DETECÇÃO DE ARBOVÍRUS EM AMOSTRAS DE MOSQUITOS DO GÊNERO *Aedes* sp. NO MUNICÍPIO DE MARINGÁ

Ana Elisa Arantes de Oliveira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Rafaela Laner do Amaral (Coautor), Aline Ávila Brustolin (Coautor), Gabriela de Castro Prado (Coautor), Luciana Dias Ghiraldi Lopes (Orientador). E-mail: ldglopes@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Microbiologia/Biologia e Fisiologia dos Microorganismos.

Palavras-chave: Arboviroses; Dengue; Epidemiologia.

RESUMO

As arboviroses transmitidas por mosquitos do gênero *Aedes* constituem importante problema de saúde pública, tornando fundamental o monitoramento da circulação viral em áreas urbanas. Este estudo teve como objetivo detectar os vírus da dengue (DENV- 1, 2, 3 e 4), Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV) em mosquitos *Aedes* coletados em diferentes regionais do município de Maringá, Paraná, por meio de RT-qPCR. Os ovos foram coletados por ovitrampas pelos Agentes de Combate às Endemias e encaminhados ao Laboratório de Virologia Clínica da Universidade Estadual de Maringá para obtenção e identificação dos mosquitos adultos. Em outubro, foram contabilizados 3.887 ovos, dos quais 442 eclodiram, originando larvas, e 275 atingiram a fase adulta, correspondendo a taxas de eclosão de 11,37% e de desenvolvimento larva-adulto de 62,22%. Foram observadas dificuldades na eclosão das palhetas de novembro a janeiro, sendo identificada redução da viabilidade dos ovos associada ao armazenamento prolongado e posteriormente estabelecidos procedimentos padronizados para o cultivo. A etapa molecular encontra-se em andamento, incluindo extração de RNA e RT-qPCR das amostras de fevereiro a agosto. Adicionalmente, está sendo implementado um controle interno de presença de material genético do mosquito, visando aumentar a confiabilidade da interpretação das amostras negativas para os arbovírus. Os resultados contribuirão para o conhecimento da circulação de arbovírus com detecção viral direta em vetores e pode oferecer um alerta precoce antes do surgimento de casos humanos.

INTRODUÇÃO

Arboviroses são doenças causadas por vírus transmitidos por artrópodes hematófagos, como mosquitos do gênero *Aedes* (Donalísio et al., 2017). A intensa urbanização das regiões tropicais, associada à capacidade do *Aedes aegypti* de colonizar ambientes urbanos e à sua preferência por hospedeiros humanos, constitui um importante fator relacionado à emergência e à manutenção das arboviroses.

Essas características favoreceram o estabelecimento de ciclos urbanos de transmissão de arbovírus, como o vírus da dengue (DENV) e o vírus Chikungunya (CHIKV) (Weaver; Reisen, 2010).

No Brasil, a dengue, a Zika e a Chikungunya constituem importantes arboviroses que, após sua introdução no país, ocasionaram epidemias e impactos significativos à saúde pública. O vírus da dengue (DENV) foi o primeiro desses agentes a alcançar níveis epidêmicos, enquanto o vírus Zika (ZIKV) e o vírus Chikungunya (CHIKV) foram posteriormente introduzidos no território brasileiro. A circulação simultânea desses arbovírus representa um desafio para a vigilância epidemiológica, especialmente devido à ocorrência de manifestações clínicas semelhantes entre as infecções, o que evidencia a importância de métodos capazes de realizar sua detecção e diferenciação (Zanotto; Leite, 2018).

Até o início de agosto de 2026, foram registradas 2.737 notificações de dengue no município de Maringá, das quais 165 foram confirmadas com predomínio de circulação do sorotipo DENV-2, seguido por DENV-3 e DENV-1. No mesmo período, foram notificados 14 casos de Chikungunya e três de Zika, com três confirmações para Chikungunya e nenhuma para Zika (Paraná, 2026).

O monitoramento entomológico com detecção viral direta em vetores pode oferecer um alerta precoce antes do surgimento de casos humanos. A região de Maringá apresenta clima e condições urbanas propícias para a proliferação do *Aedes aegypti*, e os dados obtidos neste projeto podem contribuir para estratégias locais de vigilância e combate às arboviroses. Assim, o presente estudo tem como objetivo detectar a presença de arbovírus (dengue, chikungunya e Zika) em populações de mosquitos do gênero *Aedes* sp no município de Maringá-Paraná, por meio da técnica de RT-qPCR, contribuindo para o monitoramento e controle dessas doenças.

MATERIAIS E MÉTODOS

Captura de larvas, pupas, ovos e mosquitos adultos

Os ovos do mosquito foram coletados pelos Agentes de Combate às Endemias (ACEs) da Diretoria de Vigilância de Zoonoses e de Vetores/ Dengue da Secretaria de Saúde de Maringá, utilizando dispositivo ovitrampa, entre outubro de 2025 a agosto de 2026. O material foi encaminhado ao Laboratório de Virologia Clínica da Universidade Estadual de Maringá (UEM) para obtenção dos mosquitos adultos e identificação das espécies do gênero *Aedes*. Após a identificação, os mosquitos foram armazenados a -80 °C até o processamento.

Processamento e extração de RNA

Grupos de 10 mosquitos adultos, de cada regional de coleta, foram colocados em tubos Eppendorf contendo cinco beads de 5 mm e 1 mL Brazol (Nova Biotecnologia Ltad, São Paulo, Brasil) e 5,6uL de Carrier RNA, posteriormente colocado no aparelho disruptor L-Beader-3 Cell Disruptor (Loccus Biotechnology) a 2.800rpm por 1min conforme Sato, 2025. O RNA viral foi extraído do material triturado utilizando o QIAmp Viral RNA Kit (QIAgen), conforme as orientações do fabricante. Após a extração, a quantificação do RNA total (ng/mL) de cada amostra

foi realizada por meio da Invitrogen Qubit 4 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific), utilizando o Invitrogen Qubit RNA High Sensitivity (HS) Assay Kit (Thermo Fisher Scientific), seguindo o manual de instruções do fabricante.

RT-qPCR

A RT-qPCR foi realizada com o kit Biomol ZDC (Instituto de Biologia Molecular do Paraná [IBMP]), utilizando primers e sondas específicos para DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4, ZIKV e CHIKV, em termociclador QuantStudio 5 (Applied Biosystems). Foram utilizados controles positivos cedidos pelo Laboratório de Virologia Clínica, além do controle interno exógeno do exoesqueleto do inseto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o desenvolvimento do estudo, foram identificadas dificuldades nas etapas de obtenção dos mosquitos e de processamento molecular, sendo necessários ajustes e padronizações ao longo da experimentação. Em relação à obtenção dos mosquitos adultos, observou-se baixa eclosão nas palhetas provenientes das ovitrampas dos meses de novembro, dezembro e janeiro. Foram realizadas modificações nas condições de eclosão e acompanhamento do desenvolvimento, com significativa melhora a partir das palhetas de fevereiro. Esse comportamento levantou a hipótese de que o armazenamento prolongado das palhetas poderia reduzir a viabilidade dos ovos. Ensaios subsequentes confirmaram a perda gradual de viabilidade após 100 dias de armazenamento, com redução completa da taxa de eclosão por volta de 108 dias. A partir dessas observações, foram estabelecidos procedimentos padronizados para o acompanhamento da eclosão e do desenvolvimento dos mosquitos.

O mês de outubro de 2025 foi o primeiro analisado e, considerando as cinco regionais do município, foram contabilizados 3.887 ovos, dos quais 442 eclodiram, correspondendo a uma taxa de eclosão de 11,37%. Desses, 275 insetos atingiram a fase adulta, representando 62,22% das larvas obtidas e 7,07% do total de ovos coletados. Esses resultados demonstram a necessidade de padronização das condições de desenvolvimento para garantir quantidade adequada de insetos para as etapas subsequentes de análise molecular.

A detecção molecular dos arbovírus encontra-se em andamento, incluindo a extração de RNA e RT-qPCR das amostras obtidas entre fevereiro e agosto. Durante a padronização dessa etapa, verificou-se a necessidade de estabelecer um controle adicional aos já empregados na reação molecular para confirmar a presença de material biológico do inseto nas amostras. Esse controle permitirá verificar se as amostras negativas para DENV, ZIKV e CHIKV apresentam material genético do mosquito, contribuindo para distinguir a ausência verdadeira de RNA viral de resultados negativos decorrentes da baixa quantidade de material biológico ou de limitações durante o processamento da amostra.

A implementação desse controle constitui uma etapa adicional de validação da análise molecular, aumentando a confiabilidade da interpretação dos resultados negativos obtidos por RT-qPCR. A continuidade do processamento das amostras de fevereiro a agosto permitirá ampliar a análise da circulação dos arbovírus nas

diferentes regionais do município e, posteriormente, relacionar os resultados moleculares à distribuição dos mosquitos coletados.

CONCLUSÕES

A padronização das etapas de obtenção dos mosquitos e processamento molecular foi fundamental para garantir a continuidade e a confiabilidade das análises. A RT-qPCR encontra-se em andamento, juntamente com a implementação de um controle interno de presença de material genético do mosquito. O processamento das amostras de fevereiro a agosto permitirá ampliar a investigação da circulação de DENV, ZIKV e CHIKV em Maringá. Os resultados obtidos poderão contribuir para o aprimoramento da vigilância e do controle das arboviroses no município.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento à Fundação Araucária e à Universidade Estadual de Maringá pela concessão da bolsa, que possibilitou a realização deste trabalho.
Agradecimento especial ao Prof. Dennis Armando Bertolini, orientador inicial deste trabalho.

REFERÊNCIAS

DONALISIO, M. R. et al. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 51, p. 1-6, 2017.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Saúde**. Informe epidemiológico da dengue: casos por município**. Curitiba: Secretaria de Estado da Saúde, 2026. Disponível em: https://www.dengue.pr.gov.br/Pagina/Boletins-da-Dengue. Acesso em: 10 ago. 2026.

SATO, L. *et al.* Detection of Dengue virus serotype 2 (DENV-2) by RT-qPCR in *Aedes aegypti* in the state of Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2025.

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral Research**, v. 85, n. 2, p. 328–345, 2010.

ZANOTTO, P. M. A.; LEITE, L. C. C. The Challenges Imposed by Dengue, Zika, and Chikungunya to Brazil. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1964, 28 Ago 2018.