



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

JULIANA BARBOSA DE OLIVEIRA PENHA

**BIOSENSORIAMENTO ELETROQUÍMICO BASEADO EM
FILME NANOESTRUTURADO DE POLIPIRROL E LECTINA
ULEX EUROPAEUS PARA DETECÇÃO DE ARBOVIROSES**

Recife
2025

JULIANA BARBOSA DE OLIVEIRA PENHA

**BIOSSENSORIZAMENTO ELETROQUÍMICO BASEADO EM
FILME NANOESTRUTURADO DE POLIPIRROL E LECTINA
ULEX EUROPAEUS PARA DETECÇÃO DE ARBOVIROSES**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito à
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientadora: Prof^a. Dra. Maria Danielly Lima de Oliveira

Coorientadora: Dra. Raiza Pereira Santos de Lucena

Recife
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Penha, Juliana Barbosa de Oliveira.

Biossensoriamento eletroquímico baseado em filme nanoestruturado de polipirrol e lectina *Ulex europaeus* para detecção de arboviroses / Juliana Barbosa de Oliveira Penha. - Recife, 2025.

71p : il., tab.

Orientador(a): Maria Danielly Lima de Oliveira

Coorientador(a): Raiza Pereira Santos de Lucena

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.

Inclui referências.

1. Arbovírus. 2. Nanopartículas de ouro. 3. Nanoestruturas. 4. Eletroquímica.
I. Oliveira, Maria Danielly Lima de. (Orientação). II. Lucena, Raiza Pereira Santos de. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

JULIANA BARBOSA DE OLIVEIRA PENHA

**BIOSENSORIAMENTO ELETROQUÍMICO BASEADO EM
FILME NANOESTRUTURADO DE POLIPIRROL E LECTINA
ULEX EUROPAEUS PARA DETECÇÃO DE ARBOVIROSES**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Biomedicina da Universidade
Federal de Pernambuco, como
pré-requisito à obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dra. Maria Danielly Lima de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco/Depto. de Bioquímica

Coorientadora: Dra. Raiza Pereira Santos de Lucena
Universidade Federal de Pernambuco/Depto. de Bioquímica

Ms. Brenda Marques de Cerqueira
Universidade Federal de Pernambuco/Depto. de Bioquímica

Ms. Maria San Miris Lopes de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco/Depto. de Bioquímica

Aos meus pais, Edison e Joelma, por serem os exemplos que guiam meus passos, pelo cuidado que me protege e pelo amor que me fortalece — a vocês, dedico todas as conquistas da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A conclusão deste trabalho e da minha jornada na graduação é um marco que reflete não apenas o meu esforço e dedicação, mas também o da minha família, que nunca mediu esforços para que eu pudesse trilhar o caminho dos estudos.

Ao meu pai, José Edison, por ser meu herói, amigo e meu exemplo de força de vontade — com o senhor, aprendi que há um grande valor no trabalho digno e honesto. À minha mãe, Joelma Barbosa, por sempre me proteger através da sua fé e orações, e por todos os conselhos e sabedoria que me transmite. Agradeço ao meu irmão e amigo para toda a vida, Edson Oliveira, pelo incentivo. Vocês são meu porto seguro, minha fonte de força e perseverança.

Aos meus orientadores, Prof.^a Maria Danielly Lima de Oliveira e Prof. César Augusto Souza de Andrade, pela oportunidade da Iniciação Científica, que tem me permitido descobrir novos horizontes através da ciência e da pesquisa. Agradeço, ainda, pela confiança em mim depositada, pela compreensão e pelos ensinamentos.

À minha coorientadora, Dra. Raiza Pereira Santos de Lucena, agradeço pelos ensinamentos, pelas horas dedicadas aos meus experimentos e pelo acompanhamento constante, mas sempre incentivando minha autonomia. Por acreditar no meu potencial e vibrar por cada avanço e conquista, minha sincera gratidão.

Aos pesquisadores e colegas do Laboratório de Biodispositivos Nanoestruturados, sou grata pelo acolhimento e apoio durante minha Iniciação Científica e pelos conhecimentos compartilhados.

À minha prima, Zenilda Reis, agradeço por sempre me oferecer palavras de incentivo, por suas orações e por nos proporcionar o grande privilégio de ter Miguel em nossas vidas, trazendo luz e alegrias.

Aos meus amigos, Sandy Albuquerque e Giovani Braz, que foram essenciais para que eu chegasse até este momento. Agradeço por serem uma fonte inesgotável de acolhimento, por sempre me enxergarem com carinho, me ouvirem atentamente e por me compreenderem.

Aos meus amigos de graduação, especialmente Anthony Gomes, Maria Nívea, Luís Felipe, Julianna Gomes, Débora Raquel, Sofia Nery, Samara Mly e Beatriz Oliveira, agradeço toda a parceria construída ao longo desses 4 anos. Foi uma grande aventura compartilhar com vocês os desafios da graduação, e vocês fizeram com que essa jornada, tão pesada, tivesse muitos momentos leves. Gratidão a todos!

Ao CNPq pelo apoio financeiro que possibilitou a realização desta pesquisa.

A todos os meus professores que, desde a escola até ao final da minha graduação, contribuíram para a minha formação profissional e, principalmente, pessoal, agradeço de todo o coração!

*“Never be so kind, you forget to be clever;
Never be so clever, you forget to be kind...
Never be so polite, you forget your power;
Never wield such power, you forget to be polite”.*

Taylor Swift

PENHA, Juliana Barbosa de Oliveira. Biossensoriamento eletroquímico baseado em filme nanoestruturado de polipirrol e lectina *Ulex europaeus* para detecção de arboviroses. 2025. 71 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

RESUMO

As arboviroses são infecções causadas por patógenos virais transmitidos por artrópodes infectados, como os mosquitos hematófagos. No Brasil, dentre os arbovírus de maior relevância clínica destacam-se o vírus da dengue (DENV 1-4), o vírus Zika (ZIKV), o vírus chikungunya (CHIKV) e o vírus da febre amarela (YFV). Devido à ampla similaridade entre os sintomas, há necessidade de implementação de métodos diferenciais de diagnóstico, mais precisos e de menor custo, capazes de superar os desafios das técnicas convencionais, como ELISA e PCR. A utilização de biossensores eletroquímicos baseados em lectinas promovem a imobilização viral ao reconhecer glicanos presentes na estrutura viral, fornecendo resultados sensíveis, em tempo reduzido e com um baixo custo envolvido. O biodispositivo desenvolvido neste estudo para a detecção de arboviroses empregou uma nanoestruturação baseada em polipirrol (PPy), nanopartículas de ouro (AuNPs) e a lectina *Ulex europaeus* (UEA-I), que atuou como biorreceptor para a imobilização viral. As etapas de construção do biossensor foram caracterizadas pelas técnicas de voltametria cíclica (VC) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). Os gráficos voltamétricos revelaram uma redução nas correntes de picos anódicos e catódicos após a biointeração do biossensor com os carboidratos de superfície de ZIKV, CHIKV, YFV e todos os sorotipos de DENV, com maior estratificação dos picos observada no sorotipo DENV-1. As leituras impedimétricas revelaram uma maior resistência à transferência de carga (R_{CT}) para o sorotipo DENV-1, refletindo maior reconhecimento pela lectina UEA-I. Com base nos dados quantitativos fornecidos pela EIE, o padrão de resposta obtido em termos de bioafinidade foi: DENV-1 > CHIKV > DENV-2 > YFV > ZIKV > DENV-4 > DENV-3. Ensaios de seletividade com fetuína, ovoalbumina e N-acetilglicosamina (GlcNAc) revelaram acentuado reconhecimento da ovoalbumina, evidenciado pelo aumento do R_{CT} . O biossensor baseado em lectina desenvolvido neste estudo emprega inovação tecnológica para a

detecção de arbovírus, com elevado potencial para aplicação como método rápido e seguro no diagnóstico das arboviroses.

Palavras-chave: Arbovírus. Nanopartículas de ouro. Nanoestruturas. Eletroquímica.

PENHA, Juliana Barbosa de Oliveira. Electrochemical biosensing based on nanostructured polypyrrole film and *Ulex europaeus* lectin for the detection of arboviral diseases. 2025. 71 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

ABSTRACT

Arboviral diseases are infections caused by viral pathogens transmitted by infected arthropods, such as hematophagous mosquitoes. In Brazil, the most clinically relevant arboviruses include dengue virus (DENV 1-4), Zika virus (ZIKV), chikungunya virus (CHIKV), and yellow fever virus (YFV). Due to the broad similarity between their symptoms, there is a need for more accurate and lower-cost differential diagnostic methods capable of overcoming the challenges of conventional techniques such as ELISA and PCR. The use of lectin-based electrochemical biosensors promotes viral immobilization by recognizing glycans present in the viral structure, providing sensitive results in a shorter time frame and at a lower cost. The biodevice developed in this study for the detection of arboviruses employed a nanostructure based on polypyrrole (PPy), gold nanoparticles (AuNPs), and the *Ulex europaeus* lectin (UEA-I), which acted as a bioreceptor for viral immobilization. The biosensor construction steps were characterized by cyclic voltammetry (CV) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). Voltammetric graphs revealed a reduction in anodic and cathodic peak currents after biointeraction of the biosensor with the surface carbohydrates of ZIKV, CHIKV, YFV, and all DENV serotypes, with greater peak stratification observed for DENV-1 serotype. Impedimetric readings revealed a higher resistance to charge transfer (RCT) for DENV-1 serotype, reflecting greater recognition by the UEA-I lectin. Based on the quantitative data provided by the EIE, the bioaffinity response pattern obtained was: DENV-1 > CHIKV > DENV-2 > YFV > ZIKV > DENV-4 > DENV-3. The selectivity assay with fetuin, ovalbumin, and N-acetylglucosamine (GlcNAc) revealed marked recognition of ovalbumin, evidenced by increased RCT. The lectin-based biosensor developed in this study employs technological innovation for the detection of arboviruses, with high potential for application as a rapid and safe method in the diagnosis of arboviruses.

Key words: Arbovirus. Gold nanoparticles. Nanostructures. Electrochemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Casos prováveis, sorotipos predominantes e óbitos por dengue, chikungunya e Zika, registrados entre 1986 e junho de 2024	23
Figura 2 – Casos humanos e taxa de letalidade de febre amarela silvestre no Brasil, de 1980 a junho de 2019, por períodos epidemiológicos (PE)	24
Figura 3 – Organização estrutural da família <i>Flaviviridae</i>	25
Figura 4 – Organização estrutural da família <i>Togaviridae</i>	28
Figura 5 – Representação esquemática da técnica sorológica por MAC-ELISA	30
Figura 6 – Representação esquemática da técnica molecular por RT-qPCR	31
Figura 7 – Configuração dos componentes funcionais de um biossensor	32
Figura 8 – Representação dos componentes de uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos: eletrodo de trabalho (ET), eletrodo de referência (ER) e contra-eletrodo (CE)	33
Figura 9 – Representação da extração da lectina <i>Ulex europaeus</i>	34
Figura 10 – Estrutura química do monômero pirrol e do polipirrol	36
Figura 11 – Versatilidade morfológica dos nanomateriais	37
Figura 12 – Voltamograma cíclico representativo das correntes de pico anódicas (I _{pa}) e catódicas (I _{pc}) nas regiões de potencial anódico (E _{pa}) e potencial catódico (E _{pc}), respectivamente	39
Figura 13 – Representação esquemática do diagrama de Nyquist (A) e circuito de Randles (B)	40
Figura 14 – Representação esquemática da construção da plataforma nanoestruturada PPy_AuNPs-Cys_UEA-I	45
Figura 15 – Caracterização dos grupamentos funcionais da plataforma eletrodepositada com PPy através da técnica de FTIR	47

Figura 16 – Caracterização da AuNPs através da técnica UV-Vis	48
Figura 17 – Voltamograma cíclico referente aos 6 ciclos de eletropolimerização do PPy	49
Figura 18 – Voltamograma cíclico referente à montagem da plataforma biossensora	50
Figura 19 – Diagrama de Nyquist referente à montagem da plataforma biossensora	51
Figura 20 – Voltamogramas cíclicos referentes ao biorreconhecimento de diferentes concentrações dos arbovírus DENV-1 (A), CHIKV (B), DENV-2 (C), YFV (D), ZIKV (E), DENV-4 (F) e DENV-3 (G) pelo sistema sensor PPy_AuNPs-Cys_UEA-I	53
Figura 21 – Diagramas de Nyquist referentes ao biorreconhecimento de diferentes concentrações dos arbovírus DENV-1 (A), CHIKV (B), DENV-2 (C), YFV (D), ZIKV (E), DENV-4 (F) e DENV-3 (G) pelo sistema sensor PPy_AuNPs-Cys_UEA-I	55
Figura 22 – Gráfico de barras obtido a partir da extração de dados ΔR_{CT} (%) entre as amostras de maior concentração	59
Figura 23 – Gráfico de barras dos valores de R_{CT} resultantes dos ensaios de seletividade e interferentes frente à lectina UEA-I	6

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros obtidos pelo ajuste dos dados impedimétricos do circuito equivalente de Randles após exposição aos analitos	59
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFM	Microscopia de Força Atômica (do inglês “ <i>Atomic Force Microscopy</i> ”)
AuNPs	Nanopartículas de Ouro
Cdl	Capacitância de dupla camada
CE	Contra-Eletrodo
CHIKV	Vírus Chikungunya
Cys	Cisteamina
DENV	Vírus da Dengue
EIE	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
Epa	Potencial de Pico Anódico
Epc	Potencial de Pico Catódico
ER	Eletrodo de Referência
ESPIN	Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional
ET	Eletrodo de Trabalho
Fig	Figura
HCl	Ácido Clorídrico
Ipa	Corrente de pico anódica
Ipc	Corrente de pico catódica
nm	Nanômetros
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PCs	Polímeros condutores
PFU	Unidade Formadora de Placa (do inglês “ <i>Plaque-Forming Unit</i> ”)
PPy	Polipirrol
PRNT	Teste de neutralização por redução de placa
R _{CT}	Resistência à transferência de cargas
RS	Resistência de solução eletrolítica
SCZ	Síndrome Congênita do Zika
VC	Voltametria Cíclica
YFV	Vírus da Febre Amarela
ZIKV	Vírus Zika
Zw	Impedância de Warburg

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
2.1	CONTEXTO HISTÓRICO DAS ARBOVIROSES NO BRASIL	20
2.2	EPIDEMIOLOGIA	22
2.3	CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ARBOVÍRUS	24
2.3.1	GÊNERO <i>ORTHOFLAVIVIRUS</i>	24
2.3.1.1	DENGUE	25
2.3.1.2	ZIKA	26
2.3.1.3	FEBRE AMARELA	27
2.3.2	GÊNERO <i>ALPHAVIRUS</i>	28
2.3.2.1	CHIKUNGUNYA	28
2.4	MÉTODOS LABORATORIAIS DE DIAGNÓSTICO DAS ARBOVIROSES	29
2.5	BIOSSENSORES ELETROQUÍMICOS	31
2.5.1	BIOSSENSORES BASEADOS EM LECTINAS	33
2.6	ULEX EUROPAEUS	34
2.7	POLÍMEROS CONDUTORES	35
2.7.1	POLIPIRROL	35
2.8	NANOMATERIAIS	36
2.8.1	NANOPARTÍCULAS DE OURO	37
2.9	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA	38
2.9.1	VOLTAMETRIA CÍCLICA	38
2.9.2	ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA	39
2.10	ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISÍVEL	41
2.11	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER.....	41
3.	OBJETIVOS	42
3.1	OBJETIVO GERAL	42
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
4.	METODOLOGIA	43
4.1	MATERIAIS	43
4.2	SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO	43

4.3	CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA	43
4.4	SÍNTESE DO FILME DE POLIPIRROL SOBRE A SUPERFÍCIE METÁLICA	44
4.5	CONSTRUÇÃO DA PLATAFORMA BIOSSENSORA	44
4.6	ENSAIOS DE BIORRECONHECIMENTO	45
4.7	MEDIÇÕES ÓPTICAS	46
4.7.1	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER	46
4.7.2	ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL	46
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1	ANÁLISES FTIR E UV-VIS	47
5.2	ELETROPOLIMERIZAÇÃO DO FILME DE POLIPIRROL	48
5.3	CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DA PLATAFORMA BIOSSENSORA	49
5.3.1	CARACTERIZAÇÃO VOLTAMÉTRICA	49
5.3.2	CARACTERIZAÇÃO IMPEDIMÉTRICA	50
5.4	ENSAIOS DE BIORRECONHECIMENTO DOS ARBOVÍRUS PELA PLATAFORMA BIOSSENSORA	52
5.4.1	ENSAIOS VOLTAMÉTRICOS	52
5.4.2	ENSAIOS IMPEDIMÉTRICOS	54
5.5	ENSAIOS DE SELETIVIDADE E INTERFERENTES	59
6.	CONCLUSÃO	61
7.	REFERÊNCIAS	63

1. INTRODUÇÃO

As arboviroses são infecções virais pertencentes ao grupo das Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs), prevalentes em áreas tropicais e subtropicais, que afetam principalmente populações de baixa renda, desassistidas, e causam grande impacto na saúde pública, social e econômica (Hotez et al., 2020). Esses vírus são transmitidos por vetores artrópodes infectados, que atualmente possuem uma circulação geográfica heterogênea devido aos fatores ambientais, ações antrópicas e mudanças climáticas, além de estarem associadas ao contexto sanitário e socioeconômico (Chen et al., 2023).

Os arbovírus (do inglês *arthropod-borne virus*) representam o grupamento de vírus de RNA de fita simples e envelopados, transmitidos por artrópodes, em sua maioria mosquitos hematófagos. Apresentam grande plasticidade genética e alta frequência de mutações, que favorece adaptações à hospedeiros vertebrados e invertebrados. Desse grande grupo de vírus, os de maior impacto para a saúde humana são pertencentes aos gêneros *Orthoflavivirus* – como os quatro sorotipos do vírus da dengue (DENV 1-4), Zika (ZIKV) e febre amarela (YFV) – e *Alphavirus*, representado pelo vírus chikungunya (CHIKV). Esses vírus são transmitidos por insetos culicídeos, principalmente dos gêneros *Aedes*, *Culex* e *Haemagogus*, e as espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Donalisio; Freitas; Zuben, 2017; Fernandes et al., 2017).

A emergência de epidemias simultâneas dos diversos arbovírus no Brasil é atribuída principalmente à localização geográfica próxima a regiões tropicais e subtropicais, favorável à multiplicação de vetores, a exemplo do *Aedes aegypti* (Robert; Stewart-Ibarra; Estallo, 2020). Paralelamente, fatores como mudanças climáticas, aumento da densidade populacional, urbanização, migração, ações antrópicas e alterações ecossistêmicas estão entre os fatores contribuintes que influenciam a disseminação geográfica dos mosquitos vetores. Nesse sentido, as arboviroses são motivo de preocupação atual devido ao espectro de doenças clinicamente importantes e ao impacto na saúde pública (Mayer; Tesh; Vasilakis, 2017).

Devido à amplitude das manifestações e similaridade do espectro sintomatológico das arboviroses, o diagnóstico clínico está diretamente relacionado aos sinais e sintomas apresentados pelo paciente. Portanto, para o diagnóstico diferencial das arboviroses são empregados métodos convencionais sorológicos e técnicas moleculares (Sena et al., 2024). O diagnóstico molecular com maior precisão é baseado na detecção e quantificação do RNA viral por RT-qPCR (Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa Quantitativa), que oferece como principais vantagens alta sensibilidade, especificidade, redução da ocorrência de reações cruzadas e identificação patógenos virais durante a fase aguda das doenças (Dias et al., 2023). Durante a fase de convalescença, período em que é possível identificar os anticorpos específicos direcionados contra antígenos dos arbovírus, os testes imunológicos são mais indicados, como o ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA), um dos testes mais utilizados por ser capaz de identificar anticorpos IgM e IgG (Musso; Desprès, 2020).

As metodologias moleculares convencionais para detecção direta dos arbovírus apresentam como desafios o tempo prolongado de realização e obtenção de resultados, alto custo para implementação, exigência de laboratórios clínicos com instrumentação complexa e operadores qualificados, o que restringe seu uso em unidades de saúde. Os ensaios sorológicos, por sua vez, apresentam alta reatividade cruzada entre os flavivírus, devido às semelhanças nas regiões antigênicas, que podem ser reconhecidas pelos mesmos anticorpos, dificultando o diagnóstico diferencial (Varghese; Silva; Millar, 2023). Nesse contexto, é evidenciada a necessidade de desenvolvimento de novas tecnologias para o diagnóstico rápido, preciso, e econômico das arboviroses.

Os biossensores eletroquímicos são expressivamente desenvolvidos no campo da inovação tecnológica devido às suas atribuições em fornecer respostas rápidas, precisas, diferenciais e sensíveis, a um baixo custo (Mollarasouli; Kurbanoglu; Ozkan, 2019). Esses dispositivos analíticos para a detecção, qualitativa e quantitativa, de analitos químicos e/ou biológicos, são baseados na transdução e amplificação de um sinal elétrico mensurável em resposta à ocorrência de uma reação bioquímica que ocorre na interface de um eletrodo (Sharma et al., 2021).

Lectinas têm sido frequentemente empregadas no campo dos biossensores como moléculas de biorreconhecimento devido às suas propriedades específicas de interação com resíduos de carboidratos livres ou conjugados presentes em analitos biológicos, como as glicoproteínas virais (Simão et al., 2020). Exemplos incluem a lectina vegetal *Ulex europaeus* (UEA-I), extraída de uma espécie de planta com flor pertencente à família *Fabaceae*, com afinidade predominante pela Fucose e capacidade de ligar-se especificamente ao complexo glicano Fucose α -1-2 ligada a Galactose e α -1,4 ligada a N-acetilglicosamina (GlcNAc) (Bojar et al., 2022; Guo et al., 2019). Neste sentido, os biossensores baseados em lectinas visam principalmente explorar as interações eletroquímicas entre os biodispositivos nanoestruturados, modificados com lectinas, para o reconhecimento de glicoproteínas virais, e assim possibilitar a detecção diferencial das arboviroses.

Nos biossensores nanoestruturados têm sido amplamente empregados o uso de polímeros condutores e nanomateriais, visando melhorar a condutividade elétrica, biocompatibilidade, estabilidade e sensibilidade entre os componentes da plataforma e o analito (Avelino et al., 2021). O polipirrol é um polímero condutor utilizado em diversas metodologias devido à sua alta condutividade, alta taxa de transferência de elétrons, capacidade de armazenamento de carga, compatibilidade biológica e facilidade de síntese, fatores atrativos que proporcionam a ancoragem de biomoléculas em bio dispositivos eletroquímicos (Oliveira et al., 2023). Dentre os nanomateriais empregados, as nanopartículas de ouro (AuNPs) apresentam biocompatibilidade com o sistema e a capacidade de serem funcionalizadas, favorecendo o aumento da área de superfície eletroativa do biossensor e aprimorando a amplificação do sinal (Karnwal et al., 2024).

Diante desse contexto, este trabalho objetiva desenvolver uma plataforma biossensora eletroquímica baseada em polipirrol e nanopartículas de ouro para a detecção dos vírus DENV, CHIKV, ZIKV, e YFV, utilizando como biomolécula de reconhecimento a lectina UEA-I. Na avaliação do biodispositivo foram empregadas as técnicas de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica, visando o desenvolvimento de novas metodologias para uma detecção distinta e ágil das amostras contendo os arbovírus isolados em diversas concentrações.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CONTEXTO HISTÓRICO DAS ARBOVIROSES NO BRASIL

O Brasil é um país de grande extensão territorial, detentor de florestas e matas tropicais, clima favorável, e assim fornece condições ideais para a ocorrência de diversas arboviroses. Seu principal vetor, o *Aedes aegypti*, é originário da África e tem sua disseminação pelas Américas atribuída aos navios que transportavam pessoas escravizadas do continente africano para os países colonizados (Brown et al., 2013). Com o advento de pesquisas em torno do isolamento do DENV, a doença passou a ser diagnosticada na década de 1940 (Messina et al., 2015)

Devido à iniciativa de erradicação do mosquito, em 1947, coordenada pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), doenças transmitidas pelo *Aedes*, como febre amarela e dengue, foram erradicadas do Brasil até 1962. Na década de 80, uma reinfeção pelos sorotipos DENV-1 e DENV-4 causou uma epidemia expressiva em Boa Vista, capital de Roraima, confirmada por meio de evidências clínicas e laboratoriais (Fares; Souza; Añez; Rios, 2015; Nunes et al., 2019). Desde então, a dengue vem ocorrendo no Brasil de forma contínua, devido aos seus fatores endêmicos, intercalando-se com a incidência de epidemias a cada 3 a 5 anos, associadas aos sorotipos predominantes (Salles et al., 2018).

O CHIKV, nomeado em referência aos sintomas debilitantes da artralgia, que significa "aquele que se dobra", foi relatado pela primeira vez em 1952 na Tanzânia. O vírus permaneceu restrito ao continente africano até 2005, quando surtos significativos foram documentados na Ásia. Nas Américas, foi introduzido em 2013 e, em seguida, os primeiros casos autóctones foram relatados no Brasil em 2014, nos estados do Amapá e da Bahia. Até 2015, a doença se espalhou por todo o país, principalmente na região Nordeste, que se tornou o epicentro devido às condições climáticas favoráveis e vulnerabilidade social (Almeida et al., 2023; Brito et al., 2025).

O ZIKV foi inicialmente identificado na floresta Zika, em Uganda, no ano de 1947, e isolado a partir da amostra de sangue de um macaco rhesus (*Macaca*

mulatta) e de mosquitos da espécie *Aedes africanus* (subgênero *Stegomyia*) (Cao-Lormeau et al. 2014). No Brasil, a descoberta da doença foi feita entre 2014 e março de 2015, quando profissionais das vigilâncias epidemiológicas de estados do Nordeste comunicaram um surto de doença com sintomatologia *dengue-like* (Zanluca et al., 2015; Luz; Santos; Vieira, 2015). Devido ao fator endêmico e à presença da artralgia dentre os sintomas, suspeitou-se de infecções causadas pelo DENV e CHIKV, respectivamente, no entanto, testes moleculares e sorológicos descartaram essa suspeita (Albuquerque et al., 2018).

Nos primeiros meses da epidemia, profissionais da saúde relataram o aumento do número de casos de neonatos com microcefalia por uma causa desconhecida e, por vezes, acompanhados de outras malformações congênitas. Os primeiros diagnósticos de transmissão intrauterina do vírus, assim como evidências laboratoriais e por ultrassonografia, confirmaram a associação entre o ZIKV e a ocorrência de malformações congênitas. O vírus foi identificado no líquido amniótico de gestantes com fetos que apresentavam microcefalia detectada ainda durante o acompanhamento pré-natal, bem como em amostras de tecido cerebral e placentário de recém-nascidos e fetos natimortos (Melo et al., 2016).

Nesse sentido, em fevereiro de 2016, a OMS declarou que a incidência de casos de microcefalia e outros distúrbios neurológicos relatados no Brasil constituía uma Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN), sob o marco do Regulamento Sanitário Internacional (RSI) (Heukelbach et al., 2016). Em maio de 2017, com a diminuição do número de casos de microcefalia no Brasil, o Ministério da Saúde anunciou o fim da situação de ESPIN causada pelo vírus Zika. O conjunto de ações voltadas para a eliminação do mosquito *Aedes aegypti* implantadas pelo Governo Federal, contribuiu, juntamente com a mobilização da população, para a diminuição dos casos (Garcia, 2018).

No Brasil, a primeira descrição de uma epidemia causada pelo YFV, no século XVII, foi feita em Pernambuco, estado que recebia navios de países endêmicos para a doença, como as ilhas de Cabo Verde e as Antilhas. A partir de então, a febre amarela se tornou a doença epidêmica mais importante do país (Chippaux; Chippaux, 2018). A última epidemia urbana de YFV registrada no século XX ocorreu em 1929 no estado do Rio de Janeiro, e o último caso urbano foi documentado em

1942, no estado do Acre. As campanhas de vacinação em massa, impulsionadas pelo sanitarista Oswaldo Cruz, começaram após a descoberta da vacina formulada com a cepa 17D no final da década de 1930. Nesse contexto, a vacinação tornou-se obrigatória para toda a população, levando à erradicação do ciclo urbano da doença. No entanto, a persistência da ocorrência de surtos observados nos últimos anos é atribuída principalmente à baixa cobertura vacinal, presença de vetores silvestres em habitats periurbanos e à ausência da exigência da vacinação para viajantes (Possas et al., 2018; Silva et al., 2020).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

Conforme estabelecido pelo Ministério da Saúde do Brasil na Portaria de Consolidação nº 204, de 17 de fevereiro de 2016, as arboviroses dengue, chikungunya, Zika e febre amarela são doenças de Notificação Compulsória no Brasil. Assim, diante da ocorrência dessas doenças, agentes de saúde devem registrar o caso no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). Este procedimento busca contribuir para a vigilância epidemiológica e ao processo de investigação da incidência das doenças (Ministério da Saúde, 2016; Einloft et al., 2021).

O Ministério da Saúde publicou no Boletim Epidemiológico Volume 55 (2024), o monitoramento dos casos prováveis, sorotipos predominantes e óbitos por dengue, Zika e chikungunya no país entre 1986 e junho de 2024, conforme demonstrado na Figura 1. Os casos prováveis correspondem a todos os casos notificados ao SINAN, desconsiderados os casos descartados. As epidemias de dengue, acima de 1 milhão de casos, foram registradas com maior frequência a partir de 2010. Essas situações hiperendêmicas são atribuídas à presença simultânea dos quatro sorotipos do vírus e, paralelamente, observa-se que nos últimos três anos consecutivos (2022, 2023 e 2024), foi estabelecida predominância do sorotipo DENV-1 (Ministério da Saúde, 2024).

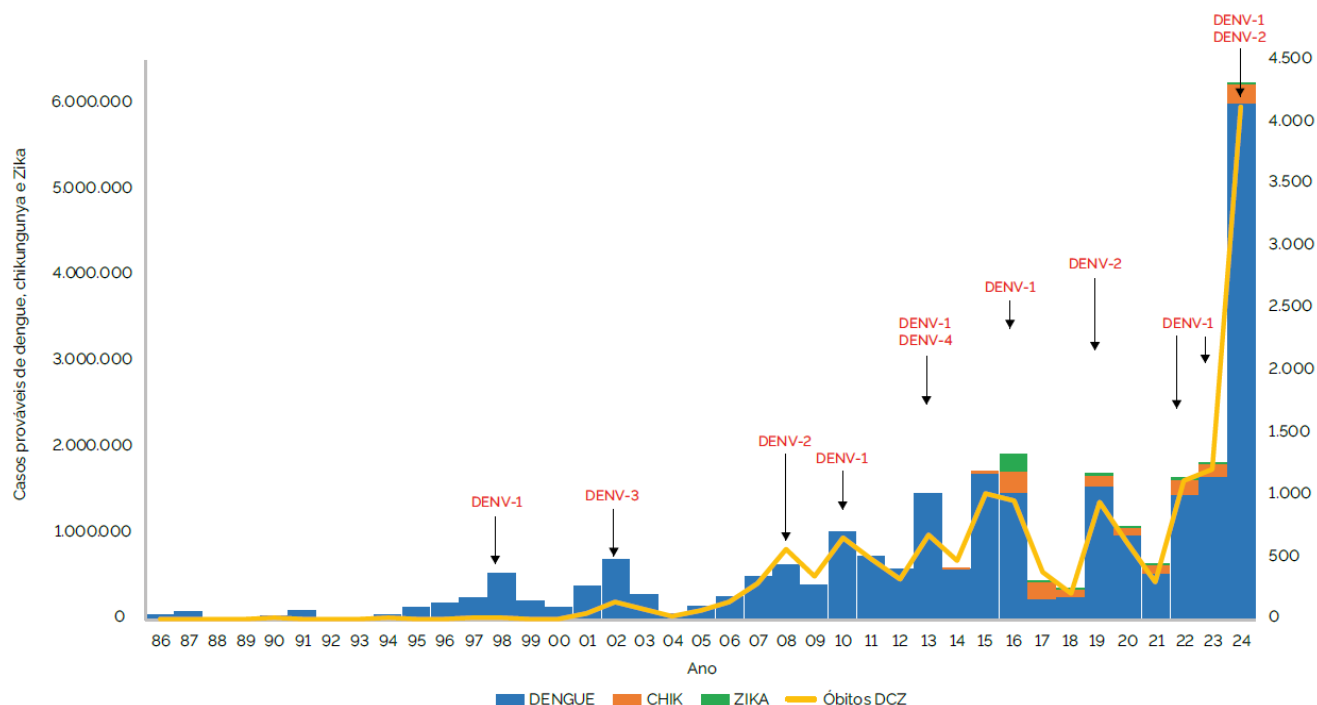


Figura 1. Casos prováveis, sorotipos predominantes e óbitos por dengue, chikungunya e Zika, registrados entre 1986 e junho de 2024. Fonte: Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Ministério da Saúde (2024).

Conforme o Painel de Monitoramento das Arboviroses, o ano de 2024 apresentou um aumento exponencial no número de casos prováveis de dengue (6,5 milhões de casos) em comparação ao ano de 2023 (1,6 milhões de casos), ao passo em que os casos prováveis de infecção pelo CHIKV em 2023 (158 mil casos) sofreram um aumento em relação à 2024 (263,5 mil casos). Casos relatados de ZIKV, no entanto, sofreram uma discreta diminuição, no mesmo período entre 2023 (6,6 mil casos) e 2024 (5,1 mil casos) (Ministério da Saúde, 2025).

Em 2023, foi documentada a reincidência da circulação do sorotipo DENV-3, um dos mais virulentos e associado a manifestações clínicas graves, que havia deixado de ser prevalente em 2008. Estima-se que a ausência prolongada de DENV-3 pode ter tornado a população altamente suscetível à infecção por esse sorotipo, evidenciando a importância da detecção precoce e a necessidade de monitoramento contínuo da disseminação do DENV-3 (Naveca et al., 2023).

Os anos de 2016 a 2019 foram marcados pelo retorno do ciclo epidêmico silvestre da febre amarela, com São Paulo e Minas Gerais dentre os estados mais afetados. O Ministério da Saúde registrou pelo menos 2.251 casos humanos e 772 mortes de dezembro de 2016 a junho de 2019. Esses casos representam o aumento de 2,82 vezes o total de casos humanos de febre amarela e 1,57 vezes a soma de mortes humanas, em comparação aos 36 anos anteriores (de 1980 a 2015) (Figura 2). Todos os casos confirmados da doença foram adquiridos por transmissão envolvendo o ciclo silvestre, pois não há evidência do *A. aegypti* infectado com o vírus da febre amarela nas buscas por mosquitos realizadas pela vigilância entomológica (Silva et al., 2020).

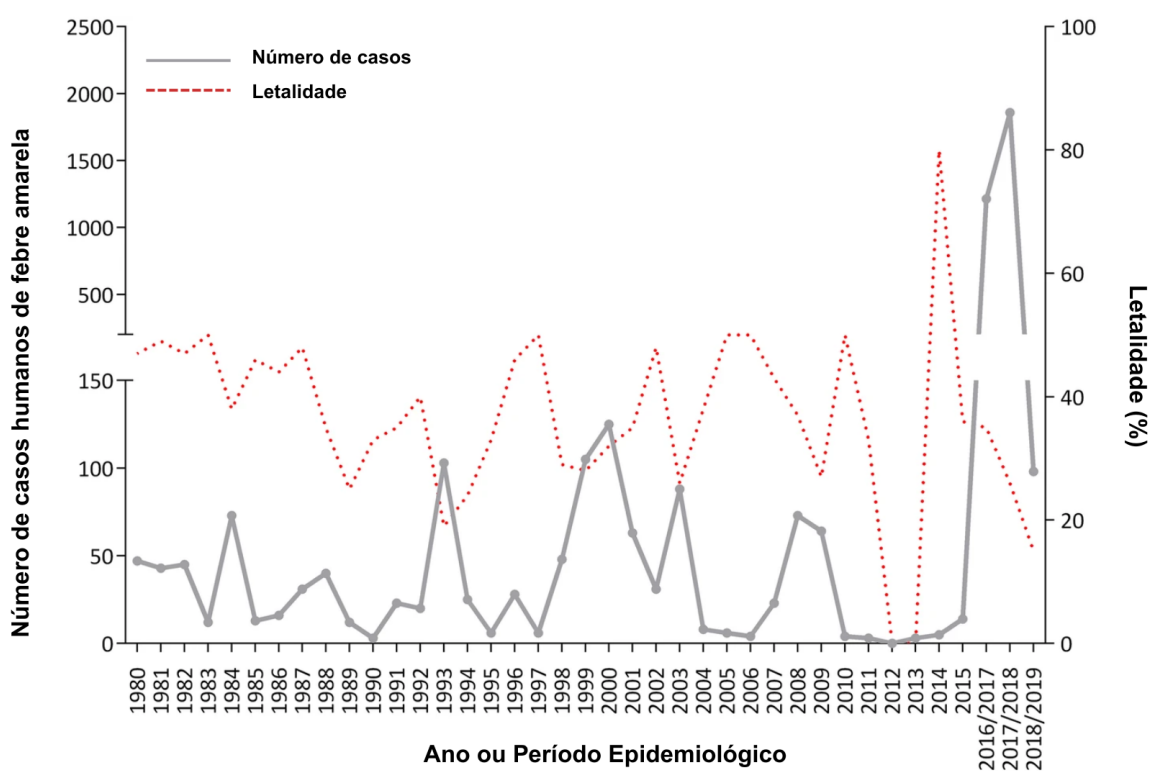


Figura 2. Casos humanos e taxa de letalidade de febre amarela silvestre no Brasil, de 1980 a junho de 2019, por períodos epidemiológicos (PE). Fonte: Adaptada de Silva et al., 2020.

2.3 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ARBOVÍRUS

2.3.1 GÊNERO ORTHOFLAVIVIRUS

Víriões do gênero *Orthoflavivirus* e família *Flaviviridae* são constituídos por uma única cadeia de RNA de fita simples, com polaridade positiva, com diâmetro de 40 – 60 nm, nucleocapsídeo icosaédrico e possuem envelope lipídico onde estão inseridas proteínas de membrana e glicoproteínas (Figura 3). O genoma viral codifica três proteínas estruturais, sendo elas a proteína do capsídeo viral (C), glicoproteína do envelope viral (E) e proteína de membrana (M), e pelo menos sete proteínas não estruturais NS (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5). As proteínas estruturais compõem a arquitetura básica da partícula viral, enquanto as proteínas não estruturais regulam a replicação, virulência e patogenicidade viral (Simmonds et al., 2017).

Dentre as espécies pertencentes ao gênero *Orthoflavivirus*, destacam-se dentro dessa família os patógenos de interesse clínico e importância epidemiológica, transmitidos por artrópodes, como DENV, ZIKV e YFV (Donaldson; Zanders; Jose, 2025).

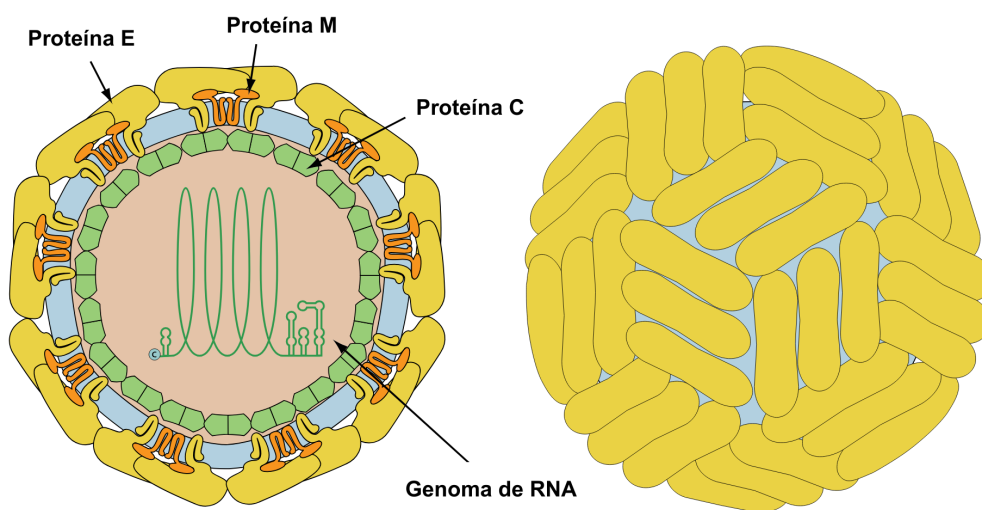


Figura 3. Organização estrutural da família *Flaviviridae*. Fonte: Adaptada de ViralZone – Swiss Institute of Bioinformatics, 2025.

2.3.1.1 DENGUE

A dengue é uma infecção viral, não contagiosa, que pode ser causada pelos sorotipos DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. No Brasil, mosquitos fêmeas da

espécie *Aedes aegypti* realizam a transmissão dos quatro sorotipos por meio do ciclo humano-mosquito-humano de transmissão. Os mosquitos são infectados mediante a picada em um hospedeiro infectado pelo DENV, que passa a se replicar no intestino médio do mosquito por 3 a 5 dias e posteriormente migra para a glândula salivar. O vírus maduro, então, é capaz de infectar humanos suscetíveis por meio da picada do mosquito infectado (Islam et al., 2021).

No hospedeiro humano, a infecção pode apresentar-se de forma assintomática devido a mecanismos de controle da replicação viral por meio do sistema imunológico. Indivíduos sintomáticos, no entanto, podem manifestar uma ampla variedade de sintomas. A primeira manifestação ocorre durante o período de incubação do vírus, denominada febre clássica da dengue, que geralmente é acompanhada por cefaleia, dor retroorbitária, dores no corpo e articulações, fraqueza e erupções cutâneas. Após essa fase, a maioria dos pacientes se recuperam com o auxílio de tratamento para manejo dos sintomas (Martins; Alencar, 2022).

No entanto, a doença pode progredir para a febre hemorrágica da dengue (FHD) ou a síndrome do choque da dengue (SCD). A FHD caracteriza-se pelo início súbito de febre alta e aumento da permeabilidade vascular, com repercussões hemorrágicas como petéquias, púrpuras e equimoses. A SCD é a forma clínica mais grave da dengue e inclui distúrbios da coagulação, extravasamento de plasma e, de forma fatal, pode ocasionar o choque hipovolêmico e à falência de múltiplos órgãos (Bhatt et al., 2020).

2.3.1.2 ZIKA

O ZIKV é um vírus de RNA de fita simples, com polaridade positiva e capsídeo icosaédrico envelopado cujo genoma, assim como o do DENV, codifica uma poliproteína que se divide em três proteínas estruturais (C, M e E) e sete proteínas não estruturais (NS), responsáveis pela replicação e montagem viral. Além da transmissão vetorial, o ZIKV pode ser transmitido por contato sexual ou via vertical, de gestantes infectadas para o embrião (Bhat et al., 2023).

Geralmente, a infecção pelo vírus Zika é acompanhada pela ausência de sintomas. No entanto, a manifestação sintomatológica é caracterizada pela síndrome *dengue-like*, que se assemelha à infecção pelo DENV. A infecção é associada, também, à síndrome de Guillain-Barré, um distúrbio neurológico raro causador de fraqueza muscular e paralisia, e à Síndrome Congênita do Zika (SCZ), que corresponde a alterações congênitas graves em fetos expostos ao ZIKV durante os primeiros meses de gestação, estando associada a comorbidades como microcefalia, paralisia cerebral, deficiência intelectual e epilepsia (Wheeler, 2018).

2.3.1.3 FEBRE AMARELA

Estruturalmente, o YFV se assemelha aos demais vírus do gênero *Orthoflavivirus*, possuindo um nucleocapsídeo icosaédrico envolvido pelo envelope, que é originário do hospedeiro. O genoma é constituído por RNA de fita simples e polaridade positiva, capaz de codificar a síntese das proteínas estruturais (C, M e E) e sete não estruturais (NS) (Gianhecchi *et al.*, 2022).

O vírus da febre amarela diferencia-se do DENV e ZIKV por possuir dois ciclos de transmissão registrados na América do Sul, o ciclo silvestre e o ciclo urbano. A transmissão silvestre ocorre essencialmente em florestas tropicais, onde os hospedeiros amplificadores são os Primatas Não Humanos (PNH), e os vetores são principalmente mosquitos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*, que infectam humanos por meio de picadas. O ciclo urbano envolve um hospedeiro humano infectado, que contraiu o vírus em região silvestre, e que então é picado por um mosquito da espécie *Aedes aegypti*, que passa a ser infectado e transmite o vírus a outros humanos em áreas urbanas (Silva *et al.*, 2020).

Após a inoculação do YFV na circulação, o vírus se espalha rapidamente para múltiplos órgãos do corpo, causando uma patogênese semelhante à de outras arboviroses. Os principais sintomas incluem febre moderada, náusea, mialgia, artralgia, cefaleia prolongada e fraqueza. Pacientes podem apresentar sintomas clássicos da doença relacionados ao acometimento do fígado, rins e baço, como oligúria ou anúria, icterícia, albuminúria e acidose metabólica. Cerca de 3 a 4 dias

após o início dos sintomas, o paciente pode evoluir para recuperação ou para o período de remissão (Xavier et al., 2018).

2.3.2 GÊNERO *ALPHAVIRUS*

O gênero *Alphavirus*, da família *Togaviridae*, é formado por vírus de RNA de fita simples e sentido positivo, envelopados, possuem um diâmetro de 70 nm, nucleocapsídeo icosaédrico e uma camada de glicoproteínas de superfície, como demonstrado na Fig. 4. O CHIKV é o principal patógeno do gênero *Alphavirus*, visto que a maioria dos demais vírus do mesmo gênero não conseguem desenvolver a viremia necessária em humanos para infectar mosquitos (Chen et al., 2018).

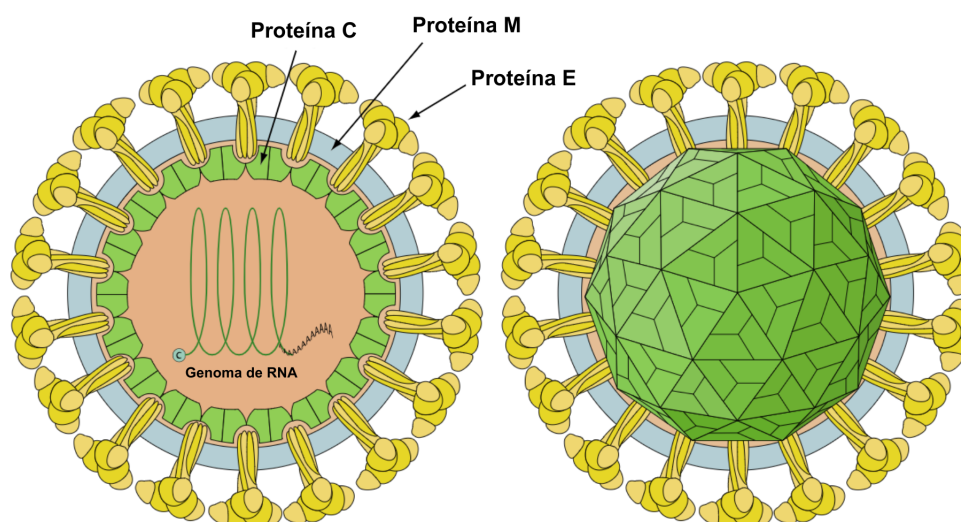


Figura 4. Organização estrutural da família *Togaviridae*. Fonte: Adaptada de ViralZone – Swiss Institute of Bioinformatics, 2025.

2.3.2.1 CHIKUNGUNYA

O genoma do vírion CHIKV é um RNA de fita simples e sentido positivo que codifica quatro proteínas não estruturais (nsP1, nsP2, nsP3 e nsP4), envolvidas na replicação do genoma, e cinco proteínas estruturais, envolvidas na montagem do vírion: capsídeo (C) duas glicoproteínas do envelope (E1 e E2) e as subunidades do envelope (E3 e 6K). Na bicamada lipídica, derivada do hospedeiro, estão inseridas

80 espículas formadas por trímeros de heterodímeros das glicoproteínas de superfície E1 e E2 (Sharma et al., 2018).

No Brasil, a transmissão do vírus se dá pela picada de fêmeas dos mosquitos *Aedes aegypti* infectadas pelo CHIKV, seguindo o mesmo ciclo de transmissão humano-mosquito-humano observado no DENV e ZIKV. O período de incubação no hospedeiro humano dura em média de três a sete dias, enquanto a viremia pode perdurar por até dez dias. As manifestações sintomáticas mais relatadas são febre alta, erupções cutâneas, calafrios, cefaleia, fotofobia e dores musculoesqueléticas debilitantes como artralgia, artrite e mialgia. Ademais, há registros na literatura de casos de infecções congênitas pelo CHIKV, durante o parto, estando associadas a um risco aumentado de complicações na gravidez e infecção neonatal (Cavalcanti et al., 2022; Bartholomeeusen et al., 2023).

2.4 MÉTODOS LABORATORIAIS DE DIAGNÓSTICO DAS ARBOVIROSES

O diagnóstico clínico das arboviroses é inespecífico em função da similaridade dos sintomas causados pelos arbovírus. Deste modo, o diagnóstico laboratorial é necessário para a confirmação e diferenciação entre infecções arbovirais e não arbovirais que possuem sintomas semelhantes. Os métodos de diagnóstico mais utilizados na confirmação das infecções são baseados em técnicas moleculares e sorológicas (Sena et al., 2024).

Testes sorológicos identificam especificamente anticorpos contra o vírus no soro do paciente, sejam anticorpos IgM por indicativo de infecção recente, ou IgG, relacionado com infecções passadas. Em função da janela imunológica e início da produção dos anticorpos, exames sorológicos devem ser realizados por volta do sexto dia após o início dos sintomas (Musso; Desprès, 2020).

Dentre os testes sorológicos disponíveis, o ELISA é uma das técnicas mais usadas para o diagnóstico. No entanto, devido à reatividade cruzada entre os *orthoflavivirus*, faz-se necessários ensaios confirmatórios como o teste de neutralização por redução de placa (PRNT), inibição de aglutinação (IH) ou fixação de complemento (FC). Uma variação do ELISA, o ensaio imunoenzimático de captura de IgM (MAC-ELISA) baseia-se no revestimento do anticorpo de captura (anti-IgM humano) na microplaca, seguido da adição do soro do paciente, e então do

antígeno viral. Por último, adiciona-se um anticorpo antiviral conjugado a uma enzima, e um resultado colorimétrico é gerado pela interação da enzima e de um substrato cromogênico, como demonstrado na Fig. 5 (Cerutti et al., 2022).

O uso do MAC-ELISA é recomendado para detectar anticorpos específicos em áreas onde apenas um orthoflavivírus é endêmico, pois há a possibilidade da não distinção entre a produção de anticorpos anti-ZIKV, anti-DENV (1-4) e anti-YFV no mesmo indivíduo. Logo, o resultado positivo do MAC-ELISA em áreas endêmicas não deve ser considerado confirmatório e requer testes adicionais confirmatórios (Loyola et al., 2021).

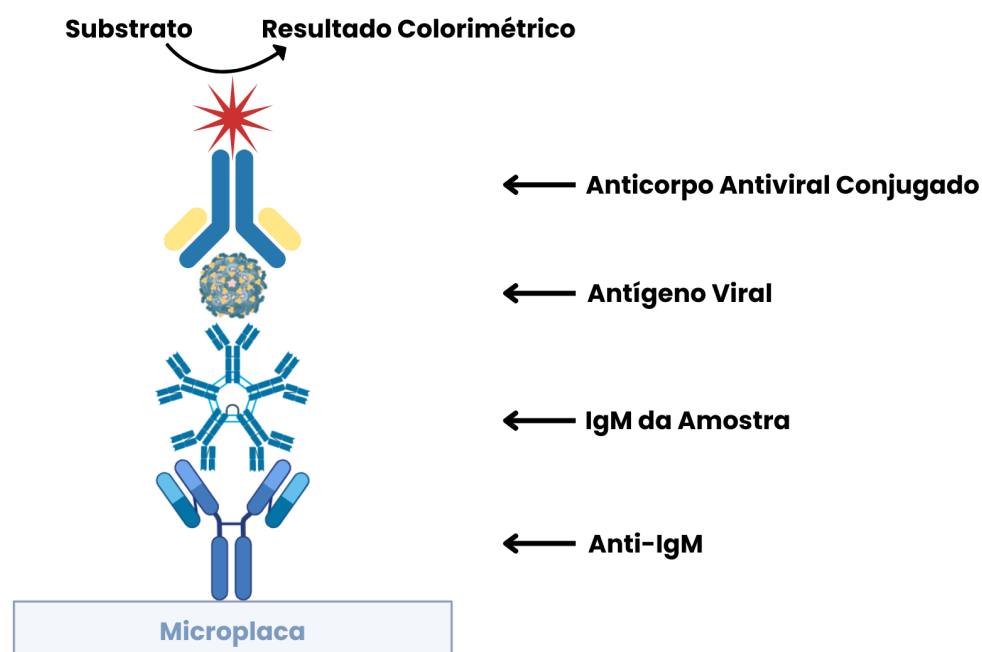


Figura 5. Representação esquemática da técnica sorológica por MAC-ELISA.

Fonte: Autoria Própria (2025).

O método que apresenta maior sensibilidade e especificidade para a identificação dos vírus, considerado o padrão-ouro de diagnóstico, é a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Para todas as variações da PCR, o RNA viral deve ser inicialmente extraído de amostras biológicas como soro, plasma ou urina, e posteriormente é amplificado por meio de reagentes e enzimas como primers, dNTPs, transcriptase reversa e DNA polimerase. Na técnica da RT-qPCR, o RNA viral extraído é inicialmente transcrito em DNA complementar (cDNA), e o

cDNA é então usado como molde para a reação de PCR, segundo representação na Fig. 6 (Varghese; Silva; Millar, 2023).

Técnicas como a PCR, baseadas em biologia molecular, reduzem a ocorrência de reações cruzadas e identificam os patógenos de forma precoce, sensível, específica e contribuem para o mapeamento da vigilância epidemiológica. No entanto, esta metodologia exige laboratórios clínicos com instrumentação complexa, operadores qualificados e um alto custo empregado, o que restringe seu uso em unidades de atenção primária à saúde (Dias et al., 2023).

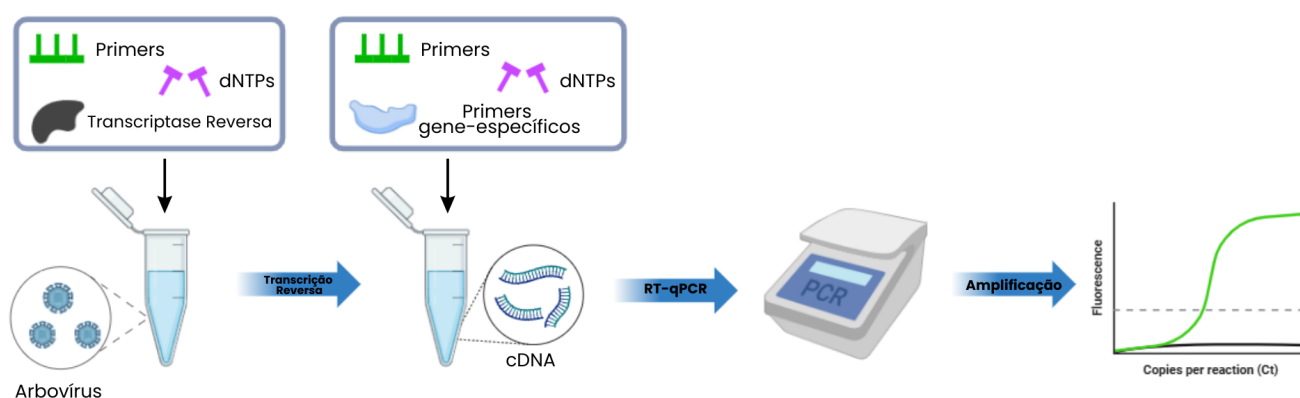


Figura 6. Representação esquemática da técnica molecular por RT-qPCR.

Fonte: Autoria Própria (2025).

2.5 BIOSSENSORES ELETROQUÍMICOS

A área médica enfrenta desafios no controle de doenças de rápida disseminação, como as arboviroses causadoras de epidemias, sendo crescente o aumento da demanda por metodologias inovadoras capazes de fornecer diagnósticos rápidos, seletivos e específicos. Nesse cenário, os biossensores destacam-se como ferramentas promissoras, pois aliam alta sensibilidade, seletividade, baixo custo, possibilidade de miniaturização e obtenção de resultados em tempo reduzido (Lino et al., 2022).

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) define um biossensor como um dispositivo que emprega reações bioquímicas específicas facilitadas por enzimas isoladas, imunossistemas, tecidos, organelas ou células

inteiras para identificar compostos químicos normalmente obtidos por meio de sinais elétricos, térmicos ou ópticos (Jurado-Sánchez, 2018). Esses biodispositivos são baseados em uma molécula de reconhecimento biológico, um elemento transdutor da reação bioquímica gerada e um sistema de processamento de sinal, como demonstrado na Fig. 7 (Campos et al., 2020).

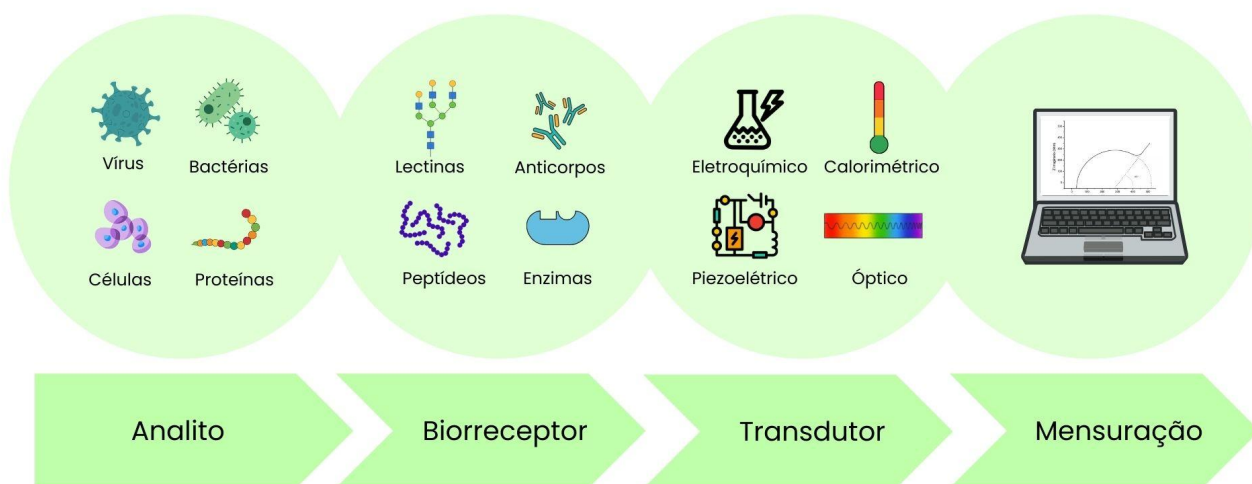


Figura 7. Configuração dos componentes funcionais de um biossensor. Fonte: Autoria Própria (2025).

Nos biossensores eletroquímicos são exploradas as interações específicas entre o analito de interesse e o elemento de biorreconhecimento, que pode ser classificado como biocatalítico ou biocomplexante. Elementos biocatalíticos, como enzimas, células e tecidos, desempenham reações catalíticas para o reconhecimento de analitos. Os elementos de biocomplexantes baseiam-se na interação de analitos com macromoléculas ou conjuntos moleculares organizados, como anticorpos e peptídeos (Zhao et al., 2021).

O elemento transdutor age como uma interface que traduz a reação bioquímica entre analito-biorreceptor em sinais elétricos, como mudanças amperométricas, voltamétricas e impedimétricas (Leva-Bueno; Peyman; Millner, 2020). A configuração mais comumente aplicada desse elemento é baseada em um potenciostato conectado a célula eletroquímica formada por três componentes, em que o eletrodo de trabalho (ET) atua como um elemento de modificação onde ocorre

a reação bioquímica, o contra-eletrodo (CE) estabelece uma conexão com a solução eletrolítica para aplicação da corrente elétrica, e o eletrodo de referência (ER) fornece um potencial conhecido e estável, como demonstrado na Fig. 8 (Shanbhag et al., 2023).

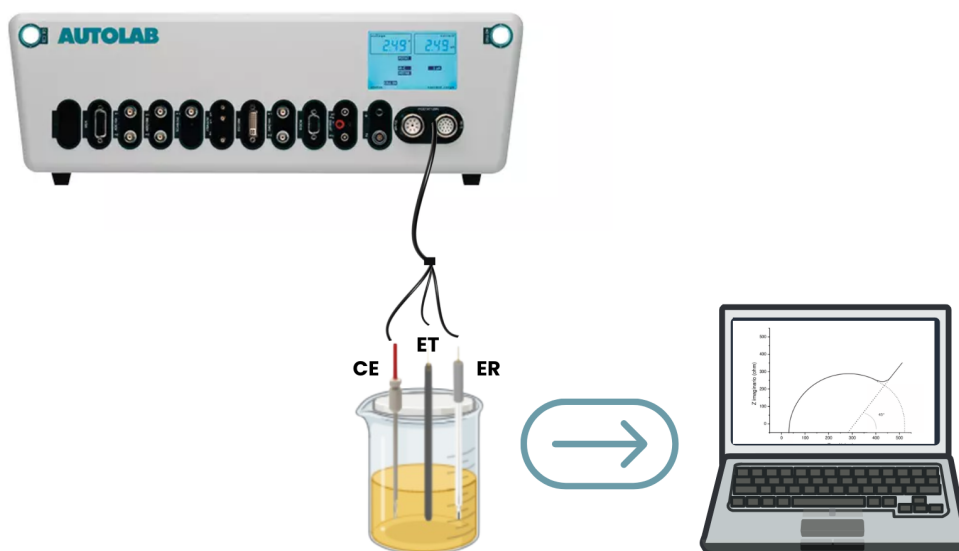


Figura 8. Representação dos componentes de uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos: eletrodo de trabalho (ET), eletrodo de referência (ER) e contra-eletrodo (CE). Fonte: Autoria Própria (2025).

2.5.1 BIOSSENSORES BASEADOS EM LECTINAS

Lectinas são um grupo de proteínas capazes de reconhecer e distinguir sequências de carboidratos específicos presentes em sítios biológicos, podendo ligar-se de modo não covalente e reversível a glicanos e glicoconjugados. Essas proteínas estão amplamente distribuídas na natureza e são isoladas e caracterizadas em muitas fontes, como microrganismos, plantas e animais. As lectinas vegetais são moléculas amplamente estudadas no campo da glicobiologia por serem consideradas um sistema-modelo para investigação de interações proteína-carboidrato, tornando-as alvo de aplicações biotecnológicas (Naik; Kumar, 2022; Konozy et al., 2024).

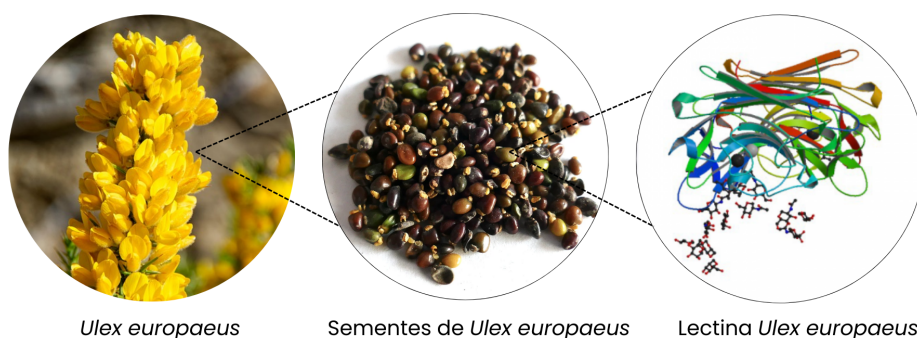
Na pesquisa biomédica, lectinas têm sido empregadas na identificação do perfil de glicanos expressos por patógenos. Devido à sua capacidade de se ligar a glicoproteínas virais, podem ser utilizadas para projetar dispositivos para diagnóstico de doenças virais por meio de afinidade e biorreconhecimento de glicanos na superfície de vírus (Katoch; Tripathi, 2021).

A imobilização de lectinas em transdutores eletroquímicos adequados favorece a criação de biossensores sensíveis e inovadores, com a capacidade de rastrear açúcares-alvo em níveis moleculares. A interação lectina-carboidrato ocorre com alta afinidade e especificidade em sítios específicos da proteína por meio de ligações de hidrogênio, van der Waals e interações hidrofóbicas, fornecendo uma alta sensibilidade eletroanalítica (Abrantes-Coutinho et al., 2021; Pham et al., 2024).

No estudo de Lucena e colaboradores é observada a aplicação da lectina Concanavalina A (ConA), a qual possui afinidade de ligação a resíduos de manose, glicose e N-acetilglicosamina, como elemento de biorreconhecimento de carboidratos da proteína Spike presente no coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2). O biossensor baseado em lectina proposto foi capaz de identificar a proteína Spike com excelente seletividade e rapidez, se destacando como uma alternativa promissora para a identificação de proteínas virais glicosiladas (Lucena et al., 2024).

2.6 ULEX EUROPAEUS

A lectina *Ulex europaeus* (UEA-I), pertencente ao grupo de lectinas de plantas da família *Leguminosae*, é uma proteína isolada das sementes do tojo comum, como são popularmente conhecidas as plantas do gênero *Ulex* (Fig. 9). Essa planta, típica da Europa Ocidental e norte da África, sofreu uma distribuição global em regiões equatoriais e temperadas (Broadfield; McHenry, 2019).



Ulex europaeus

Sementes de *Ulex europaeus*

Lectina *Ulex europaeus*

Figura 9. Representação da extração da lectina *Ulex europaeus*. Fonte: Autoria Própria (2025).

Estudos estruturais observaram que a UEA-I está incluída no grupo de lectinas com afinidade a fucose, possuindo seu sítio de glicosilação em resíduos conservados da asparagina (Asn10 e Asn116), expressando afinidade predominante por Fucose e adicional pelo complexo trissacarídeo Fucose α -1,2 ligada a Galactose e α -1,4 ligada a N-acetilglicosamina (Bojar et al., 2022; Guo et al., 2019; Konami; Yamamoto; Osawa, 1991). Deste modo, as propriedades intrínsecas das lectinas como biomoléculas de identificação de superfícies virais possibilita o seu emprego em sistemas biossensíveis e contribui para o desenvolvimento de diagnósticos clínicos aprimorados (Abrantes-Coutinho et al., 2021; Oliveira et al., 2011).

2.7 POLÍMEROS CONDUTORES

Polímeros condutores (CPs) são um tipo de material orgânico composto de subunidades monoméricas, dispostas em cadeias de anéis aromáticos, com ligações simples e duplas conjugadas. Essa ligação dupla é formada por uma ligação sigma (σ), que é forte e contém uma maior concentração de elétrons, e uma ligação pi (π) mais fraca. O processo de dopagem de um polímero ocorre por meio de reações de oxi-redução pela extração e transferência de elétrons, resultando no aumento da condutividade do polímero (Shoyiga; Fayemi, 2025).

Plataformas biossensoras podem ser otimizadas para a imobilização de biomoléculas e transdução de sinal por meio de polímeros condutores, como o polipirrol, que oferecem condutividade elétrica e biocompatibilidade superiores. Esse material aumenta a área de superfície dos sensores, o que melhora a interação com o analito e o desempenho da detecção (Santos et al., 2025).

2.7.1 POLIPIRROL

O polipirrol é um polímero altamente condutor de interesse em diversas aplicações biotecnológicas devido às suas propriedades elétricas, possuir

biocompatibilidade, presença de grupos químicos funcionais, possibilitar variações morfológicas e ter sua funcionalidade e o desempenho aumentados pela associação a outros nanomateriais (Pan et al., 2024).

A síntese do polipirrol realizada por meio da polimerização eletroquímica do monômero pirrol permite o controle das variações no potencial aplicado, na corrente, taxa de varredura, controle da espessura e da condutividade do polímero. Esse método conduzido diretamente sobre transdutores eletroquímicos decorre da aplicação de um potencial apropriado no eletrodo, permitindo que o monômero de pirrol, em solução com agente dopante, oxide e polimerize na superfície do eletrodo até a formação de um filme nanoestruturado. Na Fig. 10, é possível observar a estrutura do monômero de pirrol e do polipirrol (Hao; Dong; Yu, 2024; Zhang et al., 2023; Jain; Jadon; Pawaiya, 2017).

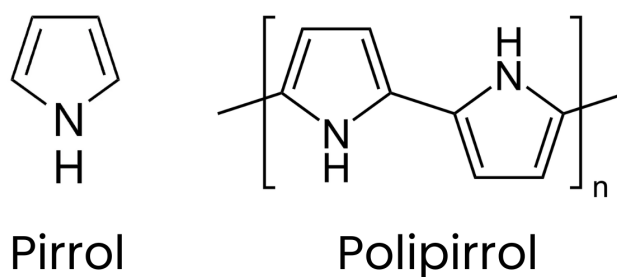


Figura 10. Estrutura química do monômero pirrol e do polipirrol. Fonte: Autoria Própria (2025).

2.8 NANOMATERIAIS

O emprego de nanomateriais em biossensores permite a otimização da performance desses dispositivos ao atuarem como interfaces entre os receptores biológicos e a superfície do transdutor eletroquímico, promovendo a amplificação do sinal detectado. A utilização de materiais em escala nanométrica oferece excelente biocompatibilidade, estabilidade, seletividade e alta condutividade térmica e elétrica (Ramesh et al., 2023).

Dentre os nanomateriais comumente aplicados em biossensores, destacam-se nanopartículas, nanotubos, nanofilmes e pontos quânticos,

representados na Fig. 11. A exploração dessas nanoestruturas com diferentes funcionalidades e dimensões é benéfica para o desenvolvimento de biossensores (Barbosa et al., 2020).

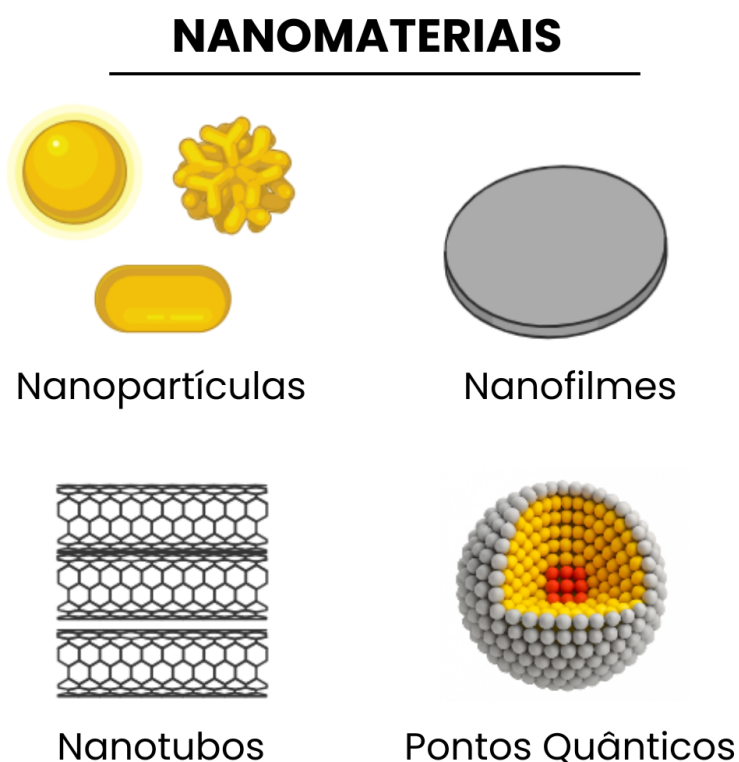


Figura 11. Versatilidade morfológica dos nanomateriais. Fonte: Autoria Própria (2025).

2.8.1 NANOPARTÍCULAS DE OURO

Dentre os nanomateriais utilizados para a construção de biossensores, as nanopartículas de ouro (AuNPs) são empregadas por fornecerem estabilidade, biocompatibilidade, baixa resistência e alta condutividade para o sensoriamento biológico (Kumalasari; Alfanaar; Andreani, 2024). Materiais metálicos, como o ouro, têm propriedades ópticas e de ressonância plasmônica de superfície localizada (LSPR) que permitem uma maior ajustabilidade dos espectros de absorbância e espalhamento das AuNPs, proporcionando uma flexibilidade na obtenção de diferentes tamanhos e formas de nanopartículas (Li et al., 2023).

A funcionalização das AuNPs pode ser empregada para promover a ligação precisa a biomoléculas, o que, por sua vez, melhora a sensibilidade e a seletividade dos biossensores, sem comprometer a biocompatibilidade das nanopartículas. A cisteamina (Cys) é uma molécula alcanotiolato com propriedades quimiossensibilizadoras frequentemente utilizada como estabilizadora de AuNPs, devido ao seu grupamento tiol (-SH) e amina (-NH₂), através da ligação Au-SH (Ionescu, 2022). Assim, a Cys tem sido frequentemente empregada em metodologias, juntamente com as AuNPs, na construção de biossensores para a identificação de patógenos (Avelino et al., 2021).

2.9 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA

2.9.1 VOLTAMETRIA CÍCLICA

A voltametria cíclica é uma técnica de medição eletroanalítica amplamente utilizada na construção de biossensores eletroquímicos em função da sua alta sensibilidade para a detecção de espécies inorgânicas e orgânicas, um tempo de resposta rápido e baixo custo. Essa técnica fornece informações qualitativas e quantitativas dos processos de oxirredução ocorridos na interface do eletrodo e a solução eletrolítica ao medir as correntes de pico geradas, além de fornecer informações sobre a cinética de transferência de elétrons e as reações químicas que ocorrem nesta interface (Rafiee et al., 2024).

A análise voltamétrica consiste na aplicação de um potencial elétrico de varredura que acarreta em uma diferença de potencial entre os eletrodos de trabalho e de referência, possibilitando uma transferência de elétrons, resultante dos processos de oxirredução, e a medição da corrente elétrica resultante entre os eletrodos de trabalho e o contra-eletrodo (Grieshaber et al., 2008; Pacheco et al., 2013).

Nesta técnica, o voltamograma cíclico é a representação gráfica da corrente elétrica resultante *versus* o potencial aplicado. Na relação existente entre essas grandezas, a aplicação de um potencial variável que avança na região anódica faz com que as espécies químicas em solução sofram oxidação na interface

eletrodo/solução, resultando em um pico de corrente anódica (I_{pa}). No ponto de reversão da varredura em consequência do esgotamento das espécies oxidadas, o potencial é variado em direção à região catódica até o valor de potencial inicial, resultando em um pico de corrente catódica (I_{pc}), ocasionando o voltamograma representado na Fig. 12 (Elgrishi et al., 2017).

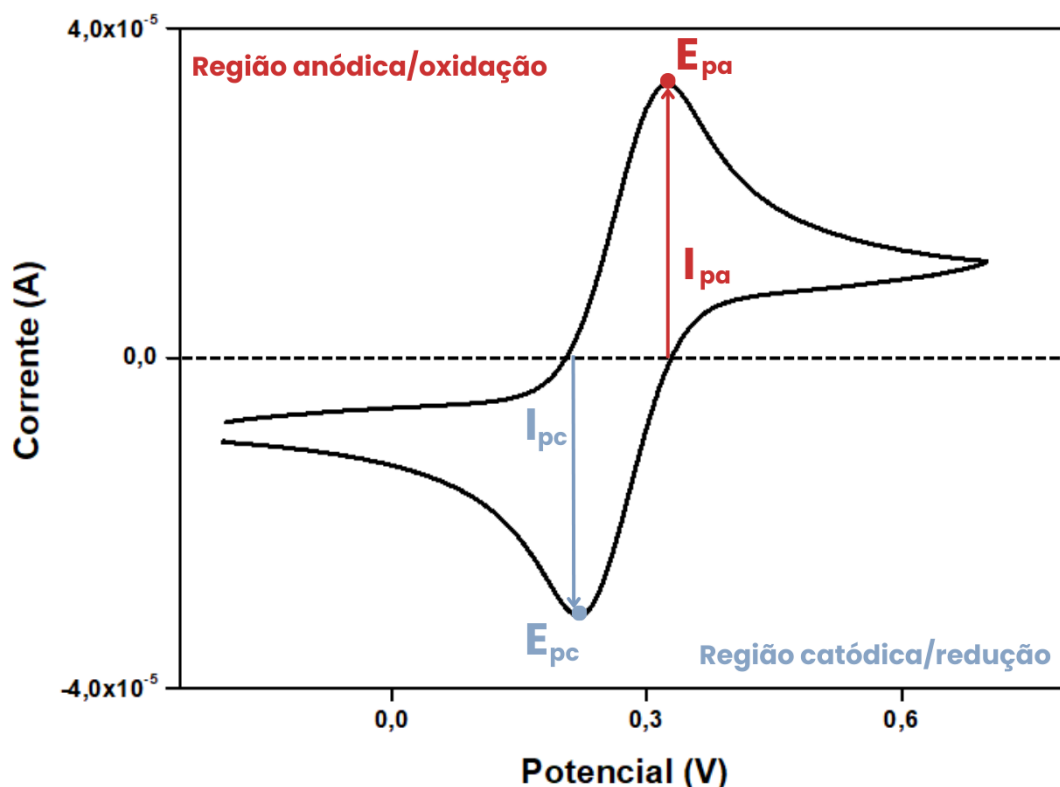


Figura 12. Voltamograma cíclico representativo das correntes de pico anódicas (I_{pa}) e catódicas (I_{pc}) nas regiões de potencial anódico (E_{pa}) e potencial catódico (E_{pc}), respectivamente. Fonte: Autoria Própria (2025).

2.9.2 ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA

A espectroscopia de impedância eletroquímica é uma técnica eletroanalítica empregada para a investigação de fenômenos elétricos interfaciais relacionados aos eventos seletivos de biorreconhecimento, sendo amplamente utilizada em estudos de biossensoriamento (Lazanas; Prodromidis, 2023).

Essa técnica tem como base a aplicação de um potencial alternado ao sistema de eletrodos em uma célula eletroquímica, registrando-se uma variação senoidal da corrente elétrica resultante. As medições entre o potencial aplicado e a corrente resultante, geradas a partir da interface eletrodo-solução, podem ser simuladas para circuitos elétricos equivalentes ou modelos matemáticos. Essas medições permitem avaliar os componentes elétricos resistores, capacitores ou elementos de fase constante, que são conectados para formar um circuito equivalente, bem como a taxa de transferência de carga, condutividade de materiais, capacitância da dupla camada elétrica e cinética de eletrodos (Magar; Hassan; Mulchandani, 2021).

A representação gráfica dos dados de impedância são apresentados em um diagrama de Nyquist, como na Fig. 13A. O diagrama possui em seus eixos x e y, o elemento de impedância real (Z') e elemento imaginário ($-Z''$), respectivamente. O circuito equivalente de Randles retratado na Fig. 13B representa a união de elementos impedimétricos, em um sistema composto por capacitores e resistores, tornando possível fazer a simulação dos resultados pela quantificação dos elementos correspondentes à resistência da solução eletrolítica (R_s), resistência à transferência de carga (R_{CT}), impedância de Warburg (Z_w) e capacitância da dupla camada elétrica (C_{dl}) correspondente à interface eletrodo-solução (Lazanas; Prodromidis, 2023).

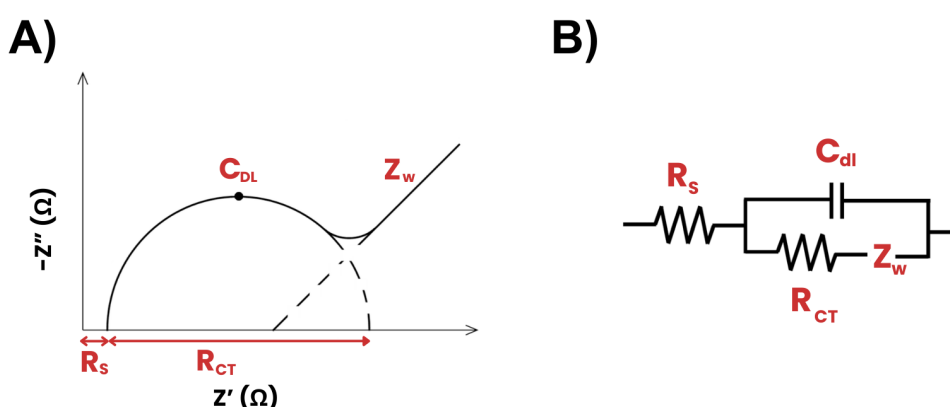


Figura 13. Representação esquemática do diagrama de Nyquist (A) e circuito de Randles (B). Fonte: Autoria Própria (2025).

2.10 ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISÍVEL

A espectroscopia de absorção ultravioleta-visível (UV-vis) é geralmente realizada para estudar as propriedades ópticas, estimar o tamanho, a concentração e o nível de agregação de nanopartículas plasmônicas (Amendola; Meneghetti, 2009). Essas nanopartículas absorvem radiação nas regiões da luz visível no espectro eletromagnético, a depender da sua forma e tamanho. Essa absorção é atribuída à oscilação de elétrons na superfície das nanopartículas, chamada de ressonância plasmônica de superfície localizada (LSPR). A dispersão das nanopartículas plasmônicas resulta em uma emissão de radiação que é mensurada por um espectrofotômetro, gerando um gráfico que correlaciona o comprimento de onda *versus* intensidade de absorção (absorbância) (Arif; Raza; Akhter, 2024).

Atualmente, as AuNPs coloidais são extensivamente caracterizadas em detecções colorimétricas e ópticas, devido à sua eficiência na absorção e dispersão da luz. Mais especificamente, as AuNPs conseguem sustentar uma LSPR, que ocorre devido ao deslocamento e à oscilação coerente dos elétrons de condução em sua superfície, em uma frequência específica, quando expostas à luz incidente de um espectrofotômetro (Murphy et al., 2008).

2.11 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é definida como uma técnica de espectroscopia vibracional molecular que analisa componentes químicos, moléculas e grupos funcionais. Seu princípio baseia-se na absorção de luz infravermelha por uma amostra e, em um espectro de picos, bandas de absorbância são representadas em um gráfico intensidade de absorbância (ou transmitância) *versus* a frequência (número de onda) (Marie; Torbjörn, 2007).

A FTIR consiste em quatro partes principais: uma fonte de luz, um suporte de amostra, um monocromador e um detector. O monocromador divide o feixe de infravermelho em dois feixes, em que o primeiro é refletido de um espelho fixo, e o segundo feixe, de um espelho móvel. Os dois feixes são recombinados para o interferômetro (detector), que representa as frequências relacionadas à excitação

dos estados vibracionais dos grupos funcionais das moléculas em um interferograma, posteriormente transformado por Fourier em um espectro de absorção em função do número de onda. (Faramarzi et al., 2023).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um biodispositivo para detecção de arboviroses baseado em filme nanoestruturado de polipirrol (PPy), nanopartículas de ouro (AuNPs) e lectina *Ulex europaeus* (UEA-I).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar as propriedades interfaciais do filme de PPy obtido diretamente sobre a superfície metálica de ouro através de síntese eletroquímica e avaliar a imobilização e funcionalização das AuNPs sobre o filme polimérico;
- Avaliar estratégias para ancoragem covalente, interação físico-química e função biológica da lectina *Ulex europaeus* frente vírus inativado;
- Caracterizar eletroquimicamente a plataforma biossensora por meio das técnicas de voltametria cíclica (VC) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE);
- Avaliar os componentes do diagrama de Nyquist e o circuito equivalente de Randles, dentre eles a resistência a transferência de cargas (RCT), resistência da solução eletrolítica (RS), impedância de Warburg (ZW) e a capacitância da dupla camada elétrica (Cdl);
- Avaliar a seletividade do biodispositivo frente a amostras de fetuína, ovoalbumina e N-acetilglicosamina (GlcNAc), assim como a resposta à moléculas interferentes, como glicose e colesterol;
- Analisar as propriedades ópticas dos nanomateriais pelo uso da espectroscopia no UV-visível (UV-vis) e infravermelho (FTIR);

4. METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

No preparo da solução eletroanalítica foram utilizados ferricianeto de potássio ($K_3[Fe(CN)_6]$), ferrocianeto de potássio ($K_4[Fe(CN)_6]$), fosfato de sódio monobásico (NaH_2PO_4) e fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4) adquiridos pela VETEC (Brasil). Ácido clorídrico (HCl) foi adquirido pela Neon (Brasil). Cisteamina (Cys), pirrol, glutaraldeído e *Ulex europaeus* foram adquiridos pela Sigma-Aldrich (EUA). Água deionizada ultrapura foi utilizada em todas as etapas dos experimentos, obtida pelo sistema de purificação Milli-Q Plus (Billerica, EUA). As amostras de capsídeos virais inativados foram fornecidas pelo Departamento de Virologia e Terapia Experimental - FIOCRUZ/PE (Brasil).

4.2 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE OURO

A obtenção das nanopartículas de ouro foi conduzida de acordo com a metodologia empregada por Lévy *et al.*, 2004. Foi realizada a redução do $HAuCl_4$ (1 mM) em citrato tribásico (38,9 mM). Posteriormente, 100 mL da solução de $HAuCl_4$ foram misturados com 10 mL da solução de citrato, e a mistura foi agitada por 10 minutos a 100 °C. Ao término desse período, o aquecimento foi interrompido, e a solução continuou sob agitação até alcançar 24 °C (Lévy *et al.*, 2004).

4.3 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA

As leituras voltamétricas e impedimétricas das etapas de modificação do biossensor foram realizadas num potenciostato/galvanostato PGSTAT 128N (Metrohm Autolab, Holanda), interfaceado com o software NOVA 1.11.

Foi utilizada uma célula eletroquímica composta por 3 eletrodos, sendo um contra eletrodo de platina (CE), um eletrodo de referência (ER) Ag/AgCl, saturado com KCl 3M e um eletrodo de trabalho (ET) com superfície de ouro ($\phi = 2$ mm),

imersos em uma sonda redox de ferro-ferricianeto de potássio (10 mM), preparado em tampão fosfato salino (PBS) de pH 7,4.

As análises voltamétricas foram realizadas numa faixa de potencial entre -0.2 V a 0.8 V e a uma taxa de varredura de 50 mV.s⁻¹. Nas análises impedimétricas foi aplicada uma faixa de frequência entre 100 mHz a 100 kHz e um potencial de 0.2 V. Para a confecção dos gráficos, foi utilizado o software Origin 9.0.

4.4 SÍNTESE DO FILME DE POLIPIRROL SOBRE A SUPERFÍCIE METÁLICA

O PPy foi sintetizado diretamente sobre a superfície do eletrodo de trabalho através do processo de dopagem utilizando HCl. Inicialmente, 31 µL de pirrol (30mM) foram misturados em 15 mL de uma solução aquosa de HCl (0,5 M). A mistura foi levada imediatamente ao banho ultrassônico para promover homogeneização. Para a deposição do filme de PPy, a célula eletroquímica foi imersa na solução preparada e submetida à técnica de VC, realizada em 6 ciclos, com potencial variando de -0,4 a +1 V e uma taxa de varredura de 100mV.s⁻¹ (Avelino et al., 2021).

4.5 CONSTRUÇÃO DE PLATAFORMA BIOCSENSORA

A construção da plataforma, ilustrada na Fig. 14, tem início com o polimento da superfície metálica do ET em uma lixa fina de gramatura, em feltro contendo pasta de alumina (Al₂O₃) e, em seguida, foi levada a banho ultrassônico imerso em água deionizada durante 1 minuto.

Posteriormente, o ET foi imerso na solução de HCl e pirrol para a formação do filme de PPy. Após a polimerização e obtenção do filme de PPy, as AuNPs foram depositadas na superfície durante 20 minutos, tempo necessário para a completa secagem da alíquota. Ao fim desse intervalo, é feita a deposição da Cys durante 10 minutos. Em seguida, diante do eletrodo modificado com PPy_AuNPs-Cys, foi adicionado à superfície o agente acoplador glutaraldeído (0.5%) por 10 minutos,

seguido da adição da lectina *Ulex europaeus*, na concentração de 100 ng/mL, durante 20 minutos.

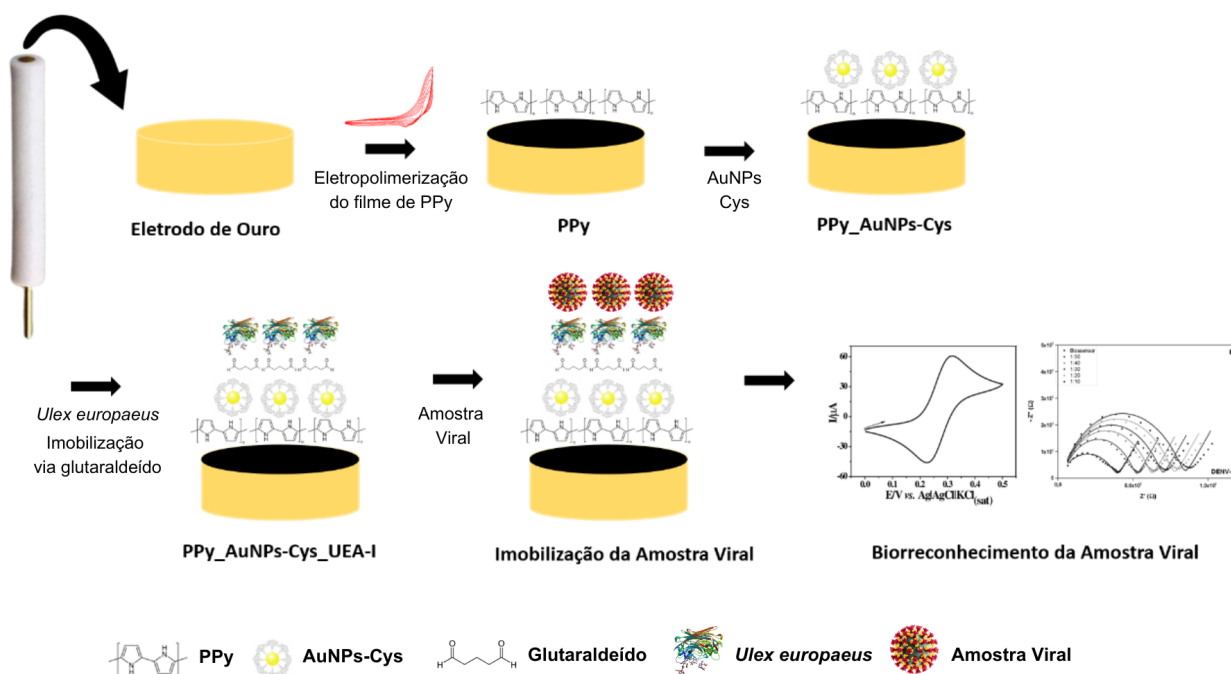


Figura 14. Representação esquemática da construção da plataforma nanoestruturada PPy_AuNPs-Cys_UEA-I. Fonte: Autoria Própria (2025).

4.6 ENSAIOS DE BIORRECONHECIMENTO

Os testes de biorreconhecimento foram realizados com amostras de vírus isolados em concentrações crescentes, mensuradas em PFU.mL⁻¹: 0,046.10⁶, 0,058.10⁶, 0,077.10⁶, 0,11.10⁶, 0,23.10⁶. Uma alíquota de 2 µl de cada amostra foi adicionada à plataforma PPy_AuNPs-Cys_UEA-I. Após 10 minutos em contato, o eletrodo foi levado à célula para a leitura eletroquímica do processo de biorreconhecimento.

4.7 MEDIÇÕES ÓPTICAS

4.7.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

Nas análises por FTIR os espectros foram obtidos pelo espectrômetro Agilent Cary 630 FTIR (Agilent Technologies, Rowville, Austrália), interfaceado com o software Agilent Microlab 5.7. O espectro de transmitância ocorreu na faixa de 650 a 3000 cm^{-1} , com uma resolução de 2 cm^{-1} , sob temperatura ambiente e umidade relativa de 50%.

4.7.2 ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA-VISÍVEL

A análise de absorção da solução coloidal das AuNPs puras por UV-vis foi conduzida usando um espectrofotômetro K37-UV-Vis Kasvi dentro da faixa do comprimento de onda de 400–700 nm, empregando cubetas de quartzo, com o comprimento de caminho óptico de 1,0 cm.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES FTIR E UV-VIS

A caracterização por FTIR foi realizada para avaliar os picos de absorção do filme polimérico sintetizado sobre a superfície de ouro. Como mostrado na Fig. 15, o espectro apresenta uma banda em 2250 cm^{-1} atribuída ao estiramento da ligação N–H do anel heterocíclico. A banda em 1722 cm^{-1} indica vibrações de alongamento de carboxil C=O. A banda em 1574 cm^{-1} está associada aos estiramentos C=C intra-anel e C–C inter-anel, característicos do anel aromático. Em 1241 cm^{-1} observa-se as deformações livres no plano de C–H e C–N. As bandas entre 1017 e 723 cm^{-1} correspondem às vibrações de deformação de C–H dentro e fora do plano (Cao et al., 2018; Avelino et al., 2021).

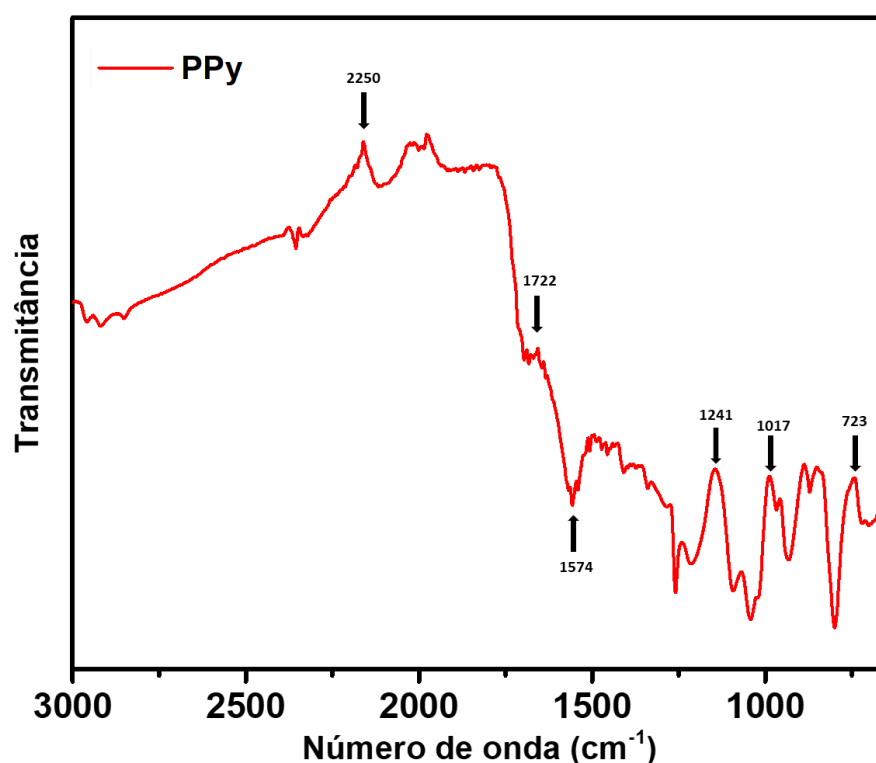


Figura 15. Caracterização dos grupamentos funcionais da plataforma eletrodepositada com PPy através da técnica de FTIR. Fonte: Autoria própria (2025).

O espectro UV-Vis da solução coloidal de AuNPs, indicativo da ressonância

de plásmons da AuNPs, demonstrou seu pico de absorção emitido em 525 nm, como visualizado na Fig. 16.

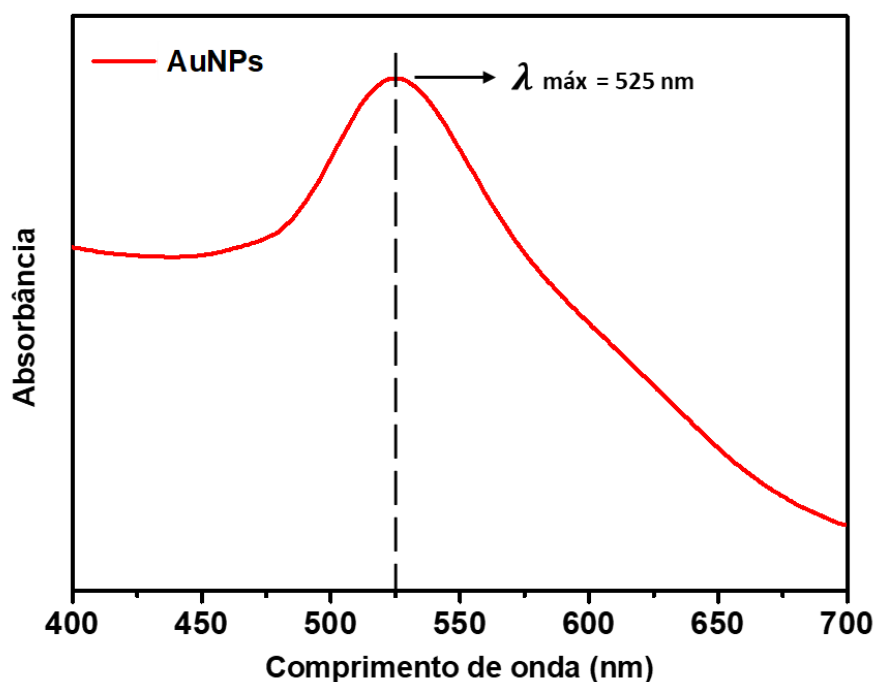


Figura 16. Caracterização da AuNPs através da técnica UV-Vis. Fonte: Autoria própria (2025).

5.2 ELETROPOLIMERIZAÇÃO DO FILME DE POLIPIRROL

O processo de eletrossíntese que culmina na formação do filme nanoestruturado de polipirrol deve ocorrer de forma controlada para evitar a superoxidação do polímero e, conseqüentemente, a redução da sua condutividade. Nesse sentido, foi avaliado o comportamento da eletrodeposição em 6 ciclos, sendo constatada uma redução na corrente anódica após o 6º ciclo de varredura, como observado no estudo de Avelino e colaboradores (Avelino et al., 2021). Sendo assim, a Fig. 17 demonstra que o método de 6 ciclos de eletropolimerização foi adotado por apresentar a maior condutividade do PPy, na superfície metálica, que precede a superoxidação.

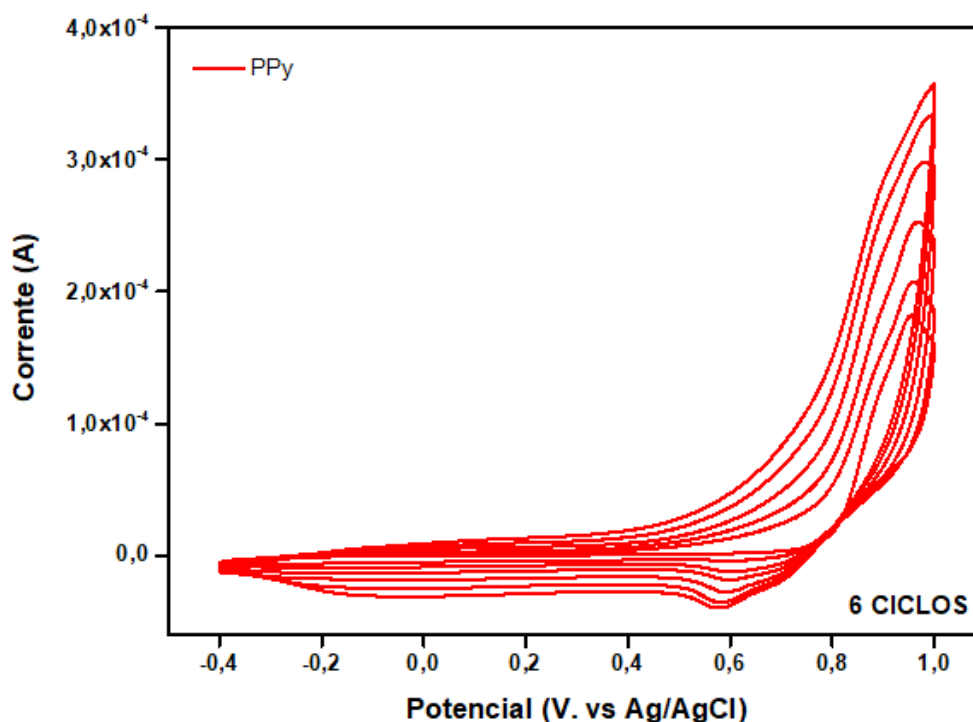


Figura 17. Voltamograma cíclico referente aos 6 ciclos de eletropolimerização do PPy. Fonte: Autoria própria (2025).

5.3 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DA PLATAFORMA BIOSENSORA

5.3.1 CARACTERIZAÇÃO VOLTAMÉTRICA

As análises de voltametria cíclica do processo de caracterização do eletrodo de ouro após cada estágio de modificação da superfície busca avaliar a intensidade dos processos de oxirredução, resultando em picos de oxidação e redução distintos para cada componente imobilizado (Rafiee et al., 2024).

A Fig. 18 mostra o voltamograma cíclico, de comportamento reversível, sem qualquer modificação à superfície do eletrodo limpo, com picos anódicos e catódicos bem definidos na presença da sonda redox de ferro-ferricianeto de potássio, responsável por fornecer os elétrons para as trocas eletrolíticas (Elgrishi et al., 2018). Em seguida, após a formação do filme de PPy, é observado um aumento significativo da corrente de pico devido à formação do filme polimérico

intrinsecamente condutor e com elevada capacidade de transferência de elétrons.

A adição das AuNPs funcionalizadas pela Cys representa a primeira diminuição nas correntes de I_{pa} e I_{pc} . Esta etapa da modificação da superfície é baseada na formação das ligações covalentes entre o grupamento tiol da Cys e o ouro (Au-SH), proporcionando estabilidade e resistividade ao sistema (Avelino et al., 2021). Finalizando a montagem da plataforma, a lectina UEA-I é imobilizada no sistema por meio do agente reticulador glutaraldeído. O glutaraldeído é um composto da família dos aldeídos e possui duas terminações -CHO. A carbonila presente nesse grupo reage com grupamentos amina presentes na lectina para formar uma imina (ou Base de Schiff), uma ligação altamente estável e covalente, provocando uma nova redução nas correntes de pico (Yorganci; Akyilmaz, 2011).

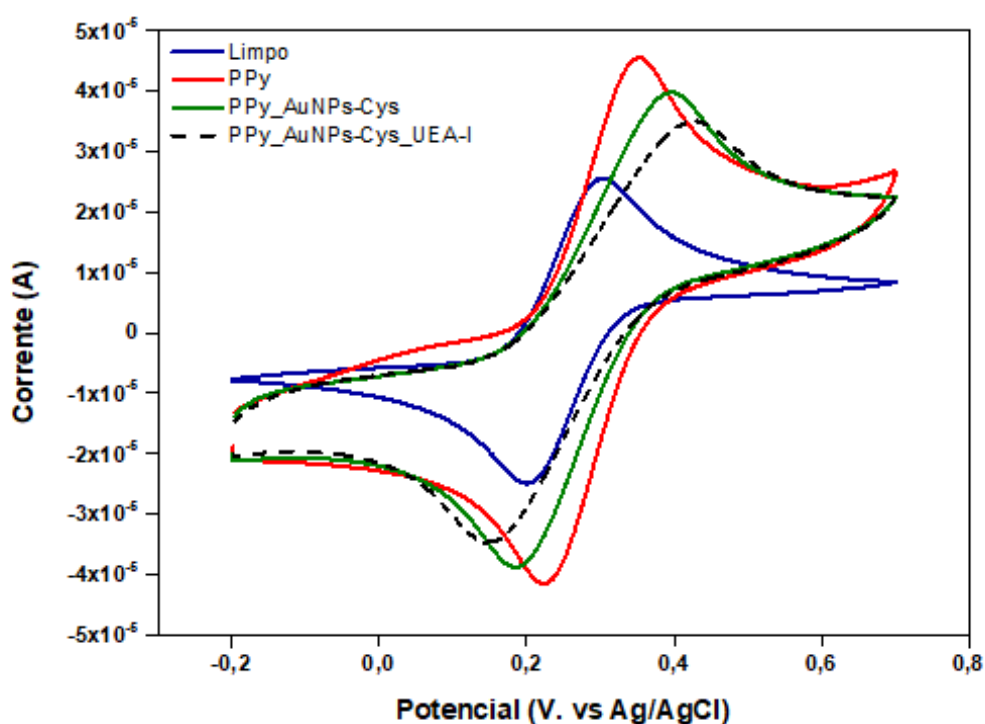


Figura 18. Voltamograma cíclico referente à montagem da plataforma biossensora.

Fonte: Autoria própria (2025).

5.3.2 CARACTERIZAÇÃO IMPEDIMÉTRICA

As análises impedimétricas do processo de caracterização da plataforma após cada estágio de modificação da superfície busca avaliar principalmente a resistência

às trocas iônicas entre a superfície do eletrodo e a sonda redox, sendo referida como a resistência à transferência de cargas (R_{CT}) (Manring et al., 2022).

A análise do gráfico de impedância de Nyquist apresentado na Fig. 19 demonstra que o eletrodo com superfície limpa exibiu um pequeno semicírculo ($R_{CT} = 0.064 \text{ k}\Omega$), próximo de um comportamento linear, característico do processo de difusão do par redox no eletrodo. Em seguida, foi constatado um discreto aumento na resistência eletroquímica ($R_{CT} = 0.187 \text{ k}\Omega$), confirmando a presença do filme de PPy na superfície metálica e sua interação eletrostática com a solução eletrolítica.

Após a imobilização e funcionalização química da AuNPs-Cys, foi observado um aumento na impedância do sistema ($R_{CT} = 3.07 \text{ k}\Omega$). Isso se deve principalmente às características condutoras do nanomaterial empregado, aumentando a superfície eletroativa do eletrodo (Huayu et al., 2013). Após a imobilização da lectina UEA-I, foi observada uma queda na impedância ($R_{CT} = 2.60 \text{ k}\Omega$), indicando diminuição na capacidade de transferência de elétrons na superfície do eletrodo.

Conforme destacado no estudo de Andrade e colaboradores (2005), esse comportamento resistivo pode ser observado em lectinas ligadoras de galactose que apresentam propriedades dielétricas ao criarem uma barreira impedindo que os íons presentes na solução ferro/ferricianeto alcancem o eletrodo (Andrade et al., 2005). Ademais, estudos anteriores indicam que a imobilização de lectina na superfície do eletrodo provoca uma modificação física e bloqueia a transferência de elétrons, devido ao estabelecimento de interações hidrofóbicas e hidrofílicas (Santos Silva et al., 2016; Zeng et al., 2011).

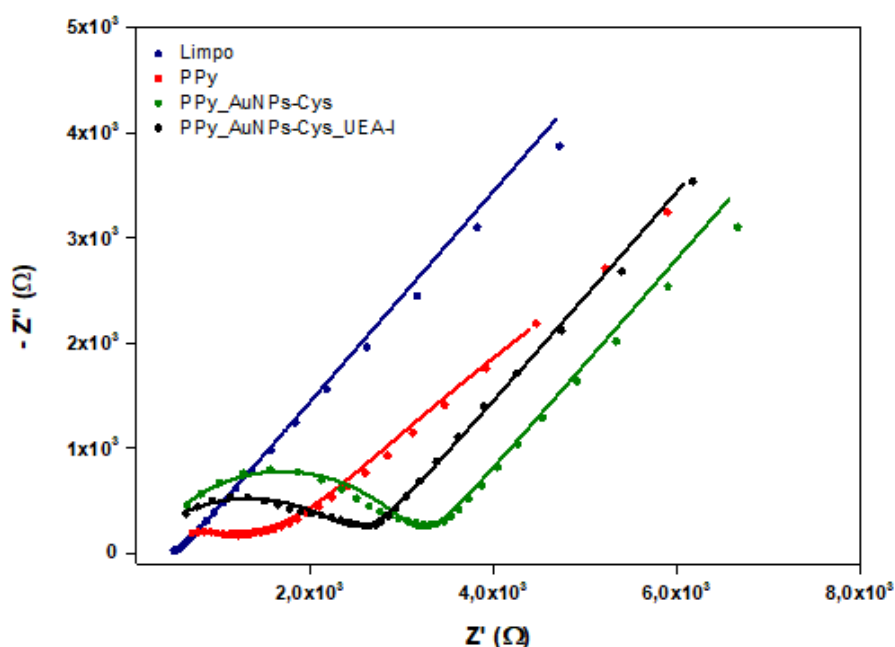


Figura 19. Diagrama de Nyquist referente à montagem da plataforma biossensora.

Fonte: Autoria própria (2025).

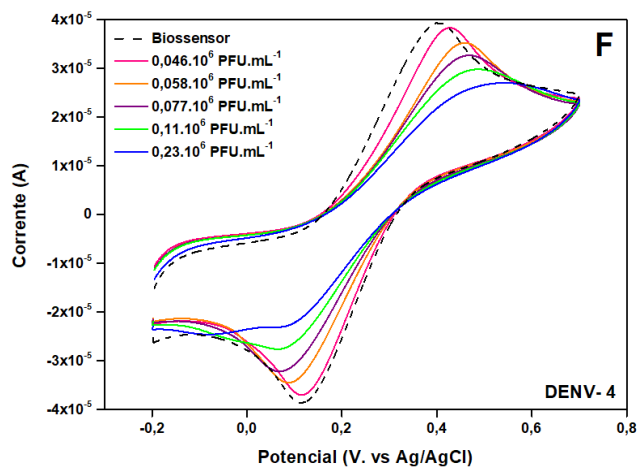
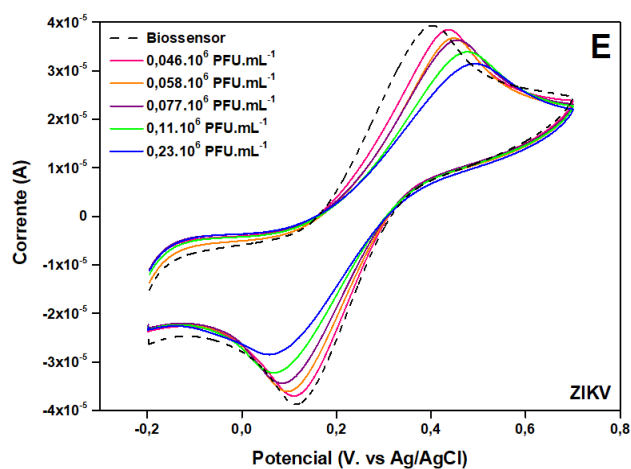
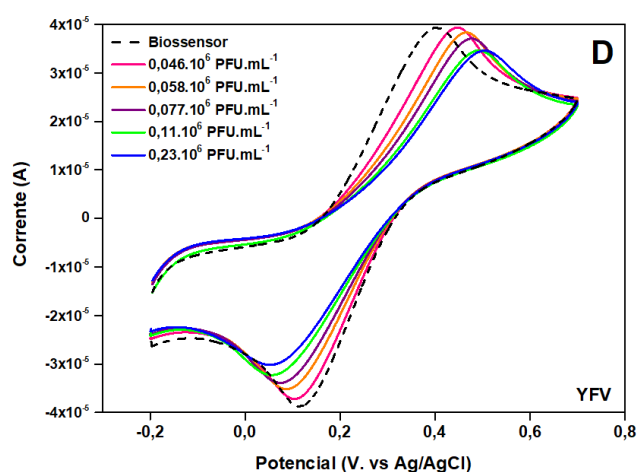
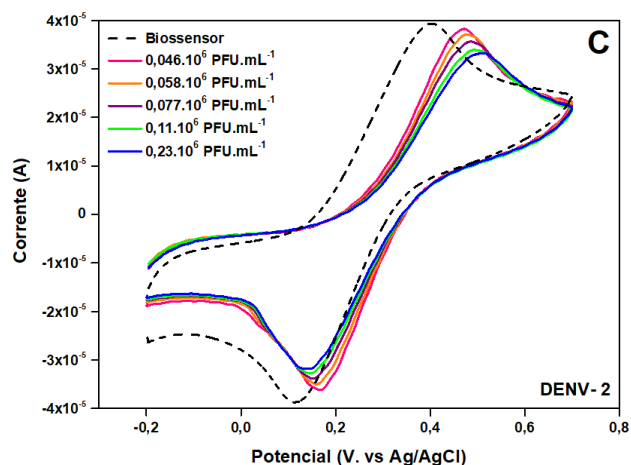
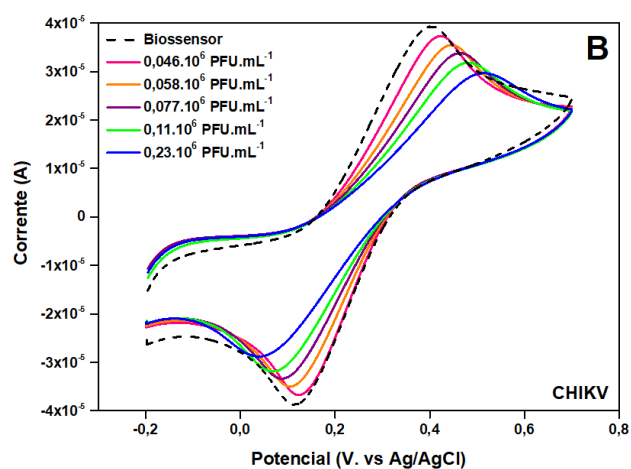
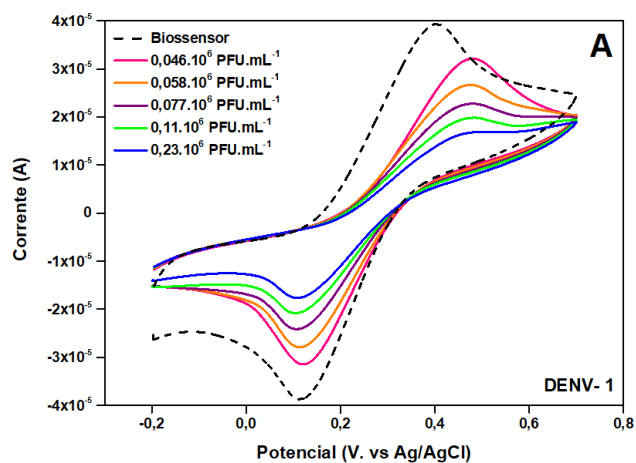
5.4 ENSAIOS DE BIORRECONHECIMENTO DOS ARBOVÍRUS PELA PLATAFORMA BIOSSENSORA

Análises de VC e EIE foram conduzidas para avaliar o desempenho do biossensor PPy_AuNPs-Cys_UEA-I exposto a diferentes concentrações dos arbovírus DENV (sorotipos 1-4), CHIKV, ZIKV e YFV. Esse processo de biointeração ocorreu durante 10 minutos para cada amostra de diferentes concentrações.

5.4.1 ENSAIOS VOLTAMÉTRICOS

Através dos voltamogramas cíclicos apresentados na Fig. 20 é constatada uma redução gradual nos picos anódicos e catódicos em todas as análises voltamétricas, proporcional à concentração viral à qual a plataforma foi exposta. Essa redução é correspondente com o processo de biorreconhecimento dos capsídeos virais, no qual a lectina UEA-I aderida à plataforma interage diferentemente com as glicoproteínas virais ao possuir maior afinidade por resíduos de fucose α -1,2 ligadas a galactose e α -1,4 ligadas a N-acetilglicosamina, dificultando a passagem de corrente. (Abrantes-Coutinho, 2021; Chen et al. 2021).

Uma maior redução e estratificação entre os picos de corrente foi observada nas amostras de DENV-1 (Fig. 20A), CHIKV (Fig. 20B) e DENV-2 (Fig. 20C), respectivamente, sendo proporcional ao aumento da concentração das amostras. Uma diferenciação intermediária apresentada pelo YFV (Fig. 20D), enquanto as menores reduções na passagem de corrente foram apresentadas pelo ZIKV (Fig. 20E), DENV-4 (Fig. 20F) e DENV-3 (Fig. 20G), respectivamente.



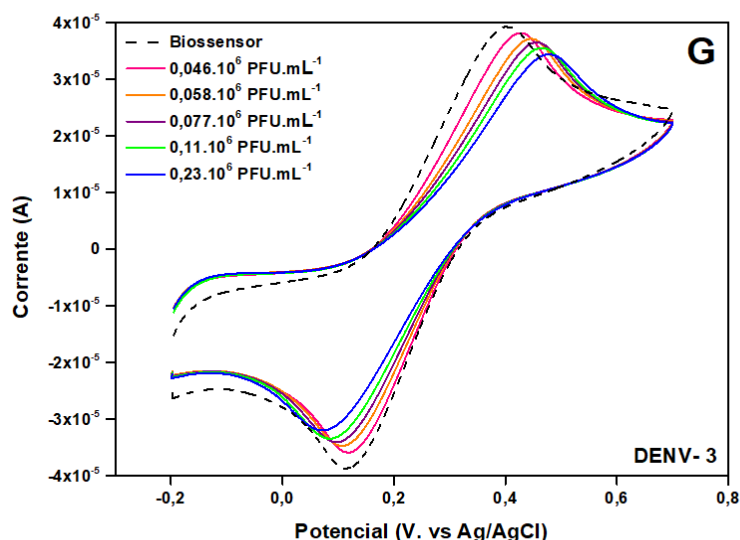


Figura 20. Voltamogramas cíclicos referentes ao biorreconhecimento de diferentes concentrações dos arbovírus DENV-1 (A), CHIKV (B), DENV-2 (C), YFV (D), ZIKV (E), DENV-4 (F) e DENV-3 (G) pelo sistema sensor PPy_AuNPs-Cys_UEA-I. Fonte: Autoria própria (2025).

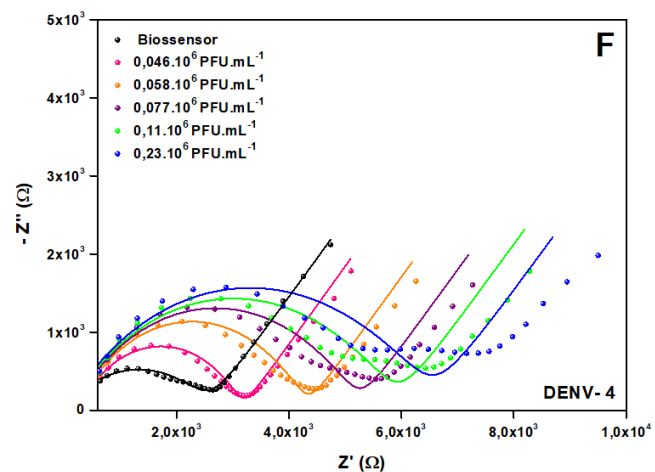
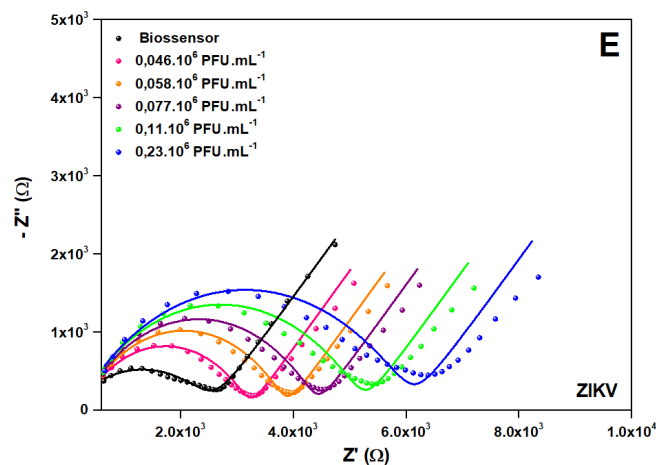
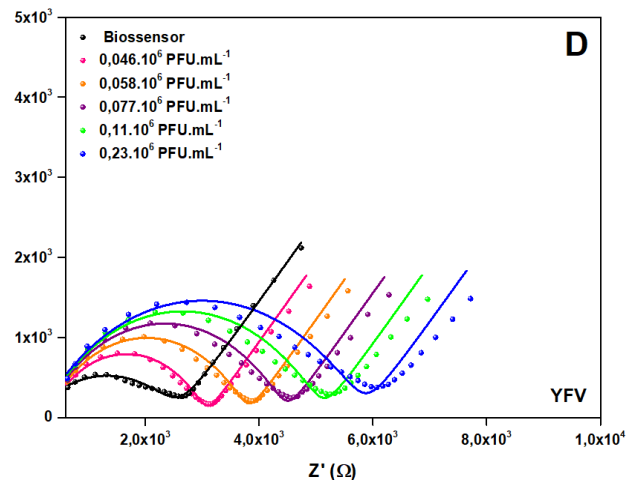
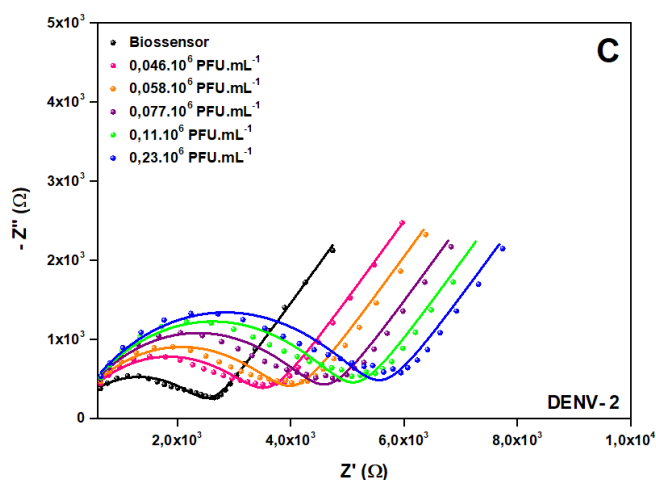
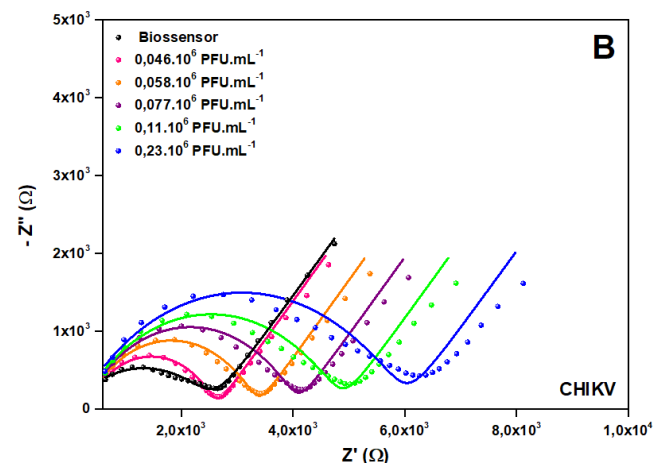
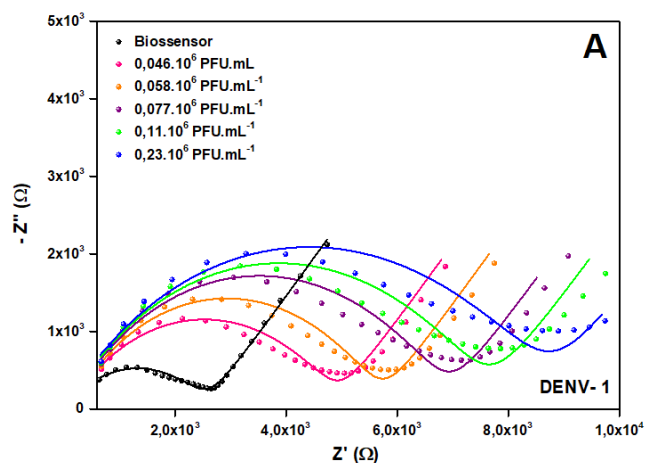
5.4.2 ENSAIOS IMPEDIMÉTRICOS

Através dos gráficos de impedância de Nyquist (Fig. 21) é verificada uma expressiva diferenciação entre os perfis de biorreconhecimento avaliada matematicamente pelo R_{CT} e pelo aumento do semicírculo nos gráficos de Nyquist.

Dentre os arbovírus analisados, o DENV-1 (Fig. 21A) apresentou maior R_{CT} , associada ao maior aumento no diâmetro do semicírculo de cada concentração, seguido das amostras de CHIKV (Fig. 21B) e DENV-2 (Fig. 21C), corroborando os dados voltamétricos. Uma afinidade intermediária foi apresentada pelas amostras de YFV (Fig. 21D), enquanto os menores biorreconhecimentos foram observados em ZIKV (Fig. 21E), DENV-4 (Fig. 21F) e DENV-3 (Fig. 21G).

O padrão de resposta obtido pelo sistema sensor em termos de bioafinidade decresceu de acordo com a sequência DENV-1 > CHIKV > DENV-2 > YFV > ZIKV > DENV-4 > DENV-3, como consta na Tabela 1. Essa ordem de interação pode ser atribuída à diversidade no padrão de composição e distribuição das glicoproteínas

presentes na estrutura dos arbovírus, indicando que o sorotipo DENV-1 possui maior distribuição de resíduos de fucose que os demais arbovírus, e portanto possui uma maior capacidade de reconhecimento e ligação à lectina UEA-I.



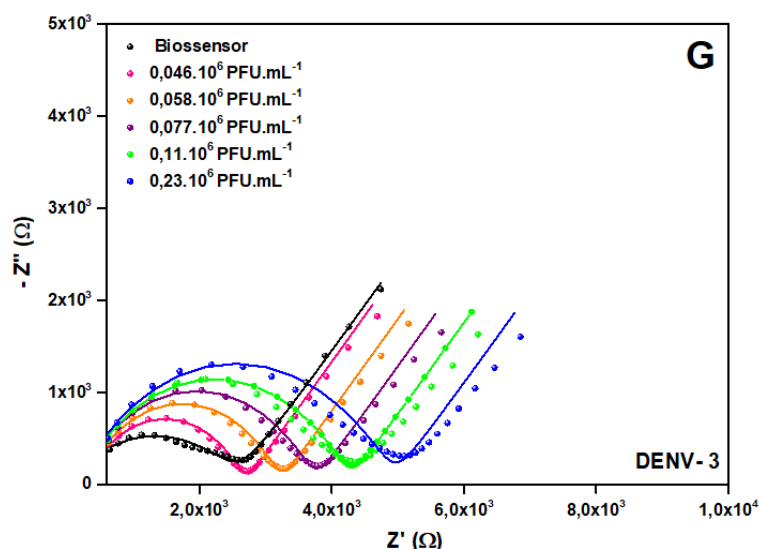


Figura 21. Diagramas de Nyquist referentes ao biorreconhecimento de diferentes concentrações dos arbovírus DENV-1 (A), CHIKV (B), DENV-2 (C), YFV (D), ZIKV (E), DENV-4 (F) e DENV-3 (G) pelo sistema sensor PPy_AuNPs-Cys_UEA-I. Fonte: Autoria própria (2025).

Os arbovírus compartilham importantes sítios de glicosilação derivados da proteína de envelope. Embora a estrutura cristalina da glicoproteína E dos arbovírus tenha sido determinada, os glicanos que estão ligados à glicoproteína E não são totalmente compreendidos. No entanto, sabe-se que a glicoproteína E dos arbovírus tem dois potenciais sítios de glicosilação conservados da asparagina em Asn153, enquanto o sítio de glicosilação de Asn-67 é exclusivo dos sorotipos DENV (Lei et al, 2015). Esses domínios expressam diferentes padrões de distribuição de glicanos complexos como manose, glicose, galactose, N-acetilglicosamina, fucose e ácido siálico (Varki et al, 2015; Carbaugh; Lazear, 2020; Chandler et al, 2013). A composição sacarídica dos vírus favorece a aglutinação de lectinas, sugerindo-se que o sorotipo DENV-1 apresenta uma expressiva distribuição de fucose, favorecendo uma maior bioafinidade com a lectina UEA-I (Guo et al., 2019).

Os resultados qualitativos demonstram que o biossensor PPy_AuNPs-Cys_UEA-I é capaz de identificar todas as concentrações dos sete analitos, de acordo com o aumento gradual do diâmetro do semicírculo. Nesse sentido, o circuito equivalente de Randles foi utilizado para avaliar quantitativamente

os dados impedimétricos da plataforma e do processo de biorreconhecimento das amostras virais, representados na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros obtidos pelo ajuste dos dados impedimétricos do circuito equivalente de Randles após exposição aos analitos. Fonte: Autoria Própria (2025).

Modificação do Eletrodo	Concentração (PFU.mL ⁻¹)	Rs (kΩ)	R _{CT} (kΩ)	Cdl (μF)	W (μF)	N
Plataforma	-	0.145	2.60	1.55	253	0.485
DENV-1	0,046.10 ⁶	0.164	4.27	0.318	400	0.627
	0,058.10 ⁶	0.191	5.06	0.209	390	0.656
	0,077.10 ⁶	0.171	5.90	0.210	376	0.655
	0,11.10 ⁶	0.154	6.60	0.217	358	0.652
	0,23.10 ⁶	0.131	7.43	0.25	335	0.643
CHIKV	0,046.10 ⁶	0.234	3.21	0.191	471	0.669
	0,058.10 ⁶	0.238	4.02	0.197	462	0.665
	0,077.10 ⁶	0.220	4.93	0.198	450	0.662
	0,11.10 ⁶	0.190	5.70	0.238	433	0.647
	0,23.10 ⁶	0.166	6.73	0.247	385	0.642
DENV-2	0,046.10 ⁶	0.112	3.32	0.610	221	0.582
	0,058.10 ⁶	0.109	3.96	0.514	229	0.592
	0,077.10 ⁶	0.072	4.47	0.505	232	0.577
	0,11.10 ⁶	0.068	5.38	0.451	230	0.584
	0,23.10 ⁶	0.066	5.99	0.419	228	0.589

YFV	0,046.10 ⁶	0.179	3.37	0.426	400	0.613
	0,058.10 ⁶	0.160	4.20	0.383	410	0.615
	0,077.10 ⁶	0.171	4.63	0.295	408	0.628
	0,11.10 ⁶	0.152	5.27	0.302	407	0.624
	0,23.10 ⁶	0.141	5.88	0.308	393	0.623
ZIKV	0,046.10 ⁶	0.220	3.40	0.234	393	0.650
	0,058.10 ⁶	0.215	4.02	0.208	400	0.658
	0,077.10 ⁶	0.199	4.60	0.211	401	0.655
	0,11.10 ⁶	0.171	5.27	0.237	395	0.644
	0,23.10 ⁶	0.175	5.78	0.244	365	0.645
DENV-4	0,046.10 ⁶	0.157	3.20	1.077	329	0.563
	0,058.10 ⁶	0.136	3.86	0.545	334	0.592
	0,077.10 ⁶	0.091	4.62	0.595	324	0.574
	0,11.10 ⁶	0.055	5.20	0.639	294	0.561
	0,23.10 ⁶	0.046	5.77	0.564	260	0.567
DENV-3	0,046.10 ⁶	0.181	2.44	0.581	302	0.604
	0,058.10 ⁶	0.164	2.83	0.588	312	0.602
	0,077.10 ⁶	0.138	3.38	0.426	322	0.380
	0,11.10 ⁶	0.135	3.84	0.430	321	0.606
	0,23.10 ⁶	0.107	4.42	0.460	328	0.597

Ademais, o desempenho da plataforma PPy_AuNPs-Cys_UEA-I frente aos analitos foi avaliado através de uma variação relativa da R_{CT} (ΔR_{CT}). Esta variação pode ser calculada de acordo com a equação 1 representada abaixo:

$$\Delta R_{CT} (\%) = \left(\frac{R_{CT} (\text{ANALITO}) - R_{CT} (\text{BIOSSENSOR})}{R_{CT} (\text{BIOSSENSOR})} \right) \times 100$$

Equação 1

Nessa equação, o R_{CT} (analito) corresponde ao valor da resistência à transferência de cargas obtido após a exposição da plataforma aos analitos, e o R_{CT} (biossensor) é o valor da resistência à transferência de cargas da plataforma biossensora (Lucena et al., 2024).

Na Fig. 22 é possível visualizar um gráfico barras de ΔR_{CT} em função das amostras de arbovírus, onde foi comparada a variação de R_{CT} entre as amostras de maior concentração ($0,23 \cdot 10^6$ PFU.mL⁻¹). Os resultados demonstram um decréscimo gradual dos valores de ΔR_{CT} em função do grau de afinidade dos arbovírus à lectina UEA-I, onde o maior biorreconhecimento é apresentado pelo DENV-1, e o menor biorreconhecimento é expresso pelo DENV-3. Neste parâmetro, é possível observar, no entanto, que a plataforma biossensora demonstrou uma menor capacidade de diferenciação entre os arbovírus YFV, ZIKV e DENV-4, o que pode ser explicado pela distribuição glicídica dos vírus.

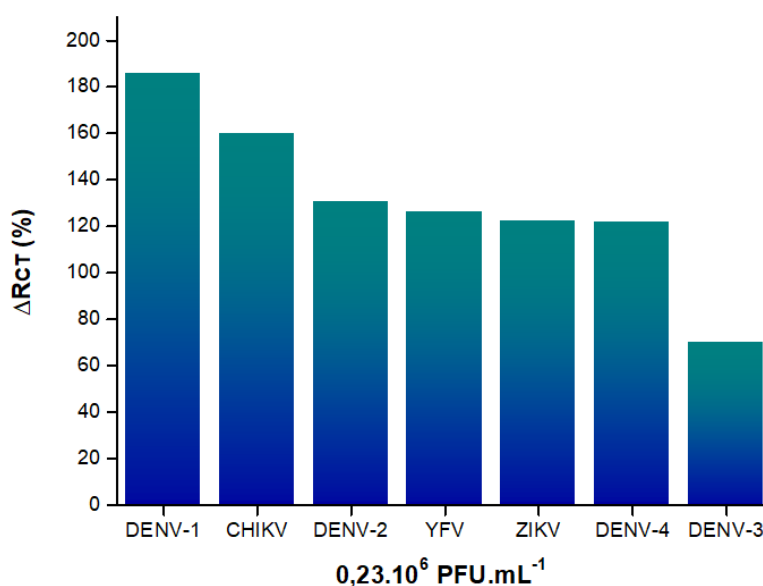


Figura 22. Gráfico de barras obtido a partir da extração de dados ΔR_{CT} (%) entre as amostras de maior concentração. Fonte: Autoria Própria (2025).

5.5

ENSAIOS DE SELETIVIDADE E INTERFERENTES

Com o objetivo de avaliar a seletividade da lectina UEA-I para sítios glicosilados compostos por fucose, o biossensor foi testado frente às soluções de fetuína, uma glicoproteína sérica, e de ovoalbumina, uma proteína utilizada como

modelo para aplicações de sensores em meios fisiológicos, uma vez que é importante averiguar a confiabilidade do biossensor frente a albumina sérica, proteína que pode interferir na confiabilidade dos resultados. Além destas, com o objetivo de observar a capacidade de reconhecimento de glicosídeos específicos, foi avaliada a resposta do biossensor frente à solução de GlcNAc.

A plataforma biossensora apresentou acentuada afinidade por ovoalbumina pelo aumento da resistência à transferência de carga (R_{CT}), demonstrado na Fig. 23. A ovoalbumina, em seu padrão de glicosilação, possui um sítio de N-glicosilação na Asn-293, expressa por uma cadeia de açúcar ligada ao nitrogênio, composta por aproximadamente cinco resíduos de manose e três de GlcNAc, sendo esta uma das moléculas de afinidade à lectina Ulex (Nakayama et al., 1976; Omana et al.; 2010). Ademais, a afinidade pela GlcNAc foi secundária à ovoalbumina, indicando que a afinidade da lectina Ulex é primariamente pela fucose, e inferior pela GlcNAc (Guo et al., 2019).

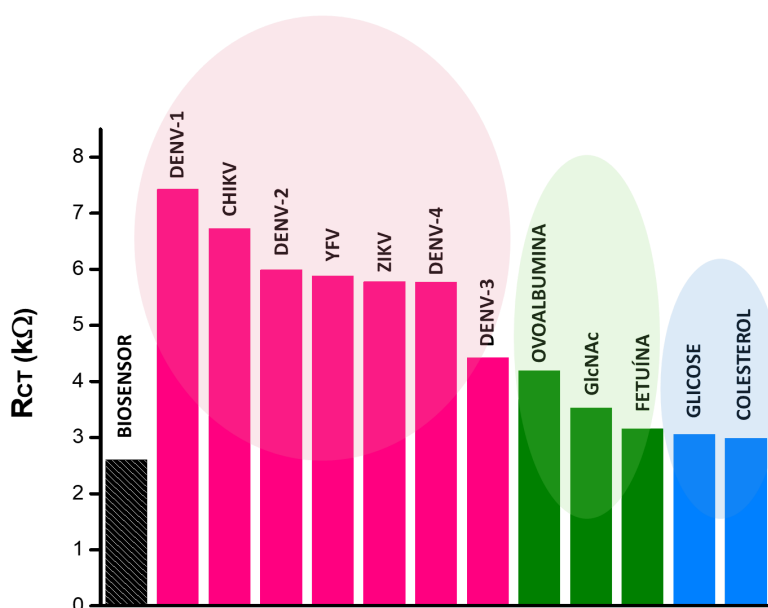


Figura 23. Gráfico de barras dos valores de R_{CT} resultantes dos ensaios de seletividade e interferentes frente à lectina UEA-I. Fonte: Autoria Própria (2025).

A avaliação de interferentes é essencial para observar a especificidade do biossensor quando exposto a moléculas não-alvo que possam comprometer a precisão da detecção (Liu et al., 2020; Su et al., 2023). Com base nisso, a

plataforma biossensora foi exposta às soluções de colesterol e glicose como moléculas interferentes. Os valores de R_{CT} apresentados na Fig. 24 indicam que o biossensor exibiu uma interação mínima com essas moléculas interferentes em comparação com as respostas obtidas para as amostras virais, comprovando sua especificidade. A glicose, que tem como principal característica ser um carboidrato pouco complexo, enquanto o colesterol possui uma estrutura tetracíclica e lipídica, apresentaram interações limitadas com a lectina *Ulex*, resultando em uma baixa detecção pela plataforma biossensora.

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi demonstrada a construção e caracterização de um biossensor eletroquímico baseado em filme polimérico de polipirrol (PPy), nanopartículas de ouro (AuNPs) e lectina *Ulex europaeus* (UEA-I). Os nanomateriais empregados proporcionaram a amplificação da capacidade condutora do biodispositivo ao aumentarem a superfície de contato, a estabilidade e a passagem de corrente elétrica sobre a plataforma. A lectina UEA-I foi utilizada como molécula de biorreconhecimento devido à sua capacidade de reconhecer resíduos de fucose presentes em estruturas virais.

Técnicas ópticas foram empregadas para a avaliação dos componentes do biossensor, como o filme de PPy e as AuNPs, que se mostraram funcionais para a aplicação proposta. As análises qualitativas e quantitativas das técnicas eletroquímicas confirmaram os processos de imobilização dos nanomateriais, da lectina e dos ensaios de biorreconhecimento frente a amostras de vírus isolados. Os dados impedimétricos demonstraram que o biossensor foi capaz de detectar concentrações crescentes dos quatro sorotipos da dengue (DENV 1–4), Zika (ZIKV), chikungunya (CHIKV) e febre amarela (YFV), apresentando interação mais expressiva para o sorotipo DENV-1. A sensibilidade do biossensor foi avaliada frente a soluções de ovoalbumina, fetuína e GlcNAc, que demonstrou ser responsivo ao reconhecimento de carboidratos, detectando com maior afinidade a ovoalbumina. Na avaliação de interferentes, o biossensor foi exposto a soluções de colesterol e glicose, exibindo interação mínima com essas moléculas em comparação às respostas obtidas frente às amostras virais.

O biossensor proposto mostrou-se promissor para a detecção de arboviroses e com potencial de ser utilizado como ferramenta complementar às metodologias convencionais de diagnóstico. Como perspectivas futuras, busca-se avaliar o comportamento do biossensor na detecção de arbovírus em amostras sorológicas de pacientes infectados e na presença de moléculas interferentes. Ademais, busca-se explorar a portabilidade e a miniaturização do biossensor com o uso de eletrodos flexíveis.

REFERÊNCIAS

- ABRANTES-COUTINHO, V. E. et al. Systematic review on lectin-based electrochemical biosensors for clinically relevant carbohydrates and glycoconjugates. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 208, p. 112148, dez. 2021.
- ALBUQUERQUE, Maria F. P. M. et al. Epidemia de microcefalia e vírus Zika: a construção do conhecimento em epidemiologia. **Cadernos de Saúde Pública**, [s.l.], v. 34, n. 10, p. 10-34, 11 out. 2018.
- ALMEIDA, Iasmim F. et al. The expansion of chikungunya in Brazil. **The Lancet Regional Health - Americas**, [s.l.], v. 25, p. 100571, set. 2023.
- AMENDOLA, Vincenzo; MENEGHETTI, Moreno. Size Evaluation of Gold Nanoparticles by UV-vis Spectroscopy. **The Journal Of Physical Chemistry C**, [s.l.], v. 113, n. 11, p. 4277-4285, fev. 2009.
- ANDRADE, Cesar. A. S. et al. Dielectric properties of Bauhinia monandra and Concanavalin A lectin monolayers, part I. **Journal Of Colloid And Interface Science**, [s.l.], v. 289, n. 2, p. 371-378, set. 2005.
- ARIF, Muhammad; RAZA, Hamid; AKHTER, Toheed. UV-Vis spectroscopy in the characterization and applications of smart microgels and metal nanoparticle-decorated smart microgels: a critical review. **Rsc Advances**, [s.l.], v. 14, n. 51, p. 38120-38134, nov. 2024.
- AVELINO, Karen Y. P. S. et al. Electrochemical DNA biosensor for chronic myelocytic leukemia based on hybrid nanostructure. **Bioelectrochemistry**, [s.l.], v. 147, p. 108176, out. 2022.
- AVELINO, Karen Y. P. S. et al. Nanostructured sensor platform based on organic polymer conjugated to metallic nanoparticle for the impedimetric detection of SARS-CoV-2 at various stages of viral infection. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, [s.l.], v. 206, p. 114392, nov. 2021.
- BARBOSA, Ana I. et al. Current nanotechnology advances in diagnostic biosensors. **Medical Devices & Sensors**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. e10156, dez. 2020.
- BARD, A. J., FAULKNER, L. R. Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, 2nd ed. **Wiley**, New York, 2002.
- BARTHOLOMEEUSEN, K. et al. Chikungunya fever. **Nat. Rev. Dis. Primers**, v. 9, n. 1, p. 17, mai. 2023.

BHAT, Eijaz A. et al. Insights into the structure, functional perspective, and pathogenesis of ZIKV: an updated review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 165, p. 115175, set. 2023.

BHATT, Puneet; et al. Current Understanding of the Pathogenesis of Dengue Virus Infection. **Current Microbiology**, [s.l.], v. 78, n. 1, p. 17-32, nov. 2020.

BOJAR, Daniel. et al. A Useful Guide to Lectin Binding: machine-learning directed annotation of 57 unique lectin specificities. **Acs Chemical Biology**, [s.l.], v. 17, n. 11, p. 2993-3012, jan. 2022.

BRITO, Carlos et al. Chikungunya: from hypothesis to evidence of increased severe disease and fatalities. **Viruses**, [s.l.], v. 17, n. 1, p. 62, jan. 2025.

BROWN, Julia E. et al. Human impacts have shaped historical and recent evolution in aedes aegypti, the dengue and yellow fever mosquito. **Evolution**, [s.l.], v. 68, n. 2, p. 514-525, out. 2013.

CAMPOS, Estefânia V. R. et al. Recent Developments in Nanotechnology for Detection and Control of Aedes aegypti-Borne Diseases. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, [s. l.], v. 8, 2020.

CAO, Zhenqian et al. Hierarchical Ni(OH)₂/Polypyrrole/Graphene Oxide Nanosheets as Excellent Electrocatalysts for the Oxidation of Urea. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, [s.l.], v. 6, n. 11, p. 15570-15581, out. 2018.

CAO-LORMEAU, Van-Mai et al., Zika Virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 20, n. 6, p. 1084-1086, jun. 2014.

CARBAUGH, D. L.; LAZEAR, H. M. Flavivirus Envelope Protein Glycosylation: Impacts on Viral Infection and Pathogenesis. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 94, n. 11, mai. 2020.

CAVALCANTI, Thaise Y. V. L. et al. A Review on Chikungunya Virus Epidemiology, Pathogenesis and Current Vaccine Development. **Viruses**, [s.l.], v. 14, n. 5, p. 969, mai. 2022

CERUTTI, Helena et al. Development of an Anti-Zika and Anti-Dengue IgM ELISA Assay: evaluation of cross reactivity and validation. **Tropical Medicine And Infectious Disease**, [s.l.], v. 7, n. 11, p. 348, nov. 2022.

CHANDLER, K. B. et al. Exploring Site-Specific N-Glycosylation Microheterogeneity of Haptoglobin Using Glycopeptide CID Tandem Mass Spectra and Glycan Database Search. **Journal Of Proteome Research**, [s.l.], v. 12, n. 8, p. 3652-3666, jul. 2013.

CHEN, Binqi. et al. Exploring the Mosquito–Arbovirus Network: a survey of vector competence experiments. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 108, n. 5, p. 987-994, mai. 2023.

CHEN, D. et al. Rapid and ultrasensitive electrochemical detection of circulating tumor DNA by hybridization on the network of gold-coated magnetic nanoparticles. **Chemical Science**, v. 12, n. 14, p. 5196–5201, jan. 2021.

CHEN, Rubing. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Togaviridae*. **Journal Of General Virology**, [s.l.], v. 99, n. 6, p. 761-762, jun. 2018.

CHIPPAUX, Jean-Philippe; CHIPPAUX, Alain. Yellow fever in Africa and the Americas: a historical and epidemiological perspective. **Journal Of Venomous Animals And Toxins Including Tropical Diseases**, [s.l.], v. 24, n. 1, p. 20-24, ago. 2018.

DIAS, Bruna P. et al. Challenges in Direct Detection of Flaviviruses: a review. **Pathogens**, [s.l.], v. 12, n. 5, p. 643, abr. 2023.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B. VON. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, p. 10–15, 2017.

EINLOFT, Ariadne B. N. et al. Data quality and arbovirus infection associated factors in pregnant and non-pregnant women of childbearing age in Brazil: a surveillance database analysis. **One Health**, [s.l.], v. 12, p. 100244, jun. 2021.

ELGRISHI, Noémie et al. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **Journal Of Chemical Education**, [s.l.], v. 95, n. 2, p. 197-206, nov. 2017.

FARAMARZI, Bahare et al. A Brief Review of FT-IR Spectroscopy Studies of Sphingolipids in Human Cells. **Biophysica**, [s.l.], v. 3, n. 1, p. 158-180, mar. 2023.

FARES, Rafaelle C. G.; SOUZA, Katia P. R.; AÑEZ, Germán; RIOS, Maria. Epidemiological Scenario of Dengue in Brazil. **Biomed Research International**, [s.l.], v. 2015, p. 1-13, 2015.

FERNANDES, Rosilainy S. et al. *Culex quinquefasciatus* from areas with the highest incidence of microcephaly associated with Zika virus infections in the Northeast Region of Brazil are refractory to the virus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s.l.], v. 112, n. 8, p. 577-579, jun. 2017.

GARCIA, Leila. P. Epidemia Do Vírus Zika E Microcefalia No Brasil: Emergência, Evolução e Enfrentamento. **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada**, [s. l.], ISSN 1415-4765, fev. 2018.

GERARD, M. et al. Application of conducting polymers to biosensors. **Biosensors And Bioelectronics**, [s.l.], v. 17, n. 5, p. 345-359, mai. 2002.

GIANCIECCHI, Elena et al. Yellow Fever: Origin, Epidemiology, Preventive Strategies and Future Prospects. **Vaccines**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 372, 2022.

GRIESHABER, Dorothee et al. Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures. **Sensors**, [s.l], v. 8, n. 3, p. 1400-1458, 7 mar. 2008.

GUO, Lili et al. A Universal Photochemical Method to Prepare Carbohydrate Sensors Based on Perfluorophenylazide Modified Polydopamine for Study of Carbohydrate-Lectin Interactions by QCM Biosensor. **Polymers**, [s.l], v. 11, n. 6, p. 1023, jun. 2019.

HERMAS, A. A. et al. In situ electropolymerization of conducting polypyrrole/carbon nanotubes composites on stainless steel: role of carbon nanotubes types. **Progress In Organic Coatings**, [s.l], v. 75, n. 4, p. 404-410, dez. 2012.

HOTEZ, Peter J. et al. What constitutes a neglected tropical disease? **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l], v. 14, n. 1, e0008001, jan. 2020.

HUAYU Y., et al. A sensitive electrochemical aptasensor for thrombin detection based on exonuclease-catalyzed target recycling and enzyme-catalysis, **Biosensors and Bioelectronics**, v. 47, p.368-372, 2013.

IONESCU, Rodica E. Use of Cysteamine and Glutaraldehyde Chemicals for Robust Functionalization of Substrates with Protein Biomarkers — An Overview on the Construction of Biosensors with Different Transductions. **Biosensors**, [s.l], v. 12, n. 8, p. 581, jul. 2022.

ISLAM, Muhammad T. et al. Production, Transmission, Pathogenesis, and Control of Dengue Virus: a literature: based undivided perspective. **Biomed Research International**, [s.l], v. 2021, n. 1, p. 1-23, jan. 2021.

JURADO-SÁNCHEZ, Beatriz. Nanoscale Biosensors Based on Self-Propelled Objects. **Biosensors**, [s.l], v. 8, n. 3, p. 59, jun. 2018.

KARNWAL, Arun. et al. Gold Nanoparticles in Nanobiotechnology: from synthesis to biosensing applications. **Acs Omega**, [s.l], v. 9, n. 28, p. 29966-29982, jul. 2024.

KATOCH, Rajan; TRIPATHI, Ankur. Research advances and prospects of legume lectins. *Journal Of Biosciences*, [s.l], v. 46, n. 4, p. 260, nov. 2021.

KONAMI, Yukiko; YAMAMOTO, Kazuo; OSAWA, Toshiaki. The Primary Structures of Two Types of the *Ulex europaeus* Seed Lectin1. **The Journal Of Biochemistry**, [s.l], v. 109, n. 4, p. 650-658, abr. 1991.

KONOZY, Emadeldin H. E. et al. Revolutionizing therapeutics: the dazzling world of plant lectins. **Journal Of King Saud University - Science**, [s.l], v. 36, n. 8, p. 103318, set. 2024.

KUMALASARI, Meiyanti R.; ALFANAAR, Rokiy; ANDREANI, Agustina S. Gold nanoparticles (AuNPs): a versatile material for biosensor application. **Talanta Open**, [s.l], v. 9, p. 100327, ago. 2024.

LAZANAS, Alexandros C.; PRODRONIDIS, Mamas I.. Spectroscopy—A Tutorial. **Acs Measurement Science Au**, [s.l.], v. 3, n. 3, p. 162-193, mar. 2023.

LEVA-BUENO, J.; PEYMAN, Sally A.; MILLNER, P. A.. A review on impedimetric immunosensors for pathogen and biomarker detection. **Medical Microbiology And Immunology**, [s.l.], v. 209, n. 3, p. 343-362, abr. 2020.

LEI, Y. et al. Characterization of N-Glycan Structures on the Surface of Mature Dengue 2 Virus Derived from Insect Cells. **Plos One**, [S.L.], v. 10, n. 7, p. 0132122, jul. 2015.

LI, Chien-Hsiu et al. Gold Nanoparticles as a Biosensor for Cancer Biomarker Determination. **Molecules**, [s.l.], v. 28, n. 1, p. 364, jan. 2023.

LIM, China Y. et al. Succinimidyl Ester Surface Chemistry: implications of the competition between aminolysis and hydrolysis on covalent protein immobilization. **Langmuir**, [S.L.], v. 30, n. 43, p. 12868-12878, out. 2014.

LINO, C. et al. Biosensors as diagnostic tools in clinical applications. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Reviews On Cancer**, [s.l.], v. 1877, n. 3, p. 188726, mai. 2022.

LIU, Yingzhu et al. Tuning Biosensor Cross-Reactivity Using Aptamer Mixtures. **Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 92, n. 7, p. 5041-5047, mar. 2020.

LOYOLA, Steev et al. Evaluation of Two Serological Assays for Diagnosing Zika Virus Infection. **Diagnostics**, [s.l.], v. 11, n. 9, p. 1696, set. 2021.

LUCENA, Raiza P. S. et al. Application of concanavalin A as a new diagnostic strategy for SARS-COV-2 spike protein. **Biochemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 201, p. 109116, jan. 2024.

MAGAR, Hend S.; HASSAN, Rabeay Y. A.; MULCHANDANI, Ashok. Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS): principles, construction, and biosensing applications. **Sensors**, [s.l.], v. 21, n. 19, p. 6578, out. 2021.

MANRING, Noel et al. Recent Advances in Electrochemical Tools for Virus Detection. **Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 94, n. 20, p. 7149-7157, mai. 2022.

MARIE, Ernstsson; TORBJÖRN, Wärmheim. Surface Analytical Techniques Applied to Cleaning Processes. **Handbook For Cleaning/Decontamination Of Surfaces**, [s.l.], p. 747-789, 2007.

MARTINS, Ana B. S.; ALENCAR, Carlos H. Ecoepidemiology of dengue in Brazil: from the virus to the environment. **One Health & Implementation Research**, [s.l.], p. 1-14, mar. 2022.

MAYER, Sandra V.; TESH, Robert B.; VASILAKIS, Nikos. The emergence of arthropod-borne viral diseases: a global prospective on dengue, chikungunya and zika fevers. **Acta Tropica**, [s.l], v. 166, p. 155-163, fev. 2017.

MELO, A. S. O. et al. Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg?. **Ultrasound In Obstetrics & Gynecology**, [s.l], v. 47, n. 1, p. 6-7, jan. 2016.

MESSINA, Jane P. et al. Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. **Trends In Microbiology**, [s.l], v. 22, n. 3, p. 138-146, mar. 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico - Volume 55 - nº 11**. [s. l.], 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2024/boletim-epidemiologico-volume-55-no-11.pdf/view>. Acesso em: 19 jul. 2025.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Painel de Monitoramento das Arboviroses - Dengue (2025)**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti/monitoramento-das-arboviroses>. Acesso em: 20 jul. 2025.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria no 204, de 17 de fevereiro de 2016. Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional, nos termos do anexo, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília (DF), fev. 2016; Seção 1:23.

MOLLARASOULI, Fariba; KURBANOGU, Sevinc; OZKAN, Sibel A.. The Role of Electrochemical Immunosensors in Clinical Analysis. **Biosensors**, [s.l], v. 9, n. 3, p. 86, jul. 2019.

MÜLLER-RENNO, Christine; ZIEGLER, Christiane. The Contribution of Scanning Force Microscopy on Dental Research: a narrative review. **Materials**, [S.L.], v. 17, n. 9, p. 2100, abr. 2024.

MURPHY, C. J. et al. Gold Nanoparticles in Biology: beyond toxicity to cellular imaging. **Accounts Of Chemical Research**, [s.l], v. 41, n. 12, p. 1721-1730, ago. 2008.

MUSSO, Didier; DESPRÈS, Philippe. Serological Diagnosis of Flavivirus-Associated Human Infections. **Diagnostics**, [s.l], v. 10, n. 5, p. 302, mai. 2020.

NAIK, Sanjay; KUMAR, Sanjit. Applications of plant lectins in biotechnology and therapeutics. Journal Of Microbiology, **Biotechnology And Food Sciences**, [s.l], v. 11, n. 4, p. 4224, fev. 2022.

NAKAYAMA, T. et al. Biological Process of Carbohydrate Attachment to Ovalbumin1. **The Journal Of Biochemistry**, [s.l.], v. 79, n. 5, p. 871-881, mai. 1976.

NAVECA, Felipe G. et al. Reemergence of Dengue Virus Serotype 3, Brazil, 2023. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 29, n. 7, p. 1482-1484, jul. 2023.

NUNES, Priscila C. G. et al. 30 years of fatal dengue cases in Brazil: a review. **BMC Public Health**, [s.l.], v. 19, n. 1, p. 10-20, mar. 2019.

OLIVEIRA, Léony S. et al. Flexible genosensors based on polypyrrole and graphene quantum dots for PML/RAR α fusion gene detection: a study of acute promyelocytic leukemia in children. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, [s.l.], v. 235, p. 115606, out. 2023.

OLIVEIRA, Maria. D. L. et al. Electrochemical evaluation of lectin–sugar interaction on gold electrode modified with colloidal gold and polyvinyl butyral. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 66, n. 1, p. 13–19, out. 2008.

OLIVEIRA, Maria D. L. et al. Detection of dengue virus serotypes on the surface of gold electrode based on Cratylia mollis lectin affinity. **Sensors And Actuators B: Chemical**, [s.l.], v. 155, n. 2, p. 789-795, jul. 2011.

OMANA, D. et al. Ovomucin – a glycoprotein with promising potential. **Trends In Food Science & Technology**, [s.l.], v. 21, n. 9, p. 455-463, set. 2010.

PACHECO, Wagner F. et al. Voltametrias: Uma breve revisão sobre os conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516-537, jul. 2013.

PAN, Youheng et al. Recent Advances in Conductive Polymers-Based Electrochemical Sensors for Biomedical and Environmental Applications. **Polymers**, [s.l.], v. 16, n. 11, p. 1597, jun. 2024.

PHAM, Tuyet N. L. et al. A comprehensive review of transduction methods of lectin-based biosensors in biomedical applications. **Heliyon**, [s.l.], v. 10, n. 19, p. e38371, out. 2024.

PIONTEK, Melissa C. et al. Atomic Force Microscopy: an introduction. **Methods In Molecular Biology**, [s.l.], p. 243-258, set. 2017.

POSSAS, Cristina. et al. Yellow fever outbreak in Brazil: the puzzle of rapid viral spread and challenges for immunisation. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s.l.], v. 113, n. 10, p. 1287-1298, set. 2018.

RAFIEE, Mohammad et al. Cyclic voltammetry and chronoamperometry: mechanistic tools for organic electrosynthesis. *Chemical Society Reviews*, [s. l.], v. 53, n. 2, p. 566–585, 2024.

RAMESH, Manickam et al. Nanotechnology-Enabled Biosensors: a review of fundamentals, design principles, materials, and applications. **Biosensors**, [s.l], v. 13, n. 1, p. 40, dez. 2022.

ROBERT, Michael A.; STEWART-IBARRA, Anna M; ESTALLO, Elizabet L. Climate change and viral emergence: evidence from aedes-borne arboviruses. **Current Opinion In Virology**, [s.l], v. 40, p. 41-47, fev. 2020.

SALLES, Tiago S. et al. History, epidemiology and diagnostics of dengue in the American and Brazilian contexts: a review. **Parasites & Vectors**, [s.l], v. 11, n. 1, p. 364-276, abr. 2018.

SAMANTA, D.; SARKAR, A. Immobilization of bio-macromolecules on self-assembled monolayers: methods and sensor applications. **Chemical Society Reviews**, [s.l], v. 40, n. 5, p. 2567–2592, jul. 2011.

SANTOS SILVA, P. M. et al. Electrochemical Biosensing Strategies to Detect Serum Glycobiomarkers. **Advances in Research**, [S. l.], v. 6, n. 6, p. 1–17, abril 2016.

SANTOS, Luiza G.T. et al. Nanostructured genosensor platform based on polypyrrole film and graphene quantum dots for the detection of high-risk HPV. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, [s.l], v. 263, p. 116920, set. 2025.

SENA, Brena F. et al. Advancing arbovirus diagnosis in Brazil: strengthening diagnostic strategies and public health data collection. **The Brazilian Journal Of Infectious Diseases**, [s.l], v. 28, n. 3, p. 103766, mai. 2024.

SHANBHAG, Mahesh M. et al. Fundamentals of bio-electrochemical sensing. *Chemical Engineering Journal Advances*, [s.l], v. 16, p. 100516, nov. 2023

SHARMA, A. et al. Wearable Biosensors: An Alternative and Practical Approach in Healthcare and Disease Monitoring. **Molecules**, v. 26, n. 3, p. 748, fev. 2021.

SHARMA, Rajesh et al. Structure-function insights into chikungunya virus capsid protein: small molecules targeting capsid hydrophobic pocket. **Virology**, [s.l], v. 515, p. 223-234, fev. 2018.

SHOYIGA, Hassan O.; FAYEMI, Omolola E.. Conductive polymers and derivatives as recognition element for electrochemical sensing of food and drug additives: a brief perspective. **Heliyon**, [s.l], v. 11, n. 2, e41575, jan. 2025.

SILVA, Natalia I. O. et al. Recent sylvatic yellow fever virus transmission in Brazil: the news from an old disease. **Virology Journal**, [s.l], v. 17, n. 1, p. 9-21, jan. 2020.

SIMÃO, Estefani P. et al. Nanostructured impedimetric lectin-based biosensor for arboviruses detection. **Talanta**, [s. l.], v. 208, p. 120338, fev. 2020.

SIMMONDS, Peter et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: flaviviridae. **Journal Of General Virology**, [s.l.], v. 98, n. 1, p. 2-3, jan. 2017.

SU, J. et al. Highly Sensitive Multi-Channel Biosensor for Low-Interference Simultaneous Detection. **Nanomaterials**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 246, 2023.

VARGHESE, Jano; SILVA, Imesh de; MILLAR, Douglas S.. Latest Advances in Arbovirus Diagnostics. **Microorganisms**, [s.l.], v. 11, n. 5, p. 1159, abr. 2023.

Varki A. et al. *Essentials of Glycobiology*. 3rd ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2015.

WHEELER, Anne C.. Development of Infants With Congenital Zika Syndrome: what do we know and what can we expect?. **Pediatrics**, [s.l.], v. 141, n. 2, p. 154-160, fev. 2018.

XAVIER, Analúcia R. et al. Yellow fever: laboratorial diagnosis and clinical manifestations. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s.l.], v. 54, n. 5, p. 54-60, 2018.

XIA, Fangzhou; YOUCEF-TOUMI, Kamal. Review: advanced atomic force microscopy modes for biomedical research. **Biosensors**, [S.L.], v. 12, n. 12, p. 1116, dez. 2022.

YORGANCI, Emine; AKYILMAZ, Erol. Alkaline Phosphatase Based Amperometric Biosensor Immobilized by Cysteamine-Glutaraldehyde Modified Self-Assembled Monolayer. **Artificial Cells, Blood Substitutes, And Biotechnology**, [s.l.], v. 39, n. 5, p. 317-323, jun. 2011.

ZENG, X. Carbohydrate–protein interactions and their biosensing applications. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, [s.l.], v. 402, n. 10, p. 3161-3176, dez. 2011.

ZHANG, Xindan et al. Application of Polypyrrole-Based Electrochemical Biosensor for the Early Diagnosis of Colorectal Cancer. **Nanomaterials**, [s.l.], v. 13, n. 4, p. 674, fev. 2023.