

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
Dissertação será disponibilizado
somente a partir de 09/06/22.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DE ZIKA VÍRUS EM PRIMATAS
NÃO HUMANOS NEOTROPICAIS NOS ESTADOS DO PARANÁ,
SÃO PAULO E PARAÍBA, BRASIL

AMANDA HAISI

Botucatu – SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DE ZIKA VÍRUS EM PRIMATAS
NÃO HUMANOS NEOTROPICAIS NOS ESTADOS DO PARANÁ,
SÃO PAULO E PARAÍBA, BRASIL

AMANDA HAISI

Dissertação apresentada junto
ao Programa de pós-graduação
em Medicina Veterinária para
obtenção do título de Mestre

Orientador: João Pessoa Araújo Junior

Coorientadora: Leila Sabrina Ullmann

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Haisi, Amanda.

Investigação laboratorial de Zika vírus em primatas não humanos neotropicais nos estados do Paraná, São Paulo e Paraíba, Brasil / Amanda Haisi. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: João Pessoa Araújo Junior

Coorientador: Leila Sabrina Ullmann

Capes: 50502000

1. Primatas não humanos. 2. Arbovírus. 3. Zika vírus.
4. Sorologia. 5. Saúde pública.

Palavras-chave: Arbovírus; Ciclo silvestre; RT-qPCR; Saúde pública; Sorologia.

Nome do Autor: Amanda Haisi

Título: INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DE ZIKA VÍRUS EM PRIMATAS NÃO HUMANOS NEOTROPICAIS NOS ESTADOS DO PARANÁ, SÃO PAULO E PARAÍBA, BRASIL

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. João Pessoa Araújo Junior

Presidente e Orientador

Departamento de Microbiologia e Imunologia

Instituto de Biociências – UNESP – Botucatu/São Paulo

Prof. Dr. Walfrido Kühn Svoboda

Membro Titular

Centro Interdisciplinar de Ciências da Vida

Universidade Federal da Integração Latino-Americana – UNILA – Foz do Iguaçu/Paraná

Prof. Dra. Juliana Arena Galhardo

Membro Titular

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Data da defesa: 09/06/2021

AGRADECIMENTOS

“Todas as pessoas que passam em nossas vidas, deixam um pouco de si e levam um pouco de nós...”

Portanto, eu agradeço a todas essas pessoas que de alguma forma deixaram a minha vida um pouco mais alegre, um pouco mais mágica, e um pouco mais família... Espero ter contribuído com um pouquinho da minha essência na vida de vocês!

Neste momento gostaria de agradecer...

Aos meus pais, Rogério e Matilde, e ao meu irmão Vitor, por todo o amor e confiança. O apoio de vocês sempre foi e está sendo fundamental para meu crescimento profissional. Obrigado por sempre apoiarem minhas decisões e incentivarem meus sonhos. Amo vocês!

Aos meus avós, Edward Dwulatka, Elena Dwulatka Haisi, e Maria Rosa Haisi, por todo o amor e compreensão.

Aos meus professores da Universidade Federal do Paraná, pelos ensinamentos profissionais e acadêmicos, em especial ao meu orientador de iniciação científica e graduação Alexander Welker Biondo, por me incentivar a buscar novos horizontes ou “bons ares” em Botucatu-SP.

Aos meus amigos, Cintia Ferreira, Erick Zanello Milléo, Gabriela Regina Costa, Hendyel Pacheco, Lucas Galdioli, Mariana Melânia Cristofolini, Natalia Lara e Rafaela Kava, que mesmo à distância, estão torcendo pela minha felicidade. ‘Agradeço por estarem sempre presentes e me ajudando a superar desafios. Vocês são o presente que Deus colocou na minha vida.

A Hendyel Pacheco, Mariana Melânica Cristofolini, Melissa Garcia, Matheus Larry e Rauane Moura por se tornarem minha família de coração em Curitiba-PR. Nunca esqueçam que “LAR é onde o amor está”. Obrigada pelos anos que compartilhamos a nossa casinha, seja a 11B ou 12B.

Ao meu namorado, Samir Moura Kadri por todo o amor, carinho e incentivo. Obrigada por estar sempre ao meu lado. Te amo!

Aos meus amigos de laboratório, que me ajudaram e continuam me auxiliando em todos os momentos! Obrigada pelo tempo dedicado à nossa amizade, desde aos trabalhos de bancada, os churrascos e até conversas mais animadas no café (com bolo, sempre). Obrigada!

Ao Médico Veterinário Zalmir Silvino Cubas e toda a equipe do Refúgio Biológico Bela Vista – ITAIPU-PR, por me acolherem tão bem durante as coletas dos primatas, e principalmente a Stacy Wu pela colaboração no trabalho a campo;

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária e aos coordenadores do curso;

Ao financiamento concedido pela bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP) (2019/05288-9);

Ao meu orientador Prof. Dr. João Pessoa Araújo Junior, por acreditar no meu potencial, por me apoiar no desenvolvimento desta pesquisa e nas próximas que ainda virão! Sou grata por fazer parte do seu grupo de pesquisa, esses dois anos foram de muito aprendizado! Meus sinceros agradecimentos!

A minha coorientadora, companheira de bancada e de boas risadas, Leila Sabrina Ullmann, obrigada por me apoiar nas eventuais dificuldades e incertezas mostrando que é possível superar qualquer problema com dedicação e esforço. Obrigada por nossa amizade!

O sonho

Sonhe com aquilo que você quiser.

*Seja o que você quer ser,
porque você possui apenas uma vida e nela só se
tem uma chance
de fazer aquilo que quer.*

Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.

Dificuldades para fazê-la forte.

Tristeza para fazê-la humana.

E esperança suficiente para fazê-la feliz.

As pessoas mais felizes não têm as melhores coisas.

*Elas sabem fazer o melhor das oportunidades que aparecem em seus
caminhos.*

A felicidade aparece para aqueles que choram.

Para aqueles que se machucam.

Para aqueles que buscam e tentam sempre.

*E para aqueles que reconhecem a importância das pessoas que
passam por suas vidas.*

Clarice Lispector

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Distribuição por espécie, local de origem e sexo dos primatas neotropicais recolhidos no estado de São Paulo (2018).....	35
TABELA 2 - Distribuição das amostras de tecido dos primatas neotropicais provenientes de São Paulo (2018).	36
TABELA 3 - Distribuição por espécie, origem e sexo dos primatas neotropicais coletados no estado da Paraíba (2018 e 2019).....	36
TABELA 4 - Distribuição das amostras de tecido dos primatas neotropicais provenientes da Paraíba (2018 e 2019).	37
TABELA 5 - Distribuição por sexo dos primatas neotropicais de vida livre capturados na Área de Proteção Permanente - Itaipu Binacional, município de Foz do Iguaçu-PR (2020).	40
TABELA 6 - Distribuição por espécie e sexo dos primatas neotropicais coletados no Zoológico Rogério Ribas Lange, município de Foz do Iguaçu-PR (2020)...	41
TABELA 7 - Distribuição por espécie e sexo dos primatas neotropicais coletados no Zoológico Bosque do Guarani, Foz do Iguaçu-PR (2020).	41
TABELA 8 – Resultado das análises sorológicas para Zika vírus de 58 primatas não humanos do município de Foz do Iguaçu-PR.....	53

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Macaco-prego (<i>Sapajus nigritus</i>) de vida livre capturado próximo ao recinto dos primatas não humanos na Área de Proteção Permanente da Itaipu-Binacional, Foz do Iguaçu – PR (2020).....	38
FIGURA 2 - Recinto dos macaco-pregos (<i>Sapajus nigritus</i>) no Zoológico Rogério Ribas Lange, município de Foz do Iguaçu-PR (2020).....	38
FIGURA 3 - Recinto dos primatas não-humanos no Zoológico Bosque do Guarani, município de Foz do Iguaçu-PR (2020).	39
FIGURA 4 - Coleta de sangue da veia femoral de um macaco-prego (<i>Sapajus nigritus</i>) macho de vida-livre da Área de Proteção Permanente - Itaipu Binacional, município de Foz do Iguaçu-PR (2020).....	40
FIGURA 5 - Curva de dissociação dos amplicons na reação com SYBR® Green para detecção de Zika vírus utilizando um controle positivo de cultivo celular.	49
FIGURA 6 - Amplificação do controle positivo de Zika vírus proveniente de cultivo celular referente à curva de eficiência com SYBR® Green.	49
FIGURA 7 - Temperaturas de dissociação dos controles positivos para DENV e ZIKV.....	50
FIGURA 8 - Amplificação do controle positivo para Zika vírus proveniente de cultivo celular referente à curva de eficiência com TaqMan®.	51

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - Curva de Eficiência da reação com SYBR® Green para detecção do Zika vírus utilizando um controle positivo de cultivo celular.	48
GRÁFICO 2 - Curva de Eficiência do ensaio com TaqMan® para detecção de Zika vírus utilizando um controle positivo de cultivo celular.	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Ac	Anticorpo
Ag	Antígeno
CAL	Calibrador
Cap	Nucleotídeo alterado (GMP metilado) localizado na extremidade 5' do genoma.
CHIKV	Vírus Chikungunya
cm	centímetros
CMC	Carboximetilcelulose
CO ₂	Dióxido de Carbono
Ct	<i>Cycle threshold</i>
D.O	Densidade óptica
DENV	Vírus Dengue
dpi	dias pós infecção
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético, do inglês " <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> "
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção enzimática, do inglês " <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> "
GBS	Síndrome de Guillain –Barré
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
IFA	Imunofluorescência indireta
IgG	Imunoglobulina G
IgG1	Imunoglobulina G subclasse 1
IgG2	Imunoglobulina G subclasse 2
IgG3	Imunoglobulina G subclasse 3
IgG4	Imunoglobulina G subclasse 4
IgM	Imunoglobulina M
IUCN	<i>International Union for Conservation of Nature</i>
kb	quilobase

Kg	quilograma
M	Molar
MAC-ELISA	<i>Immunoglobulin M antibody-capture enzyme-linked immunosorbent assay</i> (Ensaio de Imunoabsorção enzimática de captura para imunoglobulina M)
MEM 1x	<i>Minimum Essential Medium</i> (Meio de cultivo - Earle)
μL	microlitro
mg	miligramas
mL	mililitro
nm	nanômetro
Mtase	Metiltransferase
NS1	Proteína não estrutural 1
NS2A	Proteína não estrutural 2A
NS2B	Proteína não estrutural 2B
NS3	Proteína não estrutural 3
NS4A	Proteína não estrutural 4A
NS5	Proteína não estrutural 5
ORF	<i>Open reading frame</i>
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i> (Tampão fosfato salino)
p.f.u	<i>plates forming units</i> (unidades formadoras de placa)
pM	picoMol
PNH	Primata não humano
Poli- A	Cauda poli A
prM	Proteína precursora pré-membrana
PRNT	<i>Plaque reduction neutralization test</i> (Teste de Neutralização por Redução de placas de lise)
R ²	Coeficiente de determinação
RNA	Ácido ribonucleico
rpm	rotações por minuto
RpRd	RNA polimerase RNA dependente
RT	Transcriptase reversa

RT- PCR	Reação de Transcrição reversa seguida da Reação em Cadeira da polimerase
RT-qPCR	Reação de Transcrição reversa seguida da Reação em Cadeira da polimerase em tempo real
SCZ	Síndrome Congênita do Zika
SNC	Sistema nervoso central
TE	Tris-EDTA
TMB	3,3',5,5'- tetramethylbenzidine
UTR	<i>Untranslated Region</i> (Região não-traduzida do genoma)
WNV	West Nile virus
YFV	Yellow fever virus
ZIKV	Zika vírus
β-ME	β-mercaptoethanol

Sumário

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 O Zika Vírus	18
2.2 O Zika vírus: sua descoberta, emergência e consequências à saúde publica ..	19
2.3 Transmissão do Zika vírus.....	22
2.3.1 Transmissão vetorial	22
2.3.2 Transmissão não associada a vetores.....	25
2.4 Diagnóstico laboratorial	26
2.4.1 Diagnóstico molecular	26
2.4.2 Diagnóstico sorológico	27
2.5 A importância dos primatas não humanos no estudo das arboviroses	30
2.6 Primatas não humanos neotropicais e o Zika vírus	32
3. OBJETIVOS	34
3.1 Objetivo geral	34
3.2 Objetivos específicos.....	34
4. MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 Local do Estudo	34
4.2 Amostras.....	35
4.2.1 Amostras provenientes do estado de São Paulo.....	35
4.2.2 Amostras provenientes do estado da Paraíba	36
4.2.3 Amostras provenientes do estado do Paraná	37
4.2.3.1 Animais de vida livre	39
4.2.3.2 Animais de cativeiro	41
4.3 DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA ZIKA VIRUS (ZIKV)	42
4.3.1 Extração de RNA	42
4.3.2 Reação de RT-PCR em tempo real	42
4.3.2.1 SYBR® Green RT-qPCR	42
4.3.2.2 TaqMan® RT-qPCR.....	43

4.3.3	Determinação da eficiência e especificidade das reações de RT-PCR em tempo real	43
4.4	DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO	44
4.4.1	ELISA indireto.....	44
4.4.2	Reação de Neutralização por redução de placas – PRNT	45
5.	ASPECTOS ÉTICOS	47
6.	RESULTADOS	48
6.1	Eficiência e especificidade das reações de SYBR® Green RT-qPCR e TaqMan® RT qPCR	48
6.2	Detecção molecular e análise sorológica para Zika vírus	52
7.	DISCUSSÃO	55
8.	CONCLUSÕES	58
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
10.	TRABALHO CIENTÍFICO	73
11.	ANEXOS.....	86

HAISI, A., Investigação laboratorial de Zika vírus em primatas não humanos neotropicais nos estados do Paraná, São Paulo e Paraíba, Brasil, 2021. 86p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O Zika vírus (ZIKV) pertence ao gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, similar a outros arbovírus de interesse para a saúde pública. Sua descoberta ocorreu em 1947 com o isolamento em macaco *Rhesus* (*Macaca mulatta*), sentinela no controle de Febre Amarela na floresta de Uganda, África. Devido ao conhecimento limitado sobre o papel dos primatas neotropicais nos ciclos de transmissão do ZIKV, o objetivo deste trabalho foi obter evidências da circulação enzoótica do vírus Zika em PNH em amostras obtidas em três estados brasileiros: São Paulo, Paraíba e Paraná, especialmente na interface entre ambiente urbano e áreas florestais. Amostras de tecidos (baço, coração, fígado, pulmão, rim e cérebro) (n=75) foram coletadas *post mortem* de 34 carcaças de PNH nos estados de São Paulo e Paraíba, e amostras de sangue total (n=66) e soro sanguíneo (n=58) foram obtidas de 66 PNH visivelmente saudáveis em Foz do Iguaçu-PR, totalizando 100 primatas neotropicais. Todas as amostras de tecido e sangue total (n= 141) foram testadas no RT- qPCR TaqMan® utilizando como alvo o gene do envelope (E). Amostras de soro sanguíneo foram submetidas à detecção de anticorpos IgG anti-ZIKV e anticorpos neutralizantes por ELISA comercial indireto e Teste de Redução de Placas de Lise (PRNT), respectivamente. Todas as amostras (141) testaram negativas no RT-qPCR TaqMan®, indicando a ausência de infecção ativa em 100 PNH coletados. Similarmente, todas as amostras de soro (n=58) foram consideradas negativas nas análises sorológicas para ZIKV, demonstrando ausência de exposição prévia dos PNH de cativeiro e vida livre de Foz do Iguaçu-PR. Em conclusão, não foram encontrados indícios de circulação viral nos PNH durante o período analisado. Estes resultados, mesmo que negativos, contribuem consideravelmente para a epidemiologia e vigilância de ZIKV em populações silvestres.

Palavras-chave: Arbovírus; ciclo silvestre; RT-qPCR; saúde pública; sorologia.

HAISI, A. Laboratorial investigation of Zika virus in non-human primates from Paraná, São Paulo and Paraíba states, Brazil. 2021, 86p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The Zika virus belongs to the genus *Flavivirus*, family *Flaviviridae*, similar to other arboviruses of public health interest. Its discovery occurred in 1947 with the isolation in captive Rhesus monkey (*Macaca mulatta*), sentinel in the control of yellow fever at the Uganda forest. Due to the limited knowledge about the role of neotropical primates in ZIKV transmission cycles, the aim of this work was to obtain evidence of enzootic circulation of ZIKV in NHPs from three Brazilian states: São Paulo, Paraíba and Paraná, especially at the interface between urban environment and forest areas. Tissue samples (spleen, heart, liver, lung, kidney and brain) (n=75) were collected post mortem from 34 NHP carcasses from São Paulo and Paraíba state, and blood (n=66) and serum samples (n=58) were obtained from 66 NHP visibility health from Foz do Iguaçu-PR, totaling 100 neotropical primates. All tissue and blood samples (n=141) were tested using a RT-qPCR TaqMan® targeting the envelope gene (E). Serum samples were subjected to detection of anti-ZIKV IgG antibodies and neutralizing antibodies by a commercial indirect ELISA and plaque reduction neutralization test (PRNT), respectively. All samples (n=141) tested negative in the RT-qPCR TaqMan® assay, suggesting the absence of active infection in 100 NHPs collected. Similarly, all serum (n=58) were negative in serological assays for ZIKV, demonstrating the absence of previous viral exposure of captive and free-ranging NHPs from Foz do Iguaçu-PR. In conclusion, no evidences of viral circulation were found in the NHPs during the analyzed period. These results, even if negative, considerably contribute to the epidemiology and surveillance of ZIKV in sylvatic populations.

Key words: Arboviruses; sylvatic cycle; RT-qPCR; public health; serology.

Acknowledgments

Funding for Amanda Haisi's research fellowship was provided by the São Paulo State Research Foundation - FAPESP (2019/05288-9) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001. The authors are kindly thankful to Bela Vista Sanctuary, Itaipu Binacional and Bosque do Guarani Zoological Garden personal for support in the captures and sample collection and the Itaguapi Foundation for storage and shipping the samples. We also thank the University of Sorocaba (UNISO), Paraiba's Wild Animal Sorting Center (CETAS-PB) and Zoo Bica for the necropsies and sample collection. MLN and JPAJ are CNPq Research Fellows.

Conflict of interest

The authors report no conflict interest and have agreed the manuscript to be submitted.

References

- Alencar, J., de Mello, C. F., Marcondes, C. B., Guimarães, A. É., Toma, H. K., Bastos, A. Q., ... Machado, S. L. (2019). Natural infection and vertical transmission of two flaviviruses (Yellow fever and Zika) in mosquitoes in primary forests in the Brazilian state of Rio de Janeiro (Diptera: Culicidae). *BioRxiv*, 1–25. <https://doi.org/10.1101/688713>
- Alex Pauvolid-Corrêa, G., Morgado, T. O., Sabino-santos, G., Helena, P., Rita, S., Teixeira, W., ... Komar, N. (2019). Zika Virus Surveillance at the Human – Animal Interface in West-central Brazil, 2017-2018. *Viruses*, 11(1164), 1–18. <https://doi.org/10.3390/v11121164>
- Althouse, B. M., Vasilakis, N., Sall, A. A., Diallo, M., Weaver, S. C., & Hanley, K. A. (2016). Potential for Zika Virus to Establish a Sylvatic Transmission Cycle in the Americas. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(12), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005055>
- BRASIL. (2019). Boletim Epidemiológico-39. Retrieved from <https://antigo.saude.gov.br/images/PDF/2019/dezembro/27/Boletim-epidemiologico-SVS-39-FINAL.PDF>
- De Abreu, F. V. S., Ferreira-De-Brito, A., De Souza Azevedo, A., Linhares, J. H. R., De Oliveira Santos, V., Miranda, E. H., ... Lourenço-De-Oliveira, R. (2020). Survey on non-human primates and mosquitoes does not provide evidences of

- spillover/spillback between the urban and sylvatic cycles of yellow fever and Zika viruses following severe outbreaks in southeast Brazil. *Viruses*, 12(4), 1–21. <https://doi.org/10.3390/v12040364>
- de Abreu, F. V. S., Ribeiro, I. P., Ferreira-de-Brito, A., Santos, A. A. C. dos, de Miranda, R. M., Bonelly, I. de S., ... Lourenço-de-Oliveira, R. (2019). *Haemagogus leucocelaenus* and *Haemagogus janthinomys* are the primary vectors in the major yellow fever outbreak in Brazil, 2016–2018. *Emerging Microbes and Infections*, 8(1), 218–231. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1568180>
- de Almeida, P. R., Ehlers, L. P., Demoliner, M., Eisen, A. K. A., Girardi, V., De Lorenzo, C., ... Spilki, F. R. (2019). Detection of a novel African-lineage-like Zika virus naturally infecting free-living neotropical primates in Southern Brazil. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/828871>
- Domingo, C., Patel, P., Yillah, J., Weidmann, M., Méndez, J. A., Nakouné, E. R., & Niedrig, M. (2012). Advanced yellow fever virus genome detection in point-of-care facilities and reference laboratories. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(12), 4054–4060. <https://doi.org/10.1128/JCM.01799-12>
- Favoretto, S., Araújo, D., Oliveira, D., Duarte, N., Mesquita, F., Zanotto, P., & Durigon, E. (2016). First detection of Zika virus in neotropical primates in Brazil: a possible new reservoir.
- Fernandes, R. S., Bersot, M. I., Castro, M. G., Telleria, E. L., Ferreira-de-Brito, A., Raphael, L. M., ... Lourenço-de-Oliveira, R. (2019). Low vector competence in sylvatic mosquitoes limits Zika virus to initiate an enzootic cycle in South America. *Scientific Reports*, 9(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56669-4>
- Hanley, K. A., Monath, T. P., Weaver, S. C., Rossi, S. L., Richman, R. L., & Vasilakis, N. (2013). Fever versus fever: The role of host and vector susceptibility and interspecific competition in shaping the current and future distributions of the sylvatic cycles of dengue virus and yellow fever virus. *Infection Genetics and Evolution*, 19, 292–311. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.03.008>
- Hinman, E. . (1951). Yellow fever. In George K. Strode (Ed.), *Science* (Vol. 114, pp. 77a – 78). <https://doi.org/10.1177/0020852310388739>
- IBGE. (2020). Foz do Iguaçu/PR. Retrieved October 12, 2020, from <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/foz-do-iguacu/panorama>
- Lanciotti, R. S., Kosoy, O. L., Laven, J. J., Velez, J. O., Lambert, A. J., Johnson, A. J., ... Duffy, M. R. (2008). Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerging Infectious Diseases*, 14(8), 1232–1239. <https://doi.org/10.3201/eid1408.080287>
- Mares-Guia, M. A. M. D. M., Horta, M. A., Romano, A., Rodrigues, C. D. S., Mendonça, M. C. L., Dos Santos, C. C., ... De Filippis, A. M. B. (2020). Yellow fever epizootics in non-human primates, Southeast and Northeast Brazil (2017 and 2018). *Parasites and Vectors*, 13(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3966-x>
- Moreira-Soto, A., Carneiro, I. de O., Fischer, C., Feldmann, M., Kümmerer, B. M., Silva, N. S., ... Drexler, J. F. (2018). Limited Evidence for Infection of Urban and Peri-urban Nonhuman Primates with Zika and Chikungunya Viruses in Brazil. *MSphere*, 3(1), 1–10. <https://doi.org/10.1128/msphere.00523-17>

- Roehrig, J. T., Hombach, J., & Barrett, A. D. T. (2008). Guidelines for plaque-reduction neutralization testing of human antibodies to dengue viruses. *Viral Immunology*, 21(2), 123–132. <https://doi.org/10.1089/vim.2008.0007>
- Secretaria da Saúde do Paraná. (2020). Informe técnico 43 - Situação da Dengue, Chikungunya e Zika virus no Paraná. Retrieved May 20, 2021, from <http://www.dengue.pr.gov.br/Pagina/Boletins-da-Dengue>
- Soper, F. L. (1936). Jungle Yellow Fever. A New Epidemiological Entity in South America. *Revista Higiene e Saude Publica*, 10(4), 107–144.
- Taylor, L. H., Latham, S. M., & Woolhouse, M. E. J. (2001). Risk factors for human disease emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 356(1411), 983–989. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.0888>
- Terzian, A. C. B., Zini, N., Sacchetto, L., Rocha, R. F., Parra, M. C. P., Del Sarto, J. L., ... Nogueira, M. L. (2018). Evidence of natural Zika virus infection in neotropical non-human primates in Brazil. *Scientific Reports*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34423-6>
- Valença-Montenegro, M. ., Bezerra, B. M., Ruiz-Miranda, C. R., Pereira, D. G., Miranda, J. M. D., Bicca-Marques, J.C., Oliveira, L., da Cruz, M. A. O. M., ... Mittermeier, R. . (2021). *Callithrix jacchus* (Common Marmoset) (amended version of 2018 assessment).
- Vasilakis, N., & Weaver, S. C. (2018). Flavivirus transmission focusing on Zika. *Curr Opin Virol*, 22(409), 30–35. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2016.11.007>
- Weaver, S. C. (2013). Urbanization and geographic expansion of zoonotic arboviral diseases: mechanisms and potential strategies for prevention. *Trends Microbiol*, 21(8), 360–363. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.03.003>
- Wolfe, N. D., Dunavan, C. P., & Diamond, J. (2007). Origins of major human infectious diseases. *Nature*, 447(7142), 279–283. <https://doi.org/10.1038/nature05775>