

RAFAEL RAHAL GUARAGNA MACHADO

Soroprevalência da infecção pelos vírus Zika (ZIKV) e Dengue (DENV) em parturientes e transferência transplacentária de anticorpos anti-ZIKV e anti-DENV em neonatos na cidade de São Paulo, Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Edison Luiz Durigon.

Versão original simplificada.

São Paulo

2023

RESUMO

MACHADO, R. R. G. **Soroprevalência da infecção pelos vírus Zika (ZIKV) e Dengue (DENV) em parturientes e transferência transplacentária de anticorpos anti-ZIKV e anti-DENV em neonatos na cidade de São Paulo, Brasil.** [Tese (Microbiologia)]. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2023.

Os vírus Zika (ZIKV) e Dengue (DENV) são arbovírus circulantes no Brasil, que apresentam grande importância para saúde pública nacional. A capacidade de estimar a atual e futura dispersão desses vírus, depende significativamente do nosso conhecimento acerca do status sorológico em populações expostas. Atualmente, há uma escassez de dados na literatura em relação a prevalência de anticorpos anti-ZIKV e anti-DENV na população em geral e particularmente em mulheres grávidas brasileiras. A transferência transplacentária de anticorpos contra patógenos infecciosos é um importante mecanismo materno-fetal que fornece proteção ao recém-nascido (RN) nos primeiros meses de vida. Neste contexto, o presente estudo investigou a prevalência de infecção por ZIKV e DENV em parturientes, avaliando a transferência placentária de anticorpos anti-ZIKV e anti-DENV aos RNs. Dessa forma, foi realizado um estudo transversal com 601 parturientes e seus respectivos filhos recém-nascidos, atendidos no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU-USP), localizado na cidade de São Paulo, Brasil. Amostras de sangue total, soro e urina foram coletadas e armazenadas em biorrepositório. Informações sociodemográficas e características clínicas maternas e neonatais foram obtidas mediante entrevista e análise de prontuários médicos. Para avaliação da soroprevalência de infecção por ZIKV e DENV foram utilizados os ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA), para detecção de anticorpos IgM e IgG e os testes de neutralização viral baseado em efeito citopático (CPE-VNT) e de neutralização por redução de placas (PRNT), para detecção de anticorpos neutralizantes (nAbs). Além da investigação sorológica, os ácidos nucléicos totais das amostras biológicas foram extraídos por método semi-automatizado, seguido do RT-qPCR para o gene endógeno da RNase P e para investigação da presença do RNA viral do ZIKV e DENV. Verificou-se soroprevalência de 2,39% e 31,61% de anticorpos neutralizantes específicos contra ZIKV e DENV, respectivamente. A maior parte das gestantes apresentava imunidade aos quatro sorotipos de DENV (74,1%). Dentre as amostras com nAbs detectáveis, nenhuma amostra foi positiva para IgM anti-ZIKV e em 4,2% foram detectados anticorpos IgM anti-DENV. Todas as amostras testadas tiveram amplificação satisfatória para RNase P e foram negativas para a presença do RNA viral de ambos os vírus investigados. Além disso, foi possível determinar a efetiva passagem transplacentária (TR) de anticorpos específicos anti-ZIKV e anti-DENV de mães previamente infectadas ao respectivos filhos recém-nascidos. Níveis de IgG ZIKV e DENV específico foram significativamente maiores nas amostras do cordão umbilical do que nas respectivas amostras maternas ($p < 0.05$). Características maternas e neonatais foram correlacionadas tanto com a soropositividade para ZIKV e DENV quanto com a efetividade de transferência de anticorpos DENV específicos aos RNs. Devido a relativa baixa soroprevalência de ZIKV e DENV na população em estudo, este cenário alerta para a susceptibilidade a infecção por estes patógenos. Assim, com o conhecimento gerado no presente estudo espera-se contribuir para um melhor entendimento da soroprevalência de ZIKV e DENV em parturientes na região investigada e do perfil de TR aos neonatos, servindo como referência para a avaliação da eficácia do transporte transplacentário de anticorpos resultantes de futuros esquemas vacinais contra ZIKV e DENV em gestantes no Brasil.

Palavras-chave: Vírus Zika. Vírus Dengue. Soroprevalência. Anticorpos. Transferência transplacentária.

ABSTRACT

MACHADO, R. R. G. **Seroprevalence of Zika (ZIKV) and Dengue (DENV) virus infection in parturients and transplacental transfer of anti-ZIKV and anti-DENV antibodies in newborns in Southeast, Brazil.** [Thesis (Microbiology)]. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2023.

Zika (ZIKV) and Dengue (DENV) viruses are arboviruses circulating in Brazil, which are of great importance for national public health. The ability to estimate the current and future spread of these viruses depends significantly on our knowledge of the serological status in exposed populations. Currently, there is few data in the literature regarding the prevalence of anti-ZIKV and anti-DENV antibodies in the general population and particularly in Brazilian pregnant women. The transplacental transfer of antibodies against infectious pathogens is an important maternal-fetal mechanism that provides protection to the newborns (NB) in the first months of life. In this context, the present study investigated the prevalence of ZIKV and DENV infection in pregnant women, evaluating the transplacental transfer of anti-ZIKV and anti-DENV antibodies to NB. Thus, a cross-sectional study was carried out with 601 pregnant women and their newborn children, attended at the University Hospital of the University of São Paulo (HU-USP), located in the city of São Paulo, Brazil. Whole blood, serum and urine samples were collected and stored in a biorepository. Sociodemographic information and maternal and neonatal clinical characteristics were obtained through interviews and analysis of medical records. To assess the seroprevalence of ZIKV and DENV infection, enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) were used to detect IgM and IgG antibodies and viral neutralization tests based on cytopathic effect (CPE-VNT) and plaque reduction neutralization (PRNT), for detection of neutralizing antibodies (nAbs). In addition to the serological investigation, the total nucleic acids of the biological samples were extracted by a semi-automated method, followed by RT-qPCR for an endogenous gene (RNase P) and for investigation of the presence of viral RNA of ZIKV and DENV. There was a seroprevalence of 2.39% and 31.61% of specific neutralizing antibodies against ZIKV and DENV, respectively. Most pregnant women had immunity to the four DENV serotypes (74.1%). Among the samples with detectable nAbs, no sample was positive for anti-ZIKV IgM and in 4.2% anti-DENV IgM antibodies were detected. All tested samples had satisfactory amplification for RNase P and were negative for the presence of viral RNA of the investigated viruses. Furthermore, it was possible to determine the effective transplacental transfer (TR) of specific anti-ZIKV and serotype-specific anti-DENV antibodies from previously infected mothers to the newborns. ZIKV and specific DENV IgG levels were significantly higher in the umbilical cord samples than in the respective maternal samples. Maternal and neonatal characteristics were correlated both with seropositivity for ZIKV and DENV and with the effectiveness of transferring specific DENV antibodies to newborns. Due to the relatively low seroprevalence of ZIKV and DENV in the study population, this scenario alerts to the susceptibility to infection by these pathogens. Thus, with the knowledge generated in the present study, it is expected to contribute to a better understanding of the seroprevalence of ZIKV and DENV in parturients in the region under study and the TR profile of newborns, serving as a reference for evaluating the effectiveness of transplacental transport of antibodies resulting from future vaccination schedules against ZIKV and DENV in pregnant women in Brazil.

Keywords: Zika virus. Dengue virus. Seroprevalence. Antibodies. Transplacental transfer.