

Desenvolvimento de método para rápida titulação do vírus Zika (ZIKV) por citometria de fluxo

Ithallo S. B. Tanabe¹; Thiago P. G. de Araújo²; Isadora M. T. C. Araújo²; Fábio E. F. dos Santos²; Felipe R. do Nascimento²; Eloiza L. de Lira²; Ana R. V. de Lima²; Alessandra A. Borges²; Ênio J. Bassi²

¹Laboratório de Pesquisas em Virologia e Imunologia (LAPEVI), Universidade Federal de Alagoas, 57072-900 Maceió, AL, Brasil. Email: sathio@gmail.com. ²Laboratório de Pesquisas em Virologia e Imunologia (LAPEVI), Universidade Federal de Alagoas, 57072-900 Maceió, AL, Brasil.

O vírus Zika (ZIKV) é um flavivírus causador de uma doença febril de caráter agudo. No ano de 2015, ocorreu um aumento no número de casos desta infecção no Brasil, onde uma associação entre esta infecção durante a gravidez e a ocorrência de microcefalia em recém-nascidos foi observada. Atualmente, os métodos laboratoriais para determinação do título e soroneutralização viral são baseados no ensaio de formação de placas em monocamada celular, sendo laboriosos e levando de 5 a 7 dias para obtenção do resultado. Nos últimos anos, a citometria de fluxo tem sido utilizada para detecção da infecção e titulação de diversos vírus de interesse em saúde humana. Neste trabalho, desenvolvemos um ensaio para determinação do título viral de uma forma rápida e precisa utilizando esta metodologia para a detecção da infecção de ZIKV em células Vero. Para isso, uma diluição seriada da amostra viral foi realizada previamente a adsorção viral por 1h e incubação das células em estufa a 37°C por 24h. Em seguida, uma suspensão celular foi obtida seguido da fixação, permeabilização (BD Cytotfix/Cytoperm) e marcação intracelular utilizando um anticorpo monoclonal anti-flavivirus (4G2) por 1h a 4°C. Após a lavagem, as células foram incubadas com o anticorpo anti-IgG de camundongo conjugado ao Alexa Fluor 488. Ao final do processo, uma lavagem foi realizada e as células suspendidas em PBS 2% SBF para aquisição no citômetro BD FACSCanto II. A frequência de células positivas nas amostras foi determinada utilizando como controle negativo as células não-infectadas com o vírus. O título viral obtido foi de $1,3 \times 10^{10}$ unidades infectantes/mL. Assim, desenvolvemos uma metodologia simples e rápida para determinação da titulação do ZIKV facilitando análises *high-throughput*. Além disso, este ensaio possibilitará o desenvolvimento de um ensaio para detecção de anticorpos neutralizantes para o ZIKV.

Palavras-chave: vírus Zika, titulação, citometria de fluxo.

Apoio: Ministério da Saúde/CNPq/SESAU-AL/ FAPEAL.