

## **OTR 08 - Análises estratégicas para minimizar reação cruzada em Teste de Neutralização por Redução de Placas de Lise do vírus da ZIKA**

Stephanie Almeida da Silva<sup>1\*</sup>; José Henrique Rezende Linhares<sup>1</sup>; Vanessa de Oliveira Santos<sup>1</sup>; Emily Hime Miranda<sup>1</sup>; Kátia Paulino Ribeiro de Souza<sup>1</sup>; Felipe Soares Figueiredo<sup>1</sup>; Marcia Archer da Motta<sup>1</sup>; Elena Caride<sup>1</sup>; Marcos da Silva Freire<sup>1</sup>; Sheila Maria Barbosa de Lima<sup>1</sup>.

1 Bio-Manguinhos / Fiocruz.

### **Introdução:**

O vírus ZIKA atualmente está disseminado em países da África, Ásia e Américas. Os sintomas são semelhantes aos de Dengue. Entretanto, após sua emergência no Brasil, observou-se o aumento de casos de microcefalia e síndrome de Guillain-Barré. Ao nível de diagnóstico, recomenda-se o Teste de Neutralização por Placas de Lise (PRNT, do inglês Plaque Reduction Neutralization Test) como teste confirmatório ao ELISA, uma vez que este método é considerado padrão ouro para quantificação de anticorpos neutralizantes. Entretanto, estudos preliminares demonstram a ocorrência de falsos positivos em pacientes que apresentaram infecção prévia por outros flavivírus. Sendo assim, avaliar estratégias para minimizar reações cruzadas é indispensável para a obtenção de um resultado confiável.

### **Objetivo:**

O principal objetivo do estudo é minimizar reações cruzadas com flavivírus no PRNT de ZIKA, a partir da análise de endpoint , 50% e 90%, e do tempo de neutralização do teste.

### **Metodologia:**

Para esta avaliação foram utilizadas quinze amostras, divididas em grupos, sendo: duas amostras positivas para ZIKA e negativas para Dengue (Z+/D-); duas amostras positivas para ZIKA e Dengue (Z+/D+); onze amostras coletadas no período anterior à circulação do vírus no Brasil, logo, negativas para ZIKA, porém entre estas, oito são positivas para Dengue (Z-/D+) e três são negativas para estes dois flavivírus , no entanto, positivas para Febre Amarela (Z-/D-/F+). Esses grupos foram todos previamente testados por PRNT de Dengue, e Febre Amarela no caso do último grupo. Além disso, os grupos positivos para ZIKA foram selecionados por quadros clínicos característicos e confirmados por PRNT.

Os resultados foram analisados por 50% (PRNT50) e 90% (PRNT90) de redução do vírus. Avaliou-se também o tempo de neutralização do teste, 1 e 2 horas.

**Resultado:**

O tempo de neutralização não impacta significativamente no título da amostra, escolhendo-se assim o tempo de 1 hora para otimizar o tempo do ensaio. Nesta análise exploratória, observou-se que por PRNT50 as amostras do grupo Z-/D-/ F+ apresenta uma pequena neutralização, enquanto que por PRNT90 os títulos encontram-se abaixo do limite de detecção do teste, o que sugere que não há reação cruzada com este flavivírus. Entretanto, o grupo Z-/D+ apresenta quatro amostras com títulos próximos à amostra de menor título do grupo Z+/D- quando analisado por PRNT50, e apenas uma amostra com esse perfil quando analisado por PRNT90. Sendo assim, verifica-se a presença de reação cruzada com Dengue, que pode ser minimizada pelo PRNT90, por ocasionar uma maior separação entre os grupos positivos e negativos para ZIKA.

**Conclusão:**

Mais análises devem ser realizadas. No entanto, o estudo sugere que não há reação cruzada com amostras positivas para Febre Amarela em PRNT de ZIKA. No entanto, este evento ocorre com amostras positivas para Dengue, podendo ser minimizado com o aumento do percentual de neutralização de 50% para 90%.

**Palavras-chave: ZIKA; Reação cruzada; PRNT**