



Título:	VALIDAÇÃO DE ENSAIO DE RT-qPCR PARA DETECÇÃO DO VÍRUS DA DENGUE EM DIFERENTES FASES DE DESENVOLVIMENTO DE MOSQUITOS DO GÊNERO AEDES		
Autores:	Luana Pereira dos Santos Danieli Rosane Dallemole Augusto Ferreira Weber Beatriz Dorr Caniceiro Ingrid Guero Korb Manuela Weber José Lia Gonçalves Possuelo Andréia Rosane de Moura Valim		
Área	<input type="checkbox"/> Humanas <input type="checkbox"/> Sociais Aplicadas <input checked="" type="checkbox"/> Biológicas e da Saúde <input type="checkbox"/> Exatas, da Terra e Engenharias	Dimensão:	<input type="checkbox"/> Ensino <input type="checkbox"/> Pesquisa <input type="checkbox"/> Extensão <input checked="" type="checkbox"/> Inovação
Resumo:			
<p>Introdução: A dengue é uma arbovirose causada por um vírus de RNA da família <i>Flaviviridae</i>, diferindo-se em quatro sorotipos (DENV 1-4). Dessa forma, a infecção por um sorotipo não confere imunidade contra os demais, podendo a doença ser contraída até quatro vezes. Além disso, infecções subsequentes associam-se a manifestações clínicas graves, incluindo quadros hemorrágicos. A transmissão da dengue se dá através da picada de mosquitos do gênero <i>Aedes</i>. No Rio Grande do Sul (RS), em especial nas regiões dos Vales do Rio Pardo e Taquari, observa-se, na última década, um aumento da infestação pelos mosquitos <i>Aedes aegypti</i> e um incremento nos casos de dengue, com registros de transmissão autóctone. Esse cenário tem sido agravado por desastres climáticos recorrentes, como enchentes e ondas de calor, que criam condições favoráveis para a proliferação do vetor e ampliam o risco de transmissão viral. Portanto, compreender a dinâmica viral em uma região é de suma importância para a tomada de decisões preventivas e para minimizar o impacto sobre os sistemas públicos de saúde. Ademais, identificar a circulação dos sorotipos virais nos vetores da dengue, ao longo de seus estágios de desenvolvimento, pode esclarecer os mecanismos de circulação e manutenção do vírus no ambiente durante os intervalos entre surtos e permitir identificar formas alternativas de transmissão, como a transovariana e venérea entre os vetores.</p> <p>Objetivo: Padronizar a extração de RNA e a reação de cadeia da polimerase em tempo real com transcrição reversa (RT-qPCR) para detecção de dengue e identificação dos seus sorotipos em ovos, larvas e mosquitos adultos do gênero <i>Aedes</i> spp., bem como investigar a presença do vírus em amostras coletadas no município de Venâncio Aires (RS), Brasil.</p> <p>Metodologia: A extração foi realizada utilizando MagMAX CORE Kit em extrator automático (EXTRACTA 32, Loccus), e a amplificação com AgPath-ID One-Step RT-PCR Reagents, usando <i>probes</i> e <i>primers</i> específicos para cada sorotipo. O gene <i>rpL8</i> e oligos sintéticos de cada sorotipo viral foram utilizados como controle positivo (CP) de reação.</p> <p>Resultados: Foi possível amplificar o <i>rpL8</i> nas diferentes matrizes, evidenciando o sucesso na extração de ácidos nucleicos. O ensaio se mostrou</p>			



específico (negativo para Chikungunya e positivo para DENV 1-4). Além disso, amostras de ovos, larvas e mosquitos contaminados com o CP sintético apresentaram amplificação para os 4 sorotipos e *rpL8*, demonstrando a não interferência das diferentes matrizes biológicas. A curva padrão para o DENV 1 permitiu determinar que o método é capaz de amplificar amostras com até 10^4 cópias mL⁻¹. Entre as amostras de campo coletadas em Venâncio Aires, 72% correspondiam a larvas e 28% a ovos, todas negativas para dengue. Portanto, esse trabalho piloto subsidiará ensaios futuros com maior número de amostras oriundas de Venâncio Aires, bem como, de outros municípios da região dos Vales do Rio Pardo e Taquari, ampliando o monitoramento e a compreensão da circulação viral em populações de *Aedes* spp. Além disso, a padronização dos ensaios de RT-qPCR em ovos de *Aedes* está alinhada às recentes mudanças nas estratégias de vigilância da dengue, que incluem a implementação de armadilhas Ovitrampas. **Conclusão:** Os dados resultantes serão incluídos em uma plataforma digital integrada contendo dados entomológicos, genômicos e epidemiológicos da dengue, que servirá de base para ação de equipes de controles de endemia dos municípios parceiros.

Link do Vídeo:

https://drive.google.com/file/d/1Tj0jsFevU_lg1UDl802lLiVRLwLBd0sy/view?usp=sharing