e dentro dessas estruturas pode ter um vírus. Posteriormente, após englobar, vai tentar fundir com o lisossomo e digerir o vírus como um mecanismo de defesa que é ativado através da molécula STING, que por consequência ativa o Interferon do tipo I.

A próxima via citada foi a via RIG, com RIG-I e MDA5, que são receptores de detecção padrão para identificar a infecção viral, ao contrário da via STING que detecta RNA. Os vírus produzem RNA de dupla fita longa, que inexistem em seres humanos, ou RNA de dupla fita com várias moléculas de fosfato, trifosfato na parte 5'. Portanto, a RIG-I detecta o RNA trifosfato e a MDA5 identifica o RNA dupla fita longa e no momento que são ativadas, levam a ativação da molécula MAVS que contém vários filamentos e, no final disso, o processo de transcrição de Interferons do tipo I, III, e citocinas pró- inflamatórias também será ativado. A partir do vírus de DNA, pode-se entrar também na via RIG através do RNA polimerase III, uma molécula reconhecida pela imunidade inata. É válido frisar que células saudáveis não dispararam imunidade inata.

É importante ressaltar que IFNs- α são mais eficientes em infecções virais e são produzidas por células dendríticas, macrófagos e monócitos. Enquanto os IFN- β , menos eficientes nessa resposta da infecção viral, são produzidos por

quase todo tipo célula principalmente por células dendríticas plasmocitóides cheias de receptores de reconhecimento padrão de infecção. Consequentemente, os interferons do tipo I ativam as células NK e fazem com que elas matem mais ainda, de modo que as tornam altamente efetivas para causar morte celular.

Destaco, também, sobre o processo de ação de interferons do tipo I, assunto frisado no término da aula. As células produzem IFNs tipo I, células dendríticas plasmocitóides, por exemplo, a fim de que as células ao redor entrem em um estado de defesa antiviral e comecem a ficar imunizadas contra aquele vírus. Assim, a ação é nas células que não estão infectadas, de modo que aparente um estado de imunidade contra a infecção viral. Muitas células do organismo já têm receptores para os interferons do tipo I, já que não se sabe onde o vírus vai entrar e o receptor ao detectar o vírus ativa várias vias intracelulares com o objetivo de bloquear a replicação viral. Quando o vírus é detectado pelo sistema imune, a célula não infectada reage ao IFN-I produzido pela célula infectada e produz uma enzima chamada 2-5 adenilato sintetase, que irá produzir RNase. Essa enzima degrada o RNA mensageiro do vírus que inibe a síntese proteica e a replicação viral será bloqueada. Outra ação ocorre através da ativação da proteína PKR, que fosforila outras proteínas, ou seja, colocam uma espécie de fosfato, já que é uma maneira de sinalizar. A proteína ativada auxilia na síntese de proteínas e desestimula esse alongador de cadeia e inibe a síntese proteica que resultará na replicação viral bloqueada. Diante disso, ocorre o impedimento da síntese do vírus, mas também inibe a do ser humano, o que pode levar à morte celular quando essa ação dos IFNs é muito intensa. Todavia, os vírus criam mecanismos para fugir da ação dos IFNs e não terem sua replicação afetada, a exemplo podemos citar o Herpes vírus, que tem uma fosfatase e age excluindo o fosfato que é colocado para inibir a síntese proteica do vírus e a replicação continuar

Em suma, essas vias são concluídas com o mesmo objetivo, porém cada uma tem suas particularidades, já que agem em lugares específicos e com tipo de vírus específicos. Como visto, uma via detecta vírus de RNA ou de DNA, enquanto a outra é capaz de detectá-lo dentro do endossomo.

Terça-feira, 6 de outubro de 2020

Na aula de hoje foi dada continuidade ao assunto de resposta imune e desta vez com a “resposta imune adaptativa”. A imunidade adaptativa irá combater a infecção viral através de moléculas neutralizantes e pela ação de linfócitos T citotóxico, que são linfócitos TCD8 efetores, os quais realizam ação citolítica das células que foram infectadas. O anticorpo neutralizante vai ser aquele que bloqueia, se liga a uma parte do antígeno viral e deixa o vírus incapaz de infectar a célula e assim neutraliza a ação do vírus, mas que não elimina o reservatório do vírus. Esses anticorpos têm alta afinidade para se ligar ao antígeno com muita força, pois será melhor a neutralização. Em uma resposta secundária, essa afinidade melhora e os linfócitos TCD4 têm papel fundamental para que esse processo ocorra. Esses anticorpos neutralizantes são produzidos nos centros germinativos, já que são os locais dos órgãos linfóides, em que os linfócitos B sofrem o processo de ganho de afinidade e há troca de cadeia, produzindo anticorpos IgG, IgA ou IgE, a depender do tipo de infecção.

No caso do SARS-CoV-2, a proteína *Spike* precisa se ligar ao receptor ACE2 para que a infecção ocorra, então os anticorpos neutralizantes se ligam a essa proteína para bloquear sua interação com a do receptor ACE2. Assim, as vacinas testadas até o momento têm mostrado produção de anticorpos neutralizantes e as pessoas que se infectaram com a doença também foram detectados esses anticorpos. Em contrapartida, abordou-se, também, sobre as células TCD8, as quais irão conseguir eliminar o reservatório do vírus, uma vez que são efectoras e têm a finalidade de localizar o vírus e as células tumorais. Assim, em uma infecção viral, as células infectadas processam o vírus, os quebram em partes e os apresentam na superfície ligada ao MHC classe I, um peptídeo viral. A partir disso, o TCD8 irá analisar todas as células na área da infecção e, caso ele seja específico para o peptídeo, ativará um sistema dentro do CD8, o qual é constituído de grânulos possuidores de proteínas tóxicas e que serão secretadas na direção da célula alvo. Dessa forma, dentro dos grânulos terá uma proteína chamada perforinas que capazes de abrir uma passagem na membrana da célula para que as granzimas entrem e induzam o sistema de apoptose.

Existe um processo via grânulos e via receptores de superfície, já que a célula alvo e os CD8 possuem receptores de superfície. Outra maneira de agir é na produção de interferon-gama, isso porque eles são capazes de ativar certas células de modo que aumentem sua efetividade na eliminação de infecção. Depois da célula infectada, o CD8 detecta o vírus e induz a sua destruição e assim incapacita o vírus de se replicar, mas os vírus que conseguem escapar passam para o meio extracelular, os quais estarão susceptíveis a ação dos anticorpos.

Por sua vez, o TCD4 ajuda no bom desenvolvimento de células TCD8 efetoras. Para baixar os níveis de TCD4 no organismo, é preciso uma imunodeficiência que por consequência irá interferir no funcionamento de TCD8, uma vez que este depende da ajuda do T auxiliar. Dessa forma, os vírus mais patogênicos conseguem produzir moléculas capazes de interferir no processo de apresentação de antígeno e como consequência ficam escondidos, por isso o TCD8 não consegue atuar. Se não houver MHC-1 na superfície, o TCD8 não consegue agir, mas as células NK agem nessa situação, pois quando elas não veem MHC exposto na superfície, reconhecem a célula como infectada e exerce a apoptose.

Em seguida, foi apresentado um exemplo de escape famoso, chamado de deriva antigênica, onde o vírus da gripe expressa em sua superfície duas proteínas importantes, a hemaglutinina (HA) e a neuraminidase (NA). Quando o vírus é referenciado, como por exemplo, o H3N2, significa que é hemaglutinina tipo III e a neuraminidase do tipo II, uma vez que essas moléculas sofrem várias mutações ao ter contato com seres humanos ou animais. Assim, os anticorpos são muito importantes para bloquear essa infecção viral, principalmente o anticorpo contra a hemaglutinina. Desse modo, ele consegue impedir a entrada do vírus na célula, enquanto os anticorpos da neuraminidase não funcionam muito bem. Com isso, destacamos que a mutação gênica acontece em humanos e animais, na medida em que leva o vírus a mudar sua constituição, o que ocasiona a deriva antigênica e faz com que os vírus apareçam cada vez mais diferentes, de modo que seja necessário alterar a vacina e aplicá-la em pessoas mais suscetíveis.

Outro fenômeno citado foi o *antigenic shift*, onde grandes partes do material genético são mudadas de uma vez, como por exemplo, o H1N1, que é a

mistura dos vírus de ave e suíno. Assim, quando um animal sofrer infecção por dois tipos de vírus, no interior da célula, esses dois vírus podem se recombinar, de modo que ocorra a fusão de seus segmentos e gere um novo vírus. Como a mudança é muito drástica, não há memória imunológica na população, já que será um vírus totalmente novo e a doença se espalha facilmente. É fundamental não esquecer que os vírus têm suas estratégias e podem atingir locais privilegiados, onde o sistema imune tenha dificuldade de chegar, como o olho, placenta, testículos. Ainda assim, a inflamação, por mais simples que seja, pode causar danos que podem levar à perda da funcionalidade. No caso do vírus do HPV, que ocasiona verruga, torna-se difícil a sinalização para o sistema imune, pois não tem proteína expressa. À medida que as células epidérmicas vão se diferenciando, o vírus começa a se ativar aos poucos, de modo que ao chegar na camada superficial encontra-se ativo e veja os vírions agindo. O sistema imune chega com dificuldade e permite que o vírus possa se multiplicar e, eventualmente, infectar outra pessoa, mas há o lugar mais privilegiado, que é o DNA humano, onde o vírus consegue se integrar no genoma e se esconder eficientemente do sistema imune, como por exemplo, o HIV.

Desse modo, o professor finalizou a aula com uma tabela que apresentava alguns mecanismos de evasão, variação antigênica e inibição do processamento antigênico. Foi citado, ainda, sobre o poxvírus, que produz receptores homólogos e sobre o citomegalovírus, que tem receptores homólogos de citocinas. Esses possuem uma citocina que precisa de um receptor na célula para exercer sua ação através da produção de IFNs tipo I, porém se o vírus produz receptores homólogos que não servem, eles se ligam na citocina e a impede de se ligar ao IFNs. Além disso, têm-se as infecções persistentes que ocorrem quando o sistema imune falha e as infecções crônicas se instalam e, dessa forma, o vírus pode ficar latente no organismo esperando por uma queda na imunidade.

Quinta-feira, 08 de outubro de 2020

A aula de hoje foi iniciada com o assunto sobre estratégias de vacinação, onde se discutiu sobre os tipos de vacinas e os adjuvantes, como também foi explanado um vídeo a respeito do assunto para ajudar na compreensão. Dessa

forma, a parte do sistema que as vacinas “treinam” é chamado de sistema imune adaptativo, que tem como papel inicial reconhecer o antígeno e a partir disso montar uma resposta. A partir disso, inicia-se um processo de criação de uma proteína, chamada de anticorpo, que se liga ao antígeno juntamente com os fagócitos. Porém, se os anticorpos estiverem sozinhos, não conseguem completar o processo por inteiro e apenas o neutralizam, ou seja, não destroem o patógeno. Então, as vacinas têm a finalidade de prevenir a infecção futura, de modo que ative o sistema imune adaptativo produzindo células de memória de longa vida, as quais estarão preparadas para produzir anticorpos e TCD8. Caso aquele patógeno venha invadir o organismo, a imunidade já estará estabelecida e assim evitará a ocorrência da doença.

As vacinas vivas atenuadas que incluem a tríplice viral, BCG (não é viral), rotavírus, pólio oral e a da influenza, as quais trabalham introduzindo uma versão enfraquecida do patógeno vivo no organismo. Esse método foi desenvolvido por Louis Pasteur, após experiência em laboratório, ele observou que existia mutação fora do organismo e sua incapacidade de causar doença. Desse modo, esses patógenos atenuados não são fortes o suficiente para desenvolver a patologia, de modo que precisam ser fortes apenas para desenvolver uma resposta imune protetora. Entretanto, podem disparar uma forte resposta imune, similar a infecção real, e assim gerar imunidade para vida toda.

Dessa forma, o processo de fabricação da vacina é iniciado quando humanos desenvolvem a doença no animal, o patógeno é coletado e injetado em outro animal. Tanto o patógeno como o outro animal responderá de forma diferente e esse processo é repetido inúmeras vezes. Como exemplo, é importante citar como foi feita a vacina da febre amarela, que ocorreu com a retirada de sangue de uma pessoa infectada pelo vírus da febre amarela para coletar o patógeno e infectar macacos *rhesus*. Posteriormente, o vírus foi removido e introduzido em outro animal, seguindo assim por 54 passagens para que o vírus se adaptasse e, em seguida, foi iniciado o mesmo processo em camundongos, por 18 vezes. A posteriori, passou 128 vezes por embriões de galinha sem o tecido nervoso, pois era interessante que perdesse a característica de infectar o tecido nervoso. Por fim, passou 17 vezes *in vitro*, para ser

introduzido em ovos de galinha embrionados. Após isso, houve os testes da vacina em macacos *rhesus* e o vírus atenuado não causou doença e gerou uma resposta imune protetora. Citou-se ainda uma estratégia na produção da vacina da influenza que foi a diminuição de temperatura.

Outro tipo importante são as vacinas de subunidade, que trabalham com uma amostra de apenas uma parte do patógeno, mais recentes e que fazem uso da tecnologia da engenharia genética. Foi observado que o vírus da hepatite B era muito difícil de crescer *in vitro*, pois ao entrar na célula, ele produz uma proteína de superfície, o antígeno S do vírus da hepatite B (HBV) bem imunogênica. Como era difícil desenvolver em laboratório, foi selecionado um gene que codifica esse antígeno e o inseriu em um plasmídeo no qual existia controle genético necessário para expressar o gene. No entanto, o plasmídeo era uma levedura que produzia o antígeno, o que resultou na modificação genética de levedura, uma vez que ela produzia então uma proteína viral. Em seguida, foi purificada para ficar com o antígeno vacinal puro, que parece com uma VLP. Outro exemplo é a vacina do HPV, que é constituída de uma VLP formada com proteínas L1 derivadas do vírus e produzidas por engenharia genética. Essas vacinas, por sua vez, irão necessitar dos adjuvantes que são responsáveis por “acordar” o sistema imune e fazê-lo disparar a produção de anticorpos e células de memória. Portanto, as vacinas de subunidade por não terem o patógeno vivo, não possuem a informação para replicar, que por sua vez são indicadas até para indivíduos com sistema imune enfraquecido, em contrapartida não produzem uma proteção a longo prazo.

Em contrapartida, há diferença entre as vacinas inativadas e as vacinas de subunidade. As vacinas inativadas, como exemplo, a Sinovac, microscopicamente é possível observar o vírus inteiro e não apenas uma partícula, porém ele está no estado inativo e é chamado de *vírion*, uma vez que não está morto e é incapaz de se multiplicar. Já a vacina da influenza possui uma cepa mestre que está acostumada a crescer em embrião de galinha e essa cepa muda a cada ano com as mutações. Então, é realizada a combinação dessas cepas e são selecionados os vírus que possuem a hemaglutinina e a neuraminidase característica do vírus daquele ano e que está acostumada a crescer no vírus embrionário do ovo de galinha, visto que esse vírus se multiplica bem nele. O fluido alantóide é purificado

e usado como agente alquilante padronizado, como a formalina, para desnaturar o vírus, proteger as estruturas antigênicas e obter a vacina. É fundamental observar que elas também não são muito fortes e precisam de adjuvantes para auxiliar o sistema imune na resposta.

Além disso, foi abordado sobre a imunidade de rebanho, que protege até as pessoas que não puderam receber a vacina. Nesse sentido, esse método é criado quando uma grande parte da população já é imune a uma doença, em razão de trabalhar movendo as cadeias da infecção, pois se infectar uma pessoa vacinada o patógeno morre e não poderá passar para outras pessoas. Por consequência, não infecta as que não receberam vacina, uma vez que os indivíduos vacinados criam essa espécie de barreira para proteção dos mais vulneráveis. Isso ocorre naturalmente, à medida que a população vai sendo vacinada, vai adquirindo a imunidade após infecção pelo vírus selvagem, isso quando o vírus não fica latente.

Mediante ao exposto, a aula foi finalizada com as explicações feitas a respeito dos adjuvantes, uma substância presente em algumas vacinas para ajudar a produzir uma resposta imune. Essa substância vai ativar o sistema imune inato, porém existem outras vacinas que não precisam dela, pois já são adjuvantes. Isso foi descoberto através da tentativa de purificar com sais de alumínio a vacina da difteria em laboratório. Dessa forma, ao ser injetado em animal, observou-se uma resposta mais efetiva devido à existência desses sais, quando comparada a que não foi purificada com os mesmos. Concluiu-se, assim, que os sais de alumínio ajudaram de alguma forma, pois com os estudos posteriores, foi identificado que ele ativa os inflamassomas, os quais produzem citocinas inflamatórias e ocasionam um recrutamento de várias células do sistema imune. Acredita-se, também, que esses sais podem ajudar no processamento de antígenos e assim ser obtida a vantagem de usar menos antígenos na vacina economizando-a, como também podem ser usados em idosos para melhorar uma vacina que já existe, já que o sistema imune deles não funciona tão bem.

Terça-feira, 13 de outubro de 2020

Na aula de hoje, foi continuado o assunto sobre estratégias de vacinação e foram destacadas as vacinas mais recentes, as quais algumas delas já estão

licenciadas. Inicialmente, falou-se sobre as vacinas de VLP e, em seguida, foi abordado sobre a vacina contra o Papilomavírus Humano (HPV), que tem o objetivo de prevenir as lesões que causam o câncer cervical e algumas infecções por determinados tipos desse vírus. Assim, quando a proteína L1, expressa no capsídeo do vírus, é desenvolvida em cultura de células automaticamente se monta sem precisar do DNA e forma capsômeros e capsídeos, para dar origem a VLP e conseguir prevenir a infecção pelo HPV. Esse processo é feito por tecnologia recombinante. Atualmente, a vacina é administrada na população em três doses, por via intramuscular, em adolescentes e quanto mais novo o indivíduo, mais efetiva será a vacina. Também é possível a vacinação com duas doses, para facilitar a cobertura vacinal, visto que em duas doses já existe uma imunidade segura. Esse imunizante contém genótipos do câncer cervical e das verrugas genitais, porém, há, também, uma versão com 9 genótipos diferentes.

A vacina contra o vírus do ebola foi a primeira, aprovada em 2019, com uma nova tecnologia de vetor viral recombinante, a qual usa o vírus da estomatite vesicular recombinante, que causa doença em boi, e retira os genes importantes para o vírus se multiplicar. Dessa forma, atenua o vírus e coloca a glicoproteína do vírus Ebola Zaire. A partir disso, é gerado um vírus novo através dessa engenharia genética, chamado de rVSV-ZEBOV, que expressa em sua superfície a proteína do Ebola Zaire. O restante é constituído pelo vírus da estomatite vesicular que não causa doenças em humanos, já que foram retirados os genes importantes que o deixavam patogênico. Portanto, se mostrou bastante efetiva, já que produziu anticorpos neutralizantes contra o Ebola Zaire e foi fundamental para conter a epidemia de ebola na África. É licenciada nos EUA e na Europa, de modo que só é indicada quando indivíduos viajam para áreas endêmicas da doença.

Após essa explanação, foi apresentada uma tabela com todos os tipos de vacinas vistas até o momento, com suas vantagens e desvantagens. As vacinas vistas produzem anticorpos neutralizantes e resposta TCD4 com sucesso, mas apresentam geralmente dificuldade para produzir TCD8. Porém, a vacina atenuada é efetiva na produção de imunogenicidade, principalmente quando em dose única, todavia, precisa ser segura, não pode ser aplicada em imunodeficientes e pode acontecer recombinação, ou seja, gerar novo patógeno

com alta virulência. Além disso, as vacinas inativadas, também mencionadas, apontam uma resposta de anticorpo neutralizante muito forte, mas dependendo do adjuvante, é fraca na resposta de TCD8, entretanto, é segura se aplicada em várias doses. Já as vacinas de subunidade apresentam alta imunogenicidade e são subdivididas em vacinas proteicas ou de subunidade e Vacinas de VLP, no entanto, ambas necessitam de adjuvantes, mais de uma dose e podem ser aplicadas em imunodeficientes. Dessa forma, existe ainda a vacina com vetor viral recombinante, que é uma vacina diferenciada. Isso porque utiliza um vírus vetor com o gene de outro vírus e, assim, possui resultado de boa resposta imunológica em dose única.

Na segunda parte da aula, houve a abordagem de um vídeo sobre como é feito o processo de desenvolvimento das vacinas. Esse vídeo é iniciado na detecção do antígeno, e, posteriormente, vai para a plataforma vacinal, decide a via de administração para ir então para a fase dos testes. Primeiramente, os testes são realizados em culturas celulares, depois em animais e caso se mostrem seguros, as vacinas serão produzidas em escala industrial. Em vista disso, caso a doença não seja muito séria, a testagem pode iniciar-se em humanos com o desafio de infecção. Geralmente as vacinas são testadas em três fases, na fase um é realizado o ensaio clínico de segurança, a segunda fase verifica-se a dose, a imunogenicidade e o regime (qual tempo de intervalo entre as injeções) e, por fim, na terceira fase, ela é testada em milhares pessoas, verificando-se sua eficácia. Desse modo, espera-se que o paciente se infecte naturalmente pelo patógeno, com o objetivo de verificar se a pessoa desenvolveu imunogenicidade contra aquela doença. Com os avanços em biotecnologia, uma vacina pode ser produzida em um período de 12 a 18 meses.

As vacinas de ácido nucléico podem ser injetadas diretamente no DNA ou usar a vacina de RNA envolvida em nanopartículas de lipídio, o que a ajudará entrar na célula e oferecer mais estabilidade, pois estará protegida de enzimas de RNA. Dentro do corpo, esse RNA ou DNA vai estimular a célula a produzir antígeno proteico a partir dele e iniciará uma resposta imune. Esse imunizante é mais seguro do que as vacinas que contêm patógeno vivo e pode ser usado em pessoas que têm o sistema imune mais fraco. Há, ainda, a de vetor viral que insere

um segmento de material genético do patógeno no gene que codifica o vírus e, a partir desse processo, esse vírus será entregue no lugar certo. No momento em que ele entrar na célula, será produzido o antígeno desejado que, por consequência, disparará a resposta imune.

Quinta-feira, 15 de outubro de 2020

Na aula de hoje, o professor deu continuidade ao assunto pendente da aula passada. Assim, foi abordado sobre as plataformas utilizadas para o desenvolvimento de vacinas contra o Covid-19. Essas plataformas, por sua vez, usadas no desenvolvimento de vacinas para o Covid-19 já existiam, mas estão sofrendo adaptações e sendo ampliadas, antes de saber se as vacinas serão eficazes. Logo, o maior foco é na proteína espícula, a *Spike*, que é um trímero. Uma parte da molécula se chama S1, o domínio S2 é parte inferior, o qual interage com uma enzima na superfície da célula que faz as membranas se agarrarem e abre um orifício permitindo a entrada do vírus na célula. A parte que se liga ao receptor ACE2 localiza-se no domínio S1 e é chamada de domínio de ligação ao receptor (RBD).

Desse modo, as várias vacinas inativadas contra o SARS-CoV-2, em teste, até mesmo no Brasil, com plataformas que isolam o vírus, o fazem crescer em cultura, para depois inativa-lo e, em alguns casos, é utilizado detergente para expor mais proteínas virais. As vacinas inativadas também podem ser obtidas com vírus recombinantes, por exemplo, com o vírus da Doença de Newcastle (NDV) que expressa a proteína S. Geralmente, coloca-se adjuvantes nas vacinas inativadas que usam a proteína inteira e nas que também usam apenas uma parte, pois torna a resposta da vacina melhor.

Contudo, existem empresas de vacinas atualmente para o SARS-CoV-2 que já estão na fase III (para ver a eficácia), como a da Sinovac no Brasil, que inativa o vírus. A da Novavax, marca americana, está em fase III na Inglaterra, a qual essencialmente expressa proteína spike recombinante. Também há a vacina de RNA no estágio pré-clínico, nos EUA, que codifica a proteína *Spike* e envolve o mRNA em uma membrana lipídica, porém o gene foi modificado em laboratório para que ficasse na forma de pré-fusão. Desse modo, a BionTech, vacina alemã,

associou-se a *Pfizer* para desenvolver também uma vacina de mRNA, que já está sendo testada no Brasil. Logo, as vacinas de mRNA que expressam a proteína inteira têm uma resposta mais tolerável. Inclusive também gera resposta de anticorpo neutralizante nos testes analisados. Ainda existe a vacina com vetor viral recombinante não replicativo, que é a de Oxford, onde usa o adenovírus sem o gene de replicação e com um gene que ao entrar na célula produz a proteína *Spike*. Outras vacinas são a da CanSino, vacina chinesa, que usa um adenovírus humano tipo 5, porém pessoas idosas não têm uma resposta muito boa com ela. Estão em desenvolvimento também a vacina do Instituto Gamaleya, *AstraZeneca*, e a da Universidade de Oxford que utiliza adenovírus de chimpanzé. A da *Johnson & Johnson* que é a base de um adenovírus humano tem uma resposta bloqueada em pessoas que já apresentam memória imunológica para o vírus, ou seja, já tiveram a doença anteriormente. Em vista disso, também é válido citar as vacinas atenuadas que são um pouco mais complexas, pois tiram vários genes do SARS-CoV-2 para que ele fique incapacitado de causar a doença.

Portanto, todas as vacinas até então têm mostrado resposta de Th1 e precisam de duas doses ou até três para gerar resposta imune, mas não houve testes ainda. Contudo, vacinas de mRNA geram bastante atividade do sistema imune inato devido aos nucleosídeos virais. Estes são modificados para que as respostas inatas sejam seguras para o indivíduo que recebe a vacina. Elas estão em testes e apresentam segurança até o momento.

É fundamental destacar sobre as vacinas de ssRNA, que se autoamplificam, e já existe uma vacina dessa na fase clínica II, em Londres. Esse imunizante possui uma tecnologia boa, onde o RNA tem um gene que ao entrar na célula faz a enzima replicase produzir vários RNAs e, conseqüentemente, aumenta a dose da vacina dentro da célula, o que pode levar a uma resposta mais forte do que as vacinas de mRNA. Ainda existem as vacinas de DNA que possuem uma resposta mais fraca, já que é necessário entrar no núcleo da célula humana para poder trabalhar e nem sempre é possível injetar a vacina. Nesse caso, seria preciso fazer eletroporação para que as células humanas abrissem pequenos poros e permitissem a entrada do DNA. Já existem duas adenovirais licenciadas, uma russa e uma chinesa da CanSino, que está sendo aplicada no exército chinês.

Ainda existem vacinas por via mucosa, já que a infecção do SARs-CoV-2 é por essa via. As vacinas por via muscular possuem resposta imune diferente, pois caso a pessoa seja infectada naturalmente serão produzidos anticorpos IgA na mucosa, o que impede a entrada do vírus, já no pulmão tem secreção de anticorpo IgG que vem da circulação. Logo, a vacina por via parenteral consegue colocar anticorpos IgG dentro do pulmão e proteger mais esse órgão, porém não consegue uma proteção na parte do sistema respiratório superior, o que pode ocasionar a transmissão do vírus. Dessa forma, a melhor maneira de vacinação para esse vírus é a intranasal ou intramucosa, pois gera tanto proteção de IgA, na parte respiratória superior, como proteção na parte respiratória inferior e, assim, proporciona resposta TCD-8 nos pulmões.

Portanto, a aula foi finalizada com o início do conteúdo de fagoterapia, uma terapia com bacteriófagos e vírus que infectam exclusivamente bactérias. Essa terapia existe há muitos anos e está ressurgindo, onde o primeiro a perceber que poderia tratar doenças bacterianas foi Félix D'Hérelle, em 1919. Ele notou que se tratava de um organismo que matava bactérias específicas, mas, a partir dos anos 40, a antibioticoterapia pode ter causado a diminuição do uso da fagoterapia. Contudo, caso exista uma infecção que resista a antibióticos, é possível que se utilize a fagoterapia. É relevante destacar que os bacteriófagos foram de grande importância para o avanço da biologia molecular.

Terça-feira, 20 de outubro de 2020

A aula de hoje foi dirigida pela mestrandia Débora Priscila, com a seguinte temática, "Métodos de tratamento para infecções virais". De forma introdutória, foi falado sobre infecção viral, que invade a célula, se replica e causa desequilíbrio no organismo. Logo, a maioria das doenças é causada por vírus, as famosas viroses, devido aos inúmeros tipos existentes. Assim, as manifestações clínicas podem ser agudas ou crônicas e, ainda, dependem da virulência do patógeno e da suscetibilidade do indivíduo, que nesses casos mesmo o vírus sendo de baixa virulência pode causar infecção. Existem duas famílias de vírus que irão apresentar infecções específicas e bastante comuns, a do Adenovírus, responsáveis por causar infecções no trato respiratório superior, como por

exemplo, resfriado e conjuntivite, e a do Enterovírus, que causam infecções no trato gastrointestinal. É importante destacar que o tratamento das doenças causadas por vírus é feito através da sintomatologia da virose, pois é difícil um exame clínico identificar o tipo de vírus específico.

Outro método de tratamento é o uso dos antivirais, que são medicamentos específicos para cada infecção viral, porém não existe medicamento para todos os tipos de vírus. Os antivirais podem ser administrados antes e depois da infecção, contudo deve-se respeitar o período do tratamento para que ele tenha seu efeito. Eles são classificados de acordo com seu mecanismo de ação e o primeiro deles é o inibidor nucleosídico da transcriptase reversa, relacionado com vírus que tem a enzima transcriptase reversa. Ele vai se incorporar na fita de DNA do vírus e tornar a fita defeituosa para que a replicação viral seja impedida. Existe também o inibidor não nucleosídicos da transcriptase reversa, o qual se acopla ao DNA do vírus e faz a mesma ação do inibidor anterior, que é o bloqueio da infecção viral. A diferença entre os dois inibidores é que por o último ser não nucleosídico, ele terá apenas a base nitrogenada e a molécula de açúcar com adição da molécula de fosfato. Há também o inibidor da protease que possui o papel de impedir o evento pós - tradução. Normalmente depois da tradução, o mRNA codifica diferentes proteínas, mas com a presença da protease o processo de diferenciação das proteínas será inibido, de modo que o vírus não gere infecção viral no organismo. Além disso, os fármacos inibidores da DNA-polimerase têm o objetivo de impedir a síntese do DNA viral, que por consequência interrompe o alongamento da fita de DNA. Por outro lado, têm-se inibidores mais específicos, como os inibidores de fusão do HIV, que são responsáveis por intervir caso o vírus do HIV se ligue ou entre nos linfócitos TCD4, alvo do vírus do HIV. Ainda é possível observar os inibidores da liberação e desmontagem viral, os quais inibem a neuraminidase, ou seja, interrompem o processo de saída do vírus de uma célula para outra. Por fim, há os imunomoduladores que não são classificados como antivirais, mas são fármacos que fortalecem o sistema imunológico e produzem proteínas efetoras nas células expostas aos vírus, que são capazes de inibir a infecção viral e podem gerar um efeito antiproliferativo, mesmo não sendo antiviral específico.

Existe, ainda, outro tratamento, o coquetel, que é a combinação de vários medicamentos específicos para pessoas que são portadoras do vírus do HIV. É uma medicação bastante cara, mas é disponibilizada pelo SUS desde 1996. Tem como objetivo aumentar a expectativa de vida para que o indivíduo tenha uma melhor qualidade de vida. Portanto, o coquetel não cura e nem é indicado para todos os portadores do HIV, pois se o paciente estiver em estado avançado da doença não é recomendado devido o sistema imunológico encontrar-se comprometido e, como consequência, não haverá eficácia desses fármacos. Todavia, causam alguns efeitos colaterais, como náuseas, dor de cabeça, diarreia e lipodistrofia, uma distribuição irregular de tecido adiposo no corpo.

Como profilaxia pós-exposição (PEP), conhecido como coquetel HIV do dia seguinte, o qual é preciso ser tomado até 72h após relações sexuais inseguras, abuso sexual e acidentes com perfurocortantes contaminados com o vírus. Recomenda-se o uso o quanto antes após a exposição do risco, pois aumenta a eficácia. O tratamento dura por 28 dias e é administrado, em média, 1 a 2 vezes por dia, sendo necessário realizar o teste para saber se contraiu ou não o vírus do HIV. É importante analisar ainda que não se deve ter relações sexuais desprotegidas apenas porque terá o PEP disponível, pois é analisado cada situação e o mesmo também traz muitos efeitos colaterais. Portanto, é indispensável o uso de preservativo nas relações sexuais para prevenção de várias IST's.

Foram explanados, também, vários antivirais, tais como o Aciclovir, que é um inibidor da DNA-polimerase. Ele tem um mecanismo de ação para inibir a síntese de DNA viral através da inibição competitiva do desoxiGTP para a DNA polimerase viral. Isso ocorre com a ligação ao molde do DNA na forma de complexo irreversível, ou interrupção da cadeia, após incorporação do DNA viral. É um fármaco seletivo, pois acumula-se apenas nas células infectadas e possui efeitos secundários, como por exemplo, náuseas, dor no estômago e dor de cabeça. É utilizado em casos de Herpes simples I e II, Varicella zoster Epstein-Barr e Citomegalovírus. Outro fármaco é a Zidovudina ou AZT, que tem como objetivo inibir a transcriptase reversa pelo mecanismo de ação o qual se incorpora na cadeia do DNA e interrompe o seu crescimento. É usado no tratamento do HIV e

do *Pneumocystis jirovecii*. Também tem efeitos secundários como, constipação, confusão mental, diarreia e anemia.

A Neviparina consiste em um fármaco presente no coquetel do HIV e no PEP, que inibe a transcriptase reversa incorporando-se ao DNA viral e aumenta a produção de células CD4. Alguns efeitos secundários são cansaço, dor muscular e náuseas. Além desses, há a Kaletra (Lopinavir/ Ritonavir), que tem como mecanismo inibir a enzima protease para cessar com multiplicação do HIV. Ele acarreta vários efeitos secundários, como alterações no sangue, no sistema imunológico, infecções gastrointestinais e outros. Por fim, foi apresentado o Oseltamivir, que é um antiviral responsável por inibir a liberação e desmontagem viral através da inibição das neuraminidases, impedindo a saída do vírus de uma célula para outra. É utilizado no tratamento da Influenza A e B e foi o primeiro fármaco utilizado na pandemia da gripe suína. Ele é considerado uma pós droga, uma vez que ao entrar no organismo humano é biotransformado para de fato gerar o mecanismo de ação frente ao vírus. Apresenta efeitos colaterais como dor de cabeça, vômitos, dor abdominal e outros.

Na parte final da aula, foi abordado sobre o tratamento para o Covid-19, doença causada pelo SARS-Cov-2. Primeiramente, apresentou-se sobre o tratamento não farmacológico, que consiste em higienizar as mãos, usar máscaras, seguir o isolamento social. Sobre o tratamento não farmacológico, não foi destrinchada a parte do artigo citado, publicado em abril de 2020, que trazia todos os fármacos que estavam sendo aplicados e outros que estavam em teste. Isso porque, em 15 de outubro de 2020, foi publicado um novo artigo de pesquisa citando que Remdesivir, Hidroxicloroquina e Lopinavir-Ritonavir, Interferon- β são ineficazes durante a doença severa. Portanto, foi um estudo bastante robusto que nos mostrou o quanto as conclusões sobre o Covid-19 são transitórias, pois há muito que se descobrir ainda sobre as estratégias e mecanismos do vírus SARS-Cov-2.

Quinta-feira, 22 de outubro de 2020

Na aula de hoje, foi explanado o último assunto da disciplina com os seguintes temas: “Bacteriófagos e *Phage Therapy*” e “Vírus oncolíticos”.

Primeiramente, foi falado sobre os bacteriófagos, vírus que infectam bactérias, e são organismos que existem em maior quantidade no mundo, porém grande parte nunca foi identificada e estão sempre em lugares que possuem água. Eles apresentam tanto o ciclo de vida lítico como o lisogênico e um mesmo bacteriófago pode apresentar os dois ciclos. Assim, no ciclo de vida lítico, o bacteriófago adsorve à superfície bacteriana e injeta seu material genético, que sofre transcrição e gera nova partícula viral com sucessiva montagem dos bacteriófagos para depois lisar a bactéria, sair e infectar outra. Os bacteriófagos também apresentam suas especificidades para cada tipo de vírus, uma vez que só tem capacidade de infectar uma determinada cepa. Já no ciclo lisogênico, há a injeção do DNA ou RNA de forma que se integra ao DNA bacteriano ou se expressa na forma episomal, de modo que não se replica. Nesse processo, apesar de ser silencioso, se houver alterações na bactéria devido a fatores externos, como luz UV, o profago pode se ativar, sair da integração bacteriana, montar partículas e entrar no ciclo lítico.

Os bacteriófagos têm papel importante na história da evolução bacteriana, onde há 2 organismos, os vírus e as bactérias, evoluindo juntos. Os dois criam estratégias, de modo que a bactéria produz mecanismos para não ser infectada e o bacteriófago desenvolve estratégias para conseguir infectá-la e se replicar. Além disso, há um processo denominado transdução, que se divide em transdução generalizada e transdução especializada. A generalizada ocorre quando o bacteriófago está colocando o DNA para dentro do capsídeo, porém não é a forma mais adequada, uma vez que pode levar partes do DNA bacteriano dentro dele e, no momento que infectar uma nova célula, transferir esse DNA de forma que ocorra a recombinação e gere uma nova cepa bacteriana. Enquanto isso, a transdução especializada acontece com fagos que estão integrados dentro do DNA cromossomal bacteriano e quando saem pode levar nos flancos uma pequena parte do DNA bacteriano no seu material genético. No momento que ataca uma nova bactéria, ele integra esse profago no DNA bacteriano juntamente com o pedaço do DNA bacteriano da bactéria anterior, o que pode gerar novas cepas bacterianas. Também há a correção lisogênica, como por exemplo, a cólera, que é uma infecção pela bactéria *Vibrio cholerae* responsável por produzir uma

toxina potente que derivada de um bacteriófago, já que esse ao infectar a bactéria faz com que ela produza a toxina.

É fundamental entender mais sobre a história dos bacteriófagos, que começou no século 20, em 1915, com Frederick Twort e, posteriormente, Félix D'Herelle, em 1917. Naquela época, Félix D'Herelle dava mais ênfase aos bacteriófagos na medicina, pois percebeu que poderia se aplicar a humanos e começou a testar nas pessoas topicamente ou oralmente para tratar infecções como diarreias e infecções na pele. Contudo, sabia como isolar e produzir os bacteriófagos em placas de petri ou em líquidos procurando-os em esgotos e rios. Em seguida, em 1940, os primeiros antibióticos começaram a surgir e notou-se que as pessoas melhoravam rapidamente, de modo que começaram a aumentar a demanda.

Além disso, em maio deste ano, foi publicado que o Brasil teve participação importante no início da fagoterapia. Essa informação estava escondida em um artigo, até que pesquisadores da Finlândia descobriram dentro da biblioteca da Fiocruz. No momento que Félix D'Hérelle começou a usar os primeiros experimentos, em 1919, depois de aproximadamente dois anos, o Brasil estava utilizando fagos contra infecções de pele por estafilococos contra a disenteria bacteriana. O pesquisador José da Costa Cruz trabalhava no Instituto Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro, e foi essencial para desenvolver o uso de bacteriófagos na fagoterapia. Ele soube da existência dos fagos, começou a trabalhar com isso e os utilizou como tratamento. Nesse artigo também é apresentado que se realizou o primeiro ensaio clínico de grande quantidade de pessoas, no Brasil, que ocorreu antes do ensaio clínico do Félix D'Hérelle. Logo, durante a Revolução Paulista de 1924, o uso dos bacteriófagos foi disseminado em massa. Depois do desenvolvimento dos antibióticos, a partir da década de 40, a fagoterapia foi sendo deixada de lado, mas nos dias atuais está sendo resgatada devido aos grandes índices de resistência aos antibióticos, porque as bactérias estão evoluindo e a indústria farmacêutica não está conseguindo acompanhar e desenvolver antibióticos mais eficazes.

Depois dessas explicações, o professor passou um vídeo do CDC sobre gonorreia, o qual mostra a doença como um grande problema de saúde pública,

onde ocorrem mais de 800.000 novas infecções a cada ano nos EUA. Muitas pessoas não apresentam sintomas e a doença só é detectada aproximadamente em metade das pessoas que são infectadas. Assim, caso não seja tratada, traz grandes riscos à saúde, como aumenta as chances de contrair HIV, as mulheres podem ter a gravidez ectópica e os homens podem gerar a infertilidade. É importante ressaltar que a medicação para tratar a gonorreia já existe há muito tempo, mas a bactéria começou a se tornar resistente. Inicialmente, a tetraciclina e a penicilina não eram mais tão recomendadas e, nos anos 90, começou o uso de fluoroquinolonas, que possui a ciprofloxacina. Porém, nos anos 2000, essa droga não era mais recomendada na Ásia nem nas Ilhas do Pacífico, pois a bactéria já estava resistente. Em 2007, a resistência já se encontrava espalhada mundialmente e, portanto, não se usavam mais tratamentos com fluoroquinolonas, de modo que apenas as cefalosporinas estavam sendo utilizada em conjunto com a cefoxitina, uma droga oral, e com a ceftriaxona, uma droga injetável. A partir disso, o CDC começou a tomar medidas adicionais para conter a resistência, ofertando duas drogas, uma dessas citadas com outro antibiótico como a azitromicina. Em 2012, a cefoxitina não era mais eficaz, o que foi ficando cada vez mais difícil tratar. Por fim, o vídeo mostrou que em 2018 o tratamento estava sendo feito apenas administrando ceftriaxona e uma dose oral de azitromicina juntas. Contudo, a gonorreia está evoluindo para uma patologia incurável e sem a opção de agente antibacteriano disponível. Todavia, está se tentando aumentar a profilaxia para evitar infecção pela doença, pois com a elevação de casos de gonorreia aumenta-se a possibilidade do surgimento de bactérias resistentes.

Diante do exposto, torna-se necessário explicar ainda que outra medida para tratar a gonorreia poderia ser o uso da fagoterapia, visto que pode possuir um custo baixo. A estratégia seria utilizar bacteriófagos líticos, pois ele destruirá uma cepa específica, ou seja, apenas os patógenos, diferentemente dos antibióticos que podem destruir a microbiota por completo fato que não é necessário, uma vez que a microbiota faz bem para os humanos. Outra opção no mercado é o uso de enzimas produzidas por bacteriófagos, chamada *listex* e a *Listeria monocytogenes*, uma bactéria que contamina produtos lácteos e pode

produzir infecções em humanos. Pode-se usar também bacteriófagos ou enzimas produzidas por eles que consigam dispersar biofilmes bacterianos. Salientou-se ainda que um lugar propício para achar e isolar bacteriófagos capazes de tratar bactérias resistentes seria em água de esgotos hospitalares ou água poluída, como os rios.

É importante citar sobre um caso clínico famoso de tratamento que foi apresentado pelo professor, em 2019, o qual foi encontrado um bacteriófago modificado geneticamente para tratar uma doença. Foi em um paciente inglês com fibrose cística que se encontrava com os pulmões afetados pela doença, cuja capacidade pulmonar possuía de 20 a 30%. A fibrose cística é a terceira razão de transplantes pulmonares no mundo, assim o paciente precisava de um devido a sua capacidade pulmonar diminuída. Porém, a maioria dos pacientes acometidos por essa patologia tem infecções por longo tempo e esse paciente tinha infecções há 8 anos de micobactérias não tuberculosas, que causam infecção crônica nos casos de fibrose cística e são super resistentes à medicação. A partir disso, ele fez uso de uma variedade de medicamentos que no final não teve efeito. Assim, foi submetido a transplante, o qual não teve complicações e, posteriormente, administraram-se fármacos para prevenir infecção. Porém, o organismo não conseguiu trabalhar com elevada quantidade de antibióticos ao mesmo tempo, o que acarretou falha renal. A partir disso, foram desenvolvidas várias infecções, uma vez que foi retirada a antibioticoterapia. Depois de vários meses internado, voltou para casa e começou a apresentar vários nódulos na cicatriz e ao realizar o exame de imagem, diagnosticou-se *Mycobacterium abscessus*. Devido a esse tratamento falho, foi decidido iniciar a terapia com fagos com bacteriófagos específicos para as micobactérias que o estavam infectando. A partir disso, uma coleção de 10000 bacteriófagos foi analisada e, como resultado, três tipos deles poderiam infectar as micobactérias, mas, dois desses ao entrar na bactéria não faziam ciclo lítico. Posteriormente, foram utilizadas técnicas de biologia molecular e retirado os genes que reprimiam o bacteriófago e ele foi capaz de lisar. Esse processo produziu um coquetel com os 3 bacteriófagos que foram administrados intravenosamente de 12 em 12 horas, durante 8 meses. Como resultado, a maioria das áreas de infecção desapareceu e a função renal foi restabelecida e,

apenas com 6 meses de tratamento, foram achadas poucas bactérias na pele, ainda assim o tratamento foi considerado de sucesso.

Por fim, foi falado sobre vírus oncolíticos, que são vírus que lisam células tumorais. Dessa forma, esses vírus têm uma preferência por infectar células tumorais ou, também, podem ser realizadas modificações em laboratório para o vírus infectar essas células. É importante que eles possuam uma replicação seletiva, se multipliquem apenas em células tumorais, e não atinjam células normais. Esses patógenos apresentam o mecanismo de romper a célula e, ao acontecer isso, são liberados os DAMP's e PAMP's, elementos que servem como sinais para imunidade inata ser ativada. Inicialmente, são ativadas as células dendríticas que reconhecem os dumps e pumps, as quais migram para os linfonodos próximos do tumor, com a finalidade de ativar células TCD8, que possuem a principal defesa contra tumores. Os vírus posteriormente também lisam o tumor, já que as células tumorais estão bem protegidas do sistema imune, na medida em que não expõem seus antígenos. No momento que acontece a lise das células, os antígenos se manifestam e o sistema imune é alertado para começar a combater os patógenos. Essa terapia é usada concomitantemente com outros métodos utilizados atualmente, ela preocupa-se também em retirar os genes do vírus que causam patogenicidade deixando apenas os que reconhecem antígenos de células tumorais para que possam destruir apenas elas.

Por fim, esse módulo da disciplina foi bem diversificado, com vários temas ligados à imunologia. Obtive bastante conhecimento a respeito das temáticas abordadas, apesar da dificuldade em compreender as especificidades dos mecanismos e processos explanados. Portanto, escrever esse segundo módulo foi um desafio, pois senti a necessidade de ter um conhecimento prévio dos assuntos. Assim, demandou-se mais de revisões dos assuntos para que eu pudesse externar o conteúdo de cada aula nesse diário. Espero ter tido uma boa troca com os professores, onde agradeço também pela ajuda e suporte oferecido ao longo da disciplina. Além disso, tive a oportunidade de ficar integrada com assuntos e materiais atuais, que contribuíram para construção de um conhecimento científico, o qual despertou em mim desejos por projetos da área. Destaco também que a cadeira de virologia me proporcionou entender que esse universo

amplo de vírus, doenças, tratamentos estão em constante mudança e, com a evolução das pesquisas, medidas melhores começam a ser implantadas, uma vez que sem pesquisas não há conhecimento nem evolução em estudos de doenças e tratamentos.

Referências

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

FIELDS, B. N.; HOWLEY, P. M. **Fundamental Virology**. 4.ed. New York: Lippincott Raven & Willkins Press, 2001. 3063p.

FLINT, S. J. *et al.* **Principles of virology**: molecular biology, pathogenesis, and control. Washington: ASM Press, 2009. 2 v.

FLORES, E. F. (org.). **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2007.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14.ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

RACANIELLO, V.; TULLER, D.; REY, G. U. **Virology blog**: about viruses and viral disease. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: <http://www.virology.ws/>. Acesso em: 21 set. 2020.

Diário das descobertas de uma estudante acerca do mundo chamado Virologia

Gabrielly Sthefany Alves da Silva

Diário I

De onde vieram os vírus? Foi com essa pergunta, pouco fora do padrão, que a disciplina de Virologia do semestre remoto 2020.3, ministrada pela Profa. Dra. Ana Lisa e Prof. Dr. Cândido Ferraz iniciou-se.

A princípio, foi mostrado que a ótica sob a qual muitas vezes os vírus foram e são observados se apresenta errônea em alguns aspectos. Pode-se citar a ideia de que eles se encontram apenas em ambientes insalubres ou outros semelhantes a estes, e que são os responsáveis pelos mais variados males que acometem a sociedade ao longo dos séculos. Essas hipóteses estão difundidas nos meios sociais e foram desconstruídas aos poucos através das afirmações, como por exemplo, “vivemos em uma nuvem de vírus” e “ao invadir e destruir o meio ambiente, o ser humano expõe a própria espécie a inúmeras doenças”. Acredita-se que os seres humanos são os principais causadores dos males que os acometem e a COVID-19 é só mais uma prova da imprudência humana, como disse Leonardo Boff, o coronavírus é “*uma retaliação de Gaia pelos insultos que infligimos a ela*”, sendo Gaia o planeta terra.

A partir dessas reflexões, é possível adentrar no que seria de fato os vírus. Sabe-se então que estes não possuíam, cientificamente, uma conectividade com os domínios *Archaea*, *Bacteria* e *Eukarya*, de onde se desenvolveram os seres que hoje são conhecidos. Apesar disso, há hipóteses defendidas que os vírus interagem com todos esses domínios, os quais podem ter auxiliado na diferenciação do *Archaea* e *Eukarya*. Mesmo que nossos ancestrais não tenham sido os mesmos, foi extremamente instigante descobrir que a microbiota humana, termo coletivo para os microrganismos que vivem no corpo humano, é composta por uma coleção de bactérias, fungos e outros organismos unicelulares, pois, até então, acreditava-se ser composta apenas por bactérias e fungos. No entanto,

também possui os vírus como parte de sua constituição, os quais são tidos como o “ecossistema humano”. Eles compõem a maior parte da microbiota existente e chegam a superar de 10 para 1 as bactérias, em questões numéricas na maioria dos ecossistemas. A microbiota em seu estado normal proporciona uma barreira que impede a proliferação de microrganismos patogênicos, ativa e modula a resposta imunológica, reduz o pH intestinal, controla o armazenamento de gorduras, metaboliza compostos, como ácidos biliares, e fermenta resíduos de alimentos que o corpo humano é incapaz de digerir. Através dessa perspectiva, é comum afirmar que os vírus são “aqueles que nos deixam doentes”, todavia, é uma afirmativa com milhares de incógnitas a serem desvendadas. É importante salientar que pesquisadores como Pérez-Brocal e outros estão começando a entender que os vírus, muitas vezes vistos como os responsáveis pelas mais variadas enfermidades, de alguma forma, contribuem para a saúde do indivíduo. Devido a isso, estudos sobre o papel da Virologia Moderna e do Viroma (conjunto de vírus que compõem a microbiota) estão sendo desenvolvidos, já que muitos pesquisadores postulam que eles seriam uma espécie de termômetro para a saúde do sistema imune.

Além destes fatos, argumentos e indagações iniciais, foi possível viajar ao longo da história que buscou de diversas maneiras descrever o que eram essas pequenas partículas infecciosas. A partir de então, foi mostrado em aula uma série de pessoas que dedicaram a sua vida a procurar explicar o que seriam essas estruturas, como Leeuwenhoeck (1822-1895), que desenvolveu o primeiro microscópio, aparelho capaz de observar pequenas estruturas não vistas a olho nu. Já Koch (1843-1910) deu início a identificação dos microrganismos e buscou saber que estruturas eles apresentavam. Beijerinck (1898) declarou que os vírus se tratavam de venenos fluidos que não eram filtráveis, além das primeiras classificações de diversos vírus. Após anos tentando propor uma definição do que seriam os vírus, chegou-se à definição postulada por Vincent R. Racaniello, professor de Microbiologia e Imunologia da Columbia University College of Physicians and Surgeons. Ele afirma que os vírus são estruturas infecciosas, parasitas intracelulares obrigatórios, com material genético (DNA ou RNA) compreendido por uma cápsula protéica, a qual em alguns tipos de vírus pode ser

envolvida por uma membrana lipoproteica, chamada de envelope. Um dos materiais trazidos pela professora Ana mostrou que os vírus são considerados parasitas intracelulares obrigatórios devido à sua incapacidade na produção da energia necessária para a síntese de suas proteínas.

Foi fascinante como a aula do dia 01.09.2020 abriu novos horizontes e perspectivas, pois saber que os vírus mesmo sendo estruturas com um material genético pequeno são altamente mutáveis e que alguns são capazes de imortalizar células através da indução de sua replicação contínua. Foi possível também reaprender que os vírus são compostos por um capsídeo, ácido nucleico e envelope, em alguns tipos virais. O capsídeo é a proteína que envolve o material genético viral e esse conjunto recebe o nome de *nucleocapsídeo*. O capsídeo é responsável pela forma icosaédrica, helicoidal ou complexa do vírus, pelo reconhecimento e pela interação com as células ao seu redor, além de proteção e rigidez. Os vírus que não possuem o envelope, considerados mais simples, são auxiliados pelo capsídeo nas suas interações iniciais com as células que vai infectar, o qual serve como alvo para anticorpos com característica neutralizante do sistema imune, como também auxilia na produção das partículas semelhantes a vírus (VLPs), que seria apenas o capsídeo sem a presença do ácido nucleico viral. Os VLPs de uma forma mais robusta são partículas de multi-proteínas que imitam a organização estrutural e a conformação de vírus. A arquitetura repetitiva e molecularmente definida tem-se mostrado atraente para a multivalência da engenharia, notada para vacinas, que permitem exibição superficial quanto o encapsulamento da carga útil, o que proporciona versatilidade (BRUNE; LENEGHAN; BRIAN, 2016).

Os vírus possuem outras estruturas, como por exemplo, o envelope, que seria um arranjo de duas camadas lipídicas (bicamada) formadas através das membranas das células que o vírus infectou. O envelope possui uma porção externa e outra interna. Na parte externa, essa proteína permite que o vírus se fixe às células adjacentes, além de representar um centro antigênico frente a células do sistema imune. A porção interna promove a conformação da estrutura viral e formação de novas partículas. “E por qual motivo, com todas essas funções apresentadas, alguns vírus não possuem essa cobertura bilipídica?” Bom, sabe-se

que o envelope vai possuir as características das células que o vírus infectou, o que vai depender da área que ele se encontra, seja na cavidade nasal, nos pulmões ou demais partes corporais. O envelope terá conformações semelhantes a essas células e isso lhe propicia uma espécie de disfarce frente ao sistema imunológico do indivíduo, o que lhe confere maior capacidade de sobrevivência. No entanto, o envelope deixa o vírus mais vulnerável, pois permite que ele seja destruído mais facilmente, uma vez que não haverá uma cobertura protéica (as proteínas são estruturas altamente difíceis de serem desnaturadas facilmente) e sim lipídica. Esse fato explicaria por que nem todas as estruturas virais o possuem.

O ácido nucleico, DNA ou RNA viral, coexiste apenas no momento da replicação viral. O material genético viral é responsável por codificar apenas as proteínas essenciais para assegurar a replicação e transmissão viral. Essa codificação das proteínas se dá de duas formas, a primeira seria a das proteínas estruturais do vírus, aquelas provenientes do capsídeo. A segunda refere-se às proteínas não estruturais, responsáveis por assegurar a replicação do genoma ou subverter funções celulares. As proteínas não estruturais se responsabilizam para que a partícula viral leve as informações necessárias para a célula a ser infectada, isso ocorre por meio de uma espécie de mochila viral, a qual é um alvo potencial de medicamentos, como por exemplo, os retrovirais. Estas proteínas vão assumir o papel de compilar essas informações e codificar as proteínas necessárias para o vírus fazer a sua replicação. Além disso, o material genético viral pode se exibir de variadas formas, como fita simples, dupla, circular ou linear. Ademais, apresenta dois tipos de polaridade, uma positiva, que seria em sentido 5'- 3' (igual a nossa humana) e outra negativa, em direção 3'- 5'. A polaridade negativa mostra a necessidade da "mochila viral", responsável por fazer com que a célula a ser infectada leia as informações necessárias para a replicação, já que ela só consegue ler o sentido 5'- 3'.

Na aula de hoje (08.09.2020), foi possível percorrer as fases de replicação dos vírus, os quais mesmo sendo semelhantes em muitos pontos, fazem essa etapa algumas vezes diferente dos demais. O processo se inicia a partir do momento em que o patógeno encontra uma célula para infectar. Importante salientar que a célula tem que ser suscetível, ou seja, ter um receptor que sirva de entrada para

esse vírus em seu interior, além de ser permissiva, para proporcionar que o vírus se replique em seu interior, a partir disso que o vírus poderá iniciar a sua replicação.

A replicação viral é iniciada com a **Adsorção**, quando o vírus se fixa na membrana da célula por meio de um reconhecimento de seus receptores com os da mesma. Um bom exemplo seria o SARS-CoV-2 que faz esse processo através da Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ACE2). O próximo passo seria a **Penetração**, que consiste na entrada do vírus na célula, seja por endocitose, fusão ou de forma direta, nesse segmento cada vírus se porta de forma diferente. Em sequência temos o **Desnudamento**, representado pela perda do envelope (se assim o vírus possuir), perda do capsídeo e assim, liberação do material genético, seja ele DNA ou RNA. A etapa seguinte se dá pela **Replicação**, a qual seria justamente a multiplicação do material genético do vírus por meio do maquinário da célula infectada, etapa que a depender do tipo de vírus pode ocorrer no núcleo da célula ou no seu citoplasma. A partir de então, o processo de **Montagem** se inicia, onde os vírus a serem envelopados adquirem o envelope através da membrana celular, e os não envelopados ficam prontos no citoplasma. E uma vez estando prontos, os vírus vivenciam o seguinte processo, que seria a sua **Liberação** da célula hospedeira, sendo por meio de exocitose, brotamento ou lise celular. Nessa última etapa, é importante trazer dois conceitos muito importantes, que seriam o de Ciclo Lítico e Lisogênico, o primeiro seria a saída do vírus do interior da célula, com ele lesionando a mesma. Já o segundo, que também envolve a saída do vírus, no entanto, sem lesionar a célula.

O efeito citopático é o resultado que os vírus deixam no interior das células, é de suma importância para saber se o vírus esteve presente nessa célula, mas nem todos os vírus irão possuí-lo. Esse efeito, embora provocado por um mesmo vírus, se dá de maneira diferente de acordo com as células a serem infectadas. Outro mecanismo curioso induzido pelos vírus seria a formação de sincícios, que consiste na junção das células infectadas em uma tentativa de se defender da invasão estabelecida, apresentando tamanho bem maior que o normal e vários núcleos em seu interior. Mesmo sendo um mecanismo de defesa celular, o verdadeiro beneficiado desse processo são os próprios vírus, pois a

partir do momento em que a célula aumenta o seu volume, a partícula viral produz uma quantidade maior de novos vírus. Além disso, o metabolismo que ele está utilizando fornece mais elementos que propiciam essa replicação. Além de que, ele pode ficar camuflado por mais tempo no organismo, já que tem um “esconderijo” maior, um exemplo de vírus que realiza esse mecanismo é o SARS-CoV-2.

Na aula do dia 10.09.20, a professora começou nos provocando com a pergunta “A febre seria algo benéfico ou não ao nosso corpo?” Confesso que muito antes eu acreditava que ela fosse algo terrivelmente ruim, mas hoje pude mais uma vez reafirmar o conceito de que minha visão de antes estava errada. A febre é sim um importante mecanismo de defesa do nosso organismo contra invasores estranhos, a qual nos possibilita saber se algo de anormal está nos acometendo.

Foi possível adentrar no universo dos Vírus Emergentes e Reemergentes, na aula do dia 15.09.20, e assim descobrir um pouco mais sobre eles e até sobre os seres humanos em muitos pontos, foi deslumbrante. A aula foi iniciada comentando-se sobre a epidemiologia, que com diversos termos tenta explicar as mais variadas situações que acontecem ao longo dos anos e décadas. O primeiro deles foi se tratando sobre a inflamação aguda, que seria uma resposta rápida e drástica frente a um novo patógeno, já que a população a ser infectada não possui nenhuma memória imunológica contra o mesmo. Em contraste, foi visto também a Inflamação Crônica, que consiste em uma resposta de longa duração frente a um patógeno bem adaptado. A incidência, termo que designa novos casos em uma população, e a prevalência que seria casos novos, juntamente com os existentes. É possível destacar outros termos utilizados atualmente, como endemia, caracterizada por ser constante em uma população, portando-se de maneira persistente e com baixa incidência; epidemia que indica o alto número de infectados em uma população por um determinado patógeno; e a tão conhecida pandemia, que consiste em uma epidemia amplamente distribuída mundialmente. Algumas nomenclaturas também foram citadas, dentre elas, mortalidade, que indica a incidência de mortes na população; morbidade, caracterizada pela incidência de doenças na população; surto, que se refere ao alto número de

infectados em uma determinada população; infecções subclínicas, caracterizada pelos casos assintomáticos e sintomáticos brandos; e a virulência, que é a medida da capacidade relativa de um patógeno em causar doenças. Um termo bastante importante é a imunidade de rebanho, a qual consiste em muitas pessoas serem infectadas por um determinado agente patogênico, o que cria uma barreira imunológica humana. Conseqüentemente, haverá uma menor circulação viral, e assim menos pessoas infectadas, no entanto, é importante levar em consideração que essa imunidade vai depender da virulência do patógeno em circulação.

Quando se conhece mais sobre os vírus, é possível entender como se faz a sua progressão no organismo humano. Essa progressão consiste nas seguintes etapas, como **Infecção**, período que compreende o primeiro contato entre patógeno/hospedeiro; **Incubação**, momento que se encontra entre a infecção e o aparecimento de sintomas, o que vale ressaltar que esse período se apresenta de forma heterogênea para cada vírus; **Agudo**, aquele em que os sinais e sintomas característicos de cada infecção são evidentes; **Declínio**, período em que o indivíduo começa a reduzir os sinais e sintomas presentes. Por último, **Convalescença**, aqui a saúde do indivíduo já está estabelecida. Esses estágios são de suma importância para a promoção de intervenções terapêuticas adequadas.

Os mecanismos de transmissão de doenças infecciosas se fazem por três processos: **Escape do Hospedeiro**, após os agentes patogênicos encontrarem um local para crescer e se multiplicar, eles precisam encontrar uma porta de saída se forem entrar em outro hospedeiro e causar doença; **Migração**, processo que compreende a circulação desse agente infeccioso; **Entrada**, o acesso a um novo hospedeiro, ou seja, quando o patógeno encontra um novo organismo suscetível a sua infiltração. Essa transmissão pode ser de maneira direta, que ocorre quando um hospedeiro infectado transmite a doença diretamente a um hospedeiro sensível sem o auxílio de um hospedeiro intermediário ou de um objeto inanimado (Ex., gripe, HIV, Aids, Sífilis). E de maneira indireta, por agentes vivos (vetores, como insetos) quanto inanimados (fômites, como instrumentos cirúrgicos). Uma vez estabelecida a infecção, o seu controle e erradicação se mostram das mais variadas formas, tendo como exemplos, imunização (vacinas), isolamento (separação de pessoas que têm uma doença infecciosa daquelas que estão

saudáveis). Ou ainda, através da quarentena (separação e restrição de pessoas saudáveis a fim de evitar que estas pessoas desenvolvam a doença), vigilância (refere-se à observação, reconhecimento e relato de doenças, à medida que ocorrem).

Os vírus emergentes são aqueles que apresentam uma incidência aumentada recentemente ou tendência a aumentar no futuro, enquanto os vírus reemergentes são aqueles que anteriormente estavam sob controle, mas surgem como uma nova epidemia. Como exemplos, foram citadas as epidemias da Dengue (2002-2008-2010-2011), Zika (2015-2016) e Febre Amarela (1998-2003). Os vírus pandêmicos também foram abordados, entre eles a Gripe Espanhola (1918-1919), HIV/AIDS (1981), Ebola (2013-2016), Gripe Suína (2009) e o SARS-CoV-2 (2020).

O que falar da aula de hoje (17.09.20)? Acho que a palavra “extasiamento” ficaria fora de contexto para o que realmente quero expressar, creio que “descobertas” se encaixam melhor. Abordou-se, nesse dia, mais sobre o mecanismo de transmissão viral, que se dá de duas formas, **horizontal**, através do contato direto, que ocorre quando um hospedeiro infectado transmite a doença diretamente a um hospedeiro sensível, por meio dos veículos, objetos em geral, onde o patógeno presente não sofrerá alteração em sua estrutura e mediante vetores, onde a transmissão se faz por meio de animais, como insetos, mamíferos, dentre outros. Nessa transmissão o agente patogênico modifica a sua estrutura no interior do seu vetor, para assim poder se tornar infeccioso. **A transmissão vertical** se faz de forma materno-fetal e muitas vezes ainda em ambiente intrauterino, exemplos deste tipo de transmissão são a Rubéola e Zika.

Nesta aula, foi possível se aprofundar nos vírus de DNA e RNA. Segundo o livro *Virologia Veterinária*, “os vírus que possuem DNA realizam a sua replicação pela ação orquestrada da maquinaria da célula hospedeira associada com fatores codificados pelo vírus. O objetivo fundamental da replicação viral é produzir progênie viável e abundante, que assegure a propagação do vírus e a consequente transmissão a novos hospedeiros. A produção de progênie depende da síntese de milhares de cópias do genoma viral e das proteínas componentes do *vírion* associado com a montagem correta e liberação eficiente das partículas víricas.

Esse processo envolve uma série de etapas reguladas temporal e espacialmente que incluem a expressão de genes virais e a indução e/ou repressão de alguns genes do hospedeiro. Muitas vezes, a replicação viral está associada com alteração da fisiologia celular, o que pode determinar diferentes graus de patologia e até a morte da célula hospedeira.

O **HPV** (Papiloma Vírus Humano), vírus da família *Papillomaviridae*, sem envelope, com dsDNA circular. Segundo o Ministério da Saúde, esse patógeno infecta pele ou mucosas (oral, genital ou anal), pois são os locais que possuem as células mais propensas a esse tipo de agente viral. A **Hepatite b**, vírus da família *Hepadnaviridae*, constituído por dsDNA circular, envelopado, tem sua transmissão feita por contato direto com fluidos corporais. O **Citomegalovírus**, vírus de ssDNA circular, envelopado, icosaédrico, pertencente à família *Herpesviridae*, grande grupo dos herpes vírus, sua transmissão se dá de forma horizontal e vertical, onde o mesmo possui uma latência prolongada. O **Poxviridae**, vírus de dsDNA linear, icosaédrico, envelopado, faz sua replicação totalmente no citoplasma, sendo um dos maiores conhecidos.

Os vírus de DNA utilizam a maquinaria da célula hospedeira e, em destaque, os genes do próprio hospedeiro, seja reprimindo-os ou induzindo-os para a sua própria replicação viral. Fica o questionamento “por que não intervir diretamente neste gene envolvido?” Bom, esse é o principal papel das medicações antivirais, que visam combater a replicação viral, mas o problema é que muitos vírus conseguem escapar da ação dessas drogas, o que desencadeia o quadro infeccioso.

Hoje, no dia 22.09.20, tivemos a nossa penúltima aula, a qual aprendemos sobre os vírus de RNA. O livro de *Virologia Veterinária* mostrou que os vírus são os únicos organismos que possuem RNA como genoma. Devido a isto, precisam se adaptar a certas condições impostas pelas células hospedeiras para poder se multiplicarem, uma vez que estas só conseguem ler o material genético se ele for de DNA, ou seja, semelhante ao seu. Por essa razão, esses vírus necessitam de um complexo enzimático no momento de sua transcrição, o qual é geralmente chamado de transcriptase, já o complexo responsável pela replicação é denominado replicase. Um subgrupo bastante peculiar desse grupo são os

Retrovírus, que apresentam uma estratégia de replicação única diferente dos demais vírus RNA, pois possuem genoma RNA com sentido positivo, mas que não é traduzido diretamente. A replicação do genoma ocorre pela produção de uma molécula de DNA complementar (provírus) que é integrada aos cromossomos celulares. A transcrição deste provírus pela RNA polimerase II celular (RNAPol II) resulta na produção do RNA para ser incluído como genoma nas partículas víricas. Os exemplos vistos em aulas foram os seguintes vírus:

Orthomyxoviridae: caracterizado como sendo do grupo dos vírus influenza, com -ssRNA, envelopado e de formato helicoidal. O envelope de lipoproteína do vírion contém duas proteínas não estruturais, designadas como hemaglutinina e neuraminidase. O *Orthomyxoviridae* contém quatro gêneros: *Influenzavirus A*, *Influenzavirus B*, *Influenzavirus C* e *Thogotovirus*. Os vírus da gripe são conhecidos por periodicamente dar origem a surtos de pandemia em humanos, onde os diferentes subtipos e cepas desse vírus são distinguidos pelos antígenos de hemaglutinina e neuraminidase que possuem. Esses antígenos também determinam suas propriedades infecciosas em humanos e outros animais, possuem um alto grau de mutação e conseguem mudar de hospedeiro. Isso faz com que a vacina contra a influenza seja desenvolvida ano após ano, já que ela é direcionada para bloquear essas suas proteínas não estruturais.

Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV): pertencente à família *Retroviridae*, vírus com +ssRNA, envelopado e com capsídeo em formato icosaédrico. É o vírus que desencadeia a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Porém, possuir HIV é diferente de ter a doença Aids, pois há muitos infectados que vivem anos sem manifestar os sintomas e sem desenvolver a doença. É importante destacar que mesmo que a Aids não se manifeste, ainda sim, os indivíduos que a possuem são transmissores do vírus a outras pessoas pelas relações sexuais desprotegidas, pelo compartilhamento de seringas contaminadas ou de mãe para filho durante a gravidez e a amamentação, quando não tomam as devidas medidas de prevenção.

Lyssavirus: com -ssRNA, é um vírus pertencente à família *Rhabdoviridae*, envelopado e em formato helicoidal. Segundo o artigo *Rabies* (FOOKS *et al.*, 2017), publicado na revista *Nature*, no ano de 2017, o *Lyssavirus* é bastante

conhecido por desencadear a raiva, uma doença zoonótica, que é facilmente transmitida pela mordida de mamíferos infectados, sendo os cachorros os responsáveis por mais de 99% dos casos notificados. Porém, ainda hoje, esse vírus é endêmico em animais de muitos países, onde a raiva continua sendo uma das enfermidades mais graves e angustiantes. O vírus da raiva entra nos nervos periféricos ao nível da sinapse no local da mordida e é transportado para neurônios no sistema nervoso central (SNC), onde se replica e causa danos cerebrais. A raiva pode se manifestar em duas formas clássicas (furiosas e paralíticas) com uma série de sintomas, mas acaba levando ao coma e à morte. Por ainda se fazer presente em algumas regiões do planeta, a raiva é muitas vezes considerada uma doença de pobreza, ignorância e, em algumas circunstâncias, desinformação.

Ebola: é um vírus de -ssRNA, com 5 subtipos mais conhecidos, sendo eles o Zaire Ebolavirus, Sudão Ebolavirus, Tai Forest Ebolavirus, Bundibugyo Ebolavirus, Reston Ebolavirus. É transmitido por contato direto, tipicamente não aerossol, humano-humano ou contato com tecidos infectados, fluidos corporais ou fômites contaminados. É uma doença grave e frequentemente letal, já que inibe a indução de mecanismos intrínsecos, mecanismos de defesa antivirais baseados em células através de proteínas que são expressas constitutivamente e visam vírus específicos. Todavia, inibem também os inatos, mecanismos de defesa antivirais baseados em células através de proteínas que são induzidas por infecção e dependem de receptores de reconhecimento de padrões das respostas imunes do hospedeiro. Essa inibição permite a replicação eficiente do vírus em células hospedeiras, o que acelera a propagação viral, onde seu principal sintoma é a febre hemorrágica, que causa sangramentos em órgãos internos. O vírus é nativo da África, onde surtos esporádicos ocorrem ao longo de décadas.

Minha intenção quando escrevi sobre muitos desses vírus, não foi só trazer informações sobre suas características e clínica, mas, abordar que muitos deles ainda são endêmicos em nosso meio devido ao descaso por nós impostos. Um ótimo exemplo é o próprio Ebola, o qual afeta os locais mais pobres da África Subsaariana, onde o saneamento básico é por vezes ineficiente e em muitos casos inexistente. Assim, podemos notar o quanto a desigualdade social influencia no

decurso dessa doença e de muitas outras, como a Aids, por exemplo, que desde de 1981 já levou à óbito mais de 36 milhões de pessoas na África. Nessa fala se encaixa perfeitamente a frase da antropóloga Denise Pimenta, “Epidemias e desastres ambientais têm gênero, raça e classe”.

Hoje foi realizada a nossa última aula (24.09.20) com a professora Ana, que tratou dos diagnósticos virais mais comumente utilizados, os quais são de uma importância para um diagnóstico assertivo, pois especifica o tipo de vírus que está presente no indivíduo em análise. De início, foram analisados os diagnósticos laboratoriais não específicos, ou seja, aqueles em que não se sabe exatamente qual é o vírus que pode estar causando determinada patologia. No entanto, eles podem nos mostrar que o nosso sistema imune está exercendo defesa contra algum tipo de agente viral ou qualquer outro patógeno. São exemplos desses diagnósticos o próprio exame clínico realizado pelo médico do paciente, hemograma, bioquímica e citologia.

Posteriormente, foi falado sobre os diagnósticos específicos, que são aqueles que realmente irão nos mostrar qual é o vírus. Eles podem se apresentar de duas formas, os indiretos, que vão mostrar os rastros que o vírus deixou através dos anticorpos produzidos pelo sistema imunológico do organismo do hospedeiro. Os diretos, que são exames que mostram a ação do vírus no momento em que eles ainda se encontram no interior do corpo. Um exemplo muito conhecido de diagnóstico específico indireto é a sorologia, que visa detectar proteínas específicas para cada agente patogênico, ou seja, como o sistema imunológico responde ao iniciar o contato com determinado agente. Desse modo, uma derivação da sorologia é o ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), um dos métodos mais amplamente utilizados para o diagnóstico de doenças infecciosas. Além disso, este método pode ser usado na identificação de doenças autoimunes e alérgicas, devido à produção de imunoglobulinas (Ig) e caso apresente metodologia imunoenzimática, possibilita a identificação de antígenos (Ag) ou anticorpos (Ac) específicos no plasma sanguíneo. Como exemplo dos diagnósticos específicos diretos, existem cultura de vírus, microscopia eletrônica, efeito citopático, imunofluorescência, detecção molecular (DNA ou RNA viral) e o tão famoso PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). O PCR é um teste que tem a

capacidade de ampliar o material genético do indivíduo e assim fornecer dados aproximados da quantidade de vírus existente, além de conseguir detectar o genoma viral.

Referências

BEZERRA, C. Citomegalovírus: o que é, sintomas e tratamento. In: **Tua Saúde**. [Vila Nova de Gaia - Portugal: s. n.] mar. 2020. Disponível em: <https://www.tuasaude.com/citomegalovirus/>. Acesso em: 13 abr. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hepatite B**. Brasília: Ministério da Saúde, 20 nov. 2020. Saúde de A a Z. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/h/hepatite-b>. Acesso em: 13 abr. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **HPV**. Brasília: Ministério da Saúde, 20 nov. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/h/hpv>. Acesso em: 13 abr. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **O que é HIV**. Brasília: Ministério da Saúde, 20???. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/publico-geral/o-que-e-hiv>. Acesso em: 13 abr. 2021.

BRUNE, K. D. *et al.* Plug-and-Display: decoration of Virus-Like Particles via isopeptide bonds for modular immunization. **Scientific Reports**, London, v. 6, n. 19234, p. 1-13, 2016.

ELER, G. Qual o impacto da proibição da venda de animais exóticos na China. **Super Interessante**. [São Paulo]. 25 mar. 2020. Ciência. Disponível em: <https://super.abril.com.br/ciencia/qual-o-impacto-da-proibicao-da-venda-de-animais-exoticos-na-china/>. Acesso em: 10 abr. 2020.

ENTENDA o método ELISA. In: **Blog Evidência Saúde**. [Los Angeles: s. n.]. 24 set. 2011. Disponível em: <http://www.evidenciasaude.com.br/blog/entenda-o-metodo-elisa-2/>. Acesso em: 20 nov. 2020.

FOOKS, A. R. et al. Rabies. **Nature reviews. Disease primers**. London, v. 30, n. 3, 17091. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrdp201791>. Acesso em: 21 nov. 2020.

GONZALEZ, A. Ebola é o vírus da pobreza e escancara a desigualdade, mal do século. In: **G1**. [s. l.: Globo], 13 ago. 2014. Disponível em: <http://g1.globo.com/natureza/blog/nova-etica-social/post/ebola-e-o-virus-da-pobreza-e-escancara-desigualdade-mal-do-seculo.html>. Acesso em: 20 nov. 2020.

JACOB, S. T. et al. Ebola virus disease. **Nature reviews. Disease primers**. London, v. 6, n. 1, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41572-020-0147-3>. Acesso em: 13 abr. 2021.

MATIAS, Átila. Pantanal. In: **Brasil Escola**. [s. l.: s. n.], 2021c. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/brasil/o-pantanal.htm>. Acesso em: 16 set. 2020.

MINHA VIDA; MACIEL, G (revisor). **HPV: o que é, sintomas, tratamentos e se tem cura**. [s. l.: Grupo Webedia], 13 jul. 2020. Disponível em: <https://www.minhavidacom.br/saude/temas/hpv>. Acesso em: 21 nov. 2020.

PARA Leonardo Boff, a epidemia é uma 'retaliação' da Pachamama, a Mãe Terra. In: **TEMPLÁRIO de Maria**. [s. l. : s. n.], 19 mar. 2020. Disponível em: <https://templariodemaria.com.br/para-leonardo-boff-a-epidemia-e-uma-retaliacao-da-pachamama-a-mae-terra/>. Acesso em: 1 abr. 2020.

PEDRINOLA, F. Importância da Microbiota na Avaliação Médica. **Portal Pebmed**. [s.l.], 18 out. 2018. Gastroenterologia. Disponível em: <https://pebmed.com.br/importancia-da-microbiota-na-avaliacao-medica/>. Acesso em: 13 abr. 2021.

QUEIMADAS no Pantanal e na Amazônia: carta aberta de países europeus a Mourão protesta contra política ambiental brasileira. In: **UOL**, São Paulo: [Universo Online], 16 set. 2020. Texto originalmente publicado pela BBC News. Disponível em: <https://noticias.uol.com.br/meio-ambiente/ultimas-noticias/bbc/2020/09/16/queimadas-no-pantanal-e-na-amazonia-carta-aberta-de-paises-da-europa-a-mourao-protesta-contrapolitica-ambiental-brasileira.htm>. Acesso em: 20 nov. 2020.

SANTANA, E. Conheça os parasitas que atacam as bactérias. **Educa+ Brasil**. [S. l.:], 20 ago. 2019. Bacteriófagos. Disponível em: <https://www.educamaisbrasil.com.br/enem/biologia/bacteriofagos>. Acesso em: 12 abr. 2020.

SOUZA, M. Desigualdade de gênero deixou mulheres mais vulneráveis na epidemia de ebola. **Jornal da USP**, São Paulo, 12 set. 2019. Disponível em: <https://jornal.usp.br/ciencias/ciencias-humanas/desigualdade-de-genero-deixou-mulheres-mais-vulneraveis-na-epidemia-de-ebola%e2%80%8b/>. Acesso em: 21 nov. 2020.

SOUZA, R. Pratos Exóticos da China. In: **Práticos exóticos**. [S. l.: s. n.], 22 nov. 2012. Disponível em: <https://exoticospratos.blogspot.com/2010/09/pratos-exoticos-da-china.html#:~:text=%20Pratos%20Ex%C3%B3ticos%20da%20China%20%201%20Gafanhotos,s%C3%A3o%20cheias%20de%20prote%C3%ADnas%20e%20geralmente...%20More%20>. Acesso em: 9 abr. 2020.

UOL. PNUMA afirma que novo coronavírus é reflexo da degradação ambiental. In: **UOL**, São Paulo: [Universo Online], 6 mar. 2020. Disponível em: <https://noticias.uol.com.br/meio-ambiente/ultimas-noticias/redacao/2020/03/06/pnuma-afirma-que-novo-coronavirus-e-reflexo-da-degradacao-ambiental.htm?cmpid=copiaecola>. Acesso em: 15 set. 2020.

Diário 2

No dia 29.09.20, foi iniciado o segundo bloco da nossa disciplina de Virologia. O primeiro bloco tratou-se da estrutura e papel dos vírus no meio em que vivemos, enquanto, o segundo bloco explanou sobre mecanismos de defesa do nosso organismo frente a esses agentes infecciosos.

A primeira aula foi ministrada tanto pela professora Ana Lisa, quanto pelo professor Cândido, o que foi possível analisar sobre o atual cenário em que vivemos, a pandemia da COVID-19. A princípio, foi mostrado pela professora Ana como se deu os surtos de casos do SARS-CoV-2, vírus responsável por desencadear a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG). Com isso, retornou-se ao ano de 2019, mais precisamente para o mês de dezembro, em Wuhan, província de Hubei, na China, onde foi notificado o primeiro caso de uma inflamação respiratória, que em quadros mais severos desencadearia pneumonia. Porém, foi apenas no início de Janeiro de 2020, que o mundo veio de fato ter uma noção mais ampla de quem seria esse agente causador, além da notificação da primeira morte em 11 de Janeiro de 2020. Através de muitos estudos desenvolvidos, um grupo de pesquisadores chineses revelou o genoma deste vírus. Foi descoberto que se tratava de um agente viral da família Coronaviridae, a qual já possuía dois outros tipos de vírus bastante conhecidos, o SARS-CoV e o MERS-CoV. Estes vírus já causaram pandemias anteriores em 2003 e 2012, respectivamente. É importante destacar que essa família é composta também por mais quatro tipos de vírus, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1 e HCoV-OC43.

“Mas como é a morfologia desse vírus?” O SARS-CoV-2, como foi nomeado, por justamente fazer parte da família de coronavírus, e por ser o segundo a causar uma pandemia e desencadear síndrome respiratória aguda grave. Ele é um vírus de +ssRNA, envelopado, com capsídeo em formato helicoidal e um genoma de 30Kb, caracterizado por possuir um alto grau de transmissibilidade. Isso se dá devido a sua polimerase, (tipo de enzima envolvida na polimerização de um polinucleotídeo ou na criação de moléculas de DNA ou RNA) possuir uma alta capacidade de replicação, além disso, existe uma alta carga de vírus no trato respiratório superior, antes mesmo de os sintomas iniciais surgirem.

A partir do caso inicial relatado na China, o vírus se espalhou por diversos continentes. Inicialmente, ele migrou pela Ásia, e certo tempo depois, os primeiros casos suspeitos foram relatados na Europa e América do Norte. Em 11 de março, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou a pandemia da COVID-19 (Doença do Coronavírus 2019). Os indivíduos quando sintomáticos apresentavam um quadro clínico bastante semelhante a outras infecções do trato respiratório. Os principais sinais e sintomas eram febre, tosse seca e fadiga, muitas vezes acompanhados de falta ou diminuição do olfato e paladar. A transmissão se dá por meio de gotículas expelidas na fala ou por espirros a uma distância de menos de 2 metros, ou através do contato com superfícies expostas ao vírus. A transmissão fecal-oral ainda não foi relatada e a transmissão vertical não foi detectada. Além disso, o paciente pode transmitir a infecção em até 2 semanas após ter se recuperado dos sintomas da doença, mas é importante salientar que esse período varia de paciente para paciente.

Sabe-se que as respostas imunitárias normais contra a maioria dos vírus envolvem uma fase de contenção rápida. Esta é mediada por componentes da imunidade inata e uma fase de imunidade adaptativa, que se apresenta mais tardiamente, porém de forma mais sofisticada, a qual deverá ser capaz de erradicar o patógeno e, assim, gerar uma memória imunológica duradoura. A primeira induz a resistência a infecção e replicação viral, por outro lado, as respostas imunitárias antivirais adaptativas envolvem um ataque coordenado e adaptado ao vírus.

A resposta imune induzida pelo SARS-CoV-2 é muito semelhante àquelas vistas nas pandemias ocasionadas por SARS-CoV e MERS-CoV, o qual assim como eles vai suprimir a ativação do sistema imunológico inato, incluindo células dendríticas, diminuindo a eficácia de respostas antivirais do interferon tipo I. Os quadros inflamatórios são caracterizados pelo aumento acentuado do número de monócitos inflamatórios e neutrófilos no sangue e macrófagos derivados de monócitos CD14CD16 nas vias aéreas, como também pelo aumento dos níveis sistêmicos de citocinas inflamatórias e quimiocinas. A falha no controle precoce da infecção pelo SARS-CoV-2 no trato respiratório provavelmente resulta em alta

carga viral, respostas inflamatórias e imunopatologias desreguladas, potencialmente letais, o que inclui síndrome respiratória aguda grave.

Na última aula da semana, dia 01.10.20, foi visto como se davam as respostas imunes inatas contra os vírus. A princípio, esta é mediada pelos efeitos *de interferons do tipo I* (IFN- α e IFN- β) e pela ação de células *Natural Killer* (NK). As células NK estão ligadas a destruição de células que foram infectadas com patógenos intracelulares em determinado hospedeiro, além de atuarem na produção de interferon- γ , que é uma citocina que ativa os macrófagos para a destruição dos microorganismos fagocitados. “Mas em um conceito mais amplo, o que seria essa Imunidade Inata?” Bom, ela representa uma resposta rápida e estereotipada a um número grande, embora limitado, de estímulos. É representada por barreiras físicas, químicas e biológicas, células especializadas e moléculas solúveis, presentes em todos os indivíduos, independentemente de contato prévio com imunógenos ou agentes agressores, e não se altera qualitativa ou quantitativamente após o contato.

Foi através de várias vias que foi possível entender melhor como se realizava esse processo de defesa do organismo contra os vírus, onde a primeira delas foi a Via TLR's (Toll-Like Receptors) de detecção viral. Os TLR são uma família de receptores de reconhecimento de padrões do sistema imune inato, expressos na superfície, em endossomas de muitas células que reconhecem estruturas microbianas, como endotoxinas e RNA viral, e transduzem sinais que levam à expressão de genes inflamatórios e antivirais. Os sinais gerados pela ligação dos receptores tipo TLR ativam fatores de transcrição que estimulam a produção de genes que codificam citocinas, enzimas e outras proteínas envolvidas nas funções antimicrobianas dos fagócitos ativados e das outras células. Entre os mais importantes fatores de transcrição ativados pelos sinais dos TLR estão o NF- κ B, que promove a expressão de várias citocinas e moléculas de adesão endotelial, como também os fatores de resposta ao interferon, que estimulam a produção das citocinas antivirais e interferons *tipo I*.

A segunda via apresentada foi a STING (*stimulator of IFN genes*) responsável por detectar infecções virais. A STING é uma proteína localizada no retículo endoplasmático, identificada como um dos adaptadores críticos para a via

de detecção de DNA citosólico, a qual desempenha importante papel nas defesas do hospedeiro contra vírus e bactérias intracelulares por meio da regulação da sinalização de IFN tipo I e da imunidade inata. Além disso, a STING pode se ligar a dinucleotídeos cíclicos, como di-AMP cíclico, di-GMP cíclico ou di-GMP-AMP cíclico produzidos por vírus ou bactérias através de seu domínio carboxi-terminal globular. Isso facilita a sua interação com a quinase citosólica TBK1 e induz a ativação de fatores de transcrição IRF3 ou STAT6. Em seguida, IRF3 ou STAT6 translocam para o núcleo para induzir interferon e outras citocinas.

A terceira via foi a RIG *retinoid-induced genes* (RIG) e MDA5, juntas são receptores de reconhecimento de padrões (PRR) de detecção de infecção viral. A *Retinoic acid-inducible gene 1* (RIG-I) é tida como PRR. Os PRRs desempenham um papel fundamental na detecção citosólica de vírus de RNA, através do reconhecimento de RNA viral ou intermediários de replicação viral para iniciar a resposta do sistema imunológico inato. Portanto, ele desempenha um papel importantíssimo na ativação de uma cascata de respostas antivirais, o que inclui a indução de interferons *tipo I* e a ativação da sinalização do fator nuclear-kappa B (NF- κ B) para produzir citocinas pró-inflamatórias. Já o *Melanoma Differentiation-Associated protein 5* (MDA5) possui funções bastante semelhantes ao RIG-I, o que contribui para o reconhecimento de vários tipos de vírus de RNA e sustentar a indução de IFN.

Foram abordadas também as células dendríticas plasmocitóides (DC), que são chamadas assim por causa de sua semelhança morfológica com as células plasmáticas. Quando estimulada são capazes de sofrer nova diferenciação com mudança em sua morfologia e função, de forma que se torna dendrítica e especializada na apresentação de antígenos. A DC vai adquirir essa morfologia dendrítica quando estimulada com IL-3, IL-3 com CD40L, vírus e bactérias contendo sequências de CpG-DNA não metiladas. Apresentam-se no sangue e nos tecidos, onde vai ser a principal fonte dos interferons tipo I nas respostas imunes inatas às infecções virais, além de induzirem as respostas de células T contra vírus.

O estado de defesa antiviral induzido por Interferons *do tipo I* se mostra a partir de suas subdivisões, como o IFN- α , que é produzido por células dendríticas

plasmocitóides e macrófagos e tem como função promover um estado antiviral, com expressão aumentada de MHC classe I, já em células NK exerce o papel de ativação das mesmas. O segundo tipo é o IFN- β , originado de fibroblastos e células dendríticas plasmocitóides e tem como papel a promoção de um estado antiviral, que assim como o *tipo α* , vai atuar na expressão aumentada de MHC classe I, além de atuar na ativação das células NK.

Na aula do dia 06.10.20, sobre as respostas imunes adaptativas contra os vírus, foi visto, inicialmente e de forma ampla, o que seria essa classificação de imunidade, que pode ser chamada de adquirida ou específica. A imunidade adaptativa vai requerer uma expansão e a diferenciação de linfócitos em resposta a microrganismos antes que ela possa oferecer uma defesa eficaz. Ela se adapta à presença dos invasores microbianos, onde ela vai estar sendo formada pelos linfócitos e seus produtos, como os anticorpos. Enquanto os mecanismos da imunidade inata reconhecem estruturas comuns a classes de microrganismos, as células da imunidade adquirida (linfócitos) expressam receptores que reconhecem especificamente uma variedade maior de moléculas produzidas pelos microrganismos. As respostas adquiridas geralmente usam células e moléculas do sistema imunológico inato para eliminar os microrganismos e funções imunológicas adquiridas para aumentar acentuadamente esses mecanismos antibacterianos da imunidade inata. Diante de tudo isso, “como de fato as células deste tipo de imunidade se apresentam?” Bom, antes de destrinchar as funções dessas células, é importante salientar que a imunidade adaptativa se subdivide em imunidade humoral, aquela em que a sua mediação se faz por meio de proteínas chamadas de anticorpos, produzidas pelos linfócitos B; e a imunidade celular, chamada assim por ser mediada pelas células conhecidas como linfócitos T. Seus mecanismos de defesa contra os vírus se fazem com ativação de células TCD8+, que também são chamados de Linfócitos T citotóxicos, os quais destroem as células infectadas por microrganismos intracelulares. Nesse contexto viral, vão exercer citotoxicidade pelo reconhecimento de antígenos virais via MHC classe I (proteínas presentes na membrana das APC que apresentam antígenos peptídicos para reconhecimento pelos linfócitos T). Estes vão apreender os peptídeos do vírus e assim expô-los para que, dessa forma,

consigam sinalizar que a célula está infectada, que promove uma visualização das mesmas aos linfócitos TCD8+ nas células alvo. Haverá uma liberação de granzima e de perforinas com lise das células infectadas e os linfócitos TCD8 induzem a via de morte celular programada (apoptose) na célula alvo.

Durante a resposta imune adaptativa, há também ativação das células TCD4 +, chamadas de linfócitos T auxiliares, os quais vão colaborar com as células B na produção de anticorpos e as células fagocitárias a ingerir os microrganismos. A respeito de os vírus serem agentes intracelulares, os anticorpos têm papel importante no combate às infecções virais, desde que, por ocasião da propagação da infecção viral, após multiplicarem-se em células infectadas, os vírus rompam essas células tornando-se livres até a penetração em outra célula. Durante a fase extracelular, os anticorpos podem ligar-se aos vírus e, por meio do mecanismo de neutralização, impedir que eles penetrem uma célula não infectada. Alternativamente, anticorpos podem ser adjuvantes no mecanismo de citotoxicidade celular dependente de anticorpos, ao se ligar às células infectadas, o que permite a ação das células NK.

Ainda em aula, foram apresentados mais dois conceitos, o primeiro foi *Antigenic Drift* (deriva antigênica por mutação gênica), que é um mecanismo de escape viral que consiste em uma mutação genética aleatória de um agente infeccioso, o que resulta em pequenas alterações nas proteínas chamadas antígenos, as quais estimulam a produção de anticorpos pelo sistema imunológico. O processo de deriva antigênica é melhor caracterizado no vírus Influenza. As camadas virais, ou superfícies externas, desses vírus contêm duas glicoproteínas antigênicas principais – hemaglutinina (H) e neuraminidase (N)– que diferem entre subtipos de influenza A (por exemplo, H1N1, H3N2, H5N1). As mutações sutis acumuladas através da deriva antigênica desses subtipos dão origem a diferentes cepas de cada subtipo. Assim, agentes infecciosos que evoluíram através da deriva antigênica podem causar doenças potencialmente graves e se espalhar rapidamente dentro de uma população de humanos ou animais. O outro conceito foi o de *Antigenic Shift* (mudança antigênica por recombinação gênica), é uma mudança que geralmente ocorre quando um vírus da gripe humana cruza com um vírus da gripe que geralmente afeta animais (como aves ou porcos) em um

mesmo indivíduo, ou seja, uma dupla infecção. Quando os vírus sofrem essa recombinação gênica, eles mudam para criar um novo subtipo viral, diferente de qualquer um visto antes.

Na aula do dia 08.10.20, sobre estratégias de vacinação contra os vírus (parte I), foi mostrado de uma forma geral, primeiramente, que as vacinas têm por finalidade simular uma doença infecciosa, mas de forma segura, sem causar a doença nem efeitos colaterais graves. Assim, elas vão “treinar” o sistema imune frente a possíveis agentes patogênicos. Uma vez aplicada, a vacina desencadeia uma série de reações imunológicas (provocadas pela ação do sistema imune adaptativo), que levam a um estado de proteção (imunidade protetora) contra a doença para qual a vacina foi desenvolvida. Essa proteção tem como principais características a longevidade e especificidade. A maioria das vacinas disponíveis atualmente possui imunidade protetora, a qual é atribuída a produção de anticorpos que reconhecem o patógeno e o impedem de se multiplicar e causar a doença. No entanto, existem vários tipos de vacinas, como por exemplo, as vacinas vivas atenuadas, vacinas inativadas e vacinas recombinantes.

As vacinas vivas atenuadas são aquelas em que os vírus encontram-se ativos, porém, sem capacidade de produzir a doença, como exemplo podem ser citadas caxumba, febre amarela, poliomielite oral - VOP, rubéola, sarampo, varicela. Os vírus atenuados levam esta denominação, pois passam por um processo no qual sua virulência é reduzida a níveis considerados seguros para a aplicação clínica (vacinação). O método mais utilizado para a obtenção de vírus atenuados baseia-se em promover infecções sequenciais de vírus patogênicos em animais de diferentes espécies ou em ovos embrionados. Após a série de passagens, cepas virais são obtidas de forma menos virulentas (atenuadas), que sofreram mutações genéticas específicas que comprometem o funcionamento de fatores virais necessários à patogenicidade, sem gerar prejuízos à capacidade de replicação do vírus. Quando aplicado no corpo de um indivíduo, o vírus atenuado é capaz de se replicar, porém de maneira lenta e limitada, sem causar maiores danos ao organismo. A prolongada exposição ao vírus durante a lenta replicação viral induz uma resposta imune, a qual leva à produção de células de memória

(linfócito B e T), que garantem o estabelecimento de imunidade contra o vírus em questão.

As vacinas inativadas são utilizadas rotineiramente na prevenção de inúmeras doenças, como a influenza, poliomielite (vacina tipo Salk), raiva e hepatite A. Os vírus são inativados por métodos químicos, em particular o formol ou detergentes, como na influenza. Elas oferecem como vantagem mais segurança, pois não há multiplicação do agente no organismo vacinado, porém tendem a induzir uma imunidade menos duradoura e exigem a aplicação de mais de uma dose no esquema de imunização, bem como a repetição das imunizações ao longo dos anos. Essa baixa imunidade duradoura induzida por esse tipo de vacinação faz com que haja a necessidade de adjuvantes, que são substâncias adicionadas à vacina em sua formulação final, com a finalidade de aumentar a resposta imunológica do receptor. Uma vez que eles irão dificultar o processamento do antígeno pelas células apresentadoras de antígeno, aumentam também o período em que o antígeno estará em contato com o sistema imune aumentando a resposta imunológica. Os exemplos típicos dessa vacina são as contra a influenza, que devem ser aplicadas a cada ano.

Na aula do dia 13.10.20 sobre estratégias de vacinação contra os vírus (parte II), foi possível aprender mais a respeito de algumas vacinas que atuam nesse processo de imunização, entre elas a VLP (Virus-Like Particle), VSV (Vacina com vetor viral recombinante), RNA (mRNA ou saRNA) e DNA.

A VLP é uma vacina profilática contra o HPV (Papiloma Vírus Humano), a qual consiste em um capsídeo vazio, isto é, sem material genético e, portanto, não-infecciosa. Sua ação é induzir a formação de anticorpos neutralizantes de alta titulação, os quais são específicos para o HPV. Esse processo é capaz de induzir uma resposta imune adaptativa superior à produzida pela infecção natural. Além disso, provoca uma fraca resposta de células T- CD8 e CLT, o que se faz necessário o uso de um adjuvante para potencializar a resposta imune induzida por ela, no organismo do indivíduo, por isso que a sua administração se faz por meio de várias doses.

Já as vacinas com vetores virais recombinantes são constituídas por vírus não patogênicos e altamente atenuados, que são capazes de produzir antígenos

de outros patógenos quando inoculados em indivíduos vacinados, como também provocam uma forte resposta de células T-CD8. Essa é uma vacina utilizada contra o vírus Ebola Zaire e sua administração é de uma única dose.

As vacinas de subunidade/proteicas são aquelas em que as proteínas virais são injetadas no hospedeiro, que possui o potencial de exibir eficácia na proteção de animais ou humanos contra infecções virais. No entanto, apenas alguns componentes virais estão incluídos e não exibem a complexidade antigênica do vírus, sua eficácia protetora pode ser limitada, assim, ela é um tipo de vacina que necessita da administração de várias doses, além da adição de adjuvantes.

As vacinas de ácido nucleico, como vacinas de mRNA e DNA, são outras formas de vacina. Essas têm como objetivo entrar em células humanas, onde serão então traduzidas em proteínas virais. As vacinas mRNA representam uma alternativa promissora em comparação com as vacinas convencionais devido à sua alta potência, capacidade de desenvolvimento rápido e produção econômica. No entanto, as propriedades físico-químicas do mRNA podem influenciar sua entrega celular e distribuição nos órgãos, com isso, a segurança e eficácia do uso de vacinas mRNA em humanos permanecem desconhecidas. As vacinas de DNA possuem grande potencial profilático devido à sua capacidade de melhorar a indução de células T e a produção de anticorpos, como também a excelente biocompatibilidade do DNA plasmídeo. Além disso, a sua fabricação é de baixo custo e sua longa vida é útil. No entanto, sua desvantagem é que as moléculas de DNA devem atravessar a membrana nuclear para serem transcritas e, geralmente, têm baixa imunogenicidade. Devido a essa baixa imunogenicidade, ela necessita da administração de várias doses, assim como a vacina de mRNA.

Diante de todos esses tipos de vacinações, foi visto como estava o processo de desenvolvimento de vacinas frente a pandemia do novo coronavírus. Porém, é discorrido nesse trabalho somente as que já estão em estágio 3 (ou fase 3, onde milhares de testes são realizados, para assim avaliar a eficácia em condições naturais de presença da doença) de desenvolvimento, são elas:

Quadro 1

Tipos de Vacinas

	Vacina	Desenvolvedor	Número de doses
Vacina Inativada	A vacina SARS-CoV-2 inativada com hidróxido de alumínio.	Sinovac	2
	Inativada	Instituto Wuhan de produtos biológicos/Sinopharm	2
Vacina de RNA	BNT162b1	Pfizer/Fosun Pharma/BioNTech	2
	mRNA-1273	Moderna/NIAID	2
Vacinas vetorais não replicante	ChAdOx1nCoV-19	Universidade de Oxford/AstraZeneca	2
	Inativada	Baseado em Adeno (rAd26-5 + rAd5-5)	2

Fonte: (DONG *et al.*, 2020).

Na aula do dia 15.10.20, abordou-se sobre os bacteriófagos e como funcionava a *Phage Therapy* (Terapia de Fagos). Os bacteriófagos, ou fagos, são vírus com a capacidade de infectar e matar bactérias. Os fagos geralmente infectam e matam apenas uma única espécie e, às vezes, uma única linhagem bacteriana, portanto, não é capaz de infectar todos os tipos de bactérias. Foram descritos em 1915, por Frederick W. Twort, na Inglaterra, que publicou uma nota descrevendo a destruição infecciosa de colônias de micrococcos por um agente que parecia ser viral porque atravessava os filtros que detinham bactérias. Em 1917, Felix d'Herelle, no Instituto Pasteur, em Paris, estudou o fenômeno de maneira independente e demonstrou a natureza da partícula, que ficou denominada de bacteriófago, comedor de bactérias. E como todos os vírus, os bacteriófagos são compostos de DNA ou RNA e recobertos por uma capa de proteína chamada capsídeo, mas podem ter também um envelope e apresentar diferentes ciclos biológicos, os quais são chamados de ciclo lítico e lisogênico.

Os fagos líticos têm altas taxas de replicação, o que ocorre acúmulo de grande quantidade de vírus e de proteínas expressas tardiamente por eles (endolisinas, holinas ou inibidoras da síntese de mureína), que provocam a lise da

célula bacteriana e liberação desses bacteriófagos. Quando se trata de fagos lisogênicos, o material genético do bacteriófago pode ser integrado ao da bactéria, porém esse processo é reversível. Nele há silenciamento da expressão de genes do fago, a partir de proteínas que conferem à bactéria imunidade a esses vírus. Após ser integrado ao genoma bacteriano, o vírus passa a ser chamado profago. Este pode sofrer indução se a célula for submetida à ação de raios ultravioleta ou outro estresse físico-químico. Assim, o vírus, que antes estava inserido no genoma bacteriano, passa para o ciclo lítico. Através da lisogenia, o hospedeiro adquire imunidade à superinfecção por fagos relacionados ao invasor, pois o genoma de alguns fagos lisogênicos possui genes capazes de modificar os receptores da célula bacteriana infectada e, assim, evitar que outros vírus se adsorvam.

A terapia de fagos, também conhecida como fagoterapia, é uma forma de controle biológico, baseada em vírus específicos de bactérias. Ela foi inicialmente proposta em 1917, por d'Herelle, mas o interesse nessa aplicação foi reduzido significativamente quando os antibióticos foram descobertos. Porém, com a ameaça emergente de infecções causadas por bactérias multirresistentes e poucas perspectivas para o surgimento de novos antibióticos, a terapia de fagos passou a ser vista como uma possível aplicação terapêutica. Como agentes terapêuticos, os fagos poderiam substituir ou atuar como coadjuvantes de drogas no combate a infecções bacterianas. Algumas das vantagens observadas na fagoterapia são: melhor atividade profilática e terapêutica se comparada aos medicamentos convencionais, ausência de destruição da microbiota bacteriana normal dos indivíduos (tendo em vista a especificidade dos bacteriófagos em infectar a célula de interesse) e a possibilidade de utilização em dose única. É importante salientar que na terapia com fagos são utilizados os bacteriófagos que se encontram em ciclo lítico, já que nessa fase os fagos têm a capacidade de matar a bactéria em questão.

Dessa maneira, um fato bastante pertinente e que a pouco não se sabia sobre isto, foi a contribuição do Brasil para a Terapia com Fagos, através de um artigo publicado na revista *The Lancet*. O artigo retrata que no início dos anos 20, no Brasil, o Dr. José da Costa Cruz implementou ações terapêuticas envolvendo

os fagos. “Mas que ações foram essas?” Bom, a primeira menção ao uso clínico de fagos no Brasil apareceu de fato em uma publicação de 1923, sobre dois conjuntos de testes clínicos contra a disenteria (que chegou a ser a principal causa de óbitos na cidade de São Paulo, no ano de 1901). Nesta publicação, Cruz afirmou que quem vê a atividade *in vitro* de um fago está “cheio de esperança de que apareça imediatamente uma nova terapêutica contra doenças infecciosas”, e afirmou também que não tinha conhecimento das observações clínicas de d'Herelle feitas na época. Os primeiros tratamentos com fagoterapia ocorreram na Serra da Mantiqueira, próximo à cidade de Barbacena. Mas, apesar de uma perspectiva promissora, o tratamento com fagos inicialmente não teve sucesso. Porém, quando fizeram um segundo teste em pacientes assim como no primeiro estudo, com disenteria, no ano de 1923, a terapia com os fagos desencadeou respostas animadoras. Essas melhorias se referiam ao relatório de 24 pacientes, onde a maioria desse grupo descreveu uma melhora de seus sintomas 4–5 h após o início da terapia. Concluiu-se assim que os fagos tiveram um papel imprescindível nesse bom prognóstico e, com isso, eles foram recomendados para disenteria por serem fáceis de administrar, inócuos para os pacientes e eficazes em pacientes nos quais outros tratamentos falharam.

Infelizmente, com o passar dos anos, os investimentos nessa área foram gradualmente diminuindo. O artigo obituário de Cruz, publicado em 1941, destacava seus esforços na fagoterapia sem menção a problemas ou intenções de interromper seu uso. Porém, na mesma época, publicações sobre fagos e instâncias de terapia fágica clínica tornaram-se mais raras na literatura brasileira. Coincidentemente, as publicações sobre o uso de antibióticos aumentaram no início dos anos 1940, culminando com um grande foco na penicilina em 1944. No mesmo ano, o jornal *Brasil-Médico* publicou uma versão traduzida de um artigo de Alexander Fleming e uma transcrição traduzida de um discurso de Winston Churchill elogiando o uso da penicilina e vários casos clínicos de uso de antibióticos. Além disso, muitos profissionais de saúde que trabalhavam com a fagoterapia provavelmente se aposentando ou falecendo durante esta década aliado aos novos e promissores antibióticos podem ter sido o grande motivo para a terapia com fagos se mostrar desatualizada aos olhos da nova geração médica.

No entanto, apesar de a antibioticoterapia se mostrar muito eficaz, as bactérias começaram a desenvolver resistência a ela e isso proporcionou doenças cada vez mais potentes. Portanto, foi nesse cenário de bactérias super-resistentes que a fagoterapia vem retomando a sua força, por se mostrar uma alternativa muito promissora frente ao controle dessas doenças bacterianas, assim como fez a tantos anos atrás.

Foi trazido à aula, pelo professor Cândido, um artigo que salienta ainda mais esse grande papel dos bacteriófagos. O artigo "*Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant Mycobacterium abscessus*" (DEDRICK et al., 2019) traz que um paciente de 15 anos com fibrose cística e com infecção difundida de *Mycobacterium abscessus* foi tratado com um coquetel de três fagos após transplante bilateral de pulmão. Eles são derivados de fagos líticos eficazes, que matam eficientemente a cepa infecciosa de *M. abscessus*, e foram desenvolvidos através de engenharia de genoma e por genética avançada. O tratamento com fago intravenoso foi bem tolerado e associado à melhora clínica do paciente, o que inclui fechamento de feridas severas, melhor função hepática e resolução substancial de nódulos de pele infectados.

Em nossa aula do dia 20.10.20, foi visto que os métodos de tratamento para as infecções virais podem se acontecer de duas formas, com os medicamentos sintomáticos e os antivirais. Os medicamentos sintomáticos, como o próprio nome sugere, são aqueles que irão tratar os sintomas relacionados à determinada infecção, geralmente comuns em muitas infecções virais. São exemplos desses medicamentos o Paracetamol (febre), a Dipirona - Ibuprofeno (dor de cabeça), dentre outros. Já os antivirais são uma classe de medicamentos utilizados para tratar infecções virais minimizando os sintomas, a infectividade e reduzindo o tempo de duração da doença. Essa classe medicamentosa vai ser específica para cada vírus e, além disso, eles agem impedindo o ciclo de replicação do vírus em várias etapas. Como as fases iniciais da infecção viral são geralmente assintomáticas, o tratamento geralmente só é feito quando a doença já está em estágios mais avançados. Os fármacos antivirais podem ser agrupados de acordo com o seu mecanismo de ação. Os grupos principais são:

Quadro 2

Fármacos Virais e Mecanismos de ação?

Grupos	Mecanismo	Medicamentos
Inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa	Atua sobre a enzima transcriptase reversa, tornando defeituosa a cadeia de DNA que o vírus HIV cria dentro das células de defesa do organismo.	Abacavir Didanosina Lamivudina Zidovudina
Inibidores não nucleosídicos	Atua sobre a enzima transcriptase reversa, bloqueando diretamente sua ação e a multiplicação do vírus.	Efavirenz Etravirina Nevirapina
Inibidores da protease	Estes inibidores impedem que proteínas inertes sejam quebradas pela protease para produzir proteínas ativas necessárias para que a infecção aconteça.	Darunavir Fosamprenavir Ritonavir Saquinavir
Inibidores da DNA-polimerase	Inibem a síntese do DNA viral e interrompem o alongamento de sua cadeia.	Aciclovir Penciclovir
Inibidores de fusão do HIV	Impede que o vírus se ligue às células TCD4.	Enfuvirtida
Inibidores da liberação e desmontagem viral	Impedem que os vírus saiam das células infectadas para infectar células vizinhas.	Maraviroc

O coquetel do HIV é uma combinação de vários medicamentos antirretrovirais, que surgiram na década de 1980 e que tem como principal função evitar a multiplicação desordenada, como também impedir que o sistema imunológico do paciente fique seriamente prejudicado. É importante frisar que os coquetéis não matam o vírus, mas garantem maior tempo e melhores condições de vida ao indivíduo. O número de medicamentos que o paciente toma por dia vai depender do estágio da doença, e a combinação deles atua em diferentes áreas do organismo. É válido destacar que devido a esse conjunto de medicamentos, é observável uma série de efeitos colaterais, como náuseas, dor de cabeça, diarreia, lipodistrofia (distribuição irregular do tecido adiposo), dentre outros. São exemplos de medicamentos que fazem parte do coquetel: **Aciclovir** (Inibidor da DNA-polimerase), **Zidovudina** ou **AZT** (Inibidor da transcriptase reversa), **Neviparina** (Inibidor da transcriptase reversa), **Kaletra** (Inibidores da protease), **Oseltamivir** (Inibidores da liberação e desmontagem viral).

Foi visto também sobre a profilaxia pós-exposição (PEP), uma medida de prevenção de urgência por infecção pelo HIV, hepatites virais e outras infecções sexualmente transmissíveis (IST). Como profilaxia para o risco de infecção pelo HIV, a PEP consiste no uso de medicamentos antirretrovirais para reduzir o risco

de infecção em situações de exposição ao vírus. Esse medicamento deve ser utilizado após qualquer situação em que exista risco de contágio, tais como: violência sexual, relação sexual desprotegida e acidente ocupacional. Trata-se de uma urgência médica que deve ser iniciada o mais rápido possível e preferencialmente nas primeiras duas horas após a exposição e, no máximo, em até 72 horas.

Na aula do dia 22.10.20, falou-se sobre os vírus Oncolíticos, que representam uma nova classe de agentes terapêuticos, os quais promovem respostas antitumor através de um mecanismo duplo de ação que depende da morte seletiva de células tumorais e da indução da imunidade antitumor sistêmica. A imunoterapia com vírus oncolíticos é uma abordagem terapêutica para o tratamento do câncer que utiliza vírus nativos ou geneticamente modificados que se replicam seletivamente dentro das células tumorais. Em contraste com as vacinas padrão, os vírus oncolíticos infectam diretamente as células tumorais de lise *in situ*. Todavia, também podem fornecer sinais de perigo adicional que podem promover uma resposta imune antitumor eficiente. Embora não completamente compreendidos, acredita-se que esses patógenos medeiam a atividade antitumor através de dois mecanismos distintos de ação, a replicação seletiva dentro de células neoplásicas, o que resulta em um efeito lítico direto sobre as células tumorais; e a indução da imunidade antitumor sistêmica. A contribuição relativa desses mecanismos pode diferir dependendo da natureza, do tipo de célula cancerígena, das características do vetor viral e da interação entre o vírus, o microambiente tumoral e o sistema imunológico hospedeiro.

Portanto, foi assim que as aulas do semestre chegaram ao fim. Termine aqui com uma frase de Louis Pasteur, **“a vida não seria possível na ausência dos microrganismos”**.

Referências

ABREU, D. M. Como funcionam os antivirais? In: **PET Química UFC**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 15 maio 2020. Disponível em: <http://www.petquimica.ufc.br/como-funcionam-os-antivirais/>. Acesso em: 26 out. 2020.

ALMEIDA, G. M. F.; SUNDBERG, L. The forgotten tale of Brazilian phage therapy. **The Lancet Infectious Diseases**, New York, v. 20, n. 5, e90-e101, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. In: **Ministério da Saúde**, Brasília, s. d. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/publico-geral/prevencao-combinada/pep-profilaxia-pos-exposicao-ao-hiv>. Acesso em: 25 out. 2020.

BRISSE, M.; LY, H. Comparative Structure and Function Analysis of the RIG-I-Like Receptors: RIG-I and MDA5. **Frontiers in Immunology**. Lausanne, v. 10, n. 1586, p. 1-27, 2019.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. How the Flu Virus Can Change: “Drift” and “Shift”. In: **CDC. USA: CDC**, 15 out. 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/flu/about/viruses/change.htm>. Acesso em: 13 abr. 2021.

CHAUHAN, D. *et al.* Functional interaction of plasmacytoid dendritic cells with multiple myeloma cells: a therapeutic target. **Cancer Cell**, Cambridge, v. 16, n. 4, p. 309-323, 2009.

DEDRICK, R. M. *et al.* Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*. **Nat. Med.**, New York, v. 25, n. 5, p. 730-733, 2019.

DONG, Y. *et al.* A systematic review of SARS-CoV-2 vaccine candidates. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, London, v. 5, n. 237, p. 1-14, 2020.

DUDA, K. Antigenic Drift and Shift With the Flu Virus. In: **Verywell Health**. New York: Verywell Health, 11 mar. 2020. Cold & Flu. Disponível em: <https://www.verywellhealth.com/what-are-antigenic-drift-and-shift-770400>. Acesso em: 11 abr. 2021.

ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. Antigenic drift. In: **Britannica**. London: Encyclopædia Britannica, 12 jul. 2018. Genetics & Evolution. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/antigenic-drift>. Acesso em: 12 abr. 2021.

ESCOBAR, H. O que são e como funcionam as vacinas. **Estadão**, São Paulo, Blogs, 23 ago. 2018. Disponível em: <https://ciencia.estadao.com.br/blogs/herton-escobar/entenda-o-que-sao-e-como-funcionam-as-vacinas/>. Acesso em: 2 abr. 2021.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Vacinas Virais**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 7 ago. 2019. Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/perguntas-frequentes/perguntas-frequentes-vacinas-menu-topo/131-plataformas/1574-vacinas-virais#:~:text=A%20vacina%20atenuada%20%C3%A9%20aquela,forma%20selvagem%20causando%20a%20doen%C3%A7a>. Acesso em: 10 abr. 2021.

JEYANATHAN, M. *et al.* Immunological considerations for COVID-19 vaccine strategies. **Nat Rev Immunol**, London, v. 20, n. 10, p. 615-632, 2020.

KASUMBA, D. M.; GRANDVAUX, N. Therapeutic Targeting of RIG-I and MDA5 Might Not Lead to the Same Rome. **Trends in Pharmacological Sciences**. Cambridge, v. 40, n. 2, p. 116-127, 2019.

KAUFMAN, H.; KOHLHAPP, F.; ZLOZA, A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. **Nat Rev Drug Discov**. London, v. 14, n. 9, p. 642-662, 2015.

MACHADO, Paulo R. L. et al. Mecanismos de resposta imune às infecções. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 6, p. 647-662, dez. 2004.

ORTIZ-PRADO, E. *et al.* Clinical, molecular, and epidemiological characterization of the SARS-CoV-2 virus and the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), a comprehensive literature review. **Diagn Microbiol Infect Dis.**, New York, v. 98, n. 1, 2020.

POLIMERASE. In: **Portal São Francisco**. [S. l.: s. n.], s. d. Disponível em: <https://www.portalsaofrancisco.com.br/biologia/polimerase>. Acesso em: 12 abr. 2021.

PONTE, G. Nova geração de adjuvantes para dar mais eficácia às vacinas. In: **Fundação Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 13 maio 2016. Disponível em: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/noticias/1208-nova-geracao-de-adjuvantes-para-dar-mais-eficacia-as-vacinas>. Acesso em: 11 abr. 2021.

RIEDER, M.; CONZELMANN, K. Chapter 6 - Interferon in Rabies Virus Infection. **Advances in Virus Research**, New York, v. 79, p. 91-114, 2011.

ROSSI, L. P. R.; ALMEIDA, R. C. C. Bacteriophages for control of bacterial pathogens in foods. **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)**, São Paulo, v. 69, n. 2, 2010. Disponível em: http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552010000200001&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 27 out. 2020.

SCHATZMAYR, Hermann G. Novas perspectivas em vacinas virais. **Hist. cienc. saude-Manguinhos**, Rio de Janeiro, v. 10, supl. 2, p. 655-669, 2003.

SONG, S. *et al.* Decreased expression of STING predicts poor prognosis in patients with gastric cancer. **Scientific reports**, London, v. 7, n. 39858, p. 1-13, 2017.

ZHU, H. *et al.* RIG- I antiviral signaling drives interleukin- 23 production and psoriasis- like skin disease. **EMBO Molecular Medicine**, Chichester, West Sussex, v. 9, n. 5, p. 589-604, 2017.

Vírus x Sistema Imunológico: o que precisamos saber?

Ruth Cristina Albuquerque Santos

Os vírus são agentes infecciosos e parasitas intracelulares obrigatórios, formados por um tipo de ácido nucléico (DNA ou RNA), por uma capa protéica denominada de capsídeo, que tem por função proteger o material genético e podem apresentar ou não, uma membrana chamada de envelope. Antigamente, os vírus eram definidos como os menores organismos com auto-reprodução na natureza, que apresentam ciclo de reprodução exclusivamente intracelular. Todavia, parte dessa definição foi refutada em 2011, quando foram descobertos os pandoravírus. Ainda se sabe pouco sobre eles, mas são vírus gigantes e podem ser observados em microscopia óptica. Na Sibéria, foi encontrado um vírus gigante congelado há mais de 30 mil anos com morfologia do pandoravírus (LEGENDRE *et al.*, 2014). Assim, não se utiliza mais o tamanho como critério de classificação dos vírus.

O vírus é um organismo de duas fases, *virion* e vírus. O *virion* consiste em uma partícula infecciosa formada por uma cápsula de proteínas e material genético. Nessa fase, ele não se encontra no interior da célula e, conseqüentemente, não consegue se replicar, já que são parasitas intracelulares obrigatórios. Quando eles estão no meio intracelular, ocorre a replicação viral, sendo então chamados de vírus.

De acordo com a teoria de LUCA, todos os seres vivos do planeta derivam de um ancestral comum. A partir desse ancestral, foram formados três domínios: *Bacteria*, *Archaea* e *Eukarya*. Diante disso, surgem as perguntas: onde estão os vírus na evolução dos seres vivos no planeta? Eles se encaixam no modelo LUCA? Os vírus apresentam a evolução de forma totalmente separada das estruturas vivas do planeta Terra e a sua ancestralidade genética não parte de um mesmo ancestral comum, como sugerido pela teoria citada, isso é confirmado em estudos genéticos.

Levantou-se outro questionamento: em que momento os vírus surgiram? Estudos moleculares em fósseis de dinossauros mostraram a presença de vírus neles. Na pré-história, foram encontrados relatos que mostram algumas doenças com características do sarampo e varíola nos seres humanos nômades. Ainda, relatos de mil anos a.C, descrevem que animais raivosos poderiam provocar doenças. Por exemplo, Aristóteles associa doenças à animais.

Em meados do século XI, na China, há informações que pessoas infectadas com varíola poderiam ficar protegidas após terem tido a doença e sido curadas. No final do século XVIII, os pesquisadores começaram a acreditar que os vírus existiam e que eles eram líquidos, visto que passavam por filtros, diferentemente de outros microrganismos como as bactérias.

Quando pensamos nesses agentes, sempre os associamos a doenças. Entretanto, vivemos em um meio ambiente viral, isso significa que eles estão presentes em todo lugar, incluindo a água, o ar, os alimentos, o corpo humano, entre outros.

Os vírus fazem parte da microbiota humana, que consiste em um conjunto de microrganismos que coabita os indivíduos. O termo *Viroma* descreve o conjunto de patógenos que compõem essa microbiota, a qual estudos mostram que 67.7% é formada por vírus e que estão localizados em todos os órgãos. Mas, por que existe no genoma humano material genético viral? Isso é possível porque vivemos em um mundo repleto de vírus e somos infectados por eles o tempo todo, mas uma minoria deles é capaz de causar doenças. Essa convivência sustentada só se dá, pois os seres humanos possuem uma resposta imunológica, a qual consegue identificar e responder de forma específica contra esses agentes. Sendo assim, é possível definir os vírus como vilões que deixam os seres humanos doentes? Não, pois se sabe que a microbiota humana traz benefícios nos processos fisiológicos como a digestão, transporte e absorção de nutrientes, metabolismo, imunomodulação e proteção contra agentes patogênicos (LEITE *et al.*, 2014).

É importante destacar que cerca de 60% das doenças são de etiologia viral, mas a grande maioria delas pode ser assintomática. Um exemplo é a COVID-19, doença causada pelo novo coronavírus, o SARS-CoV-2 (Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave). O seu quadro clínico varia de assintomático

a doença severa. Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 80% dos pacientes acometidos pela COVID-19 apresentam o quadro assintomático ou oligossintomático (poucos sintomas) e os 20% restantes correspondem aos casos que necessitam de atendimento hospitalar (BRASIL, 2020).

Diante disso, qual o principal fator que leva as pessoas a desenvolverem ou não uma doença viral? Esse fator é o sistema imunológico e ele reage de forma diferente em cada organismo, e dependendo de sua resposta, o paciente pode ou não manifestar a doença. Alimentação adequada, atividades físicas regulares, melhoria da qualidade do sono e controle do estresse são atitudes que fortalecem o sistema imunológico e contribuem para a prevenção de doenças (MINUSSI *et al.*, 2020).

Domingues (2020) traz em seu artigo as 15 maiores epidemias e pandemias da história da humanidade, dentre elas, temos grandes devastações populacionais causadas por doenças de etiologia viral. É marcante que o surgimento de doenças virais como a gripe asiática, a gripe aviária H5N1, a gripe de Hong Kong, SARS-CoV-1 e SARS-CoV-2 tenham como origem o continente asiático. A falta de respeito do homem pela natureza tem causado desequilíbrios e tem papel crítico no surgimento de novas doenças infecciosas.

Existem neoplasias de etiologia viral. Como alguns exemplos temos o papiloma vírus humano (HPV), o vírus da hepatite B e C (HBV e HBC), herpesvírus humano 8 (HHV-8), vírus linfotrópico da célula T humana tipo 1 (HTLV-1), poliomavírus de células de Merkel (MCV) (BRUBAKER, 2019). Outro vírus tumoral é o poliomavírus símio 40 (SV40), o qual tem a capacidade de imortalizar uma célula, ou seja, faz com que a célula não pare de se proliferar. Em modelos animais, as neoplasias induzidas pelo SV40 incluem os cânceres cerebrais primários, mesoteliomas malignos, tumores ósseos e linfomas sistêmicos (VILCHEZ; BUTEL, 2004). Estudos mostram que os enterovírus estão envolvidos na patogênese do diabetes do tipo 1 e em 60% das crianças diabéticas, foram encontrados enterovírus no pâncreas (MORAIS, 2009).

Quanto à estrutura do vírus, ele é formado por material genético (DNA ou RNA) e capsídeo protéico. Adicionalmente, alguns vírus possuem um envelope lipídico. O capsídeo apresenta duas funções primordiais, rigidez e proteção. Mas,

além disso, ele também dá forma ao vírus e ainda permite que este interaja com a célula que vai infectar. Quanto ao formato, o capsídeo apresenta três tipos básicos: helicoidal, em forma de hélice/espiral; icosaédrica, quando forma vários vértices/triângulos; e complexo, emaranhados proteicos. Ele também pode ter uma formação simétrica e, além disso, é capaz de se autoencapsular, sendo chamadas de partículas vírus-like (VLP). Inclusive, a VLP é utilizada para produção de algumas vacinas: o processo de produção é recombinante e consiste em infectar leveduras que vão expressar as proteínas do capsídeo e formar as VLP's. Estas não podem se replicar, pois não possuem o material genético, é só uma estrutura de proteínas. Esse processo também pode ocorrer de forma natural quando os vírus infectam as células.

O envelope é uma estrutura que alguns vírus possuem e está relacionado ao tipo de célula a qual o vírus está infectando, ou seja, o envelope é derivado de membranas das células que foram infectadas por eles. Os vírus codificam proteínas que são expressas no envelope. Essas proteínas apresentam dois domínios, o domínio exterior que está relacionado com a capacidade do vírus de se fixar e de permitir a entrada dele em uma nova célula. Já o domínio interior é importante na formação de novas partículas virais.

Sabe-se que o capsídeo é uma estrutura que todos os vírus têm, mas o envelope nem todos apresentam, sendo assim, qual seria o alvo mais claro para o sistema imunológico? Como o vírus envelopado apresenta proteínas virais específicas na sua membrana, ele se torna um alvo mais fácil para o sistema imune. O capsídeo é formado por proteínas enquanto o envelope é formado por glicoproteínas e lipídios, assim os vírus não-envelopados são considerados mais resistentes às condições ambientais. Além das proteínas estruturais que compõem o capsídeo, o seu interior contém as não estruturais, frequentemente enzimas que os vírus precisam para sobreviver em determinada célula.

Em termos de genoma, os vírus apresentam o ácido nucléico expresso em diferentes formas: DNA – fita dupla, linear ou circular ou RNA – fita simples, dupla, em sentido positivo (sentido do RNA 5'-3') ou negativo (sentido do RNA 3'-5').

Quanto à sua classificação taxonômica, os critérios mais utilizados são a natureza e a estrutura do ácido nucléico, ou seja, se é DNA ou RNA, fita simples ou dupla, sentido positivo ou negativo, a simetria do capsídeo (se tem ou não envelope e o tamanho da partícula).

Quanto à replicação viral, compreende-se que para o vírus se replicar, ele precisa infectar uma célula. A primeira etapa da infecção viral é chamada de adsorção e consiste no vírus se fixar na célula e utilizar um receptor celular. A segunda é a penetração, onde ele pode penetrar utilizando uma proteína que permite a sua entrada. A terceira é o desnudamento, nessa fase o conteúdo do capsídeo contendo o seu material genético é exposto no citoplasma ou no núcleo. A quarta etapa é a replicação, onde ele usa ou expressa as proteínas necessárias para se replicar, ou seja, para fazer cópias dos seus genomas. A quinta etapa é a montagem, nessa fase novas partículas virais são construídas. A sexta etapa, e última, é a liberação, o que pode ocorrer após a lise celular ou pelo brotamento do vírus através da membrana celular.

O novo coronavírus, o SARS-CoV-2, tem apresentado etapa de replicação incomum, pois foram encontradas vesículas membranosas no citoplasma das células infectadas contendo vírus em replicação. Este vírus pode estar utilizando essa estratégia para diminuir a ativação/sinalização da resposta imunológica. A proteína *Spike* (S), presente no envelope do SARS-CoV-2, faz a fixação e o ajuda a entrar na célula. Mas, para que os vírus penetrem e se repliquem nas células, é necessário que ela apresente duas características, a suscetibilidade, que consiste na presença de um receptor que permite ou não a sua penetração; e a permissividade, que é a sua permissão para que determinado vírus se replique dentro dela. Ela é considerada resistente quando estas condições não são atendidas.

A partir da infecção viral, algumas características podem ser notadas, como o efeito citopático e a formação de sincícios. O efeito citopático são danos que os vírus podem causar e que podem levar à morte celular, mas nem todo patógeno tem esse efeito. É possível observá-lo em cultura celular *in vitro*. O SARS-CoV-2 apresenta esse efeito. Já a formação de sincícios é observada quando as células infectadas começam a se fundir e formar células gigantes multinucleadas. Os

vírus induzem esse efeito e embora seja uma forma das células responderem a esse ataque viral, isso acaba sendo bom para o patógeno, visto que ele consegue se camuflar do sistema imune invadindo novos alvos celulares sem exposição ao meio extracelular. Há indícios que também seja uma característica do SARS-CoV-2.

- **Conceitos importantes para entendermos melhor a transmissão viral:**

Patogênese viral - é como o agente infeccioso causa doenças no hospedeiro. A patogênese do vírus é dividida em 2 etapas: a primeira consiste nos efeitos da replicação do vírus no hospedeiro, ou seja, como o corpo reage a isso. A segunda etapa são os efeitos da resposta imunológica do hospedeiro diante do vírus no corpo do infectado.

Imunopatogênese - é o termo utilizado para os danos causados pelo sistema imunológico em resposta à presença do patógeno viral.

Infecção - é a invasão e multiplicação de um patógeno no organismo, podendo ou não causar doenças. É possível ter a presença do vírus, mas não ter a manifestação da doença. Ela é aguda quando o processo infeccioso e de doença dura dias a semanas, e crônica quando é uma infecção de longa duração. Temos também as **infecções** subclínicas, que consistem em quadros de infecções assintomáticas.

Período de incubação - é o intervalo de tempo entre a infecção até o aparecimento dos primeiros sintomas. Nele, replicações virais estão acontecendo e a infecção está se estabelecendo, e nesse momento, o sistema imune começa a reagir. Depois desse período, inicia o processo da doença. A partir disso, pode ou não ocorrer a transmissão viral para outro hospedeiro e o SARS-CoV-2 é um exemplo de vírus que apresenta transmissão neste período.

Transmissão viral - pode ocorrer de duas formas, horizontal ou vertical. A horizontal é quando a transmissão ocorre de pessoa-a-pessoa, de forma direta ou indireta. Esta última ocorre através de veículos ou fômites - o vírus é transportado de um lugar para outro através de um objeto - e vetores - sendo um outro agente biológico necessário para o vírus concluir o seu ciclo de transmissão. Ex: insetos. A transmissão vertical é quando o vírus passa da mãe para o feto.

- **Foram abordados também alguns conceitos epidemiológicos:**

A **prevalência** mede a proporção de indivíduos em uma população que está acometida pela doença em um determinado momento. Já a **incidência** refere-se ao número de novos casos que ocorrem em uma população em risco durante um determinado período de tempo (WAGNER, 1998).

É denominado **surto** há um aumento inesperado do número de casos de uma doença em uma região específica.

A **endemia** é quando uma doença se manifesta com frequência e somente em determinada região. Já a **epidemia** acontece quando existe a ocorrência de surtos da doença em várias regiões. Como exemplos de epidemias brasileiras têm a Dengue, Zika e Febre Amarela. A **pandemia** é quando determinada doença alcança um número alto de casos e se espalha por diversas regiões do mundo. Como exemplos têm a Gripe Espanhola, a Gripe Suína e a Covid-19.

A **mortalidade** refere-se ao conjunto de indivíduos que morreram em um dado intervalo do tempo. Já a **morbidade** refere-se ao conjunto de indivíduos que adquirem doenças em uma determinada população e isso interfere na qualidade de vida deles, porque podem trazer prejuízos psicológicos, econômicos, culturais e sociais (PEREIRA, 2004).

A **Virulência** é a capacidade do agente infeccioso de causar doenças, e isso pode estar relacionado à capacidade de produzir toxinas e também de se multiplicar (PEREIRA, 2004).

A **imunidade de rebanho** é o efeito de proteção que surge em uma população quando uma porcentagem alta de pessoas se vacinou contra certa doença (INSTITUTO BUTANTAN, 2020).

Doença Emergente é o surgimento ou a identificação de um novo problema de saúde ou de novo agente infeccioso e **doenças reemergentes** indicam mudança no comportamento epidemiológico de doenças já conhecidas, que haviam sido controladas, mas que voltaram a representar ameaça à saúde humana (PAZ; BERCINI, 2009).

- **Exemplos de vírus causadores de doenças humanas:**

HPV – é a sigla para o Papilomavírus Humano e pertence à família *Papillomaviridae*, é um vírus de DNA de dupla fita circular que não apresenta

envelope. Ele infecta a pele e mucosas (oral, genital e anal) e pode provocar verrugas nessas regiões. A sua transmissão ocorre por via sexual, sendo então uma Infecção Sexualmente Transmissível (IST). Esse vírus fica latente no organismo e com a eventual diminuição da resposta imunológica, pode resumir a sua replicação e levar ao aparecimento das lesões. Para a prevenção, temos a vacina contra o HPV. Ela é disponibilizada gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e indicada para meninas de 9 a 14 anos, meninos de 11 a 14 anos, pessoas com HIV e pessoas na faixa etária de 9 a 26 anos que receberam transplantes (BRASIL, 2020). Cabe ressaltar que a vacina tem maior eficácia quando é aplicada em indivíduos que não tiveram contato com o vírus, caso contrário, a sua eficácia pode diminuir em até 60%.

Hepatite B – pertencente à família *Hepadnaviridae* possui dupla fita de DNA circular e apresenta envelope. A sua transmissão se dá pelo contato direto de fluídos corporais e também pela via vertical. Geralmente as pessoas infectadas por esse vírus não apresentam sintomas iniciais e isso dificulta o diagnóstico precoce. Então, para prevenir tal patologia é recomendada a vacinação que também é disponibilizada pelo SUS.

Citomegalovírus – é um vírus pertencente à família *Herpesviridae*, de fita simples e DNA linear, capsídeo icosaédrico e envelopado. A sua transmissão ocorre de forma horizontal e vertical. A sua manifestação clínica se dá pelo aparecimento de lesões nas mucosas especialmente durante um evento de imunodeficiência, ou seja, a resposta imune diminui e ele se sente “à vontade” para se multiplicar de forma mais rápida. Essas lesões podem ocorrer após uma exposição solar prolongada, estresse, ansiedade, febre, entre outros fatores.

Vaccínia – é o agente etiológico da Varíola humana. Ele pertence à família *Poxviridae*, é de fita dupla de DNA linear, icosaédrico e envelopado. A sua replicação ocorre no citoplasma da célula. A sua transmissão ocorre de pessoa-a-pessoa através de gotículas e aerossóis e o seu período de incubação varia de 10 a 14 dias após exposição ao agente. O Brasil recebeu o Certificado Internacional de Erradicação da Varíola em 1973. Com a erradicação da doença, a vacinação foi excluída da rotina dos serviços de saúde pública (BRASIL, 2002).

Influenza – vírus que pertence à família *Orthomyxoviridae*, de RNA de fita simples, polaridade negativa, helicoidal e envelopado. É possível observar que esse vírus é muitas vezes denominado por uma letra e um número, Ex: H1N1. Isso ocorre porque ele apresenta em seu envelope duas proteínas não estruturais denominadas de hemaglutinina (H) e neuraminidase (N). Tais proteínas podem sofrer mutações e quando isso acontece, a resposta imunológica pode não reconhecer o vírus. Portanto, a vacina fabricada tem como alvo essas proteínas e precisamos ser vacinados todos os anos por causa dessas mutações.

HIV – é a sigla para o Vírus da Imunodeficiência Humana, pertencente à família *Retroviridae*, possui RNA de fita simples e polaridade positiva. A sua transmissão ocorre por via sexual, através do sangue e por via vertical. É um retrovírus, isso significa que ele é um vírus de RNA e quando ele vai se replicar gera um cDNA (DNA Complementar) intermediário para produzir novos genomas de RNA, um processo de transcrição reversa. A transcriptase reversa viral é a enzima necessária para este processo e como os seres humanos não a possuem, tal enzima é alvo para a formulação de drogas antivirais.

Rhabdoviridae - é uma família de vírus da qual faz parte o vírus da raiva. Tem como material genético, o RNA de fita simples, polaridade negativa, e é um vírus envelopado. Ele circula muito bem entre animais, são os grandes transmissores desse vírus e podem apresentar ou não manifestações clínicas. Animais infectados devem ser eutanasiados e os humanos precisam ser tratados de imediato. Ele tem um período de incubação muito longo, em média 45 dias, e o tratamento só é eficaz quando a pessoa que teve contato com o animal raivoso fez o tratamento profilático antes dos sintomas aparecerem.

Filoviridae – é uma família de vírus cujo integrante mais famoso é o Ebolavirus. Possui RNA de fita simples, polaridade negativa, capsídeo helicoidal e envelope. Espécies de morcego são o reservatório mais provável na natureza. O indivíduo infectado apresenta inicialmente sintomas de resfriado, mas a evolução do quadro pode ser rápida, com hemorragia e alta letalidade. A sua transmissão ocorre pelo contato com sangue, tecidos ou fluidos corporais de animais e indivíduos infectados (incluindo cadáveres) e também por objetos contaminados.

O período de incubação varia entre 2 a 21 dias e nesse período não ocorre transmissão.

▪ **Como são feitos os diagnósticos de infecções virais?**

Existem dois tópicos essenciais para o diagnóstico de uma infecção viral. O primeiro é a anamnese, que inclui uma entrevista detalhada com o paciente. Esse contato é essencial para ouvir o que ele tem a nos dizer. O segundo é saber o período em que o paciente começou a apresentar os sintomas, já que através disso, é possível selecionar o teste laboratorial correto. Pode ser o teste direto, que nos permite identificar a presença do vírus no organismo, ou o teste indireto, que detecta a resposta imunológica do hospedeiro frente aquele patógeno. Então, temos então os seguintes métodos de diagnósticos:

Clínico – não é um diagnóstico específico, ou seja, que mostre qual é o agente patogênico.

Sorológico – detecta proteínas que estão presentes na corrente sanguínea e que reconhecem especificamente porções do vírus. São os anticorpos.

Molecular – identifica o material genético (DNA ou RNA) do vírus.

Microscopia Eletrônica – temos a possibilidade de ver a presença do vírus. Pouco usado.

Cultura Celular – observa a presença de partículas infecciosas e se ocorre o efeito citopático. Vírus que não causam esse efeito dificultam esse método. Em pesquisas com os SARS-CoV-2, verificou-se que ele apresentou lesões na cultura celular em 4 horas de incubação.

Imunofluorescência – utiliza microscopia e anticorpos marcados com substâncias fluorescentes para identificar o vírus.

Teste Antigênico – é um teste imunológico onde se pesquisa frações do vírus no paciente.

Elisa – é possível quantificar *in vitro*, os anticorpos do paciente, usando uma estrutura do vírus para testar se existem anticorpos específicos para ele ou não.

Teste Rápido – quer saber se o paciente tem a presença do anticorpo ou do antígeno e pode ser realizado ambulatorialmente.

Padrão Ouro - é o exame de referência. Pode ser realizado pelo isolamento do vírus ou utilizar técnicas moleculares de identificação do material genético. O RT-

PCR (reação de cadeia da polimerase com transcrição reversa) é o teste padrão ouro para o diagnóstico da COVID-19. Nele, é possível amplificar o material genético do vírus e quantificá-lo. Para fazer a utilização desse teste, o paciente precisa estar nos primeiros dias de sintomas. Após 15 dias do início dos sintomas, deve ser utilizado o teste sorológico.

Pandemia da COVID-19

Em dezembro de 2019, em Wuhan, na China, foram reportados casos de pneumonia atípica. Constatou-se que vários pacientes acometidos por essa doença tinham ido ao mercado de frutos do mar e comidas exóticas locais. Os números de casos aumentaram e no dia 31 de dezembro de 2019, a Organização Mundial da Saúde (OMS) alertou o mundo sobre a doença que estava levando a quadros de pneumonia na China.

No dia 11 de janeiro, a China comunicou a primeira morte em decorrência da nova doença e um mês após isso, a doença ganhou o nome de COVID-19, que significa “Doença do Coronavírus 2019”. No dia 11 de março, a ONU decretou estado de pandemia e não demorou muito para chegar ao número de 1 milhão de pessoas infectadas. No Brasil, o primeiro caso foi confirmado na quinta-feira após o carnaval, no dia 28 de fevereiro de 2020.

Dentro da árvore filogenética dos sete coronavírus que infectam humanos, quatro estão relacionados com resfriados comuns e os três restantes estão envolvidos com o desenvolvimento de doenças respiratórias mais graves: o SARS-CoV (2002), o MERS-CoV (2012/2013) e o SARS-CoV-2 (2019).

O vírus SARS-CoV-2 é de RNA fita simples, polaridade positiva, envelopado e com um genoma de aproximadamente 30 mil bases (kb). Quanto aos sintomas da COVID-19, comumente o paciente apresenta febre, tosse seca, coriza, dor de garganta, dificuldade para respirar, astenia, hiporexia, dispneia, anosmia, ageusia e também são relatados distúrbios gastrointestinais. Vários casos são assintomáticos.

Resposta Imune Inata Contra os Vírus

A Imunidade Inata/Natural é a primeira linha de defesa contra os agentes infecciosos. Ela reage rapidamente, no entanto, sua resposta é a mesma frente a infecções repetidas. A resposta imune inata contra infecções virais em humanos, é mediada principalmente pelos efeitos de Interferons do tipo I (IFN- α e IFN- β) e pela ação das células NK (*Natural Killer*).

As células da imunidade inata possuem receptores de reconhecimento padrão (PRR's) que detectam substâncias presentes no patógeno e chamadas de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPS). A partir desse reconhecimento, ocorrem vias de sinalização intracelular que induzem a produção de interferons do tipo I:

- **Via TLR's de detecção de infecção viral** – células do sistema imunológico, como as células dendríticas convencionais e as plasmocitóides, apresentam vários PRR's como, por exemplo, o TLR3 (receptor similar à *Toll* 3). Tais receptores detectam RNA de fita dupla no interior de endossomos. Existem também moléculas que detectam RNA de fita simples, como o TLR7 e TLR8. Após a detecção, ocorre a ativação de uma cascata intracelular de proteínas que alcança os fatores reguladores de interferon (IRF's) IRF-3 e IRF-7. Estes chegam ao núcleo e induzem a expressão de genes de interferon do tipo I. Essa cascata de sinalização intracelular também pode levar a produção de citocinas pró-inflamatórias através da molécula NF- κ B (fator nuclear kappa B).
- **Via STING (estimulador de gene do interferon)** – a molécula STING está ligada ao retículo endoplasmático. Essa via utiliza sensores de DNA citosólicos. O DNA viral é capaz de estimular essa via e é detectado pela proteína cGAS e, a partir disso, produz o cGAMP, através do GTP e ATP. Em seguida, a STING é ativada e fosforila os fatores de transcrição (IRF-3 e IRF-7) que induzem a síntese de interferon do tipo I. A ativação dessa via também pode levar ao processo de *autofagia*, que consiste na formação de vesículas citoplasmáticas para englobar organelas. Essa vesícula se funde com o lisossomo e dá origem aos fagolisossomos e as enzimas que estão no seu interior e, posteriormente, digerem o que está dentro. Se esse processo for

ativado na imunidade inata, ocorre o englobamento de organelas e dentro delas pode ter a presença de vírus, provocando a sua destruição. Sendo assim, tal mecanismo de defesa também é ativado pela molécula STING.

- **Via RIG com RIG-I e MDA5** – eles são os sensores de RNA citosólicos. A molécula MDA5 detecta RNA's longos e o RIG-I detecta RNA's com trifosfato. Quando a via de sinalização intracelular é acionada, ocorre a indução e ativação da molécula MAVS. Ela é um sistema antiviral proteico filamentosos ligado a mitocôndria e que leva a produção de interferons do tipo I. A RNA Polimerase 3 é uma molécula que detecta DNA's de dupla fita e os transcreve. Isso significa que um vírus de DNA pode ser detectado na via RIG através da RNAPol3.

O IFN- α é mais efetivo contra infecções virais e são produzidos pelas células dendríticas, macrófagos e monócitos. O IFN- β é produzido por vários tipos celulares. No entanto, as células dendríticas plasmocitóides são as maiores produtoras do IFN-I. Essas citocinas ativam o estado de defesa antiviral e células começam a produzir substâncias que inibem a replicação viral. IFN-I também ativam as células NK que matam as células infectadas pelos vírus.

A inibição da replicação viral pode ocorrer através da produção da enzima 2-5 oligoadenilato sintase, que induz uma enzima que degrada mRNA e inibe a síntese proteica do vírus. Outra ação é através da ativação da proteína quinase (PKR) que desativa a síntese proteica e bloqueia a replicação viral.

O SARS-CoV-2 inibe a produção de interferons do tipo I e essa inibição facilita a sua replicação, o que pode levar a uma doença severa.

Resposta Imune Adaptativa Contra os Vírus

A Imunidade Adaptativa ou Adquirida é específica contra diferentes moléculas e possui memória, ou seja, ela é capaz de responder melhor a infecções repetidas. Os seus componentes são os linfócitos T e B. Os linfócitos B são responsáveis pela produção de anticorpos e os linfócitos T, responsáveis pela resposta celular, se subdividem em T-CD4 (auxiliar) e T-CD8 (citotóxico).

O linfócito T-CD4 auxilia as respostas imunes e isso inclui ativar macrófagos e neutrófilos, estimula os linfócitos B a produzirem anticorpos e aos T-CD8 a serem ativados e eliminarem células infectadas, visto que essa é a função deles. A resposta imune adaptativa contra infecções virais em humanos é mediada, principalmente, por anticorpos neutralizantes e pela ação dos linfócitos T citotóxicos.

Os anticorpos neutralizantes são produzidos nos centros germinativos dos órgãos linfóides secundários, onde os linfócitos B sofrem processos que aumentam a afinidade dos seus anticorpos pelo antígeno. Estes bloqueiam a infecção viral. Na região de ligação do anticorpo ao epítipo antigênico, que é a menor fração do antígeno reconhecida pelo anticorpo, ocorre uma substituição de aminoácidos que aumenta as forças não-covalentes de interação entre o anticorpo e o antígeno.

No caso do SARS-CoV-2, anticorpos neutralizantes atuam se ligando à proteína Spike (S), visto que é a molécula viral responsável pela ligação ao receptor celular ACE2 para infectar a célula do hospedeiro. Com a presença do anticorpo ligado na proteína S, a entrada viral na célula é bloqueada.

Os linfócitos T-CD8 efetores detectam células infectadas e tumorais. Todas as células nucleadas do nosso corpo têm uma molécula de superfície denominada de MHC-I (Complexo Principal de Histocompatibilidade Classe I). Esta molécula liga-se à peptídeos antigênicos, caso a célula esteja infectada, e os apresenta para o reconhecimento de linfócitos T-CD8. Caso reconheça e se ative, os T-CD8 efetores irão se ligar na célula-alvo e liberar grânulos contendo proteínas (perforina e granzimas) que podem levar à morte da célula infectada. A perforina abre uma passagem na membrana da célula para as granzimas penetrarem e ativarem o sistema de apoptose na célula-alvo.

Dessa forma, é possível que os anticorpos neutralizantes bloqueiem o vírus antes que eles infectem as células, no entanto, se as células já estiverem infectadas, tem-se a presença dos linfócitos T-CD8 para detectá-las e eliminá-las.

Mecanismos de Escape Viral

Evasão viral do MHC-I: alguns vírus conseguem produzir substâncias que interferem no processo de apresentação do peptídeo viral pelo MHC-I e inibem sua expressão na superfície celular. Isso atrapalha a ação do T-CD8 e facilita a camuflagem desses vírus. No entanto, as células NK analisam as células infectadas e se elas apresentam baixos níveis de MHC-I, são mortas pelas NK.

Deriva Antigênica: o vírus da gripe apresenta duas proteínas na sua superfície que são identificadas pelo sistema imunológico, são elas: hemaglutinina (HA) e neuraminidase (NA). Com o tempo, essas moléculas sofrem mutações provocando mudanças na sua estrutura, o que é chamado de deriva antigênica e isso exige a constante formação de anticorpos específicos e produção de novas vacinas.

Recombinação Genética: esse processo se dá quando grandes porções do material genético são mudadas. Isso foi observado no vírus da gripe H1N1. Este vírus é originário de uma recombinação de material genético entre vírus de porcos com vírus de aves. Nesse caso, o vírus apresenta vários segmentos gênicos, esse processo ocorre quando um animal sofre infecção por dois vírus distintos, sendo assim, quando existe a montagem do vírus dentro da mesma célula tais segmentos podem se combinar de várias maneiras e gerar um novo vírus que pode infectar a espécie humana.

Infecção Viral em Locais Imunoprivilegiados: são lugares onde o sistema imune tem dificuldades de alcançar, como exemplo, pode ser citada a camada mais externa da pele, o interior de glândulas exócrinas, as articulações, o sistema nervoso central, os testículos, a placenta, os olhos e o DNA. Alguns vírus, como o HPV, se aproveitam disso e ficam inativos na camada mais interna da pele, e ao curso que as células vão se diferenciando em direção à superfície, eles começam a se ativar e alcançam a camada mais superficial da pele, o que facilita a transmissão para outros hospedeiros.

Escapando de anticorpos - passagem célula-a-célula: é um mecanismo utilizado por algumas bactérias, todavia, alguns vírus também são capazes de realizar e, talvez o SARS-CoV-2 seja um deles. Em vez de o vírus ir para o meio

extracelular para poder infectar outras células, ele migra diretamente de uma célula para outra, o que dificulta a ação do sistema imune.

Outros Mecanismos de Evasão Imune:

- **Produção de Receptores Homólogos de Citocinas** - citocinas são substâncias secretadas por células do sistema imune e combatem vírus, mas elas precisam se ligar aos seus receptores para gerar uma resposta. O citomegalovírus (CMV) pode produzir receptores homólogos, ou seja, para competir com os do hospedeiro. Assim, quando a citocina se ligar nesses receptores, não terá resposta específica.
- **Produção de Citocinas Imunossupressoras** - a interleucina 10 (IL-10) é um potente anti-inflamatório e desativa respostas imunes celulares. O Vírus Epstein-Barr (EBV) expressa uma citocina homóloga à IL-10 e funcional.
- **Infecção e Morte das Células do Sistema Imune** - O vírus HIV infecta e mata os linfócitos T-CD4 auxiliares e desorganiza respostas imunes celulares e humorais.
- **Inibição da Ativação do Complemento** - vírus como o HIV conseguem recrutar proteínas do nosso corpo, como o Fator H, que bloqueiam a ativação do sistema complemento.
- **Absorção de Antígeno** - o CMV se utiliza de um mecanismo que consiste em capturar uma proteína do hospedeiro humano, a B2-microglobulina, e dessa forma, impede o sistema imune de reconhecer o antígeno.
- **Infecções no Período Embrionário ou Neonatal** - vírus da rubéola, CMV e HBV são capazes de atravessar a barreira placentária e causar infecções no feto. Como a resposta imunológica ainda não está totalmente desenvolvida, a infecção pode se tornar crônica. A infecção pelo HBV também pode ocorrer durante o nascimento e pode gerar os mesmos efeitos.

Estratégias de Vacinação - I

Vacinas Vivas Atenuadas - nelas são utilizados patógenos atenuados, ou seja, não são mais capazes de causar a doença em hospedeiros saudáveis, no entanto, são capazes de gerar uma resposta imune protetora contra o vírus

selvagem. Este método foi desenvolvido por Louis Pasteur. Ele observou que ao deixar um patógeno se multiplicar fora do organismo vivo, o agente infeccioso começa a sofrer mutações que o deixam incapaz de gerar doenças. Como exemplo da utilização deste método temos:

- *Vacina da Febre Amarela:* o sangue de um paciente com febre amarela foi inoculado em macacos Rhesus que desenvolveram a infecção. O vírus desse macaco foi isolado e introduzido em outro macaco e este processo se repetiu 54 vezes. Mais tarde, o vírus foi inoculado em embriões de camundongos e esse processo foi repetido por mais 18 vezes. Em seguida, houve 58 passagens em embriões de galinha e, posteriormente, 128 passagens em embriões de galinha sem o sistema nervoso central, para que o vírus perdesse a capacidade de infectar o tecido nervoso. Depois disso, o vírus foi passado 17 vezes em subculturas de células e então, por fim, submetido a 11 passagens em ovos de galinhas embrionados. Em consequência desse processo, o vírus perdeu a patogenicidade, mas tornou-se efetivo em gerar uma resposta imune protetora contra o vírus patogênico original.

As vacinas atenuadas são capazes de simular uma infecção e elas não podem ser administradas em pessoas com imunodeficiência, porque é necessário um sistema imunológico saudável para controlar a multiplicação do patógeno atenuado. Do contrário, há um risco, embora muito pequeno, de provocar a doença. No Brasil, temos as vacinas atenuadas da varicela, febre amarela, Sabin oral (pólio), rotavírus e a tríplice viral.

Vacinas Inativadas - são vacinas que contêm o vírus inativo, ou seja, inerte. Como exemplo temos uma das vacinas da pólio. O cientista Jonas Salk isolou o vírus e o colocou para se crescer em cultura de células *in vitro*. Quando se tinha uma grande quantidade de vírus, ele adicionava formalina para inativar os vírus. No Brasil, temos a vacina da gripe utilizando este método, o desenvolvimento delas ocorre da seguinte forma: é selecionada a cepa mestre, que tem um alto crescimento em embrião de galinha e a cepa circulante do vírus da gripe do ano atual, elas são colocadas juntas no embrião de galinha e as características genéticas se misturam e, assim, é obtido o antígeno necessário para imunização da população, mas para que ela seja aplicada é necessário

inativar o vírus usando agentes como a formalina ou a beta-propiolactona. Eles preservam a estrutura antigênica, mas inativam o vírus. A inativação viral também pode ocorrer por manipulação de processos físicos, como temperatura, radiações e pH.

Quando são comparadas as vacinas vivas atenuadas com as inativadas, identifica-se que a primeira possui uma maior capacidade de ativar a resposta imunológica. Mas, para que as vacinas inativadas desenvolvam uma melhor resposta imune, são adicionadas as substâncias adjuvantes.

Adjuvantes – algumas vacinas apresentam adjuvantes na sua composição. Eles servem para ajudá-las a gerarem uma resposta imune eficiente, enquanto outras vacinas têm a própria característica de adjuvante. Eles foram descobertos em um experimento de purificação da vacina contra a Difteria. Foram utilizados sais de alumínio-potássio para precipitação da vacina, mas quando ela foi injetada em animal de experimentação, observou-se que a resposta imunológica era mais potente. Concluiu-se então que essa substância auxilia na resposta imune. O mecanismo do Alúmen é pouco conhecido, mas o que se sabe é que ele ativa o inflamassoma e ajuda a gerar respostas dos linfócitos T-auxilia do tipo 2 (Th2). Outros adjuvantes podem atuar via receptores TLR4. Eles podem ativar o sistema imune inato e induzir as células dendríticas a expressarem a molécula B7 em sua superfície. Esta se liga a molécula CD28, presente no linfócito T, e isso sinaliza para a célula T a presença do patógeno causador de infecção. A completa ativação do linfócito T depende da expressão dessas moléculas. Portanto, a utilização dos adjuvantes melhora a resposta das vacinas, aumentam a diversidade dessa resposta imune, geram respostas dos linfócitos T e reduzem o número de imunizações.

Vacinas Recombinantes – nelas são utilizadas tecnologias de engenharia genética e, como exemplo, tem-se a vacina da hepatite B. Sua produção ocorre quando o vírus da hepatite B (HBV) invade uma célula e se multiplica, ele também produz uma proteína de superfície denominada de antígeno HBsAg e esta é capaz de induzir uma resposta imune com anticorpos neutralizantes. Descoberto isso, foi possível selecionar o gene que codifica o antígeno HBs e cloná-lo em DNA

plasmidial para produzir a proteína em grandes quantidades em culturas de leveduras.

Estratégias de Vacinação - II

VLP - partículas similares a vírus - A primeira vacina licenciada como VLP foi a da Hepatite B. Outro exemplo de vacina VLP é aquela contra o HPV. A proteína L1, expressa no capsídeo do HPV, pode se montar sozinha e formar uma espécie de capsídeo. Essa estrutura que ela forma é parecida com a do vírus, no entanto, não tem material genético.

Em experimentos, foi observado que a proteína L1 era alvo de anticorpos neutralizantes e que isso era capaz de prevenir a infecção. Sendo assim, foi desenvolvida a vacina de VLP contra o HPV, que é formada basicamente pela L1. Mas, em que a vacina difere do vírus autêntico? Além da presença do material genético, o vírus tem o seu capsídeo formado pelas proteínas L1 e L2, contudo, a L1 forma a maior parte dele. Esses monômeros (L1 e L2) começam a se unir, englobam o material genético viral, e isso forma a partícula viral. Já a vacina não contém o genoma viral e nem o monômero L2.

Atualmente, há duas vacinas contra o HPV, a Cervarix, que contém o genótipo 16 e 18 do HPV, os quais são responsáveis por 70% dos casos de câncer cervical. E a Gardasil, que contém 4 genótipos, dois responsáveis por câncer cervical e dois que causam verrugas genitais. Outra vacina em estudo possui 9 genótipos. Além de causar câncer cervical, o HPV também pode causar outros cânceres, como o anal e o orofaríngeo.

Vacina contra o vírus Ebola-Zaire - ela foi aprovada em 2019 e é a primeira vacina a utilizar um vetor viral recombinante. Nessa tecnologia, é utilizado um vírus que causa estomatite vesicular, doença presente em bovinos, onde é retirado partes do genoma viral de forma que o atenua. Em seguida, é adicionado o antígeno, a glicoproteína expressa no vírus Ebola. Assim, a recombinação genética dos dois vírus forma um novo vírus denominado de rVSV-ZEBOV, que expressa na sua superfície, as glicoproteínas Ebola. O nome da vacina é Ervebo e é produzida pela Merck.

Vantagens e Desvantagens das Vacinas:

As vacinas vivas atenuadas - elas conseguem gerar uma resposta forte de anticorpos neutralizantes e gerar uma boa resposta de células T-CD4 do tipo Th1, o que as fazem combater patógenos intracelulares, além de provocarem boas respostas T-CD8, visto que se tem a multiplicação do patógeno no hospedeiro. Apresenta boa imunogenicidade e é necessária uma dose única. Quanto às desvantagens, é uma vacina que tem que ser bastante segura e pessoas imunodeprimidos não devem tomá-la. Existem casos de reversão, onde a vacina da pólio se multiplicou por muito tempo no tubo digestivo e isso gerou uma mutação que conseguiu reverter para forma patogênica.

Vacina viva inativada - gera uma boa resposta de anticorpos neutralizantes. A resposta Th1 e Th2 não é muito boa e depende do adjuvante. A resposta T-CD8 é fraca e a imunogenicidade no geral é fraca, o que se faz necessário várias doses. Todavia, são bastante seguras.

Vacina proteica/subunidade - apresenta forte indução de anticorpos neutralizantes. A resposta Th1 e Th2 depende do adjuvante e a de TCD8 é fraca. A imunogenicidade necessita de várias doses para ser obtida. Porém, são muito seguras. Como exemplo, pode-se citar a vacina de VLP.

Vacina com vetor viral recombinante - resposta forte de anticorpos neutralizantes, T-CD4 (Th1) e T-CD8. Imunogenicidade é boa e pode ser suficiente apenas uma única dose.

Plataformas Utilizadas para o Desenvolvimento de Vacinas contra a COVID-19

As vacinas em desenvolvimento para a COVID-19 vêm de plataformas adaptadas, ou seja, as plataformas já existiam e estão sendo readequadas para a manufatura da vacina contra o SARS-CoV-2. A proteína *Spike* é o maior foco para o desenvolvimento de vacinas. Ela é uma proteína que apresenta um domínio S1 e outro domínio S2 e a região da proteína que se liga especificamente ao receptor da enzima conversora de angiotensina II (ACE2) é chamada de domínio de ligação ao receptor (RBD). Nos vírus SARS-CoV e MERS-CoV, foi observado que a proteína *Spike* era alvo de anticorpos neutralizantes e impedia os vírus de

penetrar nas células, o que reforçou o foco nesta proteína para a fabricação de vacinas. A seguir, plataformas de desenvolvimento de vacinas contra a Covid-19:

Vacinas Inativadas: as vacinas inativadas são feitas a partir do vírus SARS-CoV-2 que é cultivado através de células e, em seguida, quimicamente inativado. São adicionados adjuvantes como o alúmen. É importante destacar que algumas vacinas inativadas não se originam do vírus SARS-CoV-2. São utilizados outros tipos de vírus modificados geneticamente para que codifiquem cópias da proteína *Spike*, cultivados e mais tarde inativados com agentes como a beta-propiolactona.

Vacinas de Proteínas: tem a opção de usar apenas a região RBD ou a proteína *Spike* inteira. Aqui também são utilizados adjuvantes. Algumas construções podem ser classificadas como nanopartículas, o que aumenta a imunogenicidade da vacina.

Vacinas de mRNA: é uma vacina de ácido ribonucleico que codifica a proteína S e está envolvida em uma nanopartícula lipídica. Após a inoculação, o mRNA expressa a proteína S no citoplasma da célula do hospedeiro.

Vacinas de DNA: o gene viral é clonado em um plasmídeo bacteriano, que é um DNA circular de bactéria. Quando se injeta a vacina, o DNA entra no núcleo de nossas células e produz a proteína. É feito o uso de procedimentos para facilitar a entrada no DNA nas células como a eletroporação aumenta a imunogenicidade da vacina.

Vacina com Vetor Viral Recombinante: nela é usado um adenovírus mutante e recombinante, onde foram retirados genes que permitem a sua replicação. Assim, ele não é capaz de causar doenças. Ele infecta as células e induz a expressão da proteína S viral.

Vantagens e Desvantagens

Vacinas de RNA ou mRNA ou saRNA (*self-amplifying* RNA) - apresentam respostas de anticorpos neutralizantes mais fortes do que as vacinas inativadas, resposta Th1 e Th2 dependendo do adjuvante. A intensidade da resposta T-CD8 é média e a imunogenicidade não é boa, uma vez que essas vacinas precisam de mais de uma dose. Todavia, os ensaios clínicos demonstraram segurança na sua

aplicação. O saRNA significa que o RNA se auto replica na célula e aumenta a quantidade de moléculas intracelularmente.

Vacinas de DNA: apresenta boa resposta de anticorpos neutralizantes e geralmente tem uma boa resposta de Th1 sem adjuvantes porque o DNA bacteriano é diferente do nosso, então o TLR9 reconhece o DNA estranho e a resposta é do tipo Th1. A resposta T-CD8 é fraca. A imunogenicidade é menor do que nas vacinas de RNA e precisa de mais de uma dose.

As vacinas por via mucosa podem ser necessárias contra a COVID-19 e, após a infecção pelo SARS-CoV-2, o paciente terá anticorpos IgA nas mucosas impedindo a entrada do vírus e anticorpos IgG nas secreções dos pulmões. Com a vacinação via mucosa nasal, é possível ter a resposta de anticorpos IgA, no trato respiratório superior e no inferior. Além disso, é possível desencadear respostas de IgG, bem como conseguir o recrutamento de células T-CD8 de memória nos pulmões.

Terapia com Bacteriófagos

Bacteriófagos são vírus que infectam bactérias. Eles foram descobertos em 1915 e o médico inglês Frederick Twort fez o primeiro relato sobre eles. De início, ele observava que as bactérias morriam e quem fazia isso era uma substância que se multiplicava. Naquele tempo, os vírus ainda não haviam sido descobertos. Felix D'Herelle (1917) também observou que em pessoas que tinham diarreia e que suas fezes continham elementos que induziam a morte de bactérias, esse processo ele denominou de bacteriófagos (comedor de bactérias). Para ter certeza de que não se tratava de outra bactéria, a substância foi passada em filtro de porcelana e os bacteriófagos conseguiram passar pelo filtro.

Foi sugerido que os bacteriófagos poderiam ser utilizados para curar doenças bacterianas. Os cientistas D'Herelle e George Eliava começaram a trabalhar com a terapia de fagos e existiram vários relatos de que essa terapia funcionava, o que foi muito comum entre os anos 1920 e 1940. A partir daí, surgiram os antibióticos, todavia, atualmente, devido à resistência a eles, a terapia de fagos vem sendo analisada para tratar as doenças bacterianas.

Os bacteriófagos são os organismos que existem em maior quantidade no mundo e grande parte ainda não foi identificada. Eles são bem específicos, isso significa que para cada espécie de bactéria existe um bacteriófago específico que será capaz de infectá-las. Eles apresentam dois ciclos de vida, o lítico e o lisogênico. O mesmo bacteriófago pode passar pelos dois ciclos ou apenas um. No lítico, o bacteriófago invade a bactéria e libera seu material genético que começa a comandar a síntese das proteínas e formar novas partículas virais. Depois, pode ocorrer a lise da célula hospedeira liberando os *vírions* para infectar outras bactérias. Já no ciclo lisogênico, o bacteriófago incorpora o seu material genético ao DNA bacteriano, ou seja, o DNA viral torna-se parte do DNA bacteriano e com isso ele só se replica quando a bactéria se replica. Em determinadas condições, como a radiação, o bacteriófago pode se reativar e iniciar o ciclo lítico.

Eles também apresentam um papel na patogenicidade e evolução bacteriana. As bactérias e os bacteriófagos sofrem evolução em conjunto, ou seja, enquanto os bacteriófagos estão infectando e se multiplicando, as bactérias também podem apresentar mecanismos para evitar que esses processos ocorram e combater os bacteriófagos. O processo de transformação bacteriana ocorre quando a bactéria absorve e incorpora ao seu material genético fragmentos de DNA de outras bactérias. Isso pode ocorrer quando o bacteriófago se multiplica e lisa a bactéria e expõe o seu DNA.

A transdução se divide em generalizada e especializada. A generalizada ocorre quando há transferência do DNA bacteriano e quando o bacteriófago for infectar outra bactéria, através disso ocorre transferência desse material genético e isso pode induzir recombinações. A especializada ocorre quando os bacteriófagos captam partes específicas do material genético da célula hospedeira e quando infectam uma nova bactéria. Eles integram o profago ao DNA bacteriano e isso também pode induzir novos fenótipos.

O Brasil Na História da Terapia Com Bacteriófagos - O cientista José da Costa Cruz foi um dos primeiros cientistas a utilizarem os bacteriófagos para o tratamento da disenteria bacteriana, em 1921, no momento que ocorria uma epidemia de disenteria, em Minas Gerais. Foi criado um produto denominado de

bacteriofagina disenterica e, a partir dele, foi possível observar melhoras significativas nos pacientes que faziam o uso desta terapia.

Vírus Oncolíticos - é a utilização de vírus para eliminar cânceres. Alguns vírus têm afinidade pelas células tumorais, as infectam e as destroem. No entanto, esse processo também pode acontecer quando há modificações nos vírus em laboratórios, permitindo que eles tenham afinidade e infectem apenas as células tumorais, de modo que poupem as células saudáveis. A regressão do câncer por vírus oncolíticos é um processo imunogênico e acontece porque a imunidade inata é ativada. Quando as células tumorais se rompem devido à infecção, também são liberados PAMP's e os DAMP'S (Padrões Moleculares Associados a Danos), o que induz ativação das células dendríticas através do reconhecimento destes PAMP'S e DAMP'S. Sendo assim, elas migram para os linfonodos próximos ao tumor e ativam as células T-CD8 citotóxicos, os quais são a principal linha de defesa contra os tumores na imunidade adaptativa.

Métodos de Tratamentos para Infecções Virais

A infecção viral é causada por vírus que invadem as células dos seres vivos e se multiplicam o que ocasiona um desequilíbrio no organismo e gera manifestações clínicas. Elas dependem da virulência do vírus e da susceptibilidade do hospedeiro.

É possível identificar duas famílias de vírus que apresentam infecções específicas e comuns, os adenovírus, que causam infecções no trato respiratório superior, como resfriados e conjuntivites; e os enterovírus, que causam infecções no trato gastrointestinal.

Tratamentos para Infecções Virais - um dos métodos de tratamento é através de medicamentos sintomáticos, que tratam os sintomas que o paciente está sentindo, não usa um antiviral específico. Outro método são os antivirais, que são medicamentos para a infecção viral. O problema é que não existem antivirais específicos para cada vírus.

Diferença entre antivirais e antibióticos - como já mencionado anteriormente, os antivirais tratam infecções virais e também são utilizados para preveni-las, enquanto que os antibióticos atuam em infecções bacterianas.

Antivirais - são classificados de acordo com o seu mecanismo de ação, são eles:

- **Inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa** - ele se incorpora na fita do DNA do vírus, o que a torna defeituosa e impede a replicação viral.
- **Inibidores não-nucleosídicos da transcriptase reversa** - também atuam sobre a enzima transcriptase reversa e bloqueiam diretamente sua ação e multiplicação do vírus.
- **Inibidores de protease** - depois da tradução, o mRNA codifica as proteínas. Posteriormente, a protease viral converte essas proteínas virais em proteínas estruturais e funcionais. Sendo assim, quando o fármaco inibe a protease viral, o patógeno fica incapaz de se multiplicar e gerar a infecção.
- **Inibidores da DNA polimerase** - inibem a síntese do DNA viral.
- **Inibidores de fusão do HIV** - impedem a ligação e entrada do vírus nos linfócitos T-CD4.
- **Inibidores da liberação e desmontagem viral** - inibem a neuraminidase. Essa enzima auxilia o vírus a sair da célula para infectar outras e faz com que estes fiquem bloqueados na célula hospedeira.
- **Imunomoduladores** - são utilizados em infecções virais e contribuem para o fortalecimento do sistema imune, o que pode inibir a replicação viral mesmo não sendo um antiviral específico.
- **Coquetel para HIV** - é o uso simultâneo de diferentes medicamentos antivirais para evitar o escape do HIV por mutação. Apresenta um custo caro, mas é disponibilizado pelo SUS. Não são capazes de curar o paciente soropositivo para o HIV, no entanto, ele aumenta o tempo e a qualidade de vida do indivíduo. Apresentam efeitos colaterais como náuseas, dor de cabeça, diarreia e lipodistrofia. Os medicamentos presentes no coquetel são classificados de acordo com o seu mecanismo de ação.
- **Profilaxia pós-exposição (PEP)** - é o coquetel do HIV do dia seguinte. Recomenda-se seu uso em até 72 horas após a exposição e também são

disponibilizados pelo SUS. Pode ser utilizado em casos de relações sexuais inseguras, abusos sexuais e acidentes com perfurocortantes. O seu uso deve ser feito de uma a duas vezes por dia durante 28 dias.

Referências

AS 15 MAIORES epidemias e pandemias da história. In: DOMINGUES, Joelza Ester. **Ensinar História**. [S. l.: s. n.], 17 mar. 2020. Disponível em <https://ensinarhistoriajoelza.com.br/as-maiores-epidemias-e-pandemias-da-historia/>. Acesso em: 31 ago. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sobre a doença. In: **Ministério da Saúde**. Brasília: MS, [2020]. Disponível em: <https://coronavirus.saude.gov.br/sobre-a-doenca#:~:text=Se%20estiver%20doente%2C%20com%20sintomas,nas%20Unidades%20B%C3%A1sicas%20de%20Sa%C3%BAde%20%2F>. Acesso em: 31 ago. 2020.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica: volume II Influenza / Varíola**. Brasília: Funasa, 2002. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/guia_vig_epi_vol_II.pdf. Acesso em: 20 set. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Brasil vai incluir meninos na vacinação contra HPV**. Brasília: Ministério da Saúde, [2016]. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/outubro/11/vacinas-para-adolescentes.pdf>. Acesso em: 20 set. 2020.

INSTITUTO BUTANTAN. **Imunidade Rebanho**. São Paulo: Instituto Butantan, 2020. Disponível em: <https://coronavirus.butantan.gov.br/temp/Imunidade-de-rebanho>. Acesso em: 10 set. 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **HPV e outras infecções**. Rio de Janeiro: INCA, 25 mar. 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/causas-e-prevencao/prevencao-e-fatores-de-risco/hpv-e-outras-infecoes>. Acesso em: 1 set. 2020.

LEITE, L. *et al.* Papel da microbiota na manutenção da fisiologia gastrointestinal: uma revisão da literatura. **Boletim Informativo Geum**, Teresina, v. 5, n. 2, p. 54-61, 2014.

LEGENDRE, M. *et al.* Thirty-thousand-year-old distant relative of giant icosahedral DNA viruses with a pandoravirus morphology. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, Washington, v. 111, n. 11, p. 4274-4279, 2014.

MINUSSI, B. B. *et al.* Grupos de risco do COVID-19: a possível relação entre o acometimento de adultos jovens “saudáveis” e a imunidade. **Brazilian Journal of Health Review**, São José dos Pinhais-PR, v. 3, n. 2, p.3739-3762, 2020.

MORAIS, P. Vírus relacionado ao Diabetes. In: **Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia**. Rio de Janeiro: SBEM, 16 mar. 2009. Disponível em: <https://www.endocrino.org.br/virus-relacionado-ao-diabetes/>. Acesso em: 1 set. 2020.

PAZ, F. A. Z.; BERCINI, M. A. Doenças emergentes e reemergentes no contexto da saúde pública. **Boletim Saúde**, Porto Alegre, v. 23, n. 1, p. 9-13, 2009.

PEREIRA, S. D. **Conceitos e Definições da Saúde e Epidemiologia usados na Vigilância Sanitária**. São Paulo: Centro de Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo, 2007. Disponível em: http://www.cvs.saude.sp.gov.br/pdf/epid_visu.pdf. Acesso em: 10 set. 2020.

PERROTA, A. P. Serpentes, morcegos, pangolins e 'mercados úmidos' chineses: Uma crítica da construção de vilões epidêmicos no combate à Covid-19. **Dilemas: Revista de Estudos de Conflito e Controle Social**, Rio de Janeiro, p.1-6, 2020. Seção Reflexões na Pandemia.

RACANIELLO, V. The vírus and the virion. In: **Virology blog: About viroses and viral disease**. [S. l.], 22 jul. 2010. Disponível em: <https://www.virology.ws/2010/07/22/the-virus-and-the-virion/>. Acesso em: 31 ago. 2020.

VILCHEZ, R. A; BUTEL, J. S. Emergent Human Pathogen Simian Virus 40 and Its Role in Cancer. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 17, n. 3, p. 495–508, 2004.

WAGNER, M. B. Medindo a ocorrência da doença: prevalência ou incidência? **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 74, p. 157-162, 1998.

Diário de virologia: as primeiras peças de um quebra-cabeça científico

Sandrelly Mirely da Silva Santos

No século XIX, a teoria de que algumas doenças poderiam ser causadas por “seres invisíveis” começou a se popularizar. Essa ideia era considerada uma das mais absurdas pela maior parte da comunidade científica da época, afinal, todos já não haviam concordado que patologias eram causadas pelo ar ou por “sangue ruim”? Aparentemente, nem todos. Mas os estudiosos que acreditavam nesse princípio “fantasioso” de que existiam organismos minúsculos que provocavam enfermidades eram, frequentemente, criticados. Todavia, como a história costuma ser pontuada por reviravoltas, a ciência aceitou a teoria e o estudo desses seres tornou-se extremamente importante para a compreensão e tratamento de várias doenças. Os microrganismos, como hoje são chamados os tais seres invisíveis, incluem vários tipos de organismos que podem ou não ser considerados patógenos. Bactérias e protozoários são exemplos incluídos neste grande grupo e áreas específicas os estudam isoladamente, como é o caso da virologia, a ciência que estuda os vírus.

A virologia pode ser definida como o estudo dos vírus e suas propriedades. Esse termo abrange a evolução destes, sua interação com outros organismos e a capacidade de entregar suas informações genéticas às células. É uma ciência que se complementa com outras, tornando-se essencial o conhecimento de disciplinas como imunologia e biologia molecular, para uma melhor compreensão. Os vírus estão presentes em todos os lugares e interagem com os três domínios (*Bacteria*, *Archaea* e *Eukaria*). Inalamos, diariamente, bilhões de partículas virais e até mesmo nosso material genético tem vírus. Mas, se hoje esse agente infeccioso é onipresente e pode infectar todos os seres vivos, de onde eles vieram? Há quanto tempo os vírus acompanham a vida na terra?

Virús

Como estudar a história, de bilhões de anos, de algo que não deixa fóssil? Claro, se forem analisados os registros de dezenas, centenas ou até mesmo milhares de anos atrás, é possível encontrar fatos que comprovem a ocorrência de doenças virais muito antes de o primeiro microscópio ser inventado. Mas, e quando a vida racional ainda não existia? Quando a escrita ainda não havia sido criada e nem mesmo o interior de cavernas eram preenchidas com pinturas rupestres? É por essas limitações que as origens exatas dos vírus ainda são desconhecidas. No entanto, é bem provável que esses organismos sejam tão antigos quanto às células.

O que se sabe, com certeza, é que esses microrganismos chegaram ao planeta terra muito antes dos seres humanos, mesmo sendo estruturalmente simples, são responsáveis por muitos dos maiores desafios enfrentados pela ciência. Hoje, em 2020, vive-se um exemplo claro do quão desafiante pode ser este agente infeccioso. Ao observar o passado, é possível encontrar diversas epidemias e pandemias que marcaram a história. Como exemplo, em 2013, o mundo entrou em alerta com as notícias de um novo surto de Ebola na África Ocidental. Esse vírus, que até então não tinha apresentado uma epidemia daquela proporção, apesar de não ser uma pandemia, tornou-se notícia constante nos meios de comunicação do mundo todo. Em 2019, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou os surtos da doença uma emergência mundial de saúde e, ainda hoje, o vírus representa um desafio para a ciência. Outra patologia viral de proporções devastadoras foi a Varíola. Ela foi responsável pela morte de milhões de pessoas, mas apesar de ser uma parte desagradável da história, também representa um dos maiores triunfos envolvendo a virologia, pois através da vacinação contra varíola, um esforço mundial liderado pela OMS, a doença foi erradicada em 1979.

Relação da China com o surgimento de novos vírus

Com o Sars-Cov-2 nos centros das notícias, muitas dúvidas e especulações surgiram, sejam relacionadas ao vírus, aos sintomas, precauções ou pandemias. Entre as questões, uma se tornou bastante frequente e fez com que muitos

olhassem para o continente asiático com um olhar questionador e até com um pouco de ressentimento. Então, formou-se a pergunta: Por que tantos vírus surgem da China?

Não é a primeira vez que um vírus se manifesta como doença respiratória no país asiático. Um exemplo é a pandemia da SARS (Síndrome Respiratória Aguda Grave) com surto na Ásia Continental entre 2002 e 2003. O vírus Sars-Cov-1, da mesma família do agente causador da Covid 19 (Coronaviridae), tem sua origem ligada aos gatos civetas, vendidos nos mercados chineses para alimentação. Essa espécie de gato não é o único animal exótico presente nas refeições chinesas. O país tem hábitos alimentares que podem ser estranhos para a maioria dos brasileiros, por consumir animais como morcegos, cachorros e outros que, possivelmente, não consideraríamos “comestíveis”. Esses hábitos alimentares somados com a falta de condições de higiene e uma população que já ultrapassa um bilhão de habitantes, provavelmente, são as causas que respondem à questão sobre a relação do país com o surgimento de novos vírus.

O que são vírus?

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios, ou seja, eles precisam estar em uma célula viva para sobreviver e se replicar. São microrganismos muito simples, constituídos de ácido nucléico e uma capa protéica e, às vezes, uma membrana que chamamos de envelope. Por muitos, são considerados o grande vilão da história e após perguntar a algumas pessoas o que achavam que era vírus, obtive respostas como “para mim é como se fosse bactéria”, “é um negócio ruim que causou essa pandemia” e até “vírus é uma doença”. É possível deduzir, então, que de acordo com a opinião popular, o vírus é algo ruim, parente da bactéria, com tendência a fazer planos mirabolantes para dominar o mundo. A partir desse patógeno, surgiu o termo **Viroma**.

A microbiota é o conjunto de microrganismos que vivem dentro e sobre o corpo. Muitos já conhecem o fato de que os seres vivos são colonizados por diversos organismos minúsculos e a maioria das pessoas tem a plena convicção de que são as bactérias que reinam nesse “ecossistema”, mas, na verdade, os habitantes mais abundantes são os vírus. O **viroma**, como é chamado esses vírus

hospedados no corpo humano, é a prova que eles não podem ser invariavelmente considerados patógenos. Estão no meio ambiente e nos seres vivos, não são sempre causadores de doenças e fazem parte da “composição humana”. Algo que faz parte biologicamente de todos não pode ser considerado unicamente ruim.

Normalmente, quando se pensa nos vírus imagina-se estruturas extremamente pequenas, os menores microrganismos existentes. Realmente, grande parte deles só pode ser visualizada em microscopia eletrônica, mas os pandoravírus, recentemente descobertos, são os exemplos da exceção, pois possuem um tamanho significativamente maior que os outros e podem ser vistos com microscópio óptico comum. Além de pequenas, as partículas virais são estruturalmente muito simples, dispõem de capa protéica, chamada capsídeo, um ácido nucléico, que pode ser DNA ou RNA, e, alguns, possuem envelope.

O capsídeo e o envelope são chamados de envoltórios virais e têm como função principal proteger o genoma durante a transmissão entre células e hospedeiros. Chama-se de nucleocapsídeo a estrutura formada pela junção do genoma, ou seja, proteína associada ao genoma, com o capsídeo. Como nem todas as partículas virais possuem o envelope, é possível separá-las em dois grupos principais: os vírus envelopados e os não envelopados. Esse envoltório, que nem todos os *vírions* têm, é uma membrana lipoproteica que recobre o nucleocapsídeo. O envelope é formado por uma dupla camada lipídica adquirida quando o vírus sai da célula hospedeira e leva parte da membrana celular, em um processo denominado brotamento. A espessura e a composição variam de acordo com a membrana que o originou. Os que são originados de membranas celulares internas são mais finos com pouco ou nenhum colesterol e os que surgiram a partir de membranas plasmáticas costumam ser mais espessos e possuir fosfolipídios e colesterol em certa proporção. Nestas membranas está inserido um número variado de proteínas de envelope codificadas pelo genoma viral. Elas podem ser de um ou mais tipos e a maioria tem oligossacarídeos associados, ou seja, são glicoproteínas. São elas que o organismo hospedeiro vai identificar como um corpo estranho e, nos vírus não envelopado, as proteínas do capsídeo serão reconhecidas.

O capsídeo é uma cápsula proteica que recobre o ácido nucléico, o que garante rigidez e proteção ao vírus, já nos que não possuem envelope, representam o único envoltório viral. Nos vírus não envelopados, essa cápsula é responsável pela primeira interação com as células hospedeiras durante a penetração e, também, interagem com componentes do sistema imunológico. As proteínas ou subunidades estruturais que formam o capsídeo são chamadas de protômeros, as quais se associam e formam capsômeros. Esses capsômeros podem ser formados por uma única proteína ou diferentes tipos.

Ao procurar vídeos comparativos na internet ou imagens em livros que mostrem diferentes partículas virais, é possível encontrar certa variedade nas formas e tamanhos deste microrganismo. O arranjo estrutural das proteínas do capsídeo pode resultar em três formas distintas: Helicoidal, icosaédrica e complexa. Nos vírus com morfologia helicoidal o genoma é circundado por um capsídeo espiralado e alongado e é constituído por várias cópias de uma mesma proteína. Alguns são rígidos com uma forma bem definida e cilíndrica e outros mais flexíveis e enovelados com forma mais irregular. Os capsídeos icosaédricos são formados por 20 unidades triangulares e constituem uma estrutura quase esférica. A grande maioria dos vírus tem sua simetria na forma helicoidal ou icosaédrica, mas alguns apresentam uma organização mais complexa e seu capsídeo é denominado capsídeo complexo.

O ácido nucléico viral é muito compactado e pode ser DNA (ácido desoxirribonucléico) ou RNA (ácido ribonucléico), nunca constituído pelas duas moléculas ao mesmo tempo. Se já não tivesse sido decidido que os microrganismos não são seres racionais, era possível pensar que os vírus têm algum tipo de inteligência. Afinal, sintetizar as proteínas necessárias para sua replicação e transmissão e ainda subverter as funções celulares em seu benefício parece algo bem pensado e planejado. Essas funções são codificadas pelo genoma e, em alguns vírus mais complexos, codificam funções adicionais que acabam ajudando a partícula em sua multiplicação e disseminação.

O material genético dos vírus possui variações no tipo de estrutura e podem apresentar sete formas possíveis. A maioria dos vírus de DNA possui uma molécula de fita dupla, mas também podem se apresentar com cadeia simples

linear ou cadeia simples circular. Já os vírus de RNA, em sua maioria, possuem o seu material genético como uma molécula de cadeia simples (ss), mas também podem ser de cadeia dupla (ds). Alguns vírus RNA de cadeia simples possuem o mesmo sentido do RNA mensageiro (5'- 3') e são denominados RNAs de sentido ou polaridade positiva (RNA+), estes podem ser diretamente traduzidos pelos ribossomos das células hospedeiras. Os que não podem ser diretamente traduzidos porque possuem o sentido contrário (3'- 5') ao mRNA são chamados de RNAs de sentido negativo (RNA-).

Muitos fatos científicos, em algum momento da história, geraram conflitos de opiniões, seja sobre o formato da Terra, o surgimento do homem ou a evolução dos seres vivos. Alguns ainda não são consensuais, afinal, quem nunca ouviu a famosa pergunta “*os vírus são seres vivos ou não?*” Mas esta não foi a única ideia não consensual entre os virologistas. No começo, foi uma grande confusão para escolher os critérios de classificação. Hoje, a execução da taxonomia é supervisionada pelo *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) e utiliza alguns dados de nomenclatura hierárquica da taxonomia tradicional. Os vírus podem ser classificados de acordo com a natureza do ácido nucléico, simetria do capsídeo, presença ou ausência de envelope e tamanho da partícula viral.

Replicação viral

Entender como os vírus se replicam é muito importante para melhorar a capacidade de interferir no seu ciclo. Cada família viral age de uma forma diferente, mas existem seis etapas principais: Adsorção, penetração, desnudamento, replicação, montagem e liberação.

Como são parasitas intracelulares obrigatórios, os vírus não conseguem replicar fora de uma célula viva e por isso precisam, primeiramente, invadir um hospedeiro. A primeira etapa é a adsorção (ou fixação), onde a partícula viral se fixa na superfície da célula e as proteínas virais de fixação reconhecem receptores específicos que estão na parte externa da membrana celular. Em seguida, ocorre a penetração do vírus na célula, que pode ocorrer por *fusão*, quando o envelope e a membrana celular se fundem e permite a entrada da partícula viral; por

endocitose; e, apenas vírus sem envelope, podem entrar de uma forma direta na célula, cruzando a membrana plasmática diretamente. Na terceira etapa, que chamamos de desnudamento, o vírus perde o capsídeo e o seu genoma fica exposto no citoplasma ou núcleo da célula. A replicação, que procede o desnudamento, vai depender do tipo de ácido nucléico. É nessa fase em que ocorre a síntese de proteínas estruturais e não estruturais e, também, a replicação do material genético viral. A etapa de montagem consiste na formação de partículas virais completas. Os vírus sem envelope ficam prontos no citoplasma da célula e os envelopados vão adquirir o envelope na membrana celular. A saída do vírus da célula, fase da liberação, pode ocorrer por lise celular ou por brotamento. Geralmente vírus não envelopados causam a lise celular, enquanto os envelopados saem por brotamento levando uma parte da membrana (não necessariamente causa a morte da célula).

Forma de cultivo viral

Pode-se dizer que uma célula é suscetível se ela tiver um receptor para um determinado vírus. Não necessariamente vai permitir a replicação viral, para isso, precisa ser permissível. A célula só é capaz de replicar uma partícula viral se possuir as duas características. No entanto, se não possui receptor para o vírus é considerada resistente e, apesar disso, pode ou não ser capaz de suportar a replicação. Para o cultivo viral faz-se necessário células suscetíveis e permissíveis.

O cultivo de vírus é muito importante para o conhecimento do mesmo. Os sistemas mais utilizados para isolamento viral são as culturas em células *in vitro*, os ovos embrionários e os animais de laboratório. As condições ideais de isolamento para cada vírus são distintas e é muito importante que se utilize os métodos e materiais corretos, por exemplo, se uma partícula viral é inserida em um hospedeiro insensível a este vírus, provavelmente ele não será isolado. Nenhuma técnica será eficiente se a amostra não for colhida, transportada, armazenada e processada de forma adequada. Também é necessária a aplicação de antifúngicos e antibióticos para confirmar a ausência de bactérias e fungos.

Um método utilizado para a quantificação direta de vírus é o ensaio de placas, onde se observa a quantidade de placas discretas em uma cultura de células. Uma placa se forma quando uma partícula viral infecta uma célula, se replica e depois a mata. O processo se repete várias vezes com as células que a rodeiam. É aplicado um corante na cultura que cora apenas células vivas e, como resultado, as células mortas aparecem como áreas descoradas.

Alguns vírus, durante o processo de multiplicação, causam mudanças na morfologia das células em culturas, processo que chamamos de efeito citopático. As partículas virais que causam essas alterações podem, a partir de uma simples observação no microscópio óptico, indicar sua presença e ajudar na identificação do vírus. O efeito citopático leva a formação de sincícios, isto é, as células se unem formando grandes células multinucleadas. Esse processo colabora com a multiplicação viral.

Patogênese viral

Para falar sobre a patogênese viral é necessário, antes, entender o conceito de patogênese, que significa o modo como os agentes patogênicos agredem o organismo dos seres humanos e como os sistemas naturais de defesa reagem, mas, para simplificar, a expressão refere-se ao processo de desenvolvimento de uma doença. É importante, ainda, abordar mais dois fatores, a infecção e a inflamação. A primeira é a invasão do corpo por agentes que causam doenças, enquanto a segunda é como o corpo reage a coisas que o prejudica (como infecções) e acaba liberando substâncias que acionam o sistema imunológico.

A patogênese viral é o desenvolvimento da doença viral, esta, tem dois componentes importantes: os efeitos que a replicação do vírus causa no hospedeiro e os efeitos da resposta imunológica, ou seja, como o corpo reage ao parasita. Esta resposta imune é chamada de imunopatogênese. É importante saber que cada vírus vai se comportar de uma forma diferente, tanto na transmissão, como na resposta imune e, também, no período de incubação.

Depois que a partícula viral entrar no corpo, precisará se estabilizar, ou seja, o vírus iniciará a replicação e o sistema imunológico começará a responder. É

aquele momento inicial em que o hospedeiro já está infectado, mas não se nota sintomas óbvios da doença. Esse estágio é chamado de período de incubação e, durante essa fase, pode ou não haver transmissão do vírus. O período de incubação do Ebola dura entre 2 a 21 dias, mas não ocorre transmissão nessa etapa. Outros vírus, como o Sars-Cov-2, possuem período de incubação entre 1 a 14 dias.

Transmissão viral

Uma viagem do Brasil para a França, sem escalas, leva cerca de 12 horas de voo. Em 21 horas, poderíamos sair de São Paulo e chegar a Hong Kong. Aviões a jato comerciais podem alcançar cerca de 900 Km/h e percorrer um quarto da esfera da terra em questão de horas. Essa facilidade de locomoção contribui bastante com o desenvolvimento da sociedade, mas também ajuda na disseminação de agentes causadores de doenças. Além de humanos, o transporte de gado, aves e outros animais por longas distâncias também colabora para as transmissões. Já é de conhecimento geral que o desmatamento e a urbanização descontrolada trás um desequilíbrio entre a natureza e o homem, no entanto, poucos percebem os efeitos no surgimento e disseminação de vírus. Um exemplo é o aumento de insetos nas cidades, estes podendo servir como vetores para a transmissão. Ademais, destaca-se a necessidade de uma educação sexual para o uso de preservativos a fim de evitar o contágio de ISTs (infecções sexualmente transmissíveis).

A transmissão viral pode acontecer de forma vertical e horizontal. A vertical é a materno-fetal, ou seja, quando a mãe transmite para o filho. A horizontal pode ser de três formas, a primeira é através do contato do hospedeiro infectado para outro indivíduo; a segunda por meio de veículos, que seria um meio de transporte para o agente infeccioso, como uma caneta ou água contaminada; a terceira por vetores, que transmitem e também participam do ciclo do microrganismo, como pode ser citado o mosquito *Aedes aegypti*, que é o vetor dos vírus da dengue, Zika, Chikungunya e Febre Amarela, ou seja, os vetores conseguem transmitir mais de um tipo de agente infeccioso.

Vocabulário epidemiológico

Conhecer o vocabulário científico é, sem dúvida, equivalente a aprender um novo idioma. Para compreender melhor a virologia, vale ressaltar alguns termos básicos que, inclusive, são facilmente confundidos pela maioria. Endemia é quando uma doença infecciosa ocorre habitualmente e com baixa incidência em uma população. Epidemia é quando a patologia ataca grande número de indivíduos em uma população. O termo pandemia se refere a uma epidemia amplamente disseminada mundialmente. A Infecção aguda acontece de forma rápida e tem um agente novo, enquanto a infecção crônica tem uma duração mais longa e um patógeno bem adaptado. Incidência e prevalência são medidas da ocorrência de doenças na população. A incidência mede a taxa de ocorrência em um determinado período e lida com o número de novos casos. A prevalência determina o número total de casos, incluindo novos e os já existentes. A mortalidade representa as mortes na população. A morbidade é a incidência de doenças. A expressão “surto” representa um alto número de infectados na população. As infecções subclínicas são assintomáticas ou com sintomas leves. A virulência é o grau de patogenicidade de um agente infeccioso e quanto mais o patógeno é virulento, mais pessoas podem ser infectadas. A imunidade de rebanho acontece quando um grupo é imunizado para determinado agente. A maioria dos arbovírus é vírus de RNA que são transmitidos por um inseto, ou seja, precisam de um vetor.

Controle e erradicação de doenças infecciosas

Acredita-se que a maioria da população mundial não gosta de doenças infecciosas. Existem indivíduos encantados pelo estudo dessas doenças, mas nada que os impedissem de tentar combatê-las. Para o controle e, talvez, até erradicação dessas patologias, são necessárias algumas medidas, como a imunização, através das vacinas; o controle dirigido a veículos comuns, como o uso de máscaras; o controle dirigido a reservatórios, como, por exemplo, não deixar a água parada para evitar a reprodução do *Aedes aegypti*; o isolamento, que ocorre quando se isola um indivíduo infectado; a quarentena, quando pessoas saudáveis evitam o contato; a vigilância que representa o controle do crescimento

da doença; e, enfim, a erradicação do patógeno, através da junção de todas as medidas anteriores.

Vírus emergentes e reemergentes

Os vírus emergentes são aqueles que têm aparecido com mais frequência ou que têm tendência a aumentar no futuro, é possível dizer, como comparação, são como um novo artista famoso. Os vírus reemergentes já eram conhecidos há um tempo, estavam controlados, mas surgem como uma nova epidemia, como um cantor esquecido que emplaca uma nova música nas paradas de sucesso. Alguns fatores devem ser levados em conta como de emergência: a demografia humana, pois uma grande quantidade de pessoas juntas facilita a transmissão; o comportamento das pessoas; as tecnologias e indústrias, como os antibióticos; o desenvolvimento econômico e o uso de terra, pois, como já foi citado, provocar o desequilíbrio da natureza terá um impacto negativo; as viagens internacionais e o comércio; as adaptações e alterações nos vírus; falhas na saúde pública; e eventos que perturbem o equilíbrio entre o patógeno e o hospedeiro.

Algumas epidemias brasileiras e pandemias

Em 2002, 2008, 2010 e 2011 o Brasil sofreu com epidemias de dengue. O vírus da dengue é um arbovírus da família *Flaviviridae*, de +ssRNA que apresenta quatro sorotipos diferentes: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. Claro, por ser uma arbovirose, precisa de um vetor, cargo ocupado pelo *Aedes aegypti*. Transmitido pelo mesmo vetor da dengue, o zika vírus gerou uma epidemia em 2015 e 2016 aqui no Brasil e resultou em aproximadamente 2800 casos de microcefalia. Da família *Flaviviridae*, com +ssRNA, o zika recebeu o mesmo nome do local da origem de sua identificação em 1947. A febre amarela, também transmitida por vetores, gerou epidemias em 1998 e 2003.

A gripe espanhola, causada pelo influenza vírus de -ssRNA, foi responsável por cerca de cinquenta milhões de mortes em 1918 e 1919. A transmissão ocorre de forma direta de hospedeiro para hospedeiro e os surtos ocorreram nos Estados Unidos, Europa, Brasil, Índia, Japão e China. Em 2009, a gripe suína, causada por uma nova cepa do vírus da gripe (H1N1) gerou outra pandemia. O

agente tinha uma combinação de genes do vírus da gripe humana, de porcos e pássaros, mas como os primeiros relatos focaram no componente suíno, ficou popularmente conhecida como gripe suína. Atualmente, o mundo está passando por uma pandemia causada pelo vírus Sars-Cov-2, da família *Coronaviridae*, de +ssRNA.

Vírus de DNA

O HPV (papilomas vírus humano) é um vírus da família *Papillomaviridae* com afinidade por células da mucosa (oral, genital, colo do útero, etc.). Não é envelopado e possui um DNA de dupla hélice circular. É um dos vírus de transmissão sexual mais frequente e já foram caracterizados mais de 60 tipos diferentes de HPV. Além de está envolvido em lesões benignas de pele e mucosa também pode ser responsável pelo desenvolvimento de diversos tumores. Os homens são os principais reservatórios do vírus e apesar de, popularmente, as mulheres se preocuparem mais com a vacinação, ela é aconselhada para ambos os sexos. O diagnóstico pode ser clínico, imunohistológico, por colposcopia e biópsia seguido de hibridização.

A hepatite B (HBV) é causada por um vírus pertencente à família *Hepadnaviridae*. É um vírus envelopado com DNA dupla hélice circular que possui tropismo por células hepáticas. A transmissão sexual é bastante frequente, mas também pode ocorrer através do compartilhamento de agulhas, seringas e outros materiais perfurocortantes. O HBV pode causar hepatite aguda ou crônica e crianças que adquiriram a infecção por transmissão vertical têm grandes chances de desenvolver a forma crônica. A vacinação é muito importante e ajudou na redução de casos nas últimas três décadas.

O citomegalovírus é um vírus da família *Herpesviridae* e faz parte do grupo dos herpes vírus. É envelopado, tem DNA de fita simples linear e possui afinidade com células epiteliais. A transmissão pode ser horizontal ou vertical e após a primeira infecção fica no organismo indefinidamente e pode ser ativado, ocasionalmente, gerando novos episódios de infecção, principalmente, quando ocorre redução da imunidade, ou seja, ele tem uma latência prolongada. É

considerada uma das principais causas de infecção congênita e perinatal e no período pós-natal pode ser grave para indivíduos com imunodeficiência.

Vírus de RNA

O influenza vírus, da família *Orthomyxoviridae*, é envelopado, tem RNA simples linear e possui uma forma helicoidal. O vírus é o causador da influenza, também conhecida como gripe e, de acordo com seu material genético, é classificado em tipo A, B e C. O tipo A apresenta subtipos com antígenos glicoprotéicos na superfície, a hemaglutininas, que já foram descritas em 16 tipos diferentes (H1-H16); e neuraminidases, com 9 tipos distintos (N1-N9). Essas proteínas presentes no envelope podem se diferenciar e, por isso, é necessário se vacinar todos os anos contra a gripe.

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um vírus de RNA positivo de fita simples da família *Retroviridae*. Os retrovírus, como o HIV, são vírus de RNA associados a enzima transcriptase reversa (vai ser utilizada na replicação, porque precisa fazer uma transcrição reversa, gerando um DNA complementar). Os portadores do vírus não necessariamente terão AIDS, síndrome da imunodeficiência adquirida, a doença é um estágio mais avançado da infecção e com os avanços do tratamento, pessoas podem conviver a vida toda com o HIV e nunca ter a síndrome. O coquetel é uma combinação de vários medicamentos que atuam no vírus evitando que se reproduzam. Os diferentes tipos de remédios agem em alvos distintos (várias proteínas). A transmissão pode ser sexual, sanguínea e vertical. Normalmente, portadoras do HIV fazem parto cesárea para evitar romper a placenta e contaminar a criança.

O Lyssavírus é o vírus da raiva, uma doença infecciosa aguda e fatal. É envelopado, com -ssRNA linear e faz parte da família *Rhabdoviridae*. O cão é o principal reservatório urbano e pode ter o vírus sem ter manifestações clínicas. A transmissão ocorre principalmente pelo contato com a saliva de um indivíduo infectado e por ter um diagnóstico difícil, costuma ser tardio ou na pós-morte. É importante educar a população, incentivando a vacinação dos animais domésticos.

O vírus Ebola é um vírus envelopado, com -ssRNA, de formato helicoidal, que pertence à família *Filoviridae*. O Ebola é uma doença infecciosa altamente contagiosa e grave, de alta letalidade, que causa febre hemorrágica viral. Apesar de não ser mais tão frequente nas notícias como em 2013, o vírus não desapareceu, uma vez que há relatos que existem cepas diferentes circulando e em alguns países ainda há surtos.

Diagnóstico virológico

Quem nunca passou por uma virose rápida? Mas depois de 4 ou 5 dias os sintomas já desapareceram? No entanto, se os sintomas persistem, normalmente, é relevante visitar um médico para ter um diagnóstico, o qual é importante por diversos fatores, como confirmar se é realmente uma infecção viral, identificar o patógeno e fornecer todas as informações para iniciar o tratamento adequado. Os diagnósticos não específicos podem ser clínicos, por hemograma, bioquímica ou citologia, pois eles não mostram especificamente o agente causador da doença, mas vale lembrar que o paciente traz muitas informações e se pode ter uma ideia do patógeno baseado nelas. Os diagnósticos específicos podem ser diretos ou indiretos e são aqueles que identificam o vírus em questão. É importante saber a quanto tempo o paciente está infectado para utilizar o teste mais adequado.

Os diagnósticos específicos indiretos são aqueles que buscam as evidências da infecção viral através dos anticorpos para esse vírus presentes no soro, ou seja, através da sorologia. No diagnóstico sorológico existe o método ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) que consegue quantificar os anticorpos que o paciente tem. Existe um teste rápido que sai em cerca de quinze minutos e que também identifica anticorpos. Esse método é muito útil durante uma epidemia ou pandemia para, principalmente, reconhecer a quantidade de pessoas que possuem anticorpos para determinado vírus.

Os diagnósticos específicos diretos procuram detectar o vírus na amostra. Pode ser por cultura de vírus; microscopia eletrônica, para reconhecer a morfologia das partículas virais; imunofluorescência; e detecção molecular, isto é, a detecção do genoma viral (DNA ou RNA viral) como, por exemplo, a técnica de

PCR. O padrão ouro são aqueles testes inquestionáveis que podem ser por isolamento do vírus ou ver o seu material genético.

Sars-Cov-2

Em dezembro de 2019, a China informou a OMS sobre um grupo de pacientes com uma misteriosa pneumonia. Em 11 de janeiro de 2020, ocorreu a primeira morte pelo novo vírus da família *Coronaviridae* e dois meses depois o surto foi declarado uma pandemia. A facilidade de locomoção contribuiu bastante para a disseminação rápida desse agente e ainda mais ágil foram as informações. As notícias se espalharam rapidamente e, como um tipo de patógeno, causaram sintomas distintos nos portadores, sendo dois bem recorrentes: medo e curiosidade. Alguns começaram a buscar conhecimento sobre o universo da virologia, outros passaram a formular teorias sobre a origem do vírus e com o aumento do número de mortos, o receio cresceu na mesma proporção. Tal situação nos relembra tantas outras pandemias com as quais a humanidade já conviveu e destas, muitas resultaram em mais mortes que a Covid-19, como a da Peste Bubônica que matou cerca de 200 milhões de pessoas.

O Sars-Cov-2, agente causador da Covid-19, é um vírus de +ssRNA, envelopado, pertencente à mesma família que causou a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) e a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS). Quando falamos da estrutura do novo coronavírus, um dos primeiros assuntos abordados é a famosa *Spike protein*, o alvo de várias vacinas. Isso porque essa glicoproteína interage com o receptor ECA (enzima conversora de angiotensina) e o receptor acessório TMPRSS2, sendo, assim, essencial para a entrada do vírus na célula. A transmissão ocorre por meio de gotículas expelidas ao tossir, falar ou espirrar e pelo contato com superfícies contaminadas. Alguns portadores são assintomáticos, mas são capazes de transmitir o patógeno. Na infecção sintomática, a maioria das apresentações clínicas são leves ou moderadas e geralmente têm sintomas como tosse seca, febre, fadiga e outros semelhantes a um resfriado comum. A idade avançada e algumas comorbidades, como diabetes e hipertensão, estão relacionadas a um maior risco de desenvolver a forma grave da doença.

Inicialmente acreditava-se que a Covid-19 era unicamente respiratória, no entanto, provou-se ser multissistêmica. Os relatos incluem inflamação no fígado, danos renais e cerebrais, multiplicação do vírus no intestino e nos olhos (causando conjuntivite), complicações cardiovasculares e até algumas manifestações na pele. Quanto à parte respiratória, o vírus tende a atacar primeiro o trato respiratório superior, se multiplicando na garganta, palato e nariz, o que evidencia aqueles sintomas de um resfriado leve. Se progredir para o trato respiratório inferior, observa-se uma pneumonia moderada ou severa.

Respostas imunes inata contra vírus

O corpo humano é uma “máquina” complexa com vários sistemas de funções distintas que, no entanto, se complementam. Dentre estes, há o sistema imunológico que, de uma forma geral, é responsável pela proteção de nosso organismo, prevenindo infecções e erradicando as já estabelecidas. A imunidade de resistência contra infecções virais depende da atuação da imunidade inata e adaptativa. A resposta imune inata vai atuar imediatamente após o contato do patógeno com o hospedeiro, sendo aquela primeira linha de defesa que, independente de já ter tido (ou não) contato com o vírus, agirá da mesma forma. A pele, o muco, os pêlos e outras barreiras, que também fazem parte da imunidade inata, tentam impedir a penetração do patógeno, mas se mesmo com esses obstáculos o agente conseguir estabelecer uma infecção, a resposta imune inata é estimulada.

As respostas imunes inatas contra infecções virais são mediadas principalmente pelos interferons do tipo I (INF-I) e pelas células NK (*Natural Killer*). Os Interferons do tipo I são produzidos por várias células e compreendem dois tipos principais: os IFN- α e IFN- β . Essa produção não é aleatória e não age de forma inespecífica, os vírus precisam ser reconhecidos como algo não próprio do organismo hospedeiro. Os PRRs (Receptores de Reconhecimento de Padrões) são os responsáveis por reconhecer os PAMPs (Padrões Moleculares Associados a Patógenos) dos nossos amiguinhos infecciosos. Com tantos patógenos distintos, fico feliz em informar que temos diferentes PRRs para identificar esses organismos estranhos, e isso significa que várias vias podem levar a produção dos

INF-I. Alguns exemplos dessas vias são: Via TLR's (*Toll-like receptor*), Via STING (*stimulator of IFN genes*) e Via RIG (*retinoidinduced genes*).

Os receptores Toll-like (TLR's) são proteínas transmembranas que desempenham papel importante na detecção de patógenos microbianos, não apenas vírus. Essa proteína foi descoberta inicialmente em moscas do gênero *Drosophila*, sendo importante para a proteção contra fungos. Anos depois, foi identificado um homólogo dessa proteína em humanos (por isso o nome "semelhante à Toll") e depois dessa descoberta, 13 receptores Toll humano foram identificados. O dímero TLR3 liga-se a fita dupla do RNA viral, o TLR4 reconhece a proteína F de alguns vírus, o TLR7-TLR8 é responsável pelo reconhecimento do RNA viral de fita simples do vírus da gripe e o TLR9 reconhece DNA viral. A produção de INF-I acontece, por exemplo, quando o TLR3 reconhece RNA viral, a proteína TRIF promove a ativação do complexo formado por subunidades, o qual vai promover a fosforilação de diferentes fatores reguladores de Interferon (INF-3, INF-5, INF7). Dessa forma, o IRF-3 ativado é translocado para o interior do núcleo e induz a expressão de genes para a produção de interferons do tipo I.

O STING (*stimulator of IFN genes*) é uma proteína de sinalização que está incorporada ao retículo endoplasmático das células. O DNA citosólico ativa o STING, mesmo que seja um DNA viral de dupla fita, ainda vai ser reconhecido como não próprio, já que o nosso permanece no núcleo e não no citoplasma. Quando o STING é ativado, ele sinaliza as quinases de ligação Tank (TBK1) e INF-3. A TBK1 ainda se relaciona com quinases I κ B, induzindo a fosforilação e degradação de I κ B e isso libera NF- κ B, o que permite sua translocação que resulta na regulação do INF-I e citocinas pró-inflamatórias. Alguns vírus de RNA foram observados para ativar a sinalização STING através da detecção de DNA dependente. O DNA complementar produzido durante a transcrição reversa de RNA de retrovírus pode induzir a via que ativará o STING.

Os receptores rig-I-like (RLR's) detectam RNA viral. O RIG-I (*Retinoic acid-inducible gene 1*) e o MDA-5 (*Melanoma differentiation-associated gene 5*) são PRR's pertencentes à família RLRs e são muito importantes para respostas antivirais no hospedeiro. Eles detectam RNA de dupla fita e o RIG-I identifica RNA viral que exibe um trifosfato na extremidade 5' terminal.

Mas, afinal, por que os INF-I representam algum tipo de obstáculo para a infecção? Os INF-I que são produzidos por células infectadas são secretados para o meio extracelular e interagem com outras células, o que gera o estado de resistência antiviral. A ligação dos Interferons aos receptores ativa a transcrição de genes que expressam produtos para responder a essas infecções virais. Os INF-I promovem a ativação do PKR, que inibe a tradução de proteína na célula hospedeira, tornando-a um local inadequado para a replicação viral. Os INF-I também induzem a expressão da enzima 2'-5'-adenilato sintetase, que sintetiza oligômeros de adenina (oligo-A), as quais ativam RNase que promovem a degradação do RNA viral.

As células dendríticas são grandes produtoras de INF-I durante a infecção viral e participam da estimulação das células *Natural Killer*. A estimulação ocorre tanto por mediadores solúveis, como por contato direto e essa interação é importante para a ativação da própria célula dendrítica.

As células *Natural Killer* (NK,) como o próprio nome já diz, são as assassinas microscópicas. Ela é capaz de destruir células tumorais e células infectadas, quando não há reconhecimento de um antígeno-específico. Como todo o sistema imunológico, as células NK também não agem de forma aleatória. Elas distinguem as células infectadas das não-infectadas através do reconhecimento das MHC-I (Complexo Principal de Histocompatibilidade), presentes na superfície de todas as células do organismo. A detecção desta proteína pelos KIR (receptores inibidores da destruição) inibe a ação da célula NK. As células tumorais, normalmente, têm uma redução na MHC-I e alguns vírus bloqueiam o processo de produção da molécula.

Respostas imunes adaptativas contra vírus

Depois dos primeiros contatos com a imunologia, a associação entre linfócitos e imunidade adaptativa (ou adquirida) torna-se automática. E não é para menos, os linfócitos T e B são suas células exclusivas e, quando se fala de infecções virais, as respostas imunes adaptativas são desencadeadas após a estimulação dessas células. Essas respostas, em humanos, são principalmente

mediadas pelos anticorpos neutralizantes e pelos CTLs (Linfócitos T Citotóxicos). Não só os mecanismos efetores, mas o reconhecimento dos antígenos também é diferente entre os distintos linfócitos. As células B fazem essa identificação através de imunoglobulinas de superfície, também chamadas de BCRs (B cell receptors), que são anticorpos integrados à membrana plasmática do linfócito B e podem se ligar aos antígenos de qualquer natureza química que, no caso dos vírus, são, normalmente, as proteínas de superfície da partícula viral. No caso dos linfócitos T-CD8 (quando ativados são chamados de CTLs), o reconhecimento ocorre através dos TCRs e da molécula acessória CD8. As células infectadas vão mostrar um pedacinho do patógeno junto a molécula MHC-I e este vai ser reconhecido por esses receptores do linfócito T-CD8.

Uma das principais atividades antivirais dos anticorpos é a neutralização. Já se sabe que a interação das proteínas de superfície virais com os receptores celulares é essencial para a invasão do vírus na célula, aparentemente o sistema imune também sabe disso. Podem ser produzidos anticorpos que possuem a capacidade de se ligar ao *vírion* e impedir a interação com os receptores celulares. Esses anticorpos neutralizantes literalmente ficam no meio do caminho e, assim, bloqueiam a infecção. No entanto, uma vez que as partículas virais entram na célula, esses anticorpos não conseguem mais interferir, ou seja, eles não são capazes de eliminar os reservatórios de vírus, essa função recai sobre os CTLs.

Os linfócitos T-CD8 efetores (CTLs) identificam as células infectadas através do reconhecimento de peptídeos virais unidos à molécula MHC-I na superfície celular. Após esse reconhecimento, o CTL adere firmemente a célula infectada e secreta grânulos que contém perforinas, uma molécula capaz de induzir a formação de poros na célula-alvo. As moléculas granzimas, que também são secretadas por esses linfócitos, vão penetrar a célula através dos poros e ativar o sistema de apoptose e, assim, eliminar o reservatório viral.

Por mais que o sistema imunológico pareça inteligente e tenha uma memória invejável, os vírus têm seus próprios truques para driblar suas ações. Uma estratégia muito utilizada por esses microrganismos é a alteração na sequência de aminoácidos de determinantes antigênicos de suas proteínas de superfície. Essas alterações na estrutura podem resultar no não reconhecimento

dos anticorpos produzidos durante a primeira infecção por aquele vírus, ou seja, não vamos ter a ação da memória imunológica já que agora o patógeno está com uma “aparência” diferente. Alterações antigênicas discretas são denominadas *antigenic drift* e mudanças mais drásticas, que resultam em vírus antígenicamente muito diferentes dos parentais, são chamadas de *antigenic shift*. O vírus da influenza utiliza bastante essa estratégia, por isso a vacinação contra gripe deve ocorrer todos os anos.

Existem algumas células que são responsáveis por regular a ação de outras do sistema imune. Elas têm esse papel para que não ocorra uma resposta exagerada que ao invés de ajudar, seja nociva ao organismo. O sistema imunológico é poderoso e por essa razão tem uma atuação reduzida em alguns locais como pele, olhos, glândulas articulares, placenta e sistema nervoso. As infecções virais nesses locais privilegiados acabam sendo uma forma de escape da resposta imune. Um vírus que infecta a pele, como o que causa as verrugas, está praticamente silencioso.

Alguns vírus podem, ao invés de sair de uma célula e entrar em outra, escapar dos anticorpos passando célula-a-célula. Outros infectam e matam células do sistema imune. Existem os que impedem funcionalmente as respostas imunes e os que inibem o processamento antigênico. Em resumo, alguns desses microrganismos têm vários mecanismos de escape que tornam nossas defesas naturais insuficientes para combatê-los. Felizmente, a busca por conhecimento pelos humanos traz benefícios e, como resultado, no século XVIII, surgiu a primeira vacina.

Estratégias de vacinação

Com um vírus como o Sars-Cov-2 circulando e modificando a vida de tantas pessoas, um desejo é quase unânime: querem uma vacina. Alguns séculos atrás, poucos diriam que um método tão pouco apreciado em sua apresentação seria a ânsia de milhões de pessoas em 2020. Movimentos antivacinas ainda existem, todavia, de forma mais leve, pois elas já provaram sua eficácia e a erradicação da varíola é um dos exemplos mais notáveis de sua capacidade. Além de representar um dos grandes sucessos da virologia, a doença também foi alvo de testes que

levaram à criação dos primeiros métodos de vacinação. Acredita-se que essa prática de tentar induzir resistência em indivíduos saudáveis seja bem antiga. A variolação, provavelmente originada na China, consistia em expor pessoas a pequenos materiais obtidos de lesões cutâneas de varíola. O procedimento, apesar de alguns efeitos positivos em poucas pessoas, não era totalmente eficaz e, obviamente, era perigoso. Por volta de 1796, Edward Jenner desenvolveu um método mais seguro que a variolação, a partir de observações de ordenhadores de vacas que tinham contato com a varíola bovina e não desenvolviam a forma humana. Com um olhar mais científico, conseguiu resultados satisfatórios e o processo, com algumas modificações, resultou na erradicação da doença em 1979.

A vacina é um método que induz uma resposta imunológica protetora antes que o indivíduo seja infectado pelo patógeno. Elas trabalham ativando principalmente o sistema imune adaptativo, estimulando linfócitos e gerando células de memórias específicas para o antígeno inoculado. Existem diferentes tipos de vacinas e uma das mais comuns são as vacinas vivas atenuadas. Estas possuem o patógeno enfraquecido, ou seja, o agente tem sua patogenicidade reduzida para que não possam produzir doenças em pessoas com o sistema imune saudável. Os vírus atenuados, mesmo não deixando as pessoas doentes, são capazes de disparar uma resposta imunológica semelhante às infecções reais. Normalmente, a imunidade oferecida por esse tipo de vacina é prolongada e não requer uma revacinação, além de ter uma boa amplitude e ter respostas de T-CD8 e anticorpos neutralizantes fortes. Os vírus atenuados são capazes de se replicar, porém, de uma forma lenta e limitada, sem causar maiores danos ao organismo hospedeiro. As vacinas vivas atenuadas não são recomendadas para indivíduos imunodeprimidos e incluem a vacina da tríplice viral (sarampo, caxumba e rubéola), rotavírus, Sabin oral e influenza (não tem no Brasil).

A maioria das vacinas atenuadas disponíveis atualmente são de agentes infecciosos vivos, mas extremamente enfraquecidos e isso ocorre de forma proposital, todavia, existem cepas virais naturalmente pouco virulentas. Os que precisam ser atenuados por métodos artificiais podem, por exemplo, ser submetidos à atenuação por passagens em cultivo celular. Esse método consiste

em passar várias vezes o vírus pelo cultivo provocando mutações no genoma viral. Algumas dessas mutações provavelmente estarão associadas com a virulência na espécie hospedeira que se pretende vacinar e, eventualmente, resultará na atenuação do vírus. Passagens em ovos embrionados de galinhas e em espécies heterólogas, geralmente animais de laboratório, também são utilizadas para atenuar vírus.

Outro tipo importante são as vacinas inativadas, que são compostas por vírus inativados por agentes químicos ou físicos. As partículas virais perdem a capacidade de se replicarem e não existe possibilidade de retorno à forma virulenta, por isso são mais recomendáveis que as atenuadas para pessoas com imunodeficiências. Os vírus são submetidos ao processo de inativação, visando eliminar a capacidade infectante e preservar a capacidade antigênica, para que a resposta imunológica seja devidamente estimulada, sem causar sintomas clínicos. Por serem incapazes de se replicarem no organismo, os vírus das vacinas inativadas não conseguem desencadear uma boa resposta celular e, então, têm uma resposta de T-CD8 fraca, mas possuem uma resposta de anticorpos neutralizantes fortes. Essas vacinas necessitam de várias doses e dependem de adjuvante.

O sistema imunológico não reconhece todo o vírus e sim pequenas regiões das proteínas de superfície das partículas virais. Assim, é possível produzir as vacinas de subunidades, que utilizam frações ou proteínas do vírus. Para a produção dessas vacinas, o vírion deve ser cultivado e produzido em grande quantidade e, em seguida, as proteínas virais são purificadas e administradas junto a adjuvantes na forma de vacina. Por não conterem a partícula viral completa, não são capazes de se replicar e, portanto, também são seguras e podem ser administradas em imunodeprimidos. Elas possuem uma resposta de anticorpos neutralizantes forte, a resposta de T-CD8 fraca e necessitam de mais de uma dose. A base das vacinas de proteínas recombinantes é parecida com a de subunidades virais, mas a proteína viral não é extraída dos vírus e sim de organismos recombinantes. É retirado o gene de interesse do vírus e inserido no genoma de leveduras ou bactérias que passam a produzir o antígeno em grande quantidade. A proteína é, então, purificada e pode ser administrada em vacinas.

Algumas vacinas, como as inativadas e de subunidades, dependem de adjuvantes. Eles vão potencializar a resposta imunológica induzida por essas vacinas, já que muitos dos antígenos que as compõem são pouco imunogênicos. Os adjuvantes também são capazes de induzir resposta imunológica nas mucosas e estimular a produção de linfócitos T. Com o aumento da magnitude da resposta imune, podem reduzir o número de doses necessárias para conferir proteção e aumentar a duração desta resposta. Diversas substâncias têm sido utilizadas para uso como adjuvantes, incluído sais inorgânicos, por exemplo, fosfato de alumínio, que armazenam e liberam o antígeno gradualmente; partículas lipídicas, como virossomos, que liberam o antígeno encapsulado no citoplasma e ativam linfócitos T citotóxicos; e componentes de bactérias, como o LPS, que estimulam macrófagos e liberação de citocinas. Com base em seu mecanismo de ação, os adjuvantes são categorizados em dois grupos, o sistema de entrega do antígeno, que apresenta o antígeno às células do sistema imune; e os adjuvantes imunoestimuladores, que ativam diretamente essas células através de receptores específicos, por exemplo, os receptores Toll-like.

Os Virus-Like Particles (VLP) são estruturas que imitam a organização e conformação de vírus autênticos, mas não possuem o genoma viral, sendo potenciais candidatos para vacinas. Em comparação com proteínas individuais ou peptídeos, os VLPs apresentam epítomos conformais mais semelhantes ao vírus e a imunogenicidade geral, apesar de também ser fraca, é um pouco melhor que as vacinas de subunidades. Nem todos os vírus são alvos adequados do VLP para o desenvolvimento de vacinas e nem todos os VLPs são adequados para serem usados nesse tipo de imunização. A primeira vacina comercializada com essa estrutura foi baseada no antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e alguns anos atrás foi aprovada uma vacina do Papilomavírus Humano (HPV), a qual utilizou esse método.

Os vírus da família *Papillomaviridae* estão presentes na pele e mucosa de vários animais. Alguns não causam sintomas, enquanto outros induzem lesões, verrugas e podem causar câncer cervical. O capsídeo viral dos papilomavírus é composto por 72 capsômeros e cada capsômero é formado por duas proteínas codificadas pelo vírus: L1 e L2. As vacinas de VLP contra o HPV são compostas

pela proteína L1 que se auto-organizam no capsídeo, mesmo sem a presença do DNA viral. A versão final da vacina contém adjuvante e tem uma resposta de anticorpos neutralizantes forte e de T-CD8 fraca.

A primeira vacina com vetor viral recombinante aprovada para uso em humanos foi contra o vírus Ebola Zaire. Foram identificadas cinco cepas do vírus Ebola: *Zaire*, *Sudão*, *Bundibugyo*, *Tai Foreste Reston*, sendo os três primeiros os causadores da maior parte da doença em humanos. O surto causado na África Ocidental em 2013-2016, causado pela cepa *Zaire*, notificou 28 646 casos e 11 323 óbitos e a vacina, recentemente licenciada, é direcionada para essa cepa. O método consiste em expressar a glicoproteína do Ebola no vírus da Estomatite Vesicular recombinante. O vírus obtido, chamado de rVSV-ZEBOV, expressa as glicoproteínas do Ebola e não causa a doença, nem mesmo da Estomatite Vesicular, já que foram retirados os genes importantes para que ele seja patogênico. Essa vacina tem uma boa resposta de anticorpos neutralizantes e de T-CD8.

Para a elaboração de vacinas de DNA, identifica-se um gene que codifica uma proteína indutora de resposta imune e o insere em um plasmídeo de expressão, que serve como vetor vacinal. No organismo hospedeiro, o DNA é transportado até o núcleo das células onde o gene será transcrito e a proteína produzida é, então, apresentada ao sistema imune. Como resultado, a resposta de anticorpos neutralizantes é boa e a de T-CD8 fraca. No caso das vacinas de RNA, o mRNA que codifica as proteínas de interesse é produzido e incorporado em micropartículas ou lisossomos. No organismo hospedeiro o mRNA é levado para o interior da célula e ocorre a tradução e produção da proteína viral. Com a apresentação ao sistema imunológico, surge uma resposta de anticorpos neutralizantes fortes e de T-CD8 média. A vacina de RNA, como a de DNA, requer mais de uma dose.

Métodos de tratamento para infecções virais

As infecções virais são aquelas infecções causadas por vírus. As viroses, como são chamadas as doenças causadas por esse tipo de patógeno, têm várias manifestações clínicas e, apesar de muitos usarem a palavra para se referirem

apenas a infecções leves, como um resfriado, o termo também pode ser aplicado a doenças mais graves. No tratamento, podem ser usados os medicamentos sintomáticos, que vão tratar os sintomas apresentados; ou os antivirais, que são específicos para infecções de vírus específicos.

Os antivirais são classificados de acordo com sua forma de ação. Os inibidores nucleosídicos de transcriptase reversa inibem a transcriptase dos retrovírus. Eles se incorporam na fita de DNA do vírus tornando-a defeituosa e impedindo sua duplicação. Os inibidores não nucleosídicos também inibem a transcriptase reversa se incorporando na fita de DNA viral. Já os inibidores da protease bloqueiam a protease e impedem a produção de novas proteínas virais. Os inibidores da DNA-polimerase inibem a síntese de DNA viral. Os inibidores de fusão do HIV impedem que o vírus HIV entre nos linfócitos T-CD4. Os inibidores da liberação e desmontagem viral inibem a neuraminidase do vírus da influenza, que facilita a saída do vírus da célula. Os imunomoduladores ativam cascatas que levam a formação de proteínas antivirais.

Dentre os tratamentos para infecções virais, um dos mais conhecidos é o do HIV, por causa do famoso coquetel. O coquetel do HIV é uma combinação de vários medicamentos que atuam no vírus evitando que se reproduzam, os diferentes tipos de remédios agem em alvos distintos. Infelizmente, não é suficiente para curar, mas aumenta a expectativa e qualidade de vida do portador do vírus. O coquetel é formado por 22 fármacos, dos quais incluem inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa (Abacavir, Didanosina, Lamivudina, Tenofovir, Zidovudina), inibidores não nucleosídicos (Efavirenz, Nevirapina, Etravirina), inibidores de protease (Atazanavir, Darunavir, Fosamprenavir, Lopianvi, Nelfinavir, Ritonavir, Saquinavir, Tipranavir), inibidores de fusão (Enfuvirtida), inibidores de integrase (Dolutegravir, Raltegravir) e inibidores de entrada (Maraviroc). A combinação de tantos medicamentos geralmente causa efeitos colaterais como náuseas, dor de cabeça, lipodistrofia, fadiga e diarreia. Se uma pessoa for exposta a uma situação de risco de contaminação do vírus, como acidentes com perfurocortantes ou abuso sexual, pode tomar o coquetel do dia seguinte. A ingestão das drogas deve ser feita até 72 horas após a possível exposição e, apesar do nome, devem ser tomados por um período de 28 dias.

No caso do Sars-Cov-2, foram usados, no tratamento farmacológico, alguns medicamentos utilizados para outras doenças, como fármacos antimalária, inibidores de neuroaminidase, antiinflamatórios e vários outros antivirais, os quais uns mostraram uma boa resposta e outros foram ineficazes. A atitude mais sábia a tomar é praticar as medidas preventivas como o uso de máscara, higienização das mãos e distanciamento social.

Bacteriófagos e phage therapy

Ao perguntar a algumas pessoas sobre o que vírus, dentre as muitas respostas uma foi “para mim é como se fosse bactéria”. A opinião popular parece ser que vírus e bactérias são extremamente semelhantes, como parentes distantes que compartilham a função primordial de deixar humanos e animais doentes. O primeiro equívoco é que eles não são unicamente patógenos, pois fazem parte da microbiota humana. E o segundo erro é colocá-los como tão parecidos, pois estruturalmente já são muito diferentes e, além disso, os vírions são capazes de algo que as bactérias não são, infectar todos seus outros seres infecciosos. Os que infectam bactérias são chamados de bacteriófagos.

Os bacteriófagos foram descobertos no século XX, por volta de 1915, por Frederick W. Twort, que relatou ser um agente capaz de matar bactérias, no entanto, sua pesquisa foi interrompida. Em 1917, Félix d'Hérelle, que na época trabalhava no instituto Pasteur, anunciou a descoberta de "um micróbio invisível e antagônico do bacilo disenteria". Ele deu a este organismo o nome de *bacteriophage*, que significa “comedor de bactérias”. Esses vírus podem ser encontrados no ar, água, solo e em praticamente todos os lugares que bactérias também possam ser encontradas.

Os bacteriófagos possuem dois ciclos de vida, o ciclo lítico e o ciclo lisogênico. No ciclo lítico, o vírus se liga a bactéria e injeta nela seu material genético. O genoma viral se replica e logo são montados novos vírus, que vão continuar aumentando de números e causam a lise da célula hospedeira. No ciclo lisogênico, o DNA viral é inserido no cromossomo bacteriano. Quando a bactéria se reproduz, o genoma do vírus é replicado e passado para cada célula filha bacteriana. O bacteriófago pode mudar do ciclo lisogênico para o ciclo lítico, para

a reprodução rápida de partículas virais. Os fagos também podem ter um papel na patogenicidade e evolução bacteriana como, por exemplo, através da transformação e transdução. A transformação ocorre quando uma bactéria resistente que sofreu lise dos bacteriófagos libera pedaços de seu cromossomo no meio. Esses genes de resistência podem ser absorvidos por uma bactéria viva e transformá-la em uma bactéria resistente. Uma bactéria pode, ainda, adquirir um gene de resistência através da transdução. Esse mecanismo ocorre quando um fago ataca uma bactéria resistente e empacota em seu capsídeo fragmentos do DNA bacteriano. O vírus pode levar esse gene para outra bactéria.

A resistência a antibióticos é cada vez mais preocupante. Logo, pode não mais existir medicamentos eficientes para tratar algumas doenças bacterianas. É, então, que os bacteriófagos aparecem como uma boa alternativa contra bactérias patogênicas. A *Phago therapy*, apesar de parecer um termo novo, tem sido usada e estudada a vários anos, no entanto, só recentemente o interesse por essa técnica se tornou pouco mais significativo, justamente por causa do aumento de bactérias resistentes. É importante ressaltar que alguns antibióticos podem atacar mais de um tipo de bactéria, inclusive algumas da nossa microbiota, o que pode causar efeitos colaterais. Por outro lado, os bacteriófagos só atacam um tipo ou um grupo específico, que podem ser usados para atingir diretamente as que causam doenças. Para a terapia com fagos, são utilizados vírus com ciclo lítico, para que possam causar a lise da célula hospedeira. Alguns tratamentos podem usar os bacteriófagos e os antibióticos juntos. Algumas enzimas liberadas pelos fagos dispersam o biofilme das bactérias, uma estrutura capaz de bloquear a ação dos antibióticos e sem essa proteção, o patógeno fica vulnerável aos antibióticos.

Vírus oncolíticos

A regressão tumoral foi observada durante ou após infecções virais naturalmente adquiridas, como sarampo e herpes. A partir dessas observações, surgiu o conceito de vírus oncolíticos, que infectam e matam preferencialmente células tumorais. Esses *vírions* promovem respostas antitumorais tanto pela lise seletiva dessas células, quanto pela ativação do sistema imunológico do hospedeiro. As células tumorais têm mecanismos para escapar das defesas do

organismo, como a redução da molécula MHC-I. Após a morte celular, vão liberar PAMPs e DAMPs que podem ativar as respostas imunes adaptativas e inatas e, assim, mediar a regressão do tumor em locais que não foram expostos ao vírus.

Referências

ANTONELLI, G.;PISTELLO, M. Virology: a scientific discipline facing new challenges. **Clin Microbiol Infect.** London, v. 25, n. 2, p. 133-135, 01 2019.

CHIDIEBERE, C. J. *et al.* Stimulator of Interferon Genes (STING): A Factor to Consider in Cellular Homeostasis. **Internacional Journal of Medical Research e Health Sciences**, Índia, v. 7, n. 2, p. 102-109, 2018.

FARIAS, N. S. O. *et al.* Ocorrência de hepatite B em gestantes e seguimento de crianças expostas no estado de São Paulo, em 2012. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 29, n. 2, e2019443, 2020.

FERRAZ, E. G. *et al.* Receptores Toll-Like: ativação e regulação da resposta imune. **Rev. gaúch. odontol.**, Porto Alegre, v. 59, n. 3, p. 483-490, 2011.

FLORES, E. F. (org.). **Virologia veterinária**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2007.

LETO, M. G. P. *et al.* Infecção pelo papilomavírus humano: etiopatogenia, biologia molecular e manifestações clínicas. **An. Bras. Dermatol.** Rio de Janeiro, v. 86, n. 2, p. 306-317, 2011.

LOBATO-SILVA, D. F. Citomegalovírus: epidemiologia baseada em dados de soroprevalência. **Rev Pan-Amaz Saude**, Ananindeua, v. 7, n. esp, p. 213-219, dez. 2016.

MARTIN, N. T.; BELL, J. C. Oncolytic Virus Combination Therapy: Killing One Bird with Two Stones, **Molecular therapy**, Cambridge, v. 26, n. 6, p. 1414-1422, 2018.

OLIVEIRA, B. C. M.; GOMES, D. E. Raiva: uma atualização sobre a doença. **Revista Científica**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 1-10, 2019.

OLIVEIRA, N. S.; IGUTI, A. M. O vírus Influenza H1N1 e os trabalhadores da suinocultura: uma revisão. **Rev. bras. saúde ocup.**, São Paulo, v. 35, n. 122, p. 353-361, Dec. 2010.

ROLDÃO, A. *et al.* Virus-like particles in vaccine development. **Expert Review of Vaccines**, Oxford, v. 9, n. 10, p. 1149-1176, 2010.

VARGAS, K.; LAWALL, S. Reflexões biogeográficas acerca da origem, hipóteses, dispersão e distribuição dos Sars-Cov-2 (Corona Vírus). **Geog Ens Pesq**, Santa Maria, v. 24, e19,2020

Sobre os autores

Afonso Vinícius Seabra Carneiro da

Silva, natural de Recife-PE, 20 anos e acadêmico em enfermagem no Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco. Admirador da virologia desde o primeiro contato com a disciplina! Foi uma experiência incrível desmistificar o mundo dos vírus e entender a causalidade de muitas enfermidades através da relação homem-natureza. Considerou que a participação na construção do *e-book*, ajudou na formação crítica, tão importante, acerca do modo de como vivemos enquanto sociedade.



Ewerton Henrique da

Conceição, 31 anos, graduando do 7º período do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória. Apaixonado pelo campo da Microbiologia e Imunologia. Atuante em pesquisas na área de virologia e micologia, com o objetivo de seguir carreira acadêmica nestas áreas.

Gabriela Cavalcanti Leal

20 anos, do interior de Pernambuco e graduanda do quarto período de enfermagem pela Universidade Federal de Pernambuco- Centro Acadêmico de Vitória. Aventureira, gosta de desafios, apaixonada pela área da saúde, gosta de fugir da rotina e explorar novas áreas, como a virologia e suas fantásticas curiosidades.



Gabrielly Sthefany Alves da Silva

19 anos, nasceu em Bonito, interior de Pernambuco. Graduanda em Enfermagem (3º período) pela Universidade Federal de Pernambuco - Centro Acadêmico de Vitória. Com seu espírito livre e em busca de respostas viu no mundo da Virologia a oportunidade de aprender sobre o mundo em que vive e também sobre si mesma

Ruth Cristina Albuquerque, 21 anos, do interior de Pernambuco, graduanda de enfermagem (5º período) pela Universidade Federal de Pernambuco – Centro Acadêmico de Vitória. Curiosa e determinada, decide aprender mais sobre o universo da virologia e as respostas imunológicas.



Sandrelly Mirely da Silva Santos, 19 anos, nasceu em Pombos, interior de Pernambuco. No 2º período da graduação de nutrição, pela Universidade Federal de Pernambuco, viu-se mergulhada no encargo de descrever, gradualmente, suas descobertas sobre o universo da virologia. Observou, então, a tarefa tornar-se mais um incentivo para sua vigente apreciação da ciência.

