



## DETECÇÃO DO VÍRUS DA DENGUE SOROTIPO 2 (DENV-2) EM VETORES DO GÊNERO *Aedes* NO MUNICÍPIO DE MARINGÁ, PARANÁ

Léo Shigueki Sato<sup>1,3\*</sup>, Vitória Belucci Frachinconi<sup>2,3</sup>, Deborah de Castro Moreira<sup>3</sup>,  
Luciana Dias Ghiraldi Lopes<sup>3,4</sup>, Dennis Armando Bertolini<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PCS), Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil;

<sup>2</sup>Graduação em Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil;

<sup>3</sup>Laboratório de Virologia Clínica, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil;

<sup>4</sup>Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

\*[sshiguekisato@gmail.com](mailto:sshiguekisato@gmail.com)

**Área Temática:** Doenças Infecciosas e Parasitárias

### Resumo

O atual avanço da urbanização tem contribuído para uma maior distribuição geográfica dos vetores do gênero *Aedes* e conseqüentemente para a disseminação de arbovírus, como o da dengue (DENV), Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV), que compartilham os mesmos vetores do gênero *Aedes*. O desenvolvimento de métodos moleculares como a RT-qPCR para este fim tem se destacado como uma importante ferramenta para a vigilância virológica e este estudo teve como objetivo detectar os arbovírus em vetores do gênero *Aedes* capturados no município de Maringá. As áreas para coleta de amostras como ovos, larvas, pupas e insetos adultos de *Aedes* spp. foram selecionadas com base na distribuição dos casos de dengue no município de Maringá. Os mosquitos foram macerados para extração do RNA total e submetidos à RT-qPCR. Foram utilizados 389 insetos adultos para este estudo, sendo 383 (98,5 %) da espécie *A. aegypti* e outros 6 (1,5 %) restantes de *A. albopictus*. Estes insetos foram divididos em 16 pools, no qual um pool apresentou-se positivo para DENV-2 com Ct de 31,4. Esse resultado representa a possibilidade de uso dessa ferramenta para o mapeamento antecipado dos vírus no município antes do surgimento de casos em seres humanos.

**Palavras-chave:** *Aedes*; Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real; Vírus da Dengue.

### Introdução

O progresso da urbanização vem contribuindo para maior distribuição geográfica dos insetos vetores do gênero *Aedes* e, conseqüentemente, na disseminação dos arbovírus (vírus transmitidos por artrópodes), especialmente em regiões tropicais e subtropicais. O Brasil, um país de clima tropical, enfrenta graves problemas de saúde pública ocasionados pelos arbovírus, como da dengue (DENV), Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV) que compartilham os mesmos vetores urbanos: *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (Carrasquilla *et al.*, 2021). A grande relevância destes vírus na saúde humana têm sido uma das motivações para o desenvolvimento de novos estudos sobre vacinas e medicamentos antivirais, a fim de combater as arboviroses. Entretanto, ainda não existem tratamentos específicos para esses vírus, e considerando que a vacina está disponível apenas para dengue, o controle desses arbovírus ainda é dependente, em grande parte, do manejo dos próprios mosquitos transmissores (Kauffman; Kramer, 2017). Neste sentido, a vigilância ambiental e



entomológica vem sendo fundamental para o estudo dos vetores e da circulação dos vírus em ambientes urbanos. O desenvolvimento de um método como a RT-PCR (Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase, do inglês, *Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction*) em tempo real para este fim vem recebendo destaque como uma importante ferramenta para a vigilância virológica em vetores e análise de risco epidêmico (Costa *et al.*, 2017). Diante disso, o presente trabalho teve por objetivo detectar os arbovírus em vetores do gênero *Aedes* no município de Maringá.

## **Materiais e métodos**

### *Área de coleta*

As áreas para a realização da coleta dos ovos, larvas, pupas e insetos adultos do *Aedes sp.* foram selecionadas com base nas informações de distribuição de casos de dengue no município de Maringá, fornecidas pela Gerência de Vigilância de Zoonoses e Vetores da Secretaria de Saúde do município de Maringá.

### *Coleta de amostras*

A captura de ovos foi realizada com armadilhas de oviposição (ovitampa), instaladas no solo, durante um período de 7 dias. As palhetas de madeira, utilizadas para a oviposição, foram retiradas e substituídas por outra para permanecerem no mesmo local por mais 7 dias e, depois, as armadilhas foram recolhidas. As palhetas de madeira das armadilhas de oviposição foram encaminhadas para o laboratório, onde foram transferidos para um recipiente contendo água até a eclosão dos ovos. Os insetos adultos foram mantidos no recipiente próprio por um período de até 5 (cinco) dias e, depois, identificados para confirmação se pertencem ao gênero *Aedes* e armazenados em ultrafreezer -80 °C, até o momento de processamento. Foi realizada a identificação taxonômica destes insetos como *A. aegypti* e *A. albopictus*, de acordo com os aspectos morfológicos da região torácica do inseto, utilizando um estereoscópio.

### *Preparação e extração das amostras*

Os insetos adultos foram agrupados em pool para cada localidade de captura e espécie. Os insetos foram triturados em um tubo criogênico utilizando o disruptor de células Tissue Lyser L-Beater 3 (Loccus, São Paulo, Brasil), com o auxílio de *beads* de 2 mm. A extração do RNA total foi realizada com o kit Bio Gene Extração de DNA/RNA Viral (Bioclin-Quibasa Ltda., Minas Gerais, Brasil), de acordo com as especificações do fabricante.

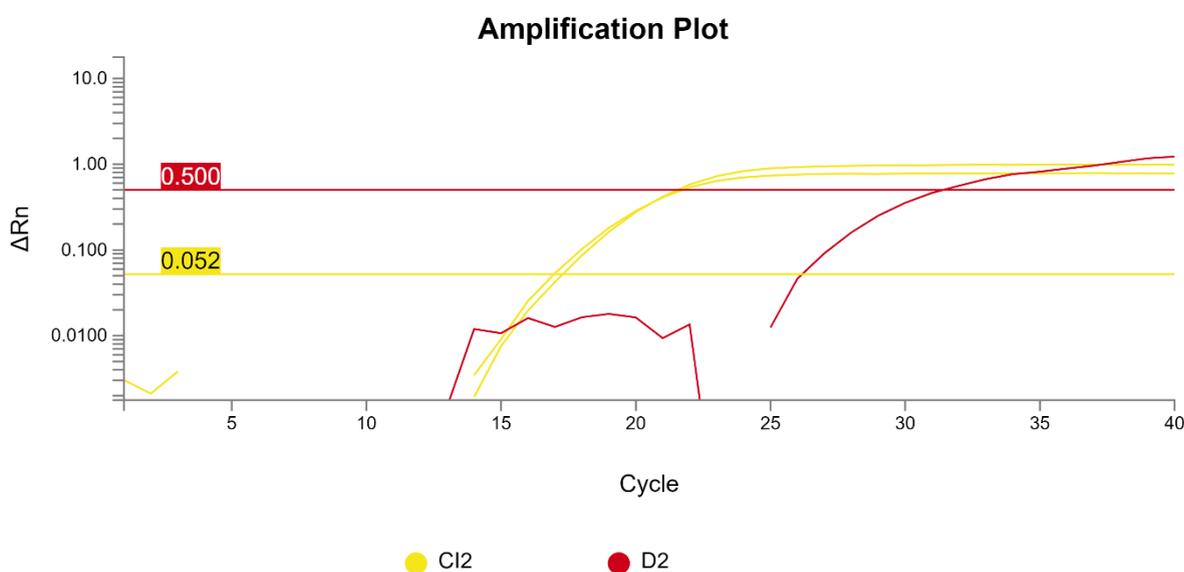
### *RT-PCR*

As reações de RT-qPCR foram executadas com a utilização do kit Biomol ZDC (Instituto de Biologia Molecular do Paraná [IBMP], Paraná, Brasil), de acordo com as especificações do fabricante. A amplificação consistiu em: 1 ciclo de 30 minutos a 51 °C para transcrição reversa; 1 ciclo de 15 minutos a 95 °C para ativação da polimerase; 40 ciclos de 15 segundos a 95 °C para desnaturação e de 1 minuto a 60 °C para o anelamento e polimerização. As amostras foram consideradas positivas quando apresentarem um limiar do ciclo (Ct, do inglês, *Cycle Threshold*) menor ou igual a 36.



## Resultados e discussão

Durante o período de fevereiro de 2023 a novembro de 2023 foram capturadas 389 amostras do gênero *Aedes* em 10 bairros do município de Maringá (Conjunto Habitacional Hermann Moraes Barros, Conjunto Residencial Paulino Carlos Filho, Jardim Copacabana, Jardim Dourados, Jardim Oasis, Jardim Tabaete, Loteamento Batel, Parque das Grevíleas, Vila Morangueira e Zona 04), nas quais 383 (98,5 %) sendo da espécie *A. aegypti*, e as 6 (1,5 %) restantes de *A. albopictus*. As amostras foram divididas em 16 pools com, em média, 24,3 insetos adultos por pool, variando de 20 a 36 insetos. Do total de 16 pools, foi possível detectar a presença de DENV-2 em um pool formado por 27 insetos adultos de *A. aegypti*, apresentando um Ct de 31,4 (Figura 1). As amostras que formaram o pool positivo foram coletadas no bairro Conjunto Habitacional Paulino Carlos Filho, nas quais foram capturadas em forma de larvas e pupas e também desenvolvidas a partir de ovos. De acordo com o informe epidemiológico 15 (2023/2024) da Secretaria da Saúde do Estado do Paraná (SESA), tinham sido notificados 30.715 casos e confirmados 4.308 casos no estado do Paraná e, destes, 1.494 notificações e 539 casos confirmados foram no município de Maringá até o momento da coleta das amostras (Paraná, 2024). Além disso, tem sido observado a circulação de dois sorotipos (DENV-1 e DENV-2) no Paraná, porém ainda não havia sido registrado a circulação do DENV-2 até a data de coleta das amostras no município de Maringá, o que não concorda com o nosso resultado.



**Figura 1.** Curva de amplificação de RT-qPCR detectável para DENV-2.

**Legenda:** CI2: controle interno 2 (em amarelo); D2: vírus da dengue sorotipo 2 (em vermelho).

## Conclusões

Foi possível detectar o DENV-2 por intermédio da RT-qPCR em inseto adulto de *A. aegypti* capturado no município de Maringá, o que representa a possibilidade de uso dessa ferramenta para o mapeamento antecipado dos vírus no município antes do surgimento de casos em seres humanos.



## Agradecimentos

Este estudo foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES – Código de Financiamento 001 e da Fundação Araucária de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Paraná (FA).

## Referências

- CARRASQUILLA, M. C. *et al.* Entomological characterization of Aedes mosquitoes and arbovirus detection in Ibagué, a Colombian city with co-circulation of Zika, dengue and chikungunya viruses. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 446, 2021. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-021-04908-x>.
- COSTA, C. F. da *et al.* Transovarial transmission of DENV in Aedes aegypti in the Amazon basin: a local model of xenomonitoring. **Parasites & Vectors**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 249, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2194-5>.
- KAUFFMAN, E. B.; KRAMER, L. D. Zika Virus Mosquito Vectors: Competence, Biology, and Vector Control. **The Journal of Infectious Diseases**, United States, v. 216, n. suppl\_10, p. S976–S990, 2017. Disponível em: [https://academic.oup.com/jid/article/216/suppl\\_10/S976/4753670](https://academic.oup.com/jid/article/216/suppl_10/S976/4753670).
- PARANÁ. **Informe Epidemiológico 15/2023-2024**. [S. l.], 2024. Disponível em: <https://www.documentador.pr.gov.br/documentador/pub.do?action=d&uuid=@gtf-escriba-sesa@192c257a-ee35-4b57-9fd5-09e0fab5653b&emPg=true>. Acesso em: 17 jun. 2024.