



DETECCIÓN MOLECULAR DE FLAVIVIRUS EN MOSQUITOS DE PARAGUAY (2016-2018) – RESULTADOS PRELIMINARES

Cardozo Fátima (fati.cardozo@hotmail.com)¹, Rojas Alejandra¹, Bernal Cynthia¹, Ferreira Luis², Díaz Luis Adrián³, Páez Malvina¹, Guillén Yvalena¹, Martínez Nidia², Contigiani Marta³, Mendoza Laura¹

¹ Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, San Lorenzo, Paraguay

² Servicio Nacional de Erradicación al Paludismo (SENEPA), Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Asunción, Paraguay

³ Instituto de Virología, "Dr. J.M. Vanella", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina

RESUMEN

Los Flavivirus constituyen un problema de salud pública y son transmitidos por artrópodos, principalmente mosquitos. En Paraguay los virus dengue, de la fiebre amarilla y el Zika fueron detectados en infecciones humanas, pero los estudios de flavivirus en mosquitos son escasos. Por ello, el objetivo del presente estudio fue detectar flavivirus en mosquitos colectados en zonas urbanas (San Lorenzo) y rurales (Reserva San Rafael, Itacurubi de la Cordillera y San José de los Arroyos) de Paraguay entre los años 2016-2018, por RT-PCR anidada genérica. Fueron colectados 2569 mosquitos, de 22 especies, siendo las especies más frecuentes *Culex quinquefasciatus* con 46,75% (1201/2569) y *Ochlerotatus scapularis* 19,77% (508/2569). En las colectas realizadas en áreas rurales fueron colectadas un mayor número y variedad de especies (2070 mosquitos, 20 especies) al comparar con las colectas urbanas (499 mosquitos, 11 especies). Para el análisis molecular se prepararon *pooles* de 1 a 35 mosquitos agrupados por especie, sitio, entre otros. Fueron analizados 201 *pooles* de mosquitos, de los cuales 45,3% (91/201) fueron positivos para Flavivirus, en su mayoría correspondientes a mosquitos de especie *Culex quinquefasciatus*, seguido de *Aedes aegypti*. Hasta el momento, 20 *pooles* positivos fueron secuenciados identificándose flavivirus de insectos (ISFV), detectándose principalmente *Culex Flavivirus*, *cell fusing agents Flavivirus* y *Kamiti river virus*. Estos resultados sugieren una amplia circulación de los ISFV en simultáneo con otros Flavivirus de importancia médica. La implicancia de los ISFV en la transmisión de arbovirus debe ser estudiada.

INTRODUCCIÓN

El género *Flavivirus* comprende 53 virus diferentes. Los mismos son arbovirus, por lo que para mantener un ciclo de transmisión requieren de un artrópodo (vector), los principales vectores constituyen los mosquitos. Paraguay posee una gran diversidad de especies de mosquitos (90 especies aproximadamente, según datos proveídos por el SENEPA), los que podrían actuar como vectores de estas virosis.

OBJETIVO

Detectar flavivirus en mosquitos colectados en zonas urbanas y rurales de Paraguay entre los años 2016-2018

MATERIALES Y MÉTODOS

Captura de mosquitos

- En zonas urbanas y rurales, en las 4 estaciones del año
- A través de trampas CDC y BG Sentinel, colocadas *overnight* (18 a 9 horas)
- Mínimo 2 noches de captura por sitio y por zona



Clasificación y Preparación de *pooles*

- Clasificados taxonómicamente, agrupándose en *pooles* de 1 a 35 mosquitos por especie, sitio, fecha de colecta y estado alimentario
- Los *pooles* fueron homogenizados diluidos en medio esencial mínimo (MEM), 10% con suero fetal bovino (SFB), 1% con antibiótico y 1% con antimicótico. Los homogeneizados fueron centrifugados para su descontaminación.



Procesamiento de *pooles*

- *Control interno: Actina-1* (Stanley y col., 2010)
- Los *pooles* fueron sometidos a RT-anidada genérica para Flavivirus según Sanchez Seco y col, 2005
- En los *pooles* de *Aedes aegypti* se realizó además la detección de los virus del dengue (DENV), Zika (ZIKV) y Chikungunya (CHIKV) según Waggoner y col., 2016
- Selección de *pooles* positivos para Flavivirus para secuenciación

RESULTADOS



2569 mosquitos colectados, 22 especies

Especies más frecuentes:

Culex quinquefasciatus (46,75%),
Ochlerotatus scapularis (19,77%) y
Coquilletidia sp. (8,2%)



- Colectas rurales (2070 mosquitos, 20 especies)
- Colectas urbanas (499 mosquitos, 11 especies)

En las colectas realizadas en áreas rurales fueron colectadas un mayor número y variedad de especies.

Fueron estudiados 201 *pooles* de mosquitos, de los cuales 91 (45,3%) *pooles* fueron positivos para el género *Flavivirus* (Tabla 1)

Tabla 1: Frecuencia de muestras positivas para *Flavivirus* por especie (N=91)

Especie	Frecuencia	%
<i>Culex quinquefasciatus</i>	65	71,43
<i>Aedes aegypti</i>	17	18,68
<i>Culex melanocomium</i>	5	5,49
<i>Ochlerotatus scapularis</i>	2	2,20
<i>Ochlerotatus</i> sp.	1	1,10
<i>Coquilletidia</i> sp.	1	1,10
Total	91	100,00

Todos los *pooles* de la especie *Aedes aegypti* fueron negativos para DENV, ZIKV y CHIKV.

Fueron seleccionados 20 positivos para Flavivirus para su secuenciación en los cuales se detectó principalmente *Culex Flavivirus* (CxFV), *cell fusing agents Flavivirus* y *Kamiti river virus*. Los mismos constituyen flavivirus de insectos (ISFV).

DISCUSIÓN/CONCLUSIÓN

En los *pooles* de mosquitos estudiados el 45,3% de las muestras fueron positivas para Flavivirus, identificándose flavivirus de insectos (ISFV) en las muestras secuenciadas. Estos resultados sugieren una amplia circulación de los ISFV. La implicancia de los ISFV en la transmisión de arbovirus debe ser estudiada.

Debido a los reportes de alta prevalencia CxFV en mosquitos de especie *Culex*, es necesario que los *pooles* de mosquitos positivos para Flavivirus de especie *Culex* sean sometidos a la detección previa de CxFV.

Estos resultados son preliminares, como **Perspectiva** a corto plazo del trabajo se encuentra la detección de CxFV (en proceso de implementación de la técnica), Alfavirus (ya implementada recientemente) y la detección específica de otros Flavivirus de importancia médica (en proceso de implementación) aún no analizados.

FINANCIACIÓN

Este Proyecto es financiado por el CONACYT a través del Programa PROCIENCIA con recursos del Fondo de Excelencia e Investigación - FEEI of FONACIDE