

Avaliação anátomo-histológica em modelos experimentais de ratas gestantes desafiadas com soro positivo para zika vírus

Anatomical-histological assessment in experimental models of pregnant rats challenged with positive serum for zika virus

DOI:10.34117/bjdv7n11-066

Recebimento dos originais: 12/10/2021

Aceitação para publicação: 05/11/2021

Lucas Carvalho Giacomazzi

Graduando em medicina pela UNAERP

Instituição: Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP

Endereço: Avenida Leão XIII, 1706, Bairro Ribeirania - Ribeirão Preto, SP

CEP: 19910477

E-mail: Lucasjacomassi2@gmail.com

Prof. Dra. Renata Dellalibera-Joviliano

Doutora pela UNIARA

Instituição: Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP e Universidade do Estado de Minas Gerais - UEMG

Endereço: Rua AAAA, 1155, Bairro AAAA - Cidade, Estado,

CEP: 19910477

E-mail: rjoviliano@unaerp.br

RESUMO

Considerando o número de casos de Zika no país e sua influência na saúde da população, este estudo busca analisar histologicamente modelos experimentais de ratas gestantes desafiadas com soro positivo para Zika Vírus, visando entender a influência dessa arbovirose nos principais tecidos maternos e fetais, incluindo tecido renal, do SNC e hepático. Na metodologia, foi utilizado uma amostragem de 10 ratas da linhagem Wistars, que foram desafiadas com o soro positivo no período gestacional, recebendo 3 desafios intraperitoneais de Ac-Zika em intervalos regulares de 1 semana. Após o nascimento, foi avaliado se todos os animais sobreviveram ao teste e se não houve nenhum caso de aborto ou natimorto. Em seguida, foram analisados através de biopsias os tecidos nervosos, renais e hepáticos. A análise histológica foi realizada seguindo os processos de fixação, desidratação, diafanização ou clarificação, inclusão, hidratação e a coloração. Os resultados encontrados evidenciaram que o soro humano positivo para ZIKA não apenas prejudica o desenvolvimento da gestação das ratas, fazendo com que essas tenham um menor número de prole viável, como gera alterações histológicas tanto nas mães como nos fetos viáveis. No SNC foi possível a identificação de diminuição da maturação e crescimento cerebral, somado a um aumento do número de capilares endoteliais, presença de glicose nas células e proliferação microglial. Nos rins foi possível a visualização de proliferação tubular e infiltrado inflamatório predominantemente linfo-plasmocitário. O fígado não aparenta haver alterações significantes. Permitindo uma verificação mais precisa da influência do vírus em órgãos principais, visto que as alterações clínicas em humanos são muito diversificadas, abrangendo desde casos de fácil resolução a

manifestações com sequelas permanentes este estudo foi importante ser realizado. Sendo assim, é possível concluir que o soro humano positivo para ZIKA gera alterações significantes nos tecidos maternos e fetais, evidenciando o agravamento que o quadro pode gerar tanto na mãe como no neonato e o foco da infecção pelos órgãos nobres do corpo, principalmente do SNC.

Palavras-chave: Arboviroses, Zika, Imunologia

ABSTRACT

Considering the number of Zika cases in the country and its influence on the population's health, this study seeks to histologically analyse experimental models of pregnant female rats challenged with positive serum for Zika Virus, aiming to understand the influence of this arbovirus in the main maternal and fetal tissues, including tissue renal, CNS and liver. In the methodology, a sample of 10 female Wistars rats was used, which were challenged with the positive serum during the gestational period, receiving 3 intraperitoneal challenges of Ac-Zika at regular intervals of 1 week. After birth, it was evaluated whether all animals survived the test and whether there was any case of miscarriage or stillbirth. Then, nervous, renal and hepatic tissues were analysed through biopsies. Histological analysis was performed following the processes of fixation, dehydration, diaphanization or clarification, inclusion, hydration and staining. The results found showed that positive human serum for ZIKA not only impairs the development of pregnancy in rats, causing them to have a smaller number of viable offspring, but also generates histological alterations in both mothers and viable fetuses. In the CNS, it was possible to identify a decrease in brain maturation and growth, added to an increase in the number of endothelial capillaries, the presence of glucose in the cells and microglial proliferation. In the kidneys, it was possible to visualize tubular proliferation and predominantly lympho-plasmocytic inflammatory infiltrate. The liver does not appear to have significant changes. Allowing a more accurate verification of the influence of the virus on major organs, since the clinical changes in humans are very diverse, ranging from easy-to-resolve cases to manifestations with permanent sequelae, this study was important to be carried out. Thus, it is possible to conclude that human serum positive for ZIKA generates significant changes in maternal and fetal tissues, showing the aggravation that the condition can generate in both the mother and the newborn and the focus of infection by Organs noble organs of the body, especially the CNS.

Keywords: Arboviruses, Zika, Immunology

1 INTRODUÇÃO

As arboviroses afetam milhares de pessoas no Brasil anualmente, entretanto, a maioria dessas doenças não são exclusivas de nosso país, e atingem dezenas de outras nacionalidades ao redor do mundo. Essas patologias têm especial importância em áreas tropicais, que possuem, temperatura e umidade favorável para proliferação de seu principal vetor, os artrópodes, e características de cidades subdesenvolvidas, ou seja, ocupação florestal e crescimento urbano desordenado, que são facilitadores de

transmissão desses vírus. 4 5 (Iwamoto et al., 2003; Biggerstaff et al., 2002) Arbovirus (``Arthropod-borne virus``) são vírus transmitidos por artrópodes, por meio da picada de mosquitos hematófagos, recebem seu nome não apenas por isso, mas também por realizarem parte de seu ciclo reprodutivo no ambiente favorável criado interior desses insetos. Atualmente dentre as 545 espécies de arbovírus estudadas, 150 delas foram identificadas como prováveis causadoras de patologias em humanos. Realizam um ciclo de transmissão, entre artrópodes e reservatório vertebrados temporários. No inseto, exercem pouca influência maléfica, já em vertebrados, como é o caso dos humanos, podem gerar alterações homeostáticas significativas. 2 e 3 (Cleton et al., 2012; Gubler, 2001) Clinicamente, as afecções geradas pela atuação desses vírus em humanos são muito diversificadas, em decorrência do grande número de agentes etiológicos possíveis, variando desde doenças simples de fácil resolução, a manifestações com sequelas permanentes. Existem 4 grupos principais de manifestações clínicas geradas pelas arboviroses: Doença febril moderada ou grave (febre, cefaleia comum e mialgia) Síndromes neurológicas (mielite, meningite, encefalite, paresia, mudanças comportamentais e perda de condenação) Manifestações dérmicas (Rash cutâneo e exantemas) e Síndromes hemorrágicas (petéquias, hemorragias com possível evolução para choques). (Cleton et al., 2012) Dentre as 150 espécies identificadas como causadoras de patologias em humanos, se destacam cinco famílias: Bunyaviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Reoviridae e Rhabdoviridae prevalentes no Brasil. A família Flaviviridae recebe destaque, possuindo espécies causadores da dengue (DENV), febre amarela e Zika (ZIKV), as arboviroses de maior importância atualmente em nosso país. (Rust, 2012) Particularmente, o ZIKV, foi originalmente descoberto em 1947, na floresta de Uganda, África, mais especificamente no ``Vale da Zika`` em um macaco Rhesus. Inicialmente, pouco destaque foi dado ao vírus, até que em 2013-2014 dois surtos foram registrados em países Sul americanos, chegando a atingir 1,5 milhão de indivíduos infectados. 6 (Ngono e Shresta, 2018; Ngono e Young, 2019) O ZIKV pertence à família Flaviviridae e ao gênero flavivírus, é um vírus envelopado, de RNA simples não segmentado. Sua transmissão assim como a de outras arboviroses ocorre por meio da picada de um artrópode, no caso, o mosquito *Aedes aegypti*, estudos recentes também apontam a possibilidade de transmissão via contato sexual, ainda que não seja recorrente. Clinicamente, os pacientes infectados podem se mostrar assintomáticos, como ocorre na maioria dos casos (80%), ou sintomáticos, apresentado: febre leve, mal-estar, mialgia, erupções cutâneas e cefaleia moderada. Ou seja, sua manifestação clínica em pacientes

hígidos é pouco específica, dificultando o diagnóstico e tratamento precoce. Ainda que sejam importantes, esses sintomas não são o principal malefício gerado pelo vírus. A associação do ZIKV a consequências graves para saúde pública acontece devido a sua interação com o feto de gestantes contaminadas, gerando mal formações congênitas graves e distúrbios de desenvolvimento, sendo a Microcefalia o fenômeno mais recorrente. 6 7 8 9 (Ngono e Shresta, 2018; Ngono e Young, 2019; Paquin-Proulx et al., 2018; Hastings et al., 2019). Em geral, vírus são microrganismos intracelulares obrigatórios, que utilizam os componentes da célula que parasitam para se replicar e manter a virulência. Esses microrganismos podem infectar quase todas as células do organismo, e utilizam de proteínas de superfície como receptores para favorecer sua entrada nas células hospedeiras, sendo assim, a resposta imune contra esse grupo patológico é específica, apresentando poucas alterações para diferentes espécies. (Janeway, 2019) A principal atuação da imunidade inata contra os vírus, consiste na inibição da infecção por interferon tipo I e destruição das células infectadas por meio de linfócitos NK. Várias vias iniciam a produção de interferon I, sendo o reconhecimento do RNA e DNA viral pelos TLRs endossomais e ativação dos receptores citoplasmáticos tipo RIG e da via Sting, os principais. Estas vias convergem para a ativação de proteínas quinases que por sua vez favorece fatores de transcrição de IRF que estimulam a transcrição do gene gerador do interferon tipo I, que bloqueia a replicação viral. Linfócitos NK, destroem células infectadas sendo importantes no início da infecção, diminuindo a velocidade desta, garantindo tempo para organização do sistema imune adaptativo. (Chadha et al.,2004; Abbas et al.,2015) A imunidade adaptativa contra os vírus será mediada por anticorpos e por células T. Os anticorpos são eficientes contra os vírus apenas na fase extracelular, por atuarem bloqueando a penetração do vírus nas células do organismo, sua funcionalidade está relacionada a interação com receptores do envelope viral, impedindo a ligação desses com células hospedeiras, e conseqüentemente a invasão celular. (Chadha et al.,2004; Abbas et al.,2015) A ativação da via clássica do sistema complemento também é uma função dessa imunidade. A eliminação dos vírus que conseguiram penetrar nas células é efetuada pelos linfócitos T (CTLs), capazes de matar as células infectadas. A principal função delas é a vigilância contra infecções virais. A maioria das CTLs específicas para vírus são células T CD8+, capazes de reconhecer peptídeos virais que foram previamente apresentados pelo complexo MHC tipo 1. As células T CD8+ sofrem uma proliferação maciça durante infecções virais, e a maioria das células em proliferação são específicas para o antígeno que as estimulou. (Chadha et

al.,2004; Abbas et al.,2015) A resposta geral do sistema imune a infecções virais, apresenta essa estruturação básica descrita anteriormente, mas, devido a especificidade muito elevada de nosso sistema imune adaptativo, algumas infecções são respondidas com mecanismos únicos, como é caso da resposta a ao ZIKV, que será discutido com maior nuance no decorrer do trabalho.

2 OBJETIVO

Avaliar possíveis alterações Anátomo-Histológicas do Sistema Nervoso Central, tecido renal e tecido Hepático de ratas gestantes desafiadas com soro positivo para Zika Vírus, por meio da análise de suas biópsias e sua comparação com os respectivos tecidos em ratas gestantes controle.

3 HIPÓTESE E JUSTIFICATIVA

Enfermidades causadas pelo Zika vírus ocorrem em quantidades crescentes no Brasil, fazendo com que esse grupo de doenças se classifique como uma preocupação nacional. Sua característica teratogênica, influencia o desenvolvimento fetal fisiológico, elevando os índices de morte prematura, reduzindo o número de nascidos vivos e elevando o número de portadores de mal formação, assim, faz-se necessários a criação de estudos mais aprofundados das reações orgânicas imunes existentes no corpo do hospedeiro, principalmente no grupo mais afetado, mulheres gestantes. Para esse fim, desenvolveremos testes em seres vivos, exclusivamente em ratas fêmeas fecundadas, e analisaremos as possíveis alterações imunes, podendo expor, durante o experimento possíveis soluções para a doença em seres humanos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Animais: Serão utilizadas 12 ratas fêmea, já fecundadas, na fase adulta jovem (8 semanas) da linhagem wistars disponível no biotério fornecedor, pesando cerca de 250 gramas, alojados em local a critério da orientadora sob temperatura de aproximadamente 25 graus em ciclo claro/escuro 12/12 horas. Terão livre acesso a água e ração, vivendo

em caixas que possibilitem a livre circulação de ar. As gaiolas terão de ser limpas uma vez por semana, rigorosamente no mesmo horário. A disponibilidade de água e ração deveria ser monitorada de maneira que não haja qualquer desbalanço na dieta dos animais. Os animais serão distribuídos aleatoriamente em três grupos:

- A. Grupo controle de ratas fêmea fecundadas (n=4) que não receberão nenhum desafio.
- B. Grupo de ratas fêmea fecundadas (n=4) que receberão 1mg/dL soro contendo AcZika (intraperitoneal)
- C. Grupo de ratas fêmea fecundadas (n=4) que receberão 2mg/dL soro contendo AcZika (intraperitoneal).

As ratas gestantes receberão 3 desafios intraperitoneal de Ac-Zika em intervalos de regulares de 1 semana. Posteriormente, serão coletadas amostras de sangue periférico e será aguardado o período do parto para a análise das proles E RATAS SEPARADAMENTE.

Pós-parto: Primeiramente, será avaliado se todos os animais sobreviveram ao teste (mães e neonatos) e se não houve nenhum caso de aborto e/ou natimortos. Após esta avaliação, serão analisados os aspectos morfofuncionais, e se esses estão dentro, ou não, da normalidade.

Análise histológica: Será realizada uma avaliação histológica do Rim, fígado e das estruturas do sistema nervoso central seguindo as etapas de processamento descritos a seguir:

- 1- Fixação: O material, quando coletado do animal sacrificado, é identificado e colocado em solução fixadora para evitar autólise. O fixador escolhido foi a solução tamponada de Formol - 10%. A etapa de fixação ocorre em um tempo previsto de 8 a 12 horas.
- 2- Desidratação: Fixado o material, será realizada a desidratação, através de banhos em álcool etílico em diluições alcoólicas com porcentagem de água moderada até a mínima porcentagem de água possível (50%, 70%, 80%, 95%, 100%), respeitando a particularidade de cada estrutura em processamento.
- 3- Diafanização ou Clarificação: Preparação do material com banhos de Xilol (Xilol e álcool anidro – 50%) e três banhos de Xilol puro cuja titulação respeita a concentração adequada. Posteriormente, o material passará pelos dois banhos de parafina à temperatura de 58°C.
- 4- Inclusão: Confeção, identificação e congelamento dos blocos de parafina contendo a estrutura a ser estudada com a finalidade de seccionar posteriormente no micrótomo

(Cortes de 5 u). Tais cortes serão combinados com as lâminas finais e colocados na estufa para derreter a parafina.

5- Hidratação: A lâmina passará por três banhos de Xilol no período de 30 minutos (10 minutos para cada banho). Após a exposição ao Xilol, a lâmina passará por soluções alcoólicas cuja porcentagem de água aumentará (banhos sucessivos em soluções alcoólicas diferentes). Ao sair dos banhos, a lâmina passará na água corrente por 10 minutos.

6- Coloração: Antes de ser exposta aos corantes escolhidos, a lâmina será exposta à água destilada. Durante 7 minutos, ela ficará submersa em uma solução de Hematoxilina. No intervalo entre o próximo corante, ocorrerá uma lavagem em água corrente por 10 minutos e exposição ao álcool 80%. Em seguida, será realizada a exposição à solução de Eosina com a finalidade de corar os núcleos e citoplasmas celulares. Finalmente, a lâmina passará por uma desidratação, clarificação e pelo 16 acabamento (montagem permanente das lâminas com ENTELAN, lamínulas e identificação para análise).

O projeto foi submetido ao comitê de ética sendo aprovado: CEUA – Aprovado em 18/09/2019 (006/2019)

5 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Estarão inclusos no projeto: Ratas fêmeas, na idade fértil, sem patologias anteriores ou disfunções hereditárias estarão excluídos do projeto: ratos machos, fêmeas com enfermidades anteriores, inférteis, com disfunções genéticas ou fora da idade reprodutiva

6 RESULTADOS INICIAIS

Os resultados encontrados evidenciaram que o soro humano positivo para ZIKA não apenas prejudica o desenvolvimento da gestação das ratas, fazendo com que essas tenham um menor número de prole viável, como gera alterações histológicas tanto nas mães como nos fetos viáveis. No SNC foi possível a identificação de diminuição da maturação e crescimento cerebral, somado a um aumento do número de capilares endoteliais, presença de glicose nas células e proliferação microglial. Nos Rins foi

possível a visualização de proliferação tubular e infiltrado inflamatório predominantemente linfo-plasmocitário. O fígado não aparenta haver alterações significantes. Permitindo uma verificação mais precisa da influência do vírus em órgãos principais, visto que as alterações clínicas em humanos são muito diversificadas, abrangendo desde casos de fácil resolução a manifestações com sequelas permanentes este estudo foi importante ser realizado. Sendo assim, é possível concluir que o soro humano positivo para ZIKA gera alterações significantes nos tecidos maternos e fetais, evidenciando o agravamento que o quadro pode gerar tanto na mãe como no neonato e o foco da infecção pelos órgãos nobres do corpo, principalmente do SNC.

7 FORMATO DO TEXTO

Os autores devem utilizar normas ABNT para citações e referências. As legendas de elementos gráficos devem aparecer acima do elemento, centralizada e em fonte Times New Roman, tamanho 10. A fonte do elemento deve aparecer após o elemento, alinhada a esquerda e em fonte Times New Roman, tamanho 10.

REFERÊNCIAS

Abbas, a. K.; lichtman, a. H.; pillai, s. H. I. V. *Imunologia celular e molecular*. 8. Ed. Rio de janeiro: elsevier, 2015.

Abdulkhaleq, laa; assi, ma; abdullah, r; zamrisaad, m; taufiq-yap, h; hezmee, mnm. The crucial roles of inflamatory mediators in inflammation: a review. *Vest world*, v.5, p.627-635, 2018.

Biggerstaff bj, petersen lr. Estimated risk of west nile virus transmission through blood transfusion during an epidemic in queens, new york city. *Transfusion*. 2002 aug;42(8):1019-26.

Brasil. Ministério da saúde. *Febre de chikungunya: manejo clínico*. Brasília: ministério da saúde, 2015. 28 p.

Brasil. Ministério da saúde. Secretaria de atenção à saúde. Departamento de atenção básica. *Protocolos da atenção básica: saúde das mulheres*. Brasília, 2015c. 185 p. (versão preliminar).

Brown, c. Zika virus outbreaks in asia and south america. *Canadian medical association journal*. Pii: cmaj.109-5212. 2015. [Http:// 10.1503/cmaj.109-5212](http://10.1503/cmaj.109-5212)

Campos, g.s.; bandeira, a.c.; sardi, s.i. Zika virus outbreak, bahia, brazil. *Emerging infectious disease*, v. 21, n. 10, p. 1885-6. 2015. [Http://dx.doi.org/10.32301/eid2110.150847](http://dx.doi.org/10.32301/eid2110.150847)

Chadha kc, ambrus jl jr, dembinski w, ambrus jl sr. Interferons and interferon inhibitory activity in disease and therapy. *Exp biol med.* 2004; 229:285-90.

Cleton n, koopmans m, reimerink j, godeke gj, reusken c. Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. *J clin virol.* 2012 nov;55(3):191-203.

Diallo, d. Et al. Zika virus emergence in mosquitoes in southeastern senegal, 2011. *Plosone*, v. 9, n. 10, e109442. 2014. [Http://10.1371/journal.pone.0109442](http://10.1371/journal.pone.0109442)

Duffy, m.r. Et al. Zika virus outbreak on yap island, federated states of micronesia. *The new england journal of medicine*, v. 360, n. 24, p. 2536–43. 2009. [Http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa0805715](http://dx.doi.org/10.1056/nejmoa0805715)

Dupont-rouzeyrol, m. Et al. Co-infection with zika and dengue viruses in 2 patients, new caledonia, 2014. *Emerging infectious disease*, v. 21, n. 2, p. 381–2. 2015. [Http://dx.doi.org/10.3201/eid2102.141553](http://dx.doi.org/10.3201/eid2102.141553)

Faye, o. Et al. Molecular evolution of zika virus during its emergence in the 20(th) century. *Plos neglected tropical disease*, v. 8, n. 1, p. E2636. 2014. [Http://10.1371/journal.pntd.0002636](http://10.1371/journal.pntd.0002636)

Foy, b.d. Et al. Probable non-vector-borne transmission of zika virus, colorado, usa. *Emerging infectious disease*, v. 17, n. 5, p. 880-2. 2011. [Http://10.3201/eid1705.101939](http://10.3201/eid1705.101939)
grard et al., 2014

Grard, g. Et al. Zika virus in gabon (central africa) - 2007: a new threat from aedes albopictus? *Plos neglected tropical disease*, v. 8, n. 2, e2681. 2014. [Http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002681](http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002681)

Gubler dj. Human arbovirus infections worldwide. *Ann n y acad sci.* 2001 dec;951(1):13-24.

Hajra a, bandyopadhyay d, heise l, et al. Zika and pregnancy: a comprehensive review. *Am j reprod immunol.* 2017;77. [Doi:10.1111/aji.12607](https://doi.org/10.1111/aji.12607). Epub 2016 nov 25

Hamel, r. Et al. Biology of zika virus infection in human skin cells. *Journal of virology*, v. 89, n. 17, p. 8880–96. 2015. [Http://10.1128/jvi.00354-15](http://10.1128/jvi.00354-15).

Hastings, ak ; uraki, r ; gaitsch, h ; et al. Aedes aegypti nest1 protein enhances zika virus pathogenesis by activating neutrophils. *J virol.*, v. 13, 2019

Heang, v. Et al. Zika virus infection, cambodia, 2010. *Emerging infectious diseases*, v. 18, n. 2, p. 349- 51. 2012. [Http://dx.doi.org/10.3201/eid1802.111224](http://dx.doi.org/10.3201/eid1802.111224)

Ioos, s. Et al. Current zika virus epidemiology and recent epidemics. *Médecine et maladies infectieuses*, v. 44, n. 7, p. 302–7. 2014. [Http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2014.04.008](http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2014.04.008)

Iwamoto m, jernigan db, guasch a, treпка mj, blackmore cg, hellinger wc, et al. Transmission of west nile virus from an organ donor to four transplant recipients. *N engl j med.* 2003 may;348(22):2196- 203.

Janeway ca jr. How the immune system protects the host from infection. *Microbes infect.* 2001;3:1167-71.

lai, l ; rousphael, n ; xu, y ; et al. Innate, t-, and b-cell responses in acute human zika patients. *Clinical infectious diseases*, v.1, p.1-10, 2018.

Ledermann, j.p. . *Aedes hensilli* as a potential vector of chikungunya and zika viruses. *Plos neglected tropical disease*, v. 8, n. 10 , e3188. 2014. [Http://10.1371/journal.pntd.0003188](http://10.1371/journal.pntd.0003188)

Lucas, cgo; kitoko, jz ; ferreira, fm; et al. Critical role of cd4+ t cells and ifn γ signaling in antibodymediated resistance to zika virus infection. *Nat commun.*, v.1, p.3136, 2018. 20

Lum, fm ; lee, d ; chua, tk ; et al. Zika virus infection preferentially counterbalances human peripheral monocyte and/ou nk cell activity. *Msphere*, v.2, 2018

Marcondes, c.b.; ximenes, m.f.f.m. Zika virus in brazil and the danger of infestation by aedes (stegomyia) mosquitoes. *Revista da sociedade brasileira de medicina tropical*, pii: s0037-86822015005003102. 2015. [Http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0220-2015](http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0220-2015).

Maucorant, c; petitdemange, c ; yssel, h ; vieillard, v. Control of acute arboviral infection by natural killer cells. *Viruses*, v.2, p. 131, 2019.

Mesquita junior, danilo et al. Sistema imunitário - parte ii: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos t e b. *Rev. Bras. Reumatol.*, são paulo, v. 50, n. 5, p. 552-580, oct. 2010. A

Paquin-proulx, d. ; avelino-silva, vi; santos, ban ; et al. Mait cells are activated in acute dengue virus infection and after in vitro zika virus infection. *Plos negl trop dis.*, v.1, p. 164, 2018.

rust rs. Human arboviral encephalitis. *Semin pediatr neurol.* 2012 sep;19(3):130-51. Doi: 10.1016/j.spn.2012.03.002

Ruvinel, wilson de melo et al. Sistema imunitário: parte i. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Rev. Bras. Reumatol.*, são paulo, v. 50, n. 4, p. 434-447, aug. 2010.