

ZIKA VIRUS: GENOMA, PATOGÊNESE E MÉTODO DIAGNÓSTICO

Lida Natalia Parra Gelves¹;

Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, Minas Gerais.

<http://lattes.cnpq.br/5923926149065786>

Ana Graci Brito Madurro²;

Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, Minas Gerais.

<http://lattes.cnpq.br/7296504571151719>

João Marcos Madurro³.

Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, Minas Gerais.

<http://lattes.cnpq.br/3084687587967112>

RESUMO: O vírus Zika é o foco de uma pandemia contínua e emergência de saúde pública. Inicialmente, limitado a casos esporádicos na África e na Ásia em 2007, no entanto, o aparecimento do vírus Zika no Brasil em 2015 anunciou uma rápida disseminação pelo continente americano. Em 2016, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou o ZIKV uma emergência de saúde pública internacional devido ao aumento desproporcional de casos de infecção pelo vírus Zika, bem como as ligações entre a infecção pelo ZIKV e malformações congênitas, incluindo microcefalia e neurológicas condições como a síndrome de Guillain-Barré (GBS). Existem diferentes métodos de diagnóstico laboratorial usados atualmente para a detecção do vírus Zika: análise molecular, detecção sorológica de anticorpos anti-ZIKV e isolamento viral. No entanto, existem limitações associadas ao seu uso, o que dificulta o diagnóstico nos sistemas de saúde. Os biossensores têm se destacado no setor comercial e de pesquisa como uma alternativa que oferece diagnósticos rápidos e capacidade de detecção em tempo real sendo, portanto, uma plataforma atraente para uma variedade de aplicações em diagnóstico clínico. O presente capítulo apresenta uma revisão bibliográfica que aborda os temas do vírus Zika e os nanomateriais para biossensores como plataformas de detecção de doenças.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças. Biossensores. Nanomateriais.

ZIKA VIRUS: GENOME, PATHOGENESIS AND DIAGNOSTIC METHOD

ABSTRACT: The Zika virus is the focus of an ongoing pandemic and public health emergency. Initially limited to sporadic cases in Africa and Asia in 2007, however, the emergence of the Zika virus in Brazil in 2015 heralded a rapid spread across the American continent. In 2016, the World Health Organization (WHO) declared ZIKV an international public health emergency due to the disproportionate increase in cases of Zika virus infection, as well as the links between ZIKV infection and congenital malformations, including microcephaly, and neurological conditions such as Guillain-Barré syndrome (GBS). There are different laboratory diagnostic methods currently used for the detection of the Zika virus: molecular analysis, serological detection of anti-ZIKV antibodies and viral isolation. However, there are limitations associated with their use, which make diagnosis difficult in health systems. Biosensors have been gaining prominence in the commercial and research sectors as an alternative that offers rapid diagnostics and real-time detection capabilities, and are therefore an attractive platform for a variety of clinical diagnostic applications. This chapter presents a literature review that addresses the topics of the Zika virus and nanomaterials for biosensors as disease detection platforms

KEYWORDS: Diseases. Biosensors. Nanomaterials.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Vírus Zika (ZIKV)

O vírus Zika (ZIKV) é uma arbovirose que apresenta genoma de RNA de fita simples de polaridade positiva, capaz de replicação imediatamente após a entrada celular. O vírus Zika é pertencente à família de vírus *Flaviviridae*, membro do gênero *Flavivirus* e, filogeneticamente, está relacionado a vários outros vírus de importância clínica, incluindo o vírus do Nilo Ocidental (WNV), vírus da febre amarela (YFV) e vírus da dengue (DENV), todos os quais foram associados à transmissão por mosquitos (HOSSEIN, 2020).

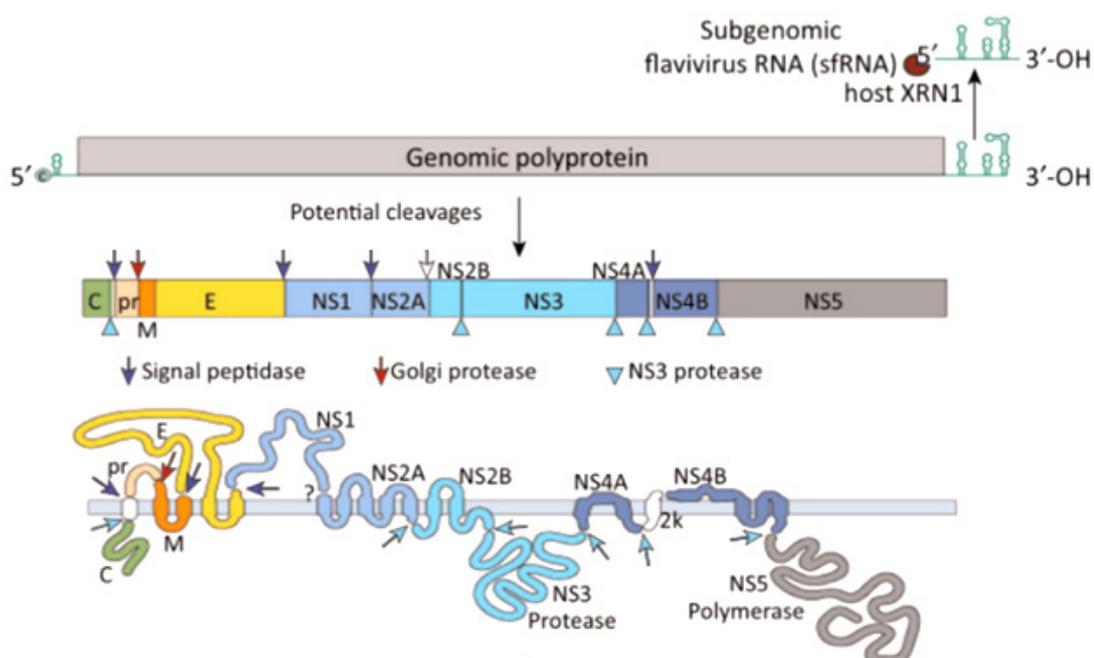
Ao longo do surgimento do vírus Zika, diferentes vias de transmissão foram documentadas, principalmente associadas ao mecanismo de transmissão pela picada do mosquito *Aedes* infectado. O ZIKV é transmitido por várias espécies de mosquitos, incluindo *Aedes africanus*, *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Ae. Hensilli* (VERMISOGLOU et al., 2020).

Outras vias de transmissão, como transfusão de sangue, transmissão pré-natal, sexual ou de mãe para filho do ZIKV, causaram uma taxa mais alta de disseminação (GORSHKOV et al., 2019; RASMUSSEN; JAMIESON, 2020; GIRALDO; GONZALEZ-OROZCO; RAJSBAUM, 2023).

ZIKA: Estrutura e genoma

O comprimento do genoma do ZIKV é de 10.794 kb, codificando 3.419 aminoácidos, e compreende uma molécula de RNA de fita simples de sentido positivo que possui um único quadro de leitura aberta (ORF - *Open Region Frame*) longo flanqueado por duas regiões não codificantes (5' e 3' NCR – *Non Coding Region*). O ORF codifica para todos os componentes estruturais e não estruturais do ZIKV, incluindo uma poliproteína, que é clivada na proteína do capsídeo (C), proteína precursora (prM), proteína do envelope (E) e 7 proteínas não estruturais (NS - *Non Structural*) (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, e NS5).

Figura 1. A) Expressão do genoma do ZIKV (ZHANG et al., 2021).



Entre as proteínas do vírion, a proteína E é a principal proteína de superfície e desempenha um papel importante em várias características do ciclo viral: fusão das membranas por meio de endocitose mediada por receptor, principalmente por meio da família de receptores de lectina do tipo C da célula hospedeira e na mediação da união (Zhang *et al.*, 2021).

As sete proteínas não estruturais desempenham um papel fundamental na regulação da replicação e transcrição viral juntamente com a ativação das respostas antivirais do hospedeiro (KAZMI *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2021).

Os vírions do ZIKV são envelopados, esféricos. Eles possuem aproximadamente 50 nm de diâmetro e as proteínas prM/M e E de superfície estão dispostas em uma simetria tipo icosaédrica T = 3 (Giraldo *et al.*, 2023).

Patogênese do ZIKV

A capacidade de evadir a resposta imune inata e adaptativa para infectar com eficiência diferentes células e tecidos faz parte das características relevantes que o vírus Zika possui para causar patologia. Diferentes estudos têm se baseado no entendimento dos mecanismos moleculares da interação vírus-hospedeiro, sendo estudados tanto *in vitro* quanto *in vivo*, nos quais múltiplos mecanismos de patogênese têm sido propostos que podem envolver o ZIKV, seja por amortecimento de uma resposta antiviral efetiva que leva ao aumento replicação ou indiretamente induzindo imunopatologia devido a respostas imunes desreguladas (Rasmussen & Jamieson, 2020; Jayachandran *et al.*, 2021) and in 2016 was identified as a cause of microcephaly and other serious birth defects. Since that time, much has been learned about the Zika virus. The virus is primarily spread by the bite of *Aedes* species mosquitoes; however, other forms of transmission (e.g., sexual and intrauterine).

Com base na transmissão vetorial, a infecção pelo ZIKV começa com uma picada de mosquito de uma pessoa infectada pelo ZIKV. A replicação viral ocorre nas células epiteliais do intestino médio do mosquito e continua até as glândulas salivares. Após um período de incubação de 10 dias, o mosquito pode transmitir o vírus através da saliva infectada.

O vírus Zika primeiro se liga a receptores celulares que são específicos para diferentes flavivírus. Nesse sentido, alguns receptores foram propostos em estudos de cultura de células, incluindo membros do receptor ZIKV: DC-SIGN (molécula de adesão intracelular específica de células dendríticas) e proteínas receptoras de fosfatidilserina: TYRO 3, AXL, TIM e TAM. A proteína AXL é provavelmente uma das mais estudadas em células e *in vitro* e tem sido proposta como uma forte candidata a receptor para ZIKV, uma vez que parece desempenhar um papel importante na patogênese viral (Vue & Tang, 2021; Giraldo *et al.*, 2023).

Esses receptores facilitam a entrada e a infecção do ZIKV em macrófagos, monócitos, células progenitoras neurais (NPCs) e células fetais, desempenhando funções importantes como adesão, migração, replicação e evasão do sistema imunológico, liberação de citocinas e vias de sinalização de antígenos.

Manifestações clínicas associadas à infecção pelo ZIKV

Os sintomas da infecção por ZIKV se desenvolvem em 3 a 5 dias com o aumento da temperatura do paciente infectado e, subsequentemente, desenvolvem uma erupção cutânea maculopapular.

Devido à rápida disseminação do ZIKV pelo mundo, os sintomas tornaram-se diversos e, na epidemia em países como a Polinésia e o Brasil, foram relatadas diferentes manifestações neurológicas associadas ao ZIKV, incluindo Síndrome de Guillain-Barré (GBS), mielite transversa, meningoencefalite, encefalomielite disseminada aguda (ADEM) (Zare Mehrjardi, Keshavarz *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2018), levantando grandes preocupações sobre a patogenicidade do ZIKV. GBS é uma doença autoimune que afeta o sistema nervoso periférico e causa fraqueza muscular e paralisia.

Mecanismos de transmissão do ZIKV

O ZIKV é um vírus transmitido principalmente pelo modo de transmissão vetorial, através da injeção de saliva infectante por meio da picada de mosquitos do gênero *Aedes*, principalmente o *Aedes aegypti*. O ZIKV também pode ser transmitido por outras espécies do mesmo gênero, como *Aedes hensilli*, *Aedes polynesiensis* e *Aedes albopictus*.

A transmissão não vetorial da infecção pelo ZIKV pode ocorrer com a transmissão de mãe para filho, sexualmente (tanto de indivíduos sintomáticos quanto assintomáticos), por transfusão, por meio de medula óssea ou transplante de órgãos.

Em 2017, a Organização Mundial da Saúde (OMS) apresentou o descobrimento que o ZIKV infecta os testículos, detectando vestígios de RNA do ZIKV no fluido seminal e, até o momento, a transmissão sexual pode ser de homem para mulher (JAYACHANDRAN; CHANDA; BALAMURALI, 2021). Curiosamente, o ZIKV é o primeiro arbovírus detectado no sêmen humano e pode ser transmitido sexualmente. Alguns relatos indicam que o RNA do ZIKV e a carga viral infecciosa podem ser detectados na urina e na saliva de pacientes infectados (PATTNAIK; SAHOO; PATTNAIK, 2020).

Existem amplas evidências que confirmam que mães infectadas pelo ZIKV podem transmitir o vírus para seus fetos durante a gravidez. Vários estudos demonstraram a capacidade do ZIKV de atravessar a placenta e infectar tecidos neurais de fetos, dada a detecção de RNA e antígenos do ZIKV na placenta, líquido amniótico e tecidos cerebrais de bebês (RASMUSSEN; JAMIESON, 2020) and in 2016 was identified as a cause of microcephaly and other serious birth defects. Since that time, much has been learned about the Zika virus. The virus is primarily spread by the bite of *Aedes* species mosquitoes; however, other forms of transmission (e.g., sexual and intrauterine).

A Transmissão por fluidos corporais foi confirmada por testes de diagnóstico RT-PCR, que revelaram a presença de RNA do ZIKV na urina, sangue, saliva e outros fluidos corporais, indicando possível transmissão por fluidos corporais (Yadav & Mohite, 2020; Boeras *et al.*, 2022).

Diagnóstico

O diagnóstico da infecção pelo ZIKV é desafiador, pois os sintomas se assemelham aos de outras infecções por flavivírus. A Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos aprovou até o momento 5 testes sorológicos e 14 testes moleculares para os quais amostras de saliva, urina e soro são coletadas de pacientes (Noorbakhsh *et al.*, 2019; Bhardwaj *et al.*, 2021).

A detecção do ZIKV pode ser realizada pela detecção dos componentes virais do ZIKV (proteínas virais, RNA ou isolado do vírus) ou pela medição da concentração de anticorpos contra as proteínas virais do ZIKV (resposta imune do hospedeiro) por meio de ensaios sorológicos.

Dos testes aprovados pelo FDA, podemos citar: O teste de ácido nucléico (NAT), que é baseado em RT-PCR que utiliza sangue total ou soro para o diagnóstico de ZIKV. Isso é feito para pacientes com início dos sintomas ≤ 7 dias.

Para sintomas ≥ 7 dias, imunoenaios enzimáticos (EIAs), ensaios de imunofluorescência (IFAs) e ensaios de neutralização, como testes de neutralização por redução de placas (PRNTs), entre outros, são importantes ferramentas de diagnóstico sorológico.

Em diagnóstico *in vitro*, a ferramenta de diagnóstico molecular padrão-ouro para ZIKV é PCR quantitativo de transcrição reversa (qRT-PCR), mas problemas de alto custo e portabilidade dificultam seu uso como ponto de atendimento (POC) durante programas de vigilância (Silva *et al.*, 2019).

Portanto, estratégias novas, rápidas, precisas e sensíveis para a detecção de ZIKV são urgentemente necessárias para prevenir e controlar efetivamente os surtos de ZIKV.

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), um biossensor é um dispositivo que converte um biorreconhecimento (ligação por afinidade, como entre um anticorpo e um antígeno) ou biocatalítico (uma reação enzimática etc.) em uma análise sinal proporcional à concentração do alvo (IMRAN; AHMADI; KERMAN, 2021).

Os sensores são dispositivos usados para detectar a presença de uma substância específica de interesse ou para medir uma propriedade física, como temperatura, massa ou características elétricas ou ópticas, e produzir um sinal para registro ou processamento subsequente (NARESH; LEE, 2021). A qualidade na operação dos biossensores é validada e refletida dependendo de seis propriedades: seletividade, faixa linear de resposta, sensibilidade, limite de detecção, reprodutibilidade e estabilidade (LINO *et al.*, 2022).

Os biossensores são baseados em vários elementos de reconhecimento, classificados como genossensores (DNA e oligonucleotídeos), aptassensores (aptâmeros) imunossensores (anticorpos e antígenos) e sensores enzimáticos (enzimas, células e tecidos) (IMRAN; AHMADI; KERMAN, 2021).

Por outro lado, os biossensores podem ser classificados de acordo com o método de transdução. Entre os vários tipos de biossensores, os biossensores eletroquímicos são

operados há vários anos em vários campos. Alguns já foram comercializados, pois são relativamente fáceis de funcionalizar e relativamente baratos (LINO et al., 2022).

Do final dos anos 1990 ao início dos anos 2000, o uso da nanotecnologia para pesquisa de dispositivos de monitoramento biológico experimentou um crescimento explosivo (OLIVEIRA et al., 2018). Os nanomateriais possuem várias características, como grande proporção de área de superfície por volume, bem como efeitos de tamanho quântico que dominam em nanoescala (WU et al., 2020).

O termo “nanobiossensor” pode ser visto como resultado dos avanços da nanotecnologia utilizada para fins de biossensoriamento. Em geral, os nanobiossensores são biossensores compostos por materiais que possuem suas dimensões em nanoescala. Os materiais em nanoescala apresentam propriedades únicas e inovadoras em comparação com seus equivalentes em maior escala (LINO et al., 2022).

O diagnóstico clínico, separação de amostras, amplificação de sinal e detecção de elementos de reconhecimento biológico são algumas das áreas nas quais as qualidades aprimoradas oferecidas pelos nanomateriais são aplicadas com sucesso (WU et al., 2020).

As principais vantagens dos nanossensores incluem: velocidade de resposta, baixa quantidade de amostra necessária, robustez, capacidade de utilização em pontos de atendimento (portabilidade) e custo/benefício atrativo. Entre os nanomateriais usados para fabricar nanossensores, os nanomateriais à base de carbono são promissores, pois exibem propriedades eletrônicas excepcionais, dando-lhes a capacidade de obter melhores sinais em várias aplicações de detecção (BAKANDRITSOS et al., 2017).

Além de sua alta área superficial, os nanomateriais à base de carbono são materiais biocompatíveis e são vantajosos em termos de simplicidade, velocidade e sensibilidade (FAHMY et al., 2022). Nanocompósitos à base de grafeno e nanopartículas metálicas depositadas na superfície de eletrodos têm sido explorados para biossensores devido à sua excelente biocompatibilidade, alta área de superfície e conjugação seletiva de sítio com biomoléculas (OLIVEIRA et al., 2018).

O grafeno é um material formado por uma camada de átomos de carbono, frequentemente conhecido por sua estrutura de favo de mel 2D de camada única, na qual ambas as superfícies estão disponíveis para adsorção de moléculas.

O grafeno apresenta propriedades interessantes, pois é um material com alta resistência mecânica, condução eletrônica e térmica, além de ser quimicamente estável, forte e flexível. Sua superfície é extraordinariamente grande (2630 m²/g), mesmo assim é um material leve.

O grafeno e seus derivados, como óxido de grafeno (GO), óxido de grafeno reduzido (GO_r) e ácido de grafeno (AG), que contêm vários grupos funcionais de oxigênio (hidroxila, carboxila e grupos funcionais epóxi), surgiram para uso potencial em biossensores (MATHEW et al., 2020).

O ácido de grafeno é considerado um novo membro da família dos derivados do grafeno, apresentando composição próxima a $C_1(\text{COOH})_1$, sendo o produto da oxidação dos grupos -OH do óxido de grafeno a grupos -COOH (REUILLARD *et al.*, 2020). O ácido de grafeno é um material com química bem definida, uma vez que ambos os lados do grafeno são densamente carregados por grupos carboxila (com um grau de funcionalização de ~15%) de forma homogênea ao longo da rede de carbono (BAKANDRITSOS *et al.*, 2017; PUMERA; SOFER, 2017).

Devido ao fato de a superfície do ácido de grafeno ser rica em grupos funcionais de oxigênio (ácido carboxílico, carbonila, epóxido e hidroxila) e o aumento de grupos carboxila permitir a imobilização eficiente de qualquer tipo de biomoléculas, o que o expõe como um material atraente para aplicação em detecção eletroquímica (FAHMY *et al.*, 2022).

As nanopartículas (NPs) são um material que apresenta todas as três dimensões na faixa da nanoescala, sendo de grande interesse para pesquisa, pois formam a ligação entre materiais *bulk* e estruturas moleculares ou atômicas (VEIGAS *et al.*, 2012).

O pequeno tamanho de partícula, permite a presença de muitos átomos na superfície das nanopartículas. Dependendo da forma e tamanho das nanopartículas, variam fatores como área e volume e, portanto, sensibilidade e condutividade ultravioleta-visível (HASSANPOUR *et al.*, 2018).

Existem inúmeras técnicas para sintetizar NPs de metais nobres, incluindo métodos químicos como redução química, redução fotoquímica, coprecipitação, decomposição térmica, hidrólise, entre outros, e métodos físicos (deposição de vapor, ablação a laser, trituração etc.), a fim de obter nanopartículas homogêneas, permitir o controle sobre o tamanho, forma e propriedades da superfície, a fim de aproveitar melhor suas propriedades físico-químicas únicas para biodetecção (VEIGAS *et al.*, 2012; UKHUREBOR *et al.*, 2022).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido á doenças que podem ser causadas pelo vírus Zika, como malformações congênitas, incluindo microcefalia e neurológicas condições como a síndrome de Guillain-Barré, torna-se importante o conhecimento do genoma, patogênese, mecanismos de transmissão do ZIKV, manifestações clínicas associadas à infecção pelo ZIKV e metodologias diagnósticas. Os desenvolvimentos atuais no domínio da nanobiotecnologia têm conduzido à criação de novas metodologias benéficas para o sistema de saúde nas áreas da vigilância da saúde e do diagnóstico médico. As propriedades únicas dos conjuntos atômicos e moleculares construídos em escala nanométrica, abrem a possibilidade de manipular as propriedades físicas, químicas e biológicas dessas partículas, permitindo o desenho e uso racional de nanomateriais para diferentes finalidades. Os avanços da nanotecnologia nos últimos anos deram origem a novas técnicas e dispositivos de biossensoriamento. Assim, vários nanodispositivos têm gradualmente dado lugar à monitorização de diferentes elementos de interesse em diferentes áreas, incluindo a biomedicina no diagnóstico de doenças, controlo de poluentes, detecção de patógenos.

REFERÊNCIAS

- BAKANDRITSOS, A. et al. **Cyanographene and Graphene Acid: Emerging Derivatives Enabling High-Yield and Selective Functionalization of Graphene.** *ACS Nano*, v. 11, n. 3, p. 2982–2991, 2017.
- BARTON, J. et al. **Screen-printed electrodes for environmental monitoring of heavy metal ions** : a review. p. 503–517, 2016.
- BHARDWAJ, U. et al. **Gist of Zika Virus pathogenesis.** *Virology*, v. 560, n. May, p. 86–95, 2021.
- BOERAS, D. et al. **Evaluation of Zika rapid tests as aids for clinical diagnosis and epidemic preparedness.** *eClinicalMedicine*, v. 49, p. 101478, 2022.
- FAHMY, H. M. et al. **Recent Progress in Graphene- and Related Carbon-Nanomaterial-based Electrochemical Biosensors for Early Disease Detection.** *ACS Biomaterials Science and Engineering*, v. 8, n. 3, p. 964–1000, 2022.
- FERRARIS, P.; YSSEL, H.; MISSÉ, D. **Zika virus infection: an update.** *Microbes and Infection*, v. 21, n. 8–9, p. 353–360, 2019.
- GIRALDO, M. I.; GONZALEZ-OROZCO, M.; RAJSBAUM, R. **Pathogenesis of Zika Virus Infection.** *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, v. 18, n. 1, 2023.
- GORSHKOV, K. et al. **Zika virus: Origins, pathological action, and treatment strategies.** *Frontiers in Microbiology*, v. 10, n. JAN, 2019.
- HASSANPOUR, S. et al. **Diagnosis of hepatitis via nanomaterial-based electrochemical , optical or piezoelectrical biosensors** : a review on recent advancements. 2018.
- HOSSEIN, F. **An overview of the current medical literature on Zika virus.** *Biophysical Reviews*, v. 12, n. 5, p. 1133–1138, 2020.
- JAYACHANDRAN, B.; CHANDA, K.; BALAMURALI, M. M. **Overview of Pathogenesis, Diagnostics, and Therapeutics of Infectious Diseases: Dengue and Zika.** *ACS Omega*, v. 6, n. 35, p. 22487–22496, 2021.
- KAZMI, S. S. et al. **A review on Zika virus outbreak, epidemiology, transmission and infection dynamics.** *Journal of Biological Research (Greece)*, v. 27, n. 1, p. 1–11, 2020.
- LINO, C. et al. **Biosensors as diagnostic tools in clinical applications.** *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer*, v. 1877, n. 3, p. 188726, 2022.
- MALEKZAD, H. et al. **Noble metal nanoparticles in biosensors** : recent studies and applications. v. 6, n. 3, p. 301–329, 2017.
- MARTÍN-ACEBES, M. A.; SAIZ, J.-C. **The Scientific Response to Zika Virus.** *Journal of Clinical Medicine*, v. 8, n. 3, p. 369, 2019.
- MARTINS, M. M.; MEDRONHO, R. D. A.; CUNHA, A. J. L. A. Da. **Zika virus in Brazil and**

worldwide: a narrative review. *Paediatrics and International Child Health*, v. 41, n. 1, p. 28–35, 2021.

MATHEW, T. et al. **Graphene-based functional nanomaterials for biomedical and bioanalysis applications.** *FlatChem*, v. 23, n. August, p. 100184, 2020.

NARESH, V.; LEE, N. **A review on biosensors and recent development of nanostructured materials-enabled biosensors.** *Sensors (Switzerland)*, v. 21, n. 4, p. 1–35, 2021.

NOORBAKHS, F. et al. **Zika virus infection, basic and clinical aspects:** A review article. *Iranian Journal of Public Health*, v. 48, n. 1, p. 20–31, 2019.

PACHECO, W. F. et al. **Voltammetry** : A Brief Review About Concepts. v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013.

PATTNAIK, A.; SAHOO, B. R.; PATTAIK, A. K. **Current status of zika virus vaccines:** Successes and challenges. *Vaccines*, v. 8, n. 2, p. 1–19, 2020.

PUMERA, M.; SOFER, Z. **Towards stoichiometric analogues of graphene:** Graphane, fluorographene, graphol, graphene acid and others. *Chemical Society Reviews*, v. 46, n. 15, p. 4450–4463, 2017.

RASMUSSEN, S. A.; JAMIESON, D. J. **Teratogen update:** Zika virus and pregnancy. *Birth Defects Research*, v. 112, n. 15, p. 1139–1149, 2020.

REUILLARD, B. et al. **Noncovalent Integration of a Bioinspired Ni Catalyst to Graphene Acid for Reversible Electrocatalytic Hydrogen Oxidation.** 2020.

UKHUREBOR, K. E. et al. **A Methodical Review on the Applications and Potentialities of Using Nanobiosensors for Disease Diagnosis.** *BioMed Research International*, v. 2022, 2022.

VEIGAS, B. et al. **Noble Metal Nanoparticles for Biosensing Applications.** p. 1657–1687, 2012.

ZHANG, X. et al. **Recent progresses and remaining challenges for the detection of Zika virus.** *Medicinal Research Reviews*, v. 41, n. 4, p. 2039–2108, 2021.