

# VIGILANCIA ENTOMOVIROLÓGICA EN RAPA NUI: DESARROLLO DE HERRAMIENTA PARA DETECTAR FLAVIVIRUS EN *Aedes Aegypti* (1451)

Caroca Rojas M<sub>1</sub>, Escobar Infante C<sub>2</sub>, Párraga San Román M<sub>2</sub>, Collao Ferrada X<sub>3</sub>

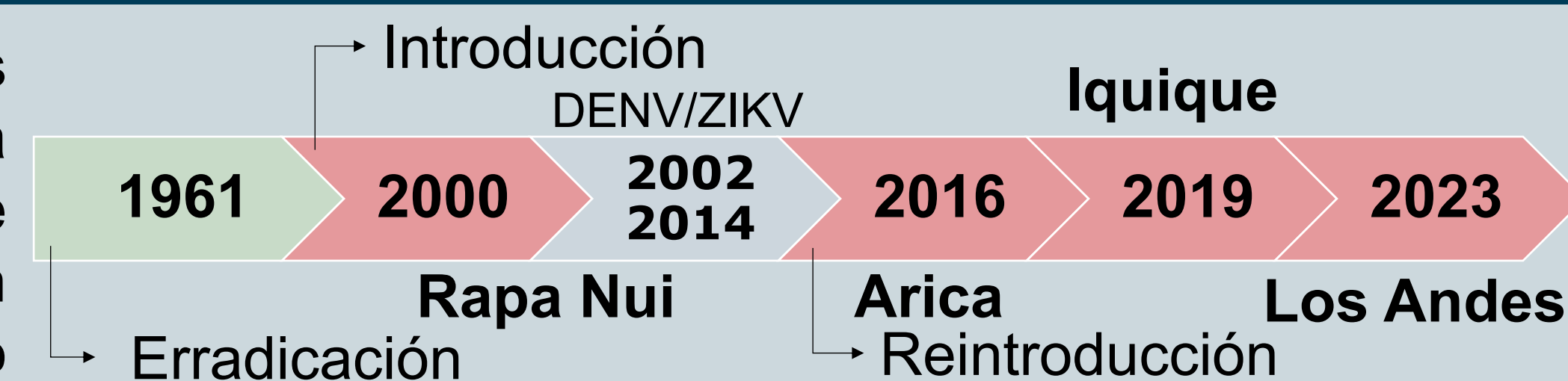
<sup>1</sup> Programa de Magíster en Ciencias médicas, mención biología celular y molecular. Escuela de Medicina, Facultad de Medicina. Universidad de Valparaíso.

<sup>2</sup> Centro Interdisciplinario de Investigación Biomédica e Ingeniería para la salud. MEDING. Escuela de Medicina, Facultad de Medicina. Universidad de Valparaíso.

<sup>3</sup> Virología. Departamento de Preclínicas. Centro Interdisciplinario de Investigación Biomédica e Ingeniería para la salud. MEDING. Escuela de Medicina, Facultad de Medicina. Universidad de Valparaíso.

## Introducción

La expansión de *Aedes aegypti* en Chile y el aumento sostenido de flavivirus en la Región de las Américas evidencian el riesgo de transmisión de enfermedades con una alta capacidad epidémica (1-3). La vigilancia entomoviroológica permite detectar oportunamente áreas de riesgo de transmisión al monitorear la presencia de flavivirus en mosquitos (4); sin embargo, las herramientas moleculares disponibles para su ejecución pueden reflejar de manera limitada la diversidad genética que circula en la región. La presente investigación tuvo como objetivo detectar virus del género *Flavivirus* mediante el desarrollo de una RT-PCR en tiempo real aplicada a la vigilancia de *Ae. Aegypti* en Rapa Nui, orientada a prevenir brotes de enfermedades transmitidas por arbovirus.



**Figura 1. Expansión de *Ae. aegypti* en Chile.** En azul los primeros casos de transmisión autóctona en Rapa Nui.

## Materiales y Métodos

### DISEÑO DE OLIGONUCLEÓTIDOS

- Alineamiento de diversas secuencias de especies del género *Flavivirus*.
- Diseño de oligonucleótidos degenerados (mFLAVI).

### RT-PCR EN TIEMPO REAL

- Validación del ensayo con controles positivos (DENV-2, ZIKV, WNV).
- Evaluación de especificidad y sensibilidad.

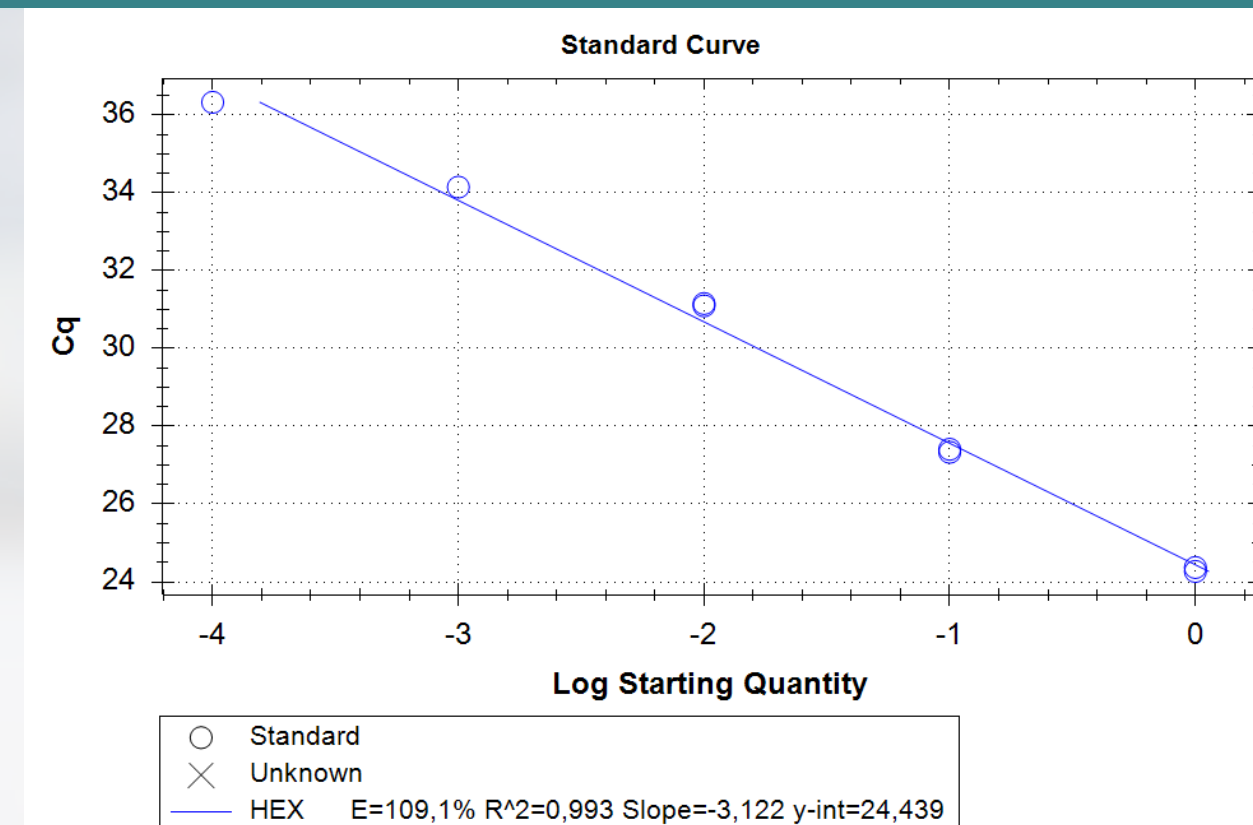
### ANÁLISIS DE MUESTRAS

- Aplicación del ensayo a pools de mosquitos *Ae. aegypti* provenientes de Rapa Nui.

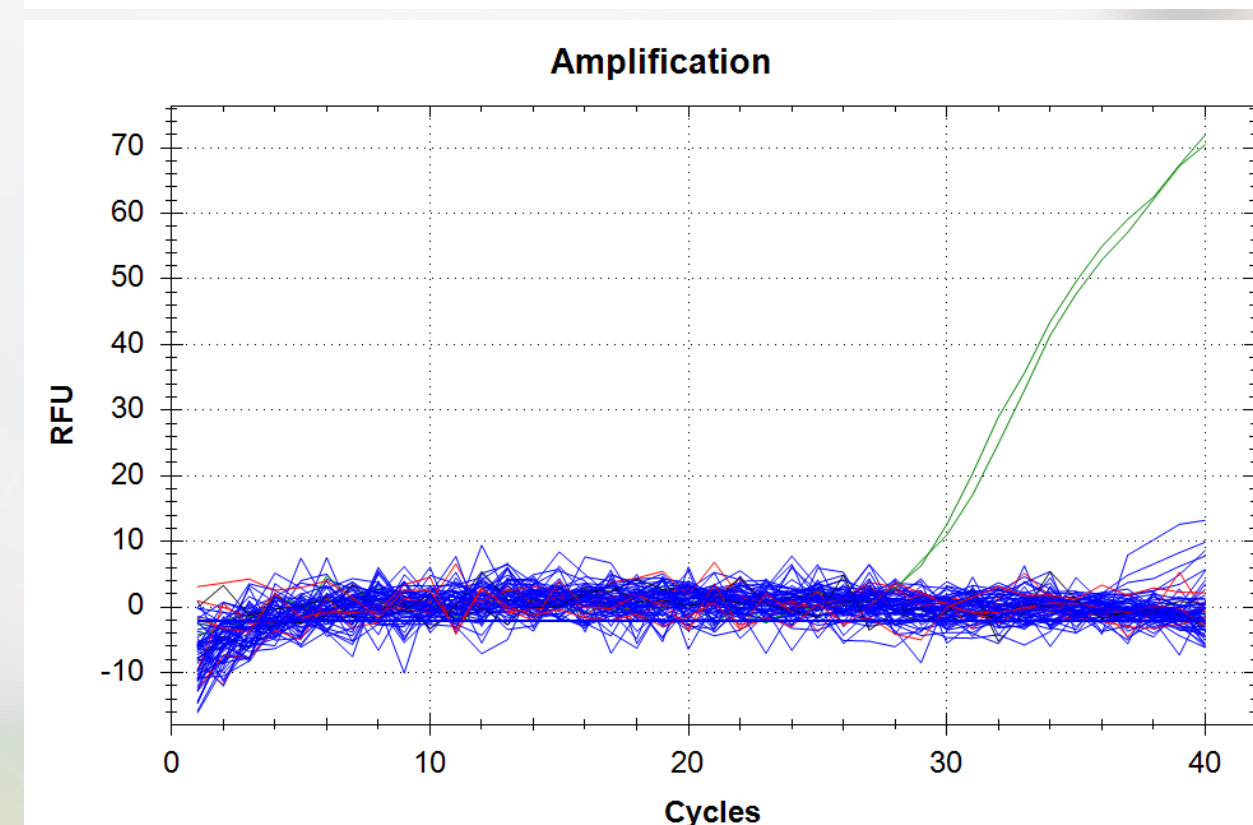


**Figura 2. Diseño de oligonucleótidos degenerados dirigidos al gen NS5 de los flavivirus utilizando el programa Geneious Prime (v. 2025.1.3).** Se muestra la posición y orientación de los oligonucleótidos en la secuencia consenso obtenida a partir del alineamiento múltiple de distintas especies del género *Flavivirus*.

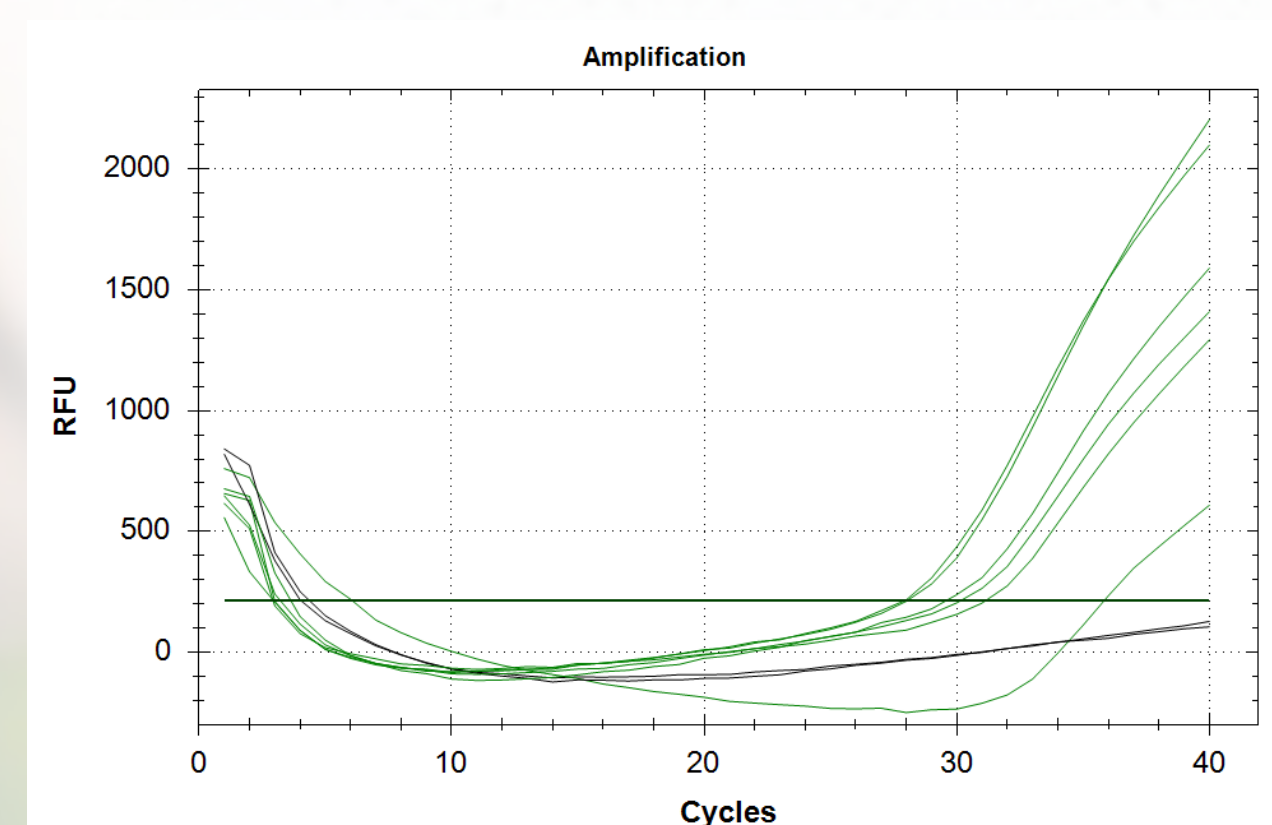
## Resultados



**Figura 3. Curva estándar obtenida a partir de RNA sintético de ZIKV.** Se elaboró con cinco diluciones seriadas en base 10, en un rango de  $6,5 \times 10^4$  y 6,5 copias/reacción. La eficiencia es de 109,1 %,  $R^2$  de 0,993, pendiente de -3,122 y la intersección en el eje y de 24,439.



**Figura 4. Análisis de muestras entomológicas y controles.** Amplificación de DENV-2, sin amplificación de los 26 pools de mosquitos, virus respiratorios ni controles negativos (NRT, NTC).



**Figura 5. Detección de flavivirus en matriz entomológica.** Amplificación de DENV-2 a diferente concentración en extracto de mosquitos, sin amplificación del control negativo (NTC).

## Conclusión

- Los oligonucleótidos degenerados mFLAVI son específicos y sensibles para la detección de diferentes especies del género *Flavivirus* mediante RT-PCR en tiempo real, incluso en matrices entomológicas complejas como extractos de mosquitos.
- Los mosquitos *Ae. aegypti* recolectados en Rapa Nui entre abril y junio de 2024 no presentaron genoma viral detectable de flavivirus al ser analizados con el ensayo de RT-PCR en tiempo real desarrollado.

## Agradecimientos

El estudio se enmarca en el proyecto Anillo ATE220020, financiado por ANID, "Red Una Salud: Dengue y Arbovirus Emergentes de Importancia Médica (DEMIV-OH)".



## Referencias

- Instituto de Salud Pública de Chile. Resultados de diagnóstico y confirmación de Culicidos. Chile, 2010–2016. Vigilancia de Laboratorio [Internet]. 2016;6(4). Available from: <https://www.ispch.cl/boletin/resultados-de-diagnostico-y-confirmacion-de-culicidos-chile-2010-2016/>.
- Oficina de Vigilancia de Enfermedades Transmisibles D de ES de SP. Boletín Epidemiológico Semanal: Arbovirus (dengue, zika, chikungunya, fiebre amarilla) y malaria, semana epidemiológica 39, 2025 [Boletín epidemiológico]. Santiago; 2025.
- Ministerio de Salud de Chile. Decreto N° 32: Modifica y prorroga el Decreto N° 28, de 2023, relativo a la alerta sanitaria por presencia de *Aedes aegypti* y otros vectores en las regiones que indica [Documento legal] [Internet]. Santiago; 2025 Jul. Available from: <https://www.diariooficial.interior.gob.cl/publicaciones/2025/07/30/44211/01/2677113.pdf>.
- Organización Panamericana de la Salud. Documento técnico para la implementación de intervenciones basado en escenarios operativos genéricos para el control del *Aedes aegypti* [Documento técnico]. Washington, D.C.; 2019.

ORGANIZAN

AUSPICIAN