

## **Padronização de métodos para isolamento, titulação e detecção molecular de zika vírus**

**Eloiza L. de Lira<sup>1</sup>; Thiago P. G. de Araújo<sup>1</sup>; Ithallo S. B. Tanabe<sup>1</sup>; Dayse A. A. da Silva<sup>1</sup>; Jesualdo F. Vasconcelos Júnior<sup>1</sup>; Stephannie J. M. de Souza<sup>1</sup>; Ênio J. Bassi<sup>1</sup>; Alessandra A. Borges<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>*Laboratório de Pesquisas em Virologia e Imunologia (LAPEVI), Universidade Federal de Alagoas, 57072-900 Maceió, AL, Brasil. Email: lopeslira.eloiza@gmail.com.*

O zika vírus (ZIKV) consiste em um arbovírus, pertencente ao gênero *Flavivirus*, filogeneticamente próximo ao vírus dengue, febre amarela e West Nile, transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti*. Em 2015, infecções humanas foram reportadas no Brasil e, em paralelo com o crescimento das notificações, vieram o incremento de casos de síndrome de Guillain-Barré e de microcefalia em recém-nascidos. Diante disso, várias pesquisas vêm sendo realizadas a fim de elucidar aspectos epidemiológicos e imunológicos das infecções pelo ZIKV, sendo crucial, a priori, diferenciar estas infecções das provocadas pelo vírus dengue e chikungunya. Assim, o presente trabalho buscou padronizar o diagnóstico molecular de ZIKV através de RT-PCR, bem como o método de isolamento e titulação deste vírus. Para tanto, foi utilizada a cepa viral ZIKV 067 P05. Os métodos de isolamento e titulação viral foram embasados nos protocolos utilizados no laboratório para dengue e outros arbovírus. Referente ao isolamento, obtivemos sucesso na replicação do vírus em células C6/36 após incubação de no mínimo 5 dias. Por sua vez, a titulação por PFU teve êxito em células VERO, após 10 dias de incubação, obtendo o título de  $8 \times 10^6$ . Em relação à detecção molecular, após testar 4 metodologias, constatou-se que o melhor protocolo seria a realização de RT e PCR, separadamente, ambas com iniciadores específicos, o que gerou um método com sensibilidade de detecção de  $8 \times 10^4$  PFU/ml. Dessa forma, padronizamos métodos que estão servindo de base para o início das pesquisas com ZIKV em nosso laboratório, e fornecemos outras ferramentas de trabalho com este arbovírus.

**Palavras-chave:** C6/36, VERO, sensibilidade.

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