

ANÁLISE DE REAÇÃO CRUZADA DE TESTES RÁPIDOS DOS VÍRUS ZIKA E DENGUE EM CLÍNICA DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA DE BELO HORIZONTE

The analysis of the cross-reactivity in rapid tests of Zika and Dengue Virus at a fertility clinic in Belo Horizonte

Paula Fernandes Távora¹ Izabella Marçal Macedo², Sarah Isaac Bernardes²,

RESUMO

Introdução: O Zika vírus (ZIKV) é um arbovírus e sua infecção foi considerada uma doença benigna. No entanto, em 2016, ao perceber a correlação do ZIKV com a Síndrome de Guillain-Barré em adultos e a microcefalia em recém-nascidos, a doença foi considerada um problema de saúde pública. O diagnóstico clínico de Zika é complicado, pois seus sintomas se assemelham muito aos de outras arboviroses e foi percebido que nos testes rápidos ocorre reação cruzada entre anticorpos do vírus Dengue e do vírus Zika, o que torna o diagnóstico ainda mais desafiador. **Objetivo:** Avaliar se há reação cruzada entre a detecção de anticorpos da família do Zika e do Dengue Vírus na testagem rápida por imunocromatografia, e avaliar a incidência de resultados positivos nas amostras testadas. **Método:** Trata-se de um estudo observacional transversal, realizado com 83 mulheres que estavam em processo de reprodução assistida. A coleta dos dados foi realizada por meio de punção digital das participantes e o sangue coletado foi utilizado para os seguintes testes rápidos: Dengue IgG/IgM e Zika vírus IgG/IgM. **Resultados:** Foram avaliadas 83 mulheres com idade média de $36,8 \pm 4,4$ anos. Em relação às reações cruzadas, 12 mulheres (14,5%) obtiveram resultado positivo para Dengue IgG e para Zika IgG. Ainda, 1 paciente (1,2%) obteve resultado positivo para dengue IGM e para zika IGM. **Conclusão:** A utilização de testes rápidos para ZIKV para triagem sorológica em clínicas de reprodução assistida, que apresentam baixa ou nenhuma reação cruzada com outros vírus, é de grande importância para segurança do paciente.

Palavras-chave: Zika vírus; Infecção pelo Zika vírus; Microcefalia; Reações Cruzadas.

ABSTRACT

Introduction: The Zika virus (ZIKV) is an arbovirus and its infection was considered a benign disease. Though, upon realizing the correlation between ZIKV and Guillain-Barré Syndrome in adults and microcephaly in newborns, in 2016, it was decreed as a public health problem. The clinical diagnosis of Zika is complicated, as its symptoms are very similar to those of other arboviruses, nevertheless a cross reaction between antibodies of the Dengue virus and the Zika virus was noticed, which makes the diagnosis even more challenging. **Objective:** To assess whether there is a cross reaction between the detection of antibodies of the Zika virus and Dengue Virus family in rapid immunochromatographic testing, and the incidence of positive results between tested samples. **Method:** This is a cross-sectional observational study conducted with 83 women who were in the process of assisted reproduction. Data collection was performed using digital puncture of the participants and the blood collected was used for the following rapid tests: Dengue IgG / IgM and Zika virus IgG / IgM. **Results:** 83 women with a mean age of 36.8 ± 4.4 years were evaluated. Regarding cross reactions, 12 women (14.5%) had a positive result for Dengue IgG and for Zika IgG. In addition, 1 patient (1.2%) tested positive for dengue IGM and for Zika IGM. **Conclusion:** The use of rapid tests for ZIKV for serological screening in assisted reproduction clinics, which present low or no cross-reaction with other viruses, is of great importance for patient safety.

Keywords: Zika Virus; Zika Virus Infection; Microcephaly; Cross Reactions.

¹ Docente da Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais– Belo Horizonte, MG-Brasil

² Discente da Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais– Belo Horizonte, MG-Brasil

Autor para correspondência: Izabella Marçal Macedo – Rua Jornalista Juracy Manoel, N° 16/301. Bairro: Silveira – CEP: 31140370 – Belo Horizonte, MG- Brasil. e-mail: izabellamarcalm@gmail.com

INTRODUÇÃO

O Zika vírus (ZIKV) é um arbovirus que foi inicialmente isolado de macacos na floresta de Zika na Uganda em 1947. Ele chegou ao Brasil, provavelmente, trazido por estrangeiros e se fixou na região devido ao perfil socioeconômico e pelo clima predominantemente tropical.^{1,2}

Inicialmente, a infecção pelo ZIKV foi considerada uma doença benigna, já que a maioria dos casos eram assintomáticos ou apresentavam sintomas autolimitados, como febre, dor de cabeça, mialgia, artralgia, conjuntivite e exantema.³ No entanto, ao perceber a correlação do ZIKV com a Síndrome de Guillain-Barré em adultos e microcefalia em recém-nascidos, a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2016, declarou a infecção pelo Zika vírus um problema de saúde pública.⁴

A transmissão do ZIKV pode ocorrer pela picada do principal vetor urbano e suburbano *Aedes aegypti*.⁴ Além disso, há contaminação sexual e vertical, essa última sendo a mais preocupante para a chamada síndrome congênita do Zika Vírus. Essa síndrome compreende as alterações neurológicas percebidas em fetos após a exposição ao ZIKV intrauterina.⁴ A princípio, acreditava-se que os riscos de o feto contrair essa síndrome só existiam quando a mãe contraía o vírus no primeiro trimestre de gravidez, no entanto, foram identificadas anormalidades em fetos de mulheres com o vírus presente em várias semanas da gestação. Dessa forma, foi percebido que todos os três trimestres são vulneráveis.¹

O diagnóstico clínico de Zika é complicado, pois seus sintomas se assemelham muito aos de outras arboviroses, como Dengue (DENV) e Chikungunya.³ Assim, não é raro optar-se por métodos laboratoriais para diferenciar essas patologias. No entanto, foi percebida reação cruzada entre anticorpos do vírus Dengue e do vírus Zika, o que torna o diagnóstico ainda mais desafiador e potencialmente pode impactar na resposta imune a essas infecções, seja de forma protetiva ou patológica.⁵

Sabe-se que os flavivírus possuem um envelope proteico, este que é um dos principais alvos de neutralização dos anticorpos. Atualmente, alguns estudos perceberam grande semelhança entre os envelopes do Zika Vírus e do Vírus da dengue, algo em torno de 50% de homologia. Essa descoberta pode indicar um possível motivo para a alta taxa de reação cruzada entre os anticorpos dos flavivírus.^{2,5,6}

Sabendo dos efeitos catastróficos de uma infecção por Zika na gestação, a ANVISA, por meio da nota técnica n.º008/2016/GSTCO/GGMED/DIARE/ANVISA, propôs uma série de recomendações às pessoas que buscam ter filhos por reprodução assistida. As mulheres que realizam esse procedimento devem ser submetidas a exame laboratorial para detecção do anticorpo (IgM) contra o vírus Zika. Se o resultado for reagente ou inconclusivo, deve-se repetir o teste após, no mínimo, 30 dias. Se o resultado desse novo teste for não reagente e não houver sinais clássicos da doença, pode iniciar os processos de coleta dos ovócitos.⁷

Ainda, nessa nota é permitido o uso de testes rápidos para a detecção do IgM para o Zika Vírus. Entretanto, é realizada uma ressalva quanto ao número de falsos positivos e reações cruzadas que podem ocorrer ao utilizar essa metodologia.⁷ Dessa forma, o objetivo do presente

artigo é avaliar, na testagem rápida por imunocromatografia, se há reação cruzada entre a detecção de anticorpos da família do Zika e do Dengue Vírus. Além disso, objetivamos avaliar a incidência de resultados positivos nas amostras testadas.

MÉTODO

Trata-se de um estudo observacional transversal, realizado com 83 mulheres assintomáticas que estavam em processo de reprodução assistida de maio a setembro de 2019. Os critérios de inclusão foram: mulheres de idade entre 20 a 50 anos, de qualquer raça/cor, que estejam realizando técnicas de reprodução assistida na clínica. Os critérios de exclusão foram indivíduos desidratados, com pouca circulação colateral periférica e mulheres gestantes. Foi realizado o cálculo amostral para avaliar a proporção de reação cruzada considerando 5% de significância, 6% de erro e proporção estimada de 8,5%.

A coleta dos dados foi realizada por meio de punção digital das participantes que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e o sangue coletado foi utilizado para os seguintes testes rápidos: Dengue IgG/IgM (Sensibilidade: 100%/Especificidade: IgM: 98.1 e IgG: 98.1%) e Zika vírus IgG/IgM (Sensibilidade: 97,38%/Especificidade: IgM: 100% e IgG: 96,34%), ambos da marca “ECO Diagnóstica”. A análise do coletado se deu por meio do método Lateral Flow (Imunocromatografia).

As variáveis numéricas foram apresentadas como média \pm desvio-padrão e as variáveis categóricas, como frequências absolutas e relativas. As análises foram realizadas no software R versão 3.4.3. Os princípios de ética foram respeitados e estão de acordo com a Resolução 466/12, do Conselho Nacional de Saúde. Aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa pelo CAAE: 06373818.3.0000.5134.

RESULTADOS

Foram avaliadas 83 mulheres com idade média de $36,8 \pm 4,4$ anos. Dessas mulheres, 15,7% obtiveram resultado positivo para Dengue IgG, 21,7% tiveram o resultado positivo para Zika IgG. Quanto ao IgM, 2,4% obtiveram o resultado positivo para Zika e Dengue. Esses resultados estão explicitados na Tabela 1.

Em relação às reações cruzadas, 12 mulheres (14,5%) obtiveram resultado positivo para Dengue IgG e para Zika IgG e 1 mulher (1,2%) obteve resultado positivo para dengue IGM e para zika IGM.

Tabela 1. Resultados dos testes rápidos de Dengue e Zika em mulheres candidatas a reprodução assistida.

	<i>n</i> (%)
Idade	36,8 ± 4,4
Dengue IGG	
Positivo	13 (15,7)
Negativo	70 (84,3)
Zika IGG	
Positivo	18 (21,7)
Negativo	65 (78,3)
Dengue IGM	
Positivo	2 (2,4)
Negativo	81 (97,6)
Zika IGM	
Positivo	2 (2,4)
Negativo	81 (97,6)

DISCUSSÃO

Em relação à prevalência do ZIKV, no estudo de Tozetto-Mendoza et al⁹ foram detectados 40% de positividade para Zika Vírus, em uma amostra de 235 pessoas. Esse resultado está em desacordo com o encontrado nesse presente artigo, porém, deve-se levar em consideração que o critério para a realização do teste foi clínico, ou seja, era necessário portar os sintomas sugestivos de arboviroses. No presente artigo, realizamos uma triagem, preconizada pela nota técnica da ANVISA, em mulheres predominantemente assintomáticas.⁸

A queda dessa prevalência pode ter sido causada por diversos fatores, como, por exemplo, um maior cuidado ao se prevenir pela população estudada, já que há uma extensa divulgação dos danos que uma infecção por ZIKV pode gerar na gestação. Outro motivo pode ser a real queda do número de casos desde o pico observado em 2016. Além disso, sabemos que as arboviroses são sazonais e a época do ano que foi realizado o estudo pode ter interferido nessa prevalência.

No estudo de Zaidi et al⁹ foi realizado exame sorológico para Dengue e Zika (IgM e IgG), após a confirmação dessas infecções por PCR. Assim, foi percebido que daqueles que tiveram a positividade para o ZIKV no PCR e nunca foram infectados pelo Dengue vírus, 15% obtiveram IgG para DENV e 8% IgM para esse patógeno. Da mesma forma, daqueles que tiveram a positividade para o DENV e nunca infectados pelo Zika Vírus, 40% obtiveram IgG para ZIKV e não houve casos de IgM para esse patógeno. A metodologia entre os estudos varia, inclusive o método diagnóstico, que no nosso caso foi realizado por imunocromatografia.⁹

A reação cruzada entre os anticorpos IgG foi mais expressiva, tanto no presente estudo, quanto no estudo comandado por Zaidi et al⁹. Por esse motivo, as clínicas de reprodução assistida e a ANVISA preconizaram o uso apenas do teste IgM para a triagem na ocasião da fertilização.⁹

Exames laboratoriais para diagnóstico devem ser validados pela sua especificidade, sensibilidade e rapidez, para que haja uma boa correlação entre clínica e diagnóstico, assim como desfecho clínico favorável. Os testes laboratoriais que detêm essas qualidades são de grande importância na aplicação de rastreamento, diagnóstico e prevenção da transmissão de doenças infectocontagiosas. Utilizando os testes rápidos pela metodologia imunocromatografia é possível de forma diferenciada, com qualidade e rapidez, realizar a testagem no local de atendimento clínico, com profissionais de saúde treinados e habilitados para realização e liberação dos resultados, de ausência ou presença de anticorpos IgM para ZIKV e tomada de decisão pelo médico responsável pelo tratamento. Esta metodologia dispensa a utilização de equipamentos e é de grande usabilidade e aplicável ao contexto da realidade do país.¹⁰

Atualmente, o teste padrão ouro para a detecção da infecção aguda pelo ZIKV é a reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR).¹¹ No entanto o teste de diagnóstico rápido por imunocromatografia utilizado em ambientes como a das clínicas de reprodução assistida, onde é necessário triar um grande número de pessoas, em um curto período de tempo, confirma que utilizando o teste rápido de ZIKV IgM o rastreio oferece qualidade e segurança para o prosseguimento do tratamento. E caso a reação cruzada de falso positivo ocorra entre o histórico de Dengue e a triagem de Zika, a confirmação pelos métodos tradicionais pode ser recomendada, o que ocorrerá em um número muito menor de mulheres. Isso promoverá uma redução de tempo e recursos, otimizando o tratamento de reprodução assistida.

CONCLUSÃO

O Zika Vírus é uma preocupação global, principalmente quando foi descoberta a síndrome congênita e a relação com a Síndrome de Guillain-Barré em adultos. Dessa forma, estudos para aperfeiçoar o diagnóstico são extremamente necessários, principalmente em mulheres em idade fértil e que tem o desejo de engravidar.^{3,4}

A partir dos dados encontrados, nesta investigação, por testagem rápida em mulheres em início de tratamento para reprodução assistida, evidenciamos uma redução na prevalência de Zika Vírus na população de mulheres estudadas no ano de 2019 e reação cruzada de 14,5% nos testes de anticorpos IgG e 1,2% nos testes de anticorpos IgM.

O teste rápido é um teste que faz parte do grupo da metodologia Point of Care, esta que está sendo aperfeiçoada e, com os avanços tecnológicos, a acurácia dos testes está sendo otimizada e o diagnóstico é cada vez mais preciso. Os testes rápidos estão se mostrando um dos métodos mais rápidos e que podem ser inseridos no momento do atendimento. No entanto, há um longo caminho para se percorrer nessa área, e através do aumento da investigação laboratorial e aumento produção científica sobre a metodologia e a usabilidade será possível perceber a importância dos testes rápidos em rastreamento e triagem diagnóstica.

REFERÊNCIAS

1. Dias IKR, Sobreira CLS, Martins RMG, Santana KFS, Lopes MSV, Joventino ES, et al. Zika virus: - a review of the main aspects of this type of arbovirose. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2018; 51(3), 261-269
2. Priyamvada L, Quicke KM, Hudson WH, Onlamoon N, Sewatanon J, Edupuganti S, et al. Human antibody responses after dengue virus infection are highly cross-reactive to Zika virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(28):7852-7
3. de Moraes FM, Espósito DLA, Klein TM, da Fonseca BAL. Searching for the best real-time RT-PCRs to detect Zika virus infections: the importance of comparing several protocols. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2018;51(6), e7221.
4. Lowe R, Barcellos C, Brasil P, Cruz OG, Honório NA, Kuper H, et al. The Zika Virus Epidemic in Brazil: From Discovery to Future Implications. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(1):96.
5. Priyamvada L, Hudson W, Ahmed R, Wrammert J. Humoral cross-reactivity between Zika and dengue viruses: implications for protection and pathology. *Emerg Microbes Infect*. 2017;6(5):e33
6. Stettler K, Beltramello M, Espinosa DA, Graham V, Cassotta A, Bianchi S. Specificity, cross-reactivity, and function of antibodies elicited by Zika virus infection. *Science*. 2016;353(6301):823-6
7. ANVISA. Critérios técnicos para o gerenciamento do risco sanitário de células, tecidos germinativos e embriões humanos para uso terapêutico frente aos casos de infecção por vírus Zika no Brasil. Nota Técnica n.º 008/2016/GSTCO/GGMED/DIARE/ANVISA. RDC nº 72, de 30 de março de 2016.
8. Tozetto-Mendoza TR, Avelino-Silva VL, Fonseca S, Claro IM, Paula AV, Levin AS et al. Zika virus infection among symptomatic patients from two healthcare centers in Sao Paulo State, Brazil: prevalence, clinical characteristics, viral detection in body fluids and serodynamics. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 2019 ; 61: e19.
9. Zaidi MB, Cedillo-Barron L, González Y Almeida ME, Garcia-Cordero J, Campos FD, Namorado-Tonix K. Serological tests reveal significant cross-reactive human antibody responses to Zika and Dengue viruses in the Mexican population. *Acta Trop*. 2020 Jan;201:105201
10. Chen H, Liu K, Li Z, Wang P. Point of care testing for infectious diseases. *Clin Chim Acta*. 2019;493:138-147.
11. Mauk MG, Song J, Bau HH, Liu C. Point-of-Care Molecular Test for Zika Infection. *Clin Lab Int*. 2017 Jun; 41: 25–27.