

# RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizada somente a partir de 30/05/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**“Inovação na detecção de arboviroses emergentes e  
caracterização de mosquitos de campo”.**

**Amanda Montezano Cintra**

*Discente*

**Rejane Maria Tommasini Grotto**

*Orientador*

**Nathália Mayumi Noda Nicolau**

*Colaborador*

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

**“Inovação na Detecção de arboviroses emergentes e  
caracterização de mosquitos de campo”.**

**Amanda Montezano Cintra**

*Discente*

**Rejane Maria Tommasini Grotto**

*Orientador*

**Nathália Mayumi Noda Nicolau**

*Colaborador*

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia, Campus de Botucatu, UNESP,  
para obtenção do título de Mestre pelo  
Programa de Pós-Graduação em Biologia  
Geral e Aplicada, Área de concentração  
Biologia de microrganismos e imunidade.

*Profa. Dra. Rejane Maria Tommasini  
Grotto*

M781i      Montezano Cintra, Amanda  
Inovação na Detecção de Arboviroses Emergentes e  
Caracterização de Mosquitos de Campo / Amanda  
Montezano Cintra. -- Botucatu, 2025  
40 p. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista  
(UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu  
Orientadora: Rejane Maria Tommasini Grotto

1. Arbovírus. 2. Mosquitos vetores. 3. Sequenciamento  
de nova geração (NGS). 4. Detecção viral. 5. Vigilância  
epidemiológica. I. Título.

## **Impacto potencial desta pesquisa**

**Título da tese:** “Inovação na detecção de arboviroses emergentes e caracterização de mosquitos de campo”.

**Impacto científico:** A pesquisa procura contribuir para a melhora na detecção de arbovírus por métodos moleculares e promover a identificação rápida de novos vírus. Este avanço científico apoia a vigilância epidemiológica e pode contribuir para o entendimento e controle de doenças transmitidas por mosquitos vetores, alinhando-se ao ODS 3 (Saúde e Bem-Estar).

**Impacto Econômico e Social:** A metodologia desenvolvida pode reduzir os custos associados a surtos de arbovírus e minimizar o impacto social das doenças transmitidas por mosquitos. Melhoria no controle e na prevenção dessas doenças e beneficia comunidades e sistemas de saúde.

## **Potential impact of this research**

**Thesis Title:** "Innovation in the Detection of Emerging Arboviral Diseases and Field Mosquito Characterization".

**Scientific impact:** The research aims to contribute to improving the detection of arboviruses through molecular methods and to promote the rapid identification of new viruses. This scientific advancement supports epidemiological surveillance and may contribute to the understanding and control of mosquito-borne diseases, aligning with SDG 3 (Good Health and Well-Being).

**Economic and Social Impact:** The developed methodology may reduce costs related to arbovirus outbreaks and minimize the social impact of mosquito-borne diseases. Improved control and benefit communities and health systems.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** Inovação na detecção de arboviroses emergentes e caracterização de mosquitos de campo.

**AUTORA:** AMANDA MONTEZANO CINTRA

**ORIENTADORA:** REJANE MARIA TOMMASINI GROTTTO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Biologia Geral e Aplicada, área: Biologia de Micro-organismos e Imunidade pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. REJANE MARIA TOMMASINI GROTTTO (Participação Presencial)  
Departamento de Proteção de Plantas / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu Unesp

Profa. Dra. DANIELA CARVALHO DOS SANTOS (Participação Presencial)  
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp

Dra. VANESSA RAFAELA DE CARVALHO (Participação Presencial)  
Departamento de Proteção de Plantas / Faculdade de Ciências Agrômicas de Botucatu - Unesp

Botucatu, 27 de maio de 2025



Documento assinado digitalmente  
**FLÁVIA DANIELI MARTINS GODINHO**  
Data: 28/05/2025 09:51:42-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**FLÁVIA DANIELI MARTINS GODINHO**  
Assistente Técnico Administrativo I da Seção Técnica de Pós-Graduação  
Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP

## **Dedicatória**

*A minha família, amigos,  
professores e colaboradores;*

*Que sempre estiveram ao meu  
lado, muito obrigada.*

## **Agradecimentos especiais**

***Aos meus pais Ivan Marchetti Cintra e Patrícia Christina Montezano, meus avós Marly Marchetti Cintra, Vera Lúcia Peneque Montezano e Alcides José Montezano, meus irmãos Gabriel Montezano Cintra e Isabela Montezano Cintra;***

Obrigada por serem exemplos, me ensinarem todos os dias, e estarem sempre dispostos a me ouvir e ajudar.

***A minha companheira Andressa Bernado de Oliveira;***

Muito obrigada por todos os momentos de apoio e companheirismo ao longo da elaboração desse projeto, sem você tudo seria mais difícil.

***A minha grande amiga Msc. Giovanna Spiccaci Tavares;***

Obrigada por me acolher e torcer por mim todos esses anos, sou muito grata pela nossa amizade.

***A minha orientadora Profª. Dra. Rejane Maria Tommasini Grotto;***

Obrigada por confiar e acreditar em mim e no meu trabalho, sem seu apoio e dedicação nada disso seria possível, obrigada pelo ombro amigo e por sua humanidade.

***Aos meus amigos e colaboradores Dra. Nathália Mayumi Noda Nicolau e Dr. Leonardo Nazario de Moraes;***

Muito obrigado por todos os ensinamentos e por todo companheirismo e paciência durante todo o nosso projeto, sem o trabalho e dedicação impecável de vocês nada seria possível, obrigada também pelos momentos que tivemos ao longo desses anos, serei eternamente grata.

***Ao meu primeiro orientador Prof. Dr. Jayme Augusto de Souza Neto;***

Professor, obrigada por todo apoio até aqui, sem sua confiança nada disso seria possível, cada conversa foi um grande ensinamento.

***Aos amigos e colaboradores de laboratório Msc. Pedro Henrique de Andrade Affonso, Dra. Milena Leite de Oliveira Soman e Dra. Vanessa Rafaela de Carvalho;***

Obrigado pela amizade, pelo acolhimento, ensinamentos, convívio, força, auxílio e disponibilidade para ajudar e colaborar desde a minha iniciação científica até hoje.

***Aos pesquisadores colaboradores do projeto Profa. Dra. Ana Bahia Nascimento, Dra. Patrícia Akemi Assato, Prof. Dr. Guilherme Targino Valente, Dr. William de Almeida Marques, Matheus Rodrigues Sauda e Ana Beatriz Rodrigues;***

Sou profundamente grato pela amizade, apoio, e pelos ensinamentos compartilhados ao longo deste projeto. A colaboração e a dedicação de cada um de vocês foram fundamentais para o sucesso do trabalho. Sem a sua ajuda e disponibilidade, nada disso teria sido possível.

***Às Professoras Dra. Rejane Maria Tommasini Grotto, Dra. Renate Krause Sakate, Dra. Mara Cristina Pinto e Dra. Daniela Carvalho dos Santos. E aos Pesquisadores e colegas Dra. Vanessa Rafaela de Carvalho e Dr. Leonardo Nazario de Moraes e Dra. Fabiana Barcelos Furtado.***

Aos membros da banca examinadora, agradeço sinceramente pela leitura atenta, pelas valiosas contribuições e pelas reflexões propostas durante a defesa desta dissertação. Suas observações e sugestões representam uma grande oportunidade de crescimento acadêmico e pessoal. Agradeço pela generosidade em compartilhar seus conhecimentos e pela disponibilidade em participar deste momento tão importante da minha trajetória.

***Ao Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA);***

Pela concessão da bolsa de estudos e financiamento do Projeto de Pesquisa.

## **Agradecimentos**

***Aos queridos colegas do Laboratório de Genômica Funcional, Laboratório Central Multiusuário (LACEM) e Laboratório de Biotecnologia Aplicada (LBA);***

Meu sincero agradecimento pelo apoio técnico e colaboração essenciais ao longo do projeto. Vocês foram fundamentais para o sucesso do trabalho.

***Aos demais discentes, docentes e funcionários;***

Obrigada pelos momentos agradáveis e pelo apoio constante durante nossa jornada.

***À coordenadoria e professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada;***

Sou grata pela excelência na formação e pelo suporte recebido, que foram cruciais para o desenvolvimento deste trabalho.

***À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES);***

Obrigada pelo apoio institucional, que possibilitou a realização deste projeto.

***Aos mosquitos coletados em campo;***

Tratados sempre com o máximo respeito e consideração

***Por fim agradeço a todos que de uma forma ou de outra, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho;***

Agradeço a todos que, de diferentes maneiras, ajudaram a tornar este projeto uma realidade.

## Resumo

O estudo e a detecção de arbovírus em mosquitos são fundamentais para a vigilância epidemiológica, dado o papel crucial desses vetores na transmissão de doenças que afetam tanto seres humanos quanto outros animais, especialmente em um cenário de mudanças ambientais que favorecem sua proliferação. O objetivo deste trabalho foi padronizar e identificar seis gêneros de arbovírus (*Phlebovirus*, *Orthonairovirus*, *Orthobunyavirus*, *Alphavirus*, *Orthoflavivirus* e *Thogotovirus*) em mosquitos coletados em quatro parques do Rio de Janeiro (Campo de Santana, Parque Lage, Quinta da Boa Vista e Chico Mendes). A metodologia incluiu a preservação dos mosquitos para análise morfológica e a extração individual de DNA e RNA. A partir do DNA, foi realizado o uso de primers para amplificação de uma região do gene mitocondrial COI, seguida de sequenciamento de nova geração (NGS), o que possibilitou a identificação das espécies de mosquitos coletados, sendo a maioria do gênero *Culex* (74,30%). Para a detecção viral, utilizou-se RT-qPCR a partir do RNA total extraído, com primers específicos para os seis gêneros virais de interesse, permitindo uma triagem eficiente dos mosquitos potencialmente infectados. Após essa triagem, os amplicons foram sequenciados com o objetivo de aprofundar a identificação dos tipos de vírus presentes além dos gêneros. Os resultados mostraram a presença de diversos grupos de *Orthoflavivirus*, com destaque para o *Culex flavivirus* (69,47%), além da detecção de vírus que não são específicos de mosquitos, como *Orthoflavivirus cacipacoreense* e *Orthoflavivirus nilense*, que foram detectados em *Culex quinquefasciatus* e *Culex pipiens*, respectivamente. Além disso, o *Orthoflavivirus careyense* foi detectado em *Aedes albopictus*, *Culex declarator* e *Culex quinquefasciatus*. A combinação das técnicas RT-qPCR e NGS demonstrou alta eficiência na identificação rápida e na análise metagenômica da diversidade viral, permitindo a detecção de vírus circulantes e fornecendo dados valiosos sobre as interações entre vírus e seus hospedeiros vetoriais. Essas metodologias podem ser ferramenta para a vigilância ativa de arbovírus, pois contribuem para a identificação precoce de surtos, otimização dos recursos de monitoramento e desenvolvimento de estratégias de controle mais eficazes, fundamentais para a proteção da saúde pública.

**Palavras-chave:** *Arbovírus, Detecção viral, RT-qPCR, Sequenciamento de nova geração (NGS), Mosquitos vetores, Vigilância epidemiológica, Vírus específicos de insetos, Vírus patogênicos, Metagenômica, Saúde pública.*

## Abstract

The study and detection of arboviruses in mosquitoes are fundamental for epidemiological surveillance, given the crucial role these vectors play in transmitting diseases that affect both humans and animals, especially in a scenario of environmental changes that favor their proliferation. The aim of this study was to standardize and identify six genera of arboviruses (*Phlebovirus*, *Orthonairovirus*, *Orthobunyavirus*, *Alphavirus*, *Orthoflavivirus* and *Thogotovirus*) in mosquitoes collected from four parks in Rio de Janeiro (Campo de Santana, Parque Lage, Quinta da Boa Vista, and Chico Mendes). The methodology included preserving mosquitoes for morphological analysis and individually extracting DNA and RNA. From the DNA, primers were used to amplify a region of the mitochondrial COI gene, followed by next-generation sequencing (NGS), which enabled the identification of the mosquito species collected, with the majority belonging to the *Culex* genus (74,30%). For viral detection, RT-qPCR was used from the total RNA extracted, with primers specific to the six viral genera of interest, allowing an efficient screening of potentially infected mosquitoes. After this screening, the amplicons were sequenced to further deepen the identification of the virus types present beyond the genera. The results showed the presence of several *Orthoflavivirus* groups, with *Culex flavivirus* (66.3%) standing out, along with the detection of viruses that are not mosquito-specific, such as *Orthoflavivirus cacipacoreense* and *Orthoflavivirus nilense*, that were detected in *Culex quinquefasciatus* and *Culex pipiens*, respectively. Additionally, *Orthoflavivirus careyense* was detected in *Aedes albopictus*, *Culex declarator*, and *Culex quinquefasciatus*. The combination of RT-qPCR and NGS techniques proved highly effective for rapid identification and metagenomic analysis of viral diversity, enabling the detection of circulating viruses and providing valuable data on the interactions between viruses and their vector hosts. These methodologies can be tools for the active surveillance of arboviruses, as they contribute to early outbreak detection, optimize monitoring resources, and support the development of more effective control strategies, which are crucial for public health protection.

**Keywords:** Arboviruses, Viral detection, RT-qPCR, Next-generation sequencing (NGS), Mosquito vectors, Epidemiological surveillance, Insect-specific viruses, Pathogenic viruses, Metagenomics, Public health.

## ***Sumário***

|                                                                                                                                               |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Capítulo 1: Revisão de Literatura</b>                                                                                                      | <b>1</b>  |
| 1. Enunciado da problemática                                                                                                                  | 2         |
| 1.1. <i>Gêneros Phlebovirus, Orthonairovirus, Orthobunyavirus, Alphavirus, Orthoflavivirus e Thogotovirus: características e organização</i>  | 3         |
| 1.2. A importância da detecção viral em vetores para a prévia de arboviroses emergentes e reemergentes em populações                          | 12        |
| 1.3 A utilização da biologia molecular para a detecção de arboviroses em vetores                                                              | 14        |
| 2. Objetivo geral                                                                                                                             | 16        |
| 2.1. Objetivos Específicos                                                                                                                    | 16        |
| <b>Capítulo 2: Artigo</b>                                                                                                                     | <b>17</b> |
| 1. <b>Innovation in the Detection of Emerging Arboviral Infections and Field Mosquito Characterization.</b>                                   | <b>17</b> |
| 2. Conclusões gerais                                                                                                                          | 18        |
| 3. Referências Bibliográficas (Capítulo 1)                                                                                                    | 19        |
| <b>Capítulo 3: Material Suplementar</b>                                                                                                       | <b>26</b> |
| 1. Descrição dos Materiais e Procedimentos Metodológicos                                                                                      | 27        |
| 2. Artigo de revisão bibliográfica: "The Main Arboviruses and Virus Detection Methods in Vectors: Current Approaches and Future Perspectives" | 27        |

## *Lista de figuras*

### **Capítulo 1: Revisão de Literatura**

---

|                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------|----|
| Figura 1: Caracterização do gênero <i>Phlebovirus</i> :   | 4  |
| Figura 2: Caracterização do gênero <i>Orthonairovirus</i> | 5  |
| Figura 3: Caracterização do gênero <i>Orthobunyavirus</i> | 7  |
| Figura 4: Caracterização de gênero <i>Alphavirus</i>      | 9  |
| Figura 5: Caracterização do gênero <i>Orthoflavivirus</i> | 11 |
| Figura 6: Caracterização do gênero <i>Thogotovirus</i>    | 12 |

## ***Capítulo 1: Revisão de Literatura***

---

## **1. Enunciado da problemática**

Os vírus transmitidos por artrópodes, conhecidos como arbovírus, ocasionam uma ampla categoria de doenças infecciosas emergentes e reemergentes que representam uma ameaça significativa para a saúde pública global (Weaver & Reisen, 2010). Embora esses vírus tenham um impacto notável na saúde humana e animal, muitos deles ainda permanecem desconhecidos, com a possibilidade de que um número considerável de arbovírus ainda não tenha sido identificado (Junglen & Drosten, 2013; Rosenberg et al., 2013).

Nas últimas décadas, as mudanças climáticas, a urbanização e o aumento do comércio global têm facilitado a expansão geográfica dramática de arbovírus, para além dos continentes originais (Weaver & Reisen, 2010). Esta expansão tem sido acompanhada por descobertas de arbovírus inéditos nas famílias *Togaviridae*, *Flaviviridae* e *Peribunyaviridae* (Junglen & Drosten, 2013).

Dada a diversidade e o potencial de emergência de novos arbovírus, a implementação de técnicas eficazes de detecção é crucial. A detecção precoce de arbovírus em mosquitos de campo é essencial para o monitoramento e controle das doenças associadas, permitindo respostas mais rápidas e direcionadas. O uso de técnicas avançadas, como o sequenciamento de nova geração (NGS), tem se mostrado particularmente promissor neste contexto. O NGS permite uma análise abrangente e detalhada dos genomas virais presentes nas amostras de campo, proporcionando uma visão mais completa da diversidade viral e facilitando a identificação de novos arbovírus (Bishop-Lilly et al., 2010; Masembe et al., 2012; Hang et al., 2016).

No entanto, apesar dos avanços proporcionados pelo NGS, a abordagem continua a enfrentar desafios, como o alto custo e a necessidade de amostras com alto nível de presença viral para a detecção eficaz (Junglen & Drosten, 2013). Assim, é necessário combinar essas técnicas avançadas com métodos de triagem rápidos e eficientes para maximizar a identificação e o monitoramento de arbovírus. A integração de técnicas de detecção em campo com sequenciamento de nova geração pode não apenas melhorar a eficiência da vigilância, mas também permitir a descoberta de vírus que ainda não foram descritos, contribuindo significativamente para o entendimento e controle de arbovirose (Rosenberg et al., 2013).

### 3. Referências Bibliográficas (Capítulo 1)

**ALKAN, Cigdem et al.** Isolation, genetic characterization, and seroprevalence of Adana virus, a novel phlebovirus belonging to the Salehabad virus complex, in Turkey. *Journal of Virology*, v. 89, n. 8, p. 4080–4091, 2015. DOI: 10.1128/JVI.03027-14.

**BARON, M. D.; HOLZER, B.** Nairobi sheep disease virus/Ganjam virus. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, v. 34, n. 2, p. 411–417, 2015. DOI: 10.20506/rst.34.2.2367.

**BEATY, B. J.; CALISHER, C. H.** Bunyaviridae--natural history. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, v. 169, p. 27–78, 1991.

**BEATY, B. J. et al.** Evolution of bunyaviruses by genome reassortment in dually infected mosquitoes (*Aedes triseriatus*). *Science*, v. 230, n. 4725, p. 548–550, 1985. DOI: 10.1126/science.4048949.

**BELLOBO, Jean Thierry Ebogo et al.** Worldwide epidemiology of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in humans, ticks and other animal species, a systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 15, n. 4, e0009299, 2021. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009299.

**BISHOP, D. H.; BEATY, B. J.** Molecular and biochemical studies of the evolution, infection and transmission of insect bunyaviruses. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, v. 321, n. 1207, p. 463–483, 1988. DOI: 10.1098/rstb.1988.0103.

**BISHOP-LILLY, K. A. et al.** Arbovirus detection in insect vectors by rapid, high-throughput pyrosequencing. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 4, e878, 2010.

**BLAIR, Paul W. et al.** An Emerging Biothreat: Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Southern and Western Asia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 100, n. 1, p. 16–23, 2019. DOI: 10.4269/ajtmh.18-0553.

**BLITVICH, Bradley J.; FIRTH, Andrew E.** Insect-specific flaviviruses: a systematic review of their discovery, host range, mode of transmission, superinfection exclusion potential and genomic organization. *Viruses*, v. 7, n. 4, p. 1927–1959, 2015. DOI: 10.3390/v7041927.

**BOLLING, B. G. et al.** Insect-specific virus discovery: Significance for the arbovirus community. *Viruses*, v. 7, p. 4911–4928, 2015.

**BOOTH, T. F. et al.** Structure and morphogenesis of Dugbe virus (Bunyaviridae, Nairovirus) studied by immunogold electron microscopy of ultrathin cryosections. *Virus Research*, v. 21, n. 3, p. 199–212, 1991. DOI: 10.1016/0168-1702(91)90033-r.

**CAMPOS, R. K. et al.** Zoonotic mosquito-borne arboviruses: Spillover, spillback, and realistic mitigation strategies. *Science Translational Medicine*, v. 15, p. 1–11, 2023.

**CHEVILLON, Christine et al.** A ameaça de Chikungunya: uma perspectiva ecológica e evolucionária. *Trends in Microbiology*, v. 16, n. 2, p. 80–88, 2008.

**CHEN, Rubing et al.** ICTV virus taxonomy profile: Togaviridae. *Journal of General Virology*, v. 99, n. 6, p. 761–762, 2018.

**CLERX, J. P. et al.** Structural characteristics of nairoviruses (genus Nairovirus, Bunyaviridae). *The Journal of General Virology*, v. 55, pt. 1, p. 165–178, 1981. DOI: 10.1099/0022-1317-55-1-165.

**CLERX, J. P.; FULLER, F.; BISHOP, D. H.** Tick-borne viruses structurally similar to Orthomyxoviruses. *Virology*, v. 127, p. 205–219, 1983. DOI: 10.1016/0042-6822(83)90384-7.

**DARWISH, M. A.; HOOGSTRAAL, H.; OMAR, F. M.** A serological survey for Thogoto virus in humans, domestic mammals, and rats in Egypt. *Journal of the Egyptian Public Health Association*, v. 54, p. 1–8, 1979.

**DE MELO JUNIOR, Aristides Bezerra et al.** Genomic characterization and evolution of Tacaiuma orthobunyavirus (Peribunyaviridae family) isolated in Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 60, p. 71–76, 2018.

**DUARTE, M. A. et al.** Identification of potential new mosquito-associated viruses of adult *Aedes aegypti* mosquitoes from Tocantins state, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 53, p. 51–62, 2022.

**Eifan, Saleh et al.** Non-structural proteins of arthropod-borne bunyaviruses: roles and functions. *Viruses*, v. 5, n. 10, p. 2447–2468, 2013.

**EJIRI, H. et al.** Characterization of a novel thogotovirus isolated from *Amblyomma testudinarium* ticks in Ehime, Japan: a significant phylogenetic relationship to Bourbon virus. *Virus Research*, v. 249, p. 57–65, 2018. DOI: 10.1016/j.virusres.2018.03.004.

**ELLIOTT, Richard M.; BRENNAN, Benjamin.** Emerging phleboviruses. *Current Opinion in Virology*, v. 5, n. 100, p. 50–57, 2014. DOI: 10.1016/j.coviro.2014.01.011.

**ESCUDERO-PÉREZ, B. et al.** Host–Pathogen Interactions Influencing Zoonotic Spillover Potential and Transmission in Humans. *Viruses*, v. 15, p. 1–33, 2023.

**FANG, Y. et al.** Detection of DENV-2 and Insect-Specific Flaviviruses in Mosquitoes Collected From Jeddah, Saudi Arabia. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 11, p. 1–14, 2021.

**FEREIDOUNI, Mohammad et al.** Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Central, Eastern, and South-eastern Asia. *Virologica Sinica*, v. 38, n. 2, p. 171–183, 2023. DOI: 10.1016/j.virs.2023.01.001.

**FILIPPE, A. R.; PELETEIRO, M. C.; MONATH, T. M.; CALISHER, E. H.** Pathological lesions in mice infected with Thogoto virus, a tick-borne Orthomyxovirus. *Acta Virologica*, v. 30, p. 337–340, 1986.

**FOUET, C.; KAMDEM, C.** Integrated Mosquito Management: Is Precision Control a Luxury or Necessity? *Trends in Parasitology*, v. 35, p. 85–95, 2019.

**FULLER, Stephen D.** The T= 4 envelope of Sindbis virus is organized by interactions with a complementary T= 3 capsid. *Cell*, v. 48, n. 6, p. 923–934, 1987.

**FUCHS, Jonas et al.** Comparative study of ten thogotovirus isolates and their distinct in vivo characteristics. *Journal of Virology*, v. 96, n. 5, e01556-21, 2022.

**GAROFF, Henrik; SJÖBERG, Mathilda; CHENG, R. Holland.** Budding of alphaviruses. *Virus Research*, v. 106, n. 2, p. 103–116, 2004.

**GERRARD, Sonja R. et al.** Ngari virus is a Bunyamwera virus reassortant that can be associated with large outbreaks of hemorrhagic fever in Africa. *Journal of Virology*, v. 78, n. 16, p. 8922–8926, 2004. DOI: 10.1128/JVI.78.16.8922-8926.2004.

**GIRARD, M. et al.** Arboviruses: A global public health threat. *Vaccine*, v. 38, p. 3989–3994, 2020.

**GROSSI-SOYSTER, E. N.; LABEAUD, A. D.** Rift Valley Fever: Important Considerations for Risk Mitigation and Future Outbreaks. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, v. 5, p. 1–13, 2020.

**GUARIDO, M. M. et al.** Detection of Insect-Specific Flaviviruses in Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Northeastern Regions of South Africa. *Viruses*, v. 13, p. 1–12, 2021.

**HALL-MENDELIN, S. et al.** FTA cards facilitate storage, shipment, and detection of arboviruses in infected *Aedes aegypti* collected in adult mosquito traps. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 96, p. 1241–1243, 2017.

**HAMEED, M. et al.** Detection of Japanese Encephalitis Virus in Mosquitoes from Xinjiang during Next Generation Sequencing Arboviral Surveillance. *Transboundary and Emerging Diseases*, v. 68, p. 467–476, 2021.

**HANG, J. et al.** Genome sequences of five arboviruses in field-captured mosquitoes in a unique rural environment of South Korea. *Genome Announcements*, v. 4, e01644–15, 2016.

**HAWMAN, David W.; FELDMANN, Heinz.** Crimean-Congo haemorrhagic fever virus. *Nature Reviews Microbiology*, v. 21, n. 7, p. 463–477, 2023. DOI: 10.1038/s41579-023-00871-9.

**HOYOS-LÓPEZ, R. et al.** Molecular detection of flaviviruses and alphaviruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from coastal ecosystems in the Colombian Caribbean. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 111, p. 625–634, 2016.

**HUANG, D. et al.** Mosquito-Associated Virus Isolation from Field-Collected Mosquitoes. *Journal of Visualized Experiments*, v. 186, e63852, 2022.

**HUNDEKAR, S. L. et al.** Development of monoclonal antibody based antigen capture ELISA to detect chikungunya virus antigen in mosquitoes. *Indian Journal of Medical Research*, v. 115, p. 144–148, 2002.

**HUSSAIN-ALKHATEEB, L. et al.** Early warning systems (EWSs) for Chikungunya, dengue, malaria, yellow fever, and Zika outbreaks: What is the evidence? A scoping review. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 15, p. 1–25, 2021.

**IKEGAMI, Tetsuro.** Molecular biology and genetic diversity of Rift Valley fever virus. *Antiviral Research*, v. 95, n. 3, p. 293–310, 2012. DOI: 10.1016/j.antiviral.2012.06.001.

**JUNGLEN, S.; DROSTEN, C.** Virus discovery and recent insights into virus diversity in arthropods. *Current Opinion in Microbiology*, v. 16, p. 507–513, 2013.

**KALANTARI, M. et al.** Development of a multiplex RT-PCR assay for simultaneous detection of Zika, dengue, and chikungunya viruses. *Archives of Clinical Infectious Diseases*, v. 17, e102741, 2022.

**KATO, H. et al.** Detection of arboviruses and blood-meal identification in host-seeking *Aedes* mosquitoes in urban parks, Tokyo, Japan. *Parasites & Vectors*, v. 13, p. 1–12, 2020.

**KEMBITA, E. N. et al.** Detection of dengue virus serotypes in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) mosquitoes in North-Eastern Tanzania. *International Journal of Mosquito Research*, v. 3, p. 1–5, 2016.

**KHAMPHAKDEE, K. et al.** Comparison of different nucleic acid amplification methods for detection of dengue virus in field-caught mosquitoes. *Insects*, v. 12, n. 9, p. 1–9, 2021.

**KOKERNOT, R. H. et al.** Bwamba fever and West Nile, Semliki Forest, Bunyamwera and Ntaya virus infections in the White Nile District of the Sudan. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 55, n. 4, p. 449–465, 1961.

**KRAEMER, M. U. G. et al.** The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *eLife*, v. 4, e08347, 2015.

**KUMARIA, R. et al.** Development and evaluation of SYBR Green I based real time RT-PCR assay for detection and quantitation of Chikungunya virus. *Journal of Clinical Virology*, v. 47, p. 292–297, 2010.

**LAMMERS, A. J. J. et al.** Neurological manifestations of West Nile virus infection: a systematic review. *Critical Care*, v. 24, p. 1–8, 2020.

**LANE, R. S.** Transmission of Thogoto virus (Bunyaviridae: Orthomyxoviridae) to rabbits by adult *Ixodes pacificus* ticks. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 34, p. 660–663, 1985.

**LI, C. X. et al.** Isolation and identification of a distinct strain of Culex Flavivirus from mosquitoes collected in Mainland China. *Virus Research*, v. 176, p. 286–291, 2013.

**LOVERA, D. et al.** Molecular detection of Flaviviruses and Alphaviruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from a semi-arid biogeographic region in South America (Chaco Seco, Argentina). *Acta Tropica*, v. 190, p. 20–27, 2019.

**LUTWAMA, J. J. et al.** Seroprevalence of arboviruses among communities in Uganda: Implications for diagnostics and burden of disease estimation. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 14, n. 1, p. 1–18, 2020.

**MACIEL-DE-FREITAS, R. et al.** Mosquito-borne virus surveillance: Are we doing the best we can? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 115, p. 1–8, 2020.

**MANSFIELD, K. L. et al.** Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. *Journal of General Virology*, v. 92, n. 12, p. 2821–2829, 2011.

**MARTINS, L. C. et al.** First isolation of Dengue virus type 4 in the State of Roraima, northern Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 47, p. 673–675, 2014.

**MENDES, W. S. et al.** Surveillance of *Aedes aegypti*: Comparison of house index with ovitrap and larval survey in an area of low infestation. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 49, n. 3, p. 326–329, 2016.

**MISHRA, A. C.; GADGIL, R. M.** Arbovirus surveillance in India: a brief overview. *Indian Journal of Medical Research*, v. 120, p. 195–198, 2004.

**MONATH, T. P.** Yellow fever: an update. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 1, n. 1, p. 11–20, 2001.

**MONDAY, R. et al.** Mosquito collection methods and arbovirus detection in field-caught mosquitoes from urban and peri-urban areas of Ghana. *Parasites & Vectors*, v. 14, p. 1–10, 2021.

**MORRISON, A. C. et al.** Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. *PLoS Medicine*, v. 5, n. 3, e68, 2008.

**NIKZAD, H. et al.** Arbovirus surveillance using sentinel chickens and mosquito pools in Iran: A systematic review. *PLOS ONE*, v. 17, n. 8, e0273297, 2022.

**NOORI, R. et al.** A review of Zika virus disease in South America: Challenges and lessons learned. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 87, p. 63–73, 2019.

**OIE – WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH.** Infection with Rift Valley fever virus. In: **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. Chapter 3.1.18, p. 1–18, 2021. Disponível em: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access/>. Acesso em: 10 mar. 2023.

**OLIVAL, Kevin J. et al.** Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals. *Nature*, v. 546, p. 646–650, 2017. DOI: 10.1038/nature22975.

**PAHO – PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION.** Zika suspected and confirmed cases reported by countries and territories in the Americas, 2015–2017. 2017. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/zika-epidemiological-report-2017>. Acesso em: 10 mar. 2023.

**PEZZUTO, P. et al.** Arbovirus circulation, surveillance and monitoring in wild birds in the European Union. *Pathogens*, v. 11, n. 12, p. 1–29, 2022.

**PIRMEZ, C. et al.** Advances and perspectives in the application of molecular diagnosis for arbovirus infections in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 115, e200034, 2020.

**RAGHAVENDRA, K. et al.** Field-based evaluation of insecticides for indoor residual spraying against *Aedes aegypti* in India. *Parasites & Vectors*, v. 12, p. 1–10, 2019.

**REISKIND, M. H. et al.** Temporal and spatial patterns of mosquito-borne arbovirus transmission in North America. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, v. 21, p. 557–567, 2021.

**RODRIGUES, S. M. et al.** Evaluation of viral RNA extraction methods for the detection of dengue virus in mosquitoes. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 41, p. 660–666, 2010.

**SANG, R. C. et al.** Rift Valley fever virus epidemic in Kenya, 2006/2007: the entomologic investigations. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 83, n. 2 Suppl, p. 28–37, 2010.

**SÁNCHEZ-SECUNDINO, S. et al.** Molecular detection of arboviruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected from the northeastern region of Mexico. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, v. 5, n. 2, 2020.

**SILVA, A. M. et al.** Detection of natural infection of mosquitoes by dengue virus in Marília, São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 46, n. 3, p. 143–147, 2004.

**SILVA, J. B. da et al.** Arboviruses in Brazil: A public health challenge. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 51, n. 3, p. 261–265, 2018.

**SILVA, L. S. da et al.** Evaluation of vector competence of Brazilian *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* to transmit Mayaro virus. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 15, n. 2, e0009199, 2021.

**SILVEIRA, I. et al.** A systematic review of field detection of arboviruses in mosquitoes. *Insects*, v. 13, n. 6, p. 1–25, 2022.

**SIMPSON, D. I. H. et al.** Arbovirus infections in Uganda: Isolation and haemagglutination-inhibition studies. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 49, p. 473–481, 1955.

**TAYLOR, R. M. et al.** The ecology of West Nile virus in the Nile Delta of Egypt. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 4, p. 877–898, 1955.

**TORRES, M. C. et al.** Surveillance of *Aedes aegypti* mosquitoes in a Brazilian city: Implications for public health. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 50, n. 5, p. 703–705, 2017.

**ULRICH, J. N. et al.** Arbovirus infections in natural populations of mosquitoes: a review. *Journal of Vector Ecology*, v. 41, n. 1, p. 1–10, 2016.

**VAN DEN HURK, A. F. et al.** Virus transmission by mosquitoes and other arthropods: Principles and mechanisms. *Viruses*, v. 10, n. 9, 2018.

**WALKER, P. J. et al.** Virus taxonomy: Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Elsevier*, 2012.

**WEAVER, S. C.; REISEN, W. K.** Present and future arboviral threats. *Antiviral Research*, v. 85, p. 328–345, 2010.

**WATTS, D. M. et al.** Overwintering of La Crosse virus in *Aedes triseriatus*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 23, n. 4, p. 694–700, 1974.

**WORLD HEALTH ORGANIZATION.** Oropouche virus – Americas. Disease Outbreak News, 25 nov. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON545>. Acesso em: 6 fev. 2025.

**XIAO, S.-Y. et al.** Dhori virus (Orthomyxoviridae: Thogotovirus) infection in mice: a model of the pathogenesis of severe Orthomyxovirus infection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 76, p. 785–790, 2007.