



**Revista**  
Saúde Integrada  
ISSN 2447-7079

## **ZIKA VÍRUS: FATORES EVOLUTIVOS DETERMINANTES PARA SUA EPIDEMIA E PATOGENIA**

Elisandro da Silva

Acadêmico do curso de Biomedicina – CNEC/IESA. Email: maninhociclista@gmail.com

Angela Maria Blanke Sangiovo

Acadêmica do curso de Biomedicina – CNEC/IESA. Email: angelasangiovo2@hotmail.com

Flávia Suelen de Oliveira Pereira

Acadêmica do curso de Biomedicina – CNEC/IESA. Email: flaviapereira07@hotmail.com

Caroline Eickhoff Copetti Casalini

Farmacêutica. Mestre em Medicina e Ciências da Saúde – PUC. Professora do curso de Biomedicina - CNEC/IESA.

Email: caroleickcop@yahoo.com.br

### **RESUMO**

O Zika vírus (ZICV) tem deixado o cenário mundial em alerta desde que os recentes surtos associados a ele têm implicado no aumento dos casos de microcefalia e outras complicações antes não relatadas na mesma proporção epidemiológica. As cepas já conhecidas do vírus mostram evidências de sua evolução a partir de modificações genéticas que, interferiram em sua característica viral e assim, em sua epidemiologia e patogenicidade. Trata-se de uma pesquisa de revisão bibliográfica onde o levantamento de artigos foi realizado por meio dos bancos de dados online, Google Acadêmico, MEDLINE/Pubmed e Scielo publicados no período de 1990 até 2016. Este estudo tem como objetivo demonstrar os aspectos evolutivos do ZICV e suas alterações genéticas que, forneceram a ele, a possibilidade de ocasionar significativas morbidades e a capacidade de fácil disseminação por diferentes meios de transmissão. Conclui-se que o ZICV vem mudando de característica à medida que amplia sua abrangência geográfica sendo a cepa encontrada no Brasil provinda de origem asiática, além disso, o vírus vem apresentando mudanças nos pares de bases de sua estrutura muito maiores que em relação a outros vírus da mesma família. Significativas alterações nos aminoácidos da proteína estrutural "E" e da também proteína NS1 têm revelado indícios na promoção de mudanças sobre a característica e tropismo do ZICV.

**Palavras-Chave:** Zika Vírus. Flavivirus. Genoma. Evolução.

### **ABSTRACT**

The Zika virus (ZICV) has been leaving the world scenario in alert provided that the recent outbreaks associated with it, has implicated in the increase cases microcephaly and others complications before not reported in the same epidemiologic proportion. The strains of virus already know demonstrated evidences of its evolution since modifications genetics that interfered in its characteristics viral and so, in its epidemiology and pathogenicity. It is a bibliographic review research where the survey articles were realized through online databases, Google Academic, MEDLINE/Pubmed and Scielo, published in the period from 1990 to 2016. This study has objective to demonstrate the evolution aspects of ZICV and its genetics changes that, provided to it the possibility to cause significant morbidities and the capacity of spreading easily by different means of transmission. It follows that the ZICV is changing feature as it extends its geographic coverage with the strain of Asian origin found in Brazil, moreover, the virus has shown changes in pairs of a much larger structure basis as compared to other the same viral family. Significant changes in the amino acids of the structural protein "E" and the NS1 protein have shown evidence in promoting changes in the characteristic and tropism the ZICV.

**Keywords:** Zika Vírus. Flavivirus. Genome. Evolution.

**p. 51-59**

## INTRODUÇÃO

O Zika vírus (ZICV) foi primeiramente isolado em macacos *Rhesus* e posteriormente em mosquitos do gênero *Aedes*, entre 1947 e 1948, na floresta de Zika na África. O primeiro contágio descrito em humanos ocorreu no continente africano na segunda metade do século XX de onde se espalhou para a Ásia e outras regiões. Sua infecção era de característica esporádica, de sintomas leves e sem significativos agravos à saúde. Em meados de 2014 na região do pacífico, e em 2015 no continente americano, principalmente no Brasil, que o ZICV adquiriu proporção epidêmicas e foi relacionado com complicações antes não relatadas como Síndrome de Guillain-Barré e malformações congênitas (KINDHAUSER et al., 2016).

O ZICV pertence à família Flaviviridae, gênero flavivirus. A família Flaviviridae apresenta mais de 40 agentes patogênicos ao homem, sendo responsável por doenças que se tornaram emergentes no mundo todo, como a Dengue e o vírus do Nilo ocidental (BOLLATI et al., 2010). É constituído por uma cadeia simples de RNA positiva, com duas regiões não codificantes, apresenta proteínas estruturais e não estruturais em sua conformação das quais delimitam grande parte sua característica viral (LOGAN, 2016).

As cepas já conhecidas do ZICV mostram sua provável evolução genética, como mutações e recombinações gênicas das quais sofreu desde sua provável origem, há 300 anos, na África Ocidental, até a infecção de humanos que, a partir de 2014, deu início aos surtos mais significativos em populações de diversos locais do mundo (LOGAN, 2016). Segundo a Organização Mundial da Saúde (2016), as diferenças entre linhagens virais do Zika podem ser explicadas pois o mesmo tem mudado de característica genética à medida que amplia sua abrangência geográfica (KINDHAUSER et al., 2016).

Estudos têm mostrado que o ZICV vem sofrendo recombinações na natureza, o que fez com que sua proteína estrutural “E” lhe propiciasse a possibilidade de penetração em diferentes células do corpo humano com mais facilidade (FAYE et al., 2014; SIROHI et al., 2016). Se acredita também, que o ZICV adquiriu padrões não antigênicos na sua estrutura, ou seja, a baixa capacidade de o vírus estimular a resposta imunológica, inflamatória e a produção de anticorpos no hospedeiro. Fato que pode estar relacionado com a grande parte dos quadros assintomáticos da infecção (FAYE et al., 2014).

Acredita-se que o vírus possa ter chegado ao Brasil através da entrada de turistas estrangeiros que vieram a eventos esportivos, que antecederam a Copa do Mundo de 2014. Estima-se que o ZICV ficou em circulação por 12 meses antes do aparecimento do primeiro caso da infecção, fato que foi relatado no mês de abril do ano seguinte (FARIA et al., 2016).

Os casos de Microcefalia e síndrome de Guillain-Barré tem aumentado no Brasil juntamente com a epidemia de ZICV, demonstram sua provável relação destas complicações com a infecção viral. O aumento da incidência da Síndrome de Guillain-Barré além de 9 casos de microcefalia já havia sido registrado, em 2014, em surtos de ZICV na Polinésia Francesa (KINDHAUSER, 2016); (WHO, 2016). Porém, foi em 2015, no Brasil que a microcefalia relacionada ao ZICV teve maior enfoque devido ao aumento significativo desta malformação, cerca de 20 casos por 10.000 nascidos vivos (BORCHARDT, 2016). O vírus foi achado em líquido amniótico de fetos que apresentaram microcefalia, mostrando a sua capacidade de atravessar a barreira placentária e atingir o tecido cerebral (TANG et al., 2016).

O ZICV tem deixado o cenário mundial em alerta, desde que os primeiros casos de microcefalia foram relatados no Brasil. Estudos estão em andamento visando identificar a ligação deste vírus com essa condição neurológica, assim como outras patologias. Isso tem se tornado preocupante devido à grande proporção de disseminação do vírus, através do seu principal vetor, o *Aedes aegypti*, bem como, novas prováveis fontes de transmissão, moldadas possivelmente pelos

seus processos evolutivos, como a congênita, transfusão de sangue, relação sexual, e achados do vírus em outras amostras biológicas como saliva e urina (CALVET et al., 2016; MUSSO et al., 2014; MUSSO et al., 2015; GOURINAT et al., 2015).

Esta revisão tem como objetivo, demonstrar aspectos evolutivos do ZICV, alterações genéticas encontradas que, forneceram ao vírus, significativas morbidades e a capacidade de fácil disseminação por diferentes meios de transmissão.

## **METODOLOGIA**

O estudo foi desenvolvido por meio de uma revisão bibliográfica, que tem por finalidade reunir e sintetizar resultados de pesquisas sobre o Zika vírus, contribuindo para o aprofundamento do conhecimento sobre o tema investigado. O levantamento bibliográfico desta revisão foi realizado por meio de busca por artigos científicos dos bancos de dados online, através da utilização do Google Acadêmico, MEDLINE/Pubmed e Scielo publicados no período de 1990 até 2016. Foram utilizados os seguintes descritores: Zika Vírus, Flavivirus, genoma e evolução, com os descritores em inglês: Zika Vírus, Flavivirus, genome e evolution. Foram inicialmente obtidos 442 artigos, que após critério de inclusão através do refinamento com os descritores, tempo de publicação, relevância, leitura de título e resumo dos trabalhos, foram selecionados 44 artigos científicos para leitura na íntegra. Destes, 26 foram utilizados para a escrita do artigo.

## **DESENVOLVIMENTO**

O amplo aumento de casos de febre Zika no continente americano a partir de 2015 e sua relação com episódios de microcefalia em neonatos e paralisia motora em adultos passaram a ser um grande motivo de preocupação para a saúde da população mundial. O ZICV tem sua história descrita por casos esporádicos com patogenia branda e que posteriormente, por razões em parte desconhecidas, se tornou um vírus de alta transmissibilidade e periculosidade (SIROHI et al., 2016).

O ZICV (Figura 1) pertence ao gênero Flavivirus, família Flaviviridae da qual é constituída por diversos vírus como o Vírus do Nilo Ocidental, o Vírus da Dengue e Chikungunya (SIROHI et al., 2016). Esta família viral codifica uma única poliproteína que é processada e clivada por proteases celulares e virais em três proteínas estruturais, o Capsídio (C), Precursor de Membrana (PrM) e Envelope (E) além de sete proteínas não estruturais, a NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 que estão envolvidas na replicação viral e no antagonismo a resposta inata do hospedeiro à infecção. O arranjo do vírus confere com que as três proteínas estruturais se disponham mais próximas da região 5' sendo as primeiras a serem transcritas (Figura 2) (FAYE et. al., 2014).

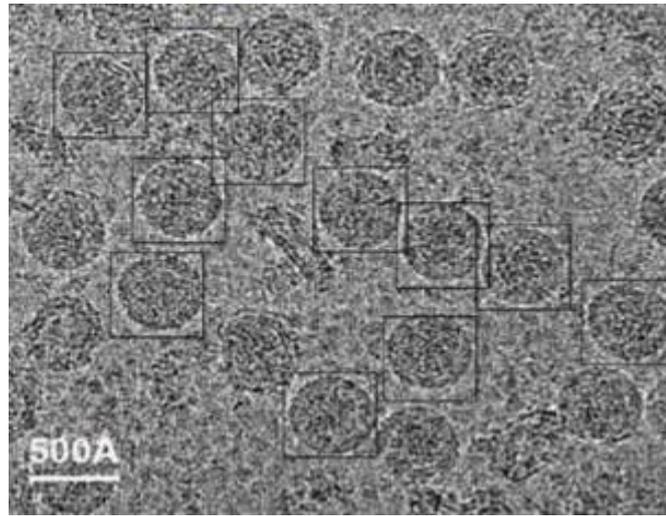


Figura 1- Estrutura do Zika Vírus. Estrutura visualizada em temperatura criogênica representando os fenótipos de partículas infecciosas virais. As partículas do vírus maduras são lisas, representadas por uma cápsula preta ao redor (Adaptado de SIROHI et al., 2016).

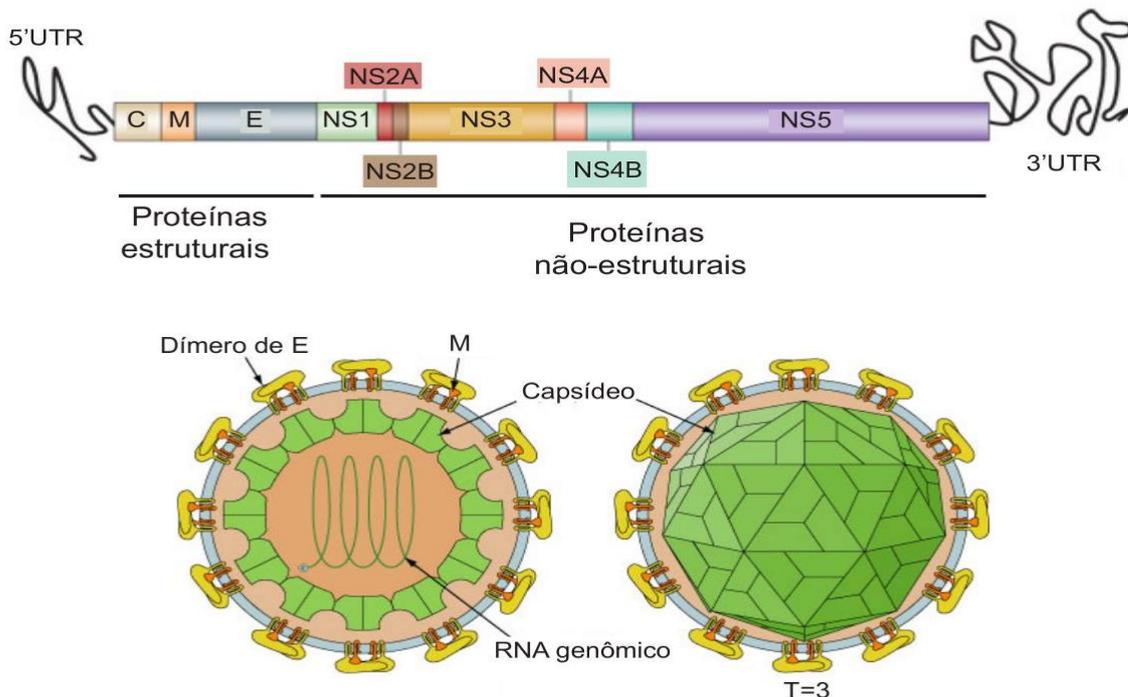


Figura 2- Representação estrutural do Zika Vírus (Adaptado de FREIRE et al., 2014).

A proteína E é uma proteína dimérica com estrutura icosaédrica que contém cerca de 53KDa e apresenta três domínios em sua estrutura, o domínio I, II e III (FAYE et. al., 2014). É a principal proteína de superfície do vírus e está relacionada com a ligação e a fusão a receptores da membrana celular do hospedeiro. Postula-se que o meio ácido do endossoma produz alterações na conformação desta proteína o que leva a liberação do genoma viral no citoplasma da célula hospedeira (MONDOTTE et. al., 2007; SIROHI et al., 2016).

É descrita a existência de duas cepas de ZICV circulando na África e uma no continente Asiático. Na África, o vírus é caracterizado por infecções em primatas e mosquitos sendo esporádica em humanos. Já em relação à cepa asiática, ela tem expandido seu potencial de infecções em humanos em diferentes continentes. Ambas as cepas virais pertencem a um ancestral comum e tal comportamento distinto de região para região supostamente é explicado por um processo mutacional adaptativo. A análise filogenética da cepa de ZICV isolada pela primeira vez no Brasil

mostrou que a cepa brasileira provém de origem asiática. (FAYE et al., 2014; FREIRE et al., 2015; ZANLUCA et al., 2016).

Estudos demonstram que o ZICV sofreu uma taxa de mutações de seu RNA viral relativamente alta e incomuns para a natureza de um Flavivirus (cerca de 12 a 25 pares de bases por ano) (LOGAN, 2016). Foi descrita a substituição de 75 aminoácidos na cepa asiática em relação a cepa africana, e 25 substituições na cepa asiática pré-epidemia (Malásia em 1966) em relação a cepa epidêmica (surto em 2007 na Polinésia Francesa). Já entre os anos de 2007 até 2016, onde aconteceu as maiores patogenias relacionadas a infecção, houve cerca de 15 modificações de aminoácidos (ZHU et al., 2016).

O ZICV apresenta uma gama significativa de vetores que podem compartilhar linhagens virais diferentes. Este acontecimento biológico favorece um ambiente susceptível aos processos de recombinações (FREIRE, 2014). O autor sugere que os eventos de perda ou ganho de um sítio de N-glicosilação na proteína E, pelos processos de recombinações, podem estar relacionadas com o poder de adaptação do vírus às células de diferentes vetores, fato que potencializa a transmissão viral por distintos meios.

Um estudo através da reconstrução filo geográfica do Zika constatou de forma inequívoca que as linhagens brasileiras pertencem a cepa asiática. Em posterior análise genética para identificar alterações sofridas pelo ZICV no Brasil, constatou-se duas substituições na sequência de aminoácidos da proteína E. Uma, na posição 279 em que a fenilalanina (Phe) foi substituída pela serina (Ser), localizada na alça de fusão entre o domínio I e o domínio II. Essa é uma região hidrofóbica nas cepas selvagens que permite ao vírus mudanças no arranjo da proteína induzidas pelo pH baixo, e facilita a sua fusão a membrana da célula hospedeira (GIOVANETTI et al., 2016).

Outra substituição na posição 311 onde a isoleucina (Ile) foi substituída pela valina (Val), que está presente na superfície da proteína E, no domínio III. Esta mutação de dois aminoácidos das cepas do Brasil foi responsável pela aquisição de um sítio polar, alterando a carga neste local e com isso impedindo a neutralização de imunoglobulinas IgM e alteração a sensibilidade do pH. Antes destas modificações era este domínio que continha as principais partículas antigênicas, justamente por possuir os mais importantes epítopos para o reconhecimento e ação dos anticorpos. O domínio III do ZICV, também possui um sítio de N-glicosilação na porção Asn154. Porém, nem todos os Flavivirus possuem a presença da N-glicosilação (GIOVANETTI et al., 2016).

O domínio I é a região central N-terminal, uma estrutura  $\beta$ -barril. Estudos indicam que este domínio da proteína E está associado a uma resposta imune de anticorpos não neutralizantes. Assim, mutações nestes domínios da proteína, têm sido associados a virulência, morfogênese viral, a infeciosidade, e ao tropismo (LEE et al., 1997; SIROHI et al., 2016).

A N-glicosilação da Proteína de Envelope presente em uma cepa isolada norte-americana de linhagem genética do tipo I do vírus do Nilo do Ocidente, estava associada a alta virulência, elevadas taxas de complicações neurológicas, e a morte de seres humanos, aves, cavalos e outros animais, enquanto outra cepa do tipo II tinham uma menor patogenia, embora ainda alta virulência. Nesse estudo a cepa de linhagem I estava sendo associada com neuroinvasibilidade em ratos. Foi encontrada uma mutação que codifica para N-glicosilação na proteína de Envelope da cepa NY99 (linhagem tipo I) em relação a cepa originária não mutada ETH76a (linhagem tipo II), e ainda mais interessante esta mutação ocorreu na região Asn154. A cepa NY99 foi responsável por uma forte viremia (cerca de quatro vezes superior a ETH76a) sendo detectada no cérebro de ratos após o quarto dia da infecção. Esta mutação também conferiu ao vírus menor sensibilidade ao pH ácido, caindo de 6.6 na cepa não glicosilada para 6.2 na cepa glicosilada o que concedeu a cepa maior virulência em relação a ETH76a (BEASLEY et. al., 2005).

Para o vírus da dengue a glicosilação em Asn67 na proteína E se torna um sítio de ligação para vários tipos de células demonstrado ser alvo relevante da infecção *in vivo*. Da mesma forma, a

glicosilação em Asn154 na estrutura do vírus do Nilo Ocidental tem sido associada para neurotropismo. Estas observações demonstram a significação da glicosilação a ligação a diferentes células do hospedeiro. Assim, esta região varia não só entre as cepas ZICV, mas também em outros flavivírus e sugere que as mudanças nesta região não só influenciam sua estrutura, bem como define seu tropismo (SIROHI et al., 2016).

A proteína não estrutural NS1 também possui sítios de glicosilação localizados nas porções de Asn130 e Asn207. Este peptídeo possui 352 aminoácidos e dependendo do processo de glicosilação possui um peso molecular entre 46 a 55KDa, a sua secreção na superfície da célula além de altamente imunogênica desempenha um importante papel agindo como um co-fator na replicação do vírus sendo utilizado como biomarcador para o diagnóstico precoce da doença. A glicosilação da NS1 possui diferentes padrões sendo dependente para cada espécie dos flavivirus sendo importante evento pós-traducional para a maturação da proteína (MULLER et al., 2013).

Recentemente foi descrito diferentes cargas eletrostáticas contidas na proteína não estrutural NS1 em cepas do vírus Zika comparando com outros flavivirus. A proteína NS1 possui carga positiva em vírus como o da DENV que induz a produção de anticorpos, o que caracteriza esta proteína como um importante sítio para a resposta imune contra o vírus. No ZICV ela possui carga negativa em sua porção c-terminal, e esta divergência eletrostática parece resultar em um não reconhecimento pelos anticorpos (SONG et al., 2016).

Outra possível adaptação foi identificada por Freire et al (2015) nos chamados genes de limpeza (do inglês housekeeping) o que segundo a pesquisa poderia estar facilitando a replicação vira e o aumento dos títulos virais. Foram feitas análises genéticas entre cepas Africanas e cepas Asiáticas, sendo estas últimas as responsáveis por recentes surtos virais, onde se conclui que as cepas asiáticas continham proteínas NS1 mais resistente tendo maior resistência eficiência em adaptar-se no organismo humano, resultado de modificações no gene do vírus (FREIRE et al., 2015).

Estudos in vitro revelaram que o ZICV possui capacidade de infectar as células progenitoras neuronais humanas em um curto período de tempo fazendo com que houvesse a secreção de partículas infecciosas do vírus, reduzindo drasticamente a quantidade de células viáveis, após 66 a 72 horas da infecção. Outra observação importante nesse estudo, foi de que a presença do vírus Zika nas células progenitoras neuronais induz o aumento da ativação da caspase-3 (TANG, et al., 2016). As caspases são proteases aspartato específicas constituídas por cisteína, que reconhecem locais que possuem resíduos de aspartato e os clivam. Estão ativadas em células em processo de apoptose. Existem 14 caspases, mas apenas 6 delas são as relacionadas aos processos apoptóticos, dentre estas, a caspase-3 (ANAZETTI, M.C.; MELO, P.S. 2007).

Referente a susceptibilidade de um hospedeiro vertebrado, recentemente se avaliou a característica de ratos imunocompetentes e imunocomprometidos em resposta ao ZICV. No caso dos imunocomprometidos, se observou que os mesmos não desempenharam ação antiviral por meio do Interferon alfa-beta (IFN- $\alpha$  /  $\beta$ ). Esses, foram altamente vulneráveis a infecção pelo vírus, já que o IFN-  $\alpha$  /  $\beta$  atua na limitação da propagação das infecções virais e isso resultou em perda de peso e propagação do vírus em tecidos como o SNC (causando alterações neurológicas) e testículos. Níveis elevados de RNA viral foram encontrados nesses dois tecidos, mais significativamente nos testículos, mesmo dias após o desaparecimento dos sinais clínicos, mostrando o potencial da capacidade de transmissão sexual do vírus, como já foi relatado em humanos (LAZEAR et al., 2016).

Estudos in vitro, de Paul e colaboradores (2016), mostraram que os anticorpos produzidos para combater o vírus da dengue, aumentam o potencial de infecção pelo Zika vírus. Os anticorpos do ZICV reagem de forma cruzada com os de outros flavivírus como os da dengue. A proteína E do ZICV e os 4 sorotipos da dengue são muito semelhantes geneticamente, e apresentam a mesma sequência de aminoácidos, na região de fusão do vírus, que se liga aos receptores de membrana dos hospedeiros. Isso faz com que os anticorpos do vírus da dengue (DENV) reconheçam e tenham uma

alta afinidade pelos sorotipos do DENV e se ligam a essa região de fusão, melhorando a capacidade de infecção do ZICV. Este fato, podendo estar diretamente relacionado com a rápida transmissão de febre Zika no Brasil, em lugares que também sofrem com surtos de dengue.

Hoje as pesquisas sobre o ZICV estão evoluindo na busca de medidas que controlem essa epidemia. Uma destas utilizou a bactéria *Wolbachia endosymbiotic*, para inibir a replicação do vírus no vetor *Aedes aegypti*, impedindo assim a proliferação do ZICV no processo de acasalamento desta população de mosquitos. Para isto, os cientistas, alimentaram os mosquitos com sangue contendo o ZICV, para comparar a prevalência de infecção entre os que eram infectados com a bactéria *Wolbachia* ou não. Após 14 dias, foram coletadas amostras da saliva dos vetores. Observou-se então, que a prevalência da transmissão do ZICV em mosquitos infectados com a *Wolbachia* foi reduzida, ou seja, alguns mosquitos continham (10%) partículas do vírus na saliva, porém não foram capazes de transmitir a infecção para os outros mosquitos. Enquanto que os *Aedes aegypti*, sem a presença da bactéria, tiveram um potencial de disseminação do ZICV de 80%, com capacidade de infecção do vírus pela saliva, de 100% (DUTRA et al. 2016).

## CONCLUSÃO

As inúmeras mudanças, seja pela perda ou incorporação de nucleotídeos na estrutura do ZICV ou ainda pelos processos pós-traducionais de glicosilação, possibilitaram ao vírus Zika maior resistência para sua disseminação bem como um potencial de virulência e patogenicidade elevados em relação as cepas originárias, uma vez que o vírus ganhou a possibilidade de tornar-se “oculto” as defesas do organismo hospedeiro podendo assim, ocupar regiões e órgãos antes imunes. Ressalta-se ainda que mais estudos são necessários para esclarecer de forma mais abrangente estes mecanismos que deram ao vírus estas características e além disso, servir no desenvolvimento de meios de tratamento e no controle da propagação viral.

## REFERÊNCIAS

- ANAZETTI, Maristela C., MELO, Patrícia S. Morte Celular por Apoptose: Uma revisão bioquímica e molecular. *Metrocamp Pesquisa*, v.1, n.1, p.37-58, 2007.
- BEASLEY, D.W.C et al. Envelope protein glycosylation status influences mouse neuroinvasion phenotype of genetic lineage 1 West Nile virus strains. *Journal of virology*, v. 79, n. 13, p. 8339-8347. 2005.
- BOLLATI, M et al. Structure and functionally in flavivirus NS-proteins: Perspectives for drug design. *Antiviral Research*, vol.87, p.125-148. 2010.
- BORCHARDT, R. A et al. Zika vírus: A rapidly emerging infectious disease. *Journal of the American Academy of Physician Assistants*, vol.29, n.4, p.48-50. 2016.
- CALVET, G et al. Detection and sequencing of Zika vírus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *The Lancet*, vol. 16, p.1-8. 2016.
- DUTRA, H.L.C et al. *Wolbachia* Blocks Currently Circulating Zika Virus Isolates in Brazilian *Aedes aegypti* Mosquitoes. *Cell Host & Microbe*, v.19, p.1-4. 2016.
- FARIA, N.R et al. Zika vírus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings. *Science*, vol.352, n.6283. 2016.
- FAYE, O et al. Molecular Evolution of Zika vírus during Its Emergence in the 20<sup>th</sup> Century. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, vol.8, n.1, p.1-10. 2014.
- FREIRE, C.C.M et al. Spread of the pandemic Zika virus lineage is associated with NS1 codon usage adaptation in humans. *bioRxiv*, 2015.
- FREIRE, C.C.M. 2014. *Caracterização de processos evolutivos de vírus de RNA a partir de padrões deixados nas filogenias virais*. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/95/95131/tde-21012015-165014/pt-br.php>>. Acesso em: 21 mar. 2016.
- GIOVANETTI, M et al. Zika vírus spreading in South America: Evolutionary analysis of emerging neutralizing resistant Phe279Ser strains. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, p.1-8. 2016.
- GOURINAT, A.C et al. Detection of Zika vírus in urine. *Emerging Infectious Diseases*, vol.21, n.1, p.84-86. 2015.
- KINDHAUSER, M.K et al. Zika: the origin and spread of a mosquito-borne vírus. *Bulletin of the World Health Organization*, published online, p.1-8. 2016.
- LAZEAR, H.M et al. A Mouse Model of Zika Virus Pathogenesis. *Cell Host & Microbe*, pag.1-11. 2016.

- LEE, E et al. Changes in the dengue virus major envelope protein on passaging and their localization on the three-dimensional structure of the protein. *Virology*, v. 232, n. 2, p. 281-290. 1997.
- LOGAN, I. Zika- How Fast Does This Virus Mutate? *Zoological Research*, p.1-13. 2016.
- MONDOTTE, J. A et al. Essential role of dengue virus envelope protein N glycosylation at asparagine-67 during viral propagation. *Journal of virology*, vol.81, n.13, p.7136-7148. 2007.
- MULLER, David A.; YOUNG, Paul R. The flavivirus NS1 protein: molecular and structural biology, immunology, role in pathogenesis and application as a diagnostic biomarker. *Antiviral research*, v. 98, n. 2, p. 192-208, 2013.
- MUSSO, D et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Eurosurveillance*, vol.19, n.14, p.14-16. 2014.
- MUSSO, D et al. Potential Sexual Transmission of Zika virus. *Emerging Infectious Diseases*, vol.21, n.2, p.359-361. 2015.
- MUSSO, D et al. Detection of Zika virus in saliva. *Journal of Clinical Virology*, vol.68, p.53-55. 2015.
- PAUL, L.M et al. Dengue Virus Antibodies Enhance Zika Virus Infection. *bioRxiv*, p.1-37. 2016.
- SIROHI, D et al. The 3.8 Å resolution cryo-EM structure of Zika virus. *Science*. 2016.
- SONG, Hao et al. Zika virus NS1 structure reveals diversity of electrostatic surfaces among flaviviruses. *Nature structural & molecular biology*, 2016.
- TANG, H et al. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. *Cell Stem Cell*, n.18, p.1-4. 2016.
- Zika virus, Microcephaly and Guillain-Barré Syndrome. *World Health Organization (WHO)*, p.1-13. 2016.
- ZHU, Z et al. Comparative genomic analysis of pre-epidemic and epidemic Zika virus strains for virological factors potentially associated with the rapidly expanding epidemic. *Emerging Microbes and Infections*, n.5, ed.22. 2016.