



DINÂMICA DAS DOENÇAS INFECCIOSAS 2

**BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO
(ORGANIZADOR)**

Atena
Editora
Ano 2020



DINÂMICA DAS DOENÇAS INFECCIOSAS 2

**BENEDITO RODRIGUES DA SILVA NETO
(ORGANIZADOR)**

Atena
Editora
Ano 2020

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação: Natália Sandrini de Azevedo

Edição de Arte: Lorena Prestes

Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie di Maria Ausiliatrice

Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Luis Ricardo Fernando da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará

Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste

Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador

Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Fernando José Guedes da Silva Júnior – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Prof^a Dr^a Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^a Dr^a Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof^a Dr^a Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof^a Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Prof^a Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Prof^a Dr^a Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof^a Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof^a Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof^a Dr^a Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Prof. Me. Heriberto Silva Nunes Bezerra – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^a Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof^a Ma. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Prof^a Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Prof^a Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Prof^a Dr^a Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo

Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
D583	Dinâmica das doenças infecciosas 2 [recurso eletrônico]/ Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020. Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-65-5706-002-5 DOI 10.22533/at.ed.025201604 1. Doenças transmissíveis. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da. II. Título. CDD 616.9
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra “Dinâmica das Doenças Infecciosas” que aqui temos o privilégio de apresentar, compõe – se inicialmente de dois volumes.

Na medicina sabemos que uma doença infecciosa ou transmissível é uma doença ou distúrbio de funções orgânicas, causada por um agente infeccioso ou suas toxinas através da transmissão desse agente ou seus produtos por meio de hospedeiro intermediário vegetal ou animal, por meio de um vetor, ou do meio inanimado.

Deste modo, podemos dizer que a obra que você possui agora em mãos, essencialmente trata de qualquer doença causada por um agente patogênico, os quais podemos incluir príons, vírus, rickettsias, bactérias, fungos, e parasitas. Cada vez mais a evolução biotecnológica tem nos permitido conhecer mais sobre os microrganismos causadores de infecções em humanos, e o material apresentado e elencado aqui nos oferece essa visão e nos leva à compreender os motivos do estabelecimento da infecção, das co-infecções agregando valor para o discernimento e compreensão das doenças infecto-parasitárias. A disponibilização destes trabalhos nos favorece conhecimento e ao mesmo tempo evidencia a importância de uma comunicação científica sólida.

Esse primeiro volume compreende capítulos bem elaborados e desenvolvidos por profissionais de diversas regiões do país com diferentes linhas de pesquisa no campo das doenças infecciosas demonstrando a dinâmica das doenças tais como a leptospirose, a meningite, o vírus da dengue, a hepatite C, a malária, a Biotecnologia, Leishmania, toxoplasmose, *Mycobacterium leprae*, vigilância epidemiológica, choque séptico, microRNAs, biogênese, febre amarela, hepatite B, enterobacteriaceae, resistência, antibiótico, doença de Chagas, meningite, zika vírus, *Mycobacterium avium* dentre outras diversas observações à dinâmica das doenças infecciosas.

Portanto, a obra “Dinâmica das Doenças Infecciosas – volume 2” pretende apresentar ao leitor uma teoria bem fundamentada desenvolvida em diversas partes do território nacional de maneira concisa e didática. Entendemos que a divulgação científica é fundamental para o desenvolvimento e avanço da pesquisa básica em nosso país, por isso destacamos também a estrutura da Atena Editora capaz de oferecer uma plataforma consolidada e confiável para estes pesquisadores divulguem seus resultados.

Desejo à todos uma excelente leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
ANÁLISE COMPARATIVA DA TAXA DE LETALIDADE POR LEPTOSPIROSE NAS REGIÕES NORDESTE E SUDESTE DO BRASIL DE 2013 A 2017	
Rodrigo Santos dos Santos Jair de Souza Braga Filho Rodrigo Mesquita Costa Braga Thuanne Cidreira dos Santos Gomes Aurea Angelica Paste	
DOI 10.22533/at.ed.0252016041	
CAPÍTULO 2	10
ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE MIR-15 E MIR-16 EM INFECÇÕES EXPERIMENTAIS POR VDEN1	
Karla Fabiane Lopes de Melo Gustavo Moraes Holanda Walter Felix Franco Neto Jardel Fabio Lopes Ferreira Francisco Canindé Ferreira de Luna Ana Paula Sousa Araújo Taiana Andrade Freitas Carlos Alberto Marques de Carvalho Samir Mansour Moraes Casseb	
DOI 10.22533/at.ed.0252016042	
CAPÍTULO 3	26
ANÁLISE DA MORTALIDADE POR MENINGITE NA REGIÃO NORTE DO BRASIL EM 2017	
Rebeca Andrade Ferraz Ana Beatriz Tavares Araujo Armando da Silva Rosa Beatriz Sayuri Vieira Ishigaki Denile Lima de Oliveira Gabriela Sobral Santos Andrade Gabrielly Ramalho Mendonça Alves Giovana Fischer Neto Larissa Fernandes Silva de Souza Matheus Ferreira Santos da Cruz	
DOI 10.22533/at.ed.0252016043	
CAPÍTULO 4	32
ANÁLISE DO CONTÁGIO DE HEPATITE VIRAL CRÔNICA C POR TRATAMENTO CIRÚRGICO NO BRASIL NO PERÍODO DE 2010 A 2018	
Amanda Vallinoto Silva de Araújo Giovanna Barcelos Fontenele Pereira Luis Fernando Praia Rodrigues Manuela Santos de Almeida Narely Araújo Smith Érika Maria Carmona Keuffer Cavalleiro de Macedo	
DOI 10.22533/at.ed.0252016044	
CAPÍTULO 5	36
ANÁLISE DO PADRÃO DE FORMAÇÃO DA MATRIZ PERITRÓFICA DO VETOR DA MALÁRIA <i>ANOPHELES DARLINGI</i> COM ALIMENTAÇÃO SANGUÍNEA EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO	
Rejane de Castro Simões	

Bianca Cristina Nascimento de Paula
Ricardo Cesar Correa Cabral
Adriano Nobre Arcos
Francisco Augusto da Silva Ferreira
Edineuza Vidal dos Santos
Carlos Alberto Praia Lima
Thaís Melo Benchimol
Rosemary Aparecida Roque
Edmar Vaz de Andrade
Rosemary Costa Pinto
Wanderli Pedro Tadei

DOI 10.22533/at.ed.0252016045

CAPÍTULO 6 49

ANÁLISE *in silico* DA VARIABILIDADE PROTEICA DA HSP83 PARA O SORODIAGNÓSTICO ELISA DE LEISHMANIOSES

João Alphonse Apóstolo Heymbeeck
Karem Beatriz de Oliveira Mantena
Marco Antônio Lucena da Motta
Katharyna Alexsandra Lins Lima
Ana Paula de Sousa Araújo
Sávio Pinho dos Reis

DOI 10.22533/at.ed.0252016046

CAPÍTULO 7 59

ASPECTOS FUNDAMENTAIS DA TOXOPLASMOSE GESTACIONAL E CONGÊNITA: UMA REVISÃO ATUALIZADA

Patrícia Silva Albuquerque
Antonio Rosa de Sousa Neto
Luiza Ester Alves da Cruz
Rogério da Cunha Alves
Vanessa Maria Oliveira Viana
Vera Alice Oliveira Viana
Daniela Reis Joaquim de Freitas

DOI 10.22533/at.ed.0252016047

CAPÍTULO 8 71

CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA-EPIDEMIOLÓGICA DOS CASOS DE HANSENÍASE NA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM, PARÁ

Juliana Moia de Carvalho
Cristiane Natividade Monteiro
Dafne Rosa Benzecry
Diego Rodrigues Dantas
Emanuelle Costa Pantoja
Isabele Martins Saldanha
Juliana Silva Soares
Lívia Simone Tavares
Luísa Corrêa Janaú
Marcos da Conceição Moraes
Sérgio Antônio Batista dos Santos Filho
Yasmin Adrião Medeiros

DOI 10.22533/at.ed.0252016048

CAPÍTULO 9 82

CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL DE PORTADORES DE HANSENÍASE REALIZANDO TRATAMENTO EM UM AMBULATÓRIO DE REFERÊNCIA

Alicia Gleides Fontes Gonçalves
Rosileide de Souza Torres
Débora Lopes Mattos
Lucidéa Rocha de Macedo
Cynthia Tayane Dias de Araujo
Samara da Silva Queiroz
Hellen Ruth Silva Corrêa
Elen Cristina Braga de Souza
Suzan dos Santos Ferreira
Emmely Belize de Souza Pereira
Agostilina Renata Dos Santos Da Cruz Ramos
Elaine Cristina Silva Soares

DOI 10.22533/at.ed.0252016049

CAPÍTULO 10 86

COBERTURA VACINAL PARA A HEPATITE B ENTRE ESTUDANTES DE MEDICINA QUE SOFRERAM ACIDENTES COM MATERIAL BIOLÓGICO

Nadia Tavares El Kadi Monteiro Paiva
Marcio Matheus Rosas de Souza
Rosane Todeschini Borges
Dirce Bonfim de Lima

DOI 10.22533/at.ed.02520160410

CAPÍTULO 11 95

DENGUE NEONATAL: RELATO DE CASO DE UMA TRANSMISSÃO VERTICAL EM ÁREA ENDÊMICA

Ana Paula Maximiano de Oliveira
Victor Cabreira Frazão

DOI 10.22533/at.ed.02520160411

CAPÍTULO 12 103

EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL NO ESTADO DO PARÁ NO PERÍODO 2008-2017

Rafael Reis do Espírito Santos
Sérgio Marcelo Rodriguez Málaga
Tatiane Rodrigues de Oliveira
Beatriz Oliveira da Cunha
Everton Batista da Silva
Áyzik Macedo Silva

DOI 10.22533/at.ed.02520160412

CAPÍTULO 13 114

EPIDEMIOLOGIA DAS INFECÇÕES PRIMÁRIAS DE CORRENTE SANGUÍNEA NO ESTADO DO PARÁ, BRASIL

Edilson Galeno de Sousa Junior
Samara Tatielle Monteiro Gomes

DOI 10.22533/at.ed.02520160413

CAPÍTULO 14 122

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DAS INTERNAÇÕES POR SEPSE NO MUNICÍPIO DE BELÉM DO PARÁ, NO PERÍODO DE 2014 A 2018

Gabriela Pereira da Trindade

Eduarda Souza Dacier Lobato
Michele Pereira da Trindade Vieira
Gilson Guedes de Araújo Filho
Gabriela Arja de Abreu
Maria Emilia da Silva Coelho
Kleber Pinto Ladislau
Weder Catucá Xavier
Anthony Benny da Rocha Balieiro
José Tavares Machado Neto

DOI 10.22533/at.ed.02520160414

CAPÍTULO 15 124

INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO RELACIONADA À SONDA VESICAL DE DEMORA: PERFIL MICROBIOLÓGICO E DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS

Ana Thays Gomes Pimenta
Mariana Moreira de Oliveira Fama
Évila Souza Dourado
Larissa Negromonte Azevedo

DOI 10.22533/at.ed.02520160415

CAPÍTULO 16 136

INFECÇÃO PELO VIRUS DA FEBRE AMARELA EM PRIMATAS NÃO HUMANOS (PNH) DA ESPÉCIE *Saimiri* sp. MODULA A EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS CHAVE DA BIOGÊNESE DE microRNAs

Ana Paula Sousa Araújo
Samir Mansour Moraes Casseb
Milene Silveira Ferreira
Walter Felix Franco Neto
Jardel Fabio Lopes Ferreira
Francisco Canindé Ferreira de Luna
Karla Fabiane Lopes de Melo
Gustavo Moraes Holanda
Taiana Andrade Freitas
Wailla Rafaela Barroso Mendes
Pedro Fernando da Costa Vasconcelos
Lívia Carício Martins

DOI 10.22533/at.ed.02520160416

CAPÍTULO 17 151

INFECÇÕES PELO VÍRUS DA HEPATITE B NO BRASIL: EPIDEMIOLOGIA

Izabella Rocha da Costa
Vitória Gabrielle Matos Nascimento
Céres Larissa Barbosa de Oliveira
Beatriz Santiago Pantoja
Camila Rodrigues Monteiro

DOI 10.22533/at.ed.02520160417

CAPÍTULO 18 156

OS PRINCIPAIS GENES ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS EM CEPAS DA FAMÍLIA ENTEROBACTERIACEAE

Jessica Ferreira Santos
Everton Lucas de Castro Viana
Lucas Daniel Melo Ribeiro
Glenda Melissa Alves de Oliveira
Anna Paula de Castro Pereira

Gabriel Silas Marinho Sousa
Lorena Rodrigues da Silva
Maria Clara da Silva Monteiro
Rodrigo Santos de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.02520160418

CAPÍTULO 19 168

OS PRINCIPAIS PLASMÍDEOS ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA AOS ANTIBIÓTICOS DEPOSITADOS NO BANCO DE DADOS GENBANK (NCBI)

Jessica Ferreira Santos
Lucas Daniel Melo Ribeiro
Everton Lucas de Castro Viana
Gabriel Silas Marinho Sousa
Anna Paula de Castro Pereira
Glenda Melissa Alves de Oliveira
Lorena Rodrigues da Silva
Maria Clara da Silva Monteiro
Rodrigo Santos de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.02520160419

CAPÍTULO 20 180

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DA DOENÇA DE CHAGAS AGUDA AUTÓCTONE NA METRÓPOLE DA AMAZÔNIA, DE 2007 A 2013

Derek Chrystian Monteiro Leitão
Karolayne Paula de Souza
Jhenyfer Chrystine Monteiro Leitão
Elenir de Brito Monteiro
Marcelo Alves Farias

DOI 10.22533/at.ed.02520160420

CAPÍTULO 21 184

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE MENINGITE NO ESTADO DO PARÁ DE 2013 A 2015

Luísa Corrêa Janaú
Juliana Moia de Carvalho
Diego Rodrigues Dantas
Cristiane Natividade Monteiro
Yasmin Adrião Medeiros
Isabele Martins Saldanha
Marcos da Conceição Moraes
Emanuelle Costa Pantoja
Sérgio Antônio Batista dos Santos Filho
Juliana Silva Soares
Lívia Simone Tavares
Ricardo Chaves Branco

DOI 10.22533/at.ed.02520160421

CAPÍTULO 22 196

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS ÓBITOS POR SEPSE EM IDOSOS NO ESTADO DO PARÁ ENTRE 2000 A 2016

Polyana Nathércia Vale da Luz
André Luiz Nunes da Silva Carlos
Andréa Luzia Vaz Paes
Anna Flávia Altieri Lobo dos Santos
Bruna Nunes Costa
Danielle Moreno Fernandes Furtado

Danilo Jun Kadosaki
Heruenna Castro da Silva Conceição
João Vitor da Costa Mangabeira
Thalles Ricardo Melo de Souza
Letícia da Cunha Andrade
Luiz Carlos Sousa de Castro

DOI 10.22533/at.ed.02520160422

CAPÍTULO 23 204

PRÉ-NATAL: FERRAMENTA INDISPENSÁVEL NO ENFRENTAMENTO DO ZIKA VÍRUS

Thiago Gomes de Oliveira
Maria Francisca da Silva Amaral
Sâmara da Silva Amaral
Gabriella Martins Soares
Amanda Tavares da Silva
Paulo Roberto Bonates da Silva
Flor Ernestina Martinez Espinosa
Eline Naiane de Freitas Medeiros
André de Souza Santos
Antonia Honorato da Silva
Graciela Marleny Rivera Chavez

DOI 10.22533/at.ed.02520160423

CAPÍTULO 24 206

PREVALÊNCIA DE RESUMOS ESTRUTURADOS DE UM PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA PARASITÁRIA DE UMA UNIVERSIDADE PÚBLICA: UM ESTUDO TRANSVERSAL

Ana Carla Costa Azevedo
Allana Moura de Araújo
Murilo da Silva Rodrigues
Paula Gabriela Nascimento Gonçalves
Murilo Brandão Pimenta
Arilson Lima da Silva
Regis Bruni Andriolo
Brenda Nazaré Gomes Andriolo

DOI 10.22533/at.ed.02520160424

CAPÍTULO 25 224

PREVALÊNCIA E PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE ARTRITE SÉPTICA EM CRIANÇAS ATENDIDAS EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA EM PEDIATRIA NO ESTADO DO PARÁ

Danielle Moreno Fernandes Furtado
Heruenna Castro da Silva Conceição
Adriana Veiga da Conceição Silva
Anna Flávia Altieri Lobo dos Santos
André Luiz Nunes da Silva Carlos
Bruna Nunes Costa
Danilo Jun Kadosaki
Letícia da Cunha Andrade
Luiz Carlos Sousa de Castro
Polyana Nathércia Vale da Luz
Thalles Ricardo Melo de Souza
Andréa Luzia Vaz Paes

DOI 10.22533/at.ed.02520160425

CAPÍTULO 26	230
SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA EM ISOLADOS PULMONARES DO COMPLEXO <i>Mycobacterium avium</i> NO ESTADO DO PARÁ	
Kariny Veiga dos Santos	
Maria Luiza Lopes	
Alex Brito Souza	
Adriana Rodrigues Barretto	
Ana Roberta Fusco da Costa	
DOI 10.22533/at.ed.02520160426	
CAPÍTULO 27	239
TAXA DE RESPOSTA VIROLÓGICA NO TRATAMENTO DA HEPATITE C CRÔNICA COM ANTIVIRAIS DE AÇÃO DIRETA EM PACIENTES PORTADORES DE COMORBIDADES IMPORTANTES E COMPLICAÇÕES DE CIRROSE HEPÁTICA	
Renato Fereda de Souza	
Vinícius Ferreira de Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.02520160427	
SOBRE O ORGANIZADOR.....	248
ÍNDICE REMISSIVO	249

INFECÇÃO PELO VIRUS DA FEBRE AMARELA EM PRIMATAS NÃO HUMANOS (PNH) DA ESPÉCIE *Saimiri* sp. MODULA A EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS CHAVE DA BIOGÊNESE DE microRNAs

Data de aceite: 02/04/2020

Data de Submissão: 03/01/2020

Belém – Pa

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8372120745494510>

Gustavo Moraes Holanda

Instituto Evandro Chagas

Belém – Pa

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6454563520643168>

Ana Paula Sousa Araújo

Instituto Evandro Chagas

Belém – Pa

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2717649014627789>

Samir Mansour Moraes Casseb

Instituto Evandro Chagas

Belém – Pa

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5910620618443223>

Milene Silveira Ferreira

Instituto Evandro Chagas

Belém – Pa

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8265839358744806>

Walter Felix Franco Neto

Instituto Evandro Chagas

Belém – Pa

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3457533296108686>

Jardel Fabio Lopes Ferreira

Instituto Evandro Chagas

Belém – Pa

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8076788617514385>

Francisco Canindé Ferreira de Luna

Universidade Federal do Pará

Belém – Pa

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0344919985229218>

Karla Fabiane Lopes de Melo

Universidade Federal do Pará

Taiana Andrade Freitas

Universidade do Estado do Pará

Belém – PA

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8152400471882033>

Wailla Rafaela Barroso Mendes

Instituto Evandro Chagas

Belém – Pa

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3728732836064597>

Pedro Fernando da Costa Vasconcelos

Instituto Evandro Chagas

Belém – Pa

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0973550817356564>

Lívia Carício Martins

Instituto Evandro Chagas

Belém – Pa

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/6087874299405829>

RESUMO: A Febre Amarela é uma doença infecciosa não contagiosa causada pelo Vírus da Febre Amarela (VFA), que se mantém enzoótica ou endêmica em regiões tropicais da África e América do Sul. Seu ciclo de transmissão silvestre ocorre principalmente entre artrópodes

e primatas não humanos (PNH). Dentre os mecanismos de defesa contra vírus há a ação dos RNAs de interferência (iRNA) responsáveis pelo silenciamento gênico de sequências específicas de mRNA. Onde se destacam os microRNAs (miRNAs) celulares e virais estão envolvidos na modulação da expressão gênica viral e celular, na resposta imune e na desregulação na expressão destes é associada a inúmeras doenças, incluindo infecções virais. A avaliação da expressão do mRNA das proteínas Dicer, Drosha, Argonauta 1,2,3 e 4, TNRC6 A, B e C permite demonstrar a influência da infecção em relação a expressão gênica. Para utilizamos amostras do rim de PNH infectados com VFA em diferentes períodos de Tempo. O RNA total foi extraído pela plataforma Maxwell 16 LEV (Promega, EUA). A quantificação carga viral e a expressão gênica dos mRNAs foi realizada por qPCR e as análises estatísticas pelo teste ANOVA. Nos resultados a expressão mRNA das proteínas nucleares de Drosha e DGCR8 sendo reguladas positivamente em 24,72,120 hpi e a partir das 144, 168 e 240 hpi esta regulação passa a ser negativa, as proteínas citoplasmáticas seguiram o padrão de expressão das proteínas nucleares (Dicer, Argo 1,2 e 3). A expressão de TNRC6 A foi expressa positivamente em todas as hpi TNC6 B e C foi positivamente expresso em 24,72,120 hpi, em 144 e 168 hpi foram reguladas negativamente em 240 hpi esta regulação passa a ser positiva. A infecção pelo genótipo I do VFA modula expressão de proteínas chaves envolvidas na biogênese de miRNAs: Dicer, Drosha, Argonautas1, 2,3 e 4, TNRC6 A, B e C.

PALAVRAS – CHAVE: MicroRNAs, Biogênese, Febre Amarela

THE INFECTION BY YELLOW FEVER VIRUS IN NON-HUMAN PRIMATES (PNH) OF THE *Saimiri* sp SPECIES MODULATES EXPRESSION OF microRNA KEY PROTEINS

ABSTRACT: The Yellow Fever is a non-contagious infectious disease caused by Yellow Fever Virus (YFV), which remains enzootic or endemic in tropical regions of Africa and South America. Its wild transmission cycle occurs mainly between arthropods and non-human primates (PNH).), which are susceptible to infection. Among the defense mechanisms against viruses is the action of interfering RNAs (iRNA) that are responsible for gene silencing of specific mRNA sequences. Where cellular and viral microRNAs (miRNAs) stand out, they are involved in modulating viral and cellular gene expression, as well as immune response, and dysregulation in their expression is associated with a number of diseases, including viral infections. The evaluation of mRNA expression of Dicer, Drosha, Argonaut 1,2,3 and 4, TNRC6 A, B and C proteins responsible for miRNA biogenesis allows to demonstrate the influence of infection in relation to gene expression. For this we used samples from the kidney of VFA infected PNH at different time periods. Total RNA was extracted by the maxwell 16 LEV platform (Promega, USA). Viral load quantification and gene expression of mRNAs were performed by

qPCR and statistical analyzes were performed using the ANOVA test. As a result, the mRNA expression of Drosha and DGCR8 nuclear proteins is up-regulated at 24,72,120 hpi and from 144, 168 and 240 hpi this regulation becomes negative, cytoplasmic proteins followed the expression pattern of nuclear proteins (Dicer, Argo 1,2 and 3). The expression of TNRC6 A was positively expressed in all hpi TNRC6 B and C was positively expressed in 24,72,120 hpi, in 144 and 168 hpi were down-regulated and in 240 hpi this regulation becomes positive again. Conclusion: Infection by YFV genotype I modulates in expression of key proteins involved in miRNA biogenesis: Dicer, Drosha, Argonautes1, 2,3 and 4, TNRC6 A, B and C.

KEYWORDS: microRNAs, Biogenesis, Yellow Fever

1 | INTRODUÇÃO

1.1 Febre Amarela

A Febre Amarela (FA) é uma doença infecciosa, endêmica em regiões de florestas tropicais da África, América Central e Sul, segundo a organização Mundial da Saúde, cerca de 200.000 infecções ocorrem todos os anos, 30.000 desses resultam em morte (WHO, 2014). É uma zoonose que tem como hospedeiros primários vertebrados os primatas não humanos (amplificadores); a transmissão aos seres humanos acontece acidentalmente quando estes adentram regiões de matas, esta transmissão aos seres humanos ocorre pela picada de mosquitos (transmissores) do gênero *Haemagogus* (primário) e *Sabethes* (secundário) em região de florestas no Brasil e na África os mosquitos do gênero *Aedes* (VASCONCELOS, 2003).

Há dois ciclos de transmissão descritos na literatura, o silvestre e o urbano, entretanto, na África tem sido descrito um terceiro ciclo periurbano, onde mosquitos “semidomésticos” infectam tanto macacos quanto pessoas; no ciclo urbano o principal vetor é o *Aedes Aegypti* que transmite a infecção de uma pessoa infectada para outra susceptível (não vacinada), já no ciclo silvestre ocorre principalmente entre o mosquito *Haemagogus Janthinomys* e primatas não humanos (VASCONCELOS et al., 2010).

A febre amarela apresenta quadros bifásicos, em um curto período de tempo. Na primeira fase (virêmica) o quadro clínico é inespecífico, e a doença apresenta – se de forma leve a moderada. Já na segunda fase apresenta uma disfunção hepatorenal e hemorragia (forma grave da doença). Na fase inicial (três a seis dias) apresentam – se sintomas de febre alta, mal-estar, cefaléia, dor muscular, diarreia, vômitos e icterícia. E após o quarto dia, a maioria dos pacientes apresentam melhoras, entretanto, cerca de 15% destes evoluem para a forma grave da doença e cerca de 50% evoluem para óbito (MONATH et al. 2001).

O agente etiológico da febre amarela é um arbovírus, da família *Flaviviridae* e do gênero *Flavivirus*. O *Vírus da Febre Amarela* (VFA) apresenta um capsídeo icosaédrico contendo uma molécula de RNA de fita simples, polaridade positiva, com genoma de 10.862 nucleotídeos (MONATH, 2001). O RNA viral na região da ORF expressa a síntese de três proteínas estruturais (prM, E e C) e sete não estruturais (NS1, NS2A, NS3, NS4A, NS4B E NS5). Durante a infecção o organismo humano responde a infecção com a produção de anticorpos contra as proteínas estruturais. Já as proteínas não estruturais regulam a expressão do vírus (replicação, virulência e patogenicidade) (VASCONCELOS,2003).

As Arboviroses apresentam taxas de mortalidade anualmente em mais de 700.000 casos. Os vírus transmitidos por artrópodes, dentre eles o vírus da febre amarela representa uma ameaça à saúde pública em escala global. O impacto sobre a saúde humana desta arbovirose está ligado as mudanças climáticas, urbanização acelerada, desmatamento, competência vetorial, e a genética do hospedeiro e viral. De acordo com organização mundial da saúde (OMS), as doenças infecciosas são a segunda causa mais comum de morte no mundo e sendo colocada em primeiro em países subdesenvolvidos (KAETKAR et al., 2019).

Estudos tem se detido a investigar alterações metabólicas hospedeiro-vírus afim de compreender as vias celulares alteradas nas mais diversas patologias estudadas durante a infecção viral e assim, desenvolver possíveis medicamentos antivirais eficazes, vacinas e estratégias de diagnóstico (BYERS et al., 2019; KETKAR et al.,2019).

1.2 RNA De Interferencia

Na interação vírus/hospedeiros os vírus de RNA são susceptíveis a degradação pela maquinaria celular do hospedeiro, esta supressão viral através de exonucleases do hospedeiro é crucial para a patogênese viral. Várias exonucleases e endonucleases são produzidas para evitar o acúmulo de RNAs virais no citoplasma (DU; LIU; CAI, 2018).

Estudos demonstram que durante a infecção por *Flavivirus* há o acúmulo de fragmentos de RNA citoplasmáticos, originados principalmente da região 3'UTRs sendo chamados de RNA subgenômico de flavivirus (sfRNAs) e que exoribonucleases eucariotas estão envolvidas na produção de sfRNA viral e estes podem atuar como moléculas de chamariz para Dicer e Ago2 e como uma das fontes de miRNAs virais (BAVIA et al., 2016). A maquinaria envolvendo esses flavivirus já foi descrito por CASSEB et al., (2016) , onde o autor demonstra que a maquinaria envolvida na síntese de miRNA está diferentemente expressa durante a infecção pelo VDEN 4.

1.3 microRNAs

Os microRNAs (miRNAs) compreendem uma classe de pequenos RNAs não codificantes conservados evolutivamente com uma faixa de aproximadamente 19 a 24 nucleotídeos de comprimento, que desempenham um papel regulador no processo transcricional da expressão gênica (FANI *et al.*, 2018; GON *et al.*, 2019). Diversos organismos são capazes de codificar os microRNAs, englobando os seres humanos, plantas, artrópodes e vírus (MORAN *et al.*, 2017; PFEFFER., 2007; HEARNE e JOHNSON., 2018).

Esta classe de microRNAs está envolvida em diversos processos biológicos como diferenciação celular, proliferação celular, apoptose, resposta imune e replicação viral. Os microRNAs (miRNAs) foram descobertos em experimentos utilizando como organismo experimental o nematódeo da espécie *Caenorhabditis elegans*. A descoberta de tais RNAs contribuiu para novos entendimentos da maquinaria celular no que diz respeito ao processo de regulação transcricional em eventos fisiológicos normais e patogênicos. Possibilitando desta forma os caracterizar como biomarcadores celulares, haja vista que vários destes microRNAs estão associados com patologias neurodegenerativas: Alzheimer, Parkinson, e doença de Huntington, patologia metabólica: diabetes, e doenças cardíacas. Além de também atuarem como oncogene ou supressor de tumor (LEE *et al.*, 1993; FANI *et al.*, 2018; ESTEVES *et al.*, 2020).

Caracteristicamente o processo de interação acontece por intermédio de sequências específicas encontradas nos mRNAs que são complementares aos miRNAs, havendo assim o emparelhamento das bases. Estimulando a tradução ou estabilização da molécula de mRNA alvo (FANI *et al.*, 2018).

1.4 Biogênese dos miRNAs

A biogênese dos miRNAs necessita de elementos em níveis pós-transcricionais no núcleo e citoplasma celular, como enzimas e complexos proteicos que formam a maquinaria utilizada para a formação de miRNAs, caracterizando a via canônica de biogênese (AMARAL *et al.*, 2010).

Os miRNAs podem ser originados de genes específicos e independentes, entretanto, restos intrônicos também são utilizados pela Polimerase II para transcrição dessas regiões em pri-miRNA, que são miRNAs primordiais. No entanto, os pri-miRNAs formam estruturas secundárias com sequências complementares e dupla ligação de RNAs realizadas por PASHA/DGCR8 (região crítica da Síndrome de Di George), uma proteína de ligação de RNA no núcleo, sendo necessário a clivagem por DROSHA, uma ribonuclease do tipo III (RNase) que originará a estrutura de haste-laço de pre-miRNA com aproximadamente 70nt, sendo essa um

miRNA precursor que é exportado para o citoplasma pela exportina-5 (ASGARI, 2014).

No citoplasma a estrutura de haste-laço do pre-miRNA sofre uma nova clivagem na cabeça de gancho por uma RNase III, conhecida como DICER. A clivagem resultará em um miRNA duplex podendo conter de 21nt a 28nt de tamanho, em seguida, será recrutada por um complexo proteico formado por Argo1 e Argo2 e formarão o complexo de silenciamento induzido por miRNA (miR-RISC). O miRNA poderá auxiliar o complexo RISC a interferir inibindo a tradução de sequências-alvo ou degradando mRNA, promovendo o silenciamento gênico. Os miRNAs que não utilizados na interferência após a clivagem de DICER, serão degradados no citoplasma como mostra a figura (ASGARI, 2014; HUTVAGNER, 2005).

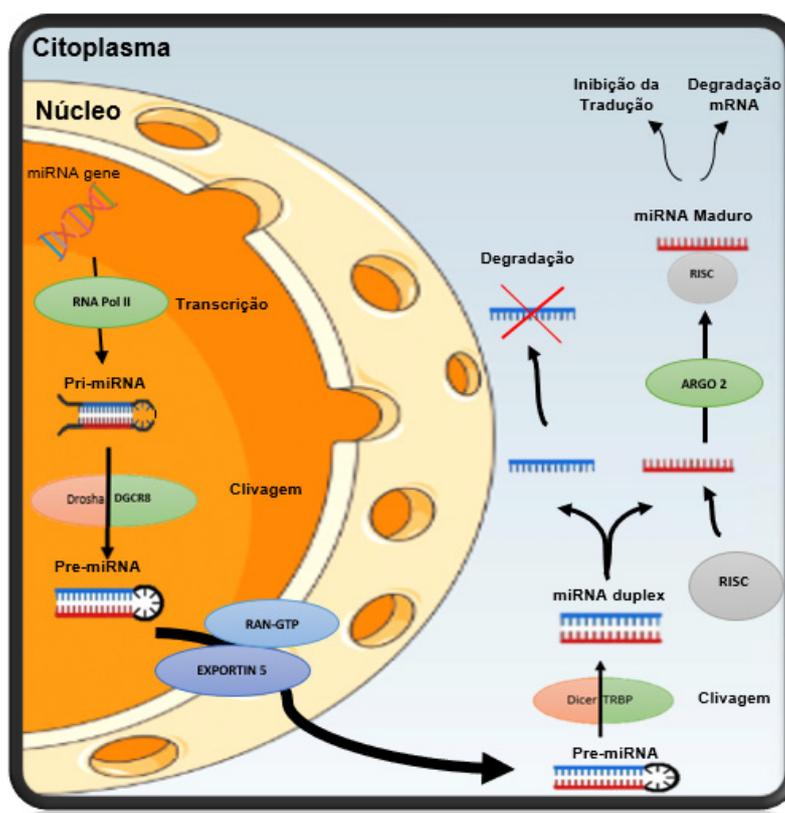


FIGURA 1 – Visão geral da via canônica da biogênese dos microRNAs.

FONTE: Do próprio autor,2019.

1.4.1 *microRNAs e sua relação com as infecções virais*

Os miRNAs virais expressos durante as infecções podem inibir a resposta imune do hospedeiro, inibindo o reconhecimento de linfócitos citotóxicos e através da modulação da produção de citocinas e quimiocinas pelo sistema imunológico do hospedeiro (BOSS; RENNE, 2011).

Os Vírus de RNA são capazes de produzir miRNAs durante o processo

patogênico. Este quadro pode causar mudanças transcriptômicas no hospedeiro, em decorrência da oscilação dos níveis de microRNAs específicos. Tal evento contribui para a propagação e sobrevivência das células infectadas, tendo em vista que tanto a regulação de fatores apoptóticos como a modulação de resposta imune do hospedeiro passam a funcionar de forma negativa (TROBAUGH e KLIMSTRA., 2016; GIRARDI *et al.*, 2018).

Os microRNAs da célula hospedeira também podem se ligar ao referidos vírus de RNA, causando a repressão da tradução do genoma viral ou modulando o nível de expressão dos microRNAs constituintes da célula.

Estudos que se detiveram a analisar o processo de interação viral e microRNAs celular em mamíferos durante a replicação e patogêneses de vírus de RNA, descreveram diversos sítios de ligação para microRNAs no genoma viral em diferentes linhagens de arbovírus. Além destes estudos, outros buscam avaliar a interação dos microRNAs e o RNA genômico arboviral no mosquito da febre amarela, *Aedes aegypti*, *Haemagogus* e *Sabethes*. Durante o processo de replicação viral nos referidos artrópodes. (TROBAUGH e KLIMSTRA., 2016; YEN *et al.*, 2019).

Neste capítulo vamos analisar a expressão do mRNA das proteínas chaves da biogênese de microRNAs durante a infecção pelo VFA. Para isso avaliamos esta expressão utilizamos o tecido do Rim de PNH do gênero *Saimiri sp.* infectados experimentalmente com VFA.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Estudo experimental

No presente estudo foram utilizadas amostras do Rim de PNH do gênero *Saimiri sp.* infectados com VFA, autorizado pelo comitê de ética fornecido pelo CEUA do Instituto Evandro Chagas (Registro nº 05/2017 e 0014/2014 e pelo Sistema de autorização e informação em biodiversidade (SISBIO) e Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) sob o registro nº 38744-1.

Neste estudo foram avaliadas amostras do Rim coletadas do animal controle negativo e dos animais infectados e coletados em períodos pré-determinados em horas pós-infecção (hpi) sendo os seguintes períodos: 24 hpi, 72 hpi, 120 hpi, 144 hpi, 168 hpi e 240 hpi.

2.2 Extração do RNA

O RNA total do VFA foi extraído do Rim do animal controle e dos animais infectados em 24 hpi, 72 hpi, 120 hpi, 144 hpi, 168 hpi, 240 hpi usando o kit comercial

maxwell® 16 lev Viral total (Promega®/ EUA)., seguindo o protocolo do fabricante.

Os mRNAs foram extraídos com o kit *Maxwell® 16 Tissue LEV RNA Purification* (Promega®/EUA) a partir da suspensão de um macerado do Rim do animal controle e dos animais infectados em 24 hpi, 72 hpi, 120 hpi, 144 hpi, 168 hpi e 240 hpi, seguindo as recomendações do fabricante.

2.3 Quantificação da carga viral

A quantificação da carga viral nas amostras foram realizadas com o kit *GoTaqProbe 1-Step RT- qPCR System* (Promega, EUA) em conjunto com o método descrito o por Domingo et al. (2012) de quantificação por curva absoluta através de um plasmídeo clonado em vetor *pGEMeasy* (Promega, EUA) utilizando o genoma do VFA.

2.4 Análise da transcrição de mRNAs

Os RNAs totais do Rim dos PNH infectados em 24 hpi, 72 hpi, 120 hpi, 144 hpi, 168 hpi, 240 hpi e do animal controle negativo foram utilizados para a detecção de mRNA das proteínas *Dicer*, *Drosha*, *DGCR8* e *Ago* de 1 a 4, e *TNRC6 A*, *B* e *C* da via do microRNA pela técnica de qRT-PCR.

Após a extração foi realizada uma RT-PCR para a obtenção de moléculas de cDNA com diluição de 1:10, que foram guardadas como estoque para o futuro uso nas qPCRs.

Os cDNAs foram submetidos a qPCR usando o kit *GoTaq® qPCR Master Mix* (Promega, EUA). As amostras foram submetidas a uma primeira etapa de 42°C por 5 minutos, 95°C por 3 minutos e 40 ciclos de amplificação consistindo em desnaturação de DNA por 3 segundos a 95°C e anelamento dos iniciadores por 20 segundos a 60°C. Os iniciadores que foram utilizados estão apresentados na tabela 1.

Nome	Sequência
Drosha-F	5' CAAAGGCAAGACGACAG 3'
Drosha-R	5' CATAGGACGACAGGGCTTG 3'
Dicer-F	5' TGGAGACAGTCTGGCAGGTGTA 3'
Dicer-R	5' TCCCGTCGTAAGTTCTCTCAGC 3'
DGCR8-F	5'-GCAAGATGCACCCACAAAGA-3'
DGCR8-R	5'-TTGAGGACACGCTGCATGTAC-3'
Argo 1-F	5' GACCTCCGCACGGGTATATG3 3'
Argo 1-R	5' GGTTTCCCCACAGTGCCAAT 3'
Argo 2-F	5' TGGTTTGGCTTCCATCAGTCC 3'
Argo 2-R	5' CCTTGTAACGCTGTTGCTGAC3 3'
Argo 3-F	5' ACCTGTGGGGCGTTCATTT 3'
Argo 3-R	5' GCCGAACAGACTGATGGAAT 3'

Argo 4-F	5' CTCACCTCAAACCCTTTCCAATCTT 3'
Argo 4-R	5' AGGCTGCTGGAACACCGAG 3'
18S-F	5' GAGCCCGCAGCCTCCCGCTT 3'
18S-R	5' CCCGCGGCCATCACGCCACAG 3'
TNRC6-A-F	5' AGCAAGCACAGGTACATCAG 3'
TNRC6-A-R	5' CAGTTGTGGCTGGAGTAGAAG 3'
TNRC6-B-F	5' TGACCCTGAATCTGACCCCTATG 3'
TNRC6-B-R	5' TGCTGAAGTGCTATGAACGTTGG 3'
TNRC6-C-F	5' CTGGAGGTCTAAGCATTGGGC 3'
TNRC6-C-R	5' TCAGGGTCATTCTCAGGGTCAA 3'

Tabela 1. Iniciadores da qPCR

Fonte: Do próprio autor

As amplificações foram realizadas no equipamento Rotor Gene Q (QIAGEN, ALE). Utilizou-se como controle endógeno da qPCR a expressão Do 18S e todos os testes foram replicados no mínimo três vezes independentes, para confirmação dos resultados.

2.5 Análise estatística

Os resultados de titulação, incluindo a curva virêmica, estão expressos em cópias/ μ L, descritos como médias aritméticas dos experimentos realizados e barras de erro apresentando o desvio padrão. A curva virêmica está expressa em escala logarítmica (log).

Em adição, testes ANOVA para amostras independentes foram utilizados para verificar a significância da diferença de expressão dos mRNAs entre as amostras infectadas e não infectadas. Para apresentação gráfica foi realizada a normalização dos resultados.

As análises estatísticas foram realizadas no software PrismGraph 7.0 (GraphPad Prism®, EUA).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise da expressão do mRNA das proteínas nucleares da biogênese de microRNAs durante a infecção pelo genótipo I do vírus da febre amarela em PNH em comparação com a carga viral, foi observado que há uma diminuição na expressão do mRNA de Drosha nas 24, 72 e 120 hpi e a partir das 144 inicia – se uma regulação negativa destas proteínas alcançando o pico máximo em 168 hpi, e em 240 hpi esta regulação negativa diminui, todos com diferença estatística em relação ao controle negativo ($p < 0,0001$). O mRNA de DGCR8 seguiu o mesmo padrão de expressão de Drosha, entretanto, em 240 hpi a expressão do mRNA desta proteína passa a ser

regulada positivamente, com diferença estatística em relação ao controle negativo em 144 e 168 hpi ($p < 0,02$ e $p < 0,0008$ respectivamente).

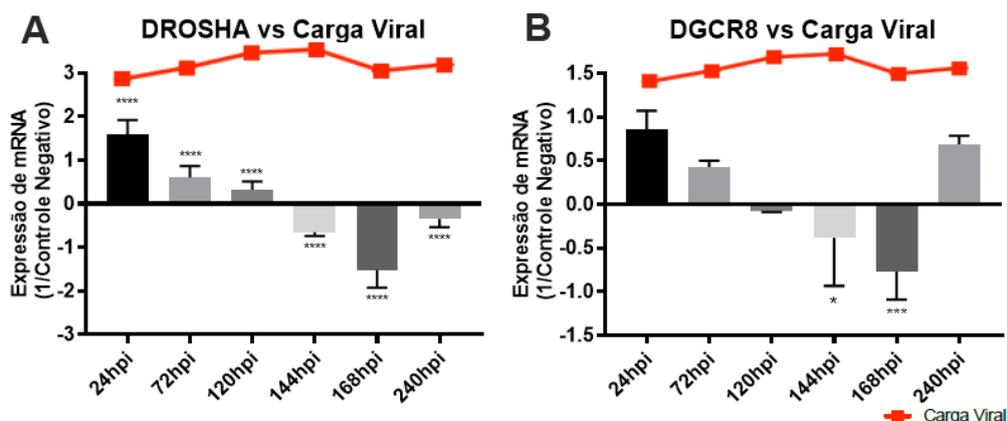


FIGURA 2 – Quantificação do mRNA de Drosha e DGCR8 e Carga Viral durante a infecção com genótipo I do Vírus da Febre Amarela em Primatas Não Humanos.

Dados experimentais da análise dos mecanismos fisiológicos de interação do RNA hospedeiro e resposta celular ao processo de infecção viral feita por Shapiro *et al.*, (2014), descrevem DROSHA como um fator antiviral independente de interferon em mamíferos, sendo capaz de reter uma resposta imunológica de maneira que venha a cessar a infecção decorrente de vírus de RNA. Corroborando com os nossos resultados visto que está sendo expresso o mRNA desta proteína nas primeiras hpi, e quando a replicação viral começa a diminuir a expressão de Drosha torna – se reprimida. No mesmo estudo foi descrito que a supressão de DICER não é capaz de comprometer a resposta celular à infecção viral, mas quando comparado com a ausência de DROSHA os níveis de infecção viral foram significativamente elevados. Propondo desta forma que DROSHA atue no mecanismo conservado de defesa celular desde artrópodes até cordados contra infecção causada por vírus.

A expressão do mRNA de Dicer foi semelhante a expressão do mRNA de DGCR8, apresentando uma regulação positiva e a diminuição na expressão nas 24 e 72 hpi apesar de não haver diferença estatística, nas 120, 144, e 168 hpi esta regulação apresenta – se regulada negativamente ($p < 0,0049$, $0,0006$ e $0,0010$ respectivamente) e em 240 hpi esta expressão volta a ser regulada positivamente ($p < 0,0033$).

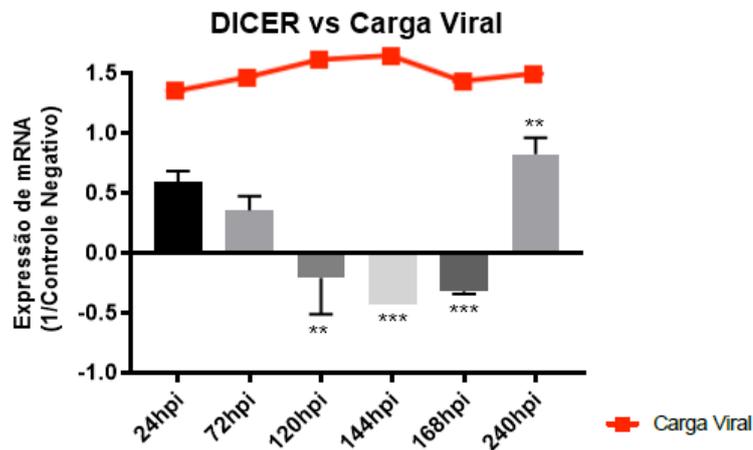


FIGURA 3 – Quantificação do mRNA de Dicer e Carga Viral durante a infecção com genótipo I do Vírus da Febre Amarela em Primatas Não Humanos.

Em relação a Dicer SHOU et al. (2018) descreveram que durante a infecção viral há o acúmulo de siRNAs virais e estes são processados pela Dicer numa etapa de supressão de iRNA codificados por vírus, levando a um estado antiviral na célula infectada. Nossos dados corroboram com estes achados uma vez que nas primeiras hpi pelo VFA em PNH há a expressão do mRNA de Dicer, entretanto quando em 120 hpi este estado antiviral diminui significativamente coincidindo com o pico da carga viral demonstrando assim a possível relação da supressão da expressão de Dicer estar intimamente ligada ao aumento da carga viral.

O mRNA dos argonautas 1,2,3 e 4 foram expressos semelhante ao mRNA de todas as proteínas envolvidas na biogênese de microRNAs, Argo 1 apresentou expressão positiva em 24, 72 e 120 hpi, e nas 144 e 168 hpi esta expressão passa a ser regulada negativamente e em 240 hpi esta expressão volta a ser regulada positivamente ($p < 0,0001$). Argo 2 e 3 seguiram o mesmo padrão de expressão ($p < 0,05$).

O mRNA da Argonauta 4 apresentou uma regulação negativa nas 120,144 e 168 hpi, entretanto, segue o mesmo padrão de expressão sendo regulação positiva nas primeiras horas pós-infecção que vai diminuindo a expressão de acordo com o passar das hpi e quanto mais alta a carga viral mais esta regulação apresenta-se regulada negativamente e somente nas últimas 240 hpi esta expressão começa a ser aumentada ($p < 0,0001$).

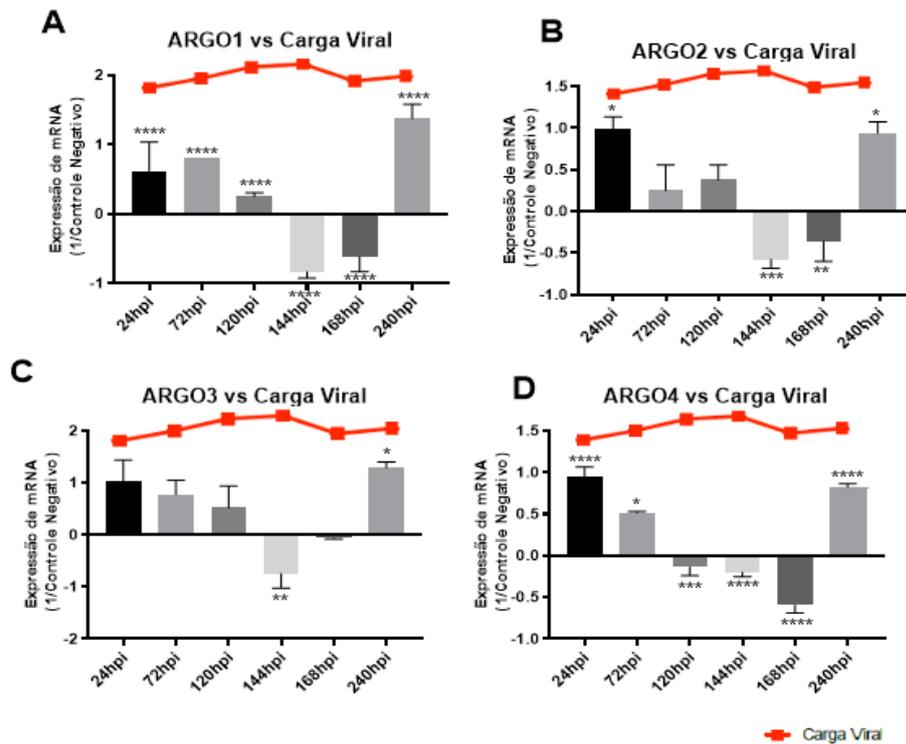


FIGURA 4 – Quantificação do mRNA dos Argonautas 1,2,3 e 4 e Carga Viral durante a infecção com genótipo I do Vírus da Febre Amarela em Primatas Não Humanos.

Os resultados desse estudos demonstram que as proteínas Argonautas podem estar diretamente envolvidas na defesa da célula do hospedeiro, uma vez que sua principal função segundo AMADO et al. (2015) são a atividade silenciadora e catalisadora de miRNAs mediado por iRNA, Ferreira *et al.*, (2018), ao analisarem o perfil de expressão dos genes que expressam proteínas relacionadas maquinaria dos miRNA (Ago 1; Ago2; Ago3; Drosha, e Dicer) em linhagens celulares contínuas de fígado, pulmão e rim infectadas pelo vírus zika, constataram que o referido vírus é capaz de modular significativamente a expressão durante o período de infecção, inferindo ainda que tal mecanismo designa uma instabilidade fisiológica nas células hospedeira. Neste estudo observamos que o vírus da febre amarela pode também modular a expressão destas proteínas para o estabelecimento da infecção.

O mRNA da proteína TNRC6 A e B apresentaram expressão positiva semelhante durante a infecção pelo VFA quando comparado com o controle negativo sendo mais expressas nas 24, 72 hpi, e em 120 e 144 hpi onde também há a maior carga viral esta expressão decai significativamente, em 240 hpi ocorre um aumento significativo nesta expressão quando há o decaimento da carga viral. Já a TNRC6 C também apresenta a expressão positiva nas 24 e 72 hpi e em 144 e 168 hpi esta expressão se inverte ficando negativa e nas 240 hpi esta expressão volta a ser expressa positivamente ($p < 0,05$).

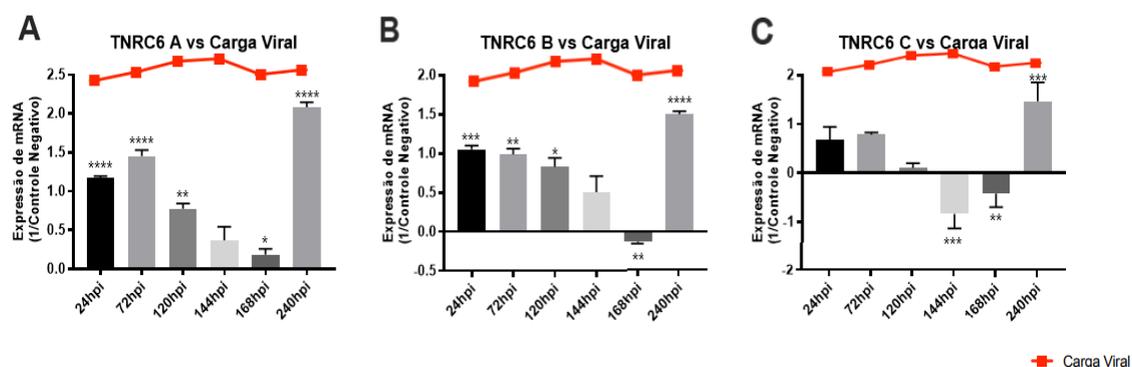


FIGURA 5 – Quantificação do mRNA das TNRC6 A,B E C e Carga Viral durante a infecção com genótipo I do Vírus da Febre Amarela em Primatas Não Humanos.

Com a utilização da técnica de quantificação proteômica realizada por Li *et al.*, (2019), os permitiu identificar a proteína TNRC6 como um componente chave na montagem do complexo miR-122/Ago2. A diminuição nos níveis proteicos da TNRC6 foi capaz de reduzir a replicação do vírus da hepatite c em linhagens celulares de hepatócito humano.

Em nosso estudo é demonstrado que há uma diminuição na expressão do RNA mensageiro das proteínas da família da TNRC6 entre as 24 e 168 hpi, retornando a um aumento na expressão destas proteínas com a queda da carga viral, em desacordo com o estudo acima, nossos dados demonstram uma queda na expressão destas proteínas, entretanto ao invés de ocorrer uma queda na carga viral esta aumenta, demonstrando que o VFA em primatas não humanos possivelmente modula a expressão de proteínas da biogênese dos miRNAs, escapando das respostas antivirais do hospedeiro pela via canônica dos microRNAs.

REFERÊNCIAS

ASGARI, S. Role of microRNAs in Arbovirus/Vector Intactions. **Viruses**. 6: 3514-3534.2014.

ALSHARAFI W. A.; XIAO B.; ABUHAMED M. M.; LUO Z.; miRNAs: Biological and Clinical Determinants in Epilepsy. **Frontiers in Molecular Neuroscience**. 8:59. 2015

AMARAL, B. A.; NONAKA, C. F. W.; FREITAS, R. A.; SOUZA, L. B.; PINTO, L. P.; MicroRNAs – Biogênese, funções e seu papel potencial na carcinogênese oral. **Odontologia Clínico-científica**. v. 9, p.105-109, 2010.

BAVIA, L.; MOSIMANN, A.L.P.; AOKI, M.N.; SANTOS, C.N.D.A glance at subgenomic flavivirus RNAs and microRNAs in flavivirus infections. **Rev. Virology Journal**, v.13, p. 84,13:84. DOI 10.1186/s12985-016-0541-3, 2016.

BYERS, M. N., Metabolomic Insights into Human Arboviral Infections: Dengue, Chikungunya, and Zika Viruses. **Viruses**, 11, 225, 2019.

BOSS, I. W.; RENNE, R. Viral miRNAs and immune evasion. **Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1809, n. 11–12, p. 708–714, 2011.

CASSEB, S. M. M.; Simith, D.B.; Melo, K.F.L; Mendonça, M.H.; Santos, A.C.M.; Carvalho, V.L.; Cruz, A.C.R.; Vasconcelos, P.F.C. Droscha, DGCR8, and Dicer mRNAs are down-regulated in human cells infected with dengue virus 4, and play a role in viral pathogenesis. **Genetic and Molecular Research**, s. l., v. 15, n. 2, 2016.

DING SW, HAN Q, WANG J, LI WX. Interferência de RNA antiviral em mamíferos. **Curr Opin Immunol** . 54: 109-114. doi: 10.1016 / j.coi.2018.06.010. 2018.

DOMINGO, C.; PATEL, P.; YILLAH, J.; WEIDMANN, M.; MÉNDEZ, J. A.; NAKOUNÉ, E. R.; NIEDRIG, M. Advanced Yellow Fever Virus Genome Detection in Poin-of-Care Facilities and Reference Laboratories. **Rev. Journal of Clinical Microbiology**, v. 50, n. 12, p. 4054-4060, 2012.

DU, S.; LIU, X.; CAI, Q. Viral-mediated mRNA degradation for pathogenesis. **Rev. Biomedicines**, v. 6 p.111, 2018.

ESTEVEES, M. et al. New insights into the regulatory roles of microRNAs in adult neurogenesis. **Current Opinion in Pharmacology**. Volume 50 ,38–45, 2020.

FANI, M. et al. The Role of microRNAs in the Viral Infections. **Current Pharmaceutical Design**, Volume 24 , Issue 39 , 2018.

GON, Y. et al. Molecular techniques for respiratory diseases: MicroRNA and extracellular vesicles . Asian Pacific Society of Respiriology, 2019.

GIRARADI, E. et al. On the Importance of Host MicroRNAs During Viral Infection. Volume 9, **Frontiers in Genetics**, 2018.

HEARNE, M. V., AND JOHNSON, N. K. miRNAs in Insects Infected by Animal and Plant Viruses. **Viruses**. Volume 10, 354, 2018.

KETKAR, H., et al. Genetic Determinants of the Re-Emergence of Arboviral Diseases. **Viruses**. Volume 11, 150, 2019.

LEE, R.C., et al. The C. elegans Heterochronic Gene lin-4 Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to &ll-14. **Cell**, Vol. 75, 843-854, 1993.

MONATH, T. P. Yellow fever: an update. **Lancet Infectious Diseases**, v. 1, n. 1, p. 11-20, 2001.

MORAN, Y., AGRON, M., PRAHER, D. *et al.* The evolutionary origin of plant and animal microRNAs. **Nat Ecol Evol** 1, 0027 , 2017.

PFEFFER, S. ET AL. Micro RNA e infecções virais em mamíferos. **Journal de la Société de Biologie**. Volume 4, 2007.

TROBAUGH D. W., KLIMSTRA W.B. **Trends in molecular medicine**. Volume 23, 80-93, 2016.

YEN, P., Assessing the Potential Interactions between Cellular miRNA and Arboviral Genomic RNA in the Yellow Fever Mosquito, *Aedes aegypti*. **Viruses**. Volume 11, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Yellow fever**: Fact sheet n° 100. Mar 2014. Disponível em <http://www.searo.who.int/thailand/factsheets/fs0010/en/>. Acesso em: 27 dez.2019.

VASCONCELOS, P. F. DA C. **Yellow fever**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 36, n. 2, p. 275–293, 2003.

VASCONCELOS, P. F. C. Yellow fever in Brazil: thoughts and hypotheses on the emergence in previously free areas. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, n. 6, p. 1144-1149, 2010.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Açaí 180, 181, 182

Acidente de trabalho 86

Anopheles 36, 37, 38, 40, 44, 46, 47, 48

Antibiótico 132, 133, 157, 159, 162, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 242

Apoptose 11, 16, 17, 22, 23, 140

Artrite Infeciosa 225

Avaliação 28, 56, 58, 76, 83, 84, 85, 102, 112, 117, 137, 153, 205, 207, 210, 221, 223, 242, 247

B

Biogênese 136, 137, 140, 141, 142, 144, 146, 148

Bioinformática 49, 50, 58, 248

Biotecnologia 36, 48, 50, 57, 202, 248

Brasil 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 25, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 38, 39, 46, 47, 48, 51, 57, 58, 59, 63, 64, 68, 70, 71, 73, 81, 87, 88, 103, 105, 106, 110, 112, 113, 116, 120, 121, 126, 138, 151, 152, 153, 154, 155, 163, 170, 180, 181, 182, 183, 192, 194, 195, 198, 200, 201, 204, 221, 227, 236, 237, 239, 241, 243

C

Centros de Traumatologia 125

Choque séptico 114, 116, 118, 175, 198, 201, 202, 203

Cirrose hepática 239, 240, 244, 246

Cirurgia 32, 223

D

Dengue 3, 10, 11, 12, 13, 14, 21, 23, 24, 25, 36, 37, 40, 41, 46, 62, 95, 96, 97, 99, 100, 101, 102, 148, 149, 215

Doença de Chagas 51, 57, 180, 182, 183, 215

E

Enterobacteriaceae 156, 157, 158, 159, 160, 162, 164, 165, 167

Epidemiologia 2, 8, 13, 25, 31, 63, 72, 103, 104, 106, 114, 123, 151, 152, 157, 158, 165, 167, 169, 176, 177, 178, 183, 246

Epidemiológico 9, 23, 27, 29, 58, 69, 72, 73, 74, 81, 103, 107, 114, 120, 121, 122, 134, 151, 152, 153, 154, 164, 180, 181, 182, 184, 185, 187, 188, 190, 193, 194, 195, 196, 197, 199,

224, 225, 227, 228, 229, 235, 247

Estudantes de Medicina 86, 87, 88, 90, 92, 93

Estudos Transversais 207, 221

F

Febre Amarela 13, 96, 136, 137, 138, 139, 142, 144, 145, 146, 147, 148

G

Gene 17, 24, 25, 53, 81, 132, 137, 144, 148, 149, 157, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 172, 173, 174, 178

H

Hanseníase 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 207, 215, 217, 221, 222

Hepatite B 35, 86, 87, 88, 90, 91, 92, 93, 94, 151, 152, 153

Hepatite C 32, 33, 87, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247

hepatite C crônica 239, 240, 244, 247

I

Idosos 83, 192, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 217

Infecção 6, 2, 10, 11, 13, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 27, 32, 33, 34, 35, 37, 39, 57, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 79, 87, 88, 91, 93, 94, 95, 96, 99, 100, 101, 102, 103, 105, 106, 115, 116, 118, 119, 120, 121, 124, 125, 126, 128, 129, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 142, 144, 145, 146, 147, 148, 151, 152, 153, 154, 157, 158, 159, 161, 164, 167, 170, 175, 177, 180, 181, 182, 191, 192, 194, 205, 228, 240, 244, 245, 246

Infecção congênita 60

Infecção Gestacional 60

Infecções Relacionadas a Cateter 125

Infecções Urinárias 125, 163, 176

Internações 3, 5, 6, 122, 123

IRAS 114, 115, 117, 118, 121, 126, 127, 128, 134, 135, 177

L

Leishmania 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 103, 104, 105, 106, 113

Leishmaniose visceral 58, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 112, 113

Leptospirose 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9

Letalidade 1, 2, 4, 6, 7, 8, 112, 116, 193, 201

M

Malária 3, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 46, 47, 48, 215
Mecanismo de defesa 37, 39
Medicina do Trabalho 86
Meningite 26, 27, 28, 29, 30, 31, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195
Metodologia 4, 52, 83, 88, 107, 116, 128, 153, 199, 207, 221, 227, 239, 244
Microbiologia 25, 59, 125, 167, 248
MicroRNAs 25, 137, 148, 149
miRNA 10, 11, 18, 20, 21, 22, 23, 24, 137, 138, 139, 140, 141, 147, 149
Mortalidade 1, 4, 21, 26, 27, 28, 29, 31, 115, 116, 121, 122, 139, 176, 186, 187, 197, 200, 201, 202, 203
Mycobacterium avium 230, 231, 234, 235, 236, 237, 238
Mycobacterium leprae 72, 73, 74, 78

N

Nordeste 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 51, 73, 81, 103, 106, 110, 154, 181, 198, 200
Nutrição 180, 218

O

Óbitos 1, 5, 6, 13, 29, 31, 95, 101, 122, 186, 193, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202

P

Pediatria 100, 101, 102, 224, 225, 226, 227, 229
Perfil de Saúde 185, 188
Perfil Epidemiológico 69, 74, 81, 103, 120, 122, 151, 152, 180, 184, 185, 187, 188, 193, 196, 197, 199, 224, 225, 227, 228
Plasmídeo 11, 18, 143, 159, 169, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 178
Pneumopatias 231
Proteínas de Choque Térmico 50, 57

R

Recém-nascido 95, 96, 97, 100, 101
Resistência 81, 117, 118, 125, 127, 129, 130, 131, 132, 134, 135, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 215, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 242, 243

S

Saúde do Trabalhador 86

Saúde Pública 8, 13, 31, 32, 33, 38, 48, 51, 60, 63, 68, 79, 81, 88, 94, 103, 106, 110, 112, 115, 116, 121, 134, 139, 150, 151, 152, 161, 163, 164, 165, 169, 170, 175, 176, 180, 181, 183, 185, 186, 195, 201, 202, 204, 205, 222, 239, 246, 248

Sepse 96, 98, 100, 114, 115, 116, 118, 119, 121, 122, 123, 163, 176, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 215, 217, 225, 226, 228

Sepse neonatal 96, 98

Sudeste 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 32, 34, 152, 154, 200, 241

T

Taxa de resposta virológica 239, 240, 246

Testes de sensibilidade microbiana 231

Títulos de assuntos médicos 207

Toxoplasmose 59, 60, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 99, 215

Trypanosoma cruzi 55, 58, 180

U

UTI 114, 115, 116, 118, 119, 120, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 178, 200, 201

V

Vacina 28, 86, 88, 90, 91, 92, 93, 94, 153, 192

Vigilância Epidemiológica 80, 94, 101, 104, 113, 118, 167, 181, 185, 187, 195, 216

Vírus Dengue 10, 11, 12

Z

Zika vírus 204

 **Atena**
Editora

2 0 2 0