

Livro de resumos

XXIVº ENCONTRO ANUAL DO GRUPO ARTHROMINT. 2023



XXIVº ENCONTRO ANUAL DO GRUPO ARTHROMINT|
27 a 30 de julho de 2023

Organização do Livro: Otávio F. Campolina, Gabriel C. A. Costa, Fernanda
Janku Cabral e Daniele Castro

5ª Edição

Livro de Resumos

XXIV ENCONTRO ANUAL DO GRUPO ARTHROMINT

2023

Encontro realizado presencialmente em:

27 a 30 de julho de 2023

Coordenadores do XXIV Encontro Anual do Grupo Arthromint:

Rodrigo Pedro Pinto Soares (CPqRR),
Álvaro Gil Araújo Ferreira (CPqRR),
Carolina Cunha Monteiro (CPqRR) e
Felipe Dutra Rêgo (CPqRR).

Secretaria:

Emerson de Avelar Teixeira

Home page:

<https://grupoarthromint.net.br/>

Redes sociais: <https://www.instagram.com/grupoarthromint/>;

https://www.facebook.com/grupoarthromint;

<https://twitter.com/arthromint>

Financiado por:

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Entomologia Molecular,
CAPES, CNPq FAPEMIG, FAPERJ, FAPESP, Fiocruz

Apresentação

O grupo de estudos Arthromint (Artrópodes e Helminthos) teve origem a partir de discussões entre pesquisadores durante o XXIV Encontro Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica (SBBq) em 1995. O grupo foi efetivamente implantado em 1997, ano em que começaram as reuniões anuais. A ideia original que tentamos conservar até hoje é o estímulo ao contato mais direto entre pesquisadores seniores com os estudantes, tanto de Pós-graduação como os de Iniciação Científica de diversas instituições brasileiras. Além disso, a presença de técnicos e agentes envolvidos com a promoção e a melhoria dos serviços de saúde do país têm apontado para a possibilidade adicional de integração da pesquisa acadêmica com a prática da saúde.

O encontro do Grupo Arthromint é hoje um dos principais eventos científicos da área de entomologia e helmintologia realizado regularmente no Brasil. Abrange as mais diversas áreas de pesquisa, com destaque para a fisiologia, genética, evolução, ecologia, controle, sistemática, epidemiologia, interação parasito/hospedeiro, comportamento, entomologia molecular, dentre outras.

O Arthromint é uma excelente oportunidade para troca de conhecimento entre os estudantes e pesquisadores, o que tem gerado um efeito positivo nas mais diversas pesquisas. Em mesas de discussões os estudantes e pesquisadores pós doutores apresentam seus trabalhos que são discutidos com os demais colegas e com pesquisadores/docentes.

Com a pandemia de Covid-19 que assolou o mundo em 2020, foram realizadas 4 edições do Encontro Virtual do Grupo Arthromint. Todas as quatro edições tiveram palestrantes de instituições nacionais e internacionais, com a participação maciça dos arthromíntic@s.

No ano de 2023 retornamos ao evento presencial, que ocorreu nos dias 27 a 30 de julho, cujos detalhes estão apresentados a seguir na programação e nos resumos dos participantes.

Os resumos contidos nesta publicação são de inteira responsabilidade de seus autores.

Comissão Organizadora

A organização do Arthromint é composta de coordenadores gerais e de coordenadores regionais. A cada ano os coordenadores gerais representam um estado do eixo Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais. Este ano (2023), os coordenadores gerais do encontro serão os pesquisadores/docentes de Minas Gerais. E os coordenadores regionais são pesquisadores/docentes representando as instituições majoritariamente frequentes no Encontro Arthromint.

Coordenadores Gerais

Minas Gerais

- Álvaro Gil Araújo Ferreira – CPqRR
- Carolina Cunha Monteiro – CPqRR
- Felipe Dutra Rêgo – CPqRR
- Rodrigo Pedro Pinto Soares – CPqRR

Coordenadores Regionais

Rio de Janeiro

- Daniele Pereira de Castro IOC

São Paulo

- Anderson de Sá Nunes - USP
- Aparecida Sadae Tanaka - UNIFESP
- Fernanda Janku Cabral - UNICAMP

Secretário: Emerson de Avelar Teixeira

Organização do Livro de Resumos: Daniele Castro (IOC/FIOCRUZ), Fernanda Janku Cabral (UNICAMP), Otávio França Campolina (UNICAMP) e Gabriel Cerqueira Alves Costa (UNIFESP)

Programação

Quinta-feira 27

16:00: Check-in

20:00-20:45: Erick Loza Telleria (Charles University, Prague, Czech Republic) "*The research internationalization and the advance in understanding the sand fly immune response*".

21:00-21:45: Petr Volf (Charles University, Prague, Czech Republic) "*Studies on various aspects of Leishmania-sand fly interaction*".

Sexta-feira 28

09:00-10:15: Mesas aleatórias

10:15-10:30: Coffee break

10:30-12:00: Mesas aleatórias

14:00-17:00: Mesas aleatórias

20:00-21:00: Marcus Vinícius Lacerda (ILMD, Fiocruz-AM, Manaus, Brasil) "*Vector Control for Malaria: Quo Vadis?*"

Sábado 29

09:00-10:15: Mesas aleatórias

10:15-10:30: Coffee break

10:30-12:00: Mesas aleatórias

14:00-17:00: Mesas temáticas

20:00-21:00: Mary Ann McDowell (Notre Dame University, IN, USA) "*Genomic Analysis of Two Phlebotomine Sand Fly Vectors of Leishmania from the New and Old World*".

Domingo 30

08:00: Encerramento

Sumário

Livro de Resumos do	1
Apresentação	2
Comissão Organizadora.....	3
Programação	4
MESAS TEMÁTICAS:	7
DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA E VETORES	8amo
TRANSGÊNESE E EDIÇÃO GÊNICA EM INSETOS VETORES.....	8
TECHNIQUES APPLIED TO SAND FLY-LEISHMANIA INTERACTION STUDIES.....	8
DESCOBERTA DE NOVOS FÁRMACOS NA ESQUISTOSSOMOSE.....	9
TÉCNICAS DE TEATRO APLICADAS A APRESENTAÇÃO DE AULAS, SEMINÁRIOS E CONCURSOS ACADÊMICOS	9
OS DESAFIOS E PERSPECTIVAS DE SE TRABALHAR COM <i>STOMOXYS CALCITRANS</i> , MOSCA-DOS-ESTÁBULOS	9
METODOLOGIAS ALTERNATIVAS PARA CONTROLE DE VETORES E PRAGAS	10
METABOLISMO DE LIPÍDEOS EM INSETOS VETORES	10
INTERAÇÕES TRIPARTITE VETOR-MICROBIOTA-PATÓGENO E VIGILÂNCIA NA ERA GENÔMICA	11
EFEITOS DA LUZ ARTIFICIAL SOBRE A BIOLOGIA DE INSETOS VETORES E A INCIDÊNCIA DE DOENÇAS	11
RESUMOS DOS PALESTRANTES	12
Dr. Erich Telleria.....	13
Dr. Petr Volf.....	14
Dr. Marcus Vinícius Lacerda.....	15
Dra. Mary Ann McDowell.....	15
RESUMOS DOS PARTICIPANTES	16
CARRAPATOS.....	17
<i>Amblyomma sculptum</i>	19
<i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	24
FLEBOTOMÍNEOS.....	27
<i>Lutzomyia longipalpis</i>	28
MOSQUITOS.....	34
<i>Aedes aegypti</i>	40
<i>Aedes fluviatilis</i>	79
<i>Anopheles aquasalis</i>	83
<i>Culex quinquefasciatus</i>	85
TRIATOMÍNEO	88

<i>Rhodnius prolixus</i>	92
TREMATÓDEOS	106
<i>Schistosoma mansoni</i>	107
MOSCA.....	111
BESOURO	116
PERCEVEJO	120

MESAS TEMÁTICAS:

DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA E VETORES

Coordenadores:

1. Leonardo Araújo de Abreu
2. Renata Monteiro Maia – IOC-Fiocruz

A produção e divulgação de materiais educativos de qualidade com linguagem acessível para a população compreende uma das ações de prevenção e controle de vetores de doenças parasitárias. O seu desenvolvimento e aplicabilidade no território pode ter maior alcance com o uso de plataformas digitais, levando em consideração os diferentes níveis de compartilhamento, engajamento e de interação com os diferentes perfis de usuários. A mesa pretende promover uma discussão sobre diferentes formas de realizar a divulgação científica e ações educativas em diferentes ambientes com os profissionais das áreas da saúde, ambiente e educação para a sociedade, com a temática de vetores de patógenos causadores de doenças infecciosas e parasitárias. Ao final podemos destacar recomendações para a disseminação de informações de materiais educativos de qualidade para diferentes públicos.

TRANSGÊNESE E EDIÇÃO GÊNICA EM INSETOS VETORES

Coordenadores:

1. Helena Araújo – UFRJ

Abordaremos metodologias de transgênese clássica em insetos com o uso de elementos transposidores, assim como a inserção de sequências exógenas por edição gênica baseada em CRISPR. Discutiremos os impactos dessas tecnologias para o controle biológico de insetos vetores de doenças.

TECHNIQUES APPLIED TO SAND FLY-LEISHMANIA INTERACTION STUDIES

Coordenadores:

1. Erich Telleria – Charles University
2. Dr. Petr Volf – Charles University

Nesta mesa temática, o Prof. Petr Volf apresentará as técnicas aplicadas na criação de flebotomíneos e experimentos de infecção com *Leishmania* para a pesquisa de interação entre parasita e vetor. Adicionalmente, o Dr. Erich Loza Telleria apresentará técnicas de silenciamento e edição gênica, tais como microinjeção de RNA dupla-fita (dsRNA) e de Cas9/gRNA utilizadas em silenciamento e edição gênica, respectivamente, em flebotomíneos. Os participantes são convidados a compartilhar seus comentários e dúvidas, preferencialmente em língua inglesa.

DESCOBERTA DE NOVOS FÁRMACOS NA ESQUISTOSSOMOSE

Coordenadores:

1. Lizandra Guidi Magalhães – UNIFRAN – Universidade de Franca-SP
2. Silmara Marques Allegretti – UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas – SP (Financiado pela FAPESP)

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a esquistossomose afeta mais de 200 milhões de pessoas em todo o mundo, com outras 600 milhões expostas ao risco de infecção. Diversos tratamentos já foram utilizados para esta parasitose e, apesar de estudos com várias classes de substâncias, o tratamento em todo mundo ainda se baseia no uso do Praziquantel (PZQ). Nessa mesa temática serão abordadas estratégias para o desenvolvimento de novos fármacos contra a esquistossomose, bem como a susceptibilidade de diferentes linhagens do parasita. Ensaio pré-clínicos serão discutidos visando o potencial terapêutico no modelo da esquistossomose.

TÉCNICAS DE TEATRO APLICADAS A APRESENTAÇÃO DE AULAS, SEMINÁRIOS E CONCURSOS ACADÊMICOS

Coordenadores:

1. Rodrigo Soares – IRR – Fiocruz

Neste curso exploraremos vários temas relacionados à apresentação de aulas e seminários acadêmicos, visando preparar os alunos para se sentirem à vontade ao falar em público. O curso focará nos seguintes aspectos: medo de falar em público, técnicas de relaxamento/aquecimento, postura, voz, presença, relação e proficiência. O curso abordará também técnicas para preparação de apresentações de dissertações, teses, apresentações em congressos e concursos.

OS DESAFIOS E PERSPECTIVAS DE SE TRABALHAR COM *STOMOXYS CALCITRANS*, MOSCA-DOS-ESTÁBULOS

Coordenadores:

1. Patrícia Fampa – UFRRJ
2. Dayna Rosa – UFRRJ

Stomoxys calcitrans ou moscas-dos-estábulo é um inseto cosmopolita pertencente à ordem Diptera e única espécie do gênero que ocorre nas Américas. Fêmeas e machos adultos apresentam a hematofagia como hábito alimentar, sendo vetores mecânicos de uma grande infinidade de patógenos de interesse veterinário, incluindo vírus, bactérias e protozoários, principalmente para bovinos e equinos. São também hospedeiros intermediários das larvas L3 do nematódeo *Habronema majus*, que causa habronemose equina. Suas picadas são dolorosas e geram muito estresse aos hospedeiros, afetando o ganho de peso em até 19%, com consequente redução da produção de carne. A redução da produção de leite pode ser de 40 a 60%. Tais efeitos apresentam sérias consequências para a economia do país. Estima-se que o prejuízo provocado por *S. calcitrans* seja de 340 milhões de dólares anuais no Brasil. Há alguns trabalhos recentes envolvendo a fisiologia de *S. calcitrans*, inclusive a descrição de seu

genoma, entretanto ainda restam várias questões a serem investigadas. Apresentaremos as linhas de pesquisa que vimos desenvolvendo em nosso laboratório, como o estabelecimento da colônia pela facilidade de obtenção da mosca no campus da nossa universidade, identificação e interação com um tripanosomatídeo encontrado na hemolinfa, questões metabólicas envolvendo de stress oxidativo, entre outros

METODOLOGIAS ALTERNATIVAS PARA CONTROLE DE VETORES E PRAGAS

Coordenadores:

1. Denise Feder – UFF
2. Tainá Neves – UFF

O controle de insetos vetores e pragas agrícolas se baseia majoritariamente na aplicação de inseticidas químicos, através da borrifação desses no habitat do inseto que, em alguns casos, pode incluir o ambiente domiciliar (intradomicílio e peridomicílio). Considerando que inseticidas químicos apresentam ação residual, sua aplicação pode gerar impactos negativos para a saúde do homem e animais, ao ambiente, bem como induzir a emergência de resistência aos inseticidas pelos insetos, levantando a questão sobre o controle químico ainda ser a principal forma de combate aos insetos. A mesa temática terá como objetivo discutir amplamente as técnicas alternativas ao controle químico de insetos. Serão debatidas as mais variadas técnicas como o controle biológico, microbiológico, a utilização de reguladores de crescimento, o uso de produtos naturais botânicos, iscas açucaradas, bem como os métodos que ainda estão em desenvolvimento e que levantam algum tipo de controvérsia no meio científico como a transgenia, a paratrânsгенese e a edição de genes baseada no CRISPR/Cas9. Convidamos os participantes a interagirem durante a mesa, no sentido de compartilharmos nossas experiências na área, debatendo os principais desafios, soluções e perspectivas de aplicação. Também encorajamos futuros pesquisadores que não trabalham na área a participar e tirar dúvidas gerais sobre o tema.

METABOLISMO DE LIPÍDEOS EM INSETOS VETORES

Coordenadores:

1. David Majerowicz – UFRJ

A mesa temática sobre metabolismo de lipídeos em insetos vetores abordará diversos aspectos importantes relacionados à digestão, absorção, transporte, armazenamento e utilização de lipídeos nesses organismos. Serão discutidos os mecanismos envolvidos na digestão e absorção de lipídeos no intestino, bem como o papel da hemolinfa no transporte de lipídeos por todo o corpo do inseto. Além disso, serão apresentadas informações sobre o estoque de lipídeos no corpo gorduroso e a utilização desses compostos na ovogênese, um processo crucial para a reprodução dos insetos vetores. A mesa temática promete ser uma excelente oportunidade para discutir e aprofundar o conhecimento sobre o metabolismo de lipídeos em insetos vetores, com potencial para contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias de controle desses organismos.

INTERAÇÕES TRIPARTITE VETOR-MICROBIOTA-PATÓGENO E VIGILÂNCIA NA ERA GENÔMICA

Coordenadores:

1. Mariana Rocha David – IOC-Fiocruz
2. Márcio Pavan – IOC-Fiocruz

Recentemente, o avanço das técnicas de sequenciamento de DNA e RNA em alta vazão trouxeram significativo avanço no estudo das interações parasito-hospedeiro. Especialmente a partir da disponibilidade de sequências de mosquitos vetores, linhagens virais e microrganismos simbiotes, ficou evidente que a transmissão de patógenos é governada por uma complexa rede de interações destes elementos com o ambiente ao redor. Nesta mesa temática, pretendemos abordar como o sequenciamento genômico pode ser aplicado em estudos de ecologia de vetores, competência vetorial, evolução viral e interação vírus-vetor microbiota, além da sua aplicação em estratégias de vigilância entomológica/viológica.

EFEITOS DA LUZ ARTIFICIAL SOBRE A BIOLOGIA DE INSETOS VETORES E A INCIDÊNCIA DE DOENÇAS

Coordenadores:

1. Luciana Araripe – IOC-Fiocruz

Os insetos vetores, assim como todos os organismos que evoluíram sob ciclos diários de claro e escuro, constantes desde a formação do planeta, apresentam um mecanismo endógeno de regulação de seus comportamentos e de sua fisiologia. Esse mecanismo funciona como um relógio, recebendo a informação do ambiente e produzindo ritmos circadianos (cerca de um dia) de funções biológicas, como atividade e repouso, busca por hospedeiros e sítios de oviposição, alimentação e reprodução. Uma perturbação recente dos ciclos de claro e escuro tem sido a utilização cada vez maior da luz artificial à noite (ALAN), levando a extensas áreas que nunca ficam no escuro. Nesta mesa temática vamos apresentar como os ritmos circadianos em comportamento e fisiologia são regulados e discutir resultados da literatura que mostram graves efeitos da perturbação desses ritmos sobre características biológicas de mosquitos vetores diretamente relacionados com a capacidade vetorial.

RESUMOS DOS PALESTRANTES

Dr. Erich Telleria

The research internationalization and the advance in understanding the sand fly immune response

Erich Loza Telleria. Department of Parasitology, Faculty of Science, Charles University, Prague, Charles University.

Phlebotomine sand flies are present in warm and humid niches from tropical to temperate regions. These insects are vectors of viruses, bacteria, and Leishmania parasites and harbor rich midgut microbiota. Research efforts were made to understand the sand fly immunity response to pathogens and help develop new strategies to control the spread of such diseases. Insect immunity comprises humoral response, represented by lysozyme and antibacterial peptides, and cellular response, represented by various types of hemocytes. In addition, the insect fat body, a multi-function tissue distributed mainly in the abdomen, is responsible for producing a systemic immune response. The first reports on sand fly immunity were published at the end of the 20th century; they identified the immune-related molecules in sand flies after bacterial challenges. In the second decade of the 21st, Brazilian researchers and foreign collaborators published their first studies identifying sand fly genes coding for antimicrobial peptides. The joining of strengths from different collaborative groups helped answer additional scientific questions on the regulatory pathways, such as Toll and IMD pathways that balance the sand fly immunity toward the microbes they carry. With the availability of very productive sand fly colonies, increasing collaborative network, and innovative thinking, the research field on sand fly immunity can grow toward understanding the complexity of the interaction of sand flies and the pathogens they may transmit.

Key words: Internationalization, collaborative network, *Phlebotomus papatasi*, *Lutzomyia longipalpis*, immunity.

Dr. Petr Volf

Studies on various aspects of Leishmania-sand fly interaction

Petr Volf. Department of Parasitology, Faculty of Science, Charles University, Prague, Czech Republic.

Sand flies (Diptera: Phlebotominae) are vectors of high medical and veterinary importance. They transmit bacteria (mainly *Bartonella bacilliformis*), viruses (mainly Phleboviruses and Vesiculoviruses) and various *Leishmania* parasites. Here we like to focus to *Leishmania* development in sand flies and mechanism of their transmission to the mammalian host. In sand fly digestive tract *Leishmania* undergo morphological changes, transforming from amastigotes to promastigotes and creating various promastigote forms. Bloodmeal volume taken by sand flies ranged from 0,5 to 1 microliter and in natural *Leishmania*-sand fly pair even a single parasite is enough to establish the infection with promastigote numbers gradually growing up to more than 100 000. In addition, sexual reproduction of *Leishmania* takes place in sand fly midgut, and it is crucial for creating new parasite lines which may have higher fitness and higher infectivity than parental strains; this may result in establishment of new foci of leishmaniases. The four critical steps in vector part of the life cycle include: i) development inside bloodmeal surrounded by the peritrophic matrix, ii) migration from endoperitrophic space and attachment to the midgut epithelium, iii) anterior migration to the thoracic part of the midgut and attachment to the stomodeal valve, and finally iv) destruction of the stomodeal valve and transmission by regurgitation. Each critical step is facilitated by specific molecules of the parasite or the vector, these molecular interactions will be discussed. The knowledge about factors affecting *Leishmania* sexual reproduction and vector competence of various sand fly species is useful for understanding the epidemiology of the disease.

Dr. Marcus Vinícius Lacerda

Vector Control for Malaria: Quo Vadis?

Marcus Lacerda. Instituto Leônidas e Maria Deane, FIOCRUZ-AM

Resumo não foi disponibilizado pelo palestrante.

Dra. Mary Ann McDowell

Genomic Analysis of Two Phlebotomine Sand Fly Vectors of Leishmania from the New and Old World

Mary Mc Dowell. Department of Biological Sciences, Notre Dame University, IN,
USA

Resumo não foi disponibilizado pelo palestrante.

RESUMOS DOS PARTICIPANTES

CARRAPATOS

Caracterização funcional de tiol-redutases lisossômicas induzidas por interferon-gama (GILT) na colonização de carrapatos e de células embrionárias de carrapatos por *Rickettsia rickettsii*

Beatriz Iglesias Alonso, Andréa Cristina Fogaça.

Instituto de Ciências Biomédicas/USP – Depto. de Parasitologia

Carrapatos são ectoparasitas que se alimentam obrigatoriamente de sangue, sendo vetores versáteis de diversos patógenos. Dentre as doenças transmitidas ao homem por carrapatos, a febre maculosa das Montanhas Rochosas, ocasionada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*, é uma das mais letais. No Brasil, a transmissão ocorre principalmente pela picada do carrapato *Amblyomma sculptum* e, na região metropolitana de São Paulo, pelo carrapato *Amblyomma aureolatum*. Embora pertençam ao mesmo gênero, as duas espécies apresentam diferenças na susceptibilidade à infecção por *R. rickettsii*, sendo *A. aureolatum* mais susceptível do que *A. sculptum*. Nosso grupo de pesquisa determinou previamente os efeitos da infecção com *R. rickettsii* sobre o perfil de expressão gênica do intestino de *A. sculptum* e *A. aureolatum*. Dentre as sequências codificadoras (CDSs) de fatores do sistema imune moduladas pela infecção, duas CDSs de tiol-redutases lisossomais induzidas por interferon-gama (GILT; do inglês, *gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase*) foram induzidas no intestino de *A. sculptum*, enquanto uma foi reprimida no intestino de *A. aureolatum*. Esse resultado apontou as GILTs como potenciais fatores responsáveis pelas diferenças de susceptibilidade dessas duas espécies de carrapatos à infecção. Assim, o principal objetivo desse estudo foi determinar o efeito do silenciamento gênico de GILTs na aquisição de *R. rickettsii* por carrapatos *A. sculptum* e na proliferação bacteriana em linhagens de células embrionárias de *Rhipicephalus microplus* (BME26) e de *A. sculptum* (IBU/ASE-16). Para tal, experimentos de RNA de interferência (RNAi) foram conduzidos. A expressão de GILT foi significativamente menor em carrapatos e em células BME26 tratados com dsRNAs específicas para GILT do que nos grupos controle (tratados com dsRNA para a GFP; do inglês, *green fluorescent protein*). O silenciamento de GILT ocasionou uma diminuição significativa do número de bactérias tanto nos carrapatos quanto nas células. O mesmo fenótipo foi observado nas células IBU/ASE-16; porém, o silenciamento gênico não pode ser confirmado, possivelmente devido a uma baixa expressão de GILT tanto no grupo dsGILT quando no grupo controle. Dados do nosso grupo de pesquisa e da literatura haviam sugerido uma correlação entre GILT e a via Toll, uma das principais vias de sinalização do sistema imune de artrópodes. Assim, análises da expressão gênica de GILT em órgãos e células embrionárias de carrapatos silenciados para Dorsal, o fator de transcrição da via Toll, foram realizadas. Não foi observada nenhuma diferença dos níveis de transcritos de GILT entre os grupos dsDorsal e dsGFP (controle), sugerindo que a expressão desse fator é independente dessa via. Em conjunto, os dados obtidos pelo presente estudo indicam que GILT seja um fator facilitador da infecção de carrapatos e células de carrapatos por *R. rickettsii*. A realização de novos estudos se faz necessária a fim de se determinar a via de sinalização do sistema imune responsável pelo controle da expressão de GILT.

Palavras-chave: GILT, sistema imune, carrapato, RNAi, *Rickettsia rickettsii*.

Área: Imunologia de artrópodes

Apoio financeiro: FAPESP

Amblyomma sculptum

“Determinação dos efeitos de agentes pró- ou antioxidantes sobre a apoptose de *Amblyomma sculptum* e avaliação da proteína inibidora de apoptose como alvo vacinal”

Marcelly Bastos Nassar, Andréa C. Fogaça

Instituto de Ciências Biomédicas/USP – Depto. de Parasitologia

Os carrapatos são ectoparasitas hematófagos obrigatórios que transmitem diversos patógenos tanto para o homem quanto para outros animais. A febre maculosa brasileira (FMB) é uma doença grave que acomete o homem, sendo causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*, cujo principal vetor no Brasil é o carrapato *Amblyomma sculptum*. Nos últimos anos, a importância de *A. sculptum* tem aumentado, pois, além de vetor de *R. rickettsii*, essa espécie tem sido cada vez mais encontrada infestando o gado bovino, ocasionando prejuízos para a pecuária. Apesar dos efeitos nocivos dos carrapatos e dos patógenos por eles transmitidos sobre a saúde humana e animal e sobre a economia, seu controle baseia-se majoritariamente no uso de acaricidas. No entanto, os acaricidas podem contaminar o meio ambiente e os produtos derivados dos animais e destinados ao consumo humano, além de selecionar populações resistentes de carrapatos. Nesse contexto, a elucidação dos mecanismos moleculares da interação de *R. rickettsii* com seus carrapatos vetores é importante, podendo levar à identificação de potenciais alvos para o desenvolvimento de novas estratégias de controle de carrapatos e da FMB. A apoptose é um processo de morte celular programada que desempenha um papel importante no controle de patógenos, uma vez que a morte da célula infectada impede a disseminação da infecção para as células adjacentes. Nosso grupo de pesquisa demonstrou anteriormente que *R. rickettsii* inibe a apoptose de células de carrapatos e que essa inibição é importante para a sua proliferação. As sequências codificadoras (CDS) de reguladores que exercem uma ação inibitória sobre a apoptose são induzidas no MG de *A. sculptum* infectados. A CDS Acaj-73060 codifica um membro da família de proteínas inibidoras de apoptose (IAPs; do inglês, *Inhibitor of Apoptosis Proteins*), as quais inibem a ativação de caspases executoras. O silenciamento gênico dessa CDS mediado por RNA de interferência (RNAi), seguida da alimentação sanguínea, ocasionou taxas de mortalidade dos carrapatos próximas ou iguais a 100%. Além disso, a expressão dessa CDS, bem como de outros reguladores negativos da apoptose, está reprimida no MG de carrapatos alimentados, reforçando a hipótese de que esse processo de morte seja ativado pela aquisição da refeição sanguínea. É possível que o heme liberado pela digestão da refeição sanguínea, dentre outros fatores, induza a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) no intestino de *A. sculptum*, as quais, por sua vez, podem ativar a apoptose. Dessa forma, determinar os efeitos da administração de agentes pró- ou antioxidantes, sobre a mortalidade de carrapatos *A. sculptum* que receberam dslAP Acaj-73060 poderá fornecer informações sobre o papel das ROS na ativação da apoptose. Além disso, as altas taxas de mortalidade de carrapatos que receberam dslAP Acaj-73060 e foram subsequentemente alimentados apontam essa proteína como potencial alvo para o desenvolvimento de uma vacina contra *A. sculptum*. Com base nos dados da literatura e dos resultados previamente obtidos pelo nosso grupo de pesquisa, o objetivo geral desse projeto é determinar os efeitos do silenciamento da IAP Acaj-73060 associada a agentes pró- ou antioxidantes na ativação da apoptose de *A. sculptum* e avaliar o potencial da IAP Acaj-73060 como alvo para o desenvolvimento de uma vacina. Para isso, propomos como objetivos específicos: 1. avaliar os efeitos do silenciamento da IAP Acaj-73060 associado à administração de agentes pró- ou antioxidantes sobre a viabilidade, a atividade de caspase-3 e a exposição de fosfatidilserina em células IBU/ASE-16 e sobre a sobrevivência de carrapatos *A. sculptum*; 2. obter a IAP Acaj-73060 recombinante e o antissoro anti-IAP Acaj-73060 e 3. Analisar os efeitos da administração do antissoro sobre o *fitness* dos carrapatos.

Área: Controle de vetores; Bioquímica;

AMBLYOSTATIN-1, THE FIRST SALIVARY CYSTATIN FROM *Amblyomma sculptum*: BIOCHEMICAL TARGETS, BIOLOGICAL ACTIVITY, AND POTENTIAL USE AS A VACCINE AND IMMUNOBIOLOGICAL.

Wilson Santos Molari¹, Anderson de Sá Nunes^{1,2}

¹ Department of Immunology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil. ² National Institute of Science and Technology in Molecular Entomology, National Council for Scientific and Technological Development (INCT-EM/CNPq), Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

The genus *Amblyomma* comprises the ticks with the greatest abundance and distribution in Brazil. More specifically, *Amblyomma sculptum*, a species endemic to the southeast region, is an important parasite of several vertebrates, including humans. These ticks have great clinical relevance due to the transmission of pathogens such as *Rickettsia rickettsii*, the causative agent of Brazilian spotted fever, a disease with a high lethality rate. This transmission is facilitated by the presence of bioactive molecules in the saliva of these ticks, which are secreted during blood feeding. Some of these molecules have demonstrated modulatory activity of the hemostatic and immune responses in the host at the cellular and biochemical levels, to ensure that feeding of the ticks occurs successfully, preventing vertebrate rejection. These functions reveal the potential use of these molecules for the development of therapies against clinical conditions characterized by exacerbation of immune responses. Based on the biological activities of salivary protease inhibitors from other tick species, the present work proposes to characterize the first cystatin of *A. sculptum*, named Amblyostatin-1, whose transcript was recently identified in the sialotranscriptome of the species. To this end, we initially performed *in silico* analyses of the amino acid sequence of this protein and identified the mass, the isoelectric point, and a possible three-dimensional model for this inhibitor. We also evaluated the ability of this cystatin to interfere with hemostasis, but mice inoculated with plasmids containing the cystatin gene sequence did not show increased bleeding. To evaluate the protective role of this cystatin against *A. sculptum* infestation, mice were immunized and will be exposed to ticks to measure: infestation rate, engorgement time, the weight of engorged ticks, oviposition mass, egg hatching, and mortality. We also intend to evaluate the activities of this inhibitor using *in vitro* experimental models, against a panel of cathepsins and in cell cultures (lymphocytes, macrophages, neutrophils, and dendritic cells).

AREA: Immunology.

KEYWORDS: *Amblyomma sculptum*, Amblyostatin-1, Biological activities, Immunomodulation, Protease inhibitor.

FINANCIAL SUPPORT: FAPESP, CAPES, CNPq.

EVALUATION OF THE IMMUNOMODULATORY ACTIVITY OF A KUNITZ-TYPE PROTEASE INHIBITOR PRESENT IN THE SALIVA OF THE TICK *Amblyomma sculptum*

Gretta Huamanrayme Bustamante¹ Anderson de Sá Nunes^{1,2}

1 Department of Immunology, Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil.

2 National Institute of Science and Technology in Molecular Entomology, National Council for Scientific and Technological Development (INCT-EM/CNPq), Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Amblyomma sculptum are ticks that play a crucial role as vectors of *Rickettsia rickettsii*, the causative agent of Brazilian spotted fever. The saliva of *A. sculptum* contains protease inhibitors that have been found to modulate hemostatic and immune responses during blood feeding. Tick-derived protease inhibitors hold promise for therapeutic development. In this study, we aimed to further investigate the biological functions of AsKunitz, a Kunitz-type inhibitor found in *A. sculptum* saliva, using *in-vitro* and *in-vivo* experimental models. The recombinant AsKunitz was expressed in two different systems: *Escherichia coli* (Ec-AsKunitz) and HEK293 (HEK-AsKunitz). Initially, we assessed the impact of these proteins on spleen lymphocyte proliferation by preincubating CFSE-labeled cells with AsKunitz for 1 hour followed by stimulation with Concanavalin A (ConA) for 72 hours. Flow cytometry analysis revealed that cells incubated with Ec-AsKunitz, but not HEK-AsKunitz, exhibited significantly reduced proliferation compared to the positive control. This decrease in proliferation may be attributed to lower cell viability, suggesting that Ec-AsKunitz might induce lymphocyte death. Curiously, Ec-AsKunitz influenced cytokine production by Con A-stimulated lymphocytes, leading to increased production of IL-10, IL-17, and IFN- γ . Next, we investigated the effects of the proteins on dendritic cells (DCs) maturation. Preincubation of DCs with the proteins for 1 hour followed by stimulation with ultrapure LPS for 24 hours led to a significant reduction in the expression of CD40, CD80, and CD86 in LPS-stimulated cells preincubated with HEK-AsKunitz, as detected by flow cytometry. On the other hand, Ec-AsKunitz, but not HEK-AsKunitz, affected cytokine production by LPS-stimulated DCs, significantly increasing IL-12p40 and decreasing IL-6 levels in the culture supernatants measured by ELISA. No significant effects on nitric oxide production were observed when macrophages were preincubated with the proteins and stimulated with LPS and IFN- γ . These findings provide new insights into the functional activities of AsKunitz in the vertebrate immune system. Understanding these interactions is crucial for advancing our knowledge of tick-host interactions and potential therapeutic applications in the future.

KEYWORDS: *Amblyomma sculptum*, salivary molecules, protease inhibitors, AsKunitz.

FINANCIAL SUPPORT: CAPES and FAPESP

Determinação do papel da microbiota no *fitness* e na competência vetorial do carrapato *Amblyomma aureolatum*

Solange Cristina Antão¹, Andréa C. Fogaça¹

¹Instituto de Ciências Biomédicas II (ICB II), Universidade de São Paulo (USP)

A Febre Maculosa das Montanhas Rochosas é uma doença infecciosa aguda presente em todo o continente americano. No Brasil é conhecida como febre maculosa brasileira (FMB), e, devido a sua sintomatologia ser inespecífica, apresenta altas taxas de letalidade, podendo alcançar 70% no estado de São Paulo. A FMB é causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii* e a transmissão ao homem ocorre pela picada de carrapatos infectados. No Brasil, *R. rickettsii* é transmitida por duas espécies de carrapatos: *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma aureolatum*. Apesar de ambas as espécies serem importantes vetores de *R. rickettsii*, *A. sculptum* possui uma menor susceptibilidade à infecção que *A. aureolatum*. Estudos anteriores realizados pelo nosso grupo de pesquisa demonstraram que essas diferenças de susceptibilidade se correlacionam com uma resposta transcricional distinta do intestino dessas duas espécies de carrapatos em resposta à infecção por *R. rickettsii*. Também observamos que o número total de bactérias da microbiota intestinal difere entre as duas espécies: enquanto *A. sculptum* possui uma microbiota reduzida, *A. aureolatum* possui uma microbiota proeminente e majoritariamente composta por bactérias do gênero *Francisella*. Com base nos resultados obtidos anteriormente, o presente projeto possui como principal objetivo determinar a relação da microbiota com o *fitness* e a competência vetorial de *A. aureolatum* à *R. rickettsii*. Para isso, uma colônia estéril ou com microbiota reduzida de *A. aureolatum* deverá ser obtida. Em um experimento preliminar, três diferentes doses de tetraciclina (10, 20 ou 35 µg) foram administradas a fêmeas adultas não alimentadas ou completamente ingurgitadas através de microinjeção pelo poro anal. Como controle, as fêmeas foram tratadas com água. O tratamento de fêmeas não alimentadas ocasionou uma alta mortalidade. Por outro lado, o tratamento de fêmeas ingurgitadas com 35 µg de tetraciclina levou à uma pequena diminuição da carga bacteriana nos ovos. Assim, um experimento adicional será realizado com um maior número de fêmeas ingurgitadas. Além de tetraciclina, as fêmeas serão tratadas com ciprofloxacina ou rifampicina. As larvas, ninfas e adultos resultantes da colônia estéril serão avaliados quanto ao *fitness* (alimentação, desenvolvimento e reprodução). Para avaliar a competência vetorial, parte das larvas obtidas será alimentada em cobaias infectadas com *R. rickettsii*. As larvas, ninfas e os adultos terão sua carga bacteriana total e de *R. rickettsii* determinadas. Além disso, os animais sobre os quais as ninfas e os adultos se alimentarem serão analisados quanto aos sinais clínicos da FMB.

Palavras-chave: Carrapato, microbiota, riquetsia, *fitness*, competência vetorial.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPESP.

Rhipicephalus (Boophilus) microplus.

Caracterização bioquímica de uma esfingomielinase D – *like* do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Fernando Allan Abreu Silva¹; Aparecida Sadae Tanaka¹.

¹ - Departamento de Bioquímica, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ectoparasita responsável por grandes prejuízos para a pecuária brasileira, gerando impacto de maneira direta e indireta na economia e perdas estimadas em 3,24 bilhões de dólares por ano no Brasil. A Esfingomielinase D (smase D) é o principal componente do veneno da *Loxosceles latea* e é responsável por diversos efeitos associados à sua picada, como dermonecrose e hemólise. Em carrapatos uma smase D – *like* de *Ixodes scapularis* foi relacionada como importante para modulação da resposta imune e para transmissão de vírus para hospedeiro. Recentemente uma smase D de *R. microplus* foi caracterizada como uma esfingomielinase D que sugerimos ser membro de uma nova classe, classe IIc, uma subclasse que não tem um resíduo de histidina descrito como importante para atividade enzimática, mas que ainda é capaz de hidrolisar esfingomielina. *Phage display* é uma técnica que permite selecionar em larga escala inibidores para enzimas. O objetivo deste trabalho é selecionar peptídeos com atividade inibitória para a esfingomielinase D do *R. microplus* e utilizá-los como ferramenta para estudar o papel da esfingomielinase D no processo de alimentação do carrapato. Fagos de fusão T7 contendo a esfingomielinase D serão produzidos para explorar o potencial dessa molécula como antígeno em ensaios de imunização.

Palavras-chaves: 1. *Rhipicephalus microplus*; 2. Esfingomielinase; 3. *Phage Display*, 4. inibidor.

Área: Bioquímica

Apoio financeiro: CAPES, FAPESP, CNPq, INCT-EM

High-throughput screening and sequencing of salivary antigens from *Rhipicephalus microplus* tick

Costa, G.C.A.¹; Silva, F.A.A.¹; Manzato, V.M.¹; Parizi, L.F.²; da Silva Vaz Jr., I.^{2,3}; Torquato, R.J.S.¹; Tanaka, A. S.^{1,3}

¹Department of Biochemistry, Escola Paulista de Medicina, Universidade de Federal de São Paulo (UNIFESP), SP, Brazil. ²Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), RS, Brazil. ³Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular (INCT-EM), RJ, Brazil

Rhipicephalus microplus, also known as cattle tick, is one of the most important tick species in Brazil, due to severe infestations which can cause significative harm to livestock animals, resulting in expressive economic losses. The main tick control strategy consists in the usage of different chemical acaricides, which presents different drawbacks, including the selection of resistant tick populations. Thus, alternative control methods have been studied and employed along the last decades and among the most studied approaches, are anti-tick vaccines, which presented satisfactory results against *R. microplus* parasitism in different countries. Nevertheless, the discovery of new immunogenic tick molecules is required to the development of new efficient formulations. Then, the main goal of the present study is to identify immunogenic targets present in saliva from female ticks along different phases of hematophagy, using the high-throughput technics of phage display and Nanopore DNA sequencing technology. Three different ORFeome phage display libraries were constructed using double stranded cDNA fragments from salivary glands of female *R. microplus* ticks during blood feeding, with mean body weight of 20, 45 and 50 mg. The phage libraries were screened against IgG antibodies purified from the sera of cattle previously exposed to tick infestations. After three biopannings, phagemid DNA from libraries, either before and after screening were purified, amplified by PCR and sequenced in an Oxford Nanopore MinION device. Nucleotides sequences correspondent to female tick salivary peptides were obtained after sequence reads filtering, polishing and consensus generation, and identified after BlastX alignment to arthropod sequences in nr protein database from NCBI. The DNA sequencing of ORFeomes libraries generated 6,394,168 Nanopore reads and libraries constructed from 30, 45 and 50 mg females cDNA presented 3392, 8586 and 9025 different clustered sequences before screening, respectively. Nevertheless, after 3 biopanning rounds, the number was reduced to 184, 110 and 22 sequences respectively, correspondent to peptides with high affinity to anti-tick saliva IgGs. Sequences alignment revealed the presence of several putative immunogenic targets correspondent to proteases of different classes, predicted non-secreted housekeeping and antihemostatic proteins related to the blood feeding process. The phage display screening associated to high-throughput DNA sequencing was a fast and effective method to identify new antigenic targets present in tick saliva, which could be useful for the development of new control strategies against the *R. microplus*.

Keywords: *Rhipicephalus microplus*, Phage display, antigen.

Research support: FAPESP, CNPq, CAPES and INCT-EM.

FLEBOTOMÍNEOS

Lutzomyia longipalpis

Efeito de 20-hidroxiecdisona e de seu antagonista azadiractina sobre a formação da matriz peritrófica de *Lutzomyia longipalpis*

Rafael Henrique Mateus Pereira^{1,2}, Carlos Henrique Ferreira da Silva^{1,5}, Luccas Gabriel Ferreira Malta^{1,3}, Grasielle Caldas D'Ávila Pessoa^{1,4}, Leonardo Barbosa Koerich^{1,4}, Marcos Horácio Pereira^{1,4}, Nelder de Figueiredo Gontijo^{1,4}, Maurício Roberto Viana Sant'Anna^{1,4}.

¹ – Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos – ICB/UFMG. ² – Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do ICB – UFMG. ³ – Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do ICB – UFMG. ⁴ – Docente do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do ICB – UFMG. ⁵ – Graduando em Ciências Biológicas - UFMG

Lutzomyia longipalpis (Diptera: Phlebotominae) é o principal vetor urbano de *Leishmania infantum*, agente etiológico da leishmaniose visceral no Brasil. *Lu. longipalpis* machos e fêmeas alimentam-se de soluções açucaradas que encontram na natureza, mas fêmeas necessitam de realizar repasto sanguíneo como fonte de aminoácidos para maturação de ovócitos. A entrada do bolo alimentar no tubo digestivo deste inseto induz a produção de uma matriz quitinosa (matriz peritrófica) que o engloba e compartimentaliza a digestão. O desenvolvimento de *Lu. longipalpis*, assim como o de outros dípteros, é coordenado essencialmente por dois hormônios: hormônio juvenil (JH) e ecdisona (20-hidroxiecdisona). Esse último coordena principalmente o desenvolvimento das fases mais tardias do ciclo, que são as pupas e os adultos. Nos adultos este hormônio possui importante papel em processos fisiológicos relacionados com a imunidade, digestão de sangue e reprodução. Andrade-Coelho (2014) fez estudos relativos à ação de azadiractina (um antagonista de 20E) em fêmeas adultas de *Lu. longipalpis* e seus achados elucidaram o potencial adulticida de azadiractina, bem como seu efeito deletério sobre a oviposição e o desenvolvimento. Entretanto, nenhum trabalho foi desenvolvido para elucidar o efeito da 20-hidroxiecdisona e azadiractina durante o período de digestão do sangue em flebotomíneos. O presente trabalho é parte de minha dissertação de mestrado, que visa investigar o efeito da regulação positiva e negativa de 20-E em fêmeas de *Lu. longipalpis*, com enfoque na formação de matriz peritrófica, reprodução, sobrevivência, digestão de heme e colonização do intestino médio do inseto por patógenos. Resultados preliminares indicam que o tratamento de fêmeas de com 20-E (0,1 mM) introduzido na dieta de sacarose por 48 horas a partir da eclosão das fêmeas proporcionou aumento da proporção de insetos que tinham matriz peritrófica integralmente formada 18 horas após o repasto sanguíneo (95%), em comparação com fêmeas controle que não receberam o hormônio no açúcar (30%) ($p < 0,0001$). Estes resultados sugerem que a influência na formação da matriz peritrófica em fêmeas de *Lu. longipalpis* por 20-E e por seu antagonista azadiractina pode potencialmente impactar no processo de colonização do intestino de *Lu. longipalpis* por bactérias e principalmente por formas promastigotas de *Le. infantum*, influenciando assim seu desenvolvimento no tubo digestivo do inseto vetor.

Palavras-chave: *Lutzomyia longipalpis*; 20E; Azadiractina; Membrana peritrófica

Apoio: CAPES; FAPEMIG; CNPq; INCT-EM

Área: Entomologia; Bioquímica; Fisiologia intestinal

Caracterização do transcriptoma intestinal de larvas de *Lutzomyia longipalpis*.

João P. D. Simoni¹, Maiara V.F. Gama¹, Tainá N. Ferreira¹, Samara G. C. Latgé¹, Maithê G. P. Magalhães, Ana C. R. Guimarães, Fernando A. Genta^{1,2}.

1 Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro

2 Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia, Entomologia Molecular, Rio de Janeiro

Lutzomyia longipalpis é o principal vetor da Leishmaniose Visceral nas Américas. Apesar disso, pouco se sabe sobre a biologia das larvas. Logo, estudo sobre a biologia intestinal poderiam dar maior subsídio para compreensão deste estágio uma vez que é uma das principais interfaces com o meio externo. Nesse sentido, uma das principais lacunas sobre esse tecido é o conhecimento sobre aspectos moleculares do sistema digestivo. Desse modo, a realização de um transcriptoma intestinal se configuraria como uma ferramenta fundamental para compreensão da fisiologia digestiva desse estágio. Portanto, este projeto visa sequenciar e caracterizar o transcriptoma intestinal de larvas de 4º estágio de *Lutzomyia longipalpis*. Larvas de quarto estágio provenientes do insetário de *Lutzomyia longipalpis* foram dissecadas em intestino e resto do corpo (carcaça) e usados para extração do RNA total. Realizamos a síntese do cDNA e sequenciamento usando Illumina Nextseq®. Os reads resultantes foram submetidos à análise de expressão diferencial pelos softwares subread, SAMtools, e edger. Para anotação dos genes foram escolhidos as Blast2Go e Vectobase. 5803 transcritos no intestino foram identificados, quantificados e tiveram sua expressão diferencial calculada usando a carcaça como referência. Alguns dos transcritos mais expressos foram anotados e usados para construção de primers para validação em animais de campo usado qPCR.

Palavras-chave: *Lutzomyia longipalpis*, Transcriptoma intestinal, biologia de larvas, bioinformática, insetos vetores.

Financiamento: CNPQ, CAPES, FAPERJ, FIOCRUZ.

Áreas: Bioinformática, Insetos Vetores, Transcriptoma.

Alcalinização intestinal de *Lutzomyia longipalpis*: um polímero sintético e seu papel na descoberta de uma nova via de alcalinização

Malta, L.G.F.¹; Sant'Anna, M.R.V.¹; Koerich, L.B.¹; Pereira, M.H.¹; Pessoa, G.C.D.¹; Gontijo, N.F.¹.

¹ - Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Lutzomyia longipalpis, é um inseto pertencente a ordem Diptera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae. Até o momento três são os mecanismos identificados como sendo os responsáveis pelo processo de alcalinização intestinal. O primeiro está relacionado com a liberação de CO₂ do sangue ingerido pelas fêmeas. O segundo mecanismo está relacionado com sinalização hormonal, que ocorre durante o repasto sanguíneo, a partir de células endócrinas intestinais. O terceiro mecanismo consiste em um sistema de transporte em que certos aminoácidos são transportados conjuntamente com íons H⁺ do lúmen intestinal para o citoplasma dos enterócitos. Um dos pontos ainda não esclarecidos se refere a como a presença de proteínas provenientes do sangue ingerido disparam o processo de alcalinização intestinal. O presente projeto tem como objetivo principal caracterizar o mecanismo que permite que os intestinos das fêmeas de *L. longipalpis* reconheçam a ingestão de proteínas, culminando com a alcalinização luminal. A fim de determinar se a alcalinização intestinal acontecia exclusivamente após a ingestão de moléculas de origem proteica, os insetos foram alimentados com diferentes concentrações de polietilenoglicol (PEG) 8000, em solução de sacarose [15%] contendo o corante indicador Azul de Bromotimol (AzB) [0,1%]. Posteriormente, foi realizada a coleta da hemolinfa desses insetos, que teve sua capacidade de alcalinização testada sobre intestinos de fêmeas que apresentavam pH intestinal ácido. A fim de testar o envolvimento da via TOR no processo de alcalinização, os insetos foram alimentados então com PEG 8000 [10 mM] + Sacarose [15%] + AzB [0,1%] + Rapamicina [20 µM]. Nossos resultados indicaram que PEG 8000 é capaz de disparar o mecanismo de alcalinização intestinal, essa alcalinização torna-se mais eficiente a medida em que aumentamos a concentração de PEG. Além disso, a hemolinfa coletada dos insetos recém alimentados com PEG 8000 [10 mM], não foi capaz de alcalinizar o intestino de fêmeas de *L. longipalpis* dissecados, ao contrário do que ocorre com a hemolinfa de insetos alimentados com sangue. Por fim, os insetos alimentados com rapamicina tiveram seu processo de alcalinização intestinal bloqueado. A soma dos resultados apresentados indicam a existência de uma quarta via de alcalinização intestinal, via esta que mostra-se dependente da ativação de TOR e que pode ser disparada por moléculas sintéticas muito diferentes de qualquer proteína, carboidrato ou lipídeo.

Palavras-chave: *Lutzomyia longipalpis*; pH intestinal; PEG; TOR

Apoio: CAPES; FAPEMIG; CNPq

Área: Entomologia; Bioquímica; Fisiologia intestinal

Development of paratransgenic *Lutzomyia longipalpis* by engineered bacteria driving refractoriness to *Leishmania infantum chagasi* infection.

Ana Carolina Pedro Santos Ribeiro. Mylena Meirelles, Yara Maria Traub-cseko, Antonio Jorge Tempone.

Laboratório de Biologia Molecular de Parasitos e Vetores. IOC/FIOCRUZ. Rio de Janeiro, Brazil.

The parasite *Leishmania infantum Chagasi* is the etiologic agent of American visceral leishmaniasis (AVL), a neglected disease transmitted by the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. The use of insecticides to control vector populations is one of the main strategies to limit the spread of AVL. However, this approach has limitations, including drug resistance and growing socioecological impact due to the need for more potent compounds. The current scenario of territorial expansion with increasing incidence and lethality from the AVL highlights the need for new strategies to control the spread of this disease. Paratransgenesis is a viable approach with biotechnological potential, in which symbiotic bacteria of insect vectors are engineered to drive antiparasitic effector molecules and reduce their vectorial capacity. To find candidate bacteria for genetic manipulation, we isolated culturable bacteria that were enriched in the gut of *L. longipalpis* after blood feeding. We are identifying this symbiont through 16S rRNA sequencing and working to establish a genetically engineered lineage. We observed that 16µM of the antimicrobial peptide (AMP) Melittin was toxic to *L. infantum chagasi* axenic cultures, but had no deleterious effect on the *L. longipalpis* and bacterial symbionts isolated from their gut. Now we are testing the combination of other AMPs with Melittin to observe the occurrence of a synergistic anti-leishmanial activity. We are genetically engineering *Escherichia coli* strains C600 and BL21 with a plasmid expression vector encoding the PhoA signal peptide to express and secrete the Melittin constitutively. This plasmid stability and Melittin secretion are being assayed in the *E. coli*. Our next steps include testing the effect of transgenic *E. coli* conditioned media on *L. infantum chagasi* cultures and during their development and spread by *L. longipalpis*. In this way, we propose the development of a paratransgenic sandfly that cannot transmit the *L. infantum chagasi*.

Keywords: *Lutzomyia longipalpis*, *Leishmania infantum chagasi*, Paratransgenesis.

A resposta humoral anti-saliva de *Lutzomyia longipalpis* inibe alguma atividade essencial à hematofagia?

Luísa de Melo Lara¹; Isabella Góes Mantini da Cunha¹; Adalberto Pereira Filho²; Marcos Horácio Pereira¹; Leonardo Barbosa Koerich¹; Maurício Roberto Viana Sant'anna¹; Grasielle Caldas D'Ávila Pessoa¹; Daniella Castanheira Bartholomeu; Nelder Figueiredo Gontijo¹;

¹Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos, Departamento de Parasitologia, ICB/UFMG, Belo Horizonte/MG; ²Laboratório de Genômica e Interação de Parasitos, Departamento de Parasitologia, ICB/UFMG, Belo Horizonte/MG

Flebotomíneos são insetos dípteros, pertencentes à família Psychodidae e à sub-família Phlebotominae. As fêmeas desses insetos realizam repasto sanguíneo em hospedeiros vertebrados, e a ingestão de sangue é um processo importante para a maturação dos ovócitos. Durante o repasto, esses insetos podem ser vetores de microrganismos, incluindo protozoários do gênero *Leishmania*. Flebotomíneos da espécie *Lutzomyia longipalpis* podem realizar o repasto em variados hospedeiros tais como galinhas, raposas, cães domésticos, roedores e seres humanos. A hematofagia é desafiadora para o inseto e por isso existem uma série de fatores em sua saliva que auxiliam na ingestão do sangue. A saliva é constituída por proteínas que possuem propriedades anti-hemostáticas e imunomodulatórias. Os hospedeiros vertebrados que têm contato com a saliva produzem anticorpos anti-saliva. O objetivo deste trabalho foi estudar se os anticorpos anti-saliva presentes em camundongos utilizados repetidamente como fonte alimentar de fêmeas de *L. longipalpis* podem inibir alguma das atividades normais da saliva como as atividades anti-hemostáticas e anti-complemento. Os resultados mostram que apesar da produção de anticorpos anti-saliva, nenhuma das atividades salivares testadas foi afetada pela presença dos anticorpos. Nem a atividade anti-coagulante nem a atividade inibidora da via clássica do complemento foram afetadas. Isto significa que essa parte das proteínas da saliva continuam funcionais quando *L. longipalpis* se alimenta em animais previamente picados permitindo que a hematofagia ocorra satisfatoriamente. Porém, a partir da exposição, as fêmeas de *L. longipalpis* apresentaram maior dificuldade em ingerir sangue em 30min. O número de ovócitos formados também foi reduzido quando comparados a fêmeas que se alimentaram em animais nunca utilizados como fonte alimentar.

Palavras-chave: anti-saliva; *Lutzomyia longipalpis*; hematofagia

Apoio financeiro: FAPEMIG; UFMG; CNPq; CAPES; INCT-Entomologia Molecular

Área: Fisiologia de inseto

MOSQUITOS

Eficácia de óleo essencial de laranja doce encapsulado em levedura durante ensaios de campo simulado

Jean P.S. Costa¹, José L. da Silva^{1,2}, Daisy A. Azevedo-Brito^{1,2}, Thales S. de Araújo^{1,2}, Jeniffer E. Fonseca^{1,2}, Lia Nascimento^{1,2}, Maria F. F. Lemos^{1,2}, Alexandra V Yingling³, Mariana R. David⁴, Ivy Hurwitz³, Fernando A. Genta^{1,2,5,*}, Bruno Gomes^{1,2,*}.

1. Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos (IOC-Fiocruz/RJ). 2. Instituto Nacional de Endemias Rurais (INERU-Fiocruz/RJ). 3. Center for Global Health, University of New Mexico Health Sciences Center, NM, EUA. 4. Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários (IOC-Fiocruz/RJ). 5. INCT em Entomologia Molecular, Rio de Janeiro, Brasil. * Contribuições idênticas.

O desenvolvimento de novas ferramentas de controle implica uma série de etapas para verificar a sua eficiência e riscos para a população humana e o ambiente. O óleo essencial de laranja doce (*Citrus sinensis*) é uma substância aprovada para uso na indústria farmacêutica/alimentar, sendo o encapsulamento em levedura normalmente usado para estabilizar o óleo permitindo a sua utilização. No nosso consórcio, este método foi otimizado para a aplicar óleos essenciais no controle vetorial, apresentando alta atividade larvívora para óleo de laranja (OLE, CL50 < 50 mg/L). Neste estudo, nós determinamos a durabilidade da ação larvívora do OLE em condições de campo simulado. Os ensaios foram realizados períodos quentes entre dezembro de 2021 e maio de 2023. Três tipos de criadouros artificiais (pneu, recipientes de plástico com 2L ou 10L) organizados em quatro estações rotativas com seis criadouros cada (2 de cada tipo) tratadas alternadamente com OLE 160 mg/L, OLE 230 mg/L, *Bacillus thuringiensis israelensis* (BTI) e remoção mecânica de larvas. Identificação morfológica das larvas foi realizada baseada nas chaves dicotômicas de FORATTINI (2002). Não se verificaram diferenças significativas no número de larvas e pupas entre tipos de criadouros, existindo um domínio de mosquitos *Aedes* (68% do total). *Ae. albopictus* domina os pneus (54% das larvas), enquanto *Ae. fluviatilis* domina os recipientes plásticos (>31% das larvas) e *Ae. aegypti* aparece em mais criadouros (68% dos criadouros). O OLE apresentou a maior mortalidade no estudo (91%), a sua eficiência variou com o tipo de criadouro (65% - 81% nos pneus vs. >94% nos recipientes). Contudo, a recuperação da população larval ocorreu de forma mais rápida do que nos controles, com mais larvas e/ou pupas após 7 e 14 dias de tratamento. Esta recuperação rápida está associada com uma mudança de espécie dominante nos criadouros tratados por OLE, para o *Culex quinquefasciatus* (>43% larvas, inicialmente residual). Após 3 semanas deixamos de ver diferenças significativas no número de larvas e pupas nos criadouros de larvas, mas com composições populacionais diferentes. O OLE tem uma grande eficácia contra infestações de larvas em criadouros de mosquito *Aedes*, mas esta ação não é consistente para outras espécies de mosquito, visto que o *Culex quinquefasciatus* consegue colonizar os criadouros de forma rápida após o tratamento. A ação de proteção a longo prazo do OLE é condicionada pela sua estabilidade e pela ação de organismos não alvo que se alimentam do OLE.

Palavras-chave: *Saccharomyces cerevisiae*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, óleo essencial.

Área: Entomologia

Agências Financiadoras: CDC-EUA, FAPERJ, CAPES, CNPq e Fiocruz.

EFFICACY OF OPTIMISED INDOOR RESIDUAL SPRAYING (OIRS) ON MOSQUITO (Diptera: Culicidae) VECTORS, IN SEMI-FIELD FACILITIES IN RECIFE CITY, BRAZIL.

Bashir Alsharif¹, Luca Facchinelli², Philip J McCall², Rôsangela MR Barbosa¹ and Constância FJ Ayres¹.

¹ Departamento de Entomologia, Instituto Aggeu Magalhães, Fiocruz-PE, Recife, Brazil.

² Vector Biology Department, Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool, UK.

Despite the efforts of the Brazilian vector control programs, dengue, chikungunya, Zika, and lymphatic filariasis, remain real threats in various areas of Brazil. A very common control method for controlling adult mosquito vectors which has been used widely in Brazil is the ultra-low volume (ULV) is considered the method of choice for controlling adult mosquitos during public health emergencies. However, the ULV treatment showed a moderate reduction effect on *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* mosquito populations because it treats the outdoor premises even though both vector species are active indoors. In 2019, Pan American Health Organization recommended the field implementation of TIRS (Targeted Insecticide Residual Spraying), which shows that it's sufficient to spray walls below 1.5m highlights to significantly reduce *Aedes aegypti* mosquitoes. Semi-field experimental facilities will be treated with different insecticidal black paints, that will be applied to the interior walls below 20 cm. Post-insecticide application, 5-7-day-old blood-fed females, and non-blood-fed females (100 for each group) will be released into each facility eight times over a 7-month period; +14 days, +1 month, +2 months, +3 months, +4 months, +5 months, +6 months, and +7 months. This design will be replicated by conducting three independent releases on four consecutive days, for each period. After a 24h exposure to the premises, live mosquitos will be recaptured, and mortality and missing ones will be recorded. We believe that additional reductions in interior areas necessary for IRS could be achieved with a deeper understanding of *Ae. aegypti* and *Culex quinquefasciatus* indoor resting habits, by identifying key indoor sites that are often/always exploited for resting purposes. This has the potential to empower householders to perform *Ae. aegypti* and *Culex quinquefasciatus* integrated control with simple tools without the need of relying on vertical programs.

Keywords: *Ae. aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, Optimized Indoor Residual Spraying (OIRS), and semi-field experimental facilities.

Area: Control.

Interações ecológicas entre o mosquito hospedeiro, sua microbiota bacteriana e *Wolbachia*

João Miranda da Costa Baltar, Márcio Galvão Pavan, Rafael Maciel de Freitas, Maria Luiza Cabral, Gabriela Moreschi de Almeida, Mariana Rocha David.

Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários/IOC-Fiocruz

Mosquitos vetores são responsáveis pela transmissão de diferentes patógenos, dentre eles arbovírus, que causam impactos significativos na saúde pública a nível global. *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* são espécies de mosquitos vetores cosmopolitas, apresentam uma elevada antropofilia e são responsáveis por surtos e epidemias de arbovírus em diferentes locais. Uma vez que são extremamente difíceis de serem erradicados, necessitam de metodologias eficientes de controle vetorial. O uso da bactéria intracelular *Wolbachia* vem sendo difundido devido à sua alta capacidade de dispersão em populações de mosquitos e ao bloqueio da transmissão de arbovírus. Mosquitos também possuem microrganismos colonizando diferentes tecidos, adquiridos de forma vertical e horizontal, via ambiente, principalmente. No presente trabalho, a interação entre o mosquito hospedeiro, sua microbiota e as cepas wMel e wAlbB de *Wolbachia* será investigada. Utilizando como modelos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* de campo e laboratório, buscaremos descrever a densidade de *Wolbachia*, a composição e diversidade da microbiota de forma sazonal. Investigaremos possíveis efeitos de variáveis ambientais, densidade, cepa e presença ou ausência de *Wolbachia*, espécie e origem do mosquito hospedeiro na diversidade da microbiota dos mosquitos. Anteriormente, nosso grupo demonstrou uma possível correlação negativa entre *Wolbachia* e uma *Acetobactéria* no intestino médio de *Ae. albopictus*. Desta forma, bactérias desta microbiota intestinal desta e de outras famílias que possuem uma correlação negativa ou positiva com *Wolbachia* serão isoladas e posteriormente caracterizadas geneticamente, visando a reintrodução em *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Avaliaremos assim seus efeitos na densidade nas cepas wMel e wAlbB, competência vetorial dos culicídeos infectados com DENV e parâmetros do *fitness* dos mosquitos (sobrevivência e fecundidade). Nossas coletas vêm sendo realizadas no bairro de Fonseca/Niterói (RJ), uma área que foi alvo da liberação de *Ae. aegypti* com *Wolbachia* (wMel) e que possui frequência mediana do endossimbionte, confirmada após uma coleta piloto no local que indicou 47% de mosquitos com a bactéria. Fêmeas circulantes de ambas as espécies de mosquitos são coletadas com o uso de aspiradores costais, enquanto recém-emergidos e larvas são coletados em criadouros artificiais previamente instalados (replicatas separadas por cerca de 15 metros). Até o presente momento, larvas e pupas de *Ae. albopictus* foram coletadas coexistindo com larvas de *Ae. fluviatilis*, *Culex spp.* e *Limatus durhamii*.

Palavras-chave: *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti*, microbiota e *Wolbachia*

Área de concentração: Microbiota

Apoio financeiro: CAPES (Código 001), INOVA FIOCRUZ – Edital Novos Talentos

The spread of invasive diseases vectors; *Aedes albopictus* and *Anopheles stephensi* and the associated diseases outbreaks in Africa

Ayman Ahmed^{*1}, Emmanuel Edwar Siddig¹, and Nouh Saad Mohamed¹.

¹*University of Khartoum, Khartoum 11111, Sudan*

During the recent years many countries in East Africa including Chad, Djibouti, Ethiopia, and Sudan, have suffered from outbreaks of vector-borne diseases. These outbreaks mainly include unusual upsurge of malaria, increase of dengue outbreaks as well as emergence of massive outbreaks of Chikungunya. Unfortunately, due to the limited capacity of the surveillance systems of diseases vectors in Africa and the total reliance on morphological identification of vectors, no change in the vectors composition was reported until the development of the corresponding outbreaks. However, in response to these outbreaks, extensive entomological investigations have revealed the wide spread of two invasive diseases vectors in the region, namely *Aedes albopictus* and *Anopheles stephensi*. Interestingly, both invasive vectors are of Asian origin. Considering the high risk of malaria outbreaks in the heavily populated urban settings in Africa, the World Health Organization has released an alert and launched a global initiative for the response to *An. stephensi* in Africa. Regrettably, the situation was not the same for *Aedes albopictus*, mainly due to the lack of control programmes for arboviral diseases and their vectors in Africa in absence of donor and local capacity. However, the burden of Aedes-borne arboviral diseases is steadily growing in Africa. Here we present updates about the spread of both, *Aedes albopictus* and *Anopheles stephensi*, the associated risk, current preparedness and response as well as the needs, gaps, and the added value of One Health strategy for the surveillance and control of these invasive vectors in Africa.

Keywords: *Aedes albopictus*, *Anopheles stephensi*, malaria, arboviruses, vector-borne diseases outbreaks, vector surveillance and control

Modelos biológicos de culicídeos: Uma ferramenta para divulgação e capacitação de agentes de combate a endemias

Talita Kellen dos Anjos Soares, Bruno Gomes e Daniele Pereira de Castro.
Instituto Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ)

A construção de modelos anatômicos tridimensionais é uma ferramenta importante para a pesquisa em diversas áreas da biologia. Os aspectos relativos à compreensão da fisiologia e identificação de insetos remetem uma grande necessidade de visualização anatômica. Tanto para aqueles que buscam entender os processos de taxonomia quanto para divulgar à população as fases de desenvolvimento de insetos. Nesse sentido, alguns culicídeos podem causar impactos significativos nos sistemas de saúde pública, visto que são, muitas vezes, responsáveis pela transmissão de patógenos que provocam surtos de arboviroses por todo mundo. Apesar da rica importância de representações físicas para assimilação de conteúdos apresentados em congressos e cursos, o Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos (LABFISI) localizado na Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), ainda não dispõe de uma ferramenta como essa. Com este viés, o projeto buscou utilizar biscoito, materiais recicláveis (papéis, garrafas pets, cerdas de vassoura, etc), fita crepe, tinta e verniz como material para construção de modelos biológicos do ciclo de vida do *Aedes aegypti* e de larvas e ovos de espécies como: *Aedes albopictus*, *Culex coronator* e *Anopheles* sp. Com o objetivo de auxiliar alunos de iniciação científica na compreensão da fisiologia dos insetos estudados no LABFISI, atribuir importância aos modelos biológicos de culicídeos para suas utilizações em cursos de capacitação de agentes de combate a endemias e despertar na sociedade a consciência e sensibilização ambiental sobre o preocupante papel desses mosquitos na saúde pública. Cada fase e estrutura desses animais foi moldada conforme os estudos e conhecimentos repassados na Iniciação Científica, considerando práticas de dissecação, ampliações em lupa dos ovos, para registro fidedigno de seus detalhes mais característicos e reuniões de sugestões para modificação dos modelos. O projeto obteve até o momento, esquemas ilustrados para modelagem, protótipos dos modelos das fases de desenvolvimento do *Ae. aegypti*, onde foi possível modelar as fases do ovo à pupa, e constatações de reuniões para novas alterações dos modelos futuros. Pretende-se, com as novas sugestões, aperfeiçoar os modelos e gravar todo o processo para gerar um conteúdo criativo de divulgação. Desse modo, esses modelos que são duráveis e relativamente baratos de produzir, tornam-se uma opção viável para a imersão do estudante nos projetos apresentados no laboratório e treinamentos de identificação taxonômica, assim como atribui utilidade lúdica para divulgação em redes sociais e eventos.

Palavras-chave: Modelos anatômicos; Insetos vetores; *Aedes aegypti*; Materiais Educativos e de Divulgação; Culicídeos;

Área: Divulgação Científica de Insetos Vetores.

Apoio financeiro: CNPq; IOC.

Aedes aegypti

The Role of E75 on the Intestinal Cells in *Aedes aegypti*.

Nunes-Oliveira, M.^{1,2}; Barbosa, R.L.^{1,2}; Rojas, V. B.³; Oliveira, P. L.^{1,2} Paiva Silva, G. O.^{1,2}

¹Laboratório de Bioquímica de Artrópodes Hematófagos, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis (IBqM) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. ²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular (INCT-EM). ³Department of Microbiology & Molecular Genetics, University of California, Irvine, CA, (UCI, USA).

The mosquito *Aedes aegypti* is an important arbovirus vector due to their hematophagic habit, through which they ingest and transmit pathogens that affect millions of people around the world, like Dengue, Zika and Chikungunya viruses. The maintenance of intestinal integrity impacts the vector competence. Thus the study of blood feeding effects on mosquito's intestinal homeostasis becomes important. Blood feeding causes a series of specific events that alter the physiology of adult mosquitoes, among which the production of Ecdysone in the ovary stands out. This hormone is directly related to the formation of the eggs and it's also able to transcriptionally regulate the cells of target tissues, which express a set of Ecdysone initial response genes, among these, the E75 transcription factor. Therefore the aim of this project is to investigate the regulation of intestinal stem cell proliferation by Ecdysone through the expression of E75 in *Aedes aegypti*. Our methodology consists of quantifying the expression of E75 by quantitative PCR in different biological conditions and silencing it using RNAi machinery. Our results demonstrated the increased expression of E75 24 hours after blood meal, following the course of digestion in the mosquito midgut, mainly of the isoform B of this gene. In addition, we noticed that silencing of E75 reduced the rate of mitotic cells in the midgut and negatively impacts survival profile, suggesting that this transcription factor is required by molecular apparatus involved in maintaining the intestinal homeostasis. Furthermore, analysis of aging showed us different modulation profiles of the ecdysone pathway related genes, what could affect the dynamics of intestinal homeostasis. Also, 24 hours ZIKV infection showed a tendency of down regulation in young mosquitoes but the same is not observed in old ones. Hence, in order to achieve a better comprehension of the role of the hormonal regulation in intestinal integrity and vectorial competence, our future experiments consist in the analysis of ZIKV infection with E75 silencing and, furthermore, in the performance of a next-generation sequencing technique to compare silencing and non-silencing mosquitoes.

(Biochemistry)

Keywords: *Aedes aegypti*; midgut; cell proliferation; E75; ecdysone.

Acknowledgements: Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES).

FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF THE EPIGENETIC MODIFICATION m6A ON *Aedes aegypti* mRNA

Juan Yasumura; Anderson Amarante; Marcelo Fantappi .

Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ).

The *Aedes aegypti* mosquito is a vector of arboviruses of clinical importance, such as Dengue, Chikungunya, Zika, Yellow Fever, representing, therefore, a relevant public health problem. Among these arboviruses, until today, only Yellow Fever has an effective vaccine. In this context, combating the vector has still been considered the best strategy for controlling these diseases. Epigenetics can be defined as the science that studies the impact of chemical modifications in nucleic acids and histone proteins, in the control of gene expression. More than 100 different types of reversible chemical modifications in RNA molecules have already been described, which can regulate processes such as processing, stability, maturation and translation of mRNA. This project aims to characterize the methylation of adenosine (m6A) in messenger RNA (mRNA) in *Aedes aegypti*, seeking to understand the role of this modification in the biology of the vector and its interaction with arboviruses. Initially, we sought to identify the m6A machinery in *A. aegypti* and revealed that the mosquito contains the proteins involved in methylating RNA, but that the demethylases are absent. We characterized the expression of two RNA methyltransferases, METLL3 and MTTL14, followed by gene silencing and evaluation of vector fitness. Our data reveal m6A methylation in adult females, especially high levels in flight muscle, whereas adult males are devoid of m6A in RNA. Analyses of m6A in RNA from pupae revealed a high rate of m6A in male pupae. Based on this, we hypothesize that m6A may control the expression of genes involved in flight. Added to this, the literature demonstrates that an isoform of actin from *A. aegypti* (AaAct4) is not expressed in males, only in females, and that genetic silencing of AaAct4 in females compromises the flight of these mosquitoes. The 5' UTR region of the AaAct4 mRNA contains the DRACH domain—an indispensable domain for mRNA methylation. Our data, although still preliminary, reveal that m6A modification in mRNA from adults and/or pupae may be involved with important biological aspects of the vector, such as flight.

Keywords: *Aedes aegypti*; Epigenetics; Molecular biology.

Support: FAPERJ

Identification of the Regulatory Mechanisms of *Aedes aegypti* Intestinal Homeostasis and Their Impact on Vector Competence For Zika Virus

Walter-Nuno, A.B.^{1,2}; **Oliveira, P.L.**^{1,2}; **Paiva-Silva, G.O.**^{1,2}.

¹ Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; ² Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular (INCT-EM), Brazil

INTRODUCTION. *Aedes aegypti* are vectors of arboviruses such as Dengue, Zika and Chikungunya that affect millions of people worldwide. After feeding on host blood, these mosquitoes face a challenge imposed by digestion: the large release of the pro-oxidant molecule heme, and the exponential increase of the lumen microbiota. Eventually, these events can cause damage to the cells of the intestinal epithelium, compromising tissue integrity. Damaged or senescent cells must be constantly replaced by new cells in order to maintain the integrity of the epithelium. The cellular and molecular processes that succeed the blood supply are directly linked to the transmission of pathogens, since the intestine acts as an effective barrier to vector infection and subsequent transmission of these pathogens. The understanding of the processes that guarantee tissue integrity through such challenges may reveal new targets for the development of control strategies for these animals, for interference in the transmission of arboviruses and reduction of vector competence. **OBJECTIVE:** The main goal of this project is to study the pathways involved in the control of intestinal epithelial homeostasis of *Aedes aegypti*, as well as the effect of infection on mechanisms that control the proliferation and regeneration of this tissue, and on the maintenance of the *Aedes aegypti*-Zika virus interaction. **MATERIAL AND METHODS:** Using bioinformatics techniques genes involved in intestinal homeostasis were identified in the *A. aegypti*. qPCR were performed to assess expression of the main signaling pathways classically involved in cell maintenance and regeneration: via Notch/Delta, Jnk and Hippo in susceptible strains (Rockefeller) and resistant to viral infection (Orlando) in *A. aegypti* mosquitoes. **DISCUSSION AND RESULTS:** The strains have a similar expression pattern on cell maintenance and regeneration. Virus infection generates an increase in the number of ISCs 72h after feeding in the susceptible strain (ROCK). Likely to repair tissue damage caused by infection. **CONCLUSION:** During and after a blood meal, intestinal stem cells retain their inherent ability to divide and respond to viral replication; and that cell regeneration is an important feature in the vector competence of *A. aegypti*.

Keywords: *Aedes aegypti*, midgut homeostasis, zika

Estrutura populacional e fluxo genético de *Aedes aegypti* em Foz do Iguaçu, Paraná

Lucas Bonato Mosmann¹, André de Souza Leandro², Rafael Maciel de Freitas^{1,3}, Márcio Galvão Pavan¹.

¹ Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil. ² Secretaria Municipal de Saúde de Foz do Iguaçu, Foz do Iguaçu, Brasil. ³ Bernhard Nocht Institute for Tropical Medicine, Hamburg, Germany

No Brasil, dengue, Zika e chikungunya são transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti* em ambiente urbano, representando um desafio para a saúde pública. A vigilância entomo-viológica em fronteiras terrestres desempenha um papel essencial na redução de eventos de (re)introdução de vetores e a entrada de novos genótipos de arbovírus ou mesmo novos patógenos, já que para estas arboviroses não há tratamento ou vacinas eficazes. A disseminação de arboviroses no Brasil, Paraguai e Argentina ressalta a preocupação com as regiões de fronteira. O Paraná enfrentou epidemias de dengue em 2020 e 2022 com casos importados em Foz do Iguaçu. Neste ano, a região registrou elevado número de casos confirmados de arboviroses. Dessa forma, localizar as possíveis rotas de introdução de mosquitos exógenos e de dispersão de *Ae. aegypti* e conhecer a disposição das populações do mosquito na região da tríplice fronteira poderão auxiliar nos sistemas de vigilância entomológica e virológica, facilitando medidas de prevenção. Neste estudo, utilizaremos o método de ddRADseq para investigar polimorfismos de base única e regiões de microssatélites ao longo dos genomas de populações de *Ae. aegypti* de Foz do Iguaçu e cidades vizinhas, além de localidades conectadas por rotas comerciais relevantes. Foram colocadas em campo 30 ovitrampas para obtenção de ovos de *Ae. aegypti* em cada uma das sete localidades amostradas (Cidade do Leste e Assunção, Paraguai; Foz do Iguaçu e Paranaguá, PR; Aeroporto Santos Dumont e Porto do Rio de Janeiro, RJ; e Porto de Santos, SP). As armadilhas foram instaladas equidistantes para amostrar geograficamente da melhor forma a diversidade populacional do mosquito de cada região. Os ovos foram eclodidos em laboratório e cerca de 30 larvas L4 foram selecionadas por localidade. As larvas foram selecionadas de armadilhas distintas e sempre que possível de momentos de coleta distintos, para evitar a análise de amostras com grau de parentesco direto. Atualmente, um total de 208 amostras coletadas estão em fase de extração de DNA usando o kit Macherey-Nagel NucleoSpin e quantificação no Qubit (Thermo Fisher), enquanto as coletas no Aeroporto Galeão, RJ, estão em andamento. Cada amostra para sequenciamento por ddRADseq deve ter pelo menos 100ng de DNA. O conhecimento do background genético das populações de *Ae. aegypti* poderá fornecer informações importantes sobre os hotspots de invasão do mosquito, o que poderá em última instância auxiliar medidas de controle vetorial.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, genética populacional, dispersão passiva

Apoio financeiro: CAPES e CNPq

Caracterização de Lacases em *Aedes aegypti*

Rayssa Marronne Pereira de Oliveira, Diogo Gama, Gabriela Silva, Ana C. Bahia, Ednildo de Alcântara Machado.

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro (IBCCF/UFRJ), INCT-Entomologia Molecular

O mosquito *Aedes aegypti* é um vetor de importantes arboviroses no contexto de saúde pública, como Dengue (DENV), Zika (ZIKV), Chikungunya (CHIKV) e febre amarela. As multicobre oxidases (MCOs), também chamadas de Lacases, são enzimas constituídas de quatro íons de cobre, distribuídos em três sítios catalíticos, essenciais para a oxidação de substratos. Estas enzimas estão presentes em diversos seres, incluindo bactérias, fungos, plantas e insetos, e possuem uma ampla gama de substratos, como compostos fenólicos, aromáticos, aminas, dentre outros. As MCOs recentemente têm sido relacionadas a possíveis papéis no sistema imune de alguns artrópodes, como camarões e insetos, e apesar de já ser estudada em alguns mosquitos, não há muitos estudos com essa família de enzimas no organismo *A. aegypti*. Seis sequências de MCOs foram encontradas na base de dados do genoma e transcriptoma de *A. aegypti*, no NCBI (National Center for Biotechnology Information), e foram denominadas como AaMCO1a, AaMCO1b, AaMCO2, AaMCO3, AaMCO5 e AaMCO6. Neste projeto será avaliada a expressão gênica e atividade das AaMCOs em mosquitos infectados por ZIKV, mosquitos não infectados, formas imaturas e adultas. Será feito o silenciamento gênico em formas larvais e adultas, através da técnica de RNAi, para indicar prováveis funções destas enzimas no mosquito. Acredita-se que as informações geradas neste projeto podem auxiliar no desenvolvimento de novas ferramentas de controle de transmissão de ZIKV pelo mosquito *A. aegypti*, assim como de controle do próprio mosquito.

Palavras-chave: Lacases, *Aedes aegypti*, ZIKV

Apoio financeiro: FAPERJ, CNPq

Área: Biologia Molecular

SELENOPROTEÍNAS EM *Aedes Aegypti*

Autores: Bruna Gonçalves Dias Villarinho, Gilbert Oliveira, Carla Ribeiro Polycarpo.

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) - Instituto de Bioquímica Médica (Laboratório de Bioquímica de Artrópodes Hematófagos); Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia - Entomologia Médica (INCT - EM).

As selenoproteínas são proteínas que possuem o aminoácido selenocisteína (Sec) em sua composição. Esse aminoácido é inserido cotraducionalmente em um polipeptídeo em resposta ao códon UGA que é suprimido quando uma estrutura em forma de grampo específica está presente após esse códon (Silva, M. T. e cols, 2013). O papel das selenoproteínas já está bem estabelecido em humanos e a maioria delas está envolvida na resposta ao estresse oxidativo (Behl, Mehta & Pandey, 2023). As fêmeas do mosquito *A. aegypti* alimentam-se de sangue, que após a digestão leva à liberação de íons ferro presentes na hemoglobina e favorece ao aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Saeae e cols., 2011). Surpreendentemente, embora muitas proteínas do sistema antioxidante já tenham sido estudadas neste organismo, o papel das selenoproteínas não foi estudado (Saeae e cols., 2011). Sendo assim, o objetivo deste projeto se baseia no estudo da expressão das duas selenoproteínas de *Aedes aegypti*, SelK e SelH, e a sua importância na fisiologia do mosquito. As metodologias utilizadas nessa pesquisa são: o silenciamento dessas selenoproteínas com a técnica do RNA de interferência (RNAi), a avaliação do percentual de sobrevivência comparando com um grupo controle, a verificação de oviposição e eclosão após a alimentação com sangue e, por fim, a análise da capacidade vetorial ao alimentar os mosquitos silenciados com sangue infectado com arbovírus. Essa pesquisa poderá trazer resultados importantes que poderão nos ajudar não somente a compreender melhor a fisiologia dos mosquitos, mas a encontrar meios de impedir a transmissão de arboviroses.

Área: Biologia Molecular

Palavras chaves: selenoproteínas, selenocisteína, SelK, SelH, estresse oxidativo, sobrevivência, oviposição, capacidade vetorial.

Investigação do efeito repelente de diferentes produtos/ativos voltados ao controle de *Aedes aegypti*

Serravite, AM¹; Andrade, PH¹; Rabelo JP¹; Gontijo, N.F¹; Sant'anna, MRV¹; Koerich, LB¹; Pereira MH¹; Pessoa, GCD¹.

¹Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos – Departamento de Parasitologia – ICB – UFMG - Belo Horizonte/MG, Brasil.

Para o controle das arboviroses transmitidas por *Aedes aegypti* – Dengue, Zika e Chikungunya - frente a ausência de imunização, a adoção de estratégias de controle vetorial é fundamental. Nesse cenário, o inseticida tem sido e continua sendo uma importante estratégia para controle de mosquito. Contudo, a exposição a longo prazo de tais vetores a esses ativos, tem selecionado espécimes resistentes, impactando de forma significativa no controle vetorial e, consequentemente na incidência tais doenças. Nesse cenário, o estudo da resistência aos inseticidas é considerado estratégico na perspectiva de fornecer subsídios práticos para a tomada de decisões relacionadas as atividades de controle químico executadas no campo. Ademais, pouco se sabe sobre o efeito repelente de tais inseticidas sobre os mosquitos, os ativos que apresentam tal efeito, como a repelência acontece e a interação com a resistência aos inseticidas. Para tal, foram realizados ensaios do tipo mão em gaiola com *Aedes aegypti* (fêmeas, até 9 dias pós muda em jejum de sangue) e para os ensaios pela metodologia do *High Throughput Screening System* (HITSS), foram utilizados com fêmeas de até 5 dias pós muda em jejum de sangue. Foram avaliados os inseticidas grau técnico deltametrina e bendiocarb, além dos produtos formulados Ficam VC PM80 (bendiocarb 80%) e o Fludora® Fusion PM (deltametrina 6,25% + clotianidina 50%). Os controles foram o solvente usado para diluir o inseticida. Pela metodologia de mão em gaiola, observou-se repelência aos compostos Fludora fusion (72,4%) e deltametrina (61,5%), enquanto o bendiocarb GT e formulado não apresentaram repelência significativa (-0,8% e 15,57%, respectivamente). Quando observado os ensaios de contato pelo HITSS usando tubos da OMS, observou uma tendência de escape dos mosquitos que entraram em contato com deltametrina (61,2%) e com bendiocarb (45,1%) quando comparados com o controle (38,1%%). Esses resultados sugerem que *A. aegypti* possuem comportamento de repelência com o produto formulado Fludora Fusion e com o inseticida grau técnico deltametrina e bendiocarb (em ensaios de contato apenas). Ainda são necessários mais ensaios com populações para determinar se a resistência de uma população pode acarretar em diferenças na repelência, bem como averiguar como as diferentes populações detectam os inseticidas. Os resultados obtidos podem auxiliar os programas de controle de vetores na escolha de uso de inseticida, bem como aprofundar os conhecimentos na área.

Palavras-chave: Culicidae, *Aedes aegypti*, Controle vetorial, Repelência, Resistência a inseticida

Apoio Financeiro: UFMG, INCT-Entomologia, IRR/Fiocruz Minas, CAPES, Fapemig, CNPq,

Área: controle de vetores

O Papel do Fator de Crescimento Epitelial Keren na Manutenção da Homeostase Intestinal do Mosquito *Aedes aegypti*.

Ferro, J.C.¹; Walter-Nuno, A.B.¹; Nunes-Oliveira, M.¹; & Paiva-Silva, G.O.

¹ Laboratório de Bioquímica de Artrópodes Hematófagos, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo De Meis (IBqM) - Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Insetos com hábitos hematofágicos, como os mosquitos, são vetores de várias arboviroses que assolam todo o globo. Os vírus transmitidos são obtidos durante a alimentação de um hospedeiro infectado. As células epiteliais do intestino médio do *Aedes aegypti* atuam como as primeiras barreiras à proteção do hospedeiro durante a infecção por patógenos. Assim, vários mecanismos celulares e moleculares são necessários para manter a integridade tecidual, tais como eliminação de células danificadas e proliferação celular. Nosso grupo já demonstrou que danos oxidativos promovem a proliferação de células do intestino médio e que, em mosquitos de linhagens com diferentes graus de suscetibilidade, a dinâmica de proliferação celular está diretamente relacionada às suas resistências à infecção viral. Então, uma recuperação eficiente e rápida da infecção, depende de uma condição proliferativa intensa juntamente com a eliminação de patógenos. O objetivo deste estudo é analisar como keren, uma citocina liberada por enterócitos lesados para desencadear a proliferação celular, está envolvida na eficiência da recuperação de danos bióticos e abióticos e na resistência à infecção pelo vírus. Através de ferramentas de bioinformática, foi identificado o gene do fator de crescimento epidérmico keren no genoma de *A. aegypti*, baseado no gene ortólogo da mosca *Drosophila Melanogaster*. A expressão de keren no intestino médio do mosquito foi avaliada por qPCR. Nossos resultados identificaram uma maior expressão de keren no intestino médio de fêmeas 48 horas após a alimentação com sangue. Neste ponto, a digestão está completa e esperamos que o organismo retorne a uma dieta açucarada, uma condição que é caracterizada por altos níveis de espécies reativas de oxigênio no lúmen do intestino médio. Além disso, intestinos médios de fêmeas alimentadas com paraquat, um composto pró-oxidante, apresentam níveis aumentados de transcritos de keren quando comparados com grupos controle. Estes dados revelaram uma correlação direta entre dano celular e expressão de keren. No futuro, pretendemos investigar o papel do keren na resistência de mosquitos à infecção por arbovírus através do silenciamento gênico do keren pela técnica de RNAi. Nossa hipótese é que keren pode desempenhar um papel importante na manutenção da homeostase do intestino médio sob estresse abiótico e ativando mecanismos envolvidos com a resistência à infecção viral.

Palavras-chave: keren, EGFR, intestino médio, *Aedes aegypti*, arbovírus.

Apoio financeiro: Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

UTILIZAÇÃO DE METABÓLITOS DE ALGA MARINHA COM SUBSTRATO ATRATIVO NO CONTROLE DE MOSQUITOS

Orlando Salvador Neto

Instituto de Sustentabilidade e Biodiversidade - UFRJ

As doenças negligenciadas sempre foram alvo de pesquisas acadêmicas, porque acometem grande parte da população mundial e como o próprio nome diz, aparentemente, não possuem a devida atenção por parte dos governos mundiais. Dentre elas pode-se destacar as doenças transmitidas por mosquitos como: malária, dengue, zika, chikungunya e febre amarela. Os mosquitos são insetos classificados dentro da família Culicidae, subordem Nematocera e da ordem Diptera. Esta família possui acima de 3200 espécies descritas e tipicamente é subdividida em três subfamílias: Anophelinae, Culicinae e Toxorhynchitinae. O *Aedes* é o principal gênero de mosquitos transmissores de arboviroses da subfamília Culicinae que compreende mais de 1200 espécies. A importância do controle do vetor é fundamental, principalmente em sua fase larval, fase em que os insetos estão em uma densidade populacional maior, e o desenvolvimento de novas estratégias de controle que agredam menos o meio ambiente e atinjam menos espécies não alvo. Extratos naturais sempre foram uma alternativa para o controle de insetos. Os sesquiterpenos e terpenóides utilizados pelas plantas como defesas químicas para pragas e doenças são efetivas contra os insetos quando utilizados como inseticidas em diferentes formulações. Óleos essenciais extraídos de plantas atuam como repelentes e inseticidas naturais utilizados por toda população. O mais conhecido é o óleo de citronela utilizado, principalmente, como matéria prima para velas aromáticas e formulações em spray. A utilização de novos meios de controle é incentivada pela Organização Mundial de Saúde e como os extratos de plantas geralmente são menos tóxicos para o ambiente, animais e mais baratos para produzir, sua utilização no mercado no futuro deverá ser cada vez mais presente. A alga do estudo, possui metabólitos secundários em abundância, que são utilizados pela mesma para proteção. Estes metabólitos, cujas estruturas estão discriminadas na figura 3, são alvo de estudos em todo o mundo por seus notáveis efeitos em *Leishmania*, e células tumorais. Nosso grupo já demonstrou a eficácia dos sesquiterpenos obtidos de algas marinhas, no controle do mosquito *A. aegypti*, com índice de mortalidade de 80% de larvas em 24h com o isolado e o presente trabalho pretende realizar uma nova abordagem para os extratos em solução com substâncias atrativas para formulação de isca para os mosquitos adultos com foco na oviposição em ovitrampa.

Área: Controle de vetores

Palavras chave: Metabólitos secundários, Controle de vetores, *Aedes aegypti*, alga marinha, metabolismo

Apoio Financeiro: Capes

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO E DO IMPACTO DO SILENCIAMENTO DE ENZIMAS MODIFICADORAS DE TRNA EM *Aedes aegypti* APÓS O REPASTO SANGUÍNEO E INFECÇÃO POR VÍRUS ZIKA

Autores: Ivana D'Almeida Melo, Letícia Cristina Duarte Lima, Julia Fernandes Macedo, Carla Ribeiro Polycarpo

Instituição: UFRJ - Instituto de Bioquímica Médica (Laboratório de Bioquímica de Artrópodes Hematófagos do Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil)

O *Aedes aegypti* é um mosquito pertencente à Ordem Díptera, Família Culicidae. Esse inseto é o vetor de vários vírus, como por exemplo o vírus Zika (ZIKV), que é um vírus de RNA de fita positiva simples que pertence ao gênero *Flavivirus*. Neste grupo também pertencem outros patógenos, como o vírus da Dengue e da Febre Amarela. Esses arbovírus são ameaças atuais à saúde pública e os surtos dessas arboviroses, particularmente as transmitidas pelo mosquito *Aedes*, estão aumentando globalmente, alimentadas pela convergência de fatores ecológicos, econômicos e sociais¹. Há uma grande importância do Códon Usage no sucesso evolutivo dos vírus e uma correlação muito forte para organismos unicelulares e multicelulares entre o Códon Usage e a população de tRNAs cognatos². Uma das características dos tRNAs é a presença de modificações pós-transcricionais existentes em seus nucleotídeos. As modificações que ocorrem na Uridina 34 (U34) se destacam por estarem presentes em todos os domínios da vida, o que pode indicar uma forte pressão evolutiva para manter essas modificações. O complexo Alongador (Elp1-6) e as enzimas Trm9, Ncs2 e Ncs6 estão envolvidas na formação das modificações 5-carbamoylmetiluridina (ncm5U), 5-metoxycarbonil-metiluridina (mcm5U) e 5-metoxycarbonil-metil-2-tiouridina (mcm5Us2) na posição 34 de 11 diferentes tRNAs³. Sabemos que existe uma aproximação do Códon Usage de ZIKV e seus hospedeiros e que existe uma correlação entre os códons utilizados pelo vírus e os tRNAs do hospedeiro (dados ainda não publicados do nosso grupo), mas há uma preferência do ZIKV na utilização de códons que terminam com Adenina, que são traduzidos por tRNAs com a modificação U34, então resolvemos verificar se essas modificações têm algum efeito na replicação viral. Sendo assim, este estudo tem por objetivo analisar a expressão das enzimas de modificação de U34 em *Aedes aegypti* em resposta a infecção viral e avaliar o impacto do silenciamento dessas enzimas assim como da expressão dessas enzimas na replicação viral. Resultados preliminares do nosso grupo mostram que há uma antecipação da expressão das enzimas Elp3, Elp 4, Ncs2 e Ncs6 em mosquitos infectados com ZIKV, sugerindo que possa haver uma necessidade dessas modificações para uma replicação viral satisfatória. Esse estudo é fundamental para que possamos compreender melhor a biologia desses vetores que levam a disseminação de doenças de grande importância para a saúde pública.

Palavras-chave: Modificações de tRNA, Vírus Zika, *Aedes aegypti*

Apoio financeiro: CNPq e FAPERJ

Área: Biologia Molecular

Caracterização e identificação de efeito antiviral do fungo *Candida guilliermondii* de *Aedes aegypti*

Matheus Azevedo Lessa¹; Valdir Braz¹, Ednildo de Alcantara Machado^{1,2}; Ana C. Bahia^{1,2}

¹Laboratório de Bioquímica de Insetos e Parasitos, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brazil;

²INCT-Entomologia Molecular

Alguns dos arbovírus que causam doenças em humanos como Dengue, Chikungunya, Zika e Mayaro representam um desafio significativo para a saúde pública global. Esses vírus são transmitidos pelo mosquito *Aedes aegypti* e sua amplificação e transmissão são influenciadas por fatores ambientais. Para enfrentar essa questão, é necessário entender os fatores que afetam o ciclo de transmissão desses arbovírus, a fim de desenvolver estratégias de controle mais eficazes. Dessa forma, embora a importância das bactérias seja reconhecida na transmissibilidade de arbovírus pelo inseto, há poucos estudos sobre a influência da microbiota fúngica. No entanto, sabe-se que algumas espécies de fungos também podem desempenhar um papel significativo na competência vetorial de insetos. Tendo isso em vista, nosso grupo conseguiu obter 11 isolados fúngicos do mosquito *A. aegypti*. Experimentos *in vitro* demonstraram que um isolado de *Candida guilliermondii* é capaz de inibir de maneira significativa a atividade do vírus Zika quando incubado com as células do mosquito 24h antes e de maneira menos significativa nos casos de concomitante e posterior à infecção pelo arbovírus. Experimentos de metaboloma do sobrenadante fúngico estão em andamento com o intuito de conhecer as suas moléculas e inferir possíveis efeitos biológicos nas células do inseto ou no vírus Zika. Acreditamos que a identificação das moléculas (e mecanismos de inibição) do vírus Zika pelo fungo *C. guilliermondii* poderá trazer informações relevantes sobre a biologia da interação entre estes dois microrganismos, além de, ser importante para o desenvolvimento de novas estratégias de controle para arboviroses.

Palavras-chave: Fungo, Arbovírus, *Aedes aegypti*, Metabólitos

Apoio financeiro: FAPERJ, CNPq

Efeitos da morina durante a fase larval na fisiologia e no metabolismo de energético em *Aedes aegypti*

Luan Valim dos Santos¹, Elaine Rodrigues Miranda Neri da Silva¹, Matheus Silva Caiado¹, Emerson Guedes Pontes¹

¹*Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica*

O mosquito *Aedes aegypti* é um inseto vetor de arbovírus causadores da febre amarela, dengue, Chikungunya e Zika. A forma mais efetiva de controle desses arbovírus é a supressão populacional de seus vetores, sendo assim, a busca por novos meios que gerem pouco impacto ao meio ambiente e mitigue a resistência da espécie-alvo são imprescindíveis. No presente trabalho foi observado o impacto da administração da morina (3,5,7,2',4'-pentahidroxiflavona) sobre larvas de *A. aegypti* por 24h no metabolismo de lipídios e consequências secundárias às larvas sobreviventes. Larvas do estágio L3 de *A. aegypti* foram criadas em meios contendo diferentes concentrações de morina por 24h e os efeitos desse tratamento foram observados através da anotação da mortalidade, expressão de ácido graxo sintase, quantificação de triacilglicerol e proteínas totais. Posteriormente, larvas que sobreviveram ao tratamento foram transferidas para um meio salubre e os efeitos posteriores foram anotados, como a taxa de pupação e a fecundidade de adultos. A morina foi capaz de matar as larvas da fase L3 para L4 apresentando CL₅₀ de 120,15 µM. Nas larvas sobreviventes foi observado redução de quase 80% da expressão da ácido graxo sintase nas larvas tratadas, de quase 77% nos estoques de triacilglicerol das larvas expostas a 500 µM de morina e de cerca de 37% nos níveis de proteínas em concentrações acima de 100 µM. As larvas do grupo não tratadas com morina apresentaram taxa de pupação de 100% após quatro dias, enquanto que, larvas tratadas com 500 µM apresentaram 67% de mortalidade após 6 dias e retardamento na taxa de pupação das sobreviventes. Quanto a anotação do número de ovos postos, foi observado que o número reduziu em quase 80%. Nossos resultados evidenciam que a morina impacta a sobrevivência, desenvolvimento larval e na fertilidade de fêmeas adultas. Porém, mais estudos são necessários para apontar os mecanismos bioquímicos e fisiológicos envolvidos.

Apoio financeiro: CAPES, INCT-EM / Área: Bioquímica

Palavras-chave: mortalidade, desenvolvimento, fertilidade, triacilglicerol, ácido graxo sintase

EVALUATION OF LYMPHOCYTE DEATH INDUCED BY *Aedes aegypti* SALIVA.

JOSIANE BETIM DE ASSIS¹, MARGARETH DE LARA CAPURRO^{2,3}, ANDERSON SÁ-NUNES^{1,3}.

¹ Department of Immunology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil. ² Department of Parasitology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil. ³ National Institute of Science and Technology in Molecular Entomology, National Council for Scientific and Technological Development (INCT-EM/CNPq), Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

The *Aedes aegypti* mosquito is a hematophagous insect known to be a vector of arboviruses of great importance in public health. Its saliva is composed of a wide range of molecules with anti-hemostatic and immunomodulatory activities. We have previously described a selective cytotoxicity for lymphocytes whose mechanisms needs to be better understood. Thus, this work aims to further understand the lymphocyte death induced by *Ae. aegypti* salivary gland extract (SGE). To evaluate the cytotoxic activity of SGE from *Ae. aegypti*, murine spleens were used as a source of lymphocytes. A transient phosphatidylserine exposure to the outer membrane of T and B lymphocytes incubated with SGE was identified, characterized by positive annexin V staining of cells. Temporal kinetics of cell viability showed a gradual increase in the percentage of T and B lymphocyte death over 24 hours, which was significantly higher than observed in cells incubated with culture medium only (negative control) or incubated with boiled (denatured) SGE. A significant reduction of the cell death percentage was observed in the presence of Q-VD-OPh, a pan-caspases inhibitor, after 8 and 24 hours of incubation with SGE, demonstrating that caspase-dependent mechanisms might be involved in the phenotype. On the other hand, the SGE-induced death process was followed by a release of lactate dehydrogenase (LDH), suggesting that the observed process may not be apoptotic. However, when SGE was used in cell culture from Caspase-1 and Gasdermin D knockout mice, important components of pyroptosis, no significant differences were observed over 24 hours of culture. Additional experiments are in progress to characterize the phenotype associated with SGE-induced cell death and evaluate its effect on the host organism. These data can improve our understanding of the microenvironment created by *Ae. aegypti* saliva in the skin of the vertebrate during the bite and contribute to future studies to generate new alternatives to combat the mosquito and the pathogens transmitted by this vector.

KEYWORDS: *Aedes aegypti*, saliva, cell death, lymphocytes.

FINANCIAL SUPPORT: CAPES, CNPq, FAPESP.

Respostas celulares e moleculares envolvidas na manutenção da homeostase intestinal de *Aedes aegypti* durante o envelhecimento.

Maria Eduarda Rocha¹, Ana Beatriz Walter-Nuno¹, Mabel L. Taracena², Pedro I. Oliveira ¹, Gabriela O Paiva-Silva¹

1- Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil. 2- Cornell Institute of Host-Microbe Interactions and Disease, Cornell University, NY, USA

Mosquitos da espécie *Aedes aegypti* são vetores de arboviroses como Dengue, Zika, Febre Amarela e Chikungunya, que afetam milhões de pessoas no mundo todo e representam uma enorme ameaça à saúde pública. Após se alimentarem do sangue do hospedeiro, estes mosquitos enfrentam uma série de desafios impostos pela digestão, tais como liberação de altos níveis do pró-oxidante heme, aumento da microbiota residente e eventualmente aquisição de patógenos como os arbovírus. Além disso, estresses gerados pelo envelhecimento também são impostos ao intestino ao longo da vida do inseto. Eventualmente estes eventos podem causar danos às células do epitélio intestinal, comprometendo a integridade deste tecido. Os processos celulares e moleculares envolvidos na regeneração do intestino são essenciais para garantir a longevidade do mosquito. Além disso, estão diretamente ligados à transmissão dos patógenos, visto que o intestino atua como uma barreira efetiva à infecção do vetor e posterior transmissão destes patógenos. O entendimento dos processos que garantem a integridade tecidual mediante tais desafios pode revelar novos alvos para desenvolvimento de estratégias de controle destes animais, para interferência na transmissão dos arbovírus e diminuição da competência vetorial. **Desta forma, objetivo deste projeto é investigar os eventos celulares operantes no epitélio intestinal durante o envelhecimento, avaliando parâmetros como apoptose, capacidade proliferativa e a expressão de genes-chaves das vias de resposta a estresses bióticos e abióticos.**

Palavras Chave: *Aedes aegypti*, pathogens-vector interaction, intestinal homeostasis, aging

Apoio: CNPq, CAPES e FAPERJ

Efeitos do excesso da luz artificial à noite sobre coletas em ovitrampas e ritmos de expressão gênica em *Aedes aegypti*.

Lucas de Oliveira de Alcantara¹; Luciana Ordunha Araripe¹

¹ Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

A luz solar é essencial para a sincronização do relógio biológico dos seres vivos, que regula os ritmos circadianos de diversas funções fisiológicas e comportamentais. No entanto, a iluminação artificial à noite (*ALAN - Artificial light at night*) nas áreas urbanas tem aumentado significativamente nas últimas décadas, interferindo na percepção dos ciclos de claro e escuro pelos organismos. Essa interferência pode afetar o comportamento dos animais que habitam o ambiente urbano, incluindo o mosquito *Aedes aegypti*, vetor de importantes arboviroses como dengue, Zika e chikungunya. Esses mosquitos apresentam atividades diurnas, como sua locomoção, acasalamento e alimentação sanguínea, e repousam durante a noite. O objetivo deste trabalho é investigar como a iluminação artificial à noite afeta a biologia dos mosquitos *Ae. aegypti*, possivelmente prolongando suas horas de atividade e alterando sua capacidade reprodutiva. Para isso, estamos utilizando dados de coletas em ovitrampas em diferentes pontos do município do Rio de Janeiro, associados com medidas de intensidade de luz obtidas por sensoriamento remoto. Além disso, estamos realizando experimentos em laboratório para comparar os perfis de expressão gênica de genes relacionados ao relógio circadiano e um gene de comportamento entre mosquitos *Ae. aegypti* expostos ou não à *ALAN*. Nossos resultados preliminares indicam que há uma relação entre o excesso de luz artificial noturna e o aumento do número de ovos e larvas de mosquitos *Ae. aegypti* encontrados em ovitrampas. Esses resultados sugerem que *ALAN* está influenciando direta ou indiretamente o comportamento e a fisiologia desses insetos, o que pode aumentar o seu potencial vetorial.

Palavras-chave: luz artificial; relógio biológico; mosquitos vetores.

Apoio: FIOCRUZ; CAPES; CNPQ; FAPERJ

Principais desafios para desenvolver um larvicida baseado em óleo essencial

Bruno Gomes^{1,2}, Daisy A. Azevedo-Brito^{1,2}, Antonilde M. Arruda de Sá¹, Tainá D. Bianchin^{1,2}, Jean P.S. Costa^{1,2}, Juliana Welbert¹, Camila P. Jesus¹, José Luís da Silva^{1,2}, Thales S. de Araújo^{1,2}, Alexandra V. Yingling³, Mariana R. David⁴, Ivy Hurwitz³, Fernando A. Genta^{1,2,5}

1. Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos (IOC-Fiocruz/RJ). 2. Instituto Nacional de Endemias Rurais (INERU-Fiocruz/RJ). 3. Center for Global Health, University of New Mexico Health Sciences Center, NM, EUA. 4. Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários (IOC-Fiocruz/RJ). 5. INCT Entomologia Molecular, Rio de Janeiro, Brasil

Os óleos essenciais são substâncias botânicas ricas em metabólitos especializados associados à defesa das plantas. Eles normalmente são líquidos com aspecto oleoso e voláteis, e as suas propriedades têm sido usadas com sucesso na indústria alimentar e farmacêutica. Aplicações dos óleos essenciais no controle vetorial apresentam desafios associados à rápida degradação dos óleos em condições ambientais e à sua hidrofobicidade, que impede o seu uso em soluções aquosas sem solventes ou outras estratégias. O nosso consórcio tem testado a viabilidade do uso de óleos essenciais encapsulados em levedura como larvicidas de mosquitos. Este tipo de encapsulamento é usado como rotina na indústria alimentar e farmacêutica para preservar substâncias como óleos essenciais, mas a sua aplicação no controle vetorial é inovadora e necessitou de ajustes que já contam com a submissão de duas patentes, uma aprovada e a segunda em análise. Nós identificamos em que circunstâncias o óleo essencial de laranja encapsulado em levedura poderá ser aplicado no controle do *Aedes aegypti*, visando entender os possíveis efeitos secundários que podem ocorrer na população de mosquitos alvo do tratamento. Neste momento temos uma primeira versão do produto, que é ingerida pelas larvas e causa uma elevada mortalidade a curto prazo (avaliado a 24h e 48h), não só para o *Aedes aegypti* como para outras espécies de mosquito. Temos indícios que a digestibilidade da partícula de levedura pode ser melhorada, mas o produto tem mantido uma eficiência elevada como larvicida em criadouros de 10L de água. O larvicida apresenta uma estabilidade de no máximo 2 semanas em condições de semi-campo, mas verificamos que no ensaio de campo a recuperação dos criadouros foi mais rápida do que esperado. Uma análise mais aprofundada identificou que o larvicida apresenta uma ação assimétrica entre espécies de mosquito, e que os criadouros passavam de serem dominados por espécies de *Aedes* para o mosquito *Culex quinquefasciatus*.

Neste momento, o consórcio investe os seus recursos para diversificar o tipo de óleo essencial usado na estratégia de encapsulamento em levedura, a melhoria da estabilidade e digestibilidade da partícula de levedura com óleo, e identificar novas aplicações desta tecnologia no controle vetorial.

Área da Linha de Pesquisa: Entomologia, controle de vetores

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, óleos essenciais, inseticida, larvicida

Apoio Financeiro: CDC-EUA, FAPERJ, CAPES, CNPq e Fiocruz.

O papel de enzimas modificadoras de tRNAs replicação do vírus Chikungunya em *Aedes aegypti*

Julia Fernandes Macedo, Ivana D' Almeida Melo, Carla Ribeiro Polycarpo

Laboratório de Bioquímica de Artrópodes Hematófagos, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, UFRJ e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular

Os mosquitos *Aedes aegypti* são transmissores de várias arboviroses debilitantes à saúde humana. Sabendo que os vírus dependem da maquinaria de tradução do hospedeiro para se replicarem, temos como alvo de estudo a interação *A. aegypti* x vírus Chikungunya (CHIKV), onde pretende-se entender o papel de enzimas modificadoras de U34 no estabelecimento da infecção e na capacidade vetorial. Em eucariotos, 11 tRNAs citoplasmáticos carregam as modificações 5-metoxycarbonilmetil (mcm5) ou 5-carbamoylmetil (ncm5) na Uridina 34. Essas modificações são catalisadas pelo complexo Alongador, um complexo protéico composto por seis proteínas a saber, ELP1, ELP2, ELP3, ELP4, ELP5, e ELP6. ALKBH8 e seu homólogo de levedura Trm9 são outras metiltransferases necessárias para o etapa final da biogênese de mcm5 na posição de 34 do anticódon do tRNA. Seguindo-se a modificação mcm5U34, os tRNA^{Lys}(UUU), tRNA^{Gln}(UUG) e tRNA^{Glu}(UUC), sofrem a soma do grupo 2-tio por proteínas similares a ubiquitina, Urm1, Uba4, Ncs2 e Ncs6, resultando em 5-metoxycarbonilmetil-2-tiouridina (mcm5s2). As modificações têm sido relacionadas com a tradução e proteostase. Os genomas de diferentes arbovírus possuem uma tendência maior a utilizar códons que terminam em Adenina do que o genoma de *A. aegypti*, além disso, 7 dos tRNAs necessários para decodificar os códons mais presentes nos arbovírus possuem modificações do tipo xcmU e outros 3 podem ser decodificados alternativamente por tRNAs que também possuem esse tipo de modificação. Recentemente foi demonstrado em células humanas infectada por CHIKV que em genes do hospedeiro ativados por tradução e nos RNAs do CHIKV, os códons GAA (Glu), AAA (Lys), CAA (Gln) e AGA (Arg) estavam entre os mais enriquecidos. Curiosamente, sua decodificação está ligada a 2 modificações na posição oscilante U34 dos tRNAs cognatos, mcm5 e mcm5s2. Além disso, foi demonstrado que o silenciamento da enzima ALKBH8 levou a diminuição da replicação viral. Neste estudo, pretendemos examinar a importância das enzimas de modificação de tRNA para a replicação de CHIKV no vetor e para isso analisaremos a expressão das enzimas da via de modificação de U34 em *A. aegypti* após a infecção com CHIKV e observaremos o efeito do silenciamento de diversas enzimas de modificação de U34 na replicação viral.

Palavras chaves: expressão de enzimas, modificações pós-traducionais, replicação viral

Financiamento: CNPq, FAPERJ

Seleção de bactérias da microbiota de *Aedes aegypti* para modificação genética através da aplicação do sistema CRISPR/Cas9.

Gabriela Moreschi de Almeida, João Miranda da Costa Baltar, Márcio Galvão Pavan, Maria Luiza Cabral, Mariana Rocha David.

Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.

Devido ineficácia de métodos tradicionais no controle de *Aedes aegypti*, a exploração da capacidade inata de alguns simbiossomas para limitar a competência vetorial de mosquitos a arbovírus ou o uso da paratransgênese destes microrganismos para expressar moléculas capazes de produzir tal efeito surgem como alternativa. A microbiota intestinal desempenha papel importante na modulação da biologia de vetores, afetando o desenvolvimento larval, a capacidade vetorial e aptidão de adultos, por exemplo. Assim, este projeto tem como objetivo isolar, selecionar e caracterizar geneticamente simbiossomas intestinais de *Ae. aegypti* para futura aplicação do sistema CRISPR/Cas9, visando o estudo das relações hospedeiro-microbiota neste vetor. Realizamos coletas de campo no Rio de Janeiro e obtivemos trinta e seis bactérias isoladas de fêmeas coletadas nas localidades de Engenho de Dentro, Olaria, Cascadura e Niterói (Fonseca). Onze já foram identificados taxonomicamente, destes cinco classificados até o nível de gênero: *Carnimonas* (Halomonadaceae), *Dermacoccus* (Dermacoccaceae) e *Staphylococcus* (Staphylococcaceae). Os demais, identificados ao nível de família (Enterobacteriaceae e Bacillaceae). Os gêneros encontrados foram descritos anteriormente na microbiota intestinal de *Ae. aegypti*. O gênero *Carnimonas* foi encontrado na microbiota de *Ae. aegypti* coletados no Caribe, em *Ae. aegypti* *Dermacoccus* no Camarões e Índia, *Staphylococcus* também foi isolado de *Ae. aegypti* coletados no Panamá, por fim, bactérias da família Bacillaceae, foram detectadas na microbiota intestinal de culicídeos ao passo que *Enterobacter* reduziu a infecção de *Anopheles* por *Plasmodium* em laboratório. Apesar do encontro prévio destas bactérias na microbiota intestinal do vetor, poucas são identificadas ao nível de espécie e sua interação com o hospedeiro ainda é pouco estudada. As próximas etapas, então, são, continuar as coletas e a identificação taxonômica das bactérias através do sequenciamento (Sanger) do 16S rDNA. Futuramente, alguns isolados terão o genoma completo sequenciado e passarão pela identificação dos genes-alvo para modificação genética via CRISPR/Cas9.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, microbiota, sequenciamento 16S, CRISPR

Apoio Financeiro: PIBIC 92142182066194, INOVA FIOCRUZ - Novos Talentos

Área de Concentração: Microbiota

Expressão da tripsina majoritária de larvas do mosquito *Aedes aegypti*

Hans Schreiber Essi¹; Fernando Allan Abreu Silva¹, Aparecida Sadae Tanaka¹.

¹Departamento de Bioquímica, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

O mosquito *Aedes aegypti* é vetor de Flavivírus causadores de doenças como Dengue, Zika e Febre amarela. A principal estratégia de controle da população de mosquito é através do uso de inseticidas, método que apresenta desvantagens como seleção de linhagens de mosquitos resistentes aos produtos utilizados. Existe uma demanda por métodos alternativos para controle da população desse mosquito. Uma alternativa é interferir na reprodução e no desenvolvimento do mosquito. No Brasil campanhas públicas de conscientização ensinam medidas de controle do mosquito principalmente como evitar a reprodução do mosquito eliminando o acúmulo de águas parada. As larvas de mosquito *Aedes aegypti* são estritamente aquáticas e fotofóbicas e obtêm seu alimento através da filtração da água. Os nossos resultados mostraram que inibidores que atuam em tripsinas e quimotripsina de larvas de *Ae. aegypti* apresentam potencial como larvicida, no entanto um dos desafios é a obtenção de enzimas digestivas de larvas recombinantes para que as seleções de inibidores mais específicas possam ser realizadas. Este trabalho tem como objetivo expressão e a purificação de uma tripsina majoritária de larvas de 4o instar de *Ae. aegypti* (AAEL005607). A tripsina 5607 já foi clonada na forma de proenzima em vetor de expressão pET28a. Resultados preliminares da expressão da tripsina já foram obtidos. Em seguida, a enzima será expressa em larga escala e purificada para ativação e caracterização.

Palavras-chaves: 1. *Aedes aegypti*; 2. Tripsina; 3. Purificação de proteína.

Área: Bioquímica

Apoio financeiro: CAPES, FAPESP, CNPq, INCT-Entomologia Molecular.

Respostas imunes de larvas de *Aedes aegypti* desafiadas por diferentes bactérias.

Garcia, M. M. M.¹, Miranda, R. P. R.¹, Saliba, A. M.¹, Castro, D. P.¹.

¹Laboratório Bioquímica e Fisiologia de Insetos, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz/RJ

No estágio larval, o *Aedes aegypti* se alimenta de resíduos de material orgânico e de microrganismos, como bactérias, presentes no meio líquido do criadouro. Logo, sua presença no criadouro pode ser uma ameaça imunológica para as larvas devido aos fatores de virulência expressos por cada bactéria. Sendo assim, as larvas podem ativar respostas imunes, como: a melanização gerada pela ação da enzima fenoloxidase (PO) e a produção de peptídeos antimicrobianos (AMPs). Portanto, o objetivo deste trabalho é analisar o efeito de diferentes bactérias na resposta imunológica das larvas de *A. aegypti*. As larvas foram desafiadas com *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* e *Staphylococcus aureus* em três diferentes concentrações. Diferentes concentrações das bactérias foram adicionadas a tubos contendo 10 larvas (L3) por 24h. Após esse período, as larvas foram coletadas e homogeneizadas em água Miliq para os ensaios. A atividade da PO foi quantificada em amostras incubadas com o substrato dihidroxifenilalanina (4mg/ml) e lidas em 490nm a cada 5 min por 40 min em espectrofotômetro. Já a atividade antimicrobiana foi quantificada nas amostras filtradas e incubadas com as respectivas bactérias do desafio e peptona 10%. A turbidez das amostras foi lida em 550 nm a cada hora por 18h a 37°C em espectrofotômetro. No teste de análise da ativação da enzima fenoloxidase não apresentou diferença estatística significativa entre os grupos experimentais ou quando comparadas ao controle. Já em relação a atividade antibacteriana, foi observado que na concentração 1×10^5 CFU/mL e 1×10^7 /mCFUL o grupo *S. aureus* apresenta maior atividade quando comparado ao grupo *P. aeruginosa*, sendo valor de $p < 0,005$. Além disso, na concentração 1×10^7 CFU/mL, o grupo *S. aureus* obteve maior atividade antibacteriana tanto em relação ao grupo *S. marcescens*, com valor de $p < 0,005$. Nossos dados indicam que as larvas de *A. aegypti* desafiadas com a *P. aeruginosa* não apresentam atividade antibacteriana, já aquelas desafiadas com *S. marcescens* possuem uma atividade dose dependente. Além disso, as larvas desafiadas com *S. aureus* demonstram maior atividade antibacteriana em comparação com as larvas desafiadas com *P. aeruginosa* e *S. marcescens*.

Área de conhecimento do projeto: Entomologia e malacologia de parasitos e vetores.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, imunidade, larvas.

Apoio financeiro: PIBIC/CNPq

Análise do impacto da coinfeção dos vírus Dengue e Mayaro no mosquito *Aedes aegypti*

Valdir Braz¹, Ana C. Bahia¹.

¹Laboratório de Bioquímica de Insetos e Parasitos, Instituto de Biofísica Carlos Chagas filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro

No grupo das doenças infecciosas emergentes, os arbovírus transmitidos por mosquitos, como Dengue (DENV), e Mayaro (MAYV), são considerados importantes desafios para a saúde pública, devido à complexidade no diagnóstico clínico, e a inexistência de uma vacina barata e eficaz. Desta forma, as campanhas para controle destes agravos consistem em entender a dinâmica da doença no vetor, para que no futuro possamos elaborar estratégias mais efetivas de controle da doença. Normalmente, estes arbovírus são transmitidos por mosquitos diferentes, onde DENV, ZIKV e CHIKV se mantêm circulando em ambiente urbano, envolvendo mosquitos urbanos e o MAYV se mantêm num ciclo silvestre, com vetores silvestres. No entanto, em alguns lugares do país, como em Goiânia, GO, estes arbovírus coexistem circulando em ambientes urbanos, o que sugere que até o MAYV esteja sendo transmitidos por mosquitos urbanos. Neste contexto, este projeto visa estudar a expressão global de genes e avaliar o período de incubação dos vírus em *A. aegypti* mono e coinfectados por DENV e MAYV. Estes resultados permitirão entender o potencial de infecção e transmissão do MAYV pelo *A. aegypti* bem como entender a dinâmica epidemiológica das arboviroses que circulam no Brasil.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*; mayaro vírus; dengue vírus

Financiamento: FAPERJ e CNPq

Área do conhecimento: parasitologia, entomologia, virologia, fisiologia

A extensão de horas de luz e seus efeitos sobre parâmetros bionômicos de mosquitos *Aedes aegypti*

Aline Possati Cupolillo¹. Luciana Ordunha Araripe¹. Rafaela Vieira Bruno¹

¹Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz

A maioria dos organismos estão constantemente expostos a variações diárias de luz, temperatura e umidade, que desempenham um papel crucial na sincronização dos ritmos fisiológicos e comportamentais. Esses ritmos, conhecidos como ritmos circadianos, repetem-se a cada 24 horas, criando um padrão cíclico de variação. A duração e a intensidade da luz são fatores que influenciam esses ritmos biológicos, desempenhando um papel significativo na sua regulação endógena. No entanto, com a mudança da iluminação artificial urbana nos últimos ~100 anos, houve uma transformação drástica na duração e no espectro de luz, o que potencialmente afeta os ritmos biológicos dos seres vivos. Sabe-se que a iluminação noturna artificial (ALAN - *Artificial Light at Night*) tem efeitos abrangentes em diversos aspectos, incluindo ecologia, epidemiologia, características fisiológicas e comportamentais de diversos organismos, porém em insetos vetores ainda é pouco conhecida, e há muito a ser compreendido sobre a natureza exata desse impacto. Nesse contexto, o objetivo deste estudo é investigar os efeitos do excesso de luz artificial sobre a biologia do mosquito *Aedes aegypti*, que possui comportamento diurno. Serão conduzidos experimentos em laboratório, comparando determinados aspectos entre indivíduos criados em regime de luz/escuro e os criados em regimes de luz/luz residual. Estudos de campo, com coletas em ovitrampas, também serão feitos para avaliar a diferença de horários de postura em fêmeas de dois grupos. Essas abordagens permitirão avaliar de que forma a duração e a intensidade da luz artificial podem impactar os parâmetros comportamentais e reprodutivos desses mosquitos. Além disso, o estudo analisará se o excesso de luz artificial altera a biologia dos mosquitos infectados pelo vírus DENV2. Essa informação é particularmente relevante para a compreensão de parâmetros envolvidos com a capacidade vetorial, considerando que as fêmeas dessa espécie são vetores de patógenos causadores das arboviroses, como a dengue, Zika e chikungunya. Uma vez que *Ae. aegypti* é um mosquito antropofílico e amplamente distribuído, o que aumenta o risco de epidemias dessas doenças, a identificação das respostas do vetor às condições encontradas em ambientes modificados pela luz artificial pode abrir caminho para o desenvolvimento de novas estratégias de controle de vetores e intervenções nos processos de transmissão de patógenos.

Palavras-chave: mosquitos; luz artificial; biologia; patógenos.

Apoio financeiro: FIOCRUZ, CAPES, FAPERJ, CNPq

Área: Ecologia

Análise de reservas energéticas em populações de *Aedes aegypti* resistentes e suscetíveis a inseticida

Gabriel Carvalho do Nascimento, Ademir Jesus Martins Junior e Carlucio Rocha dos Santos.

FIOCRUZ/IOC.

Mosquitos são insetos que apresentam grande importância para a saúde pública, já que algumas espécies hematófagas podem transmitir patógenos. O combate a esses vetores é focado no controle populacional utilizando diversos métodos, como o controle mecânico, biológico e químico. O controle químico é o mais utilizado atualmente, baseando-se na aplicação de inseticidas que irão matar, afetar ou até mesmo impedir o desenvolvimento do inseto. Com o passar do tempo, a exposição a esses químicos gera uma pressão seletiva, na qual os indivíduos com alelos de resistência sobrevivem e se multiplicam, garantindo, após algumas gerações, o status de resistência para essa população. No entanto, a resistência a inseticidas (RI) pode impactar negativamente o fitness do organismo em ambientes sem a presença desses químicos. É possível que estes impactos estejam relacionados com a realocação de recursos energéticos para lidar com as alterações fisiológicas relacionadas à RI, funcionando como um mecanismo de *trade-off*. De fato, biomoléculas como proteínas, carboidratos e lipídeos apresentam são essenciais em diversos aspectos, como embriogênese, formação do oócito, controle de mudas desde a fase larval até o adulto e capacidade de voo. Até o momento, poucos estudos descreveram a relação entre RI e alterações nas reservas energéticas, sendo esse número ainda mais reduzido para o *Aedes aegypti*. Nesse sentido, nosso estudo vem investigando, através de métodos colorimétricos, se a concentração das biomoléculas proteínas, carboidratos e glicogênio difere entre três linhagens derivadas de populações de campo com diferentes perfis de RI, bem como em linhagens isogênicas com diferentes genótipos relacionados à resistência por mutações *knr*. Até então, dados preliminares sugerem que as concentrações de proteínas e carboidratos em larvas não difere significativamente entre as linhagens de campo, tampouco entre as linhagens com diferentes genótipos *knr*. Estamos avaliando lipídeos e iremos continuar as análises com mosquitos adultos.

Palavras-Chave: *Aedes aegypti*, resistência, *knr*, reservas energéticas.

Apoio Financeiro: CNPq

Área de estudo: Bioquímica

A Caracterização de Sirtuínas em *Aedes Aegypti*

Anna Ysraelle Augusto Jacintho; Júlia Benjamin do Val Amorim; Georgia Correa Atella.

Laboratório de Bioquímica de Lipídios e Lipoproteínas – Universidade Federal do Rio de Janeiro

A dengue é uma doença tropical negligenciada transmitida através da picada de mosquitos fêmeas do *Aedes aegypti*, vetor de outras arboviroses. Ainda sem um tratamento eficaz, essa infecção alcança mais de 150 mil pessoas por ano no Brasil. Por isso, faz necessário a busca por métodos que possam ajudar a reduzir o impacto dessa doença. Vários estudos já mostraram que, ainda hoje, o controle dos insetos vetores é a melhor forma de controle dessas doenças. Dessa forma, entender o metabolismo desses insetos se torna cada vez mais importante. As sirtuínas são uma família conservada de histonas deacilases dependentes de NAD⁺, responsáveis por realizar regulações epigenéticas. As 7 sirtuínas encontradas em mamíferos possuem papel importante no metabolismo energético, devido a sua função de deacilação das enzimas chaves dessas vias. Portanto, nosso estudo tem como objetivo investigar a expressão das sirtuínas no genoma do mosquito *Aedes aegypti*. Primeiramente, fizemos a análise do genoma de *A. aegypti* para identificar a presença de sirtuínas, utilizando seu domínio catalítico como molde. Após a caracterização *in silico* dos genes, primers para PCR em tempo real foram desenhados. Para análise da expressão de sirtuínas, coletamos fêmeas adultas que foram dissecadas em cabeça, tórax, abdômen, midgut e ovários. Esses tecidos foram utilizados para extração de RNA e síntese de cDNA, que foi utilizado para realizar a técnica de qPCR. A análise do genoma mostrou que o *A. aegypti* possui 4 sirtuínas, sendo elas SIRT2, SIRT4, SIRT6 e SIRT7. Esse resultado foi confirmado por outro trabalho da literatura que também mostrou a presença de sirtuínas no genoma do *A. aegypti*. A expressão dessas sirtuínas será então avaliada nos diferentes tecidos de fêmeas adultos para melhor entendimento de sua importância para o metabolismo do inseto. Portanto, esses dados ajudarão a avançar o conhecimento do vetor, possibilitando novos alvos de controle.

Palavras-chaves: *Aedes aegypti*, Sirtuínas, Biologia molecular

Agências Financiadoras: CNPq e CAPES

The role of ecdysone transporters in controlling intestinal homeostasis in *Aedes aegypti*

Barbosa, R.L.^{1,2}; Nunes-Oliveira, M.^{1,2}; Rojas, V. B.³; Oliveira, P. L.^{1,2}; Paiva Silva, G. O.^{1,2}.

¹Laboratório de Bioquímica de Artrópodes Hematófagos, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) ²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular (INCT-EM), ³Department of Microbiology & Molecular Genetics, University of California, Irvine, CA, USA

Mosquitoes of the *Aedes aegypti* species are vectors of arboviruses such as Dengue, Zika, Yellow Fever and Chikungunya, which affect millions of people worldwide and pose a huge threat to public health. After feeding on the host's blood, these mosquitoes undergo a series of changes in their physiology. Among them, the increased production of Ecdysone stands out, a hormone analogous to estrogen in mammals and which is related to the production of eggs in this vector. For a long time it was believed that Ecdysone entered its target cells through simple diffusion, but recently there was the discovery of importers of this molecule in *Drosophila melanogaster*, with great focus on the Ecdysone Importer (Ecl). A search for orthologs of this importer in different insects found no related genes in *A. aegypti*. However, other transporters also related to Ecdysone have been described, among them, the Ecdysone Importer-2 (Ecl-2), which has great relevance for hormone-induced development, and the Ecdysone Importer-4 (Ecl-4), which is mainly involved in vitellogenesis. Despite being well characterized in oogenesis, the role of Ecdysone in the metabolism of the midgut, an essential tissue for nutrition and determination of the eventual vectorial competence of insects, is still little known. Our group showed that Ecdysone produced by the ovaries promotes the growth of the midgut in *D. melanogaster*, involving the participation of the transcription factor E75. In *A. aegypti*, we demonstrated that the silencing of E75 expression leads to a reduction in intestinal proliferation, suggesting a role in the control of intestinal homeostasis. Furthermore, we demonstrated that the reduction of intestinal proliferation increases the susceptibility of the mosquito to the Dengue virus. In this context, the aim of our project is to understand the role of Ecdysone importers in the cellular events that control intestinal homeostasis and eventually in vector competence, focusing on the participation of E75 in these processes.

Keywords: *Aedes aegypti*, Ecdysone, Intestinal homeostasis, pathogen-vector interaction.

Supported by FAPERJ, CAPES, INCT and CNPq

Um parálogo da seril-tRNA sintetase do *Aedes aegypti* e o controle do crescimento de Bacteroidetes no intestino médio

Mayara de Almeida Bernardino, Gilbert Oliveira Silveira & Carla Polycarpo

Laboratório de Bioquímica de Artrópodes Hematofagos – Instituto de Bioquímica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular

Seril-tRNA sintetases (SerRSs) são enzimas homodiméricas que pertencem à subclasse IIa das aminoacil-tRNA sintetases (ARS) (Eriani *et al.*, 1990) e são responsáveis pela serilação do tRNA^{Ser}. Em metazoários, as SerRS estão entre as poucas ARS duplicadas; uma isoforma atua no citosol e uma segunda atua nas mitocôndrias. Durante a anotação do genoma de *Aedes aegypti* nos deparamos com um parálogo de SerRS presente em artrópodes e equinodermos que detém uma estrutura típica de SerRS mitocondrial. Em um estudo de 2010 com um homólogo de *Drosófila* foi mostrado que essa nova enzima (SLIMP- *seryl-tRNA synthetase like protein*) havia perdido toda a atividade de aminoacilação de tRNA (Guitart *et al.*, 2010), e que a sua depleção in vivo afetava gravemente a função mitocondrial, aumentando os níveis de mtDNA e sendo letal em qualquer estágio do desenvolvimento da mosca. No entanto, em nosso estudo em *A. aegypti*, a depleção de *AeSLIMP* não causou nenhum dos fenótipos observados em *Drosófila*, a não ser pelo aumento de espécies reativas de oxigênio. Contudo, estudos mais aprofundados mostraram que a expressão do gene *AeSLimp* do mosquito *A. aegypti* é regulada positivamente uma vez após a ingestão de sangue e isso depende da digestão do mesmo e da sinalização do heme. Além disso, surpreendentemente, a *AeSLIMP* está controlando o crescimento da microbiota intestinal no mosquito, pois sua depleção leva ao aumento do filo Bacteroidetes. Ademais, a supressão da expressão de *AeSLIMP* leva a uma menor replicação do vírus Zika (Gilbert de O. Silveira *et al.*, 2022). Nossos dados mostram ainda que essa supressão é dependente do aumento da microbiota observado quando do silenciamento de *AeSLIMP*. Portanto, nosso objetivo atual é caracterizar por metagenômica a microbiota presente em *A. aegypti* após o silenciamento de *AeSLIMP*, assim como tentar isolar as bactérias após o silenciamento. O conhecimento sobre qual bactéria está aumentada na situação descrita pode ser de grande valia para um melhor entendimento sobre a capacidade vetorial do mosquito, transmissor de arboviroses que causam grande impacto na saúde pública.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*; mosquito; SLIMP; microbiota

Área do resumo: Biologia Molecular

Apoio financeiro: FAPERJ, CNPq

A EPIDEMIA DE COVID-19 E SEUS EFEITOS NOS PROGRAMAS DE VIGILÂNCIA E CONTROLE DA DENGUE EM MINAS GERAIS

Giovanna Rotondo de Araújo¹, Juliana Maria Trindade Bezerra^{1,2}, David Soeiro Barbosa¹.

¹Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. ²Programa de Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão

A dengue é a arbovirose urbana de maior relevância epidemiológica das Américas e possui seu ciclo vetor-humano-vetor mantido por fêmeas de dípteros hematófagos da espécie *Aedes aegypti*. No Brasil, as últimas três décadas apresentaram extensas epidemias, caracterizadas pela emergência e reemergência dos quatro diferentes sorotipos, mudanças no perfil epidemiológico e aumento do número de casos severos e fatais, formando um cenário hiperendêmico. A emergência de COVID-19 foi vista com preocupação no mundo todo, inclusive pelas possíveis sobrecargas nos sistemas de saúde para enfrentar as endemias locais. Com o *lockdown*, o aumento de casos de doenças transmitidas por vetores no domicílio e peridomicílio é esperado devido à maior permanência da população nesses locais, com possível aumento das subnotificações. Os bancos de dados referentes à dengue, especialmente das ações de controle vetorial, e COVID-19 serão solicitados à Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais. As ações serão analisadas à medida que estiverem disponíveis, como número de armadilhas instaladas, aplicação de tratamento focal e uso de larvicidas e visitas de agentes de endemias. As séries temporais do total de casos por semana epidemiológica e indicadores vetoriais serão avaliadas quanto à distribuição normal através do teste de Shapiro-Wilk. Para examinar a diferença nas médias ou medianas para os anos analisados, serão utilizadas a análise RM oneway ANOVA (F) e Tukey's ou Kuskal-Wallis (H) e Dunn's. Para os anos epidêmicos da COVID-19, os indicadores da dengue serão correlacionados com os casos totais de COVID-19, utilizando-se a correlação de Spearman ou Pearson. A correlação será considerada significativa para valores de p menores ou iguais a 0,05 e sua força será medida pelo valor de r, que varia entre -1 e 1, indicando correlações mais fortes quanto mais distantes de zero. A caracterização da dependência espacial será calculada utilizando-se os Índices de Moran Global e Local, para esses cálculos, a dengue e seus indicadores serão considerados as variáveis dependentes (Y) e a COVID-19 a variável independente (X). A análise dos efeitos de lidar com uma crise sanitária em meio a um cenário de endemicidade para dengue pode ser considerada uma ferramenta importante para o desenvolvimento de novos protocolos que possam melhor responder a crises futuras. Ainda, espera-se que a compreensão desses efeitos possa ser aplicada a diferentes realidades que apresentem contextos similares.

Palavras-Chave: COVID-19, Dengue, Epidemiologia, Sindemia, Vigilância em Saúde Pública.

Apoio Financeiro: Giovanna Rotondo de Araújo gostaria de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério da Educação pela concessão da bolsa de doutorado.

Área: Epidemiologia e controle.

O papel dos mecanismos modulatórios da matriz peritrófica na fisiologia de mosquitos *Aedes aegypti*

Matheus Nobate Gomes^{1, 2}, Ana Beatriz Walter-Nuno^{1, 2}, Igor Ferreira-Almeida^{1, 2}, Ivana D'Almeida Melo^{1,2}, Gabriela de Oliveira Paiva Silva^{1, 2} e Pedro Lagerblad de Oliveira^{1, 2}

¹Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis, Laboratório de Artrópodes Hematófagos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil

²INCTEM, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular (Rio de Janeiro, Brasil)

O mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) é vetor de diferentes arbovírus, no qual a capacidade vetorial do inseto está ligada ao hábito de se alimentar de sangue. Uma particularidade da hematofagia é que grandes quantidades de sangue são consumidas por esses organismos durante uma refeição, ingerindo volumes maiores que o seu peso inicial. Sua dieta é constituída predominantemente por proteínas, cuja degradação leva à produção de grandes quantidades de aminoácidos. O catabolismo de triptofano (Trp) pela via das quinureninas (KP) tem sido implicado, em diversos modelos animais, na modulação da resposta imune, controle de morte celular e interação com a microbiota, mas é relativamente menos estudada em insetos, onde se sabe que a 3-hidroxi-quinurenina, um intermediário da via é precursor da formação dos omocromos. O mutante homozigoto (White Eye, WE) para a quinurenina monooxigenase não produz ácido xanturênico (XA), molécula que é acumulada em altas concentrações no intestino de insetos tipo selvagem (linhagem Red). O mosquito WE mostra ainda elevado crescimento da microbiota, perda de fitness reprodutiva, longevidade e uma disfunção da homeostase sistêmica, traços que são revertidos quando a dieta de sangue é suplementada com XA. O epitélio intestinal é o principal cenário onde os insetos enfrentam o desafio constituído pela ingestão de grandes quantidades de nutrientes, incluindo a molécula pró oxidante heme, assim como o aumento da microbiota após o repasto sanguíneo, o que pode eventualmente gerar estresses oxidativos e infecciosos. Diferentes mecanismos foram desenvolvidos para suportar tais os desafios e manter a homeostase intestinal, como a produção de enzimas antioxidantes, por exemplo. Em nosso estudo, investigamos como o mutante WE mantém o equilíbrio entre a geração de ROS e a expressão de enzimas como catalase e glutathione peroxidase. Nossos dados revelam uma diferença significativa entre a produção de EROS, avaliada por microscopia de fluorescência, e a expressão de enzimas antioxidantes como catalase e glutathione peroxidase (qPCR), entre as linhagens Red e WE. Tais diferenças podem estar relacionadas possivelmente com a alimentação sanguínea ou com os mecanismos que regulam a microbiota intestinal.

Palavras-chave: triptofano, homeostase, microbiota, defesa antioxidante

Financiamento: CAPES e FAPERJ

Avaliação do perfil de resistência de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) de Contagem (Minas Gerais) a inseticidas adotados nas atividades de rotina em saúde pública

Pedro Horta Andrade¹; Artur Metzker Serravite¹; Daniel Milagre Marques¹; Júlia Paula Rabelo¹; Marcos Horácio Pereira; Leonardo Barbosa Koerich¹; Maurício Roberto Viana Sant'anna¹; Nelder de Figueiredo Gontijo¹; Grasielle Caldas D'Ávila Pessoa¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais

O mosquito *Aedes aegypti* é um dos insetos vetores de maior importância médica no Brasil, sendo o transmissor de arbovírus de grande impacto em saúde pública como Dengue, Zika e Chikungunya. Tendo em vista, até o momento, a impossibilidade de imunização da população suscetível contra tais patógenos, o controle vetorial assume posição de destaque. No Brasil este controle é feito por medidas de controle mecânico que compreendem a eliminação dos criadouros do vetor, associada ao controle químico através do uso de inseticidas. Contudo, a exposição continuada desses insetos a tais ativos tem selecionado populações resistentes, impactando diretamente na incidência das doenças a esse mosquito relacionadas. Nesse sentido, esse trabalho se propôs a avaliar o perfil resistência dos mosquitos do município de Contagem, MG aos inseticidas usados em saúde pública em 2019, 2021 e 2022. Para tal, foram realizados bioensaios seguindo diretrizes da Organização Mundial de Saúde com larvas e adultos do mosquito. Sendo avaliados Deltametrina grau técnico e os produtos formulados recomendados para o controle de *Ae. Aegypti* larvicidas SumiLarv® e Natular™ DT e adulticidas Komvektor™ 440 EW, Cielo™ ULV e Fludora®. Além disso, foi avaliado o Alfatek® 200 SC atualmente recomendado pelo Ministério da Saúde para o combate de flebotomíneos. Foi adotada como linhagem referência de suscetibilidade (LRS) a Rockfeller. Os resultados de mortalidade foram submetidos a análises estatísticas. Todas as populações, nos três tempos testados, se mostraram suscetíveis a todos os inseticidas formulados adotados para o controle de *Ae. Aegypti*. Por outro lado, todas se mostraram resistentes ao Alfatek® 200 SC (30 – 45,5% de mortalidade), bem como ao grau técnico Deltametrina (larvas RR_{95} 3,0-5,79; adultos RR_{95} 44,12 – 81,46) tendo-se observado menor heterogeneidade nas populações de campo quando comparadas a LRS. Para todos os outros inseticidas não houve diferença significativa ($p < 0,05$) no perfil de suscetibilidade/resistência observado nas comparações dos 3 tempos de avaliação. Os resultados gerados neste trabalho trazem direcionamentos práticos às ações de controle de *Ae. Aegypti* em Contagem, podendo subsidiar a tomada de decisão dos gestores que estão à frente de tal atividade, contribuindo, assim, para o fortalecimento do Sistema Único de Saúde.

Palavras-chave: Resistência aos inseticidas, controle vetorial, Culicidae, *Aedes aegypti*

Apoio: INCT-Entomologia; CAPES; UFMG

Área: Controle vetorial.

Caracterizar o impacto dos óleos essenciais encapsulados em levedura na oviposição de *Aedes aegypti*.

Tainá Dominoni Bianchin^{1,2}, Daisy A. Azevedo-Brito^{1,2}, Thales S. de Araújo^{1,2}, Jean P.S. Costa^{1,2}, Alexandra V. Yingling³, Mariana R. David⁴, Ivy Hurwitz³, Fernando A. Genta^{1,2,5}, Daniele P. Castro¹, Bruno Gomes^{1,2}.

1. Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos (IOC-Fiocruz/RJ). 2. Instituto Nacional de Endemias Rurais (INERU-Fiocruz/RJ). 3. Center for Global Health, University of New Mexico Health Sciences Center, NM, EUA. 4. Laboratório de Mosquitos Transmissores de Hematozoários (IOC-Fiocruz/RJ). 5. INCT Entomologia Molecular, Rio de Janeiro, Brasil

O *Aedes aegypti* é o principal vetor de arbovirus, que provocam a dengue, chikungunya e Zika. As fêmeas grávidas realizam a oviposição em criadouros preferencialmente artificiais próximos de áreas urbanizadas. A oviposição pode ser modulada por fatores quimiossensoriais podendo ser atrativos/estimulantes ou repelentes/dissuasores, havendo muitas substâncias descritas com este tipo de ação. O encapsulamento em levedura de óleos essenciais (OEs) permitiu o desenvolvimento de um larvicida experimental baseado em substâncias botânicas altamente eficaz contra *A. aegypti* (CL50 < 50 mg/L). Neste estudo, verificamos o impacto que o tratamento por partículas de levedura carregadas com dois OEs distintos em criadouros artificiais altera o comportamento de oviposição do mosquito *A. aegypti*. Este tipo de informação pode ser importante para inferir o seu impacto quanto à recuperação dos criadouros larvares depois de tratados. Os bioensaios de oviposição em semi-campo foram realizados em 16 gaiolas (W60 x D60 x H90cm) com fêmeas individualizadas e quatro ovitrampas tratadas aos pares dispostas em diagonal e efetuando rotatividade para evitar o enviesamento por localização. O número de ovos foi contado individualmente para cada ovitrampa. O índice de atividade da oviposição (OAI) foi determinado para inferir o impacto dos OEs encapsulados na oviposição e analisados no graphpad prism 9.1 pelo teste estatístico wilcoxon pareado e preparação de gráficos. O estudo mostra que as partículas de levedura tratadas com OEs diferentes apresentam sinais de repelência/dissuasão, mas com padrões distintos dependente da concentração utilizada. No OE1, apenas a concentração 100 mg/L apresentou um sinal OAI negativo (-0,529) estatisticamente significativo (W= -56, p= 0.0107) enquanto as outras concentrações (50 mg/L e 150 mg/L) mostrou um sinal neutro ou ligeiramente repelente. No OE2 observamos a diminuição do valor de OAI com o aumento da concentração de tratamento associado a uma diferença significativa do número de ovos colocados em armadilhas com tratamento a 150 mg/L (W = -40, p = 0.0156). O valor de OAI nesta concentração (-0,803) foi o maior sinal de repelência/dissuasão encontrado neste estudo. As partículas de levedura com OEs no estudo tendem a apresentar uma ação neutra ou de repelência/dissuasão de postura de ovos. O estudo ainda está em andamento e ainda estamos a concluir alguns ensaios nestas concentrações e devemos adicionar um terceiro óleo encapsulado.

Financiado pelo CNPq (bolsa PIBIC), CDC (EUA): contrato #200-2017-93140

Área da Linha de Pesquisa: Entomologia, controle de vetores

Palavras-chave: oviposição, *Aedes aegypti*, óleos essenciais

Correlations between energy metabolism and redox balance in *Aedes aegypti* embryonic cells (Aag2) submitted to oxidative challenge with menadione.

Alice Silva Parente¹, Nathália Batista de Souza ¹, Daniel Costa Santos¹, Carlos Logullo¹ and Angélica Arcanjo¹.

¹Laboratório de Bioquímica de Artrópodes Hematófagos – Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis – Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Reactive oxygen species (ROS) are constantly formed in cells and play crucial physiological roles, in addition to being involved in cell damage. In aerobic organisms, ROS production is kept in balance mainly by antioxidant defense systems, preventing cell damage by keeping superoxide and hydrogen peroxide concentrations under control, which leads to redox balance. It was recently demonstrated by our group that embryonic cells of the mosquito *Aedes aegypti* (Aag2) when treated with high concentrations of H₂O₂ do not present a reduction in viability or significant changes in their morphology when compared to mammalian cells (macrophages and LLCMK2). Based on this, the objective of our work is to characterize some parameters of energy metabolism and correlate with the redox balance in Aag2 embryonic cells challenged with menadione, a pro-oxidant molecule that induces the production of ROS and which, in high concentrations, induces oxidative stress. For this, we will determine the tolerance of Aag2 cells to menadione in micromolar concentrations and compare the viability profile in mammalian cell lines. After determining the concentration and exposure time, we will analyze the survival and morphology of Aag2 cells after the challenge; evaluate the profile of intracellular ROS; to investigate changes in carbohydrate metabolism by quantifying glycogen and glucose uptake by the cell after the challenge with menadione; check the activity of catalase, isocitrate dehydrogenase, and citrate synthase. Preliminary results show us that Aag2 cells manage to remain viable in a concentration of 10µM of menadione for 2 hours. These data may help to unravel some of the metabolic mechanisms associated with the maintenance of redox balance in Aag2 cells and help in understanding their tolerance to menadione. Such understanding can still be extended to other relevant aspects of the mosquito and allows the identification of new and potential molecular targets for research and/or control strategies.

Keywords: Aag2 cells, redox balance, and energy metabolism.

Support: Faperj, Capes, CNPq and INCTEM.

Field: Biochemistry

Padronização de protocolos técnicos em fisiologia e comportamento de mosquito em insetário.

Thales Schuindt de Araújo; Bruno Gomes; Fernando Ariel Genta.

Laboratório de Bioquímica e Fisiologia dos Insetos – IOC / FIOCRUZ, RJ, BR

Culicídeos, comumente referidos como mosquitos, são de grande importância médica devido a sua competência vetorial, podendo transmitir diversos patógenos causadores de arboviroses como a dengue, Zika e febre amarela. Há uma demanda constante destes insetos para trabalhos laboratoriais e de campo, o que justifica sua criação. Porém sua manutenção em ambientes artificiais pode acarretar prejuízos, defasando a linhagem do insetário em relação ao mosquito em condições naturais. É preciso se apossar de ferramentas para mensurar essa defasagem assim como avaliar se há divergências significativas entre as linhagens. Desta forma, este trabalho tem um foco operacional e busca a padronização de experimentos de fitness em mosquitos, com foco em *Aedes aegypti*, assim como a sua otimização. Para isto, um repertório de técnicas e protocolos estão sendo desenvolvidos, testados e aprimorados a fim de comparar aspectos fisiológicos e comportamentais em linhagens distintas de mosquitos, possibilitando selecionar diversos parâmetros de distinção como tipo de alimentação, origem e gerações, por exemplo. Nesta primeira fase, observamos aspectos gerais ao longo das fases de desenvolvimento do mosquito. Os experimentos focam-se no comportamento de oviposição da fêmea de mosquito e a viabilidade da eclosão larval. Estamos a verificar a taxa de pupação e emergência de adultos distinguindo o sexo dos mosquitos na fase de pupa, o que nos permite separar os mosquitos por sexo para preparar os experimentos com adultos sobre competência reprodutiva ou cópula e subsequentes ensaios de fertilidade com alimentação sanguínea. Em nosso grupo de pesquisa, esses ensaios vêm sendo aplicados em várias linhas de pesquisa científica com mosquitos, como é o caso dos trabalhos envolvendo impactos toxicológicos de substâncias usadas no controle vetorial e otimização de dietas artificiais, de forma a avaliar o impacto destes compostos em múltiplas linhagens de mosquitos, tendo a linhagem Rockefeller como referência.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, fisiologia, insetário, protocolos padronizados.

Apoio financeiro: Agências FAPERJ, CAPES, CNPq e Fiocruz.

Estudo dos mecanismos de controle da infecção por Oropouche orthobunyavirus em *Aedes aegypti*

Silvana Faria de Mendonça¹; Álvaro Gil Araújo Ferreira¹; Luciano Andrade Moreira¹.

¹ Mosquitos Vetores: Endossimbiontes e Interação Patógeno-Vetor – Instituto René Rachou – Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz Minas)

As últimas décadas foram marcadas por graves epidemias causadas por arbovírus emergentes e reemergentes. Por ser um país de vasta extensão territorial, com muitas áreas florestais, situado na faixa intertropical do planeta, o Brasil apresenta ecossistemas favoráveis à existência e sustentação de arboviroses. Desde a década de 60 o *Oropouche orthobunyavirus* (OROV) é responsável por causar diversas epidemias na região da Amazônia. No entanto o conhecimento sobre os vetores da doença é limitado, o que dificulta a compreensão sobre a possibilidade desse arbovírus se manter em um ciclo exclusivamente urbano. Em trabalhos anteriores realizados pelo nosso grupo avaliamos a competência vetorial de *Aedes aegypti* ao OROV, e observamos que esse culicídeo, antropofílico e amplamente distribuído, é refratário a infecção quando alimentado via oral, porém se a barreira do intestino for superada o vírus é capaz de se replicar e ser transmitido a hospedeiro vertebrado. Isso indica a possibilidade de emergência e manutenção desse arbovírus em ciclos totalmente urbanos, bem como a expansão geográfica para outras partes do mundo. Diante disso o presente trabalho tem como objetivo geral dar continuidade ao estudo anterior, buscando identificar e compreender possíveis mecanismos utilizados pelo *Ae. aegypti* para impedir a infecção por OROV pela via oral. Os objetivos específicos consistem em 1) Fazer uma pressão seletiva em *Oropouche orthobunyavirus* para forçar mutações que favoreçam a infecção, e 2) Silenciar genes da via RNAi em mosquitos *Ae. aegypti*. Para alcançar o objetivo 1 serão realizadas sucessivas infecções em *Ae. aegypti* por injeção intratorácica, seguida de repasto em camundongos AG129. Ao final será realizado sequenciamento para identificação de possíveis mutações que favoreçam a infecção. Para realizar o objetivo 2 mosquitos *Ae. aegypti* serão injetados com dsRNA e posteriormente injetados intratoracicamente com OROV, ou submetidos a alimentação em camundongos AG129 infectados, a fim de avaliar o efeito do silenciamento na infecção. Esta avaliação será feita através da análise de RT-qPCR. O objetivo 1 encontra-se em fase de sequenciamento das amostras, já o objetivo 2 encontra-se na fase de realização de RT-qPCR's. Esperamos encontrar mutações que estejam relacionadas à infecção por OROV em *Ae. aegypti* e demonstrar uma possível importância da via do RNAi também para o controle da infecção por OROV em mosquitos, bem como já foi demonstrado para outros arbovírus.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*; Oropouche orthobunyavirus; RNAi; arbovírus

Apoio Financeiro: CAPES

Ativação das vias de RNAi em *Aedes aegypti* mono e coinfectedos pelos vírus Dengue e Mayaro

Gean Àlef Ramos Cardoso¹, Valdir Braz da Silva Neto¹, Ana C. Bahia^{1,2}.

¹ Laboratório de Bioquímica de Insetos e Parasitos (LABIP) – Instituto de Biofísica *Carlos Chagas Filho* (IBCCF) – Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). ²INCT – Entomologia Molecular

As epidemias emergentes e reemergentes por arbovírus são de grande preocupação para a comunidade científica, uma vez que se trata de um problema de saúde global. Em território brasileiro, o vírus Dengue (DENV) é epidemiologicamente importante, e sua transmissão a hospedeiros vertebrados humanos, em ambientes urbanos ou periurbanos, se dá principalmente pelo mosquito *Aedes aegypti*. Outro importante patógeno viral associado a surtos no Brasil é o vírus Mayaro (MAYV), endêmico da região amazônica, onde o ciclo de transmissão ocorre sobretudo em ambientes silvestres. No entanto, MAYV tem recebido atenção das autoridades de saúde pelo seu potencial em ser transmitido por mosquitos urbanos como o *A. aegypti* e *A. albopictus*. A principal defesa antiviral em mosquito vetores, como o *A. aegypti*, é mediada pelas vias de RNA de interferência (RNAi). Compreender a dinâmica molecular de ativação dessas vias é uma etapa importante para, no futuro, elaborar estratégias mais efetivas de controle do vetor. Assim, este trabalho tem como objetivo investigar a expressão dos genes das três vias de RNAi [Pequenos RNAs de interferência (siRNAs), microRNAs (miRNAs) e RNAs de interação com Piwi (piRNAs)] em mosquito vetores do gênero *A. aegypti* mono e coinfectedos por DENV e MAYV. Os mosquitos *A. aegypti* (linhagem Red eye) utilizados neste projeto são do insetário do Instituto de Bioquímica Médica da UFRJ e foram alimentados com sangue de coelho com soro inativado e vírus ou mock. Para a extração de RNA e síntese de cDNA foram utilizados mosquitos de 7º dia após a alimentação (*pool* de 2 mosquitos) homogeneizados em reagente TRIzol®. Realizou-se a validação da infecção dos mosquitos com DENV e MAYV através da amplificação do material genético viral por PCR em Tempo Real (qRT-PCR). Ensaio de placa de lise foi realizado para confirmar os resultados da infecção pelos vírus citados. A próxima etapa deste trabalho será avaliar em *A. aegypti* a expressão de genes das três diferentes vias de RNAi, tais como: Ago-2, Ago-3, Dcr-2, Piwi-6, Piwi-5, Piwi-4, Vago e TEP-20. Acreditamos que os resultados deste trabalho poderão permitir a compreensão da resposta imune desencadeada no inseto coinfectedo quando comparado com os monoinfectedos e impulsionar o desenvolvimento de estratégias de controle que visam a interrupção do ciclo de arbovírus no vetor.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, vírus Mayaro, vírus Dengue, RNAi.

Apoio financeiro: FAPERJ, CNPq

Área: Imunologia, Parasitologia, Entomologia Molecular

Avaliação de intervenção para controle de *Aedes aegypti* por ddRADseq

Lorena Ferreira de Oliveira Leles¹, Marcus Vinicius Niz Alvarez², José Joaquin Carvajal³, Diego Peres Alonso², Ana Carolina Paulo Vicente⁴, Paulo Eduardo Martins Ribolla², Sérgio Luiz Bessa Luz³.

¹Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Biologia Parasitária, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, PGBP/IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil. ²Instituto de Biotecnologia da Universidade do Estado de São Paulo (IBTEC – UNESP), Laboratório Pangene, São Paulo, Brasil. ³Instituto Leônidas e Maria Deane/ILMD/FIOCRUZ AMAZÔNIA, Laboratório EDTA, Amazonas, Brasil. ⁴Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Laboratório de Genética Molecular de Microrganismos/IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil.

Os mosquitos *Aedes* spp. são os principais responsáveis pela transmissão de arboviroses que afetam a população e a ausência de vacinas torna o controle vetorial fundamental para a saúde pública. Compreender a composição de seu genoma pode auxiliar na avaliação e eficácia das estratégias de controle vetorial e no entendimento da estruturação populacional destes vetores. Caracterizar a estruturação genética populacional com base no genoma nuclear de *Ae. aegypti* provenientes de uma área endêmica de arboviroses na capital do Amazonas (experimental) durante período de intervenção com estações disseminadoras do larvicida piriproxifeno. Amostras de *Ae. aegypti* dos locais controle e intervenção foram utilizadas na preparação de biblioteca e sequenciamento de DNA associado a sítios de restrição por dupla digestão enzimática (ddRAD-seq), com kit *Nextera XT DNA Library Prep* e plataforma de sequenciamento NextSeq500 (Illumina, EUA). Estimativa de parâmetros genéticos populacionais foram calculados pelos programas ARLEQUIN e Plink. Foram recuperados 1.443 SNPs para *Ae. aegypti* após a filtragem de qualidade. Após estratificação e clusterização os indivíduos aparecem em agrupamentos afastados e nítidos, evidenciando divergências e distanciamento genético entre eles para a variável intervenção. O *bootstrap pvalue* indicou agrupamento bem definido e com suporte estatístico ao analisar a divergência dos grupos para esta variável. As análises de homozigosidade considerando os indivíduos e o total da população (Fit estimate: $F \sim 0.84$, $p.val = 0.87$) e considerando os indivíduos e a subpopulação amostral (Fis estimate: $F \sim 0.84$, $p.val = 0.60$) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Houve estratificação significativa entre grupos controle e intervenção (estimativa do F_{ST} par a par de 0.015, $p\text{-valor} = 0.037$, número de permutações = 1000). Também foram observados sítios significativamente estratificados (70 SNPs, número de permutações = 1000). As estimativas do D de Tajima demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre grupos ($Diff = 0.15$, $pval = 0.0045$), sendo grupo controle 1.41 e durante a intervenção 1.16. Foi observada diferença significativa na estimativa de diversidade molecular mediana Theta(Π) entre grupos ($Diff = 0.02$, $pval = 0.0386$), sendo 0.40 e 0.38 para controle e intervenção, respectivamente. Isto evidencia mudanças nos parâmetros populacionais entre as populações observadas, tendo a população experimental apresentado maior diversidade que a população controle. Sugerimos evidências de dois grupos amostrais com frequências alélicas distintas, apresentando divergências genéticas que permitem observar a estratificação destas populações considerando a aplicação de intervenção. Baseado na estimativa do D de Tajima, que indica populações em provável neutralidade, aliado a divergência na diversidade nucleotídica e estratificação significativa observada entre os grupos, sugere-se que a intervenção teve efeito sobre a população experimental, reduzindo o número de indivíduos na região de intervenção. Porém, há um padrão de recuperação da população, provavelmente por deslocamento de indivíduos de populações adjacentes, as quais ainda não foram afetadas pela intervenção.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*, piriproxifeno, ddRADseq, estruturação populacional, vigilância epidemiológica

Apoio Financeiro: CNPq, Fiotec, FAPEAM, CVARB- MS, OPAS

Caracterização da Variação Intrapopulacional nas Atividades Digestivas de *Aedes aegypti* Utilizando Linhagens Endogâmicas

Condé, M.C.R.¹, Miranda, R.P.R.¹, Costa-Latgé, S.G.¹, Bauzer, L.G.S.R.², Genta, F.A.^{1,2,*}

¹ Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil; ² INCT de Entomologia Molecular, Rio de Janeiro, Brazil; * - genta@ioc.fiocruz.br

Introdução. As enzimas digestivas na fase larval dos mosquitos são um alvo estratégico para o desenvolvimento de novas ferramentas de controle, pois sua distribuição é limitada pela aquisição de nutrientes nesta fase. No entanto, as variações intrapopulacionais das atividades digestivas em insetos ainda são pouco compreendidas. Análises intrapopulacionais de larvas de *Aedes aegypti* ajudarão a entender essa variação, verificando possíveis associações geno-fenotípicas, ajudando a elucidar o controle molecular da digestão. Isso fornecerá novos conhecimentos sobre a fisiologia do inseto e auxiliará na descoberta de novos alvos para o controle desse vetor. **Objetivos.** Caracterizar e analisar a variação intra-populacional das atividades enzimáticas na cepa de referência Rockefeller e larvas isogênicas. **Materiais e métodos.** Ovos de *A. aegypti* foram eclodidos em água destilada (26 ± 1°C, fotoperíodo 12:12) e as larvas alimentadas com TetraMin®. Larvas de quarto ínstar foram anestesiadas em gelo e dissecadas no intestino, cabeça e resto do corpo, que foram homogeneizadas em PBS e usadas para ensaios de tripsina com Z-Phe-Arg-MCA como substrato. **Resultados e Conclusão** A atividade da tripsina foi avaliada nos compartimentos intestinais da cepa Rockefeller e duas isogênicas (230 e 246). A cepa Rockefeller teve a maior média de atividade e variância. Os histogramas da distribuição de frequência variaram na representação da variabilidade intrapopulacional das atividades, que apresentaram distribuição normal ou não normal dependendo da linhagem. A abordagem experimental provou ser válida ao mostrar diferenças significativas entre Rockefeller e as linhagens isogênicas.

Palavras-chave: Digestão; Atividades enzimáticas; Linhagens endogâmicas; Tripsina; *Aedes aegypti*.

Apoio financeiro: CAPES, FAPERJ, CNPQ, FIOCRUZ.

Área: Bioquímica

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DA IDADE DA FÊMEA *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) NA SUSCETIBILIDADE DA PROLE A DELTAMETRINA

Rabelo, JP¹; Serravite, AM¹; Andrade, PH¹; Gontijo, NF¹; Sant'anna, MRV¹; Koerich, LB¹; Pereira, MH¹; Pessoa, GCD^{1*}

¹Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematógafos - Departamento de Parasitologia - ICB/UFMG - Belo Horizonte/MG, Brasil.

*grasiellepessoa2016@gmail.com

Aedes aegypti é um vetor de grande importância em saúde pública por transmitir Dengue, Zika e Chikungunya vírus. O controle desse mosquito é realizado principalmente através do uso de inseticidas, sendo a resistência um aspecto muito amplamente estudado nesse modelo biológico. Contudo, dentre as diferentes lacunas do conhecimento, destaca-se o impacto da idade da fêmea sobre a suscetibilidade da prole, sendo o objetivo de investigação do presente estudo. Para tal, foram montados 45 casais de *Ae. aegypti* da linhagem Rockefeller, sendo os ovos da primeira, segunda e terceira posturas colocados para eclodir separadamente, sempre dias após a postura. As larvas (L3/L4) foram submetidas a bioensaios em concordância com a Organização Mundial de Saúde. Os insetos do grupo experimental foram expostos a solução de água desclorada e deltametrina (0,047 µg/ml) diluída em etanol PA, enquanto, que os do grupo controle, apenas a água desclorada e etanol. A mortalidade foi avaliada 24 horas após a exposição ao inseticida sendo analisadas por fêmea, comparando-se a mortalidade das larvas oriundas dos três ciclos de postura. Foram consideradas mortas as larvas com movimentação alterada ou aquelas que estavam imóveis. Observou-se que menor mortalidade a deltametrina nas larvas da segunda postura (mortalidade 2,32%), quando comparadas as da primeira e terceira (mortalidade de 17,80% e 39,25%, respectivamente) sugerindo uma maior tolerância das mesmas.

Palavras-chave: Culicidae, *Aedes aegypti*, resistência, inseticidas, fisiologia.

Apoio financeiro: INCT-Entomologia, ICB-UFMG.

Effect of *Aedes aegypti* salivary components on experimental sepsis: neutrophil modulation

Júlia de Moura Bernardi¹, Anderson de Sá Nunes^{1,2}

¹ Laboratory of Experimental Immunology, Department of Immunology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

² National Institute of Science and Technology in Molecular Entomology, National Council of Scientific and Technological Development, Rio de Janeiro, Brazil

Aedes spp. mosquitoes, especially *Aedes aegypti*, are endemic in several parts of the world, mainly in tropical and subtropical regions. Its presence and dissemination generate an alert, as it is a vector of several arboviruses such as dengue fever, yellow fever, Zika, and chikungunya. The transmission of these diseases occurs during the blood feeding of female mosquitoes and the success of this process depends on overcoming the hemostatic and immune responses of the vertebrate host which act to prevent blood loss and its protection. Therefore, to be able to feed, these insects rely on the molecules present in their saliva, secreted during the blood meal. Bioactive molecules with immunomodulatory, anti-hemostatic, and anti-inflammatory properties have already been identified in the saliva and salivary gland extract (SGE) of *Ae. aegypti*, and their use as immunobiologicals in situations of inflammatory and autoimmune diseases has been growing. Considering the immunomodulatory potential identified in the salivary secretion of *Ae. aegypti*, this project proposes its use in sepsis, a condition in which there is an inadequate and unbalanced functioning of the immune system. The focus of the project will be on the function of neutrophils, taking into account their high prevalence in acute inflammation and their effector mechanisms that can contribute to the worsening of inflammatory conditions and tissue damage, which co-occur with the immunopathogenesis of sepsis. For this, parameters of neutrophil biology will be evaluated in vitro, as well as the in vivo response after sepsis induction and SGE treatment in mice. In addition, we intend to perform a fractionation of the SGE to identify the fraction responsible for the expected immunomodulatory effects.

Area: Immunity

Keywords: Immunomodulation; neutrophils; *Aedes aegypti*; saliva; experimental sepsis

Financial Support: FAPESP, CAPES, CNPq

Aedes fluviatilis

Desafio oxidativo induzido por peróxido de hidrogênio em células embrionárias de *Aedes fluviatilis* (wAflu-1)

Daniel Costa Santos¹, Maria Antônia Gomes¹, Angélica Fernandes Arcanjo¹, Christiano Calixto¹ e Carlos Logullo¹.

¹ Laboratório de Bioquímica de Artrópodes Hematófagos/IBQM, CCS - Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), (RJ, Brasil).

A cultura de células embrionárias de artrópodes é considerada uma boa ferramenta para a investigação biológica. Uma das características mais impressionantes dessas células é a elevada tolerância ao desafio oxidativo por peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Estudos do nosso grupo demonstraram que as linhagens Aag-2 (*Aedes aegypti*) e BME26 (*Rhipicephalus microplus*) sobrevivem a altas concentrações de peróxido de hidrogênio quando comparadas com células de mamíferos. Além disso, foi publicado um estudo no qual demonstraram que houve um aumento na transcrição relativa de PEPCK após o desafio oxidativo com H₂O₂, sugerindo que a gliconeogênese pode estar envolvida na manutenção da homeostase energética nestas células. Recentemente o nosso grupo estabeleceu uma nova linhagem de células embrionárias, células de *Aedes fluviatilis* que naturalmente possuem a bactéria *Wolbachia pipientis* (wAflu1), como simbiote e a sua presença está relacionada a um remodelamento metabólico da célula. Baseado nisso, esse trabalho tem como objetivo realizar o desafio oxidativo com peróxido de hidrogênio em células embrionárias de *Aedes fluviatilis* (wAflu-1) a fim de estudar a resposta metabólica e a sua influência na manutenção da homeostase energética nesta condição. Para isso, as células wAflu1 são expostas a concentrações diferentes de H₂O₂ por 2 ou 24 horas. Após esses períodos avalia-se a proliferação e viabilidade celular utilizando a contagem de células com Azul de Tripán, e por citometria de fluxo e microscopia de fluorescência analisaremos alterações na forma e tamanho destas células. Para compreender a resposta metabólica, avaliaremos a expressão relativa de PEPCK por qPCR, realizaremos a atividade da catalase, quantificaremos o glicogênio, a proteína e os triglicerídeos. Resultados preliminares nos mostram que estas células podem tolerar elevada concentração de H₂O₂ assim como demonstrado em outras células embrionárias de artrópodes. Neste sentido, acredita-se que este estudo contribuirá significativamente para ampliar o conhecimento da fisiologia de artrópodes, bem como, no desenvolvimento e aprimoramento de formas de controle de vetores de doenças.

Palavras-chave: *Aedes fluviatilis*; células embrionárias de artrópodes; desafio oxidativo.

Apoio financeiro: CNPq, CAPES, INCTEM e FAPERJ.

GSK3 as a trigger immune-metabolic in the symbiosis between *Aedes fluviatilis* and *Wolbachia pipientis*

Silva, N.J.¹; Conceição, C.C.¹; Brito, G.R.¹; Arcanjo, F.A.¹; Logullo, C.¹

¹LBAH/IBQM-UFRJ-Rio de Janeiro, RJ

Wolbachia pipientis is a maternally transmitted bacterium that mostly colonizes arthropods, including insects, arachnids, crustaceans, and nematodes. Was seen that *Wolbachia* strain (wFLU) promotes a modulation of glycogen metabolism in your natural endosymbiont, the mosquito *Aedes fluviatilis*. When the Glycogen synthase kinase 3 (GSK3) was silencing, *Wolbachia* and glycogen content increases in embryos *Aedes fluviatilis*, which suggests a possible relationship between GSK3 and the immune response. The aim of this study was described metabolic e immune changes mediated by GSK3. Furthermore, we comparing naturally *Wolbachia*-infected (Wolb+) and uninfected (Wolb-) embrionic cells of *Ae. fluviatilis*, thus increasing the knowledge about *Wolbachia* parasitic/symbiotic mechanisms. Comparing Wolb+ and Wolb- cells, we observed that Wolb+ have double of glycogen content followed by decreased GSK3 transcription. By inhibiting GSK3 activity or GSK3 knockdown, we observed an increase in Glycogen content and *Wolbachia* load, followed by a reduction in Relish2 (*REL2*) and Gambicin transcripts. To investigate whether the IMD pathway acts to control the amount of *Wolbachia*, we reduced the levels of *REL2* in Wolb+ cells by RNAi. The knock-down of *Rel2* leads to amount of *Wolbachia* increases followed by increase in Glycogen content and down-regulated Gambicin transcription. Therefore, these data set suggest a possible correlation between GSK3 and *REL2* in the symbiosis between *Aedes fluviatilis* and *Wolbachia pipientis*.

Palavras-chave: *Aedes fluviatilis*, *Wolbachia pipientis*, GSK3, Relish2.

Malate-aspartate shuttle as a key metabolic interaction on Wolbachia-mosquito symbiosis

Christiano Calixto da Conceicao¹, Jhenifer Nascimento da Silva¹, Angélica Arcanjo¹, Carlos Logullo¹

¹ LBAH - Universidade Federal do Rio de Janeiro (Rio de Janeiro, Brazil) and INCT-Entomologia Molecular

Wolbachia bacterium is a widely spread endosymbiont in arthropods. Like others symbionts lacks key enzymes, including some of glycolytic pathway, which indicates dependence on host cell machinery for energy production and other metabolic functions. On the other hand, little is known about which resources this bacterium may provide to its host, which makes it successful in nature. The metabolic changes promoted by Wolbachia may vary with strain type in different host, and can be quite different when comparing a natural symbiosis with recent infections. Previously, we show that in natural symbiosis with *A. fluviatilis*, Wolbachia improves energy performance. We observed that Wolbachia affects the regulation of key energy sources, decreasing lipids about 20 %, and increase glycogen about 70 % and protein 15 %. We also saw that PEPCK is upregulated in the presence of Wolbachia, indicating activation of the gluconeogenic pathway. Furthermore, Wolbachia increase mitochondrial mass and reduce oxygen consumption rates. Here we attempt for the malate aspartate shuttle as a mechanism by which Wolbachia acquire persistent infection in the *Aedes fluviatilis* mosquito. We established two embryonic cell lines of *Aedes fluviatilis* with or without Wolbachia bacteria and carried out a transcriptomic approach and some malate aspartate shuttle target genes were investigated. We identified differential gene expression in two key mitochondrial enzymes of the malate aspartate shuttle: aspartate aminotransferase and malate dehydrogenase. Together with previously results, we are proposing that the malate-aspartate shuttle acts far beyond a mechanism that transports reducing equivalents into the mitochondria. In addition to this essential role, this shuttle would also be responsible for providing metabolites, such as oxaloacetate, precursors of gluconeogenesis. The results presented here provide relevant information and widens the current knowledge of Wolbachia-mosquito interactions.

Keywords: Wolbachia, Symbiosis, Metabolism, *Aedes fluviatilis*

Support by: FAPERJ, CAPES, CNPq and INCT-EM

Anopheles aquasalis

Avaliação do fitness de *Anopheles aquasalis* em diferentes tipos de dieta

Fernanda Oliveira Rezende¹, Dimas Augusto da Silva¹, Álvaro Gil Araújo Ferreira¹, Luciano Andrade Moreira¹.

¹ Grupo de Pesquisa Mosquitos Vetores: Endossimbiontes e Interação Patógeno-Vetor – Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz Minas)

A malária continua sendo um problema de saúde pública persistente e significativo em numerosas regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo. *Anopheles aquasalis*, embora secundário à *Anopheles darlingi* na transmissão da malária, desempenha um papel significativo na dinâmica do *Plasmodium* e da malária na América do Sul, particularmente nas regiões costeiras. Por décadas, *Anopheles aquasalis* tem sido um modelo animal proeminente para estudar interações vetor-parasita na pesquisa de malária em laboratório. O potencial de transmissão de mosquitos para parasitas do *Plasmodium* pode ser influenciado por características de vida do vetor e fatores extrínsecos e intrínsecos, como idade do vetor e disponibilidade de recursos. Na natureza os mosquitos anofelinos machos e fêmeas se alimentam de seiva, néctar de flores e/ou frutas. O néctar floral desempenha um papel crucial como fonte primária de metabólitos, incluindo açúcares, aminoácidos e proteínas, para mosquitos. No entanto, as implicações específicas das soluções de sacarose, comumente usadas em colônias de laboratório, sobre a sobrevivência e aptidão reprodutiva de mosquitos, particularmente *Anopheles aquasalis*, permanecem desconhecidas. Neste estudo, avaliamos os efeitos de duas diferentes dietas para adultos, sacarose e mel, sobre a longevidade, fertilidade e fecundidade de *Anopheles aquasalis*. Em nosso estudo, descobrimos que a dieta de adultos tem um impacto significativo na sobrevivência dos mosquitos. Especificamente, observamos que os mosquitos alimentados com mel tiveram uma vida útil consideravelmente maior em comparação com os mosquitos alimentados com sacarose. O tempo máximo de vida observado para os mosquitos alimentados com mel foi de 39 dias, enquanto os mosquitos alimentados com sacarose tiveram uma vida útil máxima de apenas 24 dias. Adicionalmente, observamos uma diferença notável na fecundidade entre fêmeas de mosquitos alimentadas com mel e aquelas alimentadas com açúcar. Fêmeas de mosquitos alimentadas com mel exibiram fecundidade significativamente maior em comparação com o grupo alimentado com açúcar. A mediana do número de ovos postos pelos mosquitos alimentados com mel foi de 167, enquanto a mediana correspondente para os mosquitos alimentados com açúcar foi de 30,5 ovos. Finalmente, nossos resultados demonstram que ovos de fêmeas alimentadas com mel exibiram um sucesso de eclosão significativamente maior em comparação com ovos de fêmeas alimentadas com açúcar. Isso indica um impacto substancial da dieta nas taxas de fertilidade. Esses achados reforçam a influência significativa da dieta na aptidão reprodutiva de mosquitos *Anopheles aquasalis*, enfatizando suas potenciais implicações em estudos laboratoriais de interações vetor-parasita.

Palavras-chave: *Anopheles aquasalis*; dieta; fitness; malária; *Plasmodium*.

Apoio Financeiro: CNPq

Culex quinquefasciatus

AValiação DA Competência Vetorial DO Mosquito *Culex quinquefasciatus* PARA O Vírus DO Nilo Ocidental USANDO MODELO MURINO AG129

Lívia Victória Rodrigues Baldon, Silvana Faria de Mendonça, Fernanda Oliveira Rezende, Luciano Andrade Moreira e Álvaro Gil Araújo Ferreira.

Instituto René Rachou – Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz Minas)

O termo arbovírus se refere a diversas famílias de vírus, na qual, a principal característica é a sua transmissão por artrópodes. Dentre eles, existe uma grande variedade de agentes causadores de doenças de emergência mundial. O Brasil apresenta diversos arbovírus endêmicos, entretanto, existem ameaças crescentes para o surgimento de novas arboviroses tais como a febre do Nilo Ocidental, Encefalite de Saint Louis e Febre Mayaro, que já mostram sua expansão territorial, alguns já considerados endêmicos no país e outros em países da América Latina. O vírus do Nilo Ocidental (WNV) pertence ao gênero Flavivírus sendo o seu vetor principal os mosquitos do gênero *Culex*. Foi isolado em Uganda e teve uma introdução inesperada nas Américas em 1999, após o surto em Nova York o vírus se disseminou pelo resto do país atingindo a América Latina. Existem cada vez mais evidências da circulação do WNV no Brasil, com casos registrados em animais e humanos e apesar de o ciclo do vírus ocorrer entre mosquitos e aves, os humanos e equinos se tornaram hospedeiros acidentais e terminais não amplificadores do vírus, porém os mamíferos desenvolvem a forma leve e a grava podendo evoluir a óbito. O objetivo geral é avaliar a competência vetorial de mosquitos *Culex quinquefasciatus* de Manaus e Belo Horizonte para o Vírus do Nilo Ocidental utilizando o modelo murino AG129. Para isso, pretendemos padronizar a replicação viral do WNV em linhagens celulares e a infecção em camundongos AG129; testar a taxa de infecção, disseminação e transmissão do WNV utilizando camundongos AG129 e mosquitos *C. quinquefasciatus* de campo e o tropismo do vírus nos tecidos dos mosquitos. Todos os experimentos serão realizados com populações, *C. quinquefasciatus*, até o momento temos estabelecidas em laboratório as de Manaus e B. Horizonte. O WNV será replicado em células de C6/36 e titulados em células BHK-21, os camundongos AG129 de duas a três semanas serão infectados pelo WNV por injeção intraperitoneal, e as fêmeas ingurgitadas serão coletadas para os experimentos. Até ao presente momento, duas colônias de *Culex* já foram estabelecidas em laboratório, os estoques de WNV já foram produzidos no qual o título obtido foi de $2,4 \times 10^{13}$ pfu/mL e foi padronizado a RT-qPCR para WNV. Está sendo realizada uma cinética da viremia de WNV nos camundongos para estabelecer o pico de infecção e após o resultado da cinética em camundongos daremos início os experimentos de competência vetorial das populações de *C. quinquefasciatus* brasileiras.

Apoio Financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes)

Palavras-chave: Vírus do Nilo Ocidental, AG129, *Culex quinquefasciatus*, competência vetorial, arbovírus.

FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF CHEMIOSENSORY GENES IN *Culex quinquefasciatus* BY GENE EDITING USING CRISPR-Cas9

**EVALDO JOAQUIM DE FARIAS FILHO¹, MARCELO HENRIQUE SANTOS PAIVA^{1,2},
CONSTÂNCIA FLÁVIA JUNQUEIRA AYRES LOPES¹.**

¹ Departamento de Entomologia, Instituto Aggeu Magalhães, Fiocruz-PE, Recife, Brazil.

² Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Centro Agreste, Caruaru, Pernambuco, Brasil.

In insects, odor detection is dependent on sensory structures present in specialized tissues such as antennae. These tissues have chemosensory receptors such as olfactory receptors (ORs), ionotropic receptors (IRs), and gustatory receptors (GRs) that are involved in the signaling cascade of odor molecules, directing these organisms to essential functions such as the host-seeking. The *Culex quinquefasciatus* vector represents a concern for public health in Northeast Brazil, due to its vector competence for the ZIKA virus and the *Wuchereria bancrofti* worm. This vector can locate the host within an average radius of 70 meters. The genes codifying for receptors directly involved in these vital processes of this vector remain unknown. The use of genetic tools such as CRISPR-Cas9 stands out in the physiological understanding and control of insect vectors. This work aims to identify genes that encode chemosensory proteins in *Cx. quinquefasciatus* by deletion of specific genes, creating lineages that have a negative effect on the behavior of search for vertebrate hosts. The objective is to characterize the function of genes in the olfactory system of *Culex quinquefasciatus* using CRISPR-Cas9. An olfactometer will be built to conduct stimulus bioassays, where mosquitoes will receive human and other vertebrate odor stimuli at different ages. After the odor stimuli, the antennae will be collected for RNA extraction, followed by treatment with nucleases. A metatranscriptomic analysis will be conducted, starting with the construction of cDNA libraries, sequencing, and data analysis for the identification of genes involved in chemical reception. After obtaining the differential gene expression profile, overexpressed genes will be chosen and short guide RNAs (sgRNAs) will be designed that will target the chosen expressed genes. The construct will then be injected into *Culex quinquefasciatus* embryos (eggs) with a microinjector together with a control construct (DsRED), which provides a visible characteristic for validating the technique. After emerging, larvae and adults will be analyzed for induced phenotypes as a control (DsRED), then an RT-qPCR analysis will be conducted to evaluate relative gene expression and confirm the deletion sites via CRISPR-Cas9 and validate the data of the RNA-seq. Finally, a host search assay will be conducted to evaluate the effect of gene(s) deletion in modified lines. It is expected to obtain an optimized olfactometer to conduct the study, aiming at the functional characterization of the overexpressed genes investigated through CRISPR-Cas9 and consequently obtaining insects with interference in the host-seeking. These results will provide knowledge at a basic physiological level for medical entomology and will allow the development of new strategies for blocking contact between the mosquito and the human host.

Keywords: Mosquito vector, CRISPR-Cas9, Chemosensory genes and Host-seeking.

Area: Physiology

TRIATOMÍNEO

AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS (PROTOZOA: KINETOPLASTEA) EM MORCEGOS DA REGIÃO METROPOLITANA DE BELO HORIZONTE, MINAS GERAIS

Mariana Alves Lima¹, Felipe Dutra Rêgo¹, Marcela Elisa Vaz¹, Débora Cristina Capucci¹, José Dilermando Andrade Filho¹.

¹ Instituto Renê Rachou – Fiocruz Minas.

A família Trypanosomatidae é composta por parasitas obrigatórios que atuam como agentes etiológicos de diversas doenças. Os gêneros *Leishmania* e *Trypanosoma* encontrados em humanos são os de maior interesse em saúde pública em vista de dados epidemiológicos da leishmaniose visceral, cutânea e doença de Chagas. Estas zoonoses, que inicialmente estavam restritas ao ambiente silvestre vêm apresentando registros de casos autóctones em áreas urbanas. Morcegos são importantes mamíferos encontrados em ambientes urbanos e estudos demonstraram a infecção natural de tripanossomatídeos nestes animais, ressaltando a importância destes como hospedeiro/reservatório de zoonoses. Apesar da fauna de quirópteros da região metropolitana de Belo Horizonte ser bastante conhecida, poucos estudos foram realizados no âmbito de saúde pública. Desta forma, investigar a presença de tripanossomatídeos em animais sinantrópicos e silvestres se torna primordial para a melhor compreensão do ciclo de transmissão zoonótico de doenças emergentes e reemergentes que podem impactar na saúde pública. Portanto, este estudo tem como objetivo verificar a ocorrência de tripanossomatídeos em morcegos capturados no Parque Municipal das Mangabeiras, na Região Centro-sul de Belo Horizonte. Foram realizadas 5 campanhas de captura no ano de 2022, nos meses de maio, junho (duas coletas) e julho (duas coletas) utilizando redes de neblina. Após a captura os animais foram sacrificados, sendo realizada a coleta de amostras de fígado, coração, pele de orelha, membrana alar e sangue (via intracardíaca) para realização de testes parasitológicos (inóculo em meio de cultura) e moleculares (*Nested* PCR dirigida a região V7V8). Foram coletados 51 morcegos pertencentes a 5 espécies, sendo a espécie *Artibeus lituratus* a mais abundante (50,9%). Nenhuma amostra positiva foi obtida na técnica de diagnóstico parasitológico em meio de cultura. Na técnica de biologia molecular foram amplificadas três amostras positivas de sangue direcionadas ao sequenciamento, sendo duas amostras de *Trypanosoma* sp. e uma de *Leishmania braziliensis*. As próximas etapas deste projeto incluem a finalização das técnicas moleculares e a identificação da espécie do parasito pelo sequenciamento genético de Sanger. Ao final do estudo espera-se contribuir para o melhor entendimento acerca da atuação dos morcegos como reservatório de tripanossomatídeos do ciclo natural de agentes patogênicos.

Palavras-chave: Tripanossomatídeos, Morcegos, Belo Horizonte.

Área: Ecologia.

Apoio Financeiro: FAPEMIG.

Identificação de genes e estirpes de *Serratia* com potencial antagônico ao *Trypanosoma cruzi*

Fonseca J. E.¹; Castro D.P.²; Mota F. F.¹.

¹ Laboratório de Biologia Computacional e Sistemas, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz/RJ

² Laboratório Bioquímica e Fisiologia de Insetos, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz/RJ

RESUMO

Rhodnius prolixus é uma das espécies de triatomíneos hematófagos capazes de transmitir o *Trypanosoma cruzi* ao ser humano. Na década de 1930, o pesquisador Vincent B. Wigglesworth propôs a utilização dessa espécie como modelo de estudos sobre fisiologia de insetos. Desde então, *R. prolixus*, e a sua microbiota associada, vem sendo intensamente estudados devido a sua capacidade de adquirir o parasita *Trypanosoma* a partir da alimentação e manter o desenvolvimento do protozoário em seu tubo digestivo, permitindo o estudo de interações de sua microbiota como parasito. Nossa equipe verificou em interações *in vitro* que algumas bactérias do gênero *Serratia* encontradas na microbiota intestinal de *R. prolixus* possuem atividade tripanolítica contra *T. cruzi*. Porém, os genes responsáveis por essa interação e ação tripanolítica ainda não foram identificados nem caracterizados até o momento. Nesse trabalho, com o objetivo de caracterizar esses genes, comparamos os genomas de diferentes estirpes de *Serratia*, já sequenciados e disponíveis publicamente no NCBI, quanto à presença ou ausência de genes potencialmente relacionados à lise do protozoário e a hemólise de hemácias de coelho. Em análise preliminar, os grupos de genes ortólogos OG0003829, OG0003830 e OG0000024, potencialmente relacionados à adesão e OG0003989 à atividade de lise, foram encontrados nas estirpes bacterianas RPA1, RPH1 e RM66262 que possuem atividade tripanolítica dependente de adesão ao parasita na interação *in vitro*, mas não a cepa DB11 que não consegue aderir nem lizar o *T. cruzi*. A caracterização desses genes e da interação destes com o parasita poderá no futuro auxiliar no desenvolvimento de estratégias de paratransgenese para o combate da transmissão do parasito dentro do tubo digestivo dos insetos, interrompendo o ciclo de transmissão da doença de chagas nos insetos vetores.

Palavras-chave: *Serratia*, *Trypanosoma cruzi*, atividade tripanolítica, hemólise

Apoio: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), INCT Entomologia Médica e Fundação Oswaldo Cruz.

Áreas: Bioinformática, Genômica, Parasitologia, Bioquímica e Fisiologia de insetos

Nanotecnologia aplicada ao estudo da interação parasito-hospedeiro: desenvolvimento de quantum dots para rastreamento e imageamento celular e molecular em tempo real.

Tainá Neves Ferreira¹, Vitória Ramos da Conceição^{1,3}, Luiz Miguel Pontes Abrahão¹, Marla Karolyne dos Santos Horta², Marcel Guimarães Martins², Marcelo Gonzalez Salabert¹, Maria Denise Feder¹ e Cecília Stahl Vieira¹.

¹Laboratório de Biologia de Insetos, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro.

²MAGTECH, Rio de Janeiro, Brasil. ³Centro Universitário IBMR, Rio de Janeiro

O estudo da interação parasito-hospedeiro se dá pelo entendimento da interação entre suas biomoléculas. Estas interações podem ser estudadas *in vivo* ou *in vitro* através da produção de imagens com marcadores fluorescentes. Os quantum dots (QDs), nanocristais semicondutores, têm se mostrado uma alternativa viável por apresentarem alta fluorescência e foto estabilidade, tendo assim grande potencial de aplicação biológica. Neste projeto, em parceria com a empresa MAGTECH, estamos desenvolvendo e aplicando os QDs de silício (Si) para uso como ferramenta biofotônica em estudos de interação parasito-hospedeiro invertebrado. Para isso, estamos avaliando a biocompatibilidade, a eficiência de internalização e visualização dos QDs de Si funcionalizados ou conjugados com biomoléculas em diferentes espécies de parasitos (*Leptomonas seymouri*, *Leishmania amazonensis* e *Trypanosoma cruzi*) a fim de marcar alvos específicos em parasitos e células hospedeiras (*D. peruvianus*, *L. longipalpis* e *R. prolixus*) para melhor compreensão da interação parasito-vetor em tempo real. Foram realizadas incubações dos QDs em diferentes concentrações (0,5 a 1000 µg/mL) e períodos (2 horas - 5 dias) de formas promastigotas de tripanossomatídeos. Os dados sugerem que os QDs de Si são 20x menos tóxicos que os QDs de CdTe, a partir das curvas de toxicidade tempo dose-dependente feitas com *L. seymouri*. Os resultados preliminares de imageamento por microscopia de fluorescência indicam que internalização dos QDs de Si e CdTe pode variar de acordo com tempo de exposição, tipo de solvente, pH e concentração. Verificamos também que as diferentes espécies dos parasitos apresentam peculiaridades quanto a capacidade de internalização dos QDs, o que pode ser modulado com a conjugação dos QDs com diferentes lectinas, como concanavalina A (Sigma) e lectina de amendoim (Sigma) via processo de adsorção. Os resultados preliminares obtidos mostram que, mesmo em fase de desenvolvimento, foram fundamentais para definição de parâmetros e adaptações de uso dos QDs de Si na marcação de parasitos que serão a base dos estudos de interação nos hospedeiros invertebrados.

Área de estudo: Fisiologia

Palavras-chave: Quantum dots, Tripanossomatídeos, interação parasito-vetor e microscopia de fluorescência.

Rhodnius prolixus

***Small heat shock proteins* desempenham papel fundamental na infecção por *Trypanosoma cruzi*, impactando a homeostase intestinal do vetor da Doença de Chagas**

Guedes-Silva T.C.¹, Walter-Nuno A.B.¹, Contreras H.D.P.¹, Dias F.A.¹, Mesquita R.D.², Oliveira P.L.^{1,3}

¹ Laboratório de Bioquímica de Insetos Hematófagos – IBqM/ UFRJ, RJ, Brazil; ² Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brazil; ³ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular (INCT-EM)

Rhodnius prolixus, um vetor da doença de Chagas, é um inseto hemimetábolo do qual passa por cinco estágios de ninfa até chegar à fase adulta, e em todos os estágios este inseto necessita do repasto sanguíneo para realização da muda. A transformação de formas não infectantes em formas infectantes do protozoário *Trypanosoma cruzi* que ocorre no aparelho digestivo de seu vetor, é uma etapa importante no ciclo de vida do parasita e consequentemente para a transmissão da doença de Chagas. A análise transcriptômica do intestino médio de ninfas de primeiro estágio mostrou expressão gênica diferencial de cinco membros da família de proteínas *Small Heat-Shock proteins* (sHSP) após a infecção. As sHSPs são proteínas envolvidas em resposta ao choque térmico e outras respostas ao estresse e funcionam principalmente como chaperonas, evitando o dobramento incorreto de proteínas. O presente estudo visa investigar o papel das sHSPs na fisiologia do *R. prolixus* e na infecção pelo *T. cruzi*. A função do gene sHSP e a infecção parasitária foram analisadas por qPCR, silenciamento gênico, microscopia de fluorescência e exposição dos insetos ao tratamento de choque térmico. Cinco genes sHSP foram regulados positivamente (50-200x) pela alimentação sanguínea e regulados negativamente pela infecção (3-20x). Esses transcritos de sHSP também foram modulados positivamente por choque térmico (60-1000x), confirmando sua identificação *in silico*. O intestino médio de ninfas silenciadas para sHSPs apresentou aumento na geração de espécies reativas de oxigênio, diminuição na formação de filamentos de actina e aumento na abundância da microbiota. A análise *in silico* do promotor do gene revelou sítios de ligação putativos para o fator de transcrição *Ecdysone-induced protein 74* (E74) induzida pelo hormônio ecdisona, sugerindo uma regulação da sinalização hormonal. Enquanto o silenciamento simultâneo das cinco sHSPs moduladas causou um aumento no número de parasitas no intestino do inseto, o silenciamento do gene putativo de E74 causou uma diminuição, confirmando nossa hipótese de que o E74 funciona como um inibidor dos genes das sHSPs durante a infecção. Identificamos aqui um grupo de sHSPs que parece estar envolvido na homeostase intestinal durante a digestão sanguínea e na resposta à infecção por *T. cruzi*.

Palavras-Chave: Competência vetorial, *Trypanosoma cruzi*, Doença de Chagas, Homeostase intestinal, *Small Heat Shock Protein*, Transcriptoma.

Apoio financeiro: CNPq, FAPERJ, INCT-EM.

Área: Interação Parasito-Vetor.

**Comportamento Alimentar de Formas Imaturas de *Rhodnius Prolixus*
(Reduviidae, Triatominae): A influência do volume funcional da bomba cibarial**

Lima, FCL¹; Costa, LM¹; Paula, GDM¹; Koerich, LB¹; Sant'anna, MRV¹; Gontijo, NF¹; Pessoa, GCD¹; Pereira MH^{1*}.

¹Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos – Departamento de Parasitologia – ICB – UFMG - Belo Horizonte/MG, Brasil.

Para os artrópodes hematófagos, o tempo de contato com a fonte alimentar é um fator crítico, pois o desencadeamento do comportamento defensivo do hospedeiro pode limitar o sucesso alimentar. Os triatomíneos são ectoparasitos temporários e o seu contato com o hospedeiro se restringe ao período da alimentação sanguíneo. Os parâmetros do comportamento alimentar dos triatomíneos, como tempo de sondagem, frequência de contrações da bomba cibarial e interrupções durante a fase de ingurgitamento, são influenciados por características intrínsecas do aparelho de alimentação do inseto (p.ex. tamanho da bomba cibarial) e por fatores do hospedeiro relacionados à sua fisiologia (p.ex. homeostasia). Nos animais o tamanho do corpo é comumente associado a características biológicas, como capacidade reprodutiva, competição e aquisição de recursos. Até o momento, pouco se sabe como as mudanças (tamanho e a forma) do aparato alimentar durante o desenvolvimento pós-embrionário dos triatomíneos afetam o seu desempenho alimentar. Assim, neste projeto serão avaliadas as relações alométricas (morfometria) entre as partes do corpo (cabeça, tórax e abdômen), bem como, o desempenho alimentar (eletromiograma e análise das imagens da bomba cibarial) durante o desenvolvimento pós-embrionário de *R. prolixus*. As ninfas de 1º a 5º estágio serão fotografadas em jejum e gravadas durante o repasto em alimentador artificial e as imagens obtidas serão analisadas pelo programa imageJ para obtenção dos parâmetros morfométricos das partes do corpo (área/forma, comprimento, largura), bem como, a frequência de contração da bomba cibarial. Os insetos também serão pesados antes e logo após os experimentos de alimentação, e durante todo o repasto sanguíneo, a atividade da bomba cibarial será monitorada por eletromiograma. Esta metodologia permitirá determinar o ganho de peso, o tempo total de contato, o tempo de sondagem; o tempo de ingurgitamento e número de contrações da bomba cibarial. A posterior análise dos parâmetros morfométricos com os alimentares que serão obtidos no presente projeto permitirá avaliar o impacto do crescimento da bomba cibarial no desempenho alimentar dos estágios ninfais de *R. prolixus*.

Palavras Chaves: Doença de Chagas, *Rhodnius prolixus*, Hematofagia, Alometria, Bomba Cibarial, Eletromiograma, Análise de imagens,

Apoio Financeiro: UFMG, FAPEMIG, INCT-EM, CNPq, CAPES.

Área: Fisiologia

Variação da performance alimentar entre as fases de desenvolvimento pós-embrionárias de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Triatominae): o papel das biomoléculas salivares e do crescimento assimétrico do aparato alimentar

Costa, LM¹; Lima, FCL¹; Paula, GDM¹; Koerich, LB¹; Sant'anna, MRV¹; Gontijo, NF¹; Pessoa, GCD¹; Pereira MH^{1*}.

¹Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos – Departamento de Parasitologia – ICB – UFMG - Belo Horizonte/MG, Brasil.

Rhodnius prolixus é um dos vetores na América Central e norte da América do Sul do *Trypanosoma cruzi* - agente etiológico da Doença de Chagas. E por ter sido utilizado também em diversos estudos sobre biologia básica e de desenvolvimento de insetos, tornou-se um importante modelo de fisiologia de artrópodes. Para a obtenção do repasto sanguíneo em vertebrados vivos, os artrópodes hematófagos enfrentam três desafios principais: penetração do aparelho bucal na epiderme do hospedeiro, localização do sangue na derme do hospedeiro e bombeamento do sangue em seu trato digestivo. De maneira geral, os artrópodes hematófagos, ao introduzirem suas peças bucais na pele do hospedeiro em busca do sangue, induzem várias reações reparadoras no hospedeiro. Entre elas estão a agregação plaquetária, contração do vaso lesado, coagulação sanguínea, aumento da permeabilidade vascular e a quimiotaxia leucocitária. Além disto, as reações inflamatórias podem ser exacerbadas devido ao desenvolvimento de uma resposta imune contra os antígenos presentes na saliva destes artrópodes. Por outro lado, a tarefa da alimentação sanguínea é facilitada pela saliva, inoculada durante o período de sondagem e do repasto sanguíneo. Essa função desempenhada pela saliva é mediada por uma série de componentes farmacologicamente ativos, incluindo substâncias anticoagulantes, antiagregação plaquetária, agentes antiinflamatórios, imunossupressores e vasodilatadores. Tais substâncias se contrapõem aos mecanismos de defesa do hospedeiro que poderiam interferir tanto no processo de procura do vaso, quanto na manutenção do fluxo sanguíneo durante a hematofagia. Com a utilização de técnicas de silenciamento gênico associado a técnicas de monitoramento do processo alimentar dos triatomíneos (microscopia intravital, análise de imagem e eletromiograma de bomba cibarial), nos permitirá caracterizar detalhadamente como as estruturas do aparato alimentar e a composição do conteúdo salivar variam durante o desenvolvimento pós-embrionário de *R. prolixus*, e como tais alterações impactam na performance alimentar dos insetos. Para isso será comparado entre os estádios ninfais e os adultos de *R. prolixus*: o volume funcional da bomba cibarial; a composição salivar; e a performance alimentar de insetos normais e silenciados para as nitroforinas (1-4) salivares em hospedeiro mamífero e alimentador artificial.

Palavras Chaves: Doença de Chagas, *Rhodnius prolixus*, Bomba Cibarial, Nitroforina salivar.

Apoio Financeiro: UFMG, INCT-EM, FAPEMIG, CNPq, CAPES.

Área: Fisiologia

Papel das enzimas diacilglicerol aciltransferase (DGAT) 1 e 2 no processo de ovogênese em *Rhodnius prolixus*

Lukas Selim Assis Gonçalves e Katia Calp Gondim.

Universidade Federal do Rio de Janeiro

O inseto hematófago *Rhodnius prolixus* é um modelo utilizado há décadas para o entendimento da fisiologia e dos processos bioquímicos, tendo um papel relevante no entendimento do controle hormonal da ovogênese, e no transporte e deposição de vitelo em insetos. O *R. prolixus* é vetor da doença de Chagas, o estudo de mecanismos relacionados à reprodução do inseto se torna relevante, pois o tratamento para a doença de Chagas tem uma taxa de interrupção do tratamento e cura longe do ideal, sendo a melhor forma de lidar com a doença o controle populacional de seu vetor. Ao longo de sua reprodução fêmeas de *R. prolixus* produzem ovos que são liberados no ambiente e dependem dos nutrientes depositados por elas, como por exemplo, na forma de triacilglicerol (TAG), que é usado como substrato energético para o desenvolvimento embrionário e sobrevivência da prole até a primeira alimentação. O ovário tem uma baixa capacidade de síntese de lipídios usados para a síntese de TAG. Porém apresentam uma grande capacidade de incorporar lipídios da hemolinfa. Lipídios como diacilglicerol e ácidos graxos são sintetizados e secretados na hemolinfa pelo corpo gorduroso, que atua de forma similar ao tecido adiposo e fígado de mamíferos. As duas classes de lipídios citadas anteriormente são usadas como substratos para a reação catalisada pelas enzimas diacilglicerol aciltransferase (DGAT) 1 e 2 para a síntese de TAG e a formação de organelas chamadas de gotículas lipídicas, que são importantes para a homeostase energética e lipídica da célula. Sabendo da relevância do TAG para o processo de ovogênese e do papel das DGATs na sua síntese e na homeostase energética e lipídica da célula, temos como objetivo investigar o seu papel nesse órgão a partir da inibição da expressão gênica de ambas as enzimas, individualmente, em fêmeas adultas por meio de injeção de RNA dupla fita (dsRNA). Como resultados após o silenciamento, não foi observada alteração com relação à sobrevivência e oviposição, porém em fêmeas injetadas com dsDGAT1 o ovário se apresenta mais frágil e os ovos com má formação e tamanho reduzido, além da redução do conteúdo de TAG e proteína. Os resultados coletados apontam para uma atuação da DGAT1 no funcionamento do ovário e na reprodução, porém ainda é necessária a realização de mais experimentos para elaborar melhor como essa relação ocorreu.

Palavras-chave: *Rhodnius prolixus*; Lipídeos; metabolismo; ovário; ovogênese

Apoio financeiro: CAPES, CNPq e FAPERJ

Novelty among Hemiptera: *R. prolixus* BMPs and their extracellular modulators pattern the embryonic DV axis by a singular mechanism.

Jamile Mota da Silva¹; Mateus Antonio Berni²; Daniel Bressan³; Gabriela Martins⁴; Helena Maria Marcolla Araujo⁵.

¹ Bolsista TCT; Msc Universidade Federal do Rio de Janeiro / Instituto de Ciências Biomédicas; ²Pesquisador de Pós Doutorado da Université de Strasbourg / M3I - Insect Models of Innate Immunity; ³Pós Doc Universidade Federal do Rio de Janeiro; ⁴ Aluna de Mestrado Universidade Federal do Rio de Janeiro / Instituto de Ciências Biomédicas; ⁵Professora Titular da Universidade Federal do Rio de Janeiro / Instituto de Ciências Biomédicas.

The Bone Morphogenetic Protein (BMP) pathway mediates the differential formation of neural and non-neural ectoderm in all Bilateria and provides morphogenetic information for embryonic dorsal ventral (DV) patterning. The spread of BMP proteins is controlled by extracellular modulators that act through multiple mechanisms to antagonize or favor BMP distribution, contributing a great source of diversity in BMP function during evolution. Among Insecta, little is known about the roles of BMP modulators in the Hemiptera order. In the present work, we investigated the role of BMPs and their modulators in *Rhodnius prolixus*, an important Chagas Disease vector. We have used parental RNAi to decrease gene expression levels (knockdown - KD), and in situ hybridization to investigate the roles of the BMPs encoded by *decapentaplegic* (*Rp-dpp*) and *glass bottom boat* (*Rp-gbb*) and the modulators *short gastrulation* (*Rp-sog*) and *twisted gastrulation* (*Rp-tsg*) on DV territories of the embryo. Our results suggest that these genes are essential to delimit and subdivide the neuroectoderm, mesectoderm and mesodermal territories, indicating a broad role of BMPs in the formation of the DV axis. These results reinforce the hypothesis that insect clades that have split earlier in evolution rely strongly on the BMP pathway to establish their DV axis. Based on our functional approach, we propose a Model by which *R. prolixus* DV patterning relies on a Sog + Tsg complex that is formed in ventral regions of the embryo and shuttles the BMP ligands (Dpp/Gbb) dorsally, increasing and maintaining BMP activity restricted to the lateral domain, defining the neuroectoderm. Our data suggests that these BMP pathway modulators play a positive rather than an inhibitory role in establishing these territories, an action previously reported only in the induction of extraembryonic tissues. We also demonstrate that *dpp* KD compromises the size and the shape of the *R. prolixus* egg. It has been shown that *dpp* KD *D. melanogaster* eggs display a small operculum and dorsal appendage eggshell phenotype. Therefore, despite the morphological differences between *D. melanogaster* and *R. prolixus* oogenesis, *dpp* function on chorion deposition appears to be conserved. Our results shed light on patterning mechanisms of a non-model insect of medical relevance and helps understand how developmental mechanisms that pattern the DV axis have evolved inside Insecta.

Developmental Biology; Molecular Biology

Founding agency: CNPq

Keywords: BMP pathway; developmental biology; dorsal-ventral patterning; *Rhodnius prolixus*

Mecanismo de ação do gene Transformer (TRA) de determinação sexual em *Rhodnius prolixus*

Letícia Beatriz Silva Almeida¹, Grasielle Caldas D'Ávila Pessoa, Marcos Horácio Pereira, Mauricio Sant'anna, Nelder Figueiredo Gontijo¹, Leonardo Barbosa Koerich¹.

¹ Universidade Federal de Minas Gerais

Rhodnius prolixus é um inseto hematófago de importância médica associada à transmissão do protozoário causador da doença de Chagas, o *Trypanosoma cruzi*. Além disso, o vetor é modelo de estudos de fisiologia de insetos, e apesar de sua importância, é desconhecido o mecanismo genético de determinação sexual do inseto. Em insetos, a determinação sexual ocorre por uma cascata de *splicing* de dois genes centrais: *transformer* (*tra*) e *doublesex* (*dsx*). Com o genoma de *R. prolixus* publicado, duas isoformas de *tra* e *dsx* foram identificadas, mas sua forma de atuação ainda não está esclarecida. Assim, levantamos a hipótese de que em fêmeas, o gene *tra* produz proteína funcional, que regula a expressão *dsx* em sua forma feminilizante, resultando em um organismo do sexo feminino. A outra isoforma de *tra* (presente em machos) produz proteína não funcional, mantendo o gene *dsx* em sua forma original, masculinizante. Para testar a hipótese, realizamos o silenciamento do gene *transformer* pela técnica de RNA interferente (RNAi) com o objetivo de verificar o fenótipo e o genótipo sexual resultante. Espera-se que o silenciamento de *tra* produza um processo de masculinização em genótipos femininos. O silenciamento foi realizado em ninfas N4 (estádio em que a morfologia ainda não permite identificar órgãos e características sexuais) a partir de microinjeção de 1µg de RNA dupla-fita (dsRNA). O desenvolvimento e mortalidade dos animais está sendo acompanhado diariamente. Foram injetadas 35 ninfas no grupo experimental e 35 no grupo controle. Em nosso estudo preliminar, observamos que 1 ninfa do grupo experimental morreu (2,9%), enquanto no grupo controle foi observada uma mortalidade de 0% (0 indivíduos morreram). Um total de 23 ninfas fizeram a muda para 5º instar no grupo dsTRA e 25 fizeram a muda no grupo controle. Para o acompanhamento do silenciamento (por qPCR), foi extraído o RNA de 5 indivíduos 72h pós injeção e 72h após muda para 5º instar (dados ainda não analisados). Quando os indivíduos atingirem a fase adulta, serão analisados os fenótipos sexuais, a expressão de *tra* e o genótipo de cada indivíduo pela detecção do cromossomo Y pela técnica de PCR. Após este estudo preliminar, que tem como objetivo determinar a taxa de silenciamento de *tra* pelo dsTRA, será realizado um estudo mais minucioso no qual o silenciamento será realizado em ninfas de 1º instar recém eclodidas e a expressão dos genes de determinação sexual acompanhada ao longo de todo desenvolvimento de *R. prolixus*. Isso porque não sabemos em que ponto do desenvolvimento *tra* começa a regular a determinação sexual de *R. prolixus*.

Palavras-chave: *Rhodnius prolixus*; Transformer; Determinação sexual;

Área: Fisiologia

Apoio financeiro: FAPEMIG, CNPq

***Rp-vasa* as a marker for primordial germ cells in the *Rhodnius prolixus* embryo**

Gabriela Martins, Mateus Berni, Jamile Motta, Tarcisio Fontenele, Maira Arruda, Attilio Pane, Helena Araujo.

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Transgenesis and Gene Edition are currently widely used in the design of molecular technologies for insect vector control. To allow the spread of a transgene or allele in the population, it is important to characterize the genes that are expressed in the germline cell precursors. These genes could be used as germline markers and their regulatory sequences as promoters for the expression of exogenous sequences. We have identified expressed sequences corresponding to two genes that are expressed in the primordial germ cells (PGCs, germline precursors) during early *R. prolixus* embryogenesis. The *vasa* gene is known for its expression in insect germ cells and has been used as a specific marker, not only in arthropods, but also in distantly related species like vertebrates. Vasa is an ATP dependent RNA helicase required for the expression of a germline cascade in *Drosophila*. Here we show how we characterized *Rp-vasa* expression and completed the genomic sequences corresponding to the *Rp-vasa* locus. Initially we used *Drosophila melanogaster vasa* mRNA sequence to screen for *vasa* sequences in the *Rp* genome (VectorBase), identifying two different gene codes as a result. By combining bioinformatics and polymerase amplification assays we show that genomic sequences surrounding the *Rp-vasa* locus are incomplete and inverted. We then realign and complete the locus with Sanger sequencing. We show the alignment of our *Rp-Vasa* predicted protein with Vasa from many different insects, showing high conservation of amino acid motifs, strongly corroborating our previous hypothesis that the two different codes in VectorBase are actually two pieces of *Rp-vasa*. Additionally, we utilized two different *vasa* probes for *in situ* hybridization, showing that *Rp-vasa* mRNA has a low widespread distribution that with time accumulates in the posterior pole in blastoderm embryos. This position corresponds to the region where the PGCs are known to be found in many insects, including a closely related hemipteran species, and where it was previously reported in *Rp*, using both morphological and histological data from microscopy. Using anti-phosphorylated tyrosine antibodies we show that the probed nuclei are cellularized early in development, as expected for germline precursors.

Key words: *Rhodnius prolixus*, primordial germ cells, germ cells, development

Funding: CAPES

(Molecular Biology; Developmental Biology)

Estudo do comportamento de busca por hospedeiro em *Rhodnius prolixus*: avaliação da atratividade de hospedeiros mamíferos infectados por tripanosomas

Luan Felipe Santos, Alessandra Aparecida Guarneri, Marcelo Gustavo Lorenzo

Instituto René Rachou – Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz Minas)

Os triatomíneos são insetos silvestres, de hábitos noturnos e hematófagos, que necessitam de alimentação sanguínea em todas as suas fases de desenvolvimento. Além da espoliação sanguínea que causam, os triatomíneos também são vetores dos protozoários parasitos *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma rangeli*. Os dois parasitos compartilham vetores e hospedeiros vertebrados, mas o desenvolvimento nesses organismos é bastante diferente, o *T. cruzi* é transmitido para o mamífero através das fezes dos triatomíneos e o *T. rangeli* é inoculado no vertebrado durante a alimentação sanguínea do inseto. Já é conhecido na literatura que alguns parasitos podem manipular o comportamento de seus hospedeiros aumentando as taxas de transmissão. Uma das estratégias é o aumento da proximidade entre o hospedeiro intermediário e o hospedeiro final. Nesse sentido, um aumento da atratividade de vertebrados infectados para seus vetores já foi observado nas associações de hamsters infectados por *Leishmania infantum* e flebotomíneos, e de camundongos e humanos infectados por *Plasmodium* e mosquitos. Nosso grupo já mostrou que triatomíneos da espécie *R. prolixus* infectados por *T. cruzi* e por *T. rangeli* apresentam alterações na atividade locomotora e são mais predados do que co-específicos não infectados. Na infecção do hospedeiro vertebrado, dados preliminares mostraram que camundongos infectados por *T. rangeli* são mais atrativos para ninfas de *R. prolixus*. Sendo assim, o presente projeto pretende avaliar quais pistas emitidas por camundongos infectados por *T. rangeli* podem ser alteradas durante a infecção. Começamos avaliando a existência de alterações comportamentais decorrentes da quantidade de parasitos circulantes no sangue dos camundongos, onde observamos que o número de parasitos se manteve baixo ao longo do período avaliado. Através da análise de filmagens de ensaios realizados em arena, vimos que não existem diferenças significativas na atividade noturna entre camundongos infectados ou não pelo parasito. A existência de alterações na temperatura corporal de camundongos infectados está sendo avaliada, com o auxílio de uma câmera termográfica, em diferentes períodos da infecção, e até o momento observamos um pequeno aumento na temperatura nos dias 6, 7 e 13 de infecção. E a presença de alterações nos odores liberados por camundongos infectados ou não será avaliada através da técnica de eletroantenografia acoplada à cromatografia de gás. Também será avaliado se camundongos infectados por *T. cruzi* se tornam mais atrativos para ninfas de *R. prolixus*.

Palavras-chave: Comportamento; *Trypanosoma rangeli*, atratividade, hospedeiros mamíferos

Apoio Financeiro: CAPES

As Apolipoproteínas e seu papel na fisiologia reprodutiva de *Rhodnius prolixus*, um vetor da doença de Chagas

Daniela Viana dos Santos¹, Grasielle Caldas D'Ávila Pessoa, Marcos Horácio Pereira, Mauricio Sant'anna, Nelder Figueiredo Gontijo¹, Leonardo Barbosa Koerich¹

¹ Universidade Federal de Minas Gerais

Rhodnius prolixus é uma das principais espécies vetoras do protozoário *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas. Essa doença possui grande importância epidemiológica na América Latina por causar, segundo a OMS, danos cardíacos significativos e levar a óbito cerca de 10 mil pessoas ao ano. Além da importância vetorial, *R. prolixus* é um modelo para estudos de fisiologia de insetos, principalmente no que se refere à fisiologia alimentar de insetos hematófagos. As lipocalinas constituem uma família proteica associada a importantes e diversos processos biológicos. Ao longo da evolução, *R. prolixus* e outros insetos hematófagos desenvolveram lipocalinas salivares com funções anti-hemostáticas, fundamentais para a viabilização do repasto sanguíneo. Recentemente, identificamos diversas lipocalinas expressas em outros tecidos do inseto. Entre as lipocalinas identificadas por nosso grupo, as apolipoproteínas, um grupo de lipocalinas inédito em *R. prolixus*, foram encontradas de forma abundante nos testículos do inseto macho, o que despertou questionamentos a respeito da função dessas proteínas na fisiologia reprodutiva masculina. Estudos anteriores em mamíferos, aves e insetos já haviam demonstrado a participação de lipocalinas no transporte de prostaglandinas e até mesmo na interação óvulo-espermatozoide. Com isso, levantamos a tese de que as apolipoproteínas de *R. prolixus* são importantes para fertilidade dos machos por atuarem no transporte de prostaglandinas durante a cópula. Para testar nossa hipótese, foram realizados experimentos de silenciamento gênico pela técnica de RNA interferente (RNAi) com o objetivo de determinar a função de duas apolipoproteínas expressas no testículo do triatomíneo. Fêmeas virgens foram acasaladas com os machos silenciados e a fertilidade de cada casal foi analisada por meio das taxas de ovoposição e eclosão das ninfas. Os grupos experimentais apresentaram uma redução de 60% da ovoposição em relação ao grupo controle. Nas próximas etapas, serão realizados experimentos bioquímicos para determinar quais moléculas são transportadas pelas apolipoproteínas bem como qual é o mecanismo de transporte. Além disso, serão realizados experimentos de imunolocalização para investigar o caminho realizado por essas proteínas ao longo do sistema reprodutor de *R. prolixus*. Uma melhor compreensão da fisiologia reprodutiva dessa espécie pode abrir portas para o desenvolvimento de novas técnicas de controle vetorial de insetos hematófagos.

Palavras-chave: *Rhodnius prolixus*; Lipocalina; Apolipoproteína; Testículo; Fertilidade.

Área: Fisiologia

Apoio financeiro: FAPEMIG, CNPq.

Caracterização dos fenótipos causados pelo silenciamento do gene Rp30 no inseto vetor *Rhodnius prolixus*

Felipe Bertuci Pereira Rodrigues, Thamara Rios, Hatisaburo Masuda, Isabela Ramos.

Instituto de Bioquímica Médica.

É provável que a alta capacidade dos insetos em ocupar diversos nichos da natureza esteja relacionada com seu grande sucesso reprodutivo. Neste grupo, o processo de ovogênese se divide em duas etapas principais e sequências: vitelogênese e coriogênese. A vitelogênese se caracteriza pelo rápido crescimento do ovócito devido ao acúmulo massivo de vitelo. Já a etapa de coriogênese, se caracteriza pela síntese e deposição das múltiplas camadas do córion (casca do ovo) pelas células do epitélio folicular (EF). Em *Rhodnius prolixus*, um dos principais vetores da doença de Chagas, o córion é uma matriz extracelular altamente organizada, rígida e espessa. É constituído principalmente por proteínas, das quais, na literatura, já foram descritas duas majoritárias denominadas como Rp30 e Rp45, onde foi visto que são exclusivas de seus ovos, uma vez que não foram encontradas semelhanças nas sequências de aminoácidos dessas proteínas com nenhuma outra proteína conhecida de casca de ovo de outros insetos. De um ponto de vista biotecnológico, as proteínas de córion específicas de um único organismo podem se tornar importantes alvos moleculares para serem utilizadas como controle vetorial, já que evita prováveis efeitos deletérios indesejáveis à outras espécies não alvo. Dado que a formação da casca do ovo é uma etapa essencial para a sobrevivência do embrião, decidimos estudar qual a importância do gene Rp30 durante a etapa de coriogênese, através de seu silenciamento via RNA de interferência (RNAi). Vimos que dentre os principais órgãos relacionados com o processo de ovogênese, esse gene é majoritariamente expresso no ovário de fêmeas vitelogênicas, em relação ao intestino médio e corpo gorduroso. Observando cada etapa da ovogênese separadamente, vimos uma maior expressão nos últimos estágios da ovogênese (ovócitos coriogênico e corionado). Além disso, após a injeção de 1 µg de RNA dupla fita (dsRNA) em fêmeas vitelogênicas, vimos que a falta de Rp30 não ocasionou diferenças em suas digestões, porém houve um aumento de longevidade. Também, acarretou em uma redução nas taxas de oviposição e eclosão dos ovos postos e que esses apresentavam fenótipo mais maleável e frágil, com alterações na ultraestrutura do opérculo, porém não na superfície geral do córion (vistas através de microscopia eletrônica de varredura), mas não possuem alterações no *crosslinking* proteico. Esses resultados preliminares nos mostram que Rp30 é importante para a correta progressão da etapa de coriogênese.

Palavras-chave: *Rhodnius prolixus*, Ovogênese, Coriogênese, Córion, Rp30.

Área: Bioquímica e Biologia Molecular

Apoio financeiro: FAPERJ, Capes e CNPq

PAPEL DO GENE *RPLPR* NO METABOLISMO DE LIPÍDEOS DO *RHODNIUS PROLIXUS*.

Macedo-Silva, Alessa¹; Majerowicz, David^{1,2,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Biociências, UERJ; ²Faculdade de Farmácia, UFRJ,

³Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular.

Os lipídios são essenciais para os seres vivos, atuando, principalmente, como moléculas estruturais das membranas celulares e como fonte de energia. Nos insetos, os lipídios podem ser adquiridos por alimentação ou síntese *de novo*. A lipoforina é uma lipoproteína presente nos insetos e é responsável por transportar todos os tipos de lipídios entre os órgãos, através da hemolinfa. Os mecanismos de regulação desse transporte ainda são pouco conhecidos, mas os receptores de lipoforina foram identificados em várias espécies de insetos e estão presentes na membrana plasmática de vários órgãos, pertencendo à superfamília dos receptores de lipoproteína de baixa densidade. Neste trabalho, nós usamos o barbeiro *Rhodnius prolixus* para investigar o papel do gene *RpLpR* no metabolismo de lipídeos. O gene *RpLpR* tinha sido previamente anotado no genoma do barbeiro e análises filogenéticas mostraram que o barbeiro possui apenas uma cópia deste gene. Com o objetivo de avaliar a eficácia da inibição do gene *RpLpR* em *R. prolixus*, fêmeas adultas foram injetadas com diferentes doses de dsRNA. Houve uma diminuição significativa na expressão do gene com as doses de 0,1 ou 1µg de dsRNA. A inibição do gene não afetou a sobrevivência ou o peso dos insetos. No entanto, foi observado uma diminuição na quantidade de ovos postos e na viabilidade dos ovos após a inibição do gene, sugerindo um papel crítico do receptor de lipoforina na reprodução desses insetos. Ao avaliar a expressão de genes envolvidos no metabolismo de lipídeos, após a inibição de *RpLpR*, foi observada uma diminuição na expressão do gene *RpCPT-1*, no corpo gorduroso do inseto. Este gene é responsável por codificar a enzima carnitina-palmitoil transferase I (CPT-1), limitante para a via de oxidação de ácidos graxos. Essas descobertas reforçam a importância do LpR no desenvolvimento ovariano e sua influência no metabolismo de lipídeos dos insetos, podendo fornecer insights importantes para o controle de vetores. Entretanto, mais investigações serão necessárias para confirmar esses resultados e entender melhor os mecanismos subjacentes a essa associação.

Área do resumo: Bioquímica.

Palavras-chave: Receptor de lipoforina; *Rhodnius prolixus*; RNA de interferência; Metabolismo de lipídeos.

Apoio financeiro: CAPES; FAPERJ e CNPq.

Avaliação da aplicação tópica para a entrega de dsRNA na redução da expressão do gene da nitroforina 2 salivar (NP2) em *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Triatominae)

¹Mattos MCR; ¹Santos, DV; ¹Costa, LM; ¹Koerich LB; ¹Sant'anna MRV; ¹Gontijo NF; ¹Pessoa GCD, ¹Pereira MH.

¹ Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos – Departamento de Parasitologia; Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais

O RNA de interferência (RNAi) tem possibilitado estudos de genômica funcional em insetos não-modelo, como *Rhodnius prolixus*, que desempenha um papel epidemiológico relevante na América do Sul e Central. Neste estudo, avaliamos a aplicação tópica como uma alternativa à microinjeção de dsRNA em ninfas de *R. prolixus*, especialmente em insetos menores (N1). A aplicação tópica oferece vantagens em relação à injeção, sendo mais rápida, simples e menos prejudicial ao inseto, permitindo realizar o tratamento em larga escala. Nosso objetivo é investigar a eficiência da aplicação tópica de dsRNA em ninfas de diferentes estádios de desenvolvimento de *R. prolixus*, utilizando como gene alvo a nitroforina 2 salivar, gene que em estudos prévios apresentou um silenciamento efetivo (RNAi) por microinjeção. Realizamos o experimento com três grupos de 10 ninfas de primeiro estágio (N1), em triplicata, aplicando 0,5 - 1 µg de dsRNA no dorso ou no ventre das ninfas, dissolvido em acetona 50% (v/v) ou em água DEPC. A aplicação tópica foi realizada com uma microseringa Hamilton. As ninfas recém eclodidas que receberam a aplicação tópica no dorso, utilizando água e acetona, apresentaram silenciamento gênico (qPCR) de 89,37% e 95,53%, respectivamente. Resultado semelhante foi obtido quando ninfas com 5 dias de vida receberam a aplicação no ventre, apresentando um silenciamento gênico de 99,58% e 75,50% quando a água e acetona foi utilizada como solvente, respectivamente. Esses resultados preliminares sugerem que ninfas recém eclodidas são permeáveis ao dsRNA, provavelmente devido à cutícula do inseto se apresentar nesta fase menos esclerotizada. Além disso, testes utilizando outros estádios de desenvolvimento de *R. prolixus* foram realizados neste estudo, no entanto, os resultados ainda estão em análise. Essa informação permitirá uma compreensão mais completa do potencial dessa abordagem em diferentes fases do ciclo de vida desse importante vetor.

Palavras-Chave: *Rhodnius prolixus*, Triatominae, Nitroforina, RNAi, genômica funcional.

Apoio financeiro: CNPq; UFMG; INCT-Entomologia; CAPES; FAPEMIG

Efeito da microbiota intestinal de *Rhodnius prolixus* na infecção de *Trypanosoma cruzi* no vetor e transmissão oral em camundongos

Pereira, SB¹, Oliveira, DAF², Fonseca, JE¹, Hastenreiter, LSN¹, Castro, DP¹.

¹ Laboratório de Bioquímica e Fisiologia de Insetos (IOC/Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil.

² Laboratório de Pesquisa sobre o Timo (IOC/Fiocruz), Rio de Janeiro, Brasil.

O *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, é um parasito heteroxênico, sendo o homem seu hospedeiro definitivo. Atualmente, a via de transmissão oral é uma das principais formas de infecção pelo parasito. *Rhodnius prolixus* é vetor do *T. cruzi*, que se desenvolve no trato digestório dos triatomíneos. Na microbiota intestinal destes insetos encontra-se uma ampla gama de microrganismos, dentre eles *Serratia marcescens*, bactéria Gram-negativa que desempenha um papel relevante na proteção do inseto, por apresentar uma capacidade lítica quando em contato com o parasito. Neste trabalho buscamos compreender o papel da microbiota intestinal de *R. prolixus* na infecção e competência de transmissão do parasito por via oral para um hospedeiro vertebrado. Foi realizada a infecção oral de camundongos com o conteúdo do reto de ninfas de 5º instar tratadas com antibiótico [C/AntB (Ampicilina, Estreptomicina e Tetraciclina)] e não tratadas (S/AntiB), mas ambas infectadas com *T. cruzi*, cepa Dm28c, as formas tripomastigotas metacíclicas foram normalizadas para concentração de 5×10^5 parasitos/mL a quantificação de parasitos também foi realizada no reto dos insetos com 32 DPI. Separadamente realizamos infecção de *R. prolixus* com *S. marcescens* cepa A1, o intestino médio posterior destes insetos foi dissecado e incubado com o *T. cruzi* cepa Dm28c, a fim de verificar *ex vivo* a capacidade do parasito em se aderir à PMM. Em nossos resultados, avaliamos a curva de parasitemia dos camundongos, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos, mas observamos um perfil distinto entre as curvas, onde S/AntB apresentou um pico de parasitemia tardio. O reto dos insetos C/AntiB apresentaram uma quantidade significativamente maior de parasitos em relação ao grupo S/AntiB. Na análise de adesão à PMM, observamos que os insetos infectados previamente com *S. marcescens* A1 tiveram uma redução na adesão de *T. cruzi* à PMM em relação ao grupo controle. Concluímos, que o enriquecimento da microbiota intestinal de *R. prolixus* com *S. marcescens* impactou na capacidade do parasito em se aderir à PMM, além disso, a microbiota impacta negativamente na metaciclogênese, reduzindo a quantidade de parasitos no reto dos insetos que não foram tratados com antibiótico.

Palavras-Chaves: *Rhodnius prolixus*; *Trypanosoma cruzi*; Infecção Oral e *Serratia marcescens*.

Agências Financiadoras: Fiocruz, CAPES, CNPq e FAPERJ

TREMATÓDEOS

Schistosoma mansoni

Study of the effects of gene silencing of a methyl transferase in *Schistosoma mansoni*

Natália Silva da Trindade, Fatoumata Diarrassouba, Lidigiane Máira de Lima, Tayná Dandara dos Santos Amaral¹, Christoph Grunau², Silmara Marques Allegretti¹, Fernanda Janku Cabral¹

¹ Department of Animal Biology, Institute of Biology, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Sao Paulo, Brazil.

² Université de Perpignan via Domitia

³ CY Cergy Paris University, CY Tech

Schistosomiasis is an intestinal or urogenital disease estimated to affect 220 million people worldwide. Primarily found in children, it also affects adults working in contaminated water sources. The disease is caused mainly by 3 species of trematodes belonging to the schistosome genus. In Brazil, the species present is *Schistosoma mansoni*. The only treatment for this disease is praziquantel, which works on all adult species, but does not prevent reinfection, the emergence of drug resistance was also reported, and does not have reported action against juvenile stages. Several reports are describing that in the parasite life cycle, the epigenetics field is emerging as responsible for control of gene expression for parasite progression and developmental processes. All these morphological/structural processes are related to chromatin changes dependent of histones post-translational modifications such as methylation and/or acetylation of histone which open or close chromatin for expression of genes. Several studies from literature and data from our lab, have shown that methylation is very important for parasite development and are enriched in histones of juvenile stages. For this, in this study we are studying the importance of the histone lysine methyltransferase from *S. mansoni* coded by the gene annotated in the database with the number Smp_210650. To study the direct effects in gene expression and morphology, we incubate the dsRNA 210650 for 24hours. We observed a representative diminution of the expression of the gene by qRT-PCR but we did not verified and change of the morphology, suggesting that these gene may be involved in other functions in the parasite that must be investigated.

Financial support: Campus France, Projetos FAPESP 2017/07364-9 e 2021/14982-6 e FAEPEX 2169/23

Keywords: *Schistosoma mansoni*, methylation, dsRNA, epigenética.

Field of the abstract: Molecular biology, Helminthology

Estudo da Proteína da Heterocromatina 1 (HP1) como co-regulador da expressão gênica em *Schistosoma mansoni*

Natália Silva da Trindade¹, Lidigiane Maíra de Lima¹, Tayná Dandara dos Santos Amaral, Ana Paula Masson², Vitor Faça², Silmara Marques Allegretti¹, Fernanda Janku Cabral¹

¹Department of Animal Biology, Institute of Biology, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Sao Paulo, Brazil

²Departamento de Bioquímica e Imunologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

As diferenças morfológicas entre as diferentes fases do ciclo de vida do parasita *Schistosoma mansoni* estão relacionadas a modificações pós-traducionais reversíveis do epigenoma. Esses mecanismos epigenéticos são essenciais para a regulação da expressão gênica e envolvem um grande número de modificações, como metilação do DNA e modificação pós-traducional de histonas. As modificações de histonas estão associadas à cromatina transcricionalmente ativa ou repressiva. H3K9me3 e H3K27me3 já são bem estudadas em outros organismos e demonstram relação com a inativação da transcrição. Porém, somente estas modificações não são capazes de manter um estado silenciado, é preciso que co-reguladores atuem. A proteína da Heterocromatina 1 (HP1) é um co-regulador conservado durante a evolução e a sua importância para manter estruturas silenciadas ou heterocromáticas, já foi descrita em outros organismos. Esta proteína parece exercer papel importante no ciclo de vida de *S. mansoni*, dessa forma, é importante estudar qual o papel de HP1. Nossos resultados de imunoprecipitação sugerem que HP1 interage com histonas modificadas e outras proteínas importantes para a regulação da expressão gênica. Para estudar os efeitos da proteína HP1 no ciclo de vida do parasita estamos incubando esquistossômulos com dsRNA-HP1 para estudar os efeitos do silenciamento gênico em esquistossômulos de 3 dias.

Apoio Financeiro: CAPES – bolsa de Doutorado, Projetos FAPESP 2017/07364-9 e 2021/14982-6 e FAEPEX 2169/23.

Palavras chaves: *Schistosoma mansoni*, HP1, dsRNA, epigenética

Área do resumo: Biologia Molecular, Helmintologia

Development of a self-nanoemulsifying drug delivery system containing praziquantel and its potential for the treatment of schistosomiasis in children

Ana C. Mengarda^{1,2*}; Vinícius C. Rodrigues¹; Bruno Iles³; João Paulo F. Longo³; Josué de Moraes^{1,2}

¹Núcleo de Pesquisas em Doenças Negligenciadas, Universidade Guarulhos, Guarulhos/SP; ² Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo/SP; ³ Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Genética e Morfologia, Universidade de Brasília, Brasília/DF;

*ana.npdn@gmail.com; anacmengarda@icb.usp.br

Schistosomiasis is a helminthiasis that affect more than 240 million people worldwide, mainly children. Praziquantel (PZQ) is the unique drug used for treatment and control schistosomiasis. However, PZQ presents obstacles regarding its physicochemical characteristics that affect its form of presentation and leads to high therapeutic dosages, making child treatment difficult. Based on the new roadmap for neglected diseases (2021-2030) released by the WHO, in which it proposes the development of a pediatric formulation of PZQ, the present study developed a self-nanoemulsifying drug delivery system capable of carrying PZQ and potentiating the effect of drug (INPI – Nº BR1020220184186). The system for delivery PZQ was developed based on the ability of oils and surfactants to solubilize the drug. The chosen formulation was composed of Kolliphor® HS 15, SPAN® 80 and castor oil in PZQ. In vitro assays for anthelmintic analysis were performed using adult worms of *Schistosoma mansoni* and, PZQ was tested at 1 µM and PZQ in the delivery system (PZQ-s) was tested at 0.025-1 µM for determination of their 50% inhibitory concentration (IC₅₀). PZQ and PZQ-s showed an IC₅₀ of 0.7 and 0.2 µM, respectively. In cytotoxicity assays PZQ and PZQ-s showed no effect on human and animal cell lines, as estimated by the MTT assay. In vivo assay was performed using Swiss mice experimentally infected with ~80 cercariae of *S. mansoni*. Animals were treated by oral route 49 days post-infection with a single dose of 100, 200 and 400 mg/kg of PZQ and PZQ-s and, 60 days post-infection all mice were euthanized and submitted to therapeutic efficacy analysis that were based on worm burden and, egg burden in the small intestine and feces. The doses of PZQ-s that show more efficacy were 200 and 400 mg/kg promoting a worm burden reduction of 95.6% and 95%, respectively. Interestingly, PZQ-s was more potent than PZQ once animals treated with 400 mg/kg of PZQ showed a reduction of 88.2%. In the number of immature eggs in the intestine analyses, PZQ-s at 400 and 200 mg/kg caused a reduction of 99% and 97.1%, respectively; and PZQ caused a reduction of 90.6% and 50.4%, respectively. In egg burden of feces analyses, PZQ-s at 400 and 200 mg/kg caused a reduction of 99.2% and 98.7%, respectively. In turn, PZQ showed a reduction of 87% and 53% in the egg burden in the feces at the same doses. In conclusion, the results demonstrate that PZQ-s was more potent than PZQ even at twice-lower doses.

Keywords: Schistosomiasis; Anthelmintic; Nanocarrier; Praziquantel.

Funding: FAPESP (Grant 2019/25905-2 to ACM, 2019/25289-0 to VCR and, 2020/01441-4 to JdM).

Area: Helminthology

MOSCA

O desenvolvimento de *Stomoxys calcitrans* (L.) é heterogeneamente impactado por diferentes dietas sanguíneas.

Karina Riquete¹, Dayana Rosa¹, Luan Valim dos Santos², Emerson Guedes Pontes² & Patrícia Fampa¹.

¹Laboratório de Parasitos e Vetores, Departamento de Ciências Farmacêuticas, ICBS-UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil; ² Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Artrópodes, Departamento de Bioquímica, IQ/ UFRJ. Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil;

Stomoxys calcitrans é um inseto conhecido, principalmente, pelos danos que causa a animais criados sob regime de confinamento, como bovinos e equinos. Além do incômodo e estresse causado por sua picada, que reflete em perdas onerosas para a indústria de leite e carne, o organismo possui potencial de carrear mecanicamente diversos patógenos, pondo em risco a sanidade dos animais parasitados. Dessa forma, o estudo desse organismo é essencial para o desenvolvimento de estratégias voltadas para seu controle e combate. Portanto, o presente projeto visa avaliar a influência da alimentação com sangue de diferentes hospedeiros (boi, cavalo, carneiro, coelho e humano) na biologia e fisiologia de *S. calcitrans*. Foram utilizadas moscas cujos estágios imaturos foram desenvolvidos em dieta a base de cana-de-açúcar. Nesse contexto, foi observado que o tipo de dieta sanguínea afeta a longevidade da mosca, onde a alimentação com sangue bovino resultou em maior longevidade, apresentando uma sobrevivência média de 14 dias e a alimentação com sangue humano demonstrou a pior média de sobrevivência (4,5 dias). Em relação à fertilidade, a alimentação com sangue ovino resultou na melhor oviposição, com média aproximada de 2000 ovos/posto/grupo, seguido pela alimentação com sangue bovino (1328 ovos). Foi observado ainda alterações no início da postura dos ovos, onde fêmeas alimentadas com sangue bovino e ovino iniciaram oviposição a partir do 5º dia de alimentação e os demais grupos apenas após o 9º dia. Em relação ao desenvolvimento dos estágios imaturos, não houve diferença no tempo de eclosão dos ovos e no tempo de emergência dos adultos. Contudo, o tempo para formação de pupas para o grupo que recebeu alimentação com sangue ovino foi atrasado em pelo menos um dia. As análises apresentadas também foram realizadas em moscas cujo os estágios imaturos foram desenvolvidos em dieta a base de alfafa fermentada, que se apresenta como um substrato mais pobre nutricionalmente. Nele foi demonstrada redução na longevidade dos grupos em todas os tipos de alimentação quando comparado ao experimento anterior, com atenção especial para o sangue equino que provocou rápida mortalidade, apresentando uma média de sobrevivência de 2 dias e ausência de oviposição. Planeja-se ainda realizar análises metabólicas para averiguar como cada alimentação influencia as reservas energéticas do organismo, assim como observar o desenvolvimento dos ovários, o processo alimentar e digestivo.

Palavras-chave: *Stomoxys calcitrans*, alimentação sanguínea, longevidade, oviposição.

Apoio Financeiro: CAPES, FAPERJ, PPGCV & PROPPG-UFRJ

Efeito do óleo essencial de orégano, *Origanum vulgare* L., sobre *Stomoxys calcitrans*, a mosca-dos-estábulo.

Fellipe Matheus Souza da Costa¹, Yara Peluso Cid² & Patrícia Fampa¹.

¹Laboratório de Parasitos e Vetores, Departamento de Ciências Farmacêuticas, ICBS/UFRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil; ²Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária - Setor de Desenvolvimento e Análises Farmacêuticas, IV/UFRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.

Stomoxys calcitrans, a mosca-dos-estábulo, é um inseto hematófago, uma praga dos rebanhos nacionais, tendo preferência por sangue bovino. Seu parasitismo diminui a saúde e o bem estar do animal, pois a picada é dolorosa, além de se constituir como vetor mecânico de vários patógenos, causando prejuízo econômico à indústria de carne e leite. Óleos essenciais de origem vegetal se apresentam como alternativas ao uso de pesticidas no controle e combate destas pragas e com a vantagem de serem ambientalmente amigáveis. No presente projeto, testamos o óleo essencial de *Origanum vulgare* L. (Orégano) em *S. calcitrans* da colônia mantida em nosso laboratório. Para isso, foi realizada uma diluição seriada do óleo essencial em acetona para concentrações de 2500 ppm, 3500 ppm, 5000 ppm, 10000 ppm e 20000 ppm. Foi realizada aplicação tópica no abdômen de moscas separadas em 6 grupos, sendo 8 moscas por grupo, com as 5 concentrações descritas e o controle tratado apenas com acetona. Procedeu-se acompanhamento de longevidade e cálculo da LD₅₀. Observamos que nas concentrações mais altas, as moscas morreram nos primeiros dias e apresentaram um comportamento anormal, ficando cambaleantes. O óleo essencial apresentou um eficiente método de mortalidade. Os resultados indicam um caminho promissor na obtenção de biopesticidas amigáveis ao meio ambiente, seletivos para pragas como a *S. calcitrans* e de baixo custo. O presente estudo exige novos experimentos com óleos essenciais no ciclo da mosca, como em pupa, larva e alimentação do composto misturado com o sangue, afim de medir efetividade e analisando seus mecanismos para a eliminação da mosca *S. calcitrans*.

Palavras-chave: *Stomoxys calcitrans*; Orégano; Óleo essencial; Pesticidas; Mortalidade; Vetor mecânico; Praga.

Apoio financeiro: FAPERJ & PROPPG-UFRJ

Avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio em *Stomoxys calcitrans*, mosca-dos-estábulo, após diferentes dietas

Francisco Rômulo Oliveira Magalhães^{1,2}, Gabrielle Silva da Rocha¹, Luan Valim dos Santos³, Ana Beatriz Walter-Nuno⁴, Keyla Cristiny da Silva Gonçalves⁴, Emerson Guedes Pontes³, Daniela Cosentino-Gomes⁵ e Patrícia Fampa^{1,2}.

- 1- Laboratório de Parasitos e Vetores, Departamento de Ciências Farmacêuticas, ICBS/ UFRJ, Seropédica;
- 2- Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, IV/ UFRJ. Seropédica;
- 3- Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Artrópodes, Departamento de Bioquímica, IQ/ UFRJ. Seropédica;
- 4- Laboratório de Bioquímica de Insetos Hematófagos, IBqM Leopoldo de Meis/ UFRJ;
- 5- Laboratório de Bioquímica Redox, Departamento de Bioquímica, IQ/ UFRJ. Seropédica.

Stomoxys calcitrans, mosca-dos-estábulo, é inseto vetor mecânico de vários patógenos para bovinos e equinos. As enzimas NOX, NADPH-oxidases, são responsáveis pela produção fisiológica de espécies reativas de oxigênio (ERO), com papel crucial na regulação de processos biológicos essenciais. Nosso grupo encontrou sequências NOX em *S. calcitrans* com homologia à NOX 5 e DUOX. Analisamos a relação filogenética de NOX entre algumas espécies de inseto com 100% de similaridade entre *S. calcitrans* com *Musca domestica* e *Drosophila melanogaster*. Analisamos produção de ERO em moscas recém-emergidas em três diferentes condições: alimentadas com sangue, com sacarose e em jejum por 24h. A produção de H₂O₂ foi maior no intestino médio (IM) das moscas alimentadas com sangue, do que no intestino posterior (IMP) e corpo gorduroso (CG), sendo a mais reduzida por DPI, um inibidor de NOX. A produção em moscas em jejum também foi alta. A marcação com “oxidant-sensitive fluorophore dihydroethidium” (DHE), marcador de ERO foi mais intensa em intestinos de moscas em jejum, seguido das alimentadas com sangue e menor produção após alimentação com sacarose. Resultados preliminares mostram que a ativação de superóxido dismutase (SOD) e a oxidação de grupos tiol entre esses mesmos tecidos é diferente, possivelmente como consequência do desequilíbrio redox. No momento, estamos avaliando a produção em ERO em moscas infectadas com o tripanossomatídeo monoxênico *Herpetomonas muscarum*, isolado por nosso grupo pela primeira vez da hemolinfa de *S. calcitrans* coletadas na UFRJ

Palavras-chave: *Stomoxys calcitrans*; transmissão mecânica; espécies reativas de oxigênio; relação parasito-vetor

Apoio financeiro: FAPERJ, CAPES & PROPPG-UFRJ

***Herpetomonas muscarum* in *Stomoxys calcitrans*: effect on its biology at different evolutionary stages and analysis of its immune response under conditions of controlled infection**

Dayana Rosa^{1,2}; Karina Riguete^{1,3}; Daniela Cosentino Gomes¹; Patrícia Fampa¹

1. Laboratório de Parasitos e Vetores, Departamento de Ciências Farmacêuticas, ICBS-UFRRJ, Seropédica - RJ - Brasil; 2. Pós-doutoranda do Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias; 3. Discente do Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias;

Stomoxys calcitrans, also known as stable flies, is a diptera, with a worldwide distribution, being the only species of the genus that occurs in the Americas. Flies of this group have hematophagy as a feeding habit, both in males and females, being mechanical vectors of several pathogens of veterinary interest, such as viruses, bacteria, protozoa and helminths. In addition to its epidemiological relevance, we can draw attention to the economic losses caused by this organism in the livestock sector, mainly in the meat and milk production chain. Their bites are painful and their feeding is characterized as persistent, which in infestations in cattle, leads to a high level of discomfort and stress in the hosts, in addition to considerable blood loss. At the end of 2022, our group isolated a representative of the *Trypanosomatidae* family from the hemolymph of *Stomoxys calcitrans*, and identified it as the species *Herpetomonas muscarum*. The trypanosomatid group encompasses both heteroxenic protozoa of medical and veterinary importance, and monoxenic representatives found only in arthropods. The species isolated from the fly *S. calcitrans* is in the last mentioned group. The main site of colonization of these protozoans is the intestine of the hosts, and it is possible to find them in other organs and tissues such as the malpighian tubules and the hemolymph. Previously, we saw that *H. muscarum* interacts with the gut of *S. calcitrans*, in *ex vivo* and *in vivo* assays, at different times. We also carried out initial tests to evaluate the influence on the development of adult flies after feeding with *H. muscarum*, such as oviposition, pupation and emergence of new generations, where we identified a deficit in its reproduction. The interest in studying monoxenic protozoa is partly due to their ease of maintenance in axenic culture and their phylogenetic relationship with the genera *Trypanosoma* and *Leishmania*, groups of medical and veterinary importance. In addition, monoxenic protozoa have potential as a biological control strategy for insect vectors. In the present work we intend to evaluate the role of this trypanosomatid in the biology of the fly, through infections via feeding in adult and immature individuals. The presence of *H. muscarum* in different organs after oral infection will also be evaluated, through the detection of its genetic material, by PCR. In this way, we propose to evaluate more specific and effective control mechanisms.

Thematic area: Parasitology, immunology.

Keywords: livestock, mechanical vector, monoxenous trypanosomatids, immune system.

Supported by: CNPq, FAPERJ & PROPPG-UFRRJ

BESOURO

Expressão gênica de TcNFAT durante o desenvolvimento do besouro *Tribolium castaneum*

Silva-Lima, D.¹; Porto, L.L.¹; Majerowicz, D.^{1,2,3}.

¹ Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil;

² Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil; ³ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, Brasil.

Fatores nucleares de células T ativadas (NFAT) são uma família de fatores de transcrição descritos em mamíferos com funções no sistema imunológico e na regulação do metabolismo. Nas células T, a ativação do NFAT aumenta a captação de glicose e o seu catabolismo através da glicólise, além de induzir a síntese lipídica. Variação osmótica, citocinas, espécies reativas de oxigênio e fatores de crescimento regulam a atividade do NFAT. Além disso, os níveis citoplasmáticos de cálcio estão envolvidos na regulação do metabolismo lipídico e na ativação de NFAT. O NFAT de insetos é um ortólogo do NFAT5 de mamíferos e está envolvido na resposta ao estresse osmótico e no desenvolvimento neurológico. Alguns estudos com *Drosophila* demonstraram que o nocaute do NFAT induziu um alto acúmulo de lipídios no corpo gorduroso, no entanto os mecanismos não são claros. Aqui, inicialmente descrevemos a expressão do gene NFAT no besouro *Tribolium castaneum*. Proteínas com homologia Rel DNA-binding domain (PF00554) foram obtidas de diferentes genomas de insetos usando BioMart, e o dendrograma foi construído usando o algoritmo de máxima verossimilhança no MEGA 11. O RNA total foi extraído de larvas de diferentes tamanhos e pupas usando TRI reagent. Em seguida, o RNA total foi tratado com DNase I e usado para a síntese de cDNA. A expressão gênica foi avaliada por qPCR. A análise filogenética da família de proteínas Rel mostrou que *T. castaneum* possui dois parálogos do gene *Dorsal* e um ortólogo do gene *Relish* e do gene *NFAT* cada. A análise da expressão gênica mostrou que as pupas expressaram mais TcNFAT do que as larvas durante o desenvolvimento médio e tardio. Estes resultados mostram que *T. castaneum* possui um único gene NFAT e que as pupas expressam altamente este gene durante a metamorfose. Mais experimentos são necessários para explorar a função de *TcNFAT* durante a metamorfose e metabolismo lipídico.

Palavras-chave: NFAT, metabolismo lipídico, qPCR, expressão gênica, análise filogenética.

Agradecimentos: CNPq, FAPERJ e INCT-EM.

Papel do Receptor Nuclear E75 no metabolismo de lipídio do besouro *Tribolium castaneum*

Coutinho-Cruz, L.^{1,2}, Majerowicz, D.^{1,3,4}

¹ Departamento de Biotecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil;

² Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil;

³ Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil

⁴ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, Brasil

O receptor nuclear E75 é conhecido por ter múltiplas funções na fisiologia dos insetos, incluindo desenvolvimento, metamorfose, reprodução e oogênese. No entanto, existem poucas informações acerca das funções de E75 no metabolismo de lipídios. Moscas mutantes para o gene *e75* exibem aumento de triglicerídeos armazenados, enquanto a supressão de E75 por meio de interferência de RNA tem o mesmo efeito. Além disso, a inibição da produção de óxido nítrico, que regula a atividade de E75, resulta em acumulação de gordura no corpo gorduroso das larvas. Esses dados sugerem que E75 tem funções essenciais no metabolismo de lipídio dos insetos, embora os mecanismos regulatórios ainda não estejam claros. Este estudo teve como objetivo investigar a significância do receptor nuclear TcE75 na regulação do metabolismo de lipídio no inseto *T. castaneum*. Usamos o besouro *Tribolium castaneum* como modelo para o estudo do metabolismo de lipídios. A expressão do gene *e75* foi medida usando PCR quantitativo, assim como a eficiência da inibição, por meio da técnica de RNA de interferência. Por fim, os níveis de triglicerídeos foram medidos usando um ensaio enzimático colorimétrico. Nossos dados demonstram que a expressão do gene *e75* permanece estável durante o desenvolvimento do inseto imaturo, desde as fases larvais até a fase de pupa. A análise da expressão do *e75* em adultos recém emergidos também não indica variações ao longo de 15 dias. Além disso, o tratamento de larvas com uma dieta rica em gordura (suplementada com azeite) não parece aumentar a expressão do E75. Por outro lado, a supressão do E75 por meio do RNAi não aumenta os níveis de triglicerídeos em besouros adultos. Por enquanto, nosso estudo não mostrou que o receptor nuclear E75 está envolvido no metabolismo de lipídios no besouro *T. castaneum* e mais pesquisas são necessárias para concluir se e quais funções esse gene pode ter.

Apoio financeiro: CNPq e FAPERJ

Grande área: Bioquímica e Biologia Molecular

Palavras-chave: E75, metabolismo de lipídios, *Tribolium castaneum*.

Caracterização inicial do metabolismo de lipídeos do besouro *Tribolium castaneum*

Pessoa-Nascimento, M.^{1,2}, Nascimento, P.V.P.¹, Regis, T.S.A.¹, Majerowicz, D.^{1,3,4}

¹Departamento de Biotecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. ²Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. ³Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. ⁴Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular, Brasil

O besouro *Tribolium castaneum*, popularmente conhecido como besouro-vermelho-da-farinha, é uma praga cosmopolita de grãos armazenados, farinha e outros produtos de cereais, e também é utilizado como organismo modelo para a biologia de desenvolvimento. Suas informações genômicas, transcriptômica e a eficiência das ferramentas de RNA de interferência tornam este besouro um modelo atraente para a abordagem a ser proposta. Apesar disto, não há estudos publicados na área de metabolismo de lipídios. Portanto, nosso objetivo é realizar a caracterização inicial do metabolismo de lipídios do *T. castaneum*. Durante o desenvolvimento, as larvas armazenam triacilglicerol, atingindo a quantidade máxima de gordura no último estágio larval e nas pupas. Após a emergência dos adultos, a quantidade de triacilglicerol armazenado cai repentinamente, atingindo um nível mínimo em adultos de sete dias. Em relação à atividade da ATP citrato liase, as larvas de 3 mm apresentaram uma maior atividade desta enzima, enquanto nos outros estágios de seu desenvolvimento a atividade se manteve baixa. Vários genes do metabolismo lipídico tiveram sua expressão analisada. Nas fases iniciais do desenvolvimento, as larvas apresentaram maior expressão gênica da carnitina aciltransferase 1, etapa limitante da beta-oxidação. Por outro lado, os genes da lipase Brummer e ácido graxo sintase apresentaram menor expressão em pupas. Resultados em besouros adultos mostraram que os genes da acetil-CoA carboxilase e da ácido graxo sintase aumentam sua expressão após a emergência. Conclusão: esses resultados indicam que *T. castaneum* possui um metabolismo lipídico dinâmico, evidenciado por variações na quantidade de lipídios armazenados e no perfil de expressão de genes envolvidos na síntese e degradação de lipídeos.

Palavras-chave: besouro, lipídeos, metabolismo, genes.

Apoio financeiro: FAPERJ, CAPES.

PERCEVEJO

Uso da análise de imagem para avaliação do crescimento relativo e a atividade da bomba cibarial durante o desenvolvimento pós-embrionário do inseto hematófago *Cimex lectularius* (Hemiptera, Cimicidae)

Alvarez, LC¹; Guerra, LRM¹; Pessoa, GCP¹; Sant'Anna MRV¹; Gontijo NF¹; Koerich LB¹; Pereira MH¹;

¹ Laboratório de Fisiologia de Insetos Hematófagos, ICB/UFMG, Belo Horizonte/MG

Cimex lectularius, conhecido como percevejo de cama, é um hemíptero hematófago obrigatório. Apesar de não haver evidências da transmissão de patógenos por *C. lectularius*, as manifestações alérgicas cutâneas devido a deposição de saliva durante o repasto sanguíneo despertam interesse em saúde humana. A alimentação do percevejo é auxiliada pela bomba cibarial (BC), uma estrutura associada a um complexo de músculos localizados na cabeça do inseto que gera uma diferença de pressão permitindo a ingestão do sangue. O volume de sangue ingerido por artrópodes pode ser influenciado fatores como a idade e o tamanho corporal. Nos triatomíneos, que também são hemípteros hematófagos, a diferença da performance alimentar entre os estádios ninfais é principalmente devido ao crescimento assimétrico da BC em relação ao aumento corporal durante o desenvolvimento. Este trabalho teve como objetivo avaliar o crescimento de *C. lectularius* durante seu desenvolvimento pós-embrionário (DPE), assim como caracterizar a atividade da BC. Para isso, ninfas de cada estágio (n=20) foram sacrificadas (30 min/-20°C) 3 dias após a ecdise, distribuídas em placa de Petri e fotografadas (câmera Casio FH20). A análise das imagens foi realizada com o programa ImageJ (NIH/USA, versão 1,53q) no qual através de ferramentas de processamento de imagem foi possível obter o contorno do corpo, cabeça, tórax e abdômen do inseto. As análises mostraram que o crescimento da área do corpo de *C. lectularius* foi exponencial ($0,3544e^{0,5816x}$, $R^2 = 0,9953$). O valor da área corporal média variou entre $0,66 \text{ mm}^2 \pm 0,08$ em N1 e $6,53 \text{ mm}^2 \pm 0,26$ em N5, o que correspondeu a um aumento de ~10 vezes. O aumento da área do contorno do tórax ($1,75/0,15 \text{ mm}^2$) e do abdômen ($4,52/0,43 \text{ mm}^2$) foi de ~11 vezes, enquanto o da cabeça dos insetos foi de apenas ~3 vezes ($0,26/0,08 \text{ mm}^2$). Uma vez que a BC ocupa grande parte da cabeça dos percevejos de cama, os resultados sugerem que, assim como a cabeça, a BC também deve crescer assimetricamente. Em relação à caracterização da atividade da BC, foram feitos vídeos (n=8) por microscopia intravital. Os vídeos também foram analisados pelo ImageJ. Os resultados da atividade da BC de ninfas de 1º estágio mostram uma frequência média de $7,2 \pm 1,7 \text{ Hz}$; com tempo de enchimento e esvaziamento médio de 98 e 52 milissegundos, respectivamente. O próximo passo é caracterizar a atividade da BC para os outros estádios ninfais.

Palavras chaves: *Cimex lectularius*, desenvolvimento, análise de imagem, Image J, bomba cibarial

Apoio: UFMG, FAPEMIG, CNPq, INCT - Entomologia Molecular

Aplicação de quantum dots para rastreo e imageamento de células em modelo animal invertebrado.

Vitória Ramos da Conceição^{1,3}, Luiz Miguel Pontes Abrahão¹, Marla Karolyne dos Santos Horta², Marcel Guimarães Martins², Marcelo Gonzalez Salabert¹, Maria Denise Feder¹, Tainá Neves Ferreira¹ e Cecília Stahl Vieira¹.

1 - Laboratório de Biologia de Insetos, Universidade Federal Fluminense. 2- MAGTECH Brasil. 3- Centro Universitário IBMR

A proposta do projeto é desenvolver nanomarcadores fluorescentes Quantum Dots (QDs) de silício, altamente fluorescentes, fotoestáveis e ambientalmente amigáveis, que podem ainda serem bioconjugados a diferentes biomoléculas para marcações celulares específicas. Esses marcadores serão utilizados como ferramentas biofotônicas para estudar em tempo real a interação entre parasitas e hospedeiros invertebrados. O modelo escolhido para esses validar a aplicação dos QDs desenvolvidos em parceria com a empresa MAGTECH, é o tripanosomatídeo *Leptomonas seymouri*, parasito natural de *Dysdercus peruvianus*, conhecido como inseto praga do algodão. O tripanosomatídeo *L. seymouri* foi gentilmente cedido pelo grupo do Prof. Vyacheslav Yurchenko da Universidade de Ostrava, República Tcheca. *D. peruvianus* é proveniente da colônia de insetos fitófagos do Laboratório de Biologia de Insetos da Universidade Federal Fluminense. *L. seymouri* foram incubadas ao longo de 7 dias com diferentes concentrações de QDs, de 0,1 a 100 µg/mL. Também testamos os quantum dots conjugados a lectinas, que são proteínas que se ligam a diferentes tipos de carboidratos, tornando a marcação celular mais específica. Os QDs de Si (MAGTECH) e de Cádmio e Telúrio (CdTe) (Sigma) foram conjugados com a lectina de amendoim (Sigma) e a concanavalina A (Sigma), através do processo de adsorção. Para isso, misturou-se os QDs com a solução de lectina (Cf = 50 µg. mL⁻¹) mantida sob agitação leve (300 rpm) por 30 min e temperatura ambiente (25 °C). Foi avaliado o efeito das nanopartículas na curva de crescimento de promastigotas *L. seymouri* utilizando os QDSi e os QDsCdTe da Sigma. Diferentes concentrações de QDs foram testadas, variando de 0,5 a 1000 µg/ml. O objetivo desses testes é identificar possíveis efeitos tóxicos nas células do tripanossomatídeo ao longo de um período de 7 dias, através de replicatas técnicas e biológicas. Os resultados preliminares indicaram que a concentração de QDSi que mais afetou o crescimento das *L. seymouri* foi de 1000 µg/ml. Já no caso do QDCdTe, os efeitos negativos foram observados nas concentrações de 50 µg/ml e 0,5 µg/ml. Embora o projeto ainda esteja em desenvolvimento, os resultados preliminares nos deram base para definirmos parâmetros de utilização dos QDSi (concentração, solvente, pH, tempo de incubação) na marcação de tripanosomatídeos, o que permitirá a realização de experimentos que exploram o uso das QDs para rastreamento dos parasitos em tempo real em *D. peruvianus*.