

## **REA 13 - Desenvolvimento e padronização de ensaio molecular para a detecção de vírus Mayaro**

Marcela Fontana<sup>1\*</sup>; Elisabete Andrade<sup>1</sup>; Marisa Ribeiro<sup>1</sup>; Daniele Rocha<sup>1</sup>; Elaine Costa<sup>1</sup>; Sthefanie Ribeiro<sup>1</sup>; Daniela T. Godoy<sup>1</sup>; Antonio G. P. Ferreira<sup>1</sup>; Patrícia Alvarez<sup>1</sup>.

1 Bio-Manguinhos / Fiocruz.

### **Introdução:**

O vírus Mayaro (MAYV) é um arbovírus pertencente ao gênero Alphavirus da família *Togaviridae*. A febre do Mayaro é uma zoonose silvestre transmitida por mosquitos, especialmente pelas picadas do *Haemagogus janthinomys*, que também transmite a febre amarela. Ensaios em laboratório já demonstraram que os mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* podem ser vetores do Mayaro. O fato de viverem próximos do homem e de se adaptarem facilmente ao ambiente urbano representa risco maior de se tornarem vetores envolvidos na disseminação da infecção pelo MAYV. Os sintomas da doença são muito parecidos com os da Dengue e da febre Chikungunya, o que dificulta o diagnóstico baseado na análise do quadro clínico.

### **Objetivo:**

Padronizar ensaio para diagnóstico molecular para detecção dos vírus Mayaro na plataforma de PCR em Tempo Real.

### **Metodologia:**

Os iniciadores e sonda utilizados na padronização do ensaio estão localizados na região conservada, nsP1. Em toda reação é utilizada uma partícula calibradora (PC), como controle interno do sistema. Até o momento, para a padronização da concentração de sonda e iniciadores, e para obtenção das provas de conceito, foram processadas amostras de cultura desse vírus.

### **Resultado:**

O processamento das amostras de cultivo do MAYV demonstrou resultados significativos, apresentando um bom desempenho das curvas de amplificação de MAYV e da PC, em uma mesma reação. Os testes de especificidade e reação cruzada foram realizados com amostras verdadeiras negativas e com outros arbovírus como, Zika e Chikungunya, e não apresentaram amplificação inespecífica e nem reação cruzada com

os outros arbovírus. Em testes preliminares, obtivemos MAY VIC e PC DYE3, como a combinação das fluorescências. As extrações de vírus de cultura de Mayaro foram feitas em sistemas automatizados de extração, em coluna de sílica ou com partículas magnéticas.

**Conclusão:**

Os testes realizados mostraram que a reação duplex, por PCR em tempo real, para Mayaro e PC é satisfatória. A padronização do ensaio descrito foi realizada com amostras de cultura. Entretanto, para a validação do sistema há necessidade de testes frente a amostras clínicas positivas, além de estudos de avaliação da metodologia, os quais definirão as características técnicas, como os níveis de sensibilidade, reprodutibilidade, especificidade entre outros.

**Palavras-chave: Vírus Mayaro; Diagnóstico; PCR em tempo real**