

OTR8. AVALIAÇÃO DO PERFIL DE REPLICAÇÃO DO VÍRUS ZIKA EM CÉLULAS VERO.

Liliane Monteiro Morais¹; Marta Cristina de Oliveira Souza¹; Gisela Freitas Trindade¹; Mariana Pierre de Barros Gomes¹; Luiz Gustavo de Almeida Mendes¹; Patricia Alvarez Baptista¹; Kelly de Araujo Lucio¹; Marcia Archer da Motta¹; Ana Maria Bispo de Filippis²; Sheila Maria Barbosa de Lima¹.

¹ Bio-Manguinhos;

² IOC.

INTRODUÇÃO O vírus Zika (ZIKV) é um Arbovirus pertencente à família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus* e é transmitido por mosquitos do gênero *Aedes spp.* O Brasil vem enfrentando sérios problemas de saúde pública decorrente da epidemia causada pelo vírus Zika em diversas regiões do país. O Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos), responsável pelo desenvolvimento tecnológico e pela produção de vacinas, reativos e biofármacos voltados para atender prioritariamente às demandas de saúde pública nacional, está investindo em estudos que visam o desenvolvimento de uma vacina para o vírus Zika.

OBJETIVO O Laboratório de Tecnologia Viroológica (LATEV) busca caracterizar o comportamento do vírus em substratos celulares passíveis de aplicação em imunobiológicos de uso humano, acompanhar seu perfil de replicação e estabelecer um lote de trabalho que será usado em experimentos de caracterização viral.

METODOLOGIA A partir da cepa isolada de um paciente do Espírito Santo, o vírus foi amplificado em duas linhagens de células Vero ATCC (E6 e CCL81) utilizando cultivo estacionário em garrafas T-175. Bancos virais foram criados a partir dos dois substratos celulares, empregando meio de cultivo 199 contendo 5% de SFB. O perfil de replicação viral foi avaliado por plaqueamento e PCR em Tempo Real. Posteriormente, para refinamento do ensaio de plaqueamento, diferentes condições experimentais como densidade celular, concentração de meio semi-sólido e tempo de infecção foram testadas, objetivando a obtenção de plaques mais uniformes e tamanhos adequados à contagem, visando o estabelecimento das metodologias de titulação e PRNT (*Plaque Reduction Neutralization Test*). Com o objetivo de observarmos o comportamento do vírus em culturas de célula Vero, cinéticas de replicação viral foram realizadas com

coletas em intervalos de 8 h e 16 h pós infecção do vírus em células CCL81 durante 7 dias, utilizando três concentrações virais (MOI).

RESULTADOS Os bancos virais obtidos apresentaram título viral de 7,42 Log₁₀ PFU/mL e CT 14,45 e 6,54 Log₁₀ PFU/mL e CT 15,57, originados do substrato celular Vero CCL-81 e E6, respectivamente. A melhor condição de plaqueamento do vírus Zika foi obtida quando se empregou 2% de CMC, 100.000 cél/cm² e 4 dias de incubação. As cinéticas de replicação do vírus foram realizadas em meio contendo soro e os resultados ainda estão sendo avaliados. Análises iniciais indicam que o vírus atinge o pico de replicação entre o segundo e terceiro dia pós infecção em ambos os substratos celulares testados.

CONCLUSÃO Estes resultados nos permitem concluir que o vírus Zika, quando cultivado em células Vero certificadas e aprovadas para produção de imunobiológicos de uso humano, produz altos títulos virais, apresenta efeito citopático e forma placas de lise, característica importante para quantificação viral. As próximas etapas deste projeto incluem cinéticas de replicação em meio livre de soro, produção de um banco de trabalho, estudos de estabilidade e inativação viral.

PALAVRAS-CHAVE zika, virus, replicação.