

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RELATÓRIO FINAL DO PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA
PROFISSIONAL DA SAÚDE. Artigo: Dengue em Quirópteros e Primatas
não-humanos: uma Revisão Sistemática**

Leticia Colovatti Mariano

Médica Veterinária

JABOTICABAL-SP, 2024

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RELATÓRIO FINAL DO PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA
PROFISSIONAL DA SAÚDE. Artigo: Dengue em Quirópteros e Primatas
não-humanos: uma Revisão Sistemática**

Leticia Colovatti Mariano

Orientadora: Profa. Dra. Karin Werther

**Trabalho de Conclusão de Residência
apresentado à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus
de Jaboticabal, como parte das
exigências do Programa de Residência
em Área Profissional da Saúde –
Medicina Veterinária e Saúde - Subárea:
Patologia de Animais Selvagens**

JABOTICABAL-SP, 2024

Mariano, Leticia Colovatti
M333r Relatório final do programa de residência em área profissional da
saúde : dengue em quirópteros e primatas não-humanos : uma revisão
sistemática / Leticia Colovatti Mariano. -- Jaboticabal, 2024
47 p. : il. ; 29 cm

Trabalho de Conclusão (Residência em Área Profissional da Saúde
– MEC/SUS), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias, 2024
Orientadora: Karin Werther
Banca examinadora: Karina Paes Bürger, Estevam Guilherme Lux
Hoppe
Bibliografia

1. Animais selvagens. 2. Patologia. 3. Saúde única. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:576.858



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: RELATÓRIO FINAL DO PROGRAMA DE RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE. Artigo: Dengue em Quirópteros e Primatas não-humanos: uma Revisão Sistemática

AUTOR: LETICIA COLOVATTI MARIANO
ORIENTADOR: Profa. Dra. KARIN WERTHER

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de RESIDÊNCIA EM ÁREA PROFISSIONAL DA SAÚDE – MEDICINA VETERINÁRIA E SAÚDE, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. KARIN WERTHER
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única

Profa. Dra. KARINA PAES BÜRGER
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única

PROF. DR. ESTEVAM GUILHERME LUX HOPPE
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única

Data da realização: 28 de fevereiro de 2024.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Leticia Colovatti Mariano, natural de Jaboticabal-SP, nascida em 13 de fevereiro de 1997, iniciou sua vida acadêmica em 2016, quando ingressou na graduação em Medicina Veterinária na Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal-SP. Durante o curso, realizou Iniciação Científica, com o tema “Detecção e Caracterização Molecular de *Mycoplasma* spp. em moscas Streblidae Parasitas de Quirópteros”, sob orientação do Prof. Dr. Marcos Rogério André, e sob financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Em 2022, ingressou no Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária e Saúde, na subárea Patologia de Animais Selvagens, sob orientação da Profa. Dra. Karin Werther. Atualmente, desenvolve atividades no Serviço de Patologia de Animais Selvagens (SEPAS), com previsão de conclusão da Residência em março de 2024.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária e saúde (PRAPS-MVS) pela oportunidade cedida e ao Ministério da Educação (MEC) juntamente com o Sistema Único de Saúde (SUS) pela concessão da bolsa de residência.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp) por ter me recebido novamente para a conclusão de mais uma etapa importante para minha carreira.

Aos meus professores, especialmente à Profa. Dra. Karin Werther, pela orientação durante a graduação e residência. À Profa. Dra. Rosemeri de Oliveira Vasconcelos, pela ajuda concedida durante a residência.

Ao Prof. Dr. Lincoln Suesdek da Rocha pela oportunidade de estagiar no Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan. Também agradeço pela gentileza dos demais integrantes da equipe Mosquitolab.

Ao Prof. Dr. Estevam Guilherme Lux Hoppe e à Profa. Dra. Karina Bürger pela participação na banca avaliadora do presente trabalho.

A Deus pela oportunidade, força e paciência para concluir mais esta etapa.

Aos meus pais, Ronaldo Luiz Mariano e Elisangela Colovatti Brasil Mariano, pelo apoio em todas as fases da minha vida.

Ao Lucas Watanabe Garcia, pelo apoio e companhia.

Aos meus colegas médicos veterinários residentes e pós-graduandos do departamento, pela oportunidade de trabalho conjunto e pela amizade.

CAPÍTULO I

RESUMO

O Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária e saúde (PRAPS-MVS) é um treinamento supervisionado em serviço, sendo caracterizado por uma Pós-Graduação *latu sensu*. A autora deste trabalho realizou a residência no Município de Jaboticabal – SP, onde realizou suas atividades junto à saúde pública e também junto à subárea selecionada (patologia de animais selvagens), no Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única, na Unesp – Campus de Jaboticabal. Além das atividades realizadas no departamento, que envolviam processamento histológico de materiais, estudos de enfermidades de animais selvagens, discussões sobre diagnósticos *post-mortem* e confecção de relatórios necroscópicos, também teve a oportunidade de apresentar 10 trabalhos em congressos e acompanhar uma disciplina da graduação e uma de pós-graduação, envolvendo patologia de animais selvagens. Em adição, a autora atuou na difusão de informações sobre guarda responsável de animais de estimação em escolas de ensino fundamental I e II do município, no primeiro e segundo ano de residência. A experiência adquirida não só contribuiu para o conhecimento teórico-prático da médica veterinária residente, mas também ampliou sua visão sobre Saúde Única e a importância do médico veterinário nas ações de promoção de saúde, focadas no equilíbrio entre animais, seres humanos e meio ambiente.

Palavras-chave: animais selvagens; patologia; residência; Saúde Única.

CHAPTER I

ABSTRACT

The Professional Residency Program in Health Area - Veterinary Medicine and Health (PRAPS-MVS) is a supervised on-the-job training program, characterized as a postgraduate specialization. The author of this work completed the residency in the Municipality of Jaboticabal - SP, where activities were carried out in public health and also in the selected subarea (wildlife pathology) at the Department of Pathology, Reproduction, and One Health, at Unesp - Jaboticabal Campus. In addition to departmental activities, which involved histological processing of materials, studies on diseases of wild animals, discussions on *post-mortem* diagnoses, and preparation of necropsy reports, the author also had the opportunity to present 10 papers at conferences and to attend an undergraduate and a postgraduate course focusing on wildlife pathology. Additionally, the author participated in the dissemination of information on responsible pet ownership in elementary schools in the municipality, during the first and second year of the residency. The experience gained not only contributed to the theoretical and practical knowledge of the veterinarian resident, but also broadened her perspective on One Health and the importance of the veterinarian in health promotion actions, focused on the balance between animals, humans, and the environment.

Keywords: wildlife; pathology; residency; One Health.

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 Detecção sorológica e/ou molecular de dengue em primatas-não-humanos e sua correlação com casos de dengue em humanos.....	41
Tabela 2 Detecção sorológica e/ou molecular de dengue em quirópteros e sua correlação com casos de dengue em humanos.....	43

LISTA DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1 Proporção de animais de vida livre e de cativeiro necropsiados no SEPAS, no período de março de 2022 a janeiro de 2024.....	18
Gráfico 2 Proporção de mamíferos, aves e répteis necropsiados no SEPAS, no período de março de 2022 a janeiro de 2024.....	18

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Diagrama de fluxo de acordo com as diretrizes do “PRISMA”	34

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 - RELATÓRIO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE A RESIDÊNCIA.....	14
1 Introdução.....	14
2 Descrição das atividades.....	14
2.1 Estratégias Educacionais Teóricas (E.E.T.).....	14
2.2 Estratégias Educacionais Teórico-Práticas (E.E.T.P.).....	15
2.2.1 Descrição das atividades desenvolvidas junto à Saúde Pública.....	15
2.2.1.2 Educação permanente em saúde.....	15
2.1.2.2 17º Conferência Nacional da Saúde.....	16
2.2.2 Descrição das atividades desenvolvidas junto à Subárea Específica.....	16
2.2.2.1 Exame necroscópico de animais selvagens.....	16
2.2.2.2 Processamento histológico de amostras coletadas.....	18
2.2.2.3 Leitura de lâminas histológicas.....	19
2.2.2.4 Auxílio nas atividades dos estagiários e médicos veterinários residentes.....	20
2.2.2.5 Plantão aos finais de semana.....	20
2.2.2.6 Estudos semanais.....	20
2.2.3 Participação e submissão de trabalhos em Congressos Científicos.....	21
2.2.4 Palestras e cursos.....	22
2.3 Atividades complementares.....	23
2.3.1 Participação como membro na Associação de Médicos Veterinários Residentes e Aprimorandos da Unesp, FCAV.....	24
3 Considerações sobre as Atividades Desenvolvidas.....	25

Continua...

Continuação:

SUMÁRIO

CAPÍTULO 2 - Artigo Científico	26
Abstract.....	28
Author summary.....	29
Introduction.....	30
Methods.....	32
Results.....	33
Discussion.....	39
References.....	45

CAPÍTULO 1 - RELATÓRIO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE A RESIDÊNCIA

1 Introdução

O Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária e saúde (PRAPS-MVS) é um treinamento supervisionado em serviço. Regido pela legislação da Comissão Nacional de Residência Multiprofissional em Saúde (CNRMS) e financiado pelo Ministério da Educação (MEC) juntamente com o Sistema Único de Saúde (SUS). Tem duração de dois anos, com carga horária semanal de 60 horas. Tal carga horária é distribuída em 20% de atividades teóricas e 80% sob a forma de estratégias educacionais práticas e teórico-práticas, das quais 25% (12 horas) são destinadas a atividades junto a Vigilância Sanitária, Vigilância Epidemiológica, Controle de Vetores/Zoonoses e Atenção Básica à Saúde e 75% (36 horas) às atividades nas respectivas subáreas, localizadas no Hospital Veterinário (Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária) e no Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única, dependendo da subárea que o médico veterinário residente atua. A autora deste trabalho realizou a residência no município de Jaboticabal – SP, onde cumpriu as atividades junto à saúde pública e também junto à subárea selecionada (patologia de animais selvagens), no Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única (DPRSU).

2 Descrição das atividades

2.1 Estratégias Educacionais Teóricas (E.E.T.)

As atividades das aulas teóricas presenciais e/ou online foram divididas por blocos de aulas, distribuídos ao longo dos dois anos em eixos temáticos semestrais. As aulas eram ministradas por profissionais atuantes no assunto da aula, alguns deles docentes da UNESP, Campus de Jaboticabal – SP. Os blocos de aulas assistidas pela autora foram:

- Bloco 1 – Epidemiologia e Políticas Públicas de Saúde;
- Bloco 2 – Zoonoses no contexto de Saúde Única;

- Bloco 3 – Epidemiologia e clínica das enfermidades infecciosas e parasitárias e saúde no ambiente hospitalar;

- Bloco 4 – Reprodução Animal.

Além das aulas citadas, a autora participou ativamente da disciplina “Metodologia Científica”, que tinha o intuito de preparar os médicos veterinários residentes para o correto desenvolvimento de trabalhos científicos, incluindo o trabalho de conclusão de residência. Foram ministradas aulas sobre busca de artigos científicos em bases de dados *on-line*; sobre a confecção de um pôster adequado para apresentações em congressos e simpósios, e também sobre as etapas para o desenvolvimento de um trabalho com rigor científico, com exemplos mostrados constantemente. Em adição, foram realizadas bancas de arguição constituídas pelos próprios médicos veterinários residentes, em forma de rodízio, com o intuito de praticar o senso crítico diante de trabalhos científicos, além de contribuir para a prática da postura para apresentação em eventos profissionais. A disciplina de “Metodologia Científica” foi ministrada separadamente para o primeiro e segundo ano de residência. No primeiro ano, as aulas iniciaram com as instruções para elaboração de resumos para congressos científicos e o pré-projeto do trabalho de conclusão de residência (TCR). No segundo ano, em que os médicos veterinários residentes já tinham o tema e pré-projeto do TCR, foram realizadas atividades/exercícios acerca da escrita do trabalho, como descrito anteriormente.

2.2 Estratégias Educacionais Teórico-Práticas (E.E.T.P.)

2.2.1 Descrição das atividades desenvolvidas junto à Saúde

Pública

2.2.1.1 Educação permanente em saúde

Foram realizadas dinâmicas na escola “Paulo Freire”, no primeiro ano de residência, e na escola “Walter Barioni”, no segundo ano de residência, no município de Jaboticabal – SP, sobre do tema “guarda responsável de animais de estimação”. A atividade se encaixou na educação em saúde nas escolas, de acordo com o cronograma do Programa de Residência PRAPS – MVS, com o objetivo de orientar a população acerca de cuidados com seus animais de estimação. A média de alunos por sala era de 20 a 30, em ambos os anos em

que foi feita a atividade. A faixa etária variou de alunos do primeiro ano até alunos do terceiro ano do ensino fundamental I.

Sabe-se que as informações passadas às novas gerações de pessoas são solidificadas na sociedade com mais assertividade, visto que podem praticar a guarda responsável desde a menor idade. Desta forma, esperou-se resultados promissores com as atividades desenvolvidas nas escolas, sendo estas: apresentação de seminários, com diversas imagens, ilustrando o que é adequado ou não para os animais; assim como gincanas, com jogos sobre do tema abordado. Tal atividade foi realizada em grupos, em que os integrantes, médicos veterinários residentes, eram de subáreas distintas, a fim de diversificar os pontos de vistas a serem abordados nas dinâmicas feitas com os alunos.

2.2.1.2 17º Conferência Nacional da Saúde

No dia 4 de março de 2023, das 8 horas às 14 horas, na Faculdade São Luís, em Jaboticabal/SP, aconteceu a 17º Conferência Nacional da Saúde, com o tema “Garantir os Direitos e Defender o SUS e a Democracia: Amanhã vai ser outro dia”. Neste evento foram realizados grupos para debate de sugestões para melhorar os serviços entre os profissionais de saúde, os usuários do SUS e os poderes públicos. As ideias discutidas foram apresentadas oralmente e por escrito a todos os presentes, e houve uma votação para decidir quais propostas iriam para a próxima etapa: a estadual. A médica veterinária residente teve participação ativa no evento, como parte das atividades desenvolvidas acerca da Saúde Única durante a residência dentro do PRAPS-MVS.

2.2.2 Descrição das atividades desenvolvidas junto à Subárea Específica: Patologia de Animais Selvagens

As atividades foram realizadas nas dependências do Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única, da Unesp de Jaboticabal-SP, nos laboratórios e salas do Serviço de Patologia de Animais Selvagens (SEPAS), sob orientação da Profa. Dra. Karin Werther.

2.2.2.1 Exame necroscópico de animais selvagens

Foi realizado o exame necroscópico e biópsias de animais de vida livre e cativo. A maioria dos exames era necroscópico com coleta de amostras. Entre

março de 2022 e janeiro de 2024, foram realizados exames anatomopatológicos de 111 animais, entre os quais 60 foram provenientes de cativeiro, e 51 de vida livre, como mostra o gráfico 1. Tais animais eram mamíferos, aves ou répteis, como mostra a seguir o gráfico 2. A médica veterinária residente mantinha os estudos de forma contínua para a adequada realização da necropsia de animais entre as diferentes espécies de mamíferos, aves e répteis. Antes de cada exame, era feito o preparo do material de coleta de amostras e também toda a documentação para registro do animal.

A realização de necropsias de animais selvagens foi uma das principais atividades na subárea específica. Os animais eram provenientes de zoológicos da região, clínicas/hospitais particulares, do Núcleo de Pesquisa e Conservação de Cervídeos (NUPECCE) de Jaboticabal – SP, de proprietários particulares e também de vida livre, levados ao SEPAS pela polícia ou por pós-graduandos com trabalhos envolvendo necropsia de animais selvagens.

Durante a residência, foi realizada necropsia convencional, cosmética e também pericial (requisitado pela Polícia Civil). Todos os exames necroscópicos foram fotodocumentados pelos médicos veterinários residentes, e a maioria dos cadáveres era radiografada antes do exame, a fim de detectar fraturas, alterações na posição e tamanho dos órgãos, presença de ovos (em caso de aves), e também de possíveis projéteis que atingiram o animal ainda em vida.

Como atividade da médica veterinária residente, estava inclusa a colheita de fragmentos de órgãos para vigilância das zoonoses raiva e febre amarela. A colheita de órgãos do sistema nervoso de mamíferos encaminhados ao SEPAS era realizada para o Instituto Pasteur, em São Paulo – SP, para a pesquisa do vírus da raiva. Todos os primatas-não-humanos encaminhados ao SEPAS passavam por colheita de fragmentos de órgãos como fígado, baço e rim para a pesquisa de febre amarela, feita pelo Instituto Adolfo Lutz, em São Paulo – SP. O preparo do material para o transporte correto até os laboratórios responsáveis pelos testes também era de responsabilidade da médica veterinária residente. A colheita e envio de amostras para a vigilância de febre amarela era feita em conjunto com os médicos veterinários residentes da subárea vigilância em saúde e atenção básica.

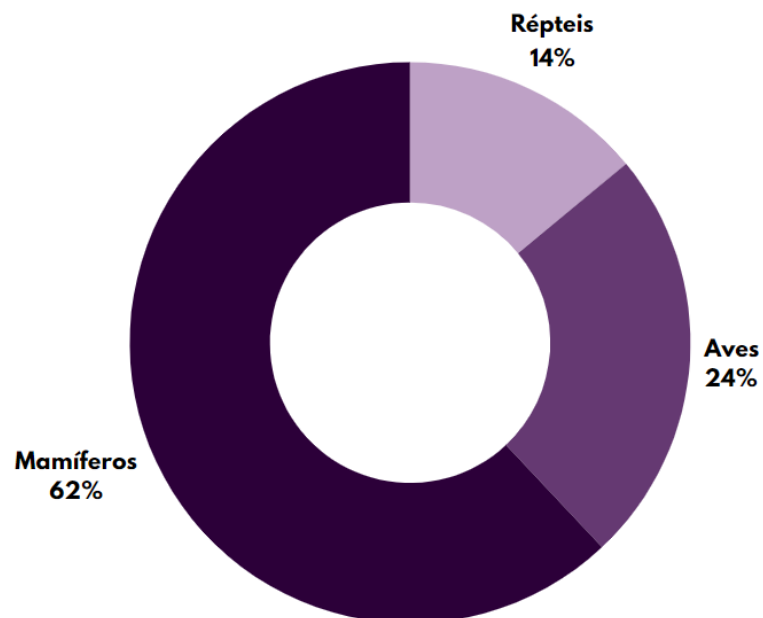
Ao todo, foram realizadas 105 necrópsias e 6 biópsias, no período de março de 2022 a janeiro de 2024.

Gráfico 1 Proporção de animais de vida livre e de cativeiro necropsiados no SEPAS, no período de março de 2022 a janeiro de 2024:



Fonte: desenvolvido pela autora.

Gráfico 2 Proporção de mamíferos, aves e répteis necropsiados no SEPAS, no período de março de 2022 a janeiro de 2024:



Fonte: desenvolvido pela autora.

2.2.2.2 Processamento histológico de amostras coletadas

Após a coleta dos órgãos durante a necropsia, ou em um caso de requisição de biópsia, era realizada a clivagem do material. Esta etapa consistia na diminuição do tecido para que coubesse em um cassete histológico, mantendo a característica/alteração a ser observada no microscópio no corte de tecido.

Após, era realizado o preparo do material para inclusão em parafina. A primeira etapa consistia em fazer a desidratação do material, depois deste ter sido fixado no formol tamponado com fosfatos a 10% por, no mínimo, 48 horas, até a fixação do tecido. O processamento do material consistia na desidratação, diafanização e impregnação em parafina dos fragmentos, alocados em cassetes histológicos, na seguinte ordem:

- Desidratação em concentrações crescentes de álcool etílico (70, 90 e 100%), para remoção da água dos tecidos;
- Diafanização em xilol, para remoção de gorduras da amostra, a fim de permitir a inclusão do tecido na parafina;
- Infiltração, para a inclusão de parafina no tecido, a amostra é banhada em parafina histológica líquida, mantida na temperatura de 60 a 62°C;
- Inclusão em bloco de parafina para a confecção dos blocos

Para a confecção dos blocos, eram utilizados moldes de inclusão, onde a parafina era despejada e fundida com o tecido, que era alocado de forma que pudessem ser vistas as alterações/áreas de interesse no tecido estudado.

Na sequência, os blocos de parafina eram submetidos a microtomia a 3µm, em um micrótomo da marca "Slee". Os cortes então eram colocados em banho maria para que ficassem distendidos, e assim eram alinhados em uma lâmina de vidro e colocados na estufa a 60° graus por no mínimo duas horas. Com o auxílio do corador automático disponível no laboratório, do modelo "Bellatrix", da marca "EasyPath", os cortes histológicos eram corados com Hematoxilina-Eosina, para o posterior exame histológico em microscópio de luz.

A coloração mais utilizada na rotina foi a Hematoxilina-Eosina, mas eventualmente eram realizadas, manualmente, colorações especiais, tais como Ziehl-Neelsen, Ácido Periódico de Schiff (PAS) e Azul da Prússia. Por fim, eram

coladas as lamínulas nas lâminas já coradas, a fim de aumentar o tempo de conservação deste material, que eram mantidas nos arquivos do SEPAS.

2.2.2.3 Leitura de lâminas histológicas

A leitura de lâminas era realizada pela autora e posteriormente acontecia a correção pela orientadora. Eram realizados estudos contínuos a fim de concluir os casos e posteriormente, escrever o relatório necroscópico.

2.2.2.4 Auxílio nas atividades dos estagiários e residentes do primeiro ano

A médica veterinária residente realizou o acompanhamento das atividades dos estagiários desde o primeiro ano de residência, e, no segundo ano, fez o acompanhamento dos médicos veterinários residentes do primeiro ano. Era feito o esclarecimento de dúvidas, acompanhamento das técnicas aprendidas no treinamento e também eram feitas orientações na elaboração de relatórios de estágio e de residência.

2.2.2.5 Plantão aos finais de semana

Como deveres dos médicos veterinários residentes, estava a realização do plantão no laboratório da subárea aos finais de semana. Era feita a verificação do funcionamento correto dos *freezers* que continham amostras de animais; a realização de cronograma semanal do SEPAS; o recebimento de animais para exame necroscópico; o estudo de lâminas histopatológicas e a elaboração da conclusão de relatórios necroscópicos, além de outras atividades, como o registro dos casos atendidos no SEPAS durante a semana em tabelas separadas por identificação em número, espécie, sexo, idade e achados macro e microscópicos dos animais.

2.2.2.6 Estudos semanais

Durante a Residência, foram realizados estudos semanais de acordo com os achados histopatológicos durante a elaboração de relatórios necroscópicos, tais como: fisiopatogenia de enfermidades, parasitas mais encontrados e anatomopatologia das espécies de animais necropsiados.

2.2.3 Participação e submissão de trabalhos em Congressos Científicos

Mariano, L. C.; Dias, J.; Lefort, F.; Amorim, C. S.; Simões, S. J. S.; Terser, Y.; Siconelli, M. J. L.; Werther, K. Diocetofimose em furão-pequeno (*Galictis cuja*) de vida livre no estado de São Paulo. In XXX Encontro e XXIV Congresso ABRAVAS, São José dos Campos, São Paulo, Brasil. 2022.

Lefort, F.; Amorim, C. S.; **Mariano, L. C.**; Silva, M. C. C.; Simões, S. R. J. S.; Pereira, A. G.; Werther, K. Achados de necropsia e análise histopatológica de papagaio verdadeiro (*Amazona aestiva*) e papagaio-do-mangue (*Amazona amazonica*) após óbito por acidente apílico. In XXX Encontro e XXIV Congresso ABRAVAS, São José dos Campos, São Paulo, Brasil. 2022.

Amorim, C. S.; Bonavina J. T.; **Mariano, L. C.**; Lefort, F.; Simões, S. R. J. S.; Silva, M. C. C.; Pereira, A. G.; Werther, K. Patologia de animais selvagens – sua importância na saúde única. In XII Bionativa, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. 2022.

Mariano, L. C.; Hoppe, E. G. L.; Ferreira, A. F. M.; Andrade, L. O.; Oliveira, W. J.; Lefort, F.; Silva, M. C. C.; Werther, K. *Physaloptera* spp. (Nematoda:Spirurida) em teiú (*Salvator merianae*) de vida livre no estado de São Paulo, Brasil. In IX Jornada Acadêmica: Medicina, Manejo e Conservação de Grandes Felídeos (GEAS Brasil), São Paulo, Brasil, 2022.

Mariano, L. C.; Pereira, A. G.; Cerantola, C. P.; Zochio, M.; Silva, G. P.; Coelho, M. C.; Simões, S. R. J. S.; Werther, K. Diagnósticos diferenciais de amiloidose renal em aves selvagens de cativeiro: relato de caso. In 7º Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária e XXI Encontro Nacional de Patologia Veterinária, João Pessoa, Paraíba, Brasil. 2023.

Mariano, L. C.; Zochio, M.; Cerantola, C. P.; Silva, G. P.; Coelho, M. C.; Simões, S. R. J. S.; Pereira, A. G.; Werther, K. Afecções renais concomitantes em periquito-do-encontro-amarelo (*Brotogeris chiriri*) cativo: relato de caso. In 7º Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária e XXI Encontro Nacional de Patologia Veterinária, João Pessoa, Paraíba, Brasil. 2023.

Mariano, L. C.; Cerantola, C. P.; Silva, G. P.; Zochio, M.; Pereira, A. G.; Zanetti, E. S.; Duarte, J. M. B.; Werther, K. Pneumonia piogranulomatosa em cervo-do-Pantanal (*Blastocerus dichotomus*): relato de caso. In 7º Congresso Brasileiro de

Patologia Veterinária e XXI Encontro Nacional de Patologia Veterinária, João Pessoa, Paraíba, Brasil. 2023.

Cerantola, C. P.; Amorim, C. S.; **Mariano, L. C.**; Zochio, M.; Silva, G. P.; Pereira, A. G.; Vasconcelos, R. O.; Werther, K. Fibrossarcoma em papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) de cativeiro: relato de caso. *In* 7º Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária e XXI Encontro Nacional de Patologia Veterinária, João Pessoa, Paraíba, Brasil. 2023.

Cerantola, C. P.; Pereira, A. G.; **Mariano, L. C.**; Zochio, M.; Alvarenga, A. W. O.; Sanches, R. C.; Rufato, F. H. F. Linfoma granular de células grandes em felino - relato de caso. *In* 7º Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária e XXI Encontro Nacional de Patologia Veterinária, João Pessoa, Paraíba, Brasil. 2023.

Zochio, M.; Pereira, A. G.; **Mariano, L. C.**; Cerantola, C. P.; Silva, G. P.; Rocha, M. F.; Werther, K. Técnicas de diagnóstico de micose ingluvial em papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*): relato de caso. *In* 7º Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária e XXI Encontro Nacional de Patologia Veterinária, João Pessoa, Paraíba, Brasil. 2023.

Silva, G. P.; **Mariano, L. C.**; Campos, N. C.; Andrade, L. O.; Bassini-Silva, R.; Hoppe, E. G. L.; Barros-Battesti, D. M.; Werther, K. Detecção de *Otodectes cynotis* (Sarcoptiformes: Psoroptidae) em lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) na região de Bauru, São Paulo. X Congresso da Sociedade Paulista de Parasitologia, Jaboticabal, São Paulo. 2023.

2.2.4 Palestras e cursos

- **Curso “medicina veterinária forense”, organizado pelo Grupo de Estudos em Patologia Veterinária (GPAV), da FCAV/UNESP:**

Nos dias 22 e 23 de setembro de 2023, a médica veterinária residente participou como ouvinte das palestras do curso. Em adição, participou como palestrante, juntamente com a Profª Drª Karin Werther da palestra “Patologia de Animais Selvagens e Fauna Silvestre”, perfazendo um total de 2 horas.

- **III Ciclo de palestras do Grupo de estudos em animais silvestres e exóticos (GEASE) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Campus Regional de Umuarama/PR:**

No dia 06 de fevereiro de 2024, a médica veterinária residente participou como palestrante, com o tema “patologia de animais selvagens e sua aplicação na saúde única”, por transmissão on-line realizada pelo GEASE-UEM.

- **7º Congresso Brasileiro de Patologia Veterinária e XXI Encontro Nacional de Patologia Veterinária:**

A médica veterinária residente participou do evento presencialmente, que aconteceu nos dias 17 a 20 de julho, das 08h00 às 12h30 e das 14h00 às 19h00, no espaço de eventos Intermare Hall, em João Pessoa – Paraíba. A participação ocorreu como apresentadora dos trabalhos anteriormente citados e também como ouvinte das palestras/mini cursos:

- Palestra “Pitiose e infecções por fungos e algas”, ministrada pelo Prof. Dr. Franklin Riet-Correa;
- Palestra “Patologia de equinos”, ministrada pela Dra. Raquel Rech no Simpósio Brasileiro da Davis-Thompson Foundation;
- Palestra “*Rabbit hemorrhagic disease*” ministrada pelo Dr. Javier Asin;
- Palestra “Formas de comunicação entre a micologia, a patologia e a clínica no diagnóstico laboratorial das infecções fúngicas” ministrada pela Dra. Sâmia Brilhante;
- Fórum de lâminas e apresentações orais de trabalhos;
- Palestra “Neuropatologia” ministrada pela Dra. Raquel Rech no Simpósio Brasileiro Davis-Thompson Foundation;
- Palestra “Patologia macroscópica de bovinos” ministrada pelo Dr. Fernando Furlan e “Patologia macroscópica de animais selvagens” pelo Dr. Daniel Ubiali no V Encontro Internacional de Saúde Animal e Prevenção (V ENISAP);
- Palestra “Lesões encontradas em bovinos abatidos para consumo humano” ministrada pelo Dr. Cláudio Barros.
- Mini-curso “Patologia de aves silvestres e exóticas”, com a Profa. Dra. Renata Casagrande, e “Patologia de aves de produção”, com o Prof. Dr. Tahseen Abdul-Aziz.

2.3 Atividades complementares

2.3.1 Participação na Associação de Médicos Veterinários Residentes e Aprimorandos da Unesp, FCAV

Semanalmente, a autora participou de forma ativa nas reuniões da Associação de Médicos Veterinários Residentes e Aprimorandos (AMVRA). Sua participação incluiu a discussão de ações para melhoria do relacionamento entre os médicos veterinários residentes e aprimorandos da Unesp, buscando manter um ambiente ético e produtivo, e, além disso, tratava de assuntos como organização de cursos, como:

- I Curso de Nivelamento (oferecido aos residentes do Câmpus), que ocorreu no dia 14 de abril de 2023, na sala de aula do Hospital Veterinário da Unesp/FCAV, para médicos veterinários residentes e aprimorandos ingressantes. O curso contou com a participação de 20 pessoas.
- II Simpósio de Residência na Unesp/FCAV, que ocorreu no dia 07 e 08 de outubro de 2023, *on-line*, para os alunos da graduação e recém-formados, com o intuito de informar sobre o Programa de Residência Uniprofissional na Unesp/FCAV. O simpósio contou com a participação de 45 pessoas.

3 Considerações sobre as Atividades Desenvolvidas

O Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Medicina Veterinária e saúde (PRAPS-MVS) contribuiu de forma significativa no crescimento profissional e pessoal da médica veterinária residente. Durante sua atuação no Programa, teve a oportunidade de ampliar sua visão sobre a participação do médico veterinário como agente de saúde na sociedade, por meio de um trabalho responsável, ético e considerando os três pilares da saúde única: seres humanos, animais e meio ambiente. A experiência teve notável importância, principalmente após a graduação, para que os conhecimentos na área específica fossem solidificados, e também para que fossem construídos subsídios para as próximas fases da carreira acadêmica/profissional da autora.

CAPÍTULO 2 - Artigo Científico elaborado nas normas do periódico a ser submetido

Nome do Periódico: *PLoS Neglected Tropical Diseases*

Fator de Impacto (2022-2023): 4.781

Qualis CAPES (2023): A1

Título do trabalho em português: Dengue em Quirópteros e Primatas não-humanos: uma Revisão Sistemática

Dengue in Bats and Non-Human Primates: A Systematic Review

Leticia Colovatti Mariano^{1*}, Estevam Guilherme Lux Hoppe², Karina Paes Bürger²,
Lincoln Suesdek da Rocha³, Karin Werther²

¹ Veterinary resident in the Professional Health Area of the Wildlife Pathology Service (SEPAS), Department of Pathology, Reproduction, and One Health, School of Agricultural and Veterinarian Sciences of the São Paulo State University (Unesp) in Jaboticabal, SP, Brazil.

² Professor at the Department of Pathology, Reproduction, and One Health, Faculty of Agricultural and Veterinary Sciences (FCAV), São Paulo State University "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Jaboticabal, SP, Brazil.

³ Research professor at the Parasitology Laboratory, Butantan Institute, São Paulo, SP, Brazil.

Correspondence email:

*Email: colovatti.mariano@unesp.br

Abstract

Dengue is a highly prevalent viral infection in subtropical and tropical countries and represents the fastest-spreading viral disease in the last decade in these regions. It is caused by a single-stranded RNA virus of the Flaviviridae family and Flavivirus genus. In most cases, the infection is self-limiting, but it can progress to more severe conditions, leading to the death of the hosts. Prevention is generally achieved through vector control in urban areas: the *Aedes aegypti* mosquito (Diptera: Culicidae). It is believed that the virus originated in a sylvatic cycle in Asian forests, maintained by mosquitoes of the *Aedes* spp. genus and susceptible non-human primates. The detection of the dengue virus in bats implies that these mammals, like non-human primates, may participate in the disease cycle, bridging the urban and sylvatic cycles of the disease. Furthermore, the importance of these mammals as sentinels in urban areas is still unknown. The objective of this review was to conduct a retrospective study on the involvement of bats and non-human primates as reservoirs of the dengue virus in subtropical and tropical countries. For this purpose, a literature review was conducted using the Web of Science database, following the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analyses) method. Based on the findings, it is suggested that the urban cycle of the disease cannot be controlled without studying the sylvatic cycle, as non-human primates and bats may serve as reservoirs of the virus in wild and mainly periurban areas. However, further studies are needed to elucidate the involvement of bats and non-human primates in the epidemiology of dengue.

Author summary

Leticia Colovatti Mariano, native of Jaboticabal-SP, born on February 13, 1997, began her academic journey in 2016 when she enrolled in Veterinary Medicine undergraduate program at the School of Agricultural and Veterinarian Sciences of the São Paulo State University (Unesp) in Jaboticabal, SP, Brazil., graduating in 2021. In 2022, she joined the Professional Health Area Residency Program - Veterinary Medicine and Health, specializing in Wildlife Pathology under the guidance of Professor Dr. Karin Werther, completing the program in March 2024.

Introduction

Dengue is an emerging arboviral disease of significant importance in the contemporary scenario. The etiological agent is a virus belonging to the Flaviviridae family and the Flavivirus genus, mostly transmitted by the bite of female arthropods of the *Aedes* spp. genus, most commonly *Aedes aegypti* in urban areas. It has four urban serotypes: DENV-1, DENV-2, DENV-3, and DENV-4. Once infected by a genotype, the individual produces specific antibodies according to the serotype; however, reinfection by genotypes included in a different serotype is possible, leading to the more severe form of the disease, with the occurrence of shock¹.

Clinical manifestations of dengue are classified as classic dengue and severe dengue, according to the World Health Organization (WHO), with the latter previously known as the "hemorrhagic" form of the disease. This classification allows for faster patient screening and clinical treatment decisions (WHO)². A case of classic dengue is considered when at least two of the following clinical signs are observed: fever, retro-orbital pain, skin petechiae, joint pain, myalgia, headache, nausea, and vomiting. In the more severe form, there is also leukopenia and spontaneous hemorrhage, in addition to the signs found in classic dengue³.

In Brazil, the presence of DENV-1 was also identified in mosquitoes of the *Haemagogus* genus, through RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction), proving the virus's nonspecificity for mosquitoes of the *Aedes* genus. It is important to note that the presence of *A. aegypti* in forested areas is infrequent, but mosquitoes of the *Aedes albopictus* species, which likely participate in dengue transmission between humans and wild animals, can be identified in these areas⁴.

Furthermore, DENV was identified in mosquito larvae of the *A. albopictus* species in Brazil, suggesting transovarian transmission that may also be occurring with other

species of the vector arthropod⁴. Additionally, the virus was recently identified in hematophagous flies of the Streblidae family parasitizing bats, suggesting the participation of these arthropods in the dengue cycle in nature, thus maintaining the virus circulating among bats⁵.

In the Americas, dengue transmission involves a sylvatic cycle, maintained by non-human primates and arthropod vectors, and an urban cycle, maintained by humans and the same arthropod vectors, particularly *Aedes aegypti*, a mosquito adapted to urban areas. In rural areas of Asia and Africa, known as emergence areas, there is contact between humans and the sylvatic cycle. Thus, the urban cycle of the disease in risk areas cannot be controlled without considering the sylvatic cycle nearby, especially in peri-urban areas⁶.

The maintenance of the virus in wild areas complicates disease control in urban areas, as the agent maintains a refuge in these areas. Therefore, vector control actions in urban areas alone may prove insufficient for disease prevention among humans. Moreover, the absence of a vaccine that provides prophylaxis for the four existing serotypes accentuates concerns about the exchange between urban and sylvatic areas⁷.

The demographic expansion of the disease justifies studies on both urban and sylvatic cycles. As various vectors are capable of virus transmission, surveillance of wild mammals is necessary for the development of prophylactic actions, thus preventing epidemics in urban areas.

Methods

Selection criteria for scientific papers

This study was conducted following the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analyses) guidelines⁸. There were two phases to the search strategy. The first phase involved using all relevant index terms identified and keywords to conduct an extensive search in the Web Of Science database. The second phase involved the selection of articles and reading.

First phase: keyword search

Keywords were used to conduct an extensive search in the Web of Science database.

Second phase: selection and reading of articles

The search for articles was based on the references of previously selected articles. The following keywords were used in the first phase of the search: 'dengue'; 'sylvatic'; 'DENV'; 'Chiroptera'; and 'Non-human primates'. The search was conducted between November and December 2023. Reference filtering and duplicate removal were performed using the EndNote platform. The selection criteria involved articles published on the detection of dengue in bats and/or non-human primates, through direct testing for DENV-1, 2, 3, and 4 serotypes, which included observational studies and seroprevalence studies. The exclusion criteria were based on clinical trials, non-randomized controlled trials, randomized trials, experimental studies, studies involving vaccine production, studies in humans, studies involving other arboviruses, and publications in languages other than English. All studies were independently evaluated by the author.

Results

A total of 526 studies were identified through the Web of Science database using the aforementioned keywords and Boolean operators. Out of the 526 studies, 243 were removed as duplicates using the automatic tool "EndNote." No studies were deemed ineligible or removed for other reasons at this stage. All titles and abstracts of the remaining 283 studies were analyzed for their content, leading to the exclusion of 112 studies due to lack of relevance to the present study. After reviewing the remaining 113 studies using the established criteria, a final list of 18 articles was selected for the present retrospective study/literature review. In total, 16 studies examined non-human primate species, and 2 studies examined bat species. None of the selected studies used the same samples for dengue study in animals, allowing for the use of all 18 selected studies for this review. Below, the "PRISMA" flow diagram is presented.

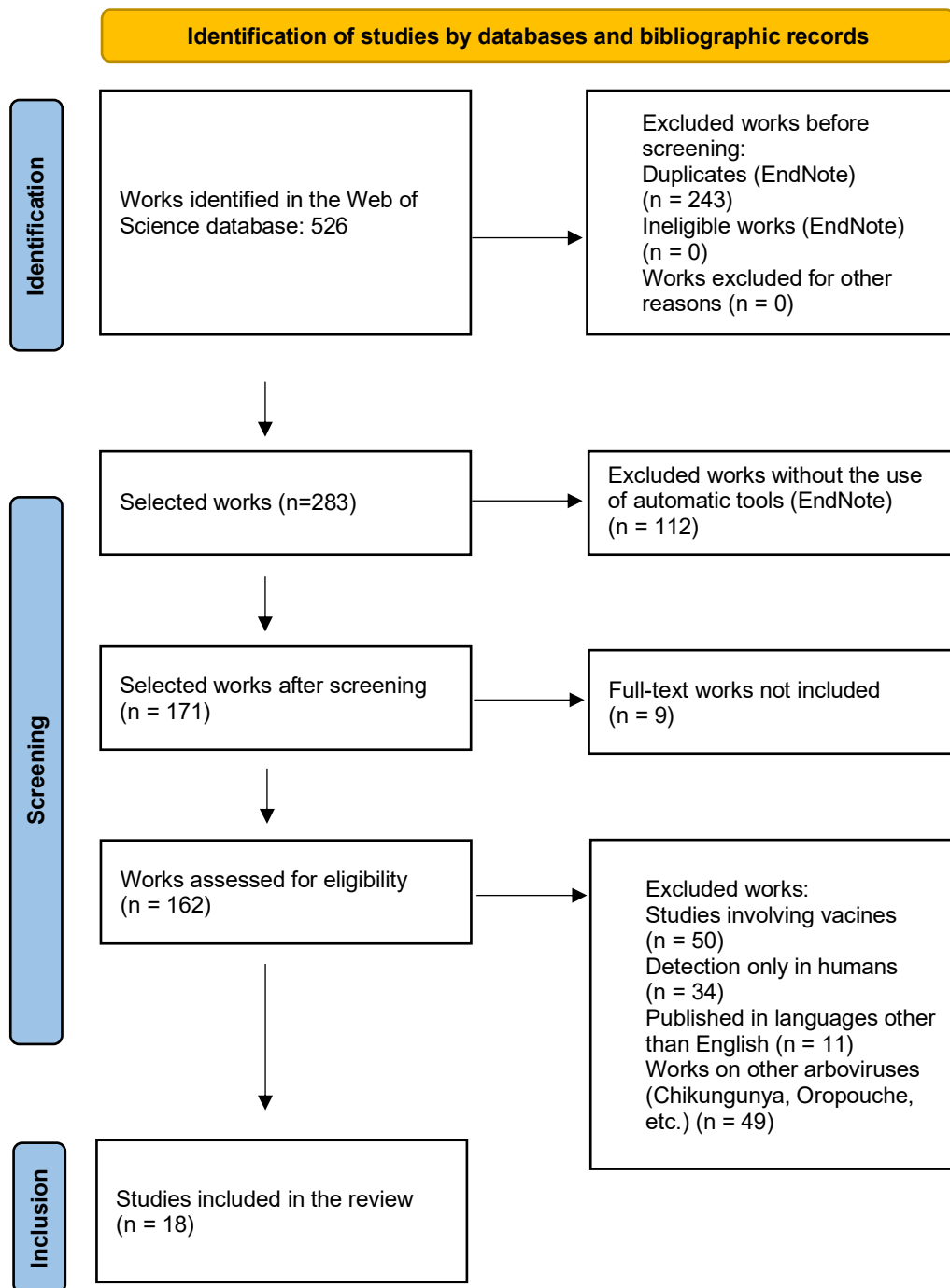


Figure 1 Flow diagram according to PRISMA guidelines⁸. Adapted by the author.

In total, 14 studies involving the detection of dengue in non-human primates and bats were selected (Figure 2), and 4 studies involved non-systematic literature reviews and study models discussing the relevance of sylvatic dengue in the maintenance of urban dengue and the consequent epidemic in urban centers.

Dengue in non-human primates

Morales et al.⁹ conducted a study in Argentina testing for molecular and serological detection of dengue in free-living black howler monkeys (*Alouatta caraya*) from four environmental reserves between July and August 2010. They analyzed 108 primate serum samples for the presence of dengue serotypes 1 and 3. The results showed positivity only in serological tests (Plaque Reduction Neutralization Test/PRNT) for DENV-1 and DENV-3.

In Costa Rica, a study was conducted between 1993 and 2012 involving molecular detection (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) of dengue in 209 primates of species such as howler monkeys (*Alouatta* spp.), spider monkeys (*Ateles* spp.), and white-faced capuchin monkeys (*Cebus capucinus*) from free-living populations. Blood, plasma, or serum samples were obtained for the study. They found positivity in howler monkeys (DENV-2) and white-faced capuchin monkeys (DENV-2, DENV-3, and DENV-4). The researchers highlighted that the first evidence of flavivirus in these species was found in 1993, the same year a significant increase in dengue cases in humans was detected in Costa Rica. Over the years of study, dengue detection in free-living primates increased significantly¹⁰.

Another study in Costa Rica involved the serological detection of dengue (micro-Plaque Reduction Neutralization Test/micro-PRNT) in 86 samples from non-human primates of species including howler monkeys (*Alouatta palliata*), Panamanian white-

faced capuchin monkeys (*Cebus imitator*), spider monkeys (*Ateles geoffroyi*), and squirrel monkeys (*Saimiri oerstedii*) between 2000 and 2015. Nine samples tested positive for DENV-1 and DENV-2¹¹.

Inoue et al.¹² conducted a study with dengue detection using serological tests (Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay/ELISA for IgG and IgM detection) on serum samples from *Macaca fascicularis* (cynomolgus monkeys) in the Philippines in 1999. Indirect ELISA tests for IgG showed higher positivity compared to tests for IgM. Due to the positivity, the study discusses the possible involvement of monkeys in a sylvatic dengue cycle in the region.

Also in the Philippines, 100 cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) from a breeding facility were tested for DENV in a study conducted by Kato et al. in 2010¹³. Serological tests were performed using Indirect ELISA for IgG and IgM detection in plasma samples. The researchers obtained positive results in 21 primates for IgM ELISA and 19 positives for IgG ELISA, with 5 of these being positive for both IgM and IgG. Phylogenetic analyses showed that the detected DENV genes belonged to DENV-2, a serotype present in epidemics in urban areas. Thus, they suggest that primates may participate as dengue reservoirs in wild and especially peri-urban areas.

In Central Africa, a serological study (Indirect ELISA for IgG detection) was conducted in primates to detect dengue and other arboviruses such as Chikungunya, West Nile fever, and Zika between 1999 and 2016. Blood samples were obtained from free-living or pet monkeys. In addition to these samples, feces from arboreal monkeys including common chimpanzees (*Pan troglodytes troglodytes*), western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*), eastern lowland gorillas (*Gorilla beringei graueri*), and bonobos (*Pan paniscus*) were collected between 2005 and 2017. The researchers detected higher DENV positivity in arboreal primates. They discuss that while the involvement of non-

human primates as reservoirs of the detected viruses cannot be confirmed, they confirm the involvement of non-human primates as intermediate hosts of the studied diseases, including dengue¹⁴.

In Thailand, between 2018 and 2019, a study was conducted on the presence of flaviviruses and alphaviruses in free-living monkeys with close contact with humans, using serum samples tested with the plaque reduction neutralization test (PRNT)¹⁵. DENV-1 to DENV-4 were investigated in 25 northern pig-tailed macaques (*Macaca leonina*), 33 stump-tailed macaques (*Macaca arctoides*), and 4 cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). Positivity was found, mainly in northern pig-tailed macaques (17 out of 33 samples studied). The detection of arboviruses by specific neutralizing antibodies, including DENV, in the studied areas suggests the maintenance of DENV in peri-urban areas, where there is direct contact between humans and primates, mainly due to tourism and foraging activities by the animals.

Dengue in bats

In a study conducted by Thoisy et al. in French Guiana between 2001 and 2007, samples of blood or liver from 616 wild mammals were collected¹⁶. Among these, 152 were bats, which showed positivity by RT-PCR in 19 samples. Due to these results, the authors suggest that the studied wild mammals, including bats, may participate in maintaining the virus in wild areas, contributing to potential epidemics in urban areas. However, they cite the need for experimental studies with these animals to clarify their role as reservoirs of the virus in South America.

In Colombia, a study was carried out with tissue samples (brain, heart, lung, kidney, and spleen) from 286 bats captured in 2019¹⁷. Nested-RT-PCR detected amplicons with similarity to DENV-2, a serotype present in urban epidemics. Thus, the

study suggests the involvement of bats as reservoirs of dengue in wild areas, which, in the context of this continent, are increasingly close to urban areas.

In Mexico, Aguilar-Sétien et al.¹⁸ collected blood samples from bats in 12 different periurban areas between 2005 and 2006. Bats belonged to 19 different species, and among these, 9 individuals of 4 species tested positive by the ELISA method. DENV-2 serotype, as in the previously mentioned study, was detected in these animals by RT-PCR, in 3 species. One of the studied species, *Myotis nigricans*, an insectivorous bat, showed positivity in both serological and molecular tests. According to the findings, the authors consider the likely involvement of bats in maintaining DENV in nature, but emphasize that future studies need to be conducted, including to elucidate the role of bats as potential virus amplifiers in urban and periurban areas.

In Yucatan, Mexico, a study was conducted using serum samples from 140 free-living bats belonging to 7 different species¹⁹. Serological tests were performed using the PRNT method. Significant titers were obtained for DENV-2 and DENV-4. Molecular tests by RT-PCR were also performed, but all were negative for the presence of DENV. The researchers also mention the need for experimental studies infecting bats with dengue to elucidate their role as virus reservoirs in rural areas.

In Central America, in Costa Rica, Barrantes Murillo et al.²⁰ developed a serological study, using the PRNT method, molecular study by RT-PCR, and histological studies, in 2 periurban areas with blood samples from 144 bats belonging to 26 species. The animals were collected from 2017 to 2018. Seropositivity for all 4 DENV serotypes was detected in bats. However, histological findings consisted of nonspecific inflammatory patterns for the study, and no positivity was identified by molecular methods.

In the same country, another study was conducted with 318 bats of 12 different species, with samples from the heart, lungs, spleen, liver, kidneys, intestines, and brain²¹. Histopathological findings also did not show significant changes for DENV infection. Serum samples were collected from 241 bats and tested using the PRNT method, showing positivity in 51 samples. Blood samples, collected from all captured bats, showed positivity in 28 individuals by RT-PCR. The intestinal samples from these 28 bats were tested by the same molecular method, and 2 showed positivity for the same serotype identified in the blood. The authors suggest the participation of bats as terminal epidemiological hosts of DENV, with no significant importance in virus amplification in these environments.

Finally, in a study conducted in Costa Rica and Ecuador in 1998, neutralizing antibodies for DENV-1, DENV-2, and DENV-3 were identified by the PRNT method. Samples from 53 bats in Costa Rica and 10 samples in Ecuador were collected, showing seropositivity in 12 and 3 samples, respectively²². The authors suggest that bats may be infected by the virus through mosquitoes, maintaining a transmission cycle in the studied areas.

Discussion

Robles-Fernández et al. demonstrated that factors such as phylogenetic and bioclimatic distance between species contribute to the susceptibility of wild animals to dengue infection²³. It is known that the impact of human activities on formerly natural areas alters the dynamics of ecological interactions, potentially facilitating the exchange of pathogens¹³. Therefore, studying dengue in wild animals is necessary.

The four dengue serotypes that affect humans, known and studied to date, emerged independently from wild progenitor serotypes present in non-human primates. This

occurred due to the maintenance of the virus through the hematophagous action of the *Aedes aegypti* mosquito, responsible for transmitting DENV-1 to DENV-4 in urban areas¹⁷. Studies demonstrate that the sylvatic cycle of dengue is still maintained by wild animals, and the molecular and ecological evolution of these serotypes can lead to transmission to humans¹⁶.

A retrospective study conducted by Gwee et al.²⁴ demonstrated that in addition to non-human primates, bats also have a high susceptibility to the dengue virus and are more vulnerable compared to other animal species in which the dengue virus has been detected through serological or molecular tests (pigs, rodents, dogs, cattle, horses, birds, and marsupials).

In the present study, evidence was found for the maintenance of the dengue virus in rural and periurban areas, with detection by serological and/or molecular tests, as shown in Tables 2 and 3. This finding contributes to the discussion of the role of non-human primates and bats as reservoirs of dengue in periurban, and especially urban, areas, given that human proximity to such species is exponentially increasing¹¹. The role of these animals as sentinels, as seen with arboviruses such as yellow fever⁷, is still unknown, but future studies should be conducted due to the possibility of dengue monitoring in non-urban areas.

Table 1: Serological and/or molecular detection of dengue in non-human primates and its correlation with human dengue cases.

Species	Country	Period	Urban/Rural Environment	Sample	Detected Serotypes	Serological Test/RT-PCR Test	Reported Human Cases in the Study Areas	Reference
Non-human primates <i>(Alouatta caraya)</i>	Argentina	2010	4 areas of fragmented forests	Serum	DENV-1,3	PRNT <i>(Plaque-reduction neutralization tests)</i>	Mentioned, in 3 of the studied áreas	[9]
Non-human primates <i>(Alouatta spp., Cebus spp. and Ateles spp.)</i>	Costa Rica	1993-2012	31 periurban areas (fragmented forests)	Blood, plasma, or serum	DENV-2,3,4	RT-PCR	Mentioned	[10]
Non-human primates <i>(Macaca fascicularis)</i>	Philippines	1999	1 rural area	Serum	DENV (não especificado)	ELISA (IgG and IgM)	Not mentioned	[13]

Continues...

Table 1: Serological and/or molecular detection of dengue in non-human primates and its correlation with human dengue cases (continued).

Species	Country	Period	Urban/Rural Environment	Sample	Detected Serotypes	Serological Test/RT-PCR Test	Reported Human Cases in the Study Areas	Reference
Non-human primates (<i>Pan troglodytes troglodytes</i> ; <i>Gorilla gorilla gorila</i> ; <i>Gorilla beringei graueri</i> and <i>Pan paniscus</i>)	Democratic Republic of the Congo	1999-20016, 2005-2017	18 rural areas	Blood or feces	DENV-1,2,3 and 4	ELISA (IgG)	Not mentioned	[14]
Non-human primates (<i>Macaca fascicularis</i>)	Philippines	2013	1 rural area	Plasma	DENV-2	ELISA (IgG and IgM)	Mentioned	[12]
Non-human primates (<i>Macaca leonina</i> ; <i>Macaca arctoides</i> and <i>Macaca fascicularis</i>)	Thailand	2018-2019	3 national parks (periurban areas)	Serum	DENV-1,2,3 e 4	PRNT (Plaque-reduction neutralization tests)	Mentioned	[15]
Non-human primates (<i>Alouatta palliata</i> ; <i>Cebus imitator</i> ; <i>Ateles geoffroyi</i> and <i>Saimiri oerstedii</i>)	Costa Rica	2000-2008; 2014-2015	6 rural áreas	Blood	DENV-1,2	PRNT (Plaque-reduction neutralization tests)	Mentioned	[11]

Source: Compiled by the author. References of consulted works present in the table, indicated by numbers in brackets.

Table 2: Serological and/or molecular detection of dengue in bats and its correlation with human dengue cases.

Species	Country	Period	Urban/Rural Environment	Sample	Detected Serotypes	Serological Test/RT-PCR Test	Reported Human Cases in the Study Areas	References
Frugivorous bats	French Guiana	2001-2007	Done in two areas, both periurban.	Tissues: Blood or Liver	DENV-1,2,3,4	RT-PCR	Mentioned, one of the studied areas was endemic for DENV	[16]
Frugivorous and insectivorous bats	Colombia	2019	12 periurban areas	Tissues: brain, heart, lung, kidney, and spleen	DENV-2	RT-PCR	Mentioned	[17]
Insectivorous bats	Costa Rica	2017-2018	2 periurban areas	Blood	DENV-1,2,3 and 4	PRNT (Plaque-reduction neutralization tests)	Mentioned	[20]
Frugivorous and insectivorous bats	Mexico	2005-2006	12 periurban areas	Blood	DENV (not specified)	RT-PCR	Mentioned	[18]

Continues...

Table 2: Serological and/or molecular detection of dengue in bats and its correlation with human dengue cases (continued):

Species	Country	Period	Urban/Rural Environment	Sample	Detected Serotypes	Serological Test/RT-PCR Test	Reported Human Cases in the Study Areas	References
Frugivorous bats	Costa Rica and Ecuador	1998	Urban and periurban regions (number not specified)	Serum	DENV-1,2,3	PRNT (Plaque-reduction neutralization tests)	Mentioned	[22]
Insectivorous bats	Costa Rica	2013-2014	3 periurban areas	Serum, blood, and intestines	DENV-1,2,3,4	PRNT (Plaque-reduction neutralization tests)	Mentioned	[21]
Frugivorous bats	Mexico	2010	1 rural area	Serum	DENV-1,2,3,4	PRNT (Plaque-reduction neutralization tests)	Mentioned	[19]

Source: Compiled by the author. References of consulted works present in the table, indicated by numbers in brackets.

References

- 1- Simmons, C. P.; Farrar, J. J.; Van Vinh Chau, N.; Wills, B. Dengue. *The New England Journal of Medicine*. 2012; 366: 1423–1432.
- 2- World Health Organization (WHO). *Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control*. New Edition: Geneva: World Health Organization. 2009. pmid: 23762963.
- 3- Balmaseda, A.; Hammond, S. N.; Perez, M. A. Short report: assessment of the World Health Organization scheme for classification of dengue severity in Nicaragua. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2005; 73: 1059–62.
- 4- Figueiredo, M. L.; Gomes, A. C.; Amarilla A. A.; Leandro, A. S. Mosquitoes infected with dengue viruses in Brazil. *Virology Journal*. 2010; 7: 152.
- 5- Abundes-Gallegos, J.; Salas-Rojas, M.; Galvez-Romero, G.; Perea-Martínez, L. Detection of dengue virus in bat flies (Diptera: Streblidae) of common vampire bats, *Desmodus rotundus*, in Progreso, Hidalgo, Mexico. *Vector Borne Zoonotic Diseases*. 2018; 18: 70–73.
- 6- Gubler, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clinic Microbiology Reviews*. 1998; 11:480–496.
- 7- Gubler, D. J. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: full circle? *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*. 2004; 27: 319-330.
- 8- Moher, D.; Liberati A.; Tetzlaff, J.; Altman, D.G. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLOS Medicine*. 2009; 6.
- 9- Morales M.A.; Fabbri C.M.; Zunino G.E.; Kowalewski M.M.; Luppó V.C.; Enría D.A.; Levis S.C.; Calderón G.E. Detection of the mosquito-borne flaviviruses, West Nile, Dengue, Saint Louis Encephalitis, Ilheus, Bussuquara, and Yellow Fever in free-ranging black howlers (*Alouatta caraya*) of Northeastern Argentina. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2017; 10;11(2):e0005351.
- 10- Dolz G.; Chaves A.; Gutiérrez-Espeleta G.A.; Ortiz-Malavasi E.; Bernal-Valle S.; Herrero M.V. Detection of antibodies against flavivirus over time in wild non-human primates from the lowlands of Costa Rica. *PLoS ONE*. 2019; 14(7): e0219271.
- 11- Chaves A.; Piche-Ovares M.; Ibarra-Cerdeña C.N.; Corrales-Aguilar E.; Suzán G.; Moreira-Soto A.; Gutiérrez-Espeleta G.A. Serosurvey of Nonhuman Primates in Costa Rica at the Human-Wildlife Interface Reveals High Exposure to Flaviviruses. *Insects*. 2021; 15;12(6):554.

- 12- Inoue, S.; Alonzo, M. T.; Kurosawa, Y.; Mapua, C. A.; Reyes, J. D.; Dimaano, E. M.; Alera, M. T.; Saito, M.; Oishi, K.; Hasebe, F.; Matias, R. R.; Natividad, F. F.; Morita, K. Evaluation of a dengue IgG indirect enzyme-linked immunosorbent assay and a Japanese encephalitis IgG indirect enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of secondary dengue virus infection. *Vector Borne Zoonotic Diseases*. 2010; 10(2):143-50. doi: 10.1089/vbz.2008.0153. PMID: 19874185.
- 13- Kato, F.; Ishida, Y.; Kawagishi, T.; Kobayashi, T.; Hishiki, T.; Miura, T.; Igarashi, T. Natural infection of cynomolgus monkeys with dengue virus occurs in epidemic cycles in the Philippines. *Journal of General Virology*. 2013; 94 (Pt 10):2202-2207.
- 14- Raulino R.; Thaurignac G.; Butel C.; Villabona-Arenas C.J.; Foe T.; Loul S., Ndimbo-Kumugo S.P.; Mbala-Kingebeni P.; Makiala-Mandanda S.; Ahuka-Mundeke S.; Kerkhof K.; Delaporte E.; Ariën K.K.; Foulongne V.; Mpoudi Ngole E.; Peeters M.; Ayouba A. Multiplex detection of antibodies to Chikungunya, O'nyong-nyong, Zika, Dengue, West Nile and Usutu viruses in diverse non-human primate species from Cameroon and the Democratic Republic of Congo. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2021; 21;15(1):e0009028.
- 15- Tongthainan, D.; Mongkol, N.; Jiamsomboon, K.; Suthisawat, S.; Sanyathitiseree, P.; Sukmak, M.; Wajjwalku, W.; Poovorawan, Y.; Ieamsaard, G.; Sangkharak, B.; Taruyanon, K.; Fungfuang, W.; Tulayakul, P.; and Boonnak, K. Seroprevalence of Dengue, Zika, and Chikungunya Viruses in Wild Monkeys in Thailand. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2020; 103, 3, 1228-1233.
- 16- Thoisy, B.; Lacoste, V.; Germain, A.; Muñoz-Jordán, J.; Colón, C.; Mauffrey, J.; Delaval, M.; Catzeflis, F.; Kazanji, M.; Matheus, S.; Dussart, P.; Morvan, J.; Aguilar Setián, A.; Deparis, X.; Lavergne, A. Dengue Infection in Neotropical Forest Mammals. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 2009; 157-170.
- 17- Calderón, A.; Guzmán, C.; Matta, S.; Rodríguez, V.; Martínez, C.; Violet, L.; Martínez, J., Figueiredo, L.T.M. Dengue Virus in Bats from Córdoba and Sucre, Colombia. *Vector Borne Zoonotic Diseases*. 2019; 19(10):747-751.
- 18- Aguilar-Setián, A.; Romero-Almaraz, M.L.; Sánchez-Hernández, C.; Figueroa, R.; Juárez-Palma, L.P.; García-Flores, M.M.; Vázquez-Salinas, C.; Salas-Rojas, M.; Hidalgo-Martínez, A.C.; Pierlé, S.A.; García-Estrada C.; Ramos C. Dengue virus in Mexican bats. *Epidemiology & Infection*. 2008; 136(12):1678-83.
- 19- Machain-Williams C.; López-Uribe M.; Talavera-Aguilar L.; Carrillo-Navarrete J.; Vera-Escalante L.; Puerto-Manzano F.; Ulloa A.; Farfán-Ale J.A; Garcia-Rejon J.; Blitvich B.J.; Loroño-Pino M.A. Serologic evidence of flavivirus infection in bats in the Yucatan Peninsula of Mexico. *Journal of Wildlife Diseases*. 2013; 49(3):684-9.
- 20- Barrantes Murillo, D.F.; Piche-Ovares, M.; Gamboa-Solano, J.C.; Romero, L.M.; Soto-Garita, C.; Alfaro-Alarcón, A.; Corrales-Aguilar, E. Serological Positivity against Selected Flaviviruses and Alphaviruses in Free-Ranging Bats and Birds from Costa Rica Evidence Exposure to Arboviruses Seldom Reported Locally in Humans. *Viruses*. 2022; 6;14(1):93.

- 21- Vicente-Santos, A.; Moreira-Soto, A.; Soto-Garita, C.; Chaverri, L. G.; Chaves, A.; Drexler, J. F.; Morales, J. A.; Alfaro-Alarcón, A.; Rodríguez-Herrera, B.; Corrales-Aguilar, E. Neotropical bats that co-habit with humans function as dead-end hosts for dengue virus. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2017, May 18; 11(5):e0005537. doi: 10.1371/journal.pntd.0005537. PMID: 28545090; PMCID: PMC5451070.
- 22- Platt, K.B.; Mangiafico J.A.; Rocha O.J.; Zaldivar M.E.; Mora J.; Trueba G.; Rowley W.A. Detection of dengue virus neutralizing antibodies in bats from Costa Rica and Ecuador. *Journal of Medical Entomology*. 2000; 37(6):965-7.
- 23- Robles-Fernández, A. L.; Santiago-Alarcon D.; Lira-Noriega A. American Mammals Susceptibility to Dengue According to Geographical, Environmental, and Phylogenetic Distances. *Frontiers in Veterinary Science*. 2021; 10; 8:604560.
- 24- Gwee, S. X. W.; St John, A. L.; Gray, G. C.; Pang J. Animals as potential reservoirs for dengue transmission: A systematic review. *One Health*. 2021; 20;12:100216. doi: 10.1016/j.onehlt.2021.100216. PMID: 33598525; PMCID: PMC7868715.