

Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC 2025

Estudo da Co-infecção entre Oropouche e Mayaro vírus

Pesquisador responsável: Paulo Victor de Miranda Boratto
Instituição Sede: Laboratório Nacional de Biociências

Grupo de Virologia**Introdução e Estado da arte**

O vírus Mayaro (MAYV), pertencente ao gênero *Alphavirus*, e o vírus Oropouche (OROV), do gênero *Orthobunyavirus*, são arbovírus que provocam quadros clínicos semelhantes aos de outras arboviroses, caracterizados por febre, vômitos, mialgia e artralgia¹. Ambos são prevalentes na região Norte do Brasil, com distribuição predominante em áreas rurais e de floresta^{2,3}. Embora o MAYV circule em regiões próximas às do OROV, **sua ocorrência ainda é subnotificada**, permanecendo **restrita a territórios historicamente negligenciados** em termos de vigilância epidemiológica⁴. O OROV, por outro lado, tem ganhado destaque desde 2024 devido a um **aumento expressivo no número de casos confirmados**: foram notificados 13.791 casos naquele ano, em contraste com os 832 registros de 2023. Essa tendência de crescimento persiste em 2025, com 7.320 casos já confirmados até a décima semana epidemiológica, o que representa cerca de 53% do total do ano anterior. Esse surto tem sido associado à emergência de uma nova variante, a AM0088, que, pela primeira vez, foi **diretamente relacionada a eventos de mortalidade em seres humanos**⁵.

A cocirculação desses vírus em uma mesma região pode resultar na infecção do hospedeiro humano por mais de um agente viral, seja de forma simultânea (coinfecção) ou em momentos distintos (superinfecção). Nesses cenários, três desfechos principais podem ser observados: (1) uma **interação antagonista**, com inibição parcial ou completa da replicação de um ou mais vírus; (2) uma **interação sinérgica**, que potencializa a replicação viral e pode agravar o quadro clínico; ou (3) uma **coexistência neutra**, sem alterações significativas na atividade viral de cada agente. Esse risco é intensificado pelo avanço da urbanização e pelas mudanças nas condições ambientais, como o desmatamento e as alterações climáticas, que favorecem a proliferação dos vetores, dificultam o controle da transmissão e ampliam a possibilidade de surtos em novas áreas geográficas⁶.

Alterações na dinâmica intra-hospedeiro durante eventos de coinfecção ou superinfecção podem influenciar diretamente a replicação viral e os desfechos epidemiológicos. Estudos indicam que o MAYV pode inibir a replicação do ZIKV em células de vertebrados, enquanto sua coinfecção

com o CHIKV não demonstrou interferência significativa na replicação de ambos os vírus^{7,8}. No entanto, **a interação entre MAYV e OROV permanece desconhecida**. Compreender essa relação é essencial para antecipar possíveis consequências clínicas, melhorar estratégias diagnósticas e fortalecer as ações de saúde pública frente a arboviroses emergentes.

Objetivos

a. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da coinfeção e superinfecção entre os vírus Oropouche (OROV) e Mayaro (MAYV) em condições *in vitro*.

b. Específicos

1. Investigar a interferência entre os vírus OROV e MAYV durante coinfeções em células VERO.
2. Analisar a expressão diferencial de genes virais associados à replicação de OROV e MAYV durante a coinfeção, por meio de qPCR.
3. Comparar a cinética de replicação viral em coinfeções com aquela observada em infecções individuais.

Metodologia

a. Cultivo celular e linhagens virais

Serão utilizadas células da linhagem VERO, conhecidas por sua permissividade à infecção por ambos os vírus. As culturas serão mantidas em meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de penicilina/estreptomicina, em incubadora a 37 °C com 5% de CO₂.

Será utilizada a nova linhagem do vírus OROV (AM0088) devido à sua crescente distribuição no território brasileiro. Para o MAYV, será utilizada uma linhagem IQT modificada com a inserção de um gene de proteína fluorescente verde (GFP), com o objetivo de avaliar mudanças na produção da progênie desse vírus nos eventos de coinfeção e superinfecção mencionados.

b. Infecções e co-infecções

Serão realizados ensaios de infecção simples e coinfeção em diferentes condições experimentais, com o objetivo de avaliar as interações entre os vírus OROV e MAYV:

- . Infecção individual com o vírus OROV;
- . Infecção individual com o vírus MAYV;
- . Coinfeção simultânea com ambos os vírus;

. Coinfecção sequencial, com pré-infecção por um dos vírus seguida da infecção pelo segundo, em diferentes intervalos de tempo.

c. Análise Molecular

A expressão de genes virais será quantificada por RT-qPCR utilizando primers específicos para OROV e MAYV.

d. Análise de partículas infectivas

Devido à utilização de uma linhagem de MAYV recombinante expressando proteína GFP durante o seu processo de replicação, iremos também avaliar se os eventos de coinfecção e superinfecção podem determinar em uma modificação na replicação do vírus MAYV por meio da contagem do número de focos de GFP produzidos nas culturas infectadas.

Cronograma de atividades

| Atividade | 1º Semestre | 2º Semestre | 3º Semestre | 4º Semestre |
|------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Revisão Bibliográfica | X | X | | |
| Preparação de Culturas | X | | | |
| Ensaio de Infecção | X | X | | |
| Ensaio de RT-qPCR | | X | X | X |
| Análise por focos de GFP | | | X | |
| Análise de Dados e Relatório | | | | X |

Referências

- Alva-Urcia, C. *et al.* Emerging and reemerging arboviruses: A new threat in Eastern Peru. *PLOS ONE* **12**, e0187897 (2017).
- Lima, W. G. *et al.* Rate of exposure to Mayaro virus (MAYV) in Brazil between 1955 and 2018: a systematic review and meta-analysis. *Arch. Virol.* **166**, 347–361 (2021).
- Moreira, H. M. *et al.* Outbreak of Oropouche virus in frontier regions in western Amazon. *Microbiol. Spectr.* **12**, e01629-23 (2024).
- Mayaro Virus: The State-of-the-Art for Antiviral Drug Development. <https://www.mdpi.com/1999-4915/14/8/1787>.
- Novel Reassortants of Oropouche Virus (OROV) Are Causing Maternal–Fetal Infection During Pregnancy, Stillbirth, Congenital Microcephaly and Malformation Syndromes. <https://www.mdpi.com/2073-4425/16/1/87>.
- Lorenz, C. *et al.* Impact of environmental factors on neglected emerging arboviral diseases. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **11**, e0005959 (2017).
- Oliveira, M. E. dos S. P. de. Avaliação da dinâmica de coinfecção e superinfecção pelos arbovírus Chikungunya e Mayaro em uma população de *Aedes aegypti* de laboratório. (2024).
- Brustolin, M. *et al.* In Vitro and In Vivo Coinfection and Superinfection Dynamics of Mayaro and Zika Viruses in Mosquito and Vertebrate Backgrounds. *J. Virol.* **97**, e01778-22 (2023).