

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Medicina Tropical**  
**Diagnóstico, Epidemiologia e Controle**  
**Dissertação de Mestrado em Medicina Tropical**

**EVIDÊNCIA DE *ALPHAHERPESVIRUS HUMANO 1* E *GAMMAHERPESVIRUS***  
***CALLITRICHINE 3* EM PRIMATAS NÃO HUMANOS DE VIDA LIVRE NO**  
**ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

Aluna: Flávia Freitas de Oliveira Bonfim

Laboratório em Virologia Molecular - IOC/FIOCRUZ

---

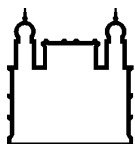
Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Vanessa Salete de Paula

Laboratório em Virologia Molecular - IOC/FIOCRUZ

---

Rio de Janeiro

25 janeiro 2019



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**

**Fundação Oswaldo Cruz**

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Medicina Tropical**  
**Diagnóstico, Epidemiologia e Controle**  
**Dissertação de Mestrado**

Flávia Freitas de Oliveira Bonfim

**Evidência de *Alphaherpesvirus humano 1* e *Gammaherpesvirus callitrichine 3* em primatas não humanos de vida livre no estado do Rio de Janeiro**

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências.

**Orientadora:** Prof. Dr<sup>a</sup>. Vanessa Salete de Paula

Rio de Janeiro  
25 janeiro 2019

Freitas de Oliveira Bonfim, Flávia.

Evidência de *Alphaherpesvirus humano 1* e *Gammaherpesvirus callitrichine 3* em primatas não humanos de vida livre no estado do Rio de Janeiro / Flávia Freitas de Oliveira Bonfim. - Rio de Janeiro, 2019.  
117 f.; il.

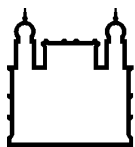
Dissertação (Mestrado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2019.

Orientadora: Vanessa Salette de Paula.

Bibliografia: f. 74-99

1. Primatas Não Humanos. 2. Herpesvírus. 3. Alphaherpesvirus humano  
1. 4. Gammaherpesvirus Callitrichine 3. 5. Febre Amarela. I. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca de Manginhos/ICICT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

**INSTITUTO OSWALDO CRUZ**  
**Pós-Graduação *Strictu Sensu* em Medicina Tropical**  
**Diagnóstico, Epidemiologia e Controle**  
**Dissertação de Mestrado**

Flávia Freitas de Oliveira Bonfim

**Evidência de *Alphaherpesvirus humano 1* e *Gammaherpesvirus callitricine 3* em primatas não humanos de vida livre no estado do Rio de Janeiro**

**ORIENTADORA: Prof. Dr<sup>a</sup> Vanessa Salete de Paula**

**Aprovada em: 25/01/2019**

**EXAMINADORES:**

**Prof. Dr<sup>a</sup> Presidente: Renata Carvalho de Oliveira Pires dos Santos**  
(IOC/FIOCRUZ)

**Prof. Dr<sup>a</sup> Marcia Chame** (FIOCRUZ)

**Prof. Dr<sup>a</sup> Ana Maria Bispo de Filippis** (IOC/FIOCRUZ)

**Prof. Dr<sup>a</sup> Maria Angélica Monteiro de Mello Mares-Guia** (IOC/FIOCRUZ)

**Prof. Dr<sup>o</sup> Alex Pauvalid-Correa** (IOC/FIOCRUZ)

Rio de Janeiro, 25 de Janeiro de 2019

Dedico este trabalho ao Senhor Deus, meu marido, aos meus pais, minha orientadora e a todos primatas não humanos do Brasil.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus por te me sustentado, me dando sabedoria, paciência e graça. Não existem palavras que definam o quanto Deus tem sido fiel na minha vida, em seus mínimos detalhes. Este trabalho eu dedico a Ele, pois é digno de toda honra e todo o meu louvor.

Em seguida, eu agradeço aos meus pais Pedro Peixoto de Oliveira e Carla Maria Freitas de Oliveira, pelo amor, carinho, confiança, paciência, enfim, por tudo.

Agradeço ao meu marido, Stenio Wagner Bonfim, com seu amor incondicional por mim, suas palavras doces que suavizam e alegam meus dias. Sua paciência, suas orações, seu jeito, seu exemplo de vida, que me ajudam a ser cada dia uma pessoa melhor. Obrigada por você estar em minha vida. Te amo!

À família Bonfim, que sempre orou por mim, e sempre se preocupou comigo, me dando força. Em especial à minha sogra, Maria das Graças Bonfim, e ao meu sogro, Josildo Mariano.

À minha orientadora e amiga, Vanessa Salete de Paula, pela confiança em mim depositada, e pela sabedoria e paciência, sempre me ensinando com muito amor e dedicação. Levarei por toda a minha vida seus ensinamentos. Muito obrigada!

Aos meus amigos do mestrado em Medicina Tropical 2017, em especial a Viviane, Priscila e Ana Carolina. Vocês tonaram esses anos alegres e divertidos. Muito obrigada pelas risadas que demos juntos.

À toda minha família, tios e tias, primos e primas, e avós que, com palavras de apoio e ânimo, sempre me incentivaram.

Aos meus amigos do Laboratório Virologia Molecular, em especial à Amanda Lopes, Nathália Alves e Natália Spitz pelo apoio e amizade.

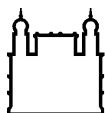
A Dr<sup>a</sup> Renata de Oliveira por ser tão atenciosa e maravilhosa na revisão da dissertação.

À minha banca composta por Dr<sup>a</sup> Ana Maria Bispo de Filippis, Dr<sup>o</sup> Alex Pauvalid, Dr<sup>a</sup> Renata de Oliveira e Dr<sup>a</sup> Marcia Chame e Dr<sup>a</sup> Maria Angélica, pelo carinho e atenção ao meu projeto. Ao Dr<sup>o</sup> Marcelo Pinto pelo apoio. À Dr<sup>a</sup> Maria Angélica, em especial, pelo carinho, paciência e ajuda com as amostras. E, ao Dr<sup>o</sup> Marco Horta pela análise estatística. A FIOCRUZ/IOC, principalmente aos meus professores, por todo o ensinamento, foram dois anos intensos e maravilhosos de disciplinas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelo auxílio financeiro.

“... De tudo, ficaram três coisas: a certeza de que estamos sempre começando; a certeza de que é preciso continuar; e a certeza de que podemos sempre ser interrompidos antes de terminar. Fazer da interrupção um novo caminho; fazer da queda um passo de dança; do medo, uma escada; do sonho, uma ponte; e da procura um encontro”.

Fernando Sabino



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

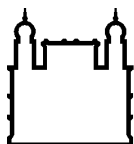
### Evidência de *Alphaherpesvirus humano 1* e *Gammaherpesvirus callitrichine 3* em primatas não humanos de vida livre no estado do Rio de Janeiro

#### DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA TROPICAL

Flávia Freitas de Oliveira Bonfim

A família *Herpesviridae* abriga um grande número de vírus que infectam uma diversidade de tipos de animais, inclusive o homem e primatas não humanos. A transmissão dos seres humanos para os primatas não humanos (PNH) pode ocorrer através de arranhões, contato com lesões, saliva infectada e principalmente através de alimentos oferecidos contaminados aos primatas não humanos. A estreita relação entre humanos e primatas não humanos permite esta transmissão entre espécies diferentes. Infecções cruzadas podem levar a uma doença grave ou até a morte, tanto do animal, como do homem. Dentre os herpesvirus que infectam os PNH, alguns podem ser fatais. Em 2017, durante o surto de febre amarela ocorrido no Brasil, principalmente no estado do Rio de Janeiro, grande parte dos primatas não humanos, os *Sapajus*, *Leontopithecus*, *Alouatta* e *Callithrix*, obtiveram resultado negativo para a infecção que estava ocorrendo. O presente projeto teve como objetivo investigar e detectar a possível circulação de herpesvírus na população de primatas não humanos que foram negativos para a infecção pelo vírus da febre amarela. Os PNHs mortos foram encontrados em várias regiões e municípios do estado do Rio de Janeiro, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Referência Regional de Flavivírus, pelos órgãos de Vigilância em Saúde ao LACEN/RIO. As amostras com resultado negativo para febre amarela foram encaminhadas ao laboratório de Virologia Molecular do IOC/FIOCRUZ e testadas para detecção de herpesvirus pela técnica de *Pan*-PCR, que amplifica a região conservada da polimerase (DPOL) e permite a detecção simultânea dos vírus da família *Herpesviridae*. Para confirmar a presença de *Alphaherpesvirus humano 1*, foi realizado a PCR baseada na amplificação da região conservada da glicoproteína G do vírus e foi realizada a construção da árvore filogenética da região UL 23 para tratamento com Aciclovir em primatas não humanos durante suspeita de surto de herpesvirose. De um total de 283 amostras analisadas, foi encontrada uma prevalência de 34,6% (98/283) para herpesvirus, através do sequenciamento foi detectado o *Gammaherpesvirus callitrichine 3* (CalHV-3) em 13% (37/283). O CalHV-3 pode causar doença linfoproliferativa apresentando linfomas de células B, podendo ser fatal. Em 83 indivíduos a prevalência de *Alphaherpesvirus humano 1* foi de 29,3% (83/283), para vírus humano letal para os macacos do novo mundo e nenhuma amostra apresentou a mutação de resistência ao aciclovir. Além disso, foi observado co-infecção CalHV-1/HHV-1 em 11,6% (33/283). Os resultados deste trabalho contribuíram com a ecoepidemiologia e reforçam a importância para conscientização da população sobre o manejo das herpesvirose e o estreito contato com os primatas não humanos em espaços públicos e florestais.





Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

### **Evidence of *Human alphaherpesvirus 1* and *Callitrichine gammaherpesvirus 3* in non-human free-living primates in the state of Rio de Janeiro**

#### ABSTRACT

#### MASTER DISSERTATION IN MEDICINA TROPICAL

Flávia Freitas de Oliveira Bonfim

The *Herpesviridae* family harbors a large number of viruses that infect a variety of animal types, including humans and non-human primates. The transmission of humans to non-human primates can occur through contact scratches with lesions, infected saliva and mainly through food contaminated to monkeys. The close relationship between humans and non-human primates allows this transmission between different species. Therefore, cross-infection can lead to severe illness or even death for both the animal and man. In 2017, during yellow fever outbreak in Brazil, mainly in the state of Rio de Janeiro, most of the non-human primates *Sapajus*, *Leontopithecus*, *Alouatta* and *Callithrix*, were negative yellow fever. The present project aimed to investigate and detect the circulation of herpesviruses in non-human primates that were negative for yellow fever. Liver samples from dead monkeys and marmosets were found in several regions and municipalities of the state of Rio de Janeiro, the samples were sent to the Reference Laboratory of Flavivirus. Samples with negative results for yellow fever were tested for herpesvirus by the Pan-PCR technique, which amplifies the conserved polymerase region (DPOL) and allows the simultaneous detection of Herpesviridae virus. To confirm the presence of *Human alphaherpesvirus 1*, PCR was performed based on the amplification of the conserved region of the virus G glycoprotein and the construction of the phylogenetic tree of the UL 23 region was performed for treatment with Aciclovir in non-human primates during suspected herpesvirus outbreaks. In the total of primates negative for yellow fever was found 283 samples that were tested and found a prevalence of 34.6% (98/283) for herpesvirus, *Callitrichine gamaherpesvirus 3* (CalHV-3) was detected in 13% (37/283), Epstein-Barr homologous virus, in human. CalHV-3 can cause lymphoproliferative disease presenting B-cell lymphomas and can be fatal. In 83 individuals the prevalence of *Human alfaherpesvirus 1* was 29.3% (83/283), human virus lethal to the monkeys of the new world and no sample showed mutation of resistance to acyclovi. In addition, CalHV-1 / HHV-1 co-infection was observed in 11.6% (33/283). The results of this work contributed to surveillance and data can be used to raise public awareness of management and close contact with non-human primates in public spaces and forests.

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1. Família <i>Herpesviridae</i> .....	1
1.2. Morfologia dos herpesvírus .....	5
1.3. Replicação dos herpesvírus .....	7
1.4. Latência dos herpesvírus .....	10
1.5. Herpesvírus em humanos e em primatas não humanos .....	16
1.5.1 <i>Alphaherpesvirus humano 1 e 2</i> .....	16
1.5.2. <i>Alphaherpesvirus humano 3</i> ou Vírus Varicella-Zoster .....	20
1.5.3 <i>Gammapherpesvirus humano 4</i> ou Vírus Epstein-Barr .....	21
1.5.5. <i>Gammapherpesvirus humano 8</i> ou Sarcoma de Kaposi associado à herpesvírus....	25
1.5.6 <i>Alphaherpesvirus macacine 1</i> ou Vírus B.....	26
1.5.7. <i>Gammapherpesvirus callitrichine 3</i> ou <i>CalHV-3</i> .....	27
1.6. Características gerais de primatas não humanos .....	28
1.7 Epidemiologia dos <i>Alphaherpesvirus humano 1 e 2</i> .....	31
1.8. Diagnóstico laboratorial dos herpesvírus.....	32
1.9. Tratamento das infecções causadas por herpesvirus .....	33
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>35</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>36</b>
3.1 Objetivo Geral .....	36
3.2 Objetivos Específicos.....	36
<b>4.0 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>37</b>
4.1. Considerações éticas da pesquisa.....	37
4.2. População de estudo .....	37
4.3. Seleção das amostras .....	38
4.3.1. Critérios de inclusão e exclusão das amostras .....	38
4.4. Extração de ácidos nucleicos e RT-PCR em Tempo Real para febre amarela pelo laboratório de Flavivirus .....	39
4.5. Reação em Cadeia da Polimerase por <i>Pan-herpesvirus</i> .....	39
4.6. Corrida em gel de eletroforese .....	42
4.7. Sequenciamento da região DPOL do genoma viral.....	43
4.8. Reação em Cadeia da Polimerase para <i>Alfaherpesvirus humano 1</i> (HHV-1).....	43
4.9. Sequenciamento do genoma viral para região gG HHV-1 .....	44
4.10. Reação em Cadeia da Polimerase para HHV-1 região UL 23.....	45
4.10.1. Etapa de amplificação da PCR <i>Alfaherpesvirus humano 1</i> região UL23.....	45

4.11. Análise estatística dos resultados .....	47
4.12. Mapeamento e distribuição dos casos de herpesvírus.....	47
4.13. Análise de resistência ao Aciclovir .....	47
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>48</b>
5.1. Características da população de primatas não humanos. ....	48
5.2. Detecção da infecção por herpesvírus pela <i>Pan</i> -PCR .....	49
5.2.1. Distribuição dos casos positivos de primatas não humanos para herpesvírus no estado do Rio de Janeiro.....	50
5.2.2. Detecção do <i>Gammaherpesvirus callitrichine 3</i> pelo sequenciamento do DNA viral da <i>PAN</i> -PCR. ....	53
5.3. Detecção da infecção por <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> pela PCR – região gG.....	54
5.3.1. Distribuição dos casos positivos de primatas não humanos para <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> no Rio de Janeiro.....	55
5.4. Detecção da co-infecção pelos <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> e <i>Gammaherpesvirus callitrichine 3</i> .....	58
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>64</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>71</b>
<b>8. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>73</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>74</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Árvore Filogenética da Família <i>Herpesviridae</i> .....	3
Figura 1.2. Elementos estruturais do vírion <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> (HHV-1).....	6
Figura 1.3. Morfologia do virion dos herpesvírus.....	6
Figura 1.4. Níveis de conservação de genes entre HHV-1 e HHV-2.....	7
Figura 1.5. Ciclo de replicação de <i>Alphaherpesvirus pseudorabies</i> (PrV).....	9
Figura 1.6. Modelo proposto para o egresso do <i>Alphaherpesvirus humano</i> da célula hospedeira.....	10
Figura 1.7. Diagrama esquemático do ciclo de replicação do Vírus Epstein-Barr (Gammaherpesvirus humano).....	14
Figura 1.8. Estágios de Infecção pelo <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> .....	15
Figura 1.9. Herpes recorrente labial.....	17
Figura 1.10. <i>Callithrix penicillata</i> da Fundação Zoo-Botânica, Minas Gerais.....	18
Figura 1.11 Infecção por Herpes simples na área genital feminina (figura a) e masculino (figura b).....	19
Figura 1.12. Exantema em neonato pelo <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> .....	19
Figura 1.13. Lesão de lábio em macaco do rhesus devido a infecção por <i>Betaherpesvirus macacine 3</i> .....	24
Figura 1.14. Ulceração cutânea pelo Citomegalovírus humano.....	25
Figura 1.15. Classificação dos primatas não humanos.....	29
Figura 1.16. Distribuição mundial dos primatas não humanos e sua classificação.....	29
Figura 1.17. Árvore filogenética resultante da análise de sequências nucleotídicas de fragmentos do gene da DNA polimerase do gênero Gammaherpesvírus de primata do Novo Mundo e Velho Mundo.....	30
Figura 4.3.1. Fluxograma dos materiais e métodos.....	38
Figura 5.2.1. Distribuição dos primatas não humanos detectados com herpesvírus no estado do Rio de Janeiro no ano de 2017.....	50
Figura 5.3.1 Distribuição dos números de casos positivos para <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> em primatas não humanos detectados no estado do Rio de Janeiro no ano de 2017.....	55
Figura 5.5. Alinhamento da sequência nucleotídica parcial da timidina quinase (290 bp).....	60

## LISTA DE TABELAS

Tabela 4.5.1. Reagentes, concentração e volume usados na primeira reação. ....	40
Tabela 4.5.2. Sequência de oligonucleotídeos da primeira etapa da Pan-PCR.....	40
Tabela 4.5.4. Reagentes, concentração e volume usados na segunda reação.....	41
Tabela 4.5.5. Sequência de oligonucleotídeos da segunda etapa da Pan-PCR.....	41
Tabela 4.8.1. Reagentes, concentração e volume usados na reação.....	44
Tabela 4.8.2. Sequência de oligonucleotídeos usado na PCR região gG.....	44
Tabela 4.10.1. Reagentes, concentração e volume usados na reação para a PCR UL 23.....	46
Tabela 4.10.2. Sequência de oligonucleotídeos usado na PCR UL 23.....	46
Tabela 5.1. Distribuição dos gêneros dos PNH conforme idade e sexo.....	48
Tabela 5.2. Distribuição de prevalência por herpesvírus pela PAN-PCR em relação ao gênero dos primatas não humanos.....	50
Tabela 5.2.1 Detecção da infecção de herpesvírus pela Pan-PCR e total de amostras sequenciadas de acordo com os municípios do Rio de Janeiro onde os primatas foram coletados.....	52
Tabela 5.2.3. Análise estatística dos resultados das amostras de primatas não humanos pela técnica de Pan-PCR.....	53
Tabela 5.2.4. Resultado anatomopatológico e Pan-PCR.....	54
Tabela 5.3. Distribuição de prevalência por <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> pela PCR gG em relação ao gênero dos primatas não humanos.....	55
Tabela 5.3.1. Detecção da infecção por <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> de acordo com os municípios do Rio de Janeiro onde os primatas foram coletados.....	57
Tabela 5.3.2. Análise estatística para <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> dos primatas não humanos.....	58
Tabela 5.3.3. Resultados da análise anatomopatológica e infecção por <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> gG.....	58
Tabela 5.4. Análise estatística da co-infecção HHV-1/CalHV-3 dos primatas não humanos.....	59
Tabela 5.4.1. Resultados da análise anatomopatológica e coinfeção por HHV-1/CalHV-3.....	50

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1.1. Herpesvírus associados à infecções humana.....	<b>3</b>
Quadro 1.2. Herpesvírus associados à infecções aos primatas não humanos.....	<b>4</b>
Quadro 1.3. Sítios de infecção dos herpesvírus humanos.....	<b>12</b>
Quadro 1.4. Sítios de infecção de alguns herpesvírus de primatas não humanos.....	<b>13</b>
Quadro 4.5.3. Ciclos da primeira etapa da PCR- <i>Nested</i> .....	<b>41</b>
Quadro 4.5.6. Ciclos da segunda etapa da PCR- <i>Nested</i> .....	<b>42</b>
Quadro 4.8.3. Ciclos de termociclagem referente à etapa PCR HHV-1 gG.....	<b>44</b>
Quadro 4.10.3. Ciclos de termociclagem referente à etapa PCR HHV-1 UL 23.....	<b>46</b>

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 5.1. Detecção da infecção de herpesvirus pela <i>Pan-PCR</i> .....	49
Gráfico 5.2. Distribuição dos gêneros de PNH infectadas por herpesvírus .....	49
Gráfico 5.3. Detecção da infecção pelo <i>Alphaherpesvirus humano 1</i> (região gG) em gêneros de primatas.....	54

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% Por cento

X<sup>2</sup> Qui-quadrado

< Menor

= Igual

≥ Maior ou igual

°C Grau Celsius

µg Micrograma

µM Micromolar

A Adenina

ACV Aciclovir

AIDS *Acquired Immunodeficiency Syndrome*

BLAST *Basic Local Alignment Search Tool*

C Citosina

CN Controle negativo

DMSO Dimetilsulfóxido ou sulfóxido de dimetilo

DNA Ácido desoxirribonucléico

dNTP Dinucleotídeos trifosfatados

DP Desvio-padrão

DPOL DNA polimerase

DST Doenças sexualmente transmissíveis

EBV Vírus Epstein-Barr

EDTA Ácido etileno diamino tetra acético

ELISA Ensaio imunoenzimático (Enzyme Linked Immuno Sobert Assay)

EUA Estados Unidos da América

FDA *Food and Drug Administration*

FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz



**g** Força gravitacional

**g** Gramas

**G** Guanina

**gB** Glicoproteína B

**gD** Glicoproteína D

**gH** Glicoproteína H

**gL** Glicoproteína L

**gG** Glicoproteína G

**HCMV** Citomegalovírus humano

**HHV+** Indivíduos reagentes para os herpesvírus humanos

**HHV-1** *Alphaherpesvírus humano 1* ou HSV-1 Vírus herpes simples 1

**HHV-2** *Alphaherpesvírus humano 2* ou HSV-2 Vírus herpes simples 2

**HHV-3** *Alphaherpesvírus humano 3*

**HHV-4** *Gammaherpesvírus humano 4*

**HHV-6** *Betaherpesvírus humano 6A e 6B*

**HHV-7** *Betaherpesvírus humano 7*

**HHV-8** *Gammaherpesvírus humano 8*

**HIV** Vírus da imunodeficiência humana

**HSV** Vírus herpes simples

**HZ** Herpes zoster

**ICTV** *International Comitee for Viruses Taxonomy*

**IOC** Instituto Oswaldo Cruz

**IUPAC** *International Union of Pure and Applied Chemistry*

**kb** Quilobase

**LT CD4+** Linfócitos T CD4+

**MgCl<sub>2</sub>** Cloreto de magnésio

**mL** Mililitros

**mM** Milimolar

**mm<sup>3</sup>** Milímetros cúbicos

**n** Número

**nm** Nanômetro

**NTC** *No template control*

**pb** Pares de bases

**PCR** *Polimerase chain reaction* ou reação em cadeia da polimerase

**PDTIS** Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Insumos para Saúde

**pH** Potencial hidrogeniônico

**pmol** Picomol

**qPCR** *Real time polimerase chain reaction* ou Reação em cadeia da polimerase em tempo real

**RJ** Estado do Rio de Janeiro

**RNA** Ácido ribonucléico

**rpm** Rotações por minuto

**RT-PCR** *Reverse transcription polimerase chain reaction*

**SK** Sarcoma de Kaposi

**T** Timina

**TAE** Tris Acetato EDTA

**TARV** Terapia antirretroviral

**TK** Timidina quinase

**U** Unidade

**UNG** Uracil-N-glicosilase

**USA** *United States of America*

**VZV** Vírus da varicela zoster

**WHO** *World Health Organization*

**$\alpha$**  Alfa

**$\beta$**  Beta

**$\gamma$**  Gama

**$\mu\text{L}$**  Microlitros

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Família *Herpesviridae*

A classificação taxonômica da ordem *Herpesvirales* tem sido atualizada como resultado das recomendações feitas pelo Comitê Internacional de Taxonomia dos Vírus (ICTV, *International Committee Taxonomy of Viruses*) e se encontra dividida em três famílias. São elas: *Herpesviridae* (vírus de mamíferos, aves e répteis), *Alloherpesviridae* (vírus de peixes e anfíbios) e *Malacoherpesviridae* (vírus de bivalves) (Davison *et al.*, 2009; Davison, 2011).

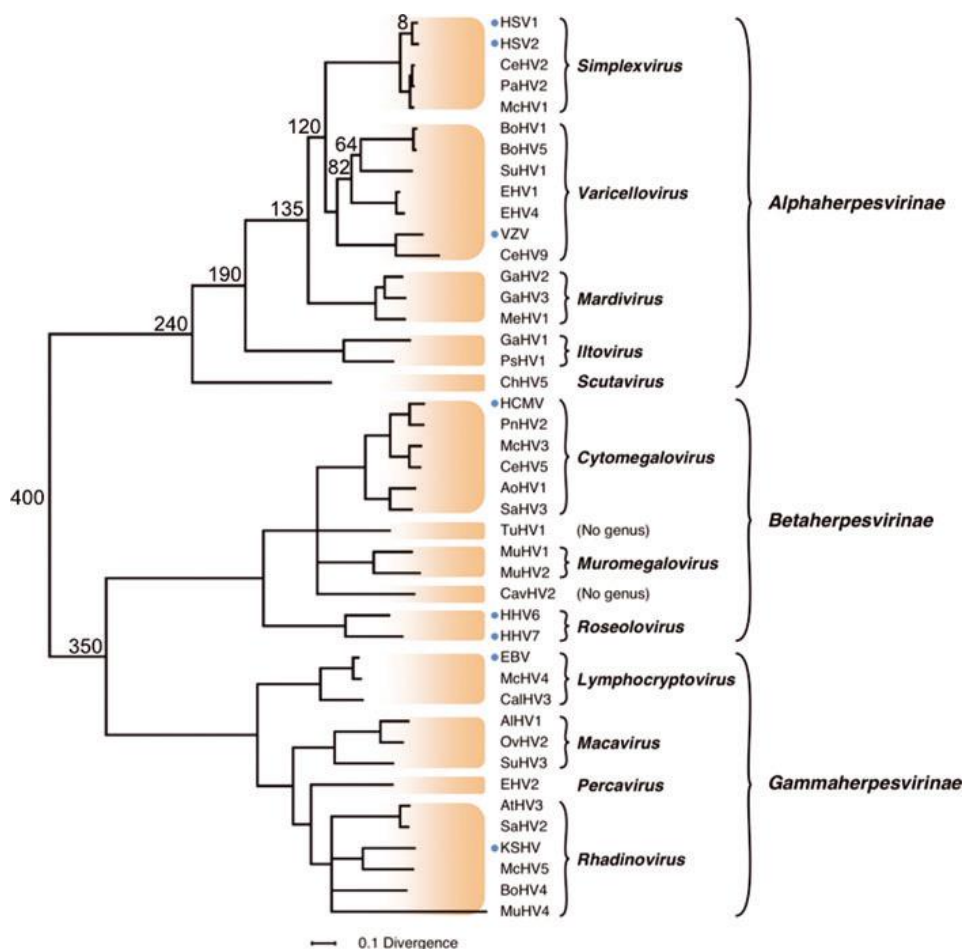
Os membros da família *Herpesviridae* compartilham cinco propriedades biológicas significativas: i) A especificidade, uma grande variedade de enzimas envolvidas no metabolismo dos ácidos nucleicos, como a dUTPase, síntese de DNA (DNA polimerase), processamento de proteínas (proteína-cinase); ii) A transcrição de genes de vírus, a síntese de DNA viral e a montagem de nucleocápsidos ocorrem no núcleo; iii) A produção de vírus (ciclo lítico) é geralmente acompanhada pela destruição das células infectadas; iv) O virion adquire parte do tegumento e são envelopados no citoplasma; v) Persistência celular (latência) dos herpesvirus ao longo da vida dos hospedeiros (Pellet e Roizman, 2013; Knipe e Howley, 2013).

A família *Herpesviridae* abriga um grande número de vírus que infectam variados tipos de animais, inclusive o homem. A família *Herpesviridae* é dividida em três subfamílias, de acordo com as propriedades biológicas e filogenéticas (Figura 1.1 e Figura 1.2). As subfamílias são: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae*. A subfamília *Alphaherpesvirinae* tem como principais características: variado e grande número de hospedeiros, eficiente e rápida multiplicação viral e capacidade de estabelecer infecção latente nos nervos sensoriais. Dentre os membros desta subfamília, no gênero *Simplexvirus* estão o *Alphaherpesvirus humano 1* (HHV-1), o *Alphaherpesvirus humano 2* (HHV-2), *Alphaherpesvirus cercopithecine 1*. A subfamília *Betaherpesvirinae* tem como principais características a citomegalia, o crescimento lento e infecções latentes nas glândulas de secreção, nos rins e outros tecidos. O *Betaherpesvirus humano 5* (antes chamado de *citomegalovirus*) e o *Betaherpesvírus humano 6A* são exemplos desta subfamília. A subfamília

*Gammaherpesvirinae* possui como principal característica as infecções latentes nas células do linfonodo. Esta subfamília encontra-se, principalmente, o *Gamaherpesvirus humano 4* (antes chamado de *Epstein-Barr*) e o *Gamaherpesvírus humano 8* (Gilbert *et al.*, 2002; Roizman *et al.* 2007).

Dentre vírus da família *Herpesviridae*, nove herpesvirus estão associados à infecções humanas. Dentre eles, o *Alphaherpesvirus humano 1* (HHV-1 ou vírus herpes simples 1) e *Alfaherpesvirus humano 2* (HHV-2 ou vírus herpes simples 2), *Alfaherpesvirus humano 3* (HHV-3 ou VZV ou vírus varicella-zoster), *Gammaherpesvirus humano 4* (HHV- 4 ou EBV ou vírus Epstein-Barr), *Betaherpesvirus humano 5* (HHV-5 ou citomegalovírus humano ou HCMV), *Betaherpesvirus humano 6A* (*herpesvirus humano 6, variante A* ou HHV-6A), *Betaherpesvirus humano 6B* (*herpesvirus humano 6, variante B*), *Betaherpesvirus humano 7* (*herpesvirus humano 7* ou HHV-7) e *Betaherpesvirus humano 8* (HHV-8 ou Sarcoma de Kaposi associado à herpesvirus) (Pellet e Roizman, 2013) (Tabela 1.1 e Figura 1.1).

Dentre os vírus da família *Herpesviridae*, segue alguns exemplos de herpesvirus identificados em infecções em primatas não humanos (PNH): *Alphaherpesvirus cercopithecine* (CeHV-9), *Alphaherpesvirus macacine 1* (McHV1 ou Macacine HV1), *Betaherpesvirus macacine 3* (McHV-3 ou Macacine HV3), *Gammaherpesvirus macacine 4* (McHV-4 ou Macacine HV4), *Gammaherpesvirus macacine 5* (McHV-5 ou Macacine HV5), *Gammaherpesvirus saimiriine 2* (SaHV-2 ou Saimiriine HV-2), *Betaherpesvirus saimiriine 3* (SaHV-3 ou Saimiriine HV-3) e *Gammaherpesvirus callitrichine 3* (Pellet e Roizman, 2013; Cubas *et al.* 2014) (Tabela 1.2 e Figura 1.1).



**Figura 1.1. Árvore Filogenética da Família *Herpesviridae*.** As abreviaturas dos nomes dos vírus são fornecidos nos Quadro 1.1 e Quadro 1.2. Os vírus humanos são marcados por pontos azuis, e a estrutura taxonômica (gêneros e subfamílias) é mostrada à direita. As datas aproximadas (milhões de anos atrás) são mostradas em nós selecionados. Fonte:(Davison, 2011) Adaptado.

**Quadro 1.1. Herpesvírus associados à infecção humana.** Fonte: (Pellet e Roizman, 2013) modificado.

Nome ICTV	Abreviação	Sinônimo	Subfamília
<i>Alphaherpesvirus humano 1</i>	HHV-1	Vírus herpes simples 1	$\alpha$
<i>Alphaherpesvirus humano 2</i>	HHV-2	Vírus herpes simples 2	$\alpha$
<i>Alphaherpesvirus humano 3</i>	HHV-3 / VZV	Vírus varicella-zoster	$\alpha$
<i>Gammaherpesvirus humano 4</i>	HHV-4 / EBV	Vírus Epstein-Barr	$\gamma$
<i>Betaherpesvirus humano 5</i>	HHV-5 / HCMV	Citomegalovírus humano	$\beta$
<i>Betaherpesvírus humano 6A</i>	HHV-6 <sup>a</sup>	<i>Herpesvirus humano 6A</i>	$\beta$
<i>Betaherpesvirus humano 6B</i>	HHV-6B	<i>Herpesvirus humano 6B</i>	$\beta$
<i>Betaherpesvirus humano 7</i>	HHV-7	<i>Herpesvirus humano 7</i>	$\beta$
<i>Gammaherpesvirus humano 8</i>	HHV-8	Sarcoma de Kaposi associado a herpesvirus	$\beta$

**Quadro 1.2. Herpesvírus associados à infecção aos Primatas não humanos.** Fonte: Cubas et al. 2014; Pellet e Roizman,2013. Adaptado.

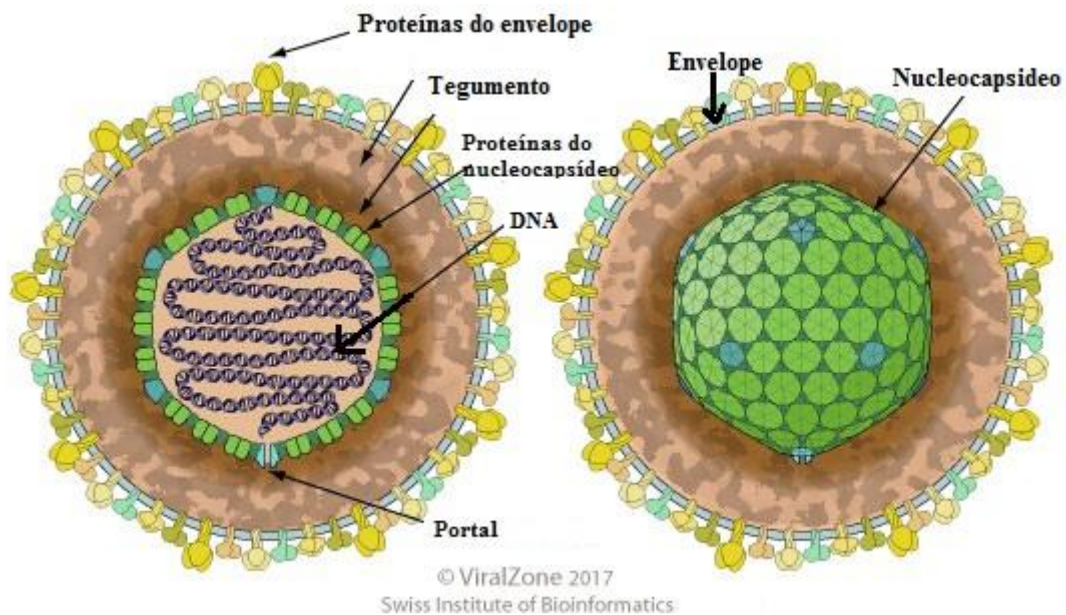
Nome ICTV	Abreviação	Sinônimo	Subfamília
<i>Alphaherpesvirus cercopithecine 9</i>	CeHV-9	Varicela símio / <i>Herpesvirus cercopithecine 9</i>	$\alpha$
<i>Alphaherpesvirus macacine 1</i>	McHV1/ Macacine HV1	Vírus B/ HV simiae/ <i>Herpesvirus cercopithecine 1</i>	$\alpha$
<i>Betaherpesvirus macacine 3</i>	McHV-3 / Macacine HV3	<i>Herpesvirus cercopithecine 8</i> Citomegalovírus macaco Rhesus	$\beta$
<i>Gammaherpesvirus macacine 4</i>	McHV-4/ Macacine HV4	EBV like-Rhesus/ <i>Herpesvirus linfocripto rhesus/</i> <i>Herpesvirus cercopithecine 15</i>	$\gamma$
<i>Gammaherpesvirus macacine 5</i>	McHV-5 / Macacine HV5	<i>Herpesvirus cercopithecine 17</i>	$\gamma$
<i>Gammaherpesvirus saimiriine 2</i>	SaHV-2 Saimiriine HV-2	-	$\gamma$
<i>Betaherpesvirus saimiriine 3</i>	SaHV-3 Saimiriine HV-3	Citomegalovírus 1 macaco-esquilo	$\beta$
<i>Alphaherpesvirus ateline 1</i>	AtHV-1	Herpesvírus do macaco-aranha	$\alpha$
<i>Alphaherpesvirus cercopithecine 2</i>	CeHV-2	SA8	$\alpha$
<i>Alphaherpesvirus papiine 2</i>	PaHV-2	Herpes papio 2	$\alpha$
<i>Alphaherpesvirus paniine 3</i>	PnHV-3		$\alpha$
<i>Alphaherpesvirus saimiriine 1</i>	SaHV-1	Herpes T	$\alpha$
<i>Alphaherpesvirus cercopithecine 5</i>	CeHV-5	Citomegalovírus do macaco-verde africano	$\alpha$
<i>Gammaherpesvirus callitrichine 3</i>	CalHV-3	Linfocriptovírus de sagui	$\gamma$
<i>Gammaherpesvirus cercopithecine 14</i>	CeHV-14	Vírus de macaco- verde africano	$\gamma$

		semelhante ao Epstein-Barr	
<i>Gammaherpesvirus gorilline 1</i>	GoHV-1	Herpes de Gorila	γ
<i>Gammalfaherpesvirus panine 1</i>	PnHV-1	Pongine hepesvírus 1/ Herpes de chimpanzé	γ
<i>Gammalfaherpesvirus papiine 1</i>	PaHV-1	Cercopithecine Herpesvirus 1/ Herpes de babuíno	γ
<i>Gammalfaherpesvirus pongine 2</i>	PoHV-2	Herpes de orangotango	γ
<i>Gammaherpesvirus ateline 2</i>	AtHV-2	Herpes <i>ateles</i> amostras 810	γ
<i>Gammaherpesvirus ateline 3</i>	AtHV-3	Herpes <i>ateles</i> amostras 73	γ
<i>Gammaherpesvirus saguinine 1</i>	SgHV-1	Herpes saguinus	γ

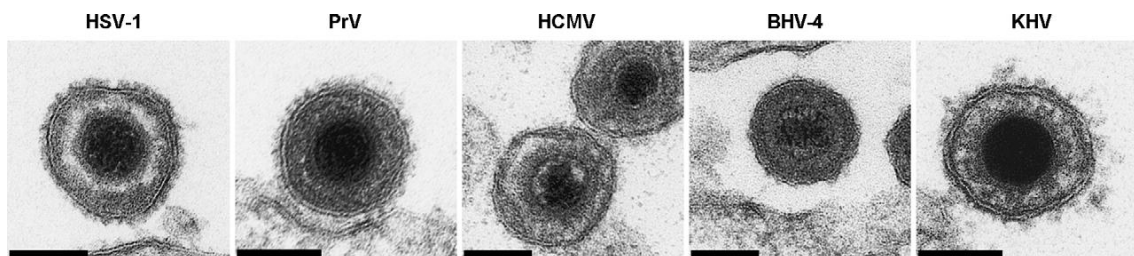
## 1.2. Morfologia dos herpesvírus

Um herpesvírus consiste basicamente de DNA linear em dupla fita no interior do núcleo, com tamanho que varia de 124 a 295 quilobase; capsídeo icosaédrico com aproximadamente 125 nanômetros de diâmetro; estrutura amorfa envolta do capsídeo, chamado tegumento; envelope lipídico contendo glicoproteínas virais, o número e a quantidade relativa variam de acordo com cada vírion. Os herpesvírus variam de tamanho, cerca de 120 a 260 nm de diâmetro (Figura 1.2 e 1.3) (Pellet e Roizman, 2013). As estruturas morfológicas representadas no *Alphaherpesvirus humano 1* podem ser observadas na figura 1.2.





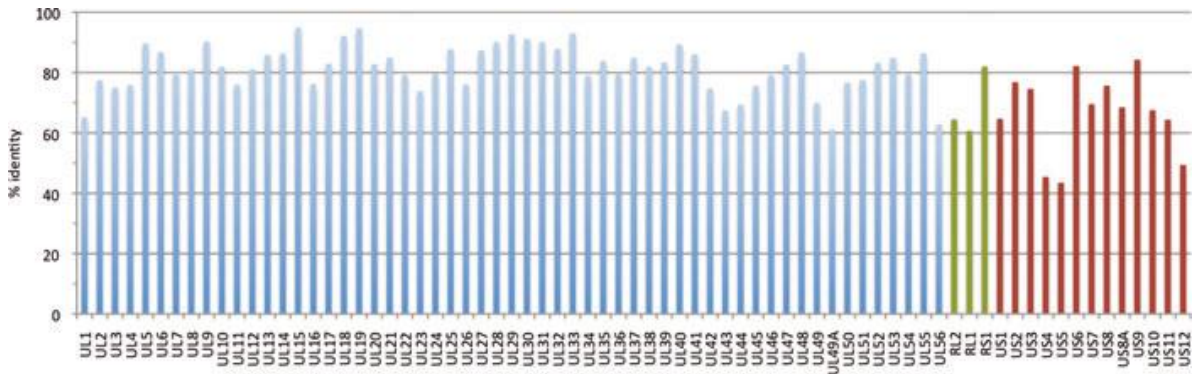
**Figura 1.2. Elementos estruturais do virion *Alphaherpesvirus humano 1* (HHV-1).** A figura evidencia um modelo do *Alphaherpesvirus humano 1* e suas estruturas. As setas indicam as glicoproteínas, o envelope, o tegumento, o capsídeo e o núcleo onde se localiza o DNA. Fonte: (Heming *et al.*, 2017) Adaptado.



**Figura 1.3. Morfologia do virion dos herpesvírus.** A microscopia eletrônica mostra em sequência os *Alphaherpesvirus humano 1* (HSV-1 ou HHV-1), *Alphaherpesvirus pseudorabies* (PrV), *Betaherpesvirus humano 5* (HVMC), *Gammaherpesvirus bovine 4* (BHV-4), *Alloherpesvirus koi* (KHV) no meio extracelular. Fonte:(Mettenleiter *et al.*, 2009)Adapatado.

Após a infecção, o genoma de DNA linear torna-se circular no núcleo da célula hospedeira. Em sua composição, o DNA dos herpesvírus possuem cerca de 31% a 77% de Guanina e Citosina em seu material genético, por exemplo o genoma do *Alphaherpesvirus humano 1* possui 68,3% de G+C (130). A maioria dos genes dos herpesvírus contém um conjunto de elementos promotores/reguladores que estão localizados após o 50 a 200 bp do TATA box (Pellet e Roizman, 2013).

Além disso, o genoma dos membros da família *Herpesviridae* codifica entre 70 a 200 proteínas (Figura 1.4). Estes genes por conter regiões conservadas, estão relacionados aos estudos de biologia molecular (Pellet e Roizman, 2013).



**Figura 1.4. Níveis de conservação de genes entre HHV-1 e HHV-2.** Genes em UL. A figura evidencia níveis de conservação entre os genes do HHV-1 e HHV-2. Através do programa de alinhamento GCG (Gap). Fonte:(Davison, 2011) Adaptado.

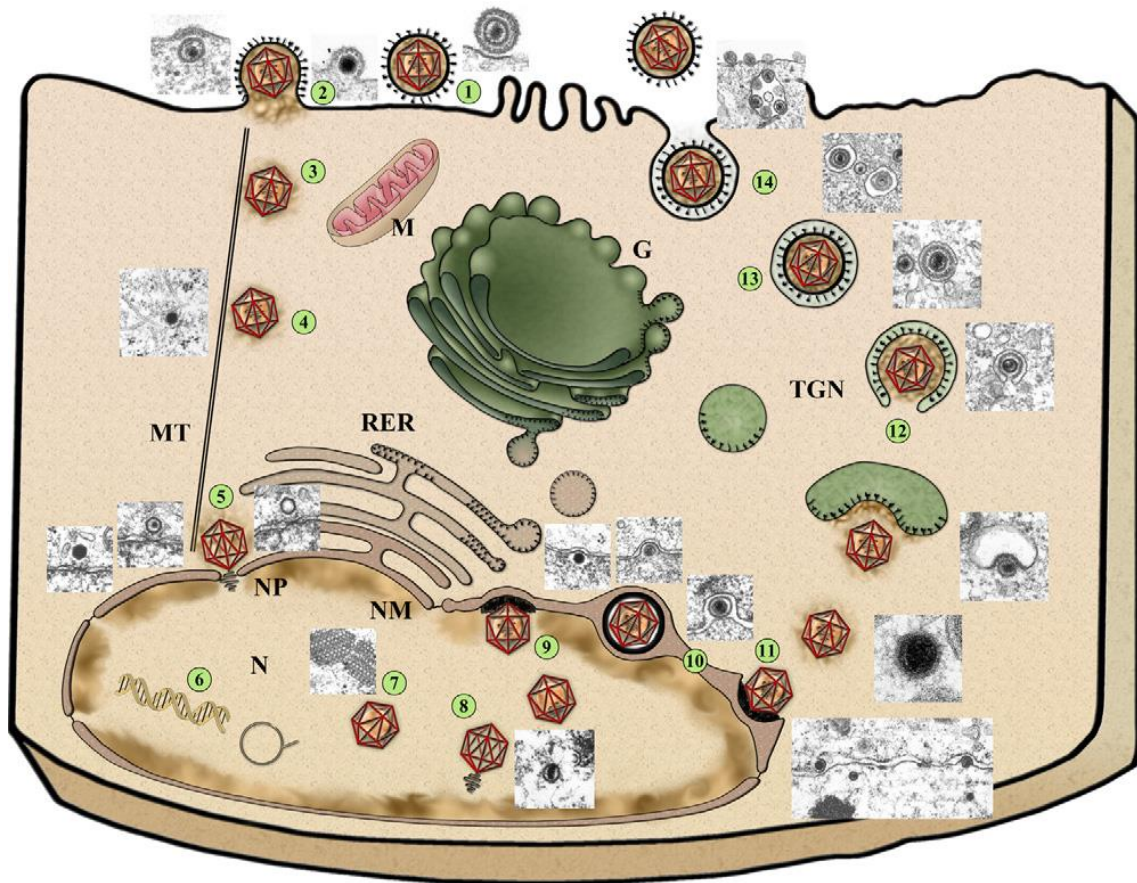
### 1.3. Replicação dos herpesvírus

A infecção é iniciada através da adsorção, mediada por glicoproteínas virais que se ligam às cadeias de glicosaminoglicano, presentes na superfície celular do hospedeiro. Entre eles, o heparansulfato (HS), que é considerado o principal receptor de ligação ao herpesvírus, tendo um papel fundamental na aderência das glicoproteínas C (gC), B (gB) e G (gG) na superfície da célula alvo (Di Giovine *et al.*, 2011). A interação de gC e gB com receptor de herpesvírus é útil com a participação de gD no processo. Vários receptores celulares para gD são conhecidos como mediadores de entrada de herpesvírus (HVEM), como exemplo, as nectinas 1 e 2 (Li *et al.*, 2014). Quando gD interage com um desses receptores, sua cadeia polipeptídica sofre uma mudança conformacional que permite a interação com o heterodímero gH / gL. Esta interação expõe os domínios de fusão de gB e do heterodímero levando à fusão do envelope viral com a membrana plasmática da célula alvo (Di Giovine *et al.*, 2011).

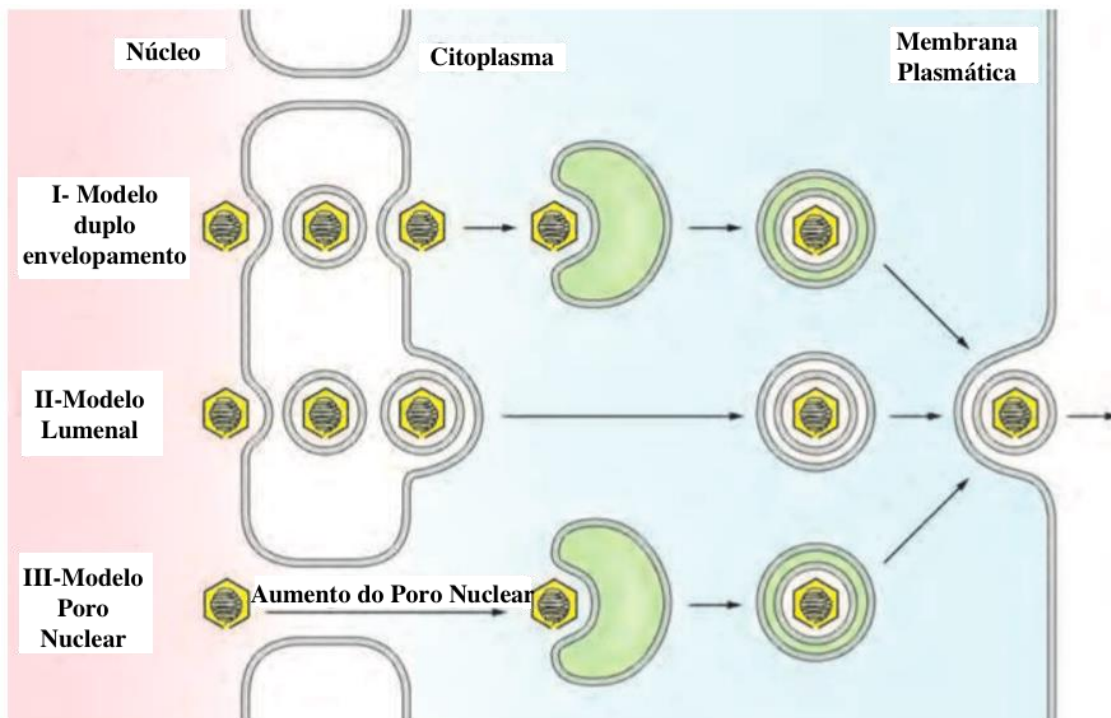
Após a penetração no citoplasma, o DNA é transportado através de microtúbulos de citoesqueleto por um poro da membrana nuclear, onde o DNA viral é liberado dentro núcleo. Os processos de transcrição e replicação do genoma viral, bem como a montagem de capsídeos, ocorrem dentro do núcleo (Roizman & Whitley, 2013).

O ciclo lítico dos herpesvírus envolve a expressão regulada de forma sequencial e coordenada de três conjuntos de genes virais:  $\alpha$  ou imediato (*immediate early (IE)*),  $\beta$  ou inicial (*E*),  $\gamma$  ou tardio (*late (L)*). No núcleo, inicialmente, o DNA viral é transcrito pela RNA polimerase II da célula hospedeira e os primeiros genes a serem transcritos são os genes  $\alpha$ , logo após a formação do complexo ativador, seis proteínas  $\alpha$  são sintetizadas nos estágios iniciais de uma infecção: ICP0, ICP4, ICP22, ICP27, ICP47 e U<sub>S</sub>1.5. Depois, cerca de três horas de infecção ocorre a produção maior de proteínas. Uma vez em quantidade suficiente, as proteínas  $\alpha$  retornam ao núcleo para ativar a transcrição e tradução dos genes  $\beta$ , em proteínas iniciais ou polipéptidos  $\beta$ , responsável pela replicação de ácido nucleico viral, DNA polimerase e timidina quinase. À medida que as proteínas  $\beta$  são expressas, várias proteínas celulares migram para o núcleo e se juntam para formar o complexo de replicação nos sites pré-replicativos onde a síntese do DNA viral se inicia (Knipe e Cliffe, 2008). Após a replicação do genoma, o terceiro grupo de genes é expresso. Os genes  $\gamma$  são regulados por proteínas  $\alpha$  e  $\beta$  e codificam proteínas que formam as proteínas estruturais do vírus, como tegumento, proteínas da cápsideo e glicoproteínas (Cardone *et al.*, 2012).

Uma vez que a nucleocapsídeo maduro é formado no núcleo, seu egresso para o espaço extracelular é mais difícil na medida em que deve atravessar a membrana nuclear, o citoplasma e a membrana plasmática (Johnson e Baines, 2011) (Figura 1.5). A lise celular acontece tardiamente na infecção pelos herpesvírus, assim a saída viral deve ocorrer através de via especializada. Pelo menos três modelos gerais foram propostos para a saída de herpesvirus da célula infectada (Zhang *et al.*, 2003), incluindo duplo envelopamento, a via luminal, (P e Palese, 1976; Palese e Compans, 1976; Zhang *et al.*, 2003) e a via de saída de poros nucleares. A saída dos vírus da célula é dependente das glicoproteínas gD e gH (Roizman *et al.*, 2007) (Figura 1.5 e Figura 1.6).



**Figura 1.5. Ciclo de replicação de *Alphaherpesvirus pseudorabies* (PrV).** O diagrama evidencia o ciclo de replicação em conjunto com micrografia eletrônica em etapa. (1) Após a adesão e (2) penetração, (3) os capsídeos são transportados para o núcleo (N), (4) na via interação com os microtúbulos (MT), (5) ancorando no poro nuclear (NP) no local onde será liberado o genoma viral (6,8) em que ocorre a transcrição e replicação viral, (7) o capsídeo pré-formado, (9, 10,11) seguido por fusão do envelope nuclear dos virions no espaço perinuclear, (12) maturação dos virions no citoplasma, com envelopamento no Complexo de Golgi (TGN), formando a vesícula. (13,14). Após o transporte para a superfície celular (14), vesícula e as membranas plasmáticas se fundem, liberando um virion maduro. Fonte: (Roizman; Mettenleiter *et al.*, 2009).



**Figura 1.6. Modelo proposto para o egresso do *Alfaherpesvirus humano* da célula hospedeira.** Esquema apresenta as vias proposta para o egresso do vírus da célula hospedeira: I- Via Duplo Envelopamento: os nucleocapsídeos sofrem um envelopamento primário na membrana nuclear interna, se tornam desenvolvidas na membrana nuclear externa, novamente sofrem envelopamento secundário na membrana citoplasmática e então são transportados em vesículas para a membrana plasmática onde a fusão da vesícula com a membrana plasmática libera o vírus para o espaço extracelular. II- Via Luminal: o nucleocapsídeo é envolvido na membrana nuclear interna, entra em uma vesícula na membrana nuclear externa e é então transportado para a membrana plasmática onde o vírion é liberado. III- Via Poro Nuclear: os capsídeos saem do núcleo através de poros nucleares ampliados e se envelopam por brotamento de vesículas citoplasmáticas e então, o vírion é transportado para a membrana plasmática onde é liberado. Fonte: (Roizman, Knipe e Whitley; Mettenleiter *et al.*, 2009) Adaptado.

#### 1.4. Latência dos herpesvírus

Os herpesvírus humanos e de primatas não humanos possuem uma longa história de coevolução com a espécie humana e dos PNH, devido, principalmente, à sua capacidade de latência. Os vírus latentes requerem um hospedeiro que permaneça vivo e saudável o suficiente para interagir com os outros. Por exemplo, há infecções por herpesvírus zoonóticos, bem como o Vírus B e o *Gammaherpesvirus murine*. O primeiro tem uma taxa de mortalidade muito alta devido à encefalomielite, mas é rara (Huff e Barry, 2003), enquanto o último é mais comum, possui prevalência de 4,5% em uma população em geral, relativamente benigna (Hricová e Mistríková, 2007).

A latência é um estado de infecção quiescente em que o genoma viral é mantido na ausência de expressão de genes líticos virais e vírus infecciosos detectáveis (Stevens, 1989). Com isso, a persistência viral no organismo do hospedeiro é chamado latência celular. Essa é a propriedade definidora dos herpesvírus, em que é caracterizada entre o período da infecção e a doença. A letência tem a capacidade de reativar em resposta a mudanças no estado do hospedeiro em situação de estresse, doença, imunossupressão (Collins-Mcmillen e Goodrum, 2017).

Para estabelecer a latência, o genoma viral é circularizado em histonas para formar DNA episomal (Wilson e Mohr, 2012), para que a ativação lítica ocorra, o genoma deve ser linearizado, durante a latência, pela DNA polimerase. Isso contrasta com a replicação lítica em que a DNA polimerase viral está envolvida, refletindo uma aquisição viral da célula. Para latência, o vírus depende dos mecanismos epigenéticos do hospedeiro para o silenciamento de genes virais, como a empacotamento do DNA em histonas e metilação (Wilson e Mohr, 2012). A expressão do gene viral durante a latência é restrita a um subconjunto de RNAs ou proteínas que promovem a infecção latente ou restringem a replicação. Na figura 1.7. pode ser observado o diagrama do ciclo de replicação EBV (Figura 1. 7).

Em células que abrigam os vírus no estado latente, os genomas virais geralmente assumem a forma de moléculas circularmente fechadas a partir das quais apenas uma pequena parcela de genes virais é expressa, a fim de evitar a ação do sistema imunológico. Os genomas latentes mantêm a capacidade de se reativar a um estado lítico durante o qual são produzidos novos virions infecciosos. Durante a latência ocorre produção mínima de novos virions, para manter a presença a longo prazo (Grinde, 2013). A reativação da latência celular pode resultar em doença devido a uma combinação entre o dano celular e o tecidual, causado diretamente pela replicação do vírus lítico, além das respostas imunológicas à replicação lítica (Pellett & Roizman, 2013). Os mecanismos moleculares precisos que levam ao estabelecimento e à reativação do estado latente não são totalmente compreendidos e podem diferir de um herpesvírus para outro (Nevels *et al.*, 2011). Cada herpesvírus estabelece latência em um conjunto específico de células, com o local celular de latência diferente de um herpesvírus para outro. Por exemplo, enquanto o *Alfaherpesvirus humano 1 e 2* estabelece latência nos gânglios sensoriais, o *Gamaherpesvirus humano 4* (Epstein-Barr) latente está presente principalmente nos linfócitos B. Dentro de um organismo, um vírus pode ser simultaneamente latente em algumas células e replicar ativamente em

outras. Assim, existem circunstâncias em que o vírus está latente essencialmente em todas as células infectadas, como *Alfaherpesvirus humano 3* (Vírus varicella-zoster ou VZV) (Pellett & Roizman, 2013). E, Assim, em termos gerais, VZV se mantêm latentes em neurônios sensoriais. Os HCMV, HHV6-A, HHV-6B e HHV-7 em células mieloides, e KSHV em linfócitos da linhagem de células B (Preston, 2008). A tabela 1.3. mostra os sítios da infecção dos herpesvirus humanos e a tabela 1.4. mostra os sítios de infecção de herpesvírus de primatas não humanos (Tabela 1.3. e Tabela 1.4.).

**Quadro 1.3. Sítios de infecção dos herpesvírus humanos.**

Fonte:(Grinde,2013;Preston,2008) adaptado.

Nome ICTV	Abreviação	Subfamília	Célula-alvo primária	Sítio de latência
<i>Alfaherpesvirus humano 1</i>	HHV-1	$\alpha$	Mucoepitelial	Gânglios nervosos e sensoriais
<i>Alfaherpesvirus humano 2</i>	HHV-2	$\alpha$	Mucoepitelial	Gânglios nervosos e sensoriais
<i>Alfaherpesvirus humano 3</i>	HHV-3 / VZV	$\alpha$	Mucoepitelial	Gânglios nervosos e sensoriais
<i>Gammaherpesvirus humano 4</i>	HHV- 4 / EBV	$\gamma$	Epitélio e células B	Células B de memória
<i>Betaherpesvirus humano 5</i>	HHV-5 / HCMV	$\beta$	Monócitos, linfócitos e epitélio	Monócitos e linfócitos
<i>Betaherpesvírus humano 6A</i>	HHV-6 <sup>a</sup>	$\beta$	Linfócito T e Epitélio	Leucócitos
<i>Betaherpesvirus humano 6B</i>	HHV-6B	$\beta$	Linfócito T e Epitélio	Leucócitos
<i>Betaherpesvirus humano 7</i>	HHV-7	$\beta$	Linfócito T e Epitélio	Linfócito T; Epitélio
<i>Gammaherpesvirus humano 8</i>	HHV-8	$\gamma$	linfócitos e epitélios	Linfócito B

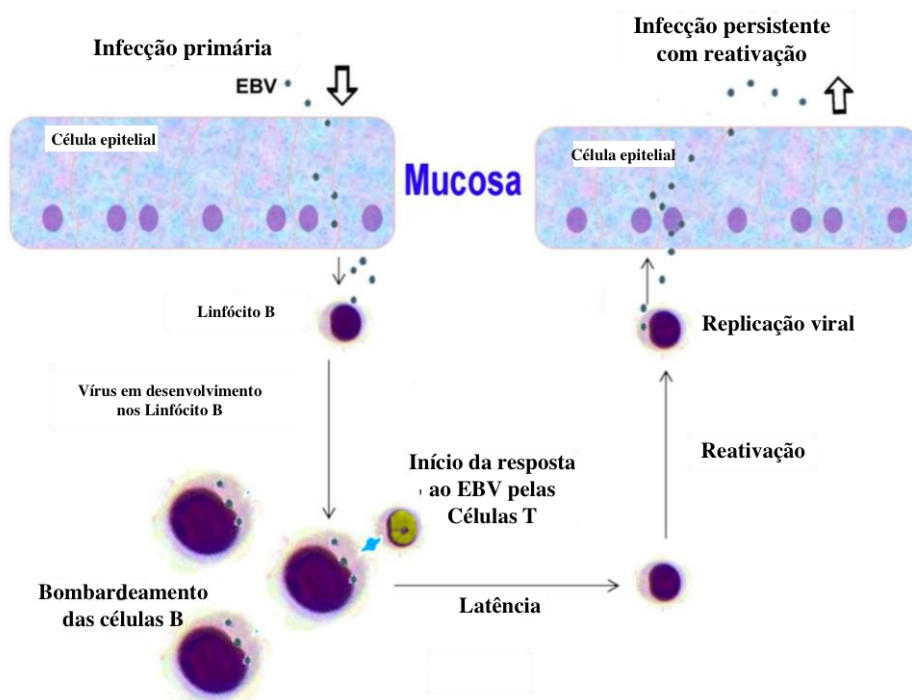
**Quadro 1.4. Sítios de infecção de alguns herpesvírus de primatas não humanos.**

Fonte:( Grinde, 2013; Preston, 2008;(Chang *et al.*, 1994; Cesarman *et al.*, 1995a; Jenson *et al.*, 2000; Pellett e Roizman, 2013).

Nome ICTV	Abreviação	Subfamília	Célula-alvo primária
<i>Alphaherpesvirus cercopithecine 9</i>	CeHV-9	$\alpha$	Mucoepitelial
<i>Alphaherpesvirus macacine 1</i>	McHV1/ Macacine HV1	$\alpha$	Mucoepitelial
<i>Betaherpesvirus macacine 3</i>	McHV-3 / Macacine HV3	$\beta$	Monócitos, linfócitos e epitélio
<i>Gammaherpesvirus macacine 4</i>	McHV-4/ Macacine HV4	$\gamma$	Células linfoblastoides
<i>Gammaherpesvirus macacine 5</i>	McHV-5 / Macacine HV5	$\gamma$	Células linfoblastoides
<i>Gammaherpesvirus saimiriine 2</i>	SaHV-2 Saimiriine HV-2	$\gamma$	Células linfoblastoides
<i>Alphaherpesvirus ateline 1</i>	AtHV-1	$\alpha$	Mucoepitelial
<i>Alphaherpesvirus cercopithecine 2</i>	CeHV-2	$\alpha$	Mucoepitelial
<i>Alphaherpesvirus papiine 2</i>	PaHV-2	$\alpha$	Mucoepitelial
<i>Alphaherpesvirus paniine 3</i>	PnHV-3	$\alpha$	Mucoepitelial
<i>Alphaherpesvirus saimiriine 1</i>	SaHV-1	$\alpha$	Mucoepitelial
<i>Alphaherpesvirus cercopithecine 5</i>	CeHV-5	$\alpha$	Mucoepitelial
<i>Gammaherpesvirus callitrichine 3</i>	CalHV-3	$\gamma$	Células linfoblastoides
<i>Gammaherpesvirus cercopithecine 14</i>	CeHV-14	$\gamma$	Células linfoblastoides
<i>Gammaherpesvirus gorilline 1</i>	GoHV-1	$\gamma$	Células linfoblastoides
<i>Gammaherpesvirus panine 1</i>	PnHV-1	$\gamma$	Células linfoblastoides
<i>Gammaherpesvirus papiine 1</i>	PaHV-1	$\gamma$	Células B
<i>Gammaherpesvirus pongine 2</i>	PoHV-2	$\gamma$	Células linfoblastoides
<i>Gammaherpesvirus ateline 2</i>	AtHV-2	$\gamma$	Células linfoblastoides



<i>Gammaherpesvirus ateline 3</i>	AtHV-3	$\gamma$	Células linfoblastoides
<i>Gammaherpesvirus saguinine 1</i>	SgHV-1	$\gamma$	Células linfoblastoides

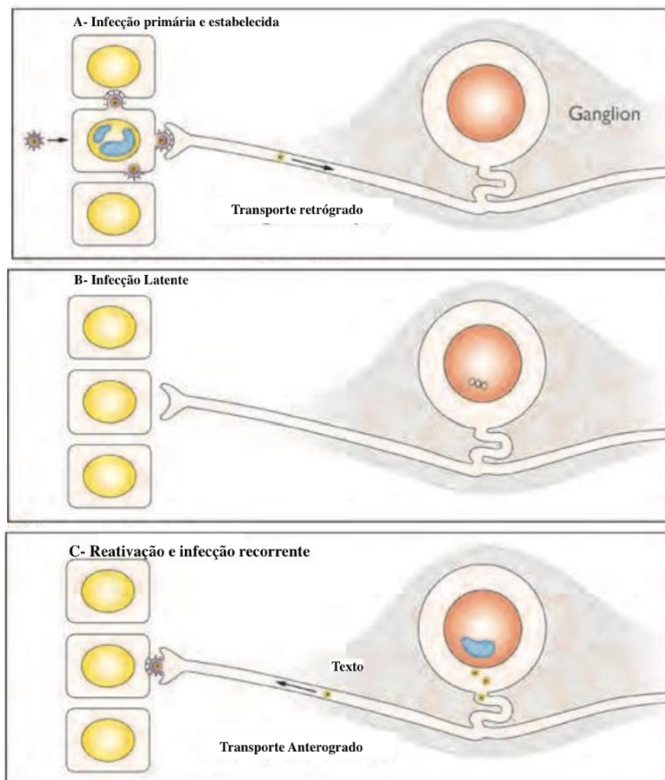


**Figura 1.7. Diagrama esquemático do ciclo de replicação do Vírus Epstein-Barr (*Gammaherpesvirus humano 4*).** Esquema como exemplo de uma estratégia de infecção, desenvolvimento da latência nos Linfócitos B, seguido pela reativação viral com a replicação. Infecção pelo Vírus Epstein-Barr típico. Fonte: Adaptado a partir do Wikimedia Creative Commons, autor Graham Colm.

Durante o período de latência pelo *Alfaherpesvirus humano* existem fatores virais que possuem relevância, o fator LAT (transcrição associada à latência) é uma transcrição do RNA da cadeia *anti-sense* que sobrepõe parte de um gene inicial imediato (ICP-0) do genoma do HHV-1 e sugerido para realizar várias funções, incluindo a inibição do neurônio de apoptose e o aprimoramento da reativação (Cook, Hill, *et al.*, 1991; Cook, Ophth, *et al.*, 1991; Perng *et al.*, 2000; Carr *et al.*, 2001; Perng e Jones, 2010). O LAT foi detectado em células infectadas com HHV-1 durante os estágios de infecção replicante (lítico) e não-replicante (latente) (Cook, Hill, *et al.*, 1991; Bloom, 2006; Perng e Jones, 2010). O LAT é o único gene viral abundante durante

a latência e um marcador molecular conhecido para latência viral (Cook, Hill, *et al.*, 1991) (Figura 1.8.).

Embora, a presença de LAT é comumente usada como evidência de latência de HHV-1. No entanto, a ausência de LAT não é uma indicação de que o tecido e a célula não possuem DNA de HHV-1. Estudos de hibridização *in situ* de LAT e estudos de hibridização *in situ* do DNA de HHV-1 mostraram que nem todas as células latentes possuem LAT detectáveis (Perng *et al.*, 2000; Toma *et al.*, 2008; Perng e Jones, 2010).



**Figura 1.8. Estágios de Infecção pelo *Alfaherpesvirus humano 1*.** A figura evidencia os estágios principais da infecção pelo herpes simples humano tipo 1. Em A: O HHV-1 penetra em superfície de mucosa ou fissura na pele, e se replica nas células epiteliais no local de inoculação e se espalha através do tecido. O vírus invade os axônios dos neurônios sensoriais e transporta para o corpo celular do gânglio. B: O HHV-1 estabelece infecção latente no núcleo das células. O DNA viral é circularizado e montado em cromatina pelas histonas. C: Após danos ou ativação neuronal, o vírus reativa. Os capsídeos são transportados pelo transporte anterógrado para o terminal axonal, e os virions são liberados. O vírus reativado causa uma infecção recorrente no tecido mucoso. Fonte: (Chang & Knipe, 2013) Adaptado.

## **1.5. Herpesvírus em humanos e em primatas não humanos**

A infecção pelos vírus da família *Herperviridae*, que infectam humano e primatas não humanos, de forma geral pode ser definida por três fases distintas: primária, reativação ou latente. E isto por sua vez, depende da quantidade do inóculo viral que iniciam a infecção, gênero infectante e fatores do hospedeiro, como idade, estado imune e estado nutricional (Coura, 2005).

Em seu hospedeiro natural, os herpesvírus normalmente não causam doença grave, porém quando há infecção entre espécies diferentes, pode progredir para casos graves ou até fatais. A proximidade e o contato estreito entre humanos e primatas não humanos facilita a transmissão (Mätz-Rensing *et al.*, 2003).

Além disso, os membros dessa família são diferentes em características de suas propriedades biológicas e patogênicas, podendo ocasionar diversas doenças e infecções divergentes (Sedý *et al.*, 2008). Nos tópicos abaixo estão descritos os principais herpesvírus que acometem os primatas não humanos e o homem.

### **1.5.1 *Alphaherpesvirus humano 1 e 2.***

O HHV foi reconhecido como agente infeccioso no final do século 19, Gruter demonstrou a infecção natural em coelhos (Schaller *et al.*, 1992; Wilson *et al.*, 2006). Sua relação com a reativação foi estabelecida em 1930 por Andrew e Carmichael (Roizman, B *et al.*, 2007). O *Alphaherpesvirus humano 1 e 2* pertencem a subfamília *Alphaherpesvirinae*.

A transmissão do HHV depende do contato íntimo e pessoal entre um indivíduo suscetível e um indivíduo que está excretando o vírus. Para que a infecção inicie, o vírus deve entrar em contato direto com superfícies mucosas ou pele com ruptura (Butel *et al.*, 2012). Geralmente, as infecções por HHV-1 são limitadas à orofaringe e o vírus é transmitido por gotículas respiratórias, saliva ou alimentos contaminados, tanto para o homem quanto para o primata não humano (Figura 1.9).



**Figura 1.9. Herpes recorrente labial.** Fonte: Roizman, Knipe e Whitley, 2013. Adaptado.

Os primatas não humanos são hospedeiros de uma variedade de herpesvírus (Brack, 1977). Esses vírus geralmente causam infecções inaparentes em seu hospedeiro natural, mas estão associados à doença grave quando transmitidos a outras espécies diferentes. A transmissão interespecíes dos herpesvírus é responsável por um alto risco zoonótico e pode resultar em doenças fatais de seres humanos ou animais. O *Alfaherpesvírus humano 1* (HHV-1) é um dos herpesvírus mais bem caracterizado como transmissíveis de humanos para primatas não humanos. Os humanos são os hospedeiros naturais e o reservatório do HHV-1 (Mätz-Rensing *et al.*, 2003).

As manifestações clínicas em primatas não humanos pelo *Alfaherpesvírus humano 1* são similares às manifestações primária em humanos, caracterizado por lesões vesicular ulcerativa oral, periocular, nasal, conjuntivite, apatia, anorexia e ataxia, porém pode ser fatal nestes animais (Costa *et al.*, 2011; Fan *et al.*, 2017) (Figura 1.10).

Em primatas do Velho Mundo, a infecção natural por HHV-1 foi descrita em gorilas (*Gorilla gorilla*) (Heldstab *et al.*, 1981), chimpanzes (*Pan troglodytes*), bonobos (*Pan paniscus*) (Smith *et al.*, 1969) e gibões-de-mãos-brancas (*Hylobates lar*) (Emmons e Lennette, 1970; McClure *et al.*, 1980; Ramsay *et al.*, 1982). Nestas espécies a doença permanece localizada ao tecido mucocutâneo, sendo comparável à doença humana, e geralmente não evolui a uma infecção sistêmica.

Os primatas não humanos e prosimianos do Novo Mundo são mais suscetíveis a infecções e doenças pelo HHV-1, o curso da doença é grave, levando à morte na maioria dos casos. Em macacos-da-coruja (*Aotus trivirgatus*) infectados espontaneamente, é caracterizada por doença febril generalizada, erosões, úlceras de mucosas orais e junções mucocutâneas nos lábios, acompanhada de necrose focal e

hemorragias em todos os órgãos, incluindo do córtex cerebral, levando a morte após cerca de 16 dias do início dos sinais clínicos (Melendez, L.V. *et al.*, 1969; McClure e Keeling, 1971). Lesões macroscópicas semelhantes podem ser observadas em musaranhos naturalmente infectados (McClure *et al.*, 1972), lemures (Kemp *et al.*, 1972), e em espécies de saguis infectados experimentalmente (*Callithrix* spp., *Saguinus* spp.) (Hunt e Meléndez, 1969). Na figura 1.10. observa-se a infecção espontânea por HHV-1, um caso fatal em saguis de tufos-de-orelha-preta, após contato com homem com lesão pelo HHV-1 (Juan-Salle S *et al.*; Mello e Raick, 1985; Bruno *et al.*, 1997).



**Figura 1.10.** *Callithrix penicillata* da Fundação Zoo-Botânica, Minas Gerais. Primata não humano infectado com *Alphaherpesvirus humano 1*, evidenciando lesões ulcerativas e erosivas na face, a região periocular, nasal e lábios. Fonte: Fan., et al 2016; Costa et al., 2011. Adaptado.

No homem as infecções primárias podem causar mal-estar, febre ou adenopatia localizada. Os surtos subsequentes são geralmente mais leves e são causados pela reativação do vírus latente (CDC e Prevention, 2010; Bernstein *et al.*, 2013). O HHV-2 geralmente é transmitido através da atividade sexual. No entanto, o HHV-1 também pode ser transmitido para a área genital através do contato orogenital em humanos (Organização Mundial da Saúde, 2017). A apresentação clássica do HHV 1 e 2, seja infecção primária ou secundária, na maioria das vezes é de forma assintomático (Corey e Wald, 2008). Cerca de 65% a 90% das infecção genitais são assintomáticos (Schillinger *et al.*, 2008; Prevention, 2010; Bernstein *et al.*, 2013). As infecções genitais primárias e secundárias de HHV-1 tendem a ser mais leves do que as infecções pelo HHV-2. Pacientes com HHV-1 em média possuem de zero a uma recorrência por ano, enquanto o HHV-2 repete quatro vezes anualmente, com os dois tipos diminuindo na recorrência ao longo do tempo (Corey e Wald, 2008). A herpes genital é caracterizada por vesículas ulcerativas na região do peniana, cérvix, vulva, vagina ou períneo (Penello

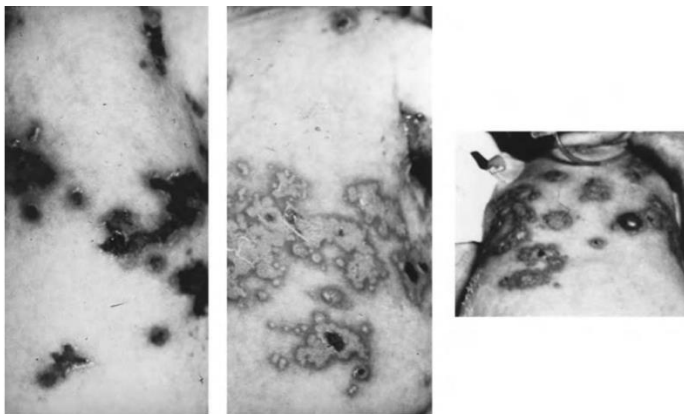
*et al.*, 2010) (Figura 1.11). A reativação da infecção orofacial e genital, é característica do pródromo, acompanhado de sensação de dor, queimadura, área irritada ou formigamento. Outras manifestações descritas incluem ceratoconjuntivite, lesão cutânea, inflamação em torno das unhas, inflamação na língua, eritema, exantema nas costas, nos braços e na cabeça (Arduino e Porter, 2008) (Figura 1.12).



Figura a

Figura b

**Figura 1.11 Infecção por *Alphaherpesvirus humano 2* na área genital feminina (figura a) e masculino (figura b).** Fonte: Roizman, Knipe e Whitley, 2013. Adaptado.



**Figura 1.12. Exantema em neonato pelo *Alfaherpesvirus humano 1*.**Fonte: Roizman, knipe e Whitley, 2013.

### 1.5.2. *Alphaherpesvirus humano 3* ou Vírus Varicella-Zoster

O vírus Varicella-zoster é transmitido através da inalação das partículas virais infecciosas suspensas no ar e contato direto com as lesões de pele do homem infectado (Davis, 2006; Papaloukas *et al.*, 2014).

Em 1967, Clarkson e colegas relataram surto de doença *varicela-like* em macacos vervet introduzidos em colônia de criação (Clarkson *et al.*, 1967). O *Alphaherpesvirus cercopithecine 9* ou vírus da Varicela símio (SVV), causa doença natural em primatas não humanos, e é homólogo a varicela em humanos. SVV causa doença natural em primatas não humanos com características clínicas, patológicas e imunológicas semelhantes à infecção por varicela humana (Wenner *et al.*, 1977; Dueland *et al.*, 1992; Gray *et al.*, 1995; Gray *et al.*, 1998; Messaoudi *et al.*, 2009; Ouwendijk *et al.*, 2012). O SVV é transmitido via aerossóis ou contato direto, a infecção natural e experimental resulta em erupção cutânea vesicular generalizada que aparece em sete a quatorze dias após o período da incubação (Clarkson *et al.*, 1967; Mccarthy *et al.*, 1968; Blakely *et al.*, 1973; Allen *et al.*, 1974; Wolf *et al.*, 1974; Wenner *et al.*, 1977; Schmidt *et al.*, 1983; Dueland *et al.*, 1992; Gray *et al.*, 1995; Gray *et al.*, 1998; Messaoudi *et al.*, 2009; Ouwendijk *et al.*, 2012). As manifestações clínicas adicionais incluem febre, perda de apetite, letargia e desenvolvimento de hepatite, dermatite eritematosa e vesicular, necrose hemorrágica do fígado, pulmões e outros órgãos viscerais (Clarkson *et al.*, 1967; Mccarthy *et al.*, 1968; Blakely *et al.*, 1973; Allen *et al.*, 1974; Wolf *et al.*, 1974; Wenner *et al.*, 1977; Schmidt *et al.*, 1983; Gray *et al.*, 1998; Gray, 2004; 2008; Messaoudi *et al.*, 2009).

O vírus da varicela símio (SVV) está associado a surtos de doença similares a varicela em uma variedade de primatas não humanos (PNH) do Velho Mundo (Gray, 2004; 2008). Surtos de doenças associadas ao SVV resultaram em mortes de cerca de 2 a 74% dos animais clinicamente afetados, descritos em macacos patas (*Erythrocebus patas*), verdes africanos (*Chlorocebus aethiops*) e macacos do gênero *Macaca* (Gray, 2008). Além disso, anticorpos contra a SVV foram descritos em colônia de babuíno-verde-oliva (*Papio cynocephalus anubis*), em ausência de sinais clínicos a doença à varicela ou o falecimento desses animais (Payton *et al.*, 2004).

No ser humano, o vírus Varicella-zoster (VZV) pertence à subfamília *Alfaherpesvirinae* da família *Herpesviridae*. A infecção primária por VZV geralmente ocorre na infância, caracterizada por febre e uma erupção vesicular generalizada e pruriginosa. O VZV infecta os linfócitos T, o que permite a disseminação do vírus dos locais da inoculação na pele durante a infecção primária. VZV torna-se latente nos gânglios e pode se reativar, a infecção é caracterizada por dor e erupção cutânea. O VZV possui um período de incubação que varia de 10 a 21 dias. Sintomas prodrômicos de febre, mal-estar, dor de cabeça, vômito, encefalite e ataxia cerebelar ocorre dentro de 2 a 8 dias (Arvin e Gilden, 2013), podendo ocasionar necrose da retina (Kim *et al.*, 2018).

O vírus Varicela-Zoster (VZV) causa varicela em crianças, estabelece infecção latente em gânglios e pode reativar como zoster na fase adulta. Os primatas não humanos infectados experimentalmente com o vírus da varicela simiã (SVV), exibem características clínicas, patológicas semelhantes e imunológicas as da infecção por VZV em humanos (Mahalingam *et al.*, 2010).

Com relação à epidemiologia das infecções causadas pelo VZV, às taxas de infecção por esse herpesvírus são muito altas e se aproximam em 100% na maioria dos países do mundo (Ross, 1962). Infecções subclínicas também foram documentadas, já que três quartos dos adultos que não relatam história de infecção por varicela possuíam anticorpos contra o vírus (Larussa *et al.*, 1985).

### **1.5.3 *Gammaherpesvirus humano 4* ou Vírus Epstein-Barr**

Primatas não humanos são infectados por linfocriptovírus (LCV), o *Gammaherpesvírus macacine 4* (McHV4), também chamado de *Linfocriptovírus rhesus* (RhLCV). O Rhesus LCV demonstra alta homologia genética e biológica ao EBV (Wang, Rivaller, Rao e Cho, 2001; Carville e Mansfield, 2008). LCVs ortólogos podem ser encontrados em uma gama variedade de outros primatas não humanos do Novo e do Velho Mundo, incluindo o chimpanzé, gorila, orangotango, babuíno, macaco verde africano, macaco-prego e sagui (Roizman, B. *et al.*, 2007). A epidemiologia do RhLCV em primatas não humanos de cativeiro é similar ao EBV na população humana. Cerca de 1 ano de idade, 80 a 90% dos macacos jovens se tornaram infectados pelo RhLCV e desenvolveram resposta a anticorpos específicos (Vogel *et al.*, 1994). Várias espécie de primatas do Novo Mundo e do Velho Mundo são hospedeiros para o gênero *Linfocritovirus*, sendo homólogos ao EBV, como *Gamaherpesvirus cercopithecine 14*



descrito em macaco-verde-da-África (Böcker *et al.*, 1980), *Gammaherpesvirus goriline 1* em gorila (Neubauer *et al.*, 1979), *Gammaherpesvirus papiine 1* em babuínos cativos (Jenson *et al.*, 2000), *Gammaherpesvirus pongine 1* em orangotangos (Sakulwira *et al.*, 2004), o *Betaherpesvirus macacine 3* ou *Herpesvirus cercopithecine 15*, relatado em macaco rhesus (Rivailler, Jiang, *et al.*, 2002) e cinomolgos, o *Gammaherpesvirus callitrichine 3* em sagui, primata do novo mundo (Rauscher *et al.*, 1988; Valegård *et al.*, 1990; Li *et al.*, 1994; Valegård *et al.*, 1994; Lander *et al.*, 2001; Rivailler, Cho, *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2010) (Laskus *et al.*, 1997; Tacket *et al.*, 2003; Maurer *et al.*, 2004; Paweska *et al.*, 2006; Pearce e Lyles, 2009). Em infecção experimental de PNH com EBV não foi observado manifestações clínicas ou infecção persistente como observado em humanos, sugerindo algum grau de restrição de espécies hospedeiras (Mühe e Wang, 2015).

O *Gammaherpesvirus saimiri 2* ou *herpesvírus saimiri*, um vírus T-linfotrópico do tipo 2, é conhecido por causar linfomas fulminantes, linfossarcomas e leucemias em células T em macacos do Novo Mundo, como os tamaris, o sagui comum e o macaco coruja (Fleckenstein e Desrosiers, 1982; Jung e Desrosiers, 1994; Jung *et al.*, 1999). No entanto, em macaco esquilo a doença se apresenta de forma assintomática. (Falk *et al.*, 1972). A transmissão ocorre através da saliva infectada e persiste ao longo da vida do animal (Melendez *et al.*, 1968).

No século 19, foi descrito pacientes humanos com sintomas similares a mononucleoses, e nomeada em 1920 como mononucleose infecciosa, mais tarde como o uso da microscopia eletrônica foi detectado em cultura de linfoma de Burkitt em 1964 por Epstein e Barr (Ranasinghe e Ramshaw, 2009), e posteriormente foi nomeado como Epstein-Barr. Em 2015, O Comitê Internacional de Taxonomia Viral renomeou em *Gamaherpesvirus humano 4* de acordo com sua subfamília.

O EBV em humanos é transmitido através da saliva, secreções genitais e transmissão vertical e esta presente nas células do colo do útero da mulher (Thomas *et al.*, 2006; Kaspersen e Höllsberg, 2013). Em países desenvolvidos, a primo-infecção ocorre geralmente na adolescência ou nos adultos jovens (Agergaard e Larsen, 2015). A gravidade dos sintomas relaciona-se com a resposta imunológica, sendo a infecção habitualmente subclínica ou assintomática, durante a infância, e fracamente sintomática durante a adolescência (Moreira *et al.*, 2011 (Barreales *et al.*, 2006; Salva *et al.*, 2013)

Neste grupo etário pode manifestar-se como mononucleose infecciosa (MNI) (Dermidal e Dermirtuk, 2007; Yang *et al.*, 2014). No início dos sintomas, existe um período prodrômico com astenia, anorexia e mialgias, observando esplenomegália e/ou hepatomegália (Dermidal e Dermirtuk, 2007). Em cerca de 50% do pacientes como mononucleose infecciosa apresentam linfadenopatia, faringite e encefalite (Wilson, 1984; Sabat *et al.*, 2015).

A prevalência das infecções causadas pelo EBV varia de acordo com a região geográfica, no homem adulto a soroprevalência esta em torno de 90 a 100% no mundo (Beaulieu e Sullivan, 2002; Rickinson e Kie, 2007). Em Gana, 82% das crianças tiveram uma infecção primária por EBV aos 18 meses de idade e nos Estados Unidos a taxa de infecção em homens foi cerca de 50–70% (Biggar *et al.*, 1978; Beaulieu e Sullivan, 2002).

#### **1.5.4 *Betaherpesvirus humano 5* ou Citomegalovírus humano**

Na infecção por RhCMV (*Betaherpesvirus macacine 3* ou *Cercopithecine herpesvirus 8* ou Rhesus cytomegalovirus) considerado homólogo ao citomegalovirus humano, as manifestações por RhCMV em primatas não humanos incluem pneumonia intersticial, encefalite, gastroenterite, linfadenite (Baskin, 1987; Assaf *et al.*, 2012) e retinite associada a RhCMV (Conway *et al.*, 1990). HCMV e RhCMV são infecções virais similares de humanos e primatas não humanos, respectivamente (Kolson e Gonzalez-Scarano, 2001; Kaygusuz *et al.*, 2004). Na Figura 1.13, pode ser observado lesão de lábio em macaco rhesus devido a infecção por *Betaherpesvirus macacine*.

As infecções causadas pelo HCMV e homólogos, segundo Wachtman e Mansfield, e a infecção por RhCMV (*Betaherpesvirus macacine 3* ou *Cercopithecine herpesvirus 8* ou Rhesus cytomegalovirus) em colônias de macacos rhesus adultos se aproxima de 100% (Wachtman e Mansfield, 2012).



**Figura 1.13. Lesão de lábio em macaco rhesus devido a infecção por *Betaherpesvirus macacine 3*.** Fonte: (Assaf *et al.*, 2015).

Thomas Weller em Harvard e Wallace Rowe no Instituto Nacional de Saúde nos EUA isolaram o CMV na glândula salivar humana de recém-nascido em 1950, sendo os primeiros a isolarem o vírus de humanos (Zerboni *et al.*, 2011).

O Citomegalovírus humano é transmitido através de fluidos biológicos de pacientes infectados que excretam o vírus pela saliva e urina, o vírus pode ser transmitido para o neonato pelo contato com o trato genital materno durante o parto, pelo leite materno e transfusões sanguíneas (Ballard *et al.*, 1979; Yeager *et al.*, 1983; Vochem *et al.*, 1998; Hamprecht *et al.*, 2001; Meier *et al.*, 2005; Hamprecht *et al.*, 2008)

As manifestações clínicas incluem febre, mal-estar, leucopenia e trombocitopenia, podendo também envolver alguns órgãos como rim, pulmão, pâncreas, sistema Nervoso Central (Trimarchi *et al.*, 2001; Razonable e Humar, 2013). Quando o CMV acomete a pele gerando lesões cutâneas pode ser fatal (Figura 1.14) (Evans e Williams, 1968; Swanson e Feldman, 1987; Toome *et al.*, 1991; Colsky *et al.*, 1998) e, em 10% dos pacientes ocorre a doença heterofílica, anticorpos-negativos similar a mononucleose (Nankervis *et al.*, 1984; Yow *et al.*, 1988; Raynor, 1993).

Em neonatos, em sua maioria a infecção é de forma assintomática, por ter adquiridos anticorpos da mãe, a infecção sintomática pode se manifestar como neomonite (Whitley *et al.*, 1976; Stagno *et al.*, 1981), hepatite, enterite (Cheong *et al.*, 2004; Buonomo *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2007), linfadenopatia (Kumar *et al.*, 1984) e meningite asséptica (Baquero-Artigao *et al.*, 2004).



**Figura 1.14. Ulceração cutânea pelo citomegalovírus humano. Fonte:** (Evans e Williams, 1968; Swanson e Feldman, 1987; Toome *et al.*, 1991; Colsky *et al.*, 1998)

### **1.5.5. *Gamaherpesvirus humano 8* ou Sarcoma de Kaposi associado à herpesvírus**

Em PNH, foram detectados sequências incompletas de rhadinovírus homólogos e evidenciado a similiaridade com *Gamaherpesvirus macacine 5* e *Gamaherpesvirus ateline*, similar ao *Gamaherpesvírus humano 8* ou Sarcoma de Kaposi em humanos. O Rhadnovírus foram documentados em espécies de primatas do Velho Mundo, como gorilas, chimpanzés e macaco rhesus, macacos verdes africanos, babuínos, e mandrils; esses vírus distribuem-se em duas linhagens, denominado RV1 e RV2 (Rhadnovírus 1 e 2) (Cesarman *et al.*, 1995b; Desrosiers *et al.*, 1997; Rose *et al.*, 1997; Greensill, Sheldon, Murthy, *et al.*, 2000; Greensill, Sheldon, Renwick, *et al.*, 2000; Lacoste *et al.*, 2000; Whitby *et al.*, 2003; Duprez *et al.*, 2004; Westmoreland e Mansfield, 2008; Bates *et al.*, 2009). O *Gammaherpesvirus ateline 3* do gênero Rhadinovirus induz linfoma letal de células T em macacos do Novo Mundo, assim como, em macaco-aranha (Hunt, Meléndez, *et al.*, 1972; Melendez *et al.*, 1972; Falk *et al.*, 1974).

O *Gamaherpesvirus Saimirine 2* (SaHV2) infecta populações endêmicas de macacos-esquilo nas Américas Central e do Sul, onde 80% desses animais livres possuem a infecção persistente (Falk *et al.*, 1972; Jung *et al.*, 1999). Estudos realizados com o *Gammaherpesvirus macacine 5* (McHV5 ou Rhadinovirus Rhesus (RhRV)), similar ao *Gamaherpesvirus humano 8*. Nos Estados Unidos revelou que 90-95% dos macacos jovens têm uma resposta de anticorpos ao RhRV (Desrosiers *et al.*, 1997; Bergquam *et al.*, 1999; Mansfield *et al.*, 1999).

O *Gamaherpesvírus humano 8* ou Sarcoma de Kaposi, associado a herpesvírus foi descrito primeiro por Moritz Kaposi em 1872 como "sarcoma pigmentado múltiplo idiopático de pele", e ocorre principalmente em homens idosos de origem mediterrânea

(Braun, 1982). O Sarcoma de Kaposi é considerado uma neoplasia incomum. As manifestações clínicas podem variar de forma lenta a progressiva, localizada na pele, podendo progredir para vários órgãos (Maclean, 1963; Slavin *et al.*, 1970). O KSHV está relacionado com duas malignidades em células B, linfoma primário de efusão (PEL) (Cesarman *et al.*, 1995a) e doença de Castleman's (MCD) (Soulier, 1995). O KSHV foi classificado como cancerígeno de classe I por IARC/Organização Mundial da Saúde em 2009 (Bouvard *et al.*, 2009; Iarc, 2012).

O *Gamaherpesvírus humano 8* pode ser transmitido entre outros humanos através da saliva, principalmente durante a infância (Blackbourn *et al.*, 1995; Koelle *et al.*, 1997; Cattani *et al.*, 1999; Dedicoat *et al.*, 2004; Mancuso e Al., 2011) e entre família, de mãe para filho e entre os irmãos (Plancoulaine *et al.*, 2000; Brayfield *et al.*, 2004; Dedicoat *et al.*, 2004; Borges e Al., 2012; Mbulaiteye e Al., 2012).

### **1.5.6 *Alphaherpesvirus macacine 1* ou Vírus B**

O vírus B é endêmico em primatas não humanos, está intimamente relacionado com vírus herpes simples em humanos e a maioria dos PNH apresenta infecção assintomática (Elmore e Eberle, 2008). A prevalência de anticorpos para vírus B em PNH é de 70% a 100%, sendo que 1% a 2 % manifestam a doença (Jones-Engel *et al.*, 2006). A infecção sintomática pelo vírus B no sistema nervoso central (SNC) é rara no hospedeiro natural, e geralmente esta associada à imunossupressão (Kirschstein *et al.*, 1961; Carlson *et al.*, 1997). Nos casos humanos, o vírus se espalha pelo sistema nervoso central, causando paralisia ascendente aguda e encefalomielite com taxa de mortalidade de 80% se não tratados em tempo hábil (Sabin e Wright, 1934; Davidson e Hummeler, 1960; Hull, 1973; Palmer, 1987; Holmes *et al.*, 1990; Whitley e Hilliard, 2007). A transmissão ocorre principalmente através do contato com saliva, mucosas, pele e genitais infectadas, e também por mordidas, arranhões de primatas não humanos para o homem (CDC, 1995; Holmes *et al.*, 1995).

### 1.5.7. *Gamaherpesvirus callitrichine 3* ou *CalHV-3*

Em 2002, a análise parcial da sequência genômica identificou, o CalHV-3 como um membro do gênero do linfocriptovírus (LCV) relacionado ao vírus Epstein-Barr (EBV) e ampliou uma gama de hospedeiros conhecidos para LCVs, além dos humanos e dos primatas não humanos do Velho Mundo (Rivailler, Cho, *et al.*, 2002).

Este linfocriptovírus infecta naturalmente os PNH e são conhecidos por ser biologicamente semelhante ao EBV, e apresentam relação de especificidade com seu hospedeiro natural (Wang, Rivailler, Rao e Cho 2001). A infecção por LCV é comum em primatas não humanos adultos do Velho Mundo, e esses animais abrigam o vírus ao longo da vida, mantendo-se nas linfócitos B (Moghaddam *et al.*, 1997; Ramer *et al.*, 2000). O herpesvírus homólogo ao EBV também pode infectar os primatas do Novo Mundo (Cho *et al.*, 1999). O *Gamamaherpesvirus callitrichine 3* (CalHV-3) foi isolado do linfoma de células B, nos Primatas do Novo Mundo, por exemplo no *Callithrix jacchus*, o sagui comum (de tufo-branco) e, é considerado como o terceiro herpesvírus descrito infectando naturalmente os membros da família *Callitrichidae* de primatas do Novo Mundo. Este vírus por sua vez pode causar doença linfoproliferativa e ser fatal em seu hospedeiro natural (Falk *et al.*; Ablashi *et al.*, 1972; Hunt, Melendez, *et al.*, 1972; Cicmanec *et al.*, 1974; Deinhardt, 1974; Anzil *et al.*, 1977; Lapin *et al.*, 1979; De-Thé *et al.*, 1980; Johnson, 1984; Feichtinger *et al.*, 1990; Hunt e Blake, 1993; Stetter *et al.*, 1995; Moghaddam *et al.*, 1997; Ramer *et al.*, 2000; Cho *et al.*, 2001). Ramer e colaboradores descreveram a história clínica, patológica e sorológica da infecção linfoproliferativa fatal espontânea em uma colônia de saguis, e identificaram o *Gamamaherpesvirus callitrichine 3* (CalHV-3) em 52 saguis, identificado nos tumores desses animais por meio da análise da reação em cadeia da polimerase (PCR), sugerindo que os animais infectados, que estão na forma latente podem desenvolver doença apenas quando imunocomprometidos seja por manipulação relacionada à pesquisa, doença concomitante ou coinfeção (Ramer *et al.*, 2000).

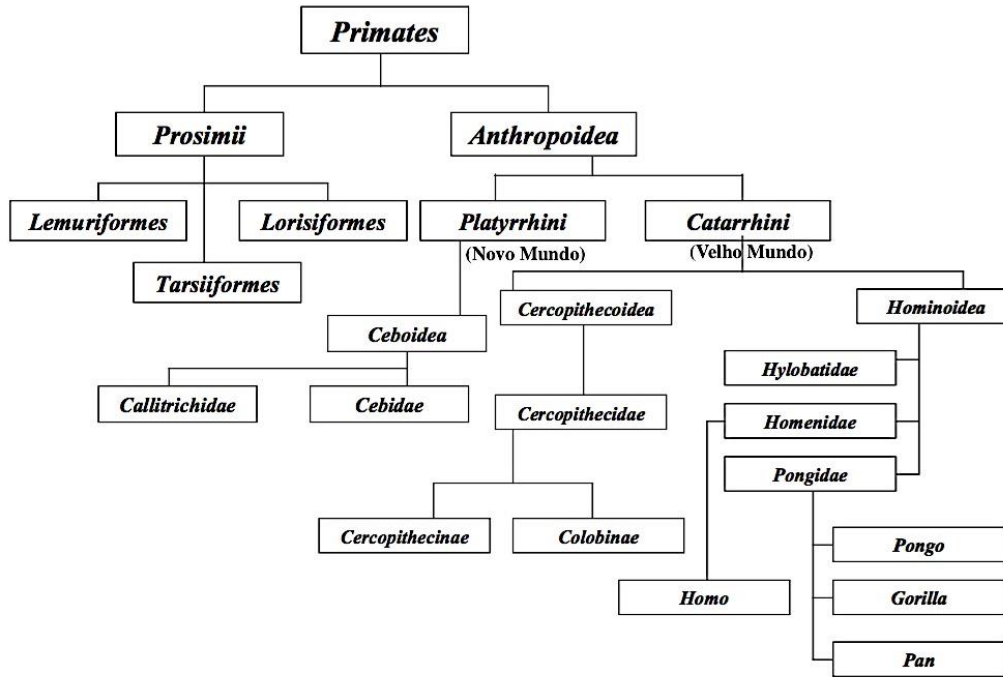
## 1.6. Características gerais de primatas não humanos

Os primatas são classificados em dois grupos: *Prosimii* e *Anthropoidae*. O primeiro grupo são os mais primitivos e dividido em duas infra-ordens, os *Lemuriformes* (composto por lêmures e lorises) e *Tarsiiformes* (composto por tarsiers). O segundo grupo, antropoides, são divididos em duas infra-ordens: *Platyrrhini* e *Catarrhini*. Os primatas do Velho Mundo pertencem à infra-ordem *Catarrhini* e distinguem-se principalmente pela posição das aberturas nasais, que são voltadas para baixo; este grupo consiste em apenas PNH de grande porte e o homem, os macacos de porte grande são encontrados no continente Africano e Asiático. O macaco rhesus (*Macaca mulatta*) é um exemplo de um primata do Velho Mundo encontrado na Ásia, enquanto macacos verdes e babuínos são primatas do Velho Mundo encontrados exclusivamente na África. Os macacos de grande porte, são divididos em três subfamílias: os *Pongidae* (orangotango, pongo, gorila e chimpanzé) endêmicos da África, os *Hylabatiidae* (gibões) vivem na Ásia e os *Hominidae* (Homo). Os *Platyrrhini* são os primatas do Novo Mundo, encontrados exclusivamente na América Central, do Sul e no México. São divididos nas subfamílias *Cebidae*, *Atelidae* e *Callitrichidae*. Diferenciam das espécies do Velho Mundo por terem o septo nasal largo, o polegar não completamente oponível, e a dentição composta por 32 ou 36 dentes, com 6 pré-molares superiores e 6 inferiores. São em geral, primatas de porte menor e exclusivamente arborícolas (Melendez, L. V. *et al.*, 1969; Melendez *et al.*, 1972; Kavanagh, 1984; Damania e Desrosiers, 2001; Groves, 2001b; 2005) (Figura 1.15 e 1.16).

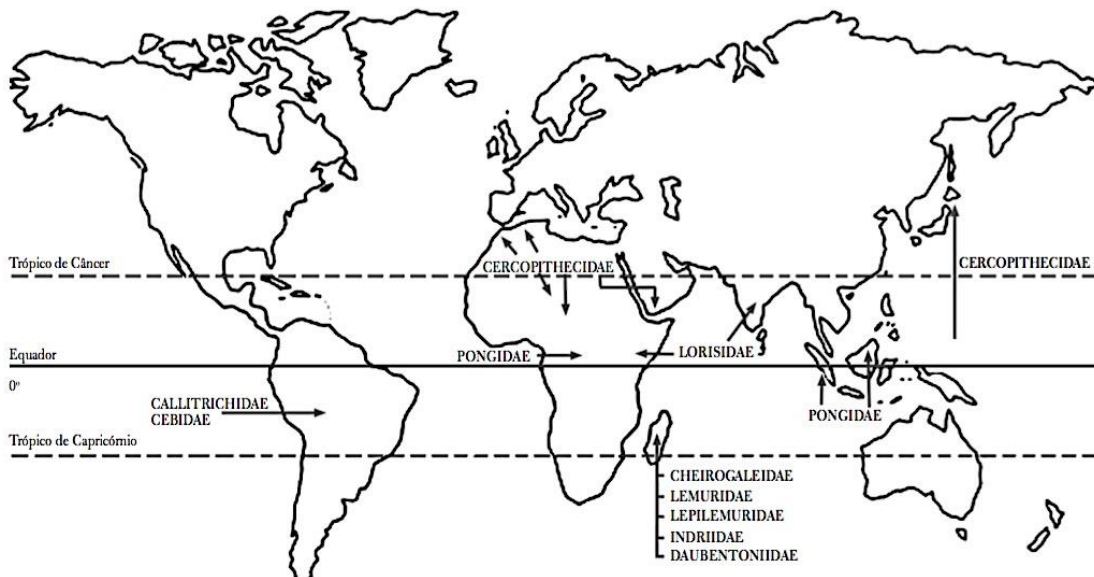
O Brasil, segundo o ICMBIO (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade), é o país com maior número de primatas conhecidos. Há 139 táxons, entre espécies e subespécies de PNH, divididos em cinco famílias, 19 gêneros, 83 táxons. São estas famílias, *Callitrichidae* (como *Callithrix jacchus*), *Cebidae* (como *Saimiri boliviensis*), *Aotidae* (como *Aotus trivirgatus*) e *Pitheciidae* (como *Callicebus vierai*), *Atelidae* (como *Alouatta guariba clamitans*). Cerca de 40% das espécies brasileiras de primatas se encontram ameaçadas de extinção (Rylands, 2012).

A descoberta do herpesvírus e sua relação com os humanos e PNH mudou a perspectiva sobre filogenia evolutiva dos herpesvírus. Por exemplo, o *Herpesvirus saimiri* (HVS) possui similaridade com *Gammaherpesvirus ateline 3* (AtHV-3) e foi identificado em primatas do Novo Mundo, enquanto vírus similares ao vírus Epstein-Barr (EBV) foram encontrados em primatas do Velho e do Novo Mundo, demonstrando

a similaridade entre os vírus específicos de primatas e humanos (Hasegawa *et al.*, 1985; Lacoste *et al.*, 2010) (Figura 1.16 e 1.17).



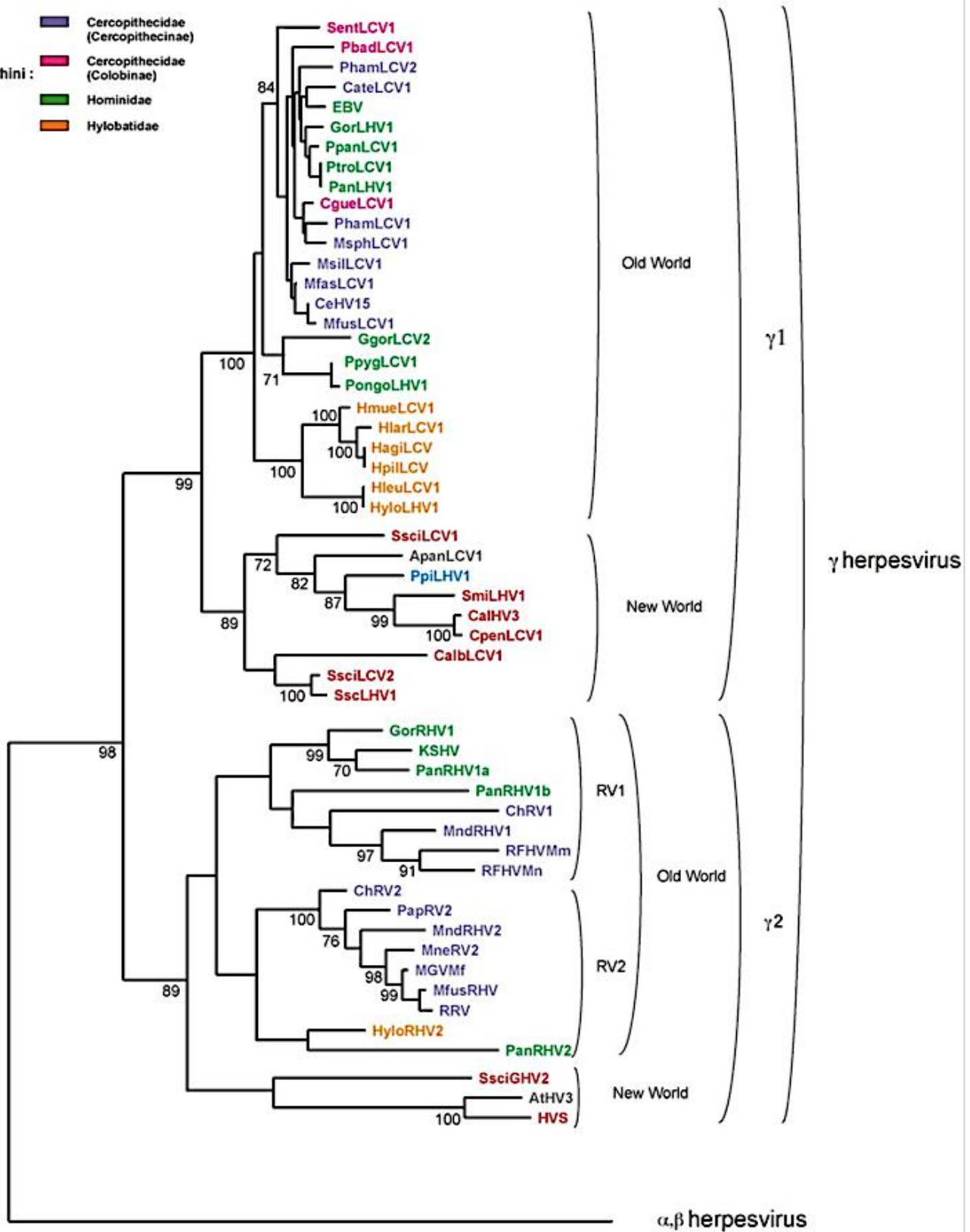
**Figura 1.15. Classificação dos primatas não humanos.** Fonte: (Kavanagh, 1984; Damania e Desrosiers, 2001; Groves, 2001a; 2005) Adaptado.



**Figura 1.16. Distribuição mundial dos primatas não humanos e sua classificação.** Fonte: (Kavanagh, 1984).



- Pitheciidae
- Platyrrhini : ■ Cebidae
- Atelidae
  
- Cercopithecoidea (Cercopithecoidea)
- Catarrhini : ■ Cercopithecoidea (Colobinae)
- Hominoidea
- Hylobatoidea



**Figura 1.17. Árvore filogenética resultante da análise de sequências nucleotídicas de fragmentos do gene da DNA polimerase do gênero Gammaherpesvírus de primatas do Novo e Velho Mundo.** Os números em cada nó indicam a porcentagem (até 100%) nos quais o cluster à direita é suportado. Código de cores corresponde às diferentes famílias de primatas foi aplicado as sequências para observar o possível reagrupamento virais em função da espécie hospedeira. RV1: genogrupo Rhadinovirus 1; RV2: genogrupo Rhadinovirus 2. Fonte: (Hasegawa *et al.*, 1985; Lacoste *et al.*, 2010) Adaptada.

### **1.7 Epidemiologia dos *Alphaherpesvirus humano 1 e 2***

As infecções por HHV-1 e HHV-2 estão distribuídas em todo o mundo, em países desenvolvidos e em desenvolvimento, incluindo tribos remotas de índios brasileiros e em primatas não humanos. A soroprevalência em pessoas adultas é de cerca de 80 a 90% para o HHV-1 e entre 10 e 25% para o HHV-2 (Looker *et al.*, 2008; Reil *et al.*, 2008; Whitley, 2014).

Em 2012, a Organização Mundial da Saúde, estimou que 3,7 bilhões de pessoas com menos de 50 anos, ou 67% da população, tiveram infecção por HHV-1. A prevalência estimada da infecção foi mais alta na África (87%) e menor nas Américas (40-50%) (WHO, 2017). Em relação a infecção causada pelo HHV-2, a herpes genital, estima-se que 417 milhões de pessoas no mundo possuíam a infecção em 2012. A prevalência da infecção pelo HHV-2 foi estimada como mais alta na África (31,5%), seguida pelas Américas (14,4%). A incidência aumenta com a idade, embora o maior número de pessoas recém-infectadas sejam adolescentes (Whitley, 2014; Who, 2017). O HHV-1 é transmitido pelo contato direto com a saliva ou por meio de objetos contaminados. A fonte de infecção em crianças é geralmente pelo adulto através da lesão ou pela saliva, mesmo que esteja assintomático (Butel, 2012).

As infecções por HHV-2 são geralmente adquiridas por contato sexual. Nos EUA, aproximadamente 1 em cada 1.000 nascidos vivos possui HHV-1 ou HHV-2 ou os dois. A taxa de mortalidade entre mulheres grávidas com infecção na fase disseminada é superior a 50%. Os óbitos fetais também ocorreram em mais de 50% dos casos, embora a mortalidade não tenha necessariamente se correlacionado com a morte da mãe. O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) estima que a incidência de encefalite por HHV seja de aproximadamente 40 a 50 casos por ano no mundo; no

entanto, a ocorrência da doença é provavelmente maior pelos casos subnotificados. O principal local de infecção latente por HHV-1 no homem é nos gânglios trigeminiais, podendo reativar, evoluindo para herpes labial recorrente, facilitando e aumentando a probabilidade de transmissão (Roizman, B. *et al.*, 2007). (Figura 1. 18).

Em países tropicais observa-se uma alta taxa de adolescentes e adultos susceptíveis para HHV, com alto risco de complicação, quando comparado a países de clima temperado (Pickering, 2003; Gershon *et al.*, 2004). Nesses países, o ensaio de imunoenzimático indireto (ELISA) usado para detectar anticorpos IgG foi observado uma prevalência igual ou (Reis *et al.*, 2003) superior a 90% (Salleras *et al.*, 2000; Aebi *et al.*, 2001; Heininger *et al.*, 2001; Wutzler *et al.*, 2001; Ciofi Degli Atti *et al.*, 2002; Kanra *et al.*, 2002; Thiry *et al.*, 2002). No Brasil, a soroprevalência varia de 85,4% (Clemens *et al.*, 1999) ou 94,2% (Reis *et al.*, 2003).

Em seus hospedeiros naturais, os herpesvírus normalmente não causam doença grave. No entanto, as infecções entre espécies diferentes podem levar a uma doença grave ou a morte. O estreito contato entre humanos e PNH tem permitido a transmissão interespecies (Mätz-Rensing *et al.*, 2003). O *Alphaherpesvírus humano 1* (HHV-1) e o *Alphaherpesvírus humano 2* (HHV-2) podem infectar PNH e causar uma doença grave, muitas vezes fatal (Schrenzel *et al.*, 2003). Os primatas do Novo Mundo são altamente suscetíveis a infecções pelos *Alphaherpesvírus humano 1*, enquanto os primatas do Velho Mundo parecem ser mais resistentes (Mätz-Rensing *et al.*, 2003).

### **1.8. Diagnóstico laboratorial dos herpesvírus**

O diagnóstico dos herpesvírus humanos e animais, baseia-se primeiramente em avaliação clínico-patológica que identificam as infecções recorrentes pelas lesões e anamnese, e em infecções primárias, manifestações atípicas. No entanto, o diagnóstico laboratorial é necessário, principalmente em casos de pacientes assintomáticos ou/e coexistência de múltiplas etiologias, como a co-infecção pelo HHV-1 e HHV-2 em que visualmente pode ser indistinguível (Johnston *et al.*, 2010; Cdc, 2015).

O isolamento do vírus da herpes, a partir das lesões e vesículas em cultura de células é o ensaio mais definitivo para o diagnóstico, considerado padrão-ouro, uma vez

que o efeito citopático é detectado após 2 a 3 dias de cultivo. As células infectadas tornam-se aumentadas com aparência globular e a fusão celular é uma das características da formação de sincícios. No entanto, a técnica é demorada, principalmente para os casos com necessidade emergencial para o tratamento (Legoff *et al.*, 2014; Murray *et al.*, 2015; Pr. *et al.*, 2015).

Os testes sorológicos podem ser usados em pessoas assintomáticas, assim como pacientes com sinais e sintomas, sendo útil para o monitoramento do curso da infecção. Porém seu uso vem diminuindo devido ao avanço da biologia molecular com a PCR (reação em cadeia de polimerase) e PCR em tempo real com alta sensibilidade e especificidade (Geller *et al.*, 2012; Legoff *et al.*, 2014).

A técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), devido à sensibilidade e especificidade, maior que 95%, é usada para a detecção do genoma viral em espécimes de vírus específicos ou por uma parte específica que abrange toda a família viral *Herpesviridae*, pois amplifica uma região alvo do DNA, obtendo cópias dessa região escolhida. As amostras podem ser obtidas diretamente através do tecido ou do sangue (Geller *et al.*, 2012; Legoff *et al.*, 2014). Em relação à reação em cadeia da polimerase (PCR), uma técnica denominada *Pan-PCR* amplifica o gene que codifica a enzima DNA polimerase (DPOL) da família *Herpesviridae*, uma região altamente conservada do genoma, significa que possui grande semelhança entre as espécies desta família, identificando todos os herpesvírus existentes nas amostras. E, a partir disso, com a reação de sequenciamento viral, possibilitando identificar e caracterizar as espécies virais pré-existentes nas amostras, liberando um prognóstico correto ao paciente (Ehlers *et al.*, 1999; Ehlers *et al.*, 2007).

### **1.9. Tratamento das infecções causadas por herpesvirus**

Um dos maiores avanços na terapia da infecção por herpesvirus é com o uso do fármaco aciclovir (ACV), o primeiro e o antiviral de escolha para o tratamento da doença. O mecanismo de ação desse antiviral consiste na incorporação de suas formas trifosforiladas e no bloqueio da fita de DNA viral recém-formada, com a inibição da replicação viral (Lopes, 2012). O penciclovir possui mecanismo semelhante ao ACV. O valaciclovir e famciclovir começaram a ser amplamente utilizados devido à sua menor toxicidade e melhor biodisponibilidade do que os seus homólogos (Kimberlin e Whitley, 2007; Torres *et al.*, 2012).

Os primatas diagnosticados com herpesvirus, como *Callithrix penicillata*, podem ser tratados com a acicloguanosina (Aciclovir) (Casagrande, 2007), essa é um análogo de nucleósido que pode ser fosforilado pela timidina cinase viral, mas não pela enzima celular, com o nucleótido a ser incorporado no DNA em replicação onde atua como um terminador de cadeia, inibindo assim a replicação do DNA em células infectadas por vírus. Fármacos como o aciclovir, portanto, limitam as infecções líticas, uma vez reativadas, mas não eliminam o vírus e, portanto, não diminuem o potencial de futuros episódios de reativação, a menos que sejam utilizados para a profilaxia (Everett, 2014).

## 2. JUSTIFICATIVA

Os vírus da família *Herpesviridae* são amplamente distribuídos em todo o mundo e foram identificados em várias espécies de animais. Estes vírus são bem distribuídos entre a população humana e são responsáveis por diversas doenças (Hatt *et al.*, 2004). Em seus hospedeiros naturais, os herpesvírus normalmente não causam doenças graves, pois estão relacionados evolutivamente com o hospedeiro. No entanto, infecções entre espécies diferentes podem levar a uma doença grave e até à morte (Mätz-Rensing *et al.*, 2003). A via de transmissão entre humanos e primatas não humanos ocorrem quando os humanos com lesões ativas pelo HHV-1, alimentam os primatas ou oferecerem qualquer tipo de alimentos parcialmente comidos aos primatas não humanos (Kik *et al.*, 2005). Além do vírus humanos que podem ser letais quando infectam os PNH, existe o *Gammaherpesvirus callitrichine 3* (CalHV-3) que pode causar doença linfoproliferativa apresentando linfomas de células B, podendo ser fatal em animais imunodeprimidos e/ou co-infectados.

No estado do Rio de Janeiro durante o 1º ciclo da epizootia de febre amarela (julho/2016 a junho/2017) foram notificadas 216 epizootias, envolvendo 362 animais no total, já no 2º ciclo (julho/2017 a junho/2018) da epizootia, foram notificadas 33 epizootias, envolvendo 135 animais no total (Ministério da Saúde, 2017). As populações de primatas não humanos foram diretamente afetadas e grande parcela foi negativa nos testes específicos para o vírus amarílico, podendo ter sido infectados por algum outro agente patogênico (Bonaldo *et al.*, 2017; Rossetto *et al.*, 2017), podendo ser os herpesvírus. No Brasil, o conhecimento é escasso sobre a verdadeira prevalência das infecções causadas por herpesvírus em primatas não humanos, além de poucos estudos na literatura científica.

O diagnóstico e a detecção da infecção por herpesvírus em primatas não humanos são relevantes, pois os dados levantados podem ser importantes para a conscientização da população sobre o manejo e o estreito contato com os primatas não humanos em espaços urbanizados, peri-urbanizados e florestais. Além disso, durante surtos epidêmicos em PNH a ação rápida para o tratamento da infecção é fundamental, pois o uso de fármacos como o aciclovir pode auxiliar na sobrevivência desses animais (Casagrande, 2007; Lopes, 2012).

Cabe ressaltar que os PNH são instrumentos essenciais para se promover a conservação de um ecossistema, logo, a proteção desses animais significa a conservação de um eixo fundamental de toda uma fauna e flora local (Lima, 1990).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Investigar a circulação de herpesvírus na população de primatas não humanos que foram a óbito, com diagnóstico negativo para infecção pelo vírus da Febre Amarela no estado do Rio de Janeiro.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Estimar a prevalência do *Herpesvirus* em primatas não humanos durante o surto recente de Febre Amarela ocorrido no estado do Rio de Janeiro;
- Avaliar os fatores associados com a prevalência dos herpesvírus em primatas não humanos;
- Mapear as áreas com maior prevalência de herpesvírus em primatas não humanos;
- Verificar a presença de mutações de resistência ao aciclovir no *Alphaherpesvirus humano 1* detectados nos primatas não humanos.

## **4.0 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. Considerações éticas da pesquisa**

Por se tratar de amostras de conveniência recebidas durante a investigação epidemiológica dos surtos de febre amarela conduzidos pelos Órgãos de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde e não haver manipulação dos animais, não foi necessário a submissão ao CEUA.

### **4.2. População de estudo**

A população de primatas não humanos foi composta originalmente um total de 372 amostras de PNH enviado o Laboratório Regional de Flavivírus (FIOCRUZ) para o diagnóstico de Febre Amarela (FA) entre 1 de janeiro de 2017 a 31 de dezembro de 2017. O envio dessas amostras para a detecção de FA faz parte da Rede de Referência para Febre Amarela que foi ativada pelo Ministério da Saúde em dezembro de 2016 com o surgimento dos casos da doença em primatas e humanos no estado do Rio de Janeiro.

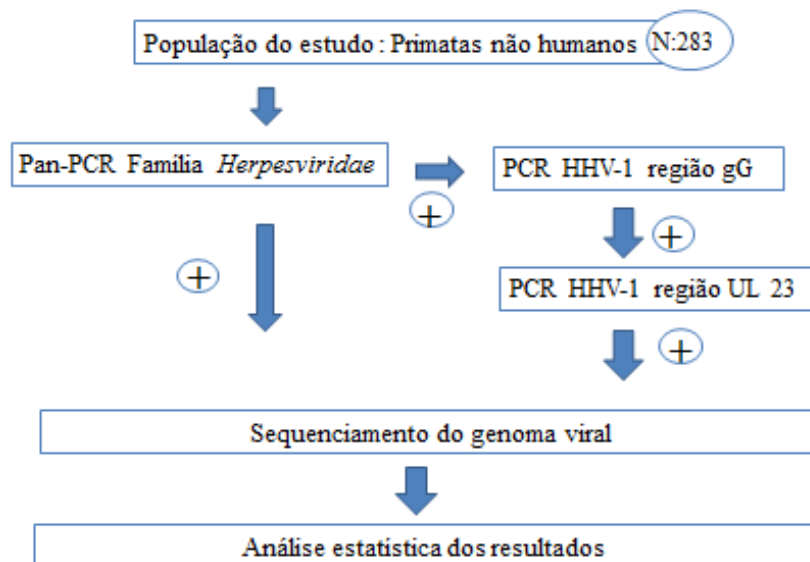
Os primatas não humanos foram encontrados mortos em ambiente urbano ou rural nos diversos municípios do Rio de Janeiro. As carcaças foram enviadas para o respectivo Laboratório Central de Saúde Pública do Rio de Janeiro Noel Nutels (LACEN-RJ) ou para os Serviços de Zoonoses pelos Órgãos de Vigilância em Saúde, onde foram eviscerados e os órgãos devidamente embalados, de acordo com o fluxo pré-estabelecidos pelo Ministério da Saúde. Cada animal foi identificado de acordo com a espécie, sexo, procedência (município) e idade. Um total de 283 amostras de tecido de fígado de PNH com resultados negativos para FA do Rio de Janeiro recebidas pelo Laboratório de Referência Regional de Febre Amarela no ano de 2017, foram encaminhada para o diagnóstico de herpesvíroses no Laboratório de Virologia Molecular.



### 4.3. Seleção das amostras

#### 4.3.1. Critérios de inclusão e exclusão das amostras

Foram incluídos neste estudo seccional, todas as amostras de primatas em áreas de transmissão de FA em 2017 e diagnosticados como negativos no exame da RT-PCR para febre amarela pelo Laboratório de Referência Regional de de Flavivírus, foram enviadas no laboratório de Virologia Molecular para testar para herpesvírus. Conforme o fluxograma dos materias e métodos. Foram excluídas do estudo, as amostras que não apresentaram volume suficiente (< 20 uL de DNA extraído). Figura 4.3.1.



**Figura 4.3.1. Fluxograma dos materias e métodos.** Fluxograma das metodologias usadas para o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

#### **4.4. Extração de ácidos nucleicos e RT-PCR em Tempo Real para febre amarela pelo laboratório de Flavivirus**

As amostras de tecido de primatas não humanos *in natura*, registradas e armazenadas a -70 ° C até a extração. De acordo com o Guia de Vigilância de Epizootias em Primatas Não Humanos e Entomologia Aplicada à Vigilância da Febre Amarela (Almeida *et al.*, 2014), as amostras foram manipuladas em ambiente NB3, pelo Laboratório de Referência em Febre Amarela, até o passo da lise celular e inativação e, a partir disso, foram manipuladas em condições NB2. Em ambiente NB3, aproximadamente 30mg de tecido de fígado foi macerada em tubo de 1,5 ml com 600µL de tampão de lise usando pistilos até a total homogeneização do tecido. As amostras foram homogeneizadas e depois centrifugada por 2 min a 14000 rpm. Foi retirado 100µL do sobrenadante para a extração usando o kit MagMAX<sup>TM</sup> RNA / DNA (Life Technologies<sup>TM</sup>, CA, EUA) e o processo de extração continuou com um Extrator Automático KingFisherFlex (Thermo Scientific<sup>TM</sup>, Vantaa, FIN) seguindo as instruções do fabricante. Controles negativos foram incluídos em cada extração para verificar a possível contaminação do material genético. O protocolo da PCR de transcrição reversa em tempo real (RT-PCR) para detecção de vírus da Febre Amarela foi realizado como descrito por Domingo e colaboradores, em 2012.

#### **4.5. Reação em Cadeia da Polimerase por *Pan*-herpesvirus**

A detecção dos herpesvírus foi realizada, utilizando a reação em cadeia da polimerase por *Pan*-herpesvirus que detecta simultaneamente os herpesvírus da família *Herpesviridae* que infectam humanos e animais baseada na amplificação, por PCR *Nested* (*Pan*-PCR), do gene DPOL com 160-181 pares de bases, uma região altamente conservada do genoma dos herpesvírus, comum a todos herpesvírus, através de duas etapas de amplificação (Ehlers *et al.*, 2007).

##### **4.5.1 Primeira etapa de amplificação da PCR-Nested**

Na primeira etapa de amplificação, foi adicionado, em um tubo de 1,5 mL, uma mistura composta por 8,0 µL de água RNase/DNAse *free* (Gibco, NI, EUA), 2,5 µL de tampão 10x PCR *Buffer* I (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), 1µL de dNTP (0,4mM) (100 mM-Invitrogen, CA, EUA), 5% de DMSO a 100x (1,25µL) (Life

*Technologies*, Califórnia, EUA), 1 µM de concentração de cada oligonucleotídeo (2,5 µL), 2 mM de MgCl<sub>2</sub> (25mM - *Applied Biosystems*, EUA), e 1,25 U/µL de *AmpliTaq Gold DNA Polymerase* (*Applied Biosystems*, Foster City, CA, EUA) de acordo com o protocolo desta enzima. Os oligonucleotídeos específicos e sintetizados para a detecção e identificação dos vírus da família *Herpesviridae* foram descritos por Ehlers e colaboradores(2007). Tabela 4.5.1 e Tabela 4.5.2.

**Tabela 4.5.1. Reagentes, concentração e volume usados na primeira reação.**

<i>Reagentes</i>	<i>Concentração de uso</i>	<i>Volume/Reação (µL)</i>
Água DNase RNase Free		8,0
10xPCR Buffer I	10X	2,5
dNTP-Mix (Qiagen)	0,4 mM	1,0
DMSO	5x	1,25
285sDFA	1 µM	2,5
285sILK	1 µM	2,5
285-asKG1	1 µM	2,5
MgCl <sub>2</sub>	2 mM	2,0
AmpliTaq Gold	1,25 U	0,25

**Tabela 4.5.2. Sequência de oligonucleotídeos da primeira etapa da Pan-PCR**

<i>Iniciadores</i>	<i>Sequência *</i>
285s DFA	5' GAYTTYGCIAGYYTITAYCC 3'
285s ILK	5' TCCTGGACAAGCAGCARIYSGCIMTIAA 3'
285as KG1	5' GTCTTGCTCACCAGITCIACICCYTT 3'

\*Código IUPAC para indicar as posições degeneradas: I: inosina, R: purina (A/G), Y: pirimidina (C/T), M: A/C, S: C/G, N: base indefinida (A/T/C/G).

Em seguida, a mistura foi centrifugada por 30 segundos na mini-centrífuga 2/05ABA *Bio-America* (*Bio-America*, Miami, USA). Posteriormente, foram adicionados 22,5 µL da solução em cada tudo de 0,5 µL ou dependendo da quantidade de amostra, foram adicionados em uma placa MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate With Barcode (total de 96 poços) (*applied biosystems life technologies*), e adicionado neste poços ou tubos a quantidade de 2,5 µL da respectiva amostra de DNA extraído.As amostras foram colocadas no termociclador *Master Cycler Eppendorf* (*Eppendorf*, Hamburgo, Alemanha) para amplificação do DNA polimerase (Região DPOL) de acordo com as temperaturas e tempos descritos no quadro 4.5.3.

#### Quadro 4.5.3. Ciclos referente a primeira etapa da PCR-Nested.

<i>Periodo</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Tempo</i>	
Desnaturação inicial	95°C	12 minutos	45 ciclos
Desnaturação	95°C	20 segundos	
Hibridização	46°C	30 segundos	
Extensão	72°C	30 segundos	
Extensão final	72°C	10 minutos	

#### 4.5.2. Segunda etapa de amplificação da PCR-Nested

Na segunda etapa de amplificação, foi adicionado, em um tubo de 1,5 mL, uma mistura composta água RNase/DNase free (*Gibco*, NI, EUA), tampão 10x PCR Buffer I (*Applied Biosystems*, Foster City, CA, EUA), 0,4 mM de concentração de dNTP (100 mM-*Invitrogen*, CA, EUA), 5% de DMSO a 100x (*Life Technologies*, Califórnia, EUA), 1 µM de concentração de cada oligonucleotídeo, 2 mM de MgCl<sub>2</sub> (2,0 µL, *Applied Biosystems*, EUA), e 1,25 U de *AmpliTaq Gold DNA Polymerase* (0,25 µL, *Applied Biosystems*, Foster City, CA, EUA) de acordo com o protocolo desta enzima. Os oligonucleotídeos específicos para a detecção e identificação dos vírus da família *Herpesviridae* foram descritos por Ehlers e colaboradores (2007) podem ser observados nas tabela 4.5.4 e Tabela 4.5.5.

**Tabela 4.5.4. Reagentes, concentração e volume usados na segunda reação.**

<i>Reagentes</i>	<i>Concentração de uso</i>	<i>Volume/Reação (µL)</i>
Água DNase RNase Free		12,0
10xPCR Buffer I	1X	2,5
dNTP-Mix (Qiagen)	0,4 mM	1,0
DMSO	5x	1,25
286-as IYG	1 µM	2,5
286sTGV	1 µM	2,5
MgCl <sub>2</sub>	2 mM	2,0
AmpliTaq Gold	1,25 U	0,25

**Tabela 4.5.5. Sequência de oligonucleotídeos da segunda etapa da Pan-PCR**

<i>Iniciadores</i>	<i>Sequência</i>
286sTGV	5' TGTAACCTCGGTGTAYGGITTYACIGGIGT 3'
286-as IYG	5' CACAGAGTCCGTRTCICCRATAT 3'

Em seguida, a solução no tubo de 1,5mL, foi centrifugada por 30 segundos na mini-centrífuga 2/05ABA *Bio-America* (*Bio-America*, Miami, USA). Posteriormente, foram adicionados 24,0 µL da solução em cada tubo de 0,5 µL ou dependendo da quantidade de amostra, foram adicionados em uma placa MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate With Barcode com volume de cada poço (total de 96 poços) (*Applied Biosystems Life Technologies*), e adicionado nestes poços ou tubos a quantidade de 1,0 µL do respectivo amplicon obtido na primeira etapa da PCR. As amostras foram colocadas no termociclador *Master Cycler Eppendorf* (*Eppendorf*, Hamburgo, Alemanha) para amplificação parcial do DNA polimerase (Região DPOL). Quadro 4.5.6.

**Quadro 4.5.6. Ciclos da segunda etapa da PCR-Nested.**

<i>Período</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Tempo</i>	
Desnaturação inicial	95°C	12 minutos	
Desnaturação	95°C	20 segundos	35 ciclos
Hibridização	46°C	30 segundos	
Extensão	72°C	30 segundos	
Extensão final	72°C	10 minutos	

**4.6. Corrida em gel de eletroforese**

Para a corrida das amostras em gel de eletroforese foram utilizados tampão Tris/Acetato/EDTA (TAE) 40x (242g Tris base/57mL ácido acético glacial, 1000mL de EDTA 0,05M pH: 8,0), tampão de amostra (50% de glicerol, 0,4% de azul de bromofenol e 0,4% de xileno cianol), agarose (LIFE TECHNOLOGY® ultra pure) e, padrão de peso molecular (100 pares de base, *Invitrogen*®).

Para a visualização do produto amplificado foi utilizado gel de agarose 1,5%, contendo 0,5% (0,5 µg/mL de brometo de etídeo (EtBr) (*Invitrogen*, EUA). Foram aplicados em cada poço de gel, o volume de 8 uL do produto da reação de PCR *Nested* e 2 µL de tampão de amostra. Os produtos amplificados pela reação das PCR foram visualizados em luz ultravioleta no transiluminador (*Benchtop UV transilluminator* Uplan, CA, USA) após uma corrida de 20 minutos por 90 Volts.

#### **4.7. Sequenciamento da região DPOL do genoma viral**

Para determinar o tipo de herpesvírus, o sequenciamento direto dos nucleotídeos foi realizado em ambas as direções (sense e anti-sense) utilizando o *kit BigDye terminator 3.1 cycle sequencing* no sequenciador *Gen Amp PCR system 9700* na plataforma de sequenciamento do Instituto Oswaldo Cruz (Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Insumos para Saúde/PDTIS). Os produtos do sequenciamento foram analisados no *ALFexpress automated sequencer* (ABI-3730) (Amersham Biosciences, CA, EUA). As sequências nucleotídicas obtidas pela plataforma foram analisadas com o programa *BioEdit 7.2.5.* As sequências nucleotídicas foram comparadas com outras sequências de herpesvírus depositadas no *GenBank* utilizando o BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*).

#### **4.8. Reação em Cadeia da Polimerase para *Alfaherpesvirus humano 1*(HHV-1)**

Após a realização da técnica pela *Pan-PCR*, todas as amostras que foram reagentes, seguiram para a Reação em Cadeia da Polimerase para detecção da região gG, específica para *Alfaherpesvirus humano 1*, e região conservada da glicoproteína G com 269 pares de bases (Norberg *et al.*, 2004; Norberg *et al.*, 2006; Perse Da Silva *et al.*, 2015).

##### **4.8.1. Etapa de amplificação da PCR *Alfaherpesvirus humano 1* região gG**

Em um tubo de 1,5 mL, foi preparado composta por 14,9 µL de água RNase/DNase free (*Gibco*, NI, EUA), tampão 10x PCR Buffer I (*Applied Biosystems*, Foster City, CA, EUA), 0,2 mM de concentração de dNTP a 100 mM-*Invitrogen*, CA, EUA, 0,2 µM de concentração de cada oligonucleotídeo, 3 mM de de MgCl<sub>2</sub> (3,0 µL) (25mM - *Applied Biosystems*, EUA), e 5 U de *Taq Polymerase Platinum* (0,1 µL) (*Thermo Fisher Scientific*, *Invitrogen*, EUA) de acordo com o protocolo desta enzima. Foram utilizados oligonucleotídeos específicos para amplificação viral da região da glicoproteína G (Norberg *et al.*, 2004; Norberg *et al.*, 2006). Podem ser observados nas tabela 4.8.1 e Tabela 4.8.2.

**Tabela 4.8.1. Reagentes, concentração e volume usados na reação.**

<i>Reagentes</i>	<i>Concentração de uso</i>	<i>Volume/Reação (μL)</i>
Água DNase RNase Free		14,9
10xPCR Buffer I	10X	2,5
dNTP-Mix	0,2 mM	4,0
gG F	0,2 μM	2,5
gG R	0,2 μM	2,5
MgCl <sub>2</sub>	3 mM	3,0
Taq Polymerase/Platinum	5,0 U	0,1

**Tabela 4.8.2. Sequência de oligonucleotídeos usado na PCR região gG**

<i>Iniciadores</i>	<i>Sequência</i>
gG F	5' -GACTCTCCACCGCCATCAG- 3'
gG R	5' -TGTCTTCGGGCGACTGGTCT-3'

Em seguida, a mistura foi centrifugada por 30 segundos na mini-centrífuga 2/05ABA *Bio-America* (*Bio-America*, Miami, USA). Posteriormente, foram adicionados 24,0 μL da solução em cada tubo de 0,5 μL ou dependendo da quantidade de amostra, foram adicionados em uma placa MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate With Barcode (total de 96 poços) (applied biosystems *life technologies*), e adicionado nestes poços da placa ou tubos a quantidade de 1,0 μL da respectiva amostra de DNA extraído. As amostras foram colocadas no termociclador *Master Cycler Eppendorf* (*Eppendorf*, Hamburgo, Alemanha) para amplificação do HHV-1 (Região gG). Quadro 4.8.3.

**Quadro 4.8.3. Ciclos de termociclagem referente à etapa PCR HHV-1 gG.**

<i>Periodo</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Tempo</i>	
Desnaturação inicial	96°C	5 minutos	
Desnaturação	95°C	45 segundos	40 ciclos
Hibridização	58°C	45 segundos	
Extensão	72°C	45 segundos	
Extensão final	72°C	10 minutos	

Após a amplificação pela PCR HHV-1 região gG, foi realizado o gel de agarose a 1,5 % conforme o item 4.7. para visualização dos resultados.

#### 4.9. Sequenciamento do genoma viral para região gG HHV-1

Após a corrida em gel de agarose, as amostras amplificadas para a região gG, foram identificadas e as sequenciadas para confirmação identificação viral.

O sequenciamento foi realizado em ambas as direções (senso e anti-senso) com 3,2 pmol de cada primer (gGF e gGR), utilizando, assim, duas reações de sequenciamento de DNA para cada amostra amplificada. Utilizando o *kit BigDye terminator 3.1 cycle sequencing* no sequenciador *Gen Amp PCR system 9700* na plataforma de sequenciamento do Instituto Oswaldo Cruz (Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Insumos para Saúde/PDTIS). Os produtos do sequenciamento foram analisados no *ALFexpress automated sequencer* (ABI-3730) (Amersham Biosciences, CA, EUA). Através do programa *BioEdit 7.2.5*, as sequências nucleotídicas obtidas pela plataforma foram analisadas e comparadas com outras sequências de *Alphaherpesvirus humano 1* depositadas no *GenBank* utilizando o BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*).

#### **4.10. Reação em Cadeia da Polimerase para HHV-1 região UL 23**

Para identificar possíveis amostras resistentes ao fármaco aciclovir, as amostras que foram positivas para presença de gG, seguiram para a Reação em Cadeia da Polimerase para herpesvirus região UL 23, detecta especificamente o *Alphaherpesvirus humano 1*. A sigla UL significa que é formado por sequência única (“*unique*” (U) convalentemente ligado a um sequência longa (“*long*” (L) no genoma. (Sheldrick e Berthelot, 1975; Wadsworth *et al.*, 1975). Esta PCR amplifica 290 pares de bases, o gene UL 23, que codifica a timidina cinase viral (TK) e as mutações no TK resultam em resistência ao aciclovir (AVC).

##### **4.10.1. Etapa de amplificação da PCR *Alphaherpesvirus humano 1* região UL23**

A primeira etapa de amplificação, foi realizada, em um tubo de 1,5 mL, uma mistura (mix) composta por 14,9 µL de água RNase/DNase free (*Gibco*, NI, EUA), 2,5 µL de tampão 10x PCR Buffer I (*Applied Biosystems*, Foster City, CA, EUA), 0,2 mM de concentração de dNTP (100 mM-*Invitrogen*, CA, EUA, 0,2 µM de concentração de cada oligonucleotídeo, 1, mM de de MgCl<sub>2</sub> (1,5 µL) (25mM - *Applied Biosystems*, EUA), e 5 U de *Taq Polymerase Platinum* (0,1 µL) (*Thermo Fisher Scientific*, *Invitrogen*, EUA) de acordo com o protocolo desta enzima. Os oligonucleotídeos



específicos para a detecção e identificação parcial da UL23 do genoma (Perse Da Silva *et al.*, 2015). Podem ser observados nas tabela 4.10.1 e Tabela 4.10.2.

**Tabela 4.10.1. Reagentes, concentração e volume usados na reação para a PCR UL 23.**

<i>Reagentes</i>	<i>Concentração de uso</i>	<i>Volume/Reação (µL)</i>
Água DNase RNase Free		14,9
10xPCR Buffer I	10X	2,5
dNTP-Mix	0,2 mM	4,0
1 F	0,2 µM	0,5
272 R	0,2 µM	0,5
MgCl <sub>2</sub>	3 mM	1,5
Taq Polymerase/Platinum	5,0 U	0,1

**Tabela 4.10.2. Sequência de oligonucleotídeos usado na PCR UL 23**

<i>Iniciadores</i>	<i>Sequência</i>
1 F	5' -CGTTATTTACCCTGTTTCG - 3'
272 R	5' -ATTGTCCTTCCGTGTT -3'

Em seguida, a mistura foi centrifugada por 30 segundos na mini-centrífuga 2/05ABA *Bio-America* (*Bio-America*, Miami, USA). Posteriormente, foram adicionados 20,0 µL da solução em todos os tubos de 0,5 µL ou dependendo da quantidade de amostra, foram adicionados em uma placa MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate With Barcode (total de 96 poços) (applied biosystems *life technologies*), e adicionado nestes poços da placa ou tubos a quantidade de 2,0 µL da respectiva amostra de DNA extraído. As amostras foram colocadas no termociclador *Master Cycler Eppendorf* (*Eppendorf*, Hamburgo, Alemanha) para amplificação parcial da Região UL 23. Quadro 4.10.3.

**Quadro 4.10.3. Ciclos de termociclagem referente à etapa PCR HHV-1 UL 23.**

<i>Período</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Tempo</i>	
Desnaturação inicial	95°C	5 minutos	
Desnaturação	95°C	45 segundos	40 ciclos
Hibridização	55°C	45 segundos	
Extensão	72°C	45 segundos	
Extensão final	72°C	10 minutos	

#### **4.11. Análise estatística dos resultados**

Os dados obtidos referentes às amostras analisadas foram correlacionados com sexo, idade, localidade, gênero e os resultados dos testes moleculares foram categorizados e armazenados em um banco de dados, criado no *Microsoft Office Excel* (*Microsoft Corporation*, EUA). Com base na análise estatística, foi utilizado o teste Qui-quadrado para comparar amostras independentes. Para esta análise foi utilizado o programa *R* versão 3.5.0. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

#### **4.12. Mapeamento e distribuição dos casos de herpesvírus**

O programa utilizado para criação dos mapas com os municípios do Rio de Janeiro e prevalências da Pan-PCR e *Alfaherpesvirus humanos 1*, foi através do ArcMap 10.5.

#### **4.13. Análise de resistência ao Aciclovir**

Após o sequenciamento e sua análise, as sequências geradas do *Alfaherpesvirus humano 1* da região UL 23 foi editada e analisada manualmente no programa MEGA v.7. (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) (Kumar *et al.*, 2016). Em seguida com sequências nucleotídicas de amostras positivas para UL 23 (290bp), foram alinhadas utilizando o programa Muscle (Edgar, 2004) incluso no MEGA v.7.0, com demais sequências de HHV-1 obtidas do Genbank (Kimura, 1980; Felsenstein, 1985).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Características da população de primatas não humanos.

A população do estudo foi encontrada distribuídamente em ambiente urbano, rural e periurbano do estado do Rio de Janeiro. As amostras dos animais encontrados em estado de óbito foram encaminhadas para FIOCRUZ e analisadas no Laboratório de Flavivirus, onde foi realizado diagnóstico para febre amarela. Após serem testados para FA, 283 amostras de DNA extraídas do fígado desses animais com resultados negativos para febre amarela foram enviadas ao Laboratório de Virologia Molecular, a fim de serem testados para herpesvírus.

Esta população foi identificada de acordo com o gênero, como observado na tabela 5.1 O gênero *Callithrix* representou o maior número de animais testados.

A média de idade desses primatas não humanos foi de  $4,38 \pm 3,07$  anos, 12 (4,2%) animais não tiveram seus dados de idade informados, devido ao estado de conservação do animal pós-morte e, além disso, o gênero *Leontopithecus* teve apenas um exemplar do grupo com idade de 6 meses e macho. Em relação ao sexo dos primatas, observa-se um distribuição equilibrada, num total de 283 animais 130 eram fêmeas e 136 machos, 17 animais ignorados.

**Tabela 5.1. Distribuição dos gêneros dos primatas não humanos conforme idade e sexo.**

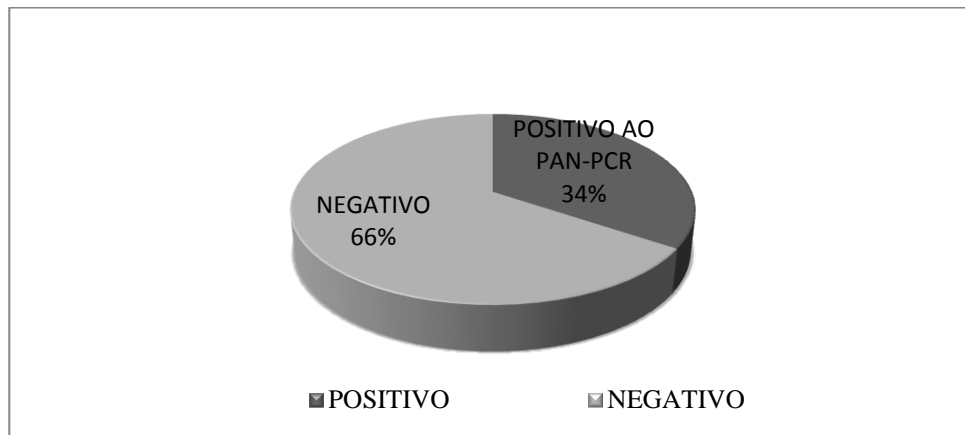
Gênero	N	Média idade $\pm$ DP	Sexo		
			Fêmea (%)	Macho (%)	Ignorado (%)
<i>Alouatta</i>	10	4,7 anos $\pm$ 3,24	2 (20)	7 (70)	1 (10)
<i>Leontopithecus</i>	1	6 meses	0	1(100)	0
<i>Sapajus</i>	7	6,5 anos $\pm$ 2,89	1 (14,3)	6 (85,7)	0
<i>Callithrix</i>	265	4,3 anos $\pm$ 3,08	125 (47,2)	121 (45,0)	19 (7,1)
Total	283	4,38anos $\pm$ 3,07	130 (45,9)	136 (48,0)	17 (6,0)

DP: desvio-padrão

## 5.2. Detecção da infecção por herpesvírus pela *Pan*-PCR

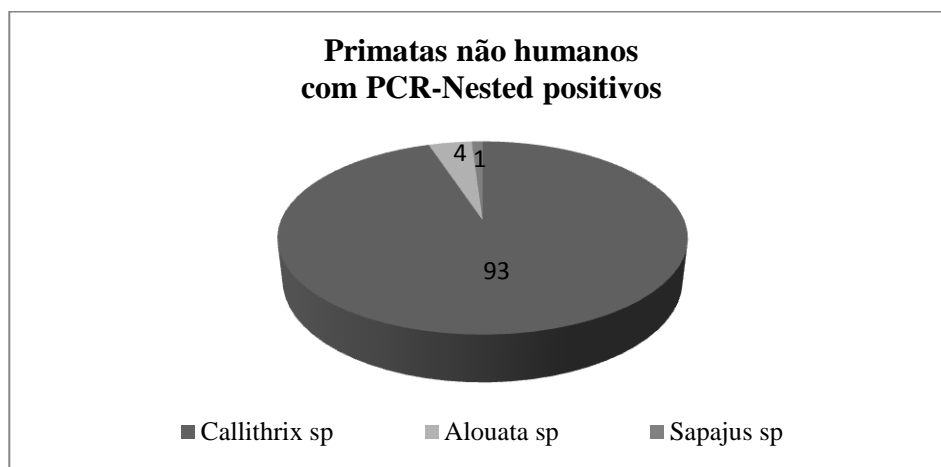
A detecção de herpesvírus pela *Pan*-PCR foi demonstrada após eletroforese. Dentre 283 amostras de PNH, 98 indivíduos (34,62%) foram reagentes para algum vírus da família *Herpesviridae*, conforme o gráfico 5.2.

**Gráfico 5.2. Detecção da infecção por herpesvirus pela *Pan*-PCR**



No gráfico 5.2.1. Observa-se a distribuição por gênero dos PNH com resultado positivo para a técnica de *Pan*-PCR. Do total de 98 animais positivos 93 eram *Callithrix*, 4 eram *Alouata* e apenas 1 *Sapajus*, evidenciando que a maior parte da população do estudo foi composta pelos primatas não humanos conhecidos popularmente como saguis.

**Gráfico 5.2.1 Distribuição dos gêneros de PNH infectados por herpesvírus**



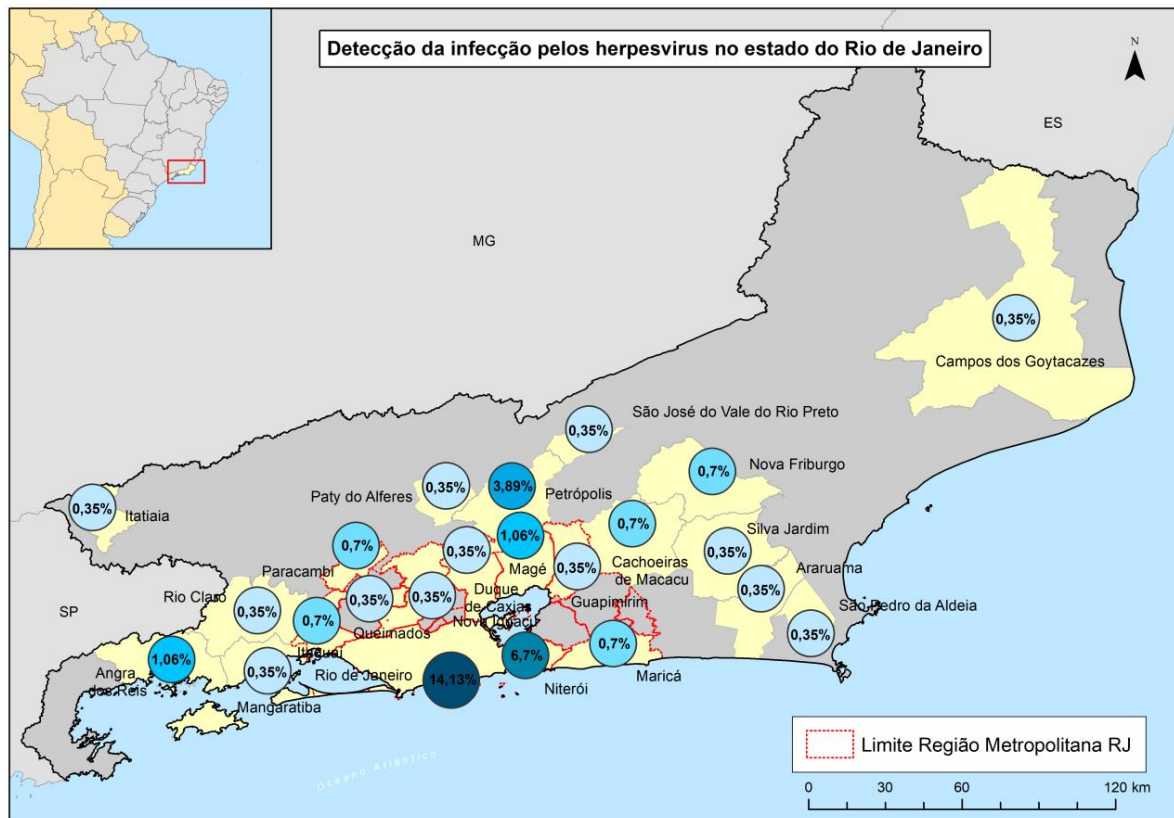
**Tabela 5.2. Distribuição de prevalência por herpesvírus pela PAN-PCR em relação ao gênero dos primatas não humanos**

A tabela 5.2. Observa-se as prevalências de herpesvírus pela técnica da PAN-PCR pelos gêneros dos PNH. Demonstrando que o gênero *Alouatta* obteve a prevalência maior, seguido de *Callithrix* e *Sapajus* dentro de suas quantidades de indivíduos.

<b>Gênero</b>	<b>Prevalência</b>
<i>Callithrix</i>	35% (93/265)
<i>Alouatta</i>	40% (4/10)
<i>Sapajus</i>	14,3% (1/7)
<i>Leontopithecus</i>	0

**5.2.1. Distribuição dos casos positivos de primatas não humanos para herpesvírus no estado do Rio de Janeiro.**

A população de primatas não humanos positiva para herpesvírus foi agrupada em um mapa de acordo com os municípios do estado do Rio de Janeiro segundo a coleta do animal (figura 5.2.1). O maiores número de casos positivos foi encontrado no município do Rio de Janeiro (14,13%;40/283), seguido de Niterói (6,7%;19/283) e Petrópolis (3,89%;11/283). Foram analisados primatas não humanos de vinte e três municípios representados na Figura 5.2.1.



Fonte: (Elaborado por Rafael Santos- UERJ)

**Figura 5.2.1. Distribuição dos primatas não humanos detectados com herpesvírus no estado do Rio de Janeiro no ano de 2017.** O mapa em forma de figura apresenta os locais onde primatas não humanos positivos para herpesvírus foram encontrados em estado de óbito. O pontilhado em vermelho representa o limite da região metropolitana do estado do Rio de Janeiro, onde estão localizados os principais municípios do estado em relação às questões socioeconômicas e demográficas.

A tabela 5.2.1 demonstra a detecção e o percentual de animais positivos para os vírus da família *Herpesviridae* de acordo com a localização. As prevalências mais altas do estudo foram encontradas nos municípios do Rio de Janeiro, Niterói e Petrópolis. Mostrando também que existem municípios com poucos animais encontrados em óbito, bem como o município de Araruama com um animal encontrado e este foi positivo para o estudo.

**Tabela 5.2.1 Detecção da infecção de herpesvírus pela *Pan*-PCR e total de amostras sequenciadas de acordo com os municípios do Rio de Janeiro onde os primatas foram coletados.**

<b>Município do estado do Rio de Janeiro</b>	<b>Total de Amostras</b>	<b>Pan-PCR negativo</b>	<b>Pan-PCR positivo</b>	<b>Percentual reativos</b>	<b>Nº Sequenciadas (%)</b>
<i>Angra dos Reis</i>	5	2	3	60%	1 (20)
<i>Araruama</i>	1	0	1	100%	1 (100)
<i>Cachoeira do Macacu</i>	3	1	2	66%	1 (33,33)
<i>Campos dos Goycatazes</i>	2	1	1	50%	1 (50)
<i>Duque de Caxias</i>	8	7	1	14,3%	1 (14,3)
<i>Guapimirim</i>	2	1	1	50%	0
<i>Itaguaí</i>	4	2	2	50%	0
<i>Itatiaia</i>	1	0	1	100%	0
<i>Magé</i>	5	2	3	60%	2 (40)
<i>Mangaratiba</i>	2	1	1	50%	1 (50)
<i>Maricá</i>	5	3	2	40%	2 (40)
<i>Niterói</i>	44	25	19	43,18%	9 (20,4)
<i>Nova Friburgo</i>	5	3	2	40%	0
<i>Nova iguaçu</i>	4	3	1	25%	0
<i>Paracambi</i>	3	1	2	44,6%	0
<i>Paty do Alferes</i>	1	0	1	100%	0
<i>Petrópolis</i>	28	17	11	39,3%	4 (14,3)
<i>Queimados</i>	3	2	1	33,33%	0
<i>Rio Claro</i>	2	1	1	50%	0
<i>Rio de Janeiro</i>	113	73	40	35,4%	14 (12,4)
<i>São José do Vale do Rio Preto</i>	1	0	1	100%	0
<i>São Pedro da Aldeia</i>	1	0	1	100%	0
<i>Silva Jardim</i>	2	1	1	50%	0
<b>Total</b>	<b>245</b>	<b>147</b>	<b>98</b>	<b>-</b>	<b>37</b>

### 5.2.2. Detecção do *Gamaherpesvirus callitrichine 3* pelo sequenciamento do DNA viral da PAN-PCR.

De um total de 98 amostras positivas na *Pan*-PCR, seguiram para o sequenciamento do genoma viral, destas 37,75% (37/98) obtiveram resultados na reação de sequenciamento, identificadas como *Gamaherpesvirus callitrichine 3*, um vírus linfoproliferativo similar ao *Gamaherpesvirus humano 4* (Epstein Barr) em humanos.

### 5.2.3. Análise estatística dos resultados obtidos pela *Pan*-herpesvírus

A tabela 5.2.3. mostra a distribuição das variáveis gênero, sexo, procedência e idade dos PNH, relacionando com as prevalências. Com isso, pode-se observar que não houve associação entre as variáveis independentes do estudo, em que p-valor se encontra acima do estimado (p-valor<0,05), considerado estaticamente não significativo. Observa-se que na análise anatomopatológico (Tabela 5.2.4) que o traumatismo foi a principal causa do óbito em 38,16 % (108/283) dos primatas não humanos.

**Tabela 5.2.3. Análise estatística dos resultados obtidos damostras de primatas não humanos na técnica de Pan-PCR.** Distribuição e valores do teste do Qui-quadrado (p valor<0,05) em relação às variaveis do estudo.

	N (%)	PAN	
		Pos. (%)	X <sup>2</sup> (p-valor)
Espécie			0,58
Callithrix	265 (93,6)	93 (35,1)	
Sapajus	7 (2,4)	1 (14,3)	
Alouatta	10 (3,6)	4 (40,0)	
Leontopithecus	1 (0,4)	0 (0,0)	
Sexo			0,16
Femea	130 (49,0)	52 (40,0)	
Macho	135 (51,0)	42 (31,1)	
Localidade			0,66
Rio de Janeiro	108 (55,4)	39 (36,1)	
Niteroi	44 (22,5)	19 (43,2)	
Petropolis	28 (14,4)	11 (39,3)	
Duque de Caxias	8 (4,1)	1 (12,5)	
Volta Redonda	7 (3,6)	0 (0,00)	



**Tabela 5.2.4. Resultados da análise anatomopatológico.** Observa-se neste dado secundário, o resultado da necropsia dos PNH pós-morte e o percentual positivo para *Pan-Herpesvírus*.

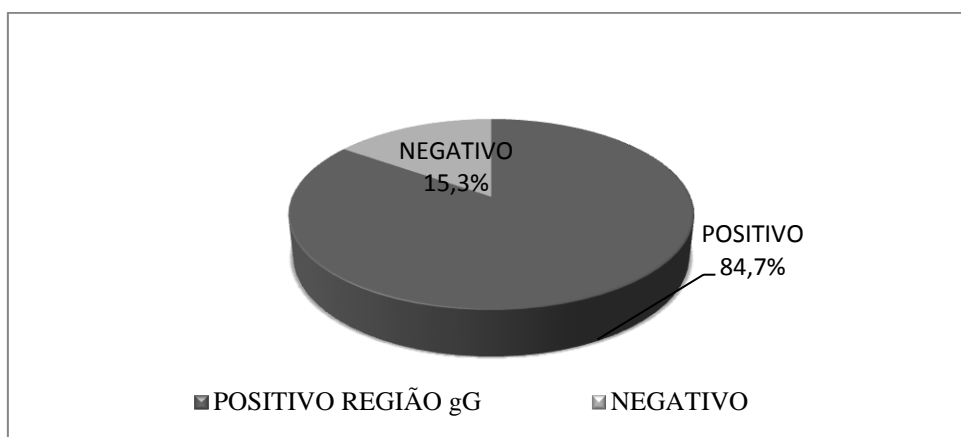
	N (%)	Pos. (%)
Necropsia		
Traumatismo	108 (96,4)	36 (33,3)
Intoxicação	2 (1,8)	1 (50,0)
Dirofilariose	1 (0,9)	0 (0,00)
Icterícia	1 (0,9)	1 (100,0)

Através da necropsia foi possível identificar o traumatismo como umas das principais causas do óbito dos PNH examinados.

### 5.3. Detecção da infecção por *Alphaherpesvirus humano 1* pela PCR – região gG

Após a análise por PAN-PCR, todas as amostras positivas foram levadas para a PCR HHV-1 afim de identificar a presença do *Alphaherpesvirus humano 1*, foi realizados PCR específico para a região gG nas amostras de primatas positivas para a PAN-PCR, baseada na amplificação do gene gG, região conservada da glicoproteína G do *Alphaherpesvirus humano 1* como observado na gráfico 5.3. Dentre as 98 amostras de PNH positivos para *Pan-Herpesvirus*, 83 indivíduos, ou seja, 84,7% (83/98) foram positivas para *Alphaherpesvirus humano 1*, um total de 29,3% (83/283) em relação à população total de primatas não humanos estudada.

**Gráfico 5.3. Detecção da infecção pelo *Alphaherpesvirus humano 1* (região gG) em gêneros de PNHs.**



**Tabela 5.3. Distribuição de prevalência por *Alphaherpesvirus humano 1* pela PCR gG em relação ao gênero dos primatas não humanos**

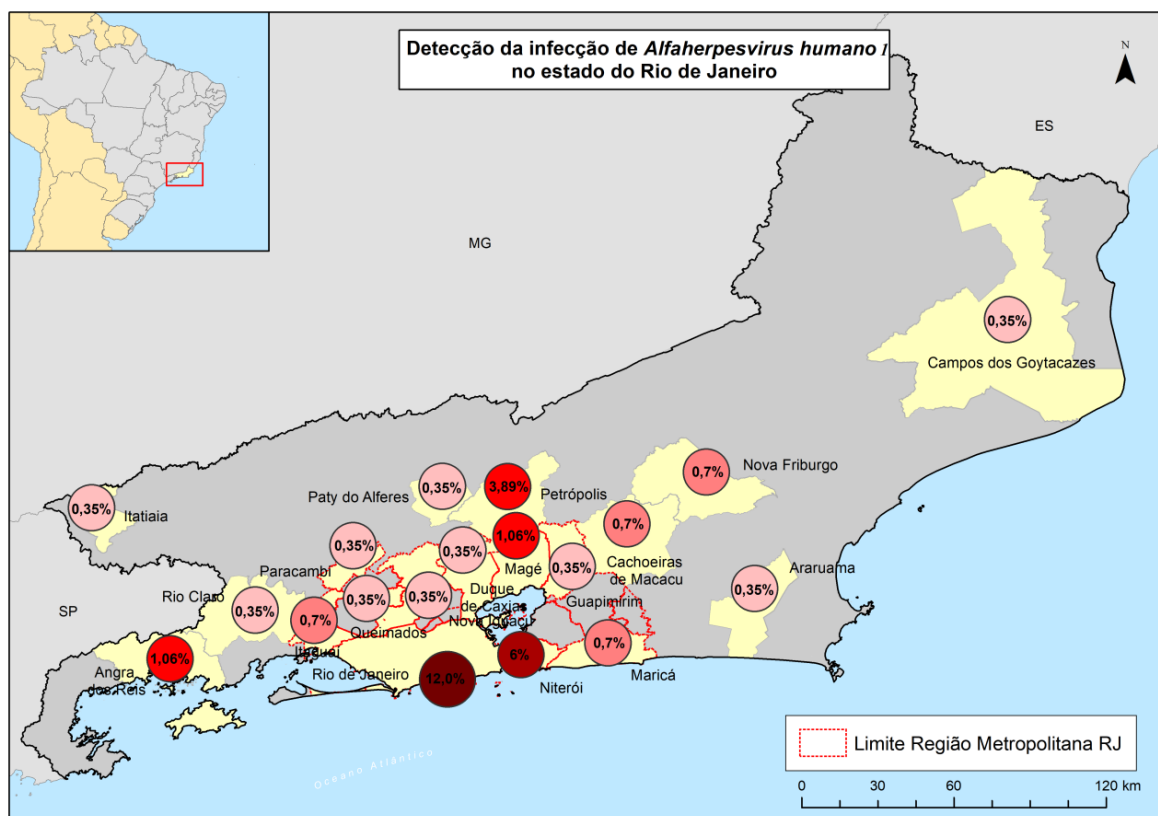
Na tabela 5.3. Observa-se o resultado positivo para a técnica da PCR específica para região gG. Do total de 83 amostras positivas, 81 eram *Callithrix sp*, 1 *Alouata sp* e 1 *Sapajus sp*, evidenciando que da maior parte da população de primatas não humanos com resultado positivo foi identificado HHV-1 (84,7% = 98/83) pela PCR região gG e observa-se as prevalências de herpesvírus pela técnica da PCR gG pelos gêneros dos PNH. Demonstrando que o gênero *Callithrix* obteve a prevalência maior, seguido de *Sapajus* e *Alouatta* dentro de suas quantidades de indivíduos.

<b>Gênero</b>	<b>Prevalência</b>
<i>Callithrix</i>	30,6% (81/265)
<i>Alouatta</i>	10% (1/10)
<i>Sapajus</i>	14,3% (1/7)
<i>Leontopithecus</i>	0

Na tabela 5.3.2. pode-se verificar as variáveis gênero, sexo, procedência e a idade, conforme as prevalências e valores do teste do Qui-quadrado (p valor).

**5.3.1. Distribuição dos casos positivos de primatas não humanos para *Alphaherpesvirus humano 1* no Rio de Janeiro.**

Os 83 primatas não humanos detectados com *Alphaherpesvirus humano 1* foram distribuídos no mapa do estado do Rio de Janeiro de acordo com o município onde foram encontrados, como observado na figura 5.3.1. A maior número de casos ocorreram no município do Rio de Janeiro (12,0%;34/283), seguido por Niterói (6,0%; 17/283) e Petrópolis (3,89%;11/283).



Fonte: (Elaborado por Rafael Santos- UERJ)

**Figura 5.3.1. Distribuição de percentual de casos positivos para *Alpherpesvirus humano 1* em primatas não humanos detectados no estado do Rio de Janeiro no ano de 2017.** O mapa apresenta a distribuição dos primatas não humanos positivos para *Alpherpesvirus humano 1* por municípios do estado do Rio de Janeiro onde foram encontrados em óbito. O pontilhado em vermelho representa o limite da região metropolitana do estado do Rio de Janeiro, onde estão localizados os principais municípios do estado em relação a questões socioeconômicas e demográficas.

Na tabela 5.3.1. observa-se o percentual de positivos para a detecção por *Alpherpesvirus humano 1* na PCR para região gG. Com isso, percebe-se que Araruama, Itaiaia e Paty do Alferes mesmo com uma única amostra, obteve resultado positivo para HHV-1, seguido de Angra dos Reis, Cachoeira do Macacu, Magé com resultado reativo em mais da metade das amostras testadas.

**Tabela 5.3.1. Detecção da infecção por *Alphaherpesvirus humano 1* de acordo com os municípios do Rio de Janeiro onde os primatas foram coletados**

<b>Município do estado do Rio de Janeiro</b>	<b>Total de Amostras</b>	<b>HHV-1 PCR negativo</b>	<b>HHV-1 PCR positivo</b>	<b>Porcentual positivos</b>
<i>Angra dos Reis</i>	5	2	3	60%
<i>Araruama</i>	1	0	1	100%
<i>Cachoeira do Macacu</i>	3	1	2	66%
<i>Campos dos Goycatazes</i>	2	1	1	50%
<i>Duque de Caxias</i>	8	7	1	14,3%
<i>Guapimirim</i>	2	1	1	50%
<i>Itaguaí</i>	4	2	2	50%
<i>Itatiaia</i>	1	0	1	100%
<i>Magé</i>	5	2	3	60%
<i>Maricá</i>	5	3	2	40%
<i>Niterói</i>	44	27	17	38,6%
<i>Nova Friburgo</i>	5	3	2	40%
<i>Nova iguaçu</i>	4	3	1	25%
<i>Paracambi</i>	3	2	1	33,3%
<i>Paty do Alferes</i>	1	0	1	100%
<i>Petrópolis</i>	28	19	9	32,14%
<i>Queimados</i>	3	2	1	33,33%
<i>Rio Claro</i>	2	1	1	50%
<i>Rio de Janeiro</i>	113	79	34	30,1%
<i>Total</i>	239	156	83	29,3% (83/283)

### 5.3.2. Análise estatística para *Alphaherpesvirus humano 1* região gG

Como pode ser observado na tabela 5.3.2, a variável gênero se revelou estatisticamente significativo (<0,01) atuando, com efeito, em relação ao resultado encontrado para *Alphaherpesvirus humano 1*. Pode-se visualizar no gráfico que tanto os machos como as fêmeas possuem chances similares (83,3% e 84,6%, respectivamente) de se infectarem com o HHV-1. Observa-se que dos 38,2 % (108/283) PNH apresentaram traumatismo nestes animais, o *Alphaherpesvirus humano 1* foi detectado 9,90 % (28/283) ou 33,7% (28/83) em PNH positivos.

**Tabela 5.3.2. Análise estatística de PNH positivos para *Alphaherpesvirus humano 1*.** Nesta tabela mostra a distribuição e valores do teste do Qui-quadrado (p valor<0,05) em relação às variáveis do estudo, revelando estatisticamente significativo.

	N (%)	HHV1gG		X <sup>2</sup> (p-valor)
		N (%)	Pos. (%)	
<b>Espécie</b>				<0,01
Callithrix	265 (93,6)	93	81 (87,1)	
Sapajus	7 (2,4)	1	1 (100,0)	
Alouatta	10 (3,6)	4	1 (25,0)	
Leontopithecus	1 (0,4)	-		
<b>Sexo</b>				0,86
Femea	130 (49,0)	52	44 (84,6)	
Macho	135 (51,0)	42	35 (83,3)	
<b>Localidade</b>				0,15
Rio de Janeiro	108 (55,4)	39	33 (84,6)	
Niteroi	44 (22,5)	19	17 (89,5)	
Petropolis	28 (14,4)	11	9 (81,8)	
Duque de Caxias	8 (4,1)	1	1 (100,0)	
Volta Redonda	7 (3,6)	-		

**Tabela 5.3.3. Resultados da análise anatomopatológica e infecção por HHV-1 gG.** Observa-se o resultado da necropsia dos PNH pós-morte e detectado a infecção em 26% (28/108) por HHV-1 gG nos primatas com traumatismo.

	N (%)	HHV1gG	
		N (%)	Pos. (%)
<b>Necropsia</b>			
Traumatismo	108 (96,4)	36	28 (77,8)
Intoxicação	2 (1,8)	1	1 (100,0)
Dirofilariose	1 (0,9)	-	
Icterícia	1 (0,9)	1	0 (0,00)

### 5.4. Detecção da co-infecção pelos *Alphaherpesvirus humano 1* e *Gammaherpesvirus callitrichine 3*

Após a detecção de herpesvírus pela *Pan*-PCR e a confirmação de *Alphaherpesvirus humano 1* pela PCR gG, foi observado a co-infecção por dois herpesvírus de subfamílias diferentes em 33 primatas não humanos. Um total de 11,6% (33/283) dos PNH foram positivos para dois vírus da família *Herpesviridae*, com apenas um representante do gênero *Sapajus* e 32 *Callithrix*. Conforme demonstrado na tabela 5.4. entre os animais co-infectados com HHV-1/CalHV-3, é possível visualizar a distribuição e valores do teste do Qui-quadrado (p valor<0,05) em relação às variáveis do estudo, revelando estatisticamente não significativo. E na tabela 5.4.1. observa-se a coinfeção por HHV-1/CalHV-3 nos primatas não humanos com traumatismo em 6,48% (7/108).

**Tabela 5.4. Análise estatística da co-infecção HHV-1/CalHV-3 primatas não humanos**

	N (%)	HHV-1gG/CalHV-3		
		N (%)	Pos. (%)	X <sup>2</sup> (p-valor)
<b>Espécie</b>				0,13
Callithrix	265 (93,6)	93	32 (12,0)	
Sapajus	7 (2,4)	1	1 (0,3)	
Alouatta	10 (3,6)	4	0	
Leontopithecus	1 (0,4)	0	0	
<b>Sexo</b>				0,90
Femea	130 (49,0)	52	18(54,5)	
Macho	135 (51,0)	42	13 (39,4)	
<b>Localidade</b>				0,57
Rio de Janeiro	108 (55,4)	39	13(39,4)	
Niteroi	44 (22,5)	19	7(21,2)	
Petropolis	28 (14,4)	11	4(12,1)	
Duque de Caxias	8 (4,1)	1	1(0,3)	
Volta Redonda	7 (3,6)	0	0	

**Tabela 5.4.1. Resultados da análise anatomopatológica e coinfeção por HHV-1/CalHV-3.** O resultado da necropsia dos primatas não humano pós-morte e a detecção da coinfeção em 6,48% ( 7/108) por HHV-1/CalHV-3 nos primatas com traumatismo.

	N (%)	HHV-1gG/CalHV-3	
		N (%)	Pos. (%)
<b>Necropsia</b>			
Traumatismo	108 (96,4)	36	7(21,2)
Intoxicação	2 (1,8)	1	0
Dirofilariose	1 (0,9)	0	0
Icterícia	1 (0,9)	1	0

## 5.5. Alinhamento da sequência de amplificação da região UL 23 em primatas não humanos.

Na figura 5.5. demonstra o alinhamento da sequência da UL 23 na amostra de PNH com

grupos de amostras de humanos na região da UL 23 do vírus, observa-se que a estirpe alinhada não obteve mutação e portanto não foi resistente ao fármaco.







**Figura 5.5. Alinhamento da sequência nucleotídica parcial da região UL 23 da timidina quinase (290 bp).** O número de acesso do GenBank é mostrado para cada sequência utilizadas. A amostra de *Alphaherpesvírus humano 1* esta sinalizada em negrito no topo das sequências e nomeada como HHV-1 PNH. Sequências brasileiras do Rio de Janeiro estão com sufixo HHV-1 BR RJ. Código de Países: Quênia - KE, Japão - JP, Holanda – NL, Estados Unidos – US, República de Kiribati – KR, Gabão – GB, Brasil Rio de Janeiro - BR-RJ. A numeração no topo demonstra a posição de cada nucleotídeo alinhado. Foi usado como grupo externo HHV-2, as duas últimas sequências.

## 6. DISCUSSÃO

Os primatas não humanos são hospedeiros de herpesvírus, assim como o homem. Esses vírus geralmente causam infecções brandas ou inaparentes em seu hospedeiro natural, porém algumas infecções estão associadas à doenças graves quando transmitidos à outras espécies distintas da espécie-específicas (Brack, 1977). Em um estudo realizado por Sakulwira e colaboradores (2002) foi evidenciada uma prevalência de 28,2% de HHV-1 e HHV-2 em Gibões na Tailândia (Sakulwira *et al.*, 2002).

A infecção pela família *Herpesviridae* possui altas prevalências em todo mundo e está presente em várias espécies, levando aos mais variados sinais e sintomas. Em 2012, a Organização Mundial da Saúde, estimou que 3,7 bilhões de pessoas com menos de 50 anos, ou seja, 67% da população mundial, tiveram infecção por HHV-1 (WHO, 2017). A soroprevalência em seres humanos adultos é de cerca de 80 a 90% para o HHV-1 e entre 10% a 25% para o HHV-2 (Looker *et al.*, 2008; Reil *et al.*, 2008; Whitley, 2014). No Brasil, a prevalência de anti-HHV-1 é de 67,2% e de HHV-2 é de 11,3%, predominante em adolescentes e jovens (Clemens e Farhat, 2010). Na cidade do Rio de Janeiro, os dados são escassos, mas segundo Lupi e colaboradores, a soroprevalência para HHV-1 foi de 87% (Lupi *et al.*, 2000), já no estudo de Clemens e Farhat foi observado 68,8% de soroprevalência (Clemens e Farhat, 2010) na população humana.

O presente estudo visou detectar herpesvírus em primatas não humanos do estado do Rio de Janeiro. Na etapa anterior à investigação, foram identificadas as características desses animais em relação ao gênero, sexo e idade. Com isso, foi analisado o perfil dos animais do estudo, no qual verificou-se a predominância da população de *Callithrix* (*Callithrix jacchus*, *Callithrix penicillata* e espécies híbridas, espécies predominantes no estado do Rio de Janeiro) com 93,6% (265/283), seguido do gênero *Alouatta* com 3,55% (10/283), seguido do gênero *Sapajus* com 2,48 % (7/283) e o menos representativo, o *Leontopithecus* (1/283=0,35%).

A espécie *Callithrix jacchus*, esta totalmente inserida na Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro, é uma das maiores espécies de primatas não humanos invasoras e residentes oriundos do Nordeste do Brasil, atualmente adaptadas a este habitat e ao ambiente periurbano, como por exemplo, parques florestais e zonas rurais.

Atualmente é o primata não humano com contato mais estreito com o homem. Os grupos variam de tamanho populacional entre 3 a 15 indivíduos (Alonso e Langguth, 1989; Monteiro Da Cruz, 1998) e, sua densidade populacional é de cerca de 0,09 ind/km<sup>2</sup> (indivíduos por quilômetros quadrado) com tendência populacional estável e crescente, e isto por sua vez, facilita transmissão de agentes patogênicos nos grupos familiares (Ruiz-Miranda *et al.*, 2000; Rylands *et al.*, 2008).

Em relação ao *Alouatta*, estima-se que o tamanho da população total seja de cerca de 250 espécies e o número de indivíduos maduros ou férteis seja inferior a 50. Os *Alouatta guariba guariba* (Bugio) endêmico no Rio de Janeiro (Brasil), apresentam tamanho médio dos grupos de 4 - 5 ind./grupo, com tendência populacional em declínio (Mendes *et al.*, 2008).

Os grupos de gênero *Sapajus* podem ser formados por 11-23 indivíduos (Silveira *et al.*, 2005; Aguiar e L.M., 2006). A espécie *Sapajus nigritus* (macaco-prego), sofre declínio populacional em todo Brasil, com densidade populacional de cerca de 3,5 ind/km<sup>2</sup> (González-Solís *et al.*, 2001) em São Paulo a densidade populacional é cerca de 7,71 ind./km<sup>2</sup> em Minas Gerais (Costa *et al.*, 2012).

Somando a isso, o gênero *Leontopithecus sp.* mais especificamente o *Leontopithecus rosalia* (Mico-leão-dourado) é endêmico no Brasil, ocorrendo no estado do Rio de Janeiro, onde é residente e nativo (Kierulff *et al.*, 2008). O tamanho populacional total está em torno de 1.600 indivíduos e o número de indivíduos maduros foi estimado entre 500 e 600 em todo estado do Rio de Janeiro (Kierulff *et al.*, 2012).

Em relação à distribuição do sexo dos primatas não humanos do estudo, o gênero *Callithrix* foi representado por 125 (47,2%) fêmeas e 121 (45,0%) machos, mostrando ser equivalente, já o gênero *Alouatta* com 2 fêmeas e 7 machos, seguido pelo gênero *Sapajus* com 1 fêmea e 6 machos, e por último com apenas um representativo sendo macho, o gênero *Leontopithecus*. Ademais, a média observada para os indivíduos do gênero *Callithrix* foi de 4,3 anos, considerado maduro sexualmente a partir de 1 ano (Smith *et al.*, 1997; Strier *et al.*, 2001). Em relação ao gênero *Alouatta*, a média de idade foi de 4,7 anos, sendo considerado maduro sexualmente a partir de 3,6 ano para fêmea e 5 anos para o macho (Hirano *et al.*, 2008), o *Sapajus* com média de idade de 6,5 anos, a exemplo do *Sapajus nigritus* (Macaco-prego), que tem sua distribuição geográfica no sudeste do Brasil, possui maturidade sexual a partir dos 4 anos (Fragaszy *et al.*, 2004), e o com apenas um representante de 6 meses de idade o *Leontopithecus*

com idade sexual madura a partir de 4 anos (Holst *et al.*, 2006).

Segundo o ICMBIO (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade), o Brasil, é o país com maior número de primatas conhecidos e com cerca de 40% das espécies de primatas estão ameaçadas de extinção. Nesta lista se encontram espécies associadas ao estudo como, *Alouatta*, *Leontopithecus* e *Sapajus*. ameaçados de extinção devido a fatores como o desmatamento, reduzindo seu hábitat, tráfico de animais silvestres, competição com espécies exóticas (*Leontopithecus chrysomelas* e *Callithrix jacchus*) e expansão urbana (Rylands, 2012).

Os primatas não humanos do novo mundo são altamente susceptíveis a infecções por herpesvírus, que são facilmente dissemináveis entre os membros do grupo de primatas não humanos na natureza (Mätz-Rensing *et al.*, 2003; Schrenzel *et al.*, 2003; Hatt *et al.*, 2004). No estado do Rio de Janeiro durante o 1º ciclo da epizootia de febre amarela (julho/2016 a junho/2017) foram notificadas 216 epizootias, envolvendo 362 animais no total, já no 2º ciclo (julho/2017 a junho/2018) da epizootia, foram notificadas 33 epizootias, envolvendo no total 135 PNH, com um total de três municípios com epizootias confirmadas para febre amarela: Miguel Pereira, Nova Iguaçu confirmados através dos exames laboratoriais RT-PCR e Imuno-histoquímica, no de Tanguá confirmado por RT-PCR (Saúde, 2017). Com isso, as 283 amostras de PNH que foram negativas para febre amarela do estudo, indicam outros fatores como causa do óbito destes animais entre eles infecção por outro vírus (Bonaldo *et al.*, 2017; Rossetto *et al.*, 2017), podendo ser os herpesvírus.

A fim de avaliar a infecção por herpesvírus nos PNH negativos para febre amarela, foi realizado a detecção pela PAN-PCR, este método foi descrito com tendo uma boa sensibilidade, já que detecta uma carga viral baixa de uma região conservada do genoma que abrange toda família dos herpesvírus. Esta técnica, já foi utilizada anteriormente por Ehlers e colaboradores, em animais tais como *Mus Musculos* (camundongo), equídeos, e em suínos na África e Ásia, confirmando a validade do teste diagnóstico (Ehlers *et al.*, 1999; Ehlers e Lowden, 2004; Ehlers *et al.*, 2007; Ehlers *et al.*, 2008). De acordo com a detecção pela PCR, dentre as 283 amostras de fígado analisadas de primatas não humanos negativos para febre amarela, foi encontrado uma prevalência da infecção de 34,62% (98/283) por herpesvírus. A mais alta prevalência foi encontrada PNH do gênero *Callithrix* 94,9% (93/98), seguida pelos *Alouata* com 4,1% (4/98) e apenas 1,02% em *Sapajus* (1/98).

O sequenciamento do DNA viral identificou a presença em 37,75%, o *Gammaherpesvirus callitrichine 3* que é um vírus linfoproliferativo similar ao *Gammaherpesvirus humano 4* (Epstein Barr). Estudos anteriores mostram que os herpesvírus relacionados ao EBV são endêmicos em famílias de primatas do Novo Mundo (Cho *et al.*, 2001; Rivaller, Jiang, *et al.*, 2002). E, em geral, os gamaherpesviruses não causam doença grave na primo-infecção em seu hospedeiro natural, podendo manter de forma latente durante toda vida do animal, mas devido a alguns fatores, como sistema imunológico baixo ou transmissão para espécie divergente, isto, por sua vez, pode induzir a linfoproliferação viral e rapidamente se tornar um linfoma maligno ou uma mononucleose, levando o animal à morte (Hunt e Meléndez, 1969; Falk *et al.*, 1976; Frank *et al.*, 1976; Johnson, 1984; Wedderburn *et al.*, 1984; Emini *et al.*, 1986; Feichtinger *et al.*, 1990; Plotkay, 1992; Hunt e Blake, 1993; Niedobitek *et al.*, 1994; Franken *et al.*, 1996; Moghaddam *et al.*, 1997). O estudo de Ramer e colaboradores, no Centro Regional de Pesquisas em Primatas Wisconsin, Washington (Ramer *et al.*, 2000) confirmaram a presença do *Gammaherpesvirus callitrichine 3* (CalHV-3) em 64,3% (52/84) dos *Callithrix* adultos causando a morte de 19,0% (16/84) de animais clinicamente normais. Além disso os autores, relatam que os animais infectados de forma latente podem desenvolver a doença apenas quando imunocomprometidos, seja por manipulação relacionada à pesquisa, doença concomitante ou co-infecção. A equipe de Young-Gyo Cho em 2001, na escola de medicina de Harvard, Boston, isolaram o CalHV-3 de células B de linfomas de *Callithrix jacchus*, indicando que a infecção persistente com vírus homólogo ao EBV é prevalente em *Callithrix* bem como em macaco-esquilo, que são famílias de primatas do Novo Mundo e, que a infecção por CalHV-3 em saguis também pode fornecer modelo animal para patogênese do vírus Epstein-Barr e neoplasias associadas em humanos (Cho *et al.*, 2001).

Os animais positivos para PAN-PCR foram distribuídos em um mapa, as maiores prevalências foram encontrados no município do Rio de Janeiro com 14,13% (40/283), seguido de Niterói com 6,7% (19/283) e Petrópolis com 3,89% com (11/283). Os municípios de Magé e Angra dos Reis obtiveram uma prevalência de 1,06 % (3/283), seguido de Cachoeira do Macacu, Itaguaí, Maricá, Nova Friburgo e Paracambi com 0,7% (2/283) e Araruama, Campos dos Goytacazes, Duque de Caxias, Guapimirim, Itatiaia, Magaratiba, Nova Iguaçu, Paty de Alferes, Queimados, Rio Claro, São José do Vale do Rio Preto, São Pedro da Aldeia e Silva Jardim com a prevalência de 0,35%

(1/283). Os municípios de Rio de Janeiro, Belford Roxo, Duque de Caxias, Guapimirim, Itaboraí, Japeri, Magé, Maricá, Mesquita, Nilópolis, Niterói, Nova Iguaçu, Paracambi, Queimados, São Gonçalo, São João de Meriti, Seropédica, Tanguá, Itaguaí, Rio Bonito e Cachoeiras de Macacu fazem parte da região metropolitana do Rio de Janeiro, possuem maiores concentrações econômicas, populacionais e territoriais, além do alto desmatamento para construções de habitações deixando assim o território dos PNH ainda mais restritos. Além disso, as maiores detecções das prevalências de herpesvirus em primatas não humanos, comparada com menores prevalências encontradas nestas localidades mais distantes do centro urbano do estudo, podem ser explicadas pela ação dos Órgãos de Vigilância ou Centro de Controle de Zoonoses, em que a notificação tardia ou a subnotificação da população quanto a distância dos locais coleta dos animais em óbito para a análise laboratorial.

Foi avaliado a presença do *Alphaherpesvirus humano 1* por PCR específico para a região gG, baseada na amplificação do gene gG, região conservada da glicoproteína G do *Alphaherpesvirus humano 1*, visto que este vírus já havia sido detectado em PNH no Rio de Janeiro (dados não publicados) anteriormente. De acordo com a detecção pela PCR, dentre as 98 amostras de fígado analisadas pela PCR *Nested* (PAN-PCR), foi encontrada uma prevalência da infecção de 84,7% (83/98) do total positivos para *Pan-Herpesviroses* ou 29,3% (83/283) do total geral de primatas testados para HHV-1 neste estudo. Sabe-se que quando o HHV-1 é transmitido do homem para os primatas não humanos do Novo Mundo, a infecção pode ser fatal (Juan-Salle´S *et al.*; Huemer *et al.*, 2002; Mätz-Rensing *et al.*, 2003; Hatt *et al.*, 2004; Lefaux *et al.*, 2004; Sekulin *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2011; Longa *et al.*, 2011; Imura *et al.*, 2014).

Atualmente no Brasil, o gênero *Callithrix* é o primata não humano que possui contato mais estreito com o homem e, estes por sua vez vivem em grupos numerosos, compartilhando alimentos, por exemplo, com isso facilitando a transmissão do agente infeccioso entre os PNH e entre os gêneros de PNH distintos (Alonso e Langguth, 1989; Monteiro Da Cruz, 1998).

O *Alphaherpesvírus humano 1* (HHV-1) é caracterizado como espécie-específico do ser humano e são transmissíveis de humanos para primatas não humanos.

Os humanos são os hospedeiros naturais e reservatório do HHV-1 (Mätz-Rensing *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2011; Fan *et al.*, 2017). Os macacos do Novo Mundo são mais suscetíveis a infecções e doenças pelo HHV-1. Nos primatas não humanos o curso da doença é grave, levando à morte na maioria dos casos (Melendez, L.V. *et al.*, 1969; McClure e Keeling, 1971). Na literatura, a infecção espontânea por HHV-1 foi descrita em caso fatal em saguis de tufos-de-orelha-branco (*Callithrix jacchus*), após contato com homem com lesão pelo HHV-1, o vírus foi veiculado através de restos de alimentos, e no contato direto com o homem com lesões ativas (Juan-Salle´S *et al.*; Mello e Raick, 1985; Bruno *et al.*, 1997). A equipe de Sekulin em 2010 descreveu a infecção zoonótica natural por HHV-1 em 2 saguis levando a um quadro de encefalite (*Callithrix jacchus*) independentes e de populações diferentes, que vieram a falecer. A presença do vírus foi confirmada por genotipagem (Sekulin *et al.*, 2010). O grupo de Lefaux e colaboradores, relataram a ocorrência de surto de HHV-1 em *Callithrix geoffroyi* em Zoológico Doue´La Fontaine, na França, cujos animais possuíam doença ulcerativa gengivoestomatite, encefalite e evoluíram para o óbito uma família de seis saguis. A alta mortalidade nesses PNH por HHV-1 indica a necessidade de estratégias profiláticas, monitoramento da infecção, conservação dos espaços naturais desses animais e controle da disseminação da infecção entre os indivíduos do mesmo grupo para evitar a transmissão e tratamento eficaz em animais infectados com o vírus (Lefaux *et al.*, 2004)

Estes animais, foram distribuídos em um mapa segundo sua detecção do HHV-1, os maiores números de casos positivos, foi encontrado em primeiro lugar, no município do Rio de Janeiro com 12,0% (34/283), seguido de Niterói com 6,0% (17/283) e Petrópolis com 3,2% com (9/283) com as maiores prevalências na região metropolitana do estado Rio de Janeiro. Os municípios de Magé e Angra dos Reis obtiveram uma prevalência de 1,06 % (3/283), seguido de Cachoeira do Macacu, Itaguaí, Maricá, Nova Friburgo com 0,7% (2/283) e Araruama, Campos dos Goytacazes, Duque de Caxias, Guapimirim, Itatiaia, Nova Iguaçu, Paty de Alferes, Queimados, Rio Claro, Paracambi com a prevalência de 0,35% (1/283). Dentro dos gêneros detectados com HHV-1, o *Callithrix* teve uma detecção de 30,5% (81/265) seguido do gênero *Sapajus* com 14,3% (1/7) e *Alouatta* com 10% (1/10), evidenciando o gênero *Callithrix* mais abundante do estudo com maior contato com o homem. Nos municípios que foram encontrados as prevalências mais altas, são municípios urbanizados, onde se observa a



interação dos animais com humanos em parques e espaços públicos.

Apesar de ter sido encontrado uma alta prevalência de herpes, segundo os dados analisado pelo exame anatomopatológico de cada primata do estudo revelou o politraumatismo em 38,16% (108/283) e em 26% (28/108) desses primatas estavam com a infecção pelo HHV-1 e 6,48% (7/108) coinfectados com HHV-1/CalHV-3, os PNH são altamente vulneráveis a infecção pelo HHV-1 e este leva a desordens neurais podendo ocasionar nestes animais, que são arborícolas, a uma queda das árvores e causar politrumatismo . Isso mostra que há necessidade da conscientização sobre o manejo desses animais em espaço público e florestais frente a surtos, bem como o recente surto de febre amarela em 2017, em que movido pela desinformação, o ser humano atentou contra a vida desses animais. Sendo a possível causa de morte majoritariamente frente a qualquer tipo de infecção viral. Após a detecção de herpesvírus humanos pela *Pan-PCR* e a confirmação pelo *Alphaherpesvirus humano 1* pela PCR gG, foi detectado prevalência da co-infecção por dois herpesvírus em 33 primatas 11,6% (33/283). Os animais estavam infectados pelos vírus da subfamília *Gamaherpesvirinae e Alfaherpesvinae*. Com apenas um representante do gênero *Sapajus* com 0,35% (1/283) e *Callithrix* com prevalência de 11,3% (32/283). Não existe até o momento trabalhos na literatura disponíveis sobre a co-infecção de dois herpesvírus de sub-famílias distintas em primatas não humanos, fazendo que esta pesquisa seja a pioneira na utilização destas metodologias em favor da análise ecoepidemiológica deste herpesvírus em primatas não humanos no Brasil.

Contudo, após avaliar a associação da co-infecção CalHV-3/HHV-1 entre os indivíduos dos primatas não humanos em relação as variáveis espécie, sexo, idade, necropsia e localidade pôde-se analisar que não houve associação estatística significativa entre esses fatores, em que os indivíduos do gênero *Callithrix* obtiveram a maior prevalência de co-infecção e que este por sua vez ocorre com maior frequência em primatas não humanos na idade adulta de 9,54% (27/283).

Após a avaliação da detecção de herpesvírus pela PCR *Nested (Pan-PCR)* e PCR da região gG para o *Alphaherpesvirus humano 1* nos primatas não humanos. Seguiu-se para PCR região UL 23. As mutações no gene UL23 que codifica a timidina cinase viral (TK) resultam em resistência ao aciclovir (AVC) (Casagrande, 2007; Lopes, 2012; Torres *et al.*, 2012). Nenhuma mutação foi encontrada, mostrando que o aciclovir pode

ser utilizado nos PNH como tratamento durante surtos e suspeita de herpesvírus. O gene UL23 codifica a timidina quinase viral (TK) e suas mutações na mesma resulta em 95% dos casos humanos resistência ao aciclovir (Piret e Boivin, 2011) isso é relevante, por sua vez, para tratamento antiviral (Mertz *et al.*, 2003), especialmente quando pode ser aplicado em primatas não humanos que possuem ou não ter lesões ativas ou durante um surto com suspeita desta infecção. Um estudo desenvolvido pelo nosso grupo, por Perse e colaboradores, também não encontrou mutações no gene da TK em pacientes com *Alphaherpesvirus humano* e coinfectados com HIV no estado do Rio de Janeiro, sendo sugerido o tratamento com o fármaco (Perse Da Silva *et al.*, 2015). Não há outros estudos que investiga resistência ao aciclovir pela região UL 23 viral em primatas não humanos. No alinhamento nucleotídico do HHV-1 na região UL 23, gene altamente conservado (Bacon *et al.*, 2003), observou-se alta homologia com estipes humanas oriundas do Brasil (Perse *et al.*, 2015), Europa, Estados Unidos e África (Kolb *et al.*, 2013; Szpara *et al.*, 2014). Até o momento na literatura, não existem trabalhos realizados com a região UL 23 em PNH.

A detecção de CalHV-3 em 37,75% dos PNH, demonstra a importância da utilização de técnicas mais abrangentes, com a a *PAN-PCR* para identificação de novos e espécie-específico herpesvírus.

Por fim, pôde-se observar com este estudo que o Pan-herpesvírus utilizado para detecção simultânea dos herpesvírus, foi eficiente para a detecção das infecções causadas por herpesvírus em primatas não humanos. Evidenciando que os resultados podem contribuir para o diagnóstico e monitoramento de infecções causadas por herpesvírus em PNH, inclusive nos casos dos animais sem diagnóstico para a infecção pelo vírus da febre amarela.

Os resultados deste estudo foram importantes para ressaltar a importância do comportamento e da conscientização da população sobre o convívio e manejo com os animais em espaços naturais, públicos e florestais, pois muitas mortes desses animais foram devido a ação do homem, como politraumatismo ou envenenamento e infecção por herpesvírus humano. Além disso, é necessário reforçar a importância de não alimentar os animais selvagens.

## **7. CONCLUSÕES**

- Entre os primatas não humanos negativos para febre amarela, 34,63% estavam infectados com vírus da família *Herpesviridae*, evidenciando a importância do diagnóstico diferencial para detecção de outros vírus de importância médica que poderiam estar circulando silenciosamente ou não, durante a epizootia de febre amarela;
- A presença da circulação de um vírus específico do gênero *Callithrix sp*, o *Gammaherpesvirus callitrichine 3* foi constatada em 13,07% dos primatas não-humanos analisados do gênero *Callithrix* e também em animais de outras espécies, assim como os *Sapajus* e *Alouatta*, demonstrando a circulação do CalHV-3 em saguis e outros primatas no estado do Rio de Janeiro;
- Foi demonstrado uma alta prevalência (29,32%) de *Alphaherpesvirus humano 1* (HHV-1), um vírus de importância médica, em amostras de PNH revela o impacto e a importância que a influência humana tem em populações de PNH no Rio de Janeiro;
- As maiores prevalências de HHV-1 foram detectadas nos municípios do Rio de Janeiro (12%), Niterói (6,0%) e Petrópolis (3,86%), evidenciando o estreito contato dos PNH com o homem em espaços urbanos;
- A detecção de HHV-1/CalHV-3 de 9,54% em *Callithrix sp* e *Sapajus sp*, revela a co-infecção por herpesvírus com correlação. O impacto dessa co-infecção é desconhecido e deve ser explorado;
- Neste estudo houve associação estatística da detecção da infecção por HHV-1 e os gêneros de PNH, evidenciando que o fator de chance de infecção é mais alta *Callithrix* (p-valor= 0,01);
- A análise do gene UL23 do HHV-1 detectado em PNH, mostrou que não houve nenhuma mutação e que o aciclovir poderia ser utilizado no tratamento dos animais com herpes;
- Os resultados desta pesquisa foram relevantes para determinar a prevalência das infecções causadas por herpesvírus em PNH que foram a óbitos sem diagnóstico para febre amarela no Rio de Janeiro/Brasil;
- São necessários investimentos na pesquisa por herpesvírus em primatas não humanos devido ao contato estreito com o homem e a rápida disseminação entre os animais, e importante estimular a conscientização da população sobre o manejo desses animais em espaços naturais, espaços públicos e florestas, atentando sempre na vigilância desta infecção e seu modo de prevenção.

## **8. PERSPECTIVAS**

- Investigar a coinfeção de herpesvírus com o vírus da febre amarela;
- Realizar campanha da conscientização da população sobre como manejo desses animais encontrados mortos em ambiente naturais, públicos ou florestas e seu modo de prevenção da infecção;
- Analisar das lâminas de cortes histopatológicos de animais positivos para herpesvírus.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(CDC), C. F. D. C. A. P. Publication of guidelines for the prevention and treatment of B virus infections in exposed persons. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 44, n. 5, p. 96-7, Feb 1995. ISSN 0149-2195. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7838090> >.

ABLASHI, D. V. et al. **Oncogenicity of Herpesvirus saimiri induced lymphoma and the DNA polymerases of the lymphoma derived cell line and herpesvirussaimiri**. Med. Primatol. Proc. 3rd Conf. Exp. Med. Surg. Primates,; Part III:134–142 1972.

AEBI, C. et al. Age-specific seroprevalence to varicella-zoster virus: study in Swiss children and analysis of European data. **Vaccine**, v. 19, n. 23-24, p. 3097-103, Apr 2001. ISSN 0264-410X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11312004> >.

AGERGAARD, J.; LARSEN, C. S. Acute acalculous cholecystitis in a patient with primary Epstein-Barr virus infection: a case report and literature review. **Int J Infect Dis**, v. 35, p. 67-72, Jun 2015. ISSN 1878-3511. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25887813> >.

AGUIAR; L.M. **Os primatas do corredor do Alto Rio Paraná (região de Porto Rico, Estados do Paraná e Mato Grosso do Sul): Ocorrência, georreferenciamento e parâmetros. Dissertação (Mestrado em Zoologia)**. . Universidade Federal do Paraná: 110p. 2006.

ALLEN, W. P. et al. Recent studies on the isolation and characterization of Delta herpesvirus. **Lab Anim Sci**, v. 24, n. 1, p. 222-8, Feb 1974. ISSN 0023-6764. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4360749> >.

ALMEIDA, M. A. et al. Surveillance for yellow Fever virus in non-human primates in southern Brazil, 2001-2011: a tool for prioritizing human populations for vaccination. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 8, n. 3, p. e2741, Mar 2014. ISSN 1935-2735. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24625681> >.

ALONSO, C.; LANGGUTH, A. **Ecologia e comportamento de *Callithrix jacchus* (Primates: Callitrichidae) numa ilha de floresta atlântica**. . Revista Nordestina de Biologia. 6: 105-137 1989.

ANZIL, A. P.; BOWDEN, D. M.; PLOOG, D. Malignant lymphoma in a squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). **J Med Primatol**, v. 6, n. 4, p. 251-6, 1977. ISSN 0047-2565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/412975> >.

ARDUINO, P. G.; PORTER, S. R. Herpes Simplex Virus Type 1 infection: overview on relevant clinico-pathological features. **J Oral Pathol Med**, v. 37, n. 2, p. 107-21, Feb 2008. ISSN 1600-0714. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18197856> >.

ARVIN, A.; GILDEN, D. **Varicella-Zoster Virus. In: KNIPE, D. M. e HOWLEY, P. M. (Ed.). . Fields Virology . sixth. : sixth.** Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, v.1. p.2015 – 2057 2013.

ASSAF, B. T.; KNIGHT, H. L.; MILLER, A. D. rhesus cytomegalovirus (macacine herpesvirus 3)-associated facial neuritis in simian immunodeficiency virus-infected rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **Vet Pathol**, v. 52, n. 1, p. 217-23, Jan 2015. ISSN 1544-2217. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24686387> >.

ASSAF, B. T. et al. Patterns of acute rhesus cytomegalovirus (RhCMV) infection predict long-term RhCMV infection. **J Virol**, v. 86, n. 11, p. 6354-7, Jun 2012. ISSN 1098-5514. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22491451> >.

BACON, T. H. et al. Herpes simplex virus resistance to acyclovir and penciclovir after two decades of antiviral therapy. **Clin Microbiol Rev**, v. 16, n. 1, p. 114-28, Jan 2003. ISSN 0893-8512. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12525428> >.

BALLARD, R. A. et al. Acquired cytomegalovirus infection in preterm infants. **Am J Dis Child**, v. 133, n. 5, p. 482-5, May 1979. ISSN 0002-922X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/219685> >.

BAQUERO-ARTIGAO, F. et al. Cerebrospinal fluid beta 2-microglobulin values in perinatally acquired cytomegalovirus infection. **Pediatr Infect Dis J**, v. 23, n. 9, p. 891-2, Sep 2004. ISSN 0891-3668. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15361739> >.

BARREALES, M. et al. [Epstein-Barr virus infection and acute cholestatic hepatitis]. **An Med Interna**, v. 23, n. 10, p. 483-6, Oct 2006. ISSN 0212-7199. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17134311> >.

BASKIN, G. B. Disseminated cytomegalovirus infection in immunodeficient rhesus monkeys. **Am J Pathol**, v. 129, n. 2, p. 345-52, Nov 1987. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2823615> >.

BATES, M. et al. Predominant human herpesvirus 6 variant A infant infections in an HIV-1 endemic region of Sub-Saharan Africa. **J Med Virol**, v. 81, n. 5, p. 779-89, May 2009. ISSN 1096-9071. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19319952> >.

BEAULIEU, B.; SULLIVAN, J. **Epstein-Barr Virus. In: Clinical Virology (Richman, D. D., Whitley, R. J., and Hayden, F. G., Eds.).** Washington, DC: ASM Press: pp. 479–494 2002.

BERGQUAM, E. P. et al. Rhesus rhadinovirus establishes a latent infection in B lymphocytes in vivo. **J Virol**, v. 73, n. 9, p. 7874-6, Sep 1999. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10438883> >.

BERNSTEIN, D. I. et al. Epidemiology, clinical presentation, and antibody response to primary infection with herpes simplex virus type 1 and type 2 in young women. **Clin**

**Infect Dis**, v. 56, n. 3, p. 344-51, Feb 2013. ISSN 1537-6591. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23087395> >.

BIGGAR, R. et al. **Primary Epstein-Barr virus infections in African infants. I. Decline of maternal antibodies and time of infection:** *Int. J. Cancer* 22:239–243 1978.

BLACKBOURN, D. et al. **Human herpesvirus 8 detection in nasal secretions and saliva.** *J. Infect. Dis:* 177,213-216 1995.

BLAKELY, G. A. et al. A varicella-like disease in macaque monkeys. **J Infect Dis**, v. 127, n. 6, p. 617-25, Jun 1973. ISSN 0022-1899. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4350517> >.

BLOOM, D. **HSV-1 latency and the roles of the LATs.** In: Sandri-Goldin, RM., editor. *Alpha Herpesviruses: Molecular and Cellular Biology* p. 325-342 2006.

BONALDO, M. C. et al. Genome analysis of yellow fever virus of the ongoing outbreak in Brazil reveals polymorphisms. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 6, p. 447-451, Jun 2017. ISSN 1678-8060. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28591405> >.

BORGES, J.; AL., E. **Transmission of human herpesvirus type 8 infection within families in American indigenous populations from the Brazilian Amazon** *J. Infect. Dis:* 205, 1869–1876 2012.

BOUVARD, V. et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. **Lancet Oncol**, v. 10, n. 4, p. 321-2, Apr 2009. ISSN 1474-5488. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19350698> >.

BRACK, M. **Morphological and epidemiological aspects of simian herpesvirus infections** Paul Parey, Berlin vol. 5, pp. 1–60 1977.

BRAUN, M. Classics in Oncology. Idiopathic multiple pigmented sarcoma of the skin by Kaposi. **CA Cancer J Clin**, v. 32, n. 6, p. 340-7, 1982 Nov-Dec 1982. ISSN 0007-9235. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6812893> >.

BRAYFIELD, B. P. et al. Distribution of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus/human herpesvirus 8 in maternal saliva and breast milk in Zambia: implications for transmission. **J Infect Dis**, v. 189, n. 12, p. 2260-70, Jun 2004. ISSN 0022-1899. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15181574> >.

BRUNO, S. F. et al. [Herpesvirus infections in free living black tufted ear marmosets (*Callithrix penicillata*, E. Geoffroyi 1812) at the State Park of Serra da Tiririca, Niterói, Rio de Janeiro, Brazil]. **Berl Munch Tierarztl Wochenschr**, v. 110, n. 11-12, p. 427-30, Dec 1997. ISSN 0005-9366. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9451841> >.

BUONUOMO, P. S. et al. Successful treatment with oral valganciclovir in immunocompetent infant with gastrointestinal manifestations of cytomegalovirus

infection. **J Perinatol**, v. 26, n. 10, p. 648-9, Oct 2006. ISSN 0743-8346. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17006527> >.

BUTEL, J. **Herpesvírus**. In: **Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA (eds) Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick e Adelberg, 25th edn.** AMGH, Porto Alegre: pp. 433 – 455 2012.

BUTEL, J. et al. **Herpesvírus**. Microbiologia Médica de Jawetz, Melnick e Adelberg, 25th edn. AMGH, Porto Alegre: pp. 433 – 455 2012.

BÖCKER, J. F. et al. Characterization of an EBV-like virus from African green monkey lymphoblasts. **Virology**, v. 101, n. 1, p. 291-5, Feb 1980. ISSN 0042-6822. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6243826> >.

CARDONE, G. et al. Procapsid assembly, maturation, nuclear exit: dynamic steps in the production of infectious herpesvirions. **Adv Exp Med Biol**, v. 726, p. 423-39, 2012. ISSN 0065-2598. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22297525> >.

CARLSON, C. S. et al. Fatal disseminated cercopithecine herpesvirus 1 (herpes B infection in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*)). **Vet Pathol**, v. 34, n. 5, p. 405-14, Sep 1997. ISSN 0300-9858. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9381651> >.

CARR, D.; HÄRLE, P.; GEBHARDT, B. **The immune response to ocular herpes simplex virus type 1 infection**. *Exp Biol Med*: 226:353–366 2001.

CARVILLE, A.; MANSFIELD, K. G. Comparative pathobiology of macaque lymphocryptoviruses. **Comp Med**, v. 58, n. 1, p. 57-67, Feb 2008. ISSN 1532-0820. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19793458> >.

CASAGRANDE, R. A. **Herpes simplex tipo 1 em saguis ( *Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillat* ) Caracterização anatomopatológica e molecular.** . MS Dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil 110 pp. 2007.

CATTANI, P. et al. **of nonsexual transmission routes by detection of DNA in clinical specimens from human immunodeficiency virus-seronegative patients from central and southern Italy, with and without Kaposi's sarcoma.** . *J. Clin. Microbiol*: 37, 1150–1153 1999.

CDC. **sexually transmitted diseases treatment guidelines: genital HSV infections.** . <http://www.cdc.gov/std/tg2015/herpes.htm>. : acessado em março 22, 2018 2015.

CDC; PREVENTION, C. F. D. C. A. **Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 years.** United States, 2005-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*: 59(15):456-459 2010.

CESARMAN, E. et al. **Kaposi's Sarcoma–Associated Herpesvirus-Like DNA Sequences in AIDS-Related Body-Cavity Based Lymphomas.** *N. Engl. J. Med*: 332, 1186–1191 1995a.



\_\_\_\_\_. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-related body-cavity-based lymphomas. **N Engl J Med**, v. 332, n. 18, p. 1186-91, May 1995b. ISSN 0028-4793. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7700311> >.

CHANG, Y. et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. **Science**, v. 266, n. 5192, p. 1865-9, Dec 1994. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7997879> >.

CHEONG, J. L.; COWAN, F. M.; MODI, N. Gastrointestinal manifestations of postnatal cytomegalovirus infection in infants admitted to a neonatal intensive care unit over a five year period. **Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed**, v. 89, n. 4, p. F367-9, Jul 2004. ISSN 1359-2998. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15210678> >.

CHO, Y. et al. An Epstein-Barr-related herpesvirus from marmoset lymphomas. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 98, n. 3, p. 1224-9, Jan 2001. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11158621> >.

CHO, Y. G. et al. Evolution of two types of rhesus lymphocryptovirus similar to type 1 and type 2 Epstein-Barr virus. **J Virol**, v. 73, n. 11, p. 9206-12, Nov 1999. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10516028> >.

CICMANEC, J. L.; LOEB, W. F.; VALERIO, M. G. Lymphoma in owl monkeys (*Aotus trivirgatus*) inoculated with Herpesvirus *saimiri*: clinical, hematologic and pathologic findings. **J Med Primatol**, v. 3, n. 1, p. 8-17, 1974. ISSN 0047-2565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4209602> >.

CIOFI DEGLI ATTI, M. L. et al. Assessment of varicella underreporting in Italy. **Epidemiol Infect**, v. 128, n. 3, p. 479-84, Jun 2002. ISSN 0950-2688. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12113493> >.

CLARKSON, M. J.; THORPE, E.; MCCARTHY, K. A virus disease of captive vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*) caused by a new herpesvirus. **Arch Gesamte Virusforsch**, v. 22, n. 1, p. 219-34, 1967. ISSN 0003-9012. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4301195> >.

CLEMENS, S. A. et al. [Seroepidemiology of Varicella in Brazil - results of a prospective cross-sectional study]. **J Pediatr (Rio J)**, v. 75, n. 6, p. 433-41, 1999 Nov-Dec 1999. ISSN 1678-4782. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14685498> >.

CLEMENS, S. A. C.; FARHAT, C. K. **Soroprevalência de anticorpos contra vírus herpes simples 1-2 no Brasil** Rev Saúde Pública: 44(4):726-34 2010.

COLLINS-MCMILLEN, D.; GOODRUM, F. D. The loss of binary: Pushing the herpesvirus latency paradigm. **Curr Clin Microbiol Rep**, v. 4, n. 3, p. 124-131, Sep 2017. ISSN 2196-5471. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29250481> >.

COLSKY, A. S. et al. Diagnosis and treatment of a case of cutaneous cytomegalovirus infection with a dramatic clinical presentation. **J Am Acad Dermatol**, v. 38, n. 2 Pt 2, p. 349-51, Feb 1998. ISSN 0190-9622. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9486714> >.

CONWAY, M. D. et al. Ocular manifestation of simian immunodeficiency syndrome (SAIDS). **Curr Eye Res**, v. 9, n. 8, p. 759-70, Aug 1990. ISSN 0271-3683. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2177390> >.

COOK, S. et al. **Latency-associated transcripts in corneas and ganglia of HSV-1 infected rabbits**. *Br J Ophthalmol* 75:644–648 1991.

COOK, S.; OPTH, F.; HILL, J. **Herpes simplex virus: Molecular biology and the possibility of corneal latency**. *Surv Ophthalmol*: 36:140–148 1991.

COREY, L.; WALD, A. **Genital herpes**. in: **Holmes KK, Sparling PF, Stamm WE, et al. Sexually transmitted Diseases**. 4th ed. New York, NY: McGraw Hill Medical: 399-438 2008.

COSTA et al. **Densidade, tamanho populacional e conservação de primatas em fragmento de Mata Atlântica no sul do Estado de Minas Gerais, Brasil**. *Iheringia, Sér. Zool.* : 102 (1). . 102 (1). 2012.

COSTA, E. A. et al. Outbreak of human herpesvirus type 1 infection in nonhuman primates (*Callithrix penicillata*). **J Wildl Dis**, v. 47, n. 3, p. 690-3, Jul 2011. ISSN 1943-3700. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21719834> >.

COURA, J. **Herpesvíroses humanas 1 e 2 Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro: p. 1899-19904 2005.

DAMANIA, B.; DESROSIERS, R. C. Simian homologues of human herpesvirus 8. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 356, n. 1408, p. 535-43, Apr 2001. ISSN 0962-8436. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11313010> >.

DAVIDSON, W. L.; HUMMELER, K. B virus infection in man. **Ann N Y Acad Sci**, v. 85, p. 970-9, May 1960. ISSN 0077-8923. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13720072> >.

DAVIS, M. M. Successes and remaining challenges after 10 years of varicella vaccination in the USA. **Expert Rev Vaccines**, v. 5, n. 2, p. 295-302, Apr 2006. ISSN 1744-8395. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16608428> >.

DAVISON, A. J. Evolution of sexually transmitted and sexually transmissible human herpesviruses. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1230, p. E37-49, Aug 2011. ISSN 1749-6632. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22417106> >.

DAVISON, A. J. et al. The order Herpesvirales. **Arch Virol**, v. 154, n. 1, p. 171-7, 2009. ISSN 1432-8798. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19066710> >.

DE-THÉ, G. et al. Natural antibodies to EBV-VCA antigens in common marmosets (*Callithrix jacchus*) and response after EBV inoculation. **Intervirology**, v. 14, n. 5-6, p. 284-91, 1980. ISSN 0300-5526. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6265400> >.

DEDICOAT, M. et al. Mother-to-child transmission of human herpesvirus-8 in South Africa. **J Infect Dis**, v. 190, n. 6, p. 1068-75, Sep 2004. ISSN 0022-1899. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15319855> >.

DEINHARDT, R. **Oncogenic herpesviruses in species other than owl monkeys**. J. Med. Primatol: 3:79–88. 1974.

DERMIDAL, T.; DERMIRTUK, N. **A rare presentation on EBV hepatitis**. Eur J Gen Med: 4:33-5 2007.

DESROSIERS, R. et al. **A herpesvirus of rhesus monkeys related to the human Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus** J. Virol: 71, 9764–9769 1997.

DI GIOVINE, P. et al. Structure of herpes simplex virus glycoprotein D bound to the human receptor nectin-1. **PLoS Pathog**, v. 7, n. 9, p. e1002277, Sep 2011. ISSN 1553-7374. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21980294> >.

DUELAND, A. N. et al. Acute simian varicella infection. Clinical, laboratory, pathologic, and virologic features. **Lab Invest**, v. 66, n. 6, p. 762-73, Jun 1992. ISSN 0023-6837. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1602744> >.

DUPREZ, R. et al. Novel gamma-2-herpesvirus of the Rhadinovirus 2 lineage in gibbons. **Emerg Infect Dis**, v. 10, n. 5, p. 899-902, May 2004. ISSN 1080-6040. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15200826> >.

EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Res**, v. 32, n. 5, p. 1792-7, 2004. ISSN 1362-4962. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15034147> >.

EHLERS, B. et al. Detection of new DNA polymerase genes of known and potentially novel herpesviruses by PCR with degenerate and deoxyinosine-substituted primers. **Virus Genes**, v. 18, n. 3, p. 211-20, 1999. ISSN 0920-8569. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10456789> >.

\_\_\_\_\_. Novel mammalian herpesviruses and lineages within the Gammaherpesvirinae: cospeciation and interspecies transfer. **J Virol**, v. 82, n. 7, p. 3509-16, Apr 2008. ISSN 1098-5514. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18216123> >.

\_\_\_\_\_. Identification of novel rodent herpesviruses, including the first gammaherpesvirus of *Mus musculus*. **J Virol**, v. 81, n. 15, p. 8091-100, Aug 2007. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17507487> >.

EHLERS, B.; LOWDEN, S. Novel herpesviruses of Suidae: indicators for a second genogroup of artiodactyl gammaherpesviruses. **J Gen Virol**, v. 85, n. Pt 4, p. 857-62,

Apr 2004. ISSN 0022-1317. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15039528> >.

ELMORE, D.; EBERLE, R. Monkey B virus (Cercopithecine herpesvirus 1). **Comp Med**, v. 58, n. 1, p. 11-21, Feb 2008. ISSN 1532-0820. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19793452> >.

EMINI, E. A. et al. **Establishment of characterization of a chronic infectious mononucleosislike syndrome in common marmosets.** J. Med. Virol. 18:369–379. 1986.

EMMONS, R. W.; LENNETTE, E. H. Natural herpesvirus hominis infection of a gibbon (*Hylobates lar*). **Arch Gesamte Virusforsch**, v. 31, n. 3, p. 215-8, 1970. ISSN 0003-9012. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4321446> >.

EVANS, D. J.; WILLIAMS, E. D. Cytomegalic inclusion disease in the adult. **J Clin Pathol**, v. 21, n. 3, p. 311-6, May 1968. ISSN 0021-9746. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4301686> >.

EVERETT, R. D. **Herpes Simplex Virus HSV-1 biology and life cycle.** springer, Herpes Simplex Virus pp 1-17: pp 1-17 2014.

FALK, L. et al. Epstein-Barr virus: experimental infection of *Callithrix jacchus* marmosets. **Int J Cancer**, v. 17, n. 6, p. 785-8, Jun 1976. ISSN 0020-7136. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/181333> >.

FALK, L.; WOLFE, L.; DEINHARDT, F. **Epidemiology of herpesvirus saimiri infection in squirrel monkeys.** Primatol. Proc.3rd Conf. Exp. Med. Surg. Primates,: Part III:151–158.

FALK, L. A. et al. Herpesvirus ateles: properties of an oncogenic herpesvirus isolated from circulating lymphocytes of spider monkeys (*Ateles sp.*). **Int J Cancer**, v. 14, n. 4, p. 473-82, Oct 1974. ISSN 0020-7136. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4218598> >.

FALK, L. A.; WOLFE, L. G.; DEINHARDT, F. Isolation of Herpesvirus saimiri from blood of squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). **J Natl Cancer Inst**, v. 48, n. 5, p. 1499-505, May 1972. ISSN 0027-8874. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4337913> >.

FAN, S. et al. The Characteristics of Herpes Simplex Virus Type 1 Infection in Rhesus Macaques and the Associated Pathological Features. **Viruses**, v. 9, n. 2, 01 2017. ISSN 1999-4915. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28146109> >.

FEICHTINGER, H. et al. Malignant lymphomas in cynomolgus monkeys infected with simian immunodeficiency virus. **Am J Pathol**, v. 137, n. 6, p. 1311-5, Dec 1990. ISSN 0002-9440. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1701962> >.

FELSENSTEIN, J. CONFIDENCE LIMITS ON PHYLOGENIES: AN APPROACH USING THE BOOTSTRAP. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783-791, Jul 1985. ISSN 1558-5646. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28561359> >.

FLECKENSTEIN, B.; DESROSIERS, R. **Herpesvirus saimiri and herpesvirus ateles**. Plenum Publishing Corporation, New York, NY. : p 253-332. In Roizman B (ed), *The herpesviruses*. 1982.

FRAGASZY, D. M.; VISALBERGHI, E.; FEDIGAN, L. **The Complete Capuchin: The Biology of the Genus Cebus**. . Cambridge University Press 356p 2004

FRANK, A.; ANDIMAN, W. A.; G., M. **Epstein-Barr virus and nonhuman primates: natural and experimental infection**. . Adv. Cancer Res. 23:171-201. 1976.

FRANKEN, M. et al. Comparative analysis identifies conserved tumor necrosis factor receptor-associated factor 3 binding sites in the human and simian Epstein-Barr virus oncogene LMP1. **J Virol**, v. 70, n. 11, p. 7819-26, Nov 1996. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8892903> >.

GELLER, M. et al. **Herpes simples: atualização clínica, epidemiológica e terapêutica**. J Bras Doenças Sex Transm: 24:260 – 266 2012.

GERSHON, A.; TAKAHASHI, M.; SEWARD, J. **Varicella vaccine**. In: PLOTKIN, S.A. & ORENSTEIN, W.A., ed. **Vaccine** . 4. ed. Philadelphia, Saunders: 783-823 2004.

GILBERT, C.; BESTMAN-SMITH, J.; BOIVIN, G. Resistance of herpesviruses to antiviral drugs: clinical impacts and molecular mechanisms. **Drug Resist Updat**, v. 5, n. 2, p. 88-114, Apr 2002. ISSN 1368-7646. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12135584> >.

GONZÁLEZ-SOLÍS et al. **Population density of primates in a large fragment of the Brazilian**. Biodiversity and Conservation: 10 (8): 1267-1282 2001.

GRAY, W. L. Simian varicella: a model for human varicella-zoster virus infections. **Rev Med Virol**, v. 14, n. 6, p. 363-81, 2004 Nov-Dec 2004. ISSN 1052-9276. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15386593> >.

\_\_\_\_\_. Simian varicella in old world monkeys. **Comp Med**, v. 58, n. 1, p. 22-30, Feb 2008. ISSN 1532-0820. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19793453> >.

GRAY, W. L. et al. Simian varicella virus antibody response in experimental infection of African green monkeys. **J Med Primatol**, v. 24, n. 4, p. 246-51, Dec 1995. ISSN 0047-2565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8750501> >.

\_\_\_\_\_. Experimental simian varicella virus infection of St. Kitts vervet monkeys. **J Med Primatol**, v. 27, n. 4, p. 177-83, Aug 1998. ISSN 0047-2565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9879858> >.

GREENSILL, J. et al. A chimpanzee rhadinovirus sequence related to Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus/human herpesvirus 8: increased detection after HIV-1 infection in the absence of disease. **AIDS**, v. 14, n. 17, p. F129-35, Dec 2000. ISSN 0269-9370. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11125908> >.

\_\_\_\_\_. Two distinct gamma-2 herpesviruses in African green monkeys: a second gamma-2 herpesvirus lineage among old world primates? **J Virol**, v. 74, n. 3, p. 1572-7, Feb 2000. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10627572> >.

GRINDE, B. Herpesviruses: latency and reactivation - viral strategies and host response. **J Oral Microbiol**, v. 5, Oct 2013. ISSN 2000-2297. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24167660> >.

GROVES, C. **Primate Taxonomy**. Smithsonian Institution Press, Washington, DC. 2001a.

\_\_\_\_\_. **Primate Taxonomy**. Smithsonian Institution Press, Washington, DC. 2001b.

\_\_\_\_\_. **Order Primates. In: Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference**. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD. : *Third Edition*, D. E. Wilson & D. M. Reeder (eds), pp. 111–184. 2005.

HAMPRECHT, K. et al. Cytomegalovirus transmission to preterm infants during lactation. **J Clin Virol**, v. 41, n. 3, p. 198-205, Mar 2008. ISSN 1386-6532. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18243784> >.

\_\_\_\_\_. Epidemiology of transmission of cytomegalovirus from mother to preterm infant by breastfeeding. **Lancet**, v. 357, n. 9255, p. 513-8, Feb 2001. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11229670> >.

HASEGAWA, M.; KISHINO, H.; YANO, T. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. **J Mol Evol**, v. 22, n. 2, p. 160-74, 1985. ISSN 0022-2844. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3934395> >.

HATT, J. M. et al. Serologic survey in a colony of captive common marmosets (*Callithrix jacchus*) after infection with herpes simplex type 1-like virus. **J Zoo Wildl Med**, v. 35, n. 3, p. 387-90, Sep 2004. ISSN 1042-7260. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15526895> >.

HEININGER, U. et al. Seroprevalence of varicella-zoster virus immunoglobulin G antibodies in Swiss adolescents and risk factor analysis for seronegativity. **Pediatr Infect Dis J**, v. 20, n. 8, p. 775-8, Aug 2001. ISSN 0891-3668. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11734740> >.

HELDSTAB, A. et al. Spontaneous generalized Herpesvirus hominis infection of a lowland gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*). **J Med Primatol**, v. 10, n. 2-3, p. 129-35, 1981. ISSN 0047-2565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6279853> >.

HEMING, J. D.; CONWAY, J. F.; HOMA, F. L. Herpesvirus Capsid Assembly and DNA Packaging. **Adv Anat Embryol Cell Biol**, v. 223, p. 119-142, 2017. ISSN 0301-5556. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28528442> >.

HIRANO, Z. M. B.; CORREA, I. C.; DE OLIVEIRA, D. A. G. **Contexts of rubbing behavior in *Alouatta guariba clamitans*: a scent-marking role?** American Journal of Primatology: 70 (6): 575-583 2008.

HOLMES, G. P. et al. Guidelines for the prevention and treatment of B-virus infections in exposed persons. The B virus Working Group. **Clin Infect Dis**, v. 20, n. 2, p. 421-39, Feb 1995. ISSN 1058-4838. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7742451> >.

\_\_\_\_\_. B virus (*Herpesvirus simiae*) infection in humans: epidemiologic investigation of a cluster. **Ann Intern Med**, v. 112, n. 11, p. 833-9, Jun 1990. ISSN 0003-4819. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2160783> >.

HOLST, B. et al. **Lion Tamarin Population and Habitat Viability Assessment** Workshop 2005, Final Report. Apple Valey.: CBSG, 2005. 205p 2006.

HRICOVÁ, M.; MISTRÍKOVÁ, J. Murine gammaherpesvirus 68 serum antibodies in general human population. **Acta Virol**, v. 51, n. 4, p. 283-7, 2007. ISSN 0001-723X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18197737> >.

HUEMER, H. P. et al. Fatal infection of a pet monkey with Human herpesvirus. **Emerg Infect Dis**, v. 8, n. 6, p. 639-42, Jun 2002. ISSN 1080-6040. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12023925> >.

HUFF, J. L.; BARRY, P. A. B-virus (*Cercopithecine herpesvirus 1*) infection in humans and macaques: potential for zoonotic disease. **Emerg Infect Dis**, v. 9, n. 2, p. 246-50, Feb 2003. ISSN 1080-6040. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12603998> >.

HULL, R. **The simian herpesviruses**. The herpesviruses. Academic Press, New York, NY: p 389 – 425. In Kaplan AS (ed) 1973.

HUNT, R. D.; BLAKE, B. J. **Herpesvirus saimiri and herpesvirus ateles infection**. Monographs on pathology of laboratory animals; nonhuman primates I. Springer-Verlag, Berlin.: n, p. 87–93. In T. C. Jones, U. Mohr, and R. D. Hunt (ed.) 1993.

HUNT, R. D.; MELENDEZ, L. V.; TRUM, B. F. **Herpesvirusateles lymphoma in cotton-topped marmosets**. Med. Primatol. Proc. 3rd Conf. Exp. Med. Surg. Primates,: Part III:159–162. 1972.

HUNT, R. D.; MELÉNDEZ, L. V. Herpes virus infections of non-human primates: a review. **Lab Anim Care**, v. 19, n. 2, p. 221-34, Apr 1969. ISSN 0094-5331. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4307566> >.

HUNT, R. D. et al. Pathologic features of Herpesvirus ateles lymphoma in cotton-topped marmosets (*Saguinus oedipus*). **J Natl Cancer Inst**, v. 49, n. 6, p. 1631-9, Dec 1972. ISSN 0027-8874. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4630607> >.

IARC. **IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**. Volume 100 B. A review of human carcinogens. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum: 100, 1-441 2012.

IMURA, K. et al. Herpes simplex virus type 1 infection in two pet marmosets in Japan. **J Vet Med Sci**, v. 76, n. 12, p. 1667-70, Dec 2014. ISSN 1347-7439. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25649955> >.

JENSON, H. B. et al. Epidemiology of herpesvirus papio infection in a large captive baboon colony: similarities to Epstein-Barr virus infection in humans. **J Infect Dis**, v. 181, n. 4, p. 1462-6, Apr 2000. ISSN 0022-1899. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10762578> >.

JOHNSON, D. C.; BAINES, J. D. Herpesviruses remodel host membranes for virus egress. **Nat Rev Microbiol**, v. 9, n. 5, p. 382-94, May 2011. ISSN 1740-1534. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21494278> >.

JOHNSON, D. R. **Herpesvirus-induced lymphoproliferative diseases in non-human primates**. The immune deficiency and cancer: Epstein-Barr virus and lymphoproliferative malignancies. Plenum Press, New York: s, p. 243-261. In D. T. Purtilo (ed.) 1984.

JOHNSTON, C. et al. **Atlas of Sexually Transmitted Diseases and AIDS . 4th ed.** London UK: Saunders Elsevier 1 69-185 2010.

JONES-ENGEL, L. et al. Temple monkeys and health implications of commensalism, Kathmandu, Nepal. **Emerg Infect Dis**, v. 12, n. 6, p. 900-6, Jun 2006. ISSN 1080-6040. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16707044> >.

JUAN-SALLE'S, C. et al. **Spontaneous herpes simplex virus infection in common marmosets (*Callithrix jacchus*)**. . J Vet Diagn Invest 9:341-345. 9:341-345, 1997.

\_\_\_\_\_. **Spontaneous herpes simplex virus infection in common marmosets (*Callithrix jacchus*)**. . J Vet Diagn Invest 9:341-345.

JUNG, J.; DESROSIERS, R. **Herpesvirus saimiri and ateles** p614-622. In Webster R, Granoff A (ed), Encyclopedia of virology. : Saunders Scientific Publications, Inc, Philadelphia, PA. 1994.

JUNG, J. U. et al. Herpesvirus saimiri as a model for gammaherpesvirus oncogenesis. **Semin Cancer Biol**, v. 9, n. 3, p. 231-9, Jun 1999. ISSN 1044-579X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10343074> >.



KANRA, G. et al. Varicella seroprevalence in a random sample of the Turkish population. **Vaccine**, v. 20, n. 9-10, p. 1425-8, Jan 2002. ISSN 0264-410X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11818162> >.

KASPERSEN, M. D.; HÖLLSBERG, P. Seminal shedding of human herpesviruses. **Virology**, v. 10, p. 226, Jul 2013. ISSN 1743-422X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23834839> >.

KAVANAGH, M. **Complete Guide to Monkeys, Apes and Other Primates**. New York: The Viking Press 1984.

KAYGUSUZ, I. et al. The role of viruses in idiopathic peripheral facial palsy and cellular immune response. **Am J Otolaryngol**, v. 25, n. 6, p. 401-6, 2004 Nov-Dec 2004. ISSN 0196-0709. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15547808> >.

KEMP, G. E. et al. Isolation of Herpesvirus hominis from Lemurs: a naturally occurring epizootic at a zoological garden in Nigeria. **Afr J Med Sci**, v. 3, n. 3, p. 177-85, Jul 1972. ISSN 0002-0028. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4339453> >.

KIERULFF, M. C. M. et al. **The Golden lion tamarin *Leontopithecus rosalia* : a conservation success story**. **International Zoo Yearbook**, v. 46, p. 36-45. International Zoo Yearbook.: v. 46, p. 36-45 2012.

KIERULFF, M. C. M.; RYLANDS, A. B.; DE OLIVEIRA, M. M. ***Leontopithecus rosalia*** . In: **IUCN Red List of Threatened Species**, . Version 2011.2. Disponível em [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). : Version 2011.2. Disponível em [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). 2008.

KIK, M. J. et al. Herpes simplex infection in a juvenile orangutan (*Pongo pygmaeus pygmaeus*). **J Zoo Wildl Med**, v. 36, n. 1, p. 131-4, Mar 2005. ISSN 1042-7260. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17315472> >.

KIM, J. Y. et al. Varicella zoster virus-associated Chorioretinitis: a case report. **BMC Ophthalmol**, v. 18, n. 1, p. 28, Feb 2018. ISSN 1471-2415. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29402251> >.

KIMBERLIN, D.; WHITLEY, R. **Antiviral therapy of HSV-1 and HSV- 2**. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, Moore PS, Roizman B, Whitley R, Yamanishi K (eds) **Human herpesviruses: biology, therapy, and immunoprophylaxis, 1st edn**. Cambridge University Press, Cambridge: pp. 1153 – 1174 2007.

KIMURA, M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **J Mol Evol**, v. 16, n. 2, p. 111-20, Dec 1980. ISSN 0022-2844. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7463489> >.

KIRSCHSTEIN, R. L.; VAN HOOSIER, G. L.; LI, C. P. Virus-B infection of the central nervous system of monkeys used for the poliomyelitis vaccine safety test. **Am J**

**Pathol**, v. 38, p. 119-25, Jan 1961. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13756310> >.

KNIPE, D. M.; CLIFFE, A. Chromatin control of herpes simplex virus lytic and latent infection. **Nat Rev Microbiol**, v. 6, n. 3, p. 211-21, Mar 2008. ISSN 1740-1534. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18264117> >.

KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Fields virology**. LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, a WOLTERS KLUWER business: 6 ed. 2013.

KOELLE, D. et al. **Frequent detection of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) DNA in saliva of human immunodeficiency virus-infected men: clinical and immunologic correlates** J. Infect. Dis: 176, 94–102 1997.

KOLB, A. W.; ANÉ, C.; BRANDT, C. R. Using HSV-1 genome phylogenetics to track past human migrations. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e76267, 2013. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24146849> >.

KOLSON, D. L.; GONZALEZ-SCARANO, F. HIV-associated neuropathies: role of HIV-1, CMV, and other viruses. **J Peripher Nerv Syst**, v. 6, n. 1, p. 2-7, Mar 2001. ISSN 1085-9489. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11293803> >.

KUMAR, M. L. et al. Postnatally acquired cytomegalovirus infections in infants of CMV-excreting mothers. **J Pediatr**, v. 104, n. 5, p. 669-73, May 1984. ISSN 0022-3476. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6325653> >.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Mol Biol Evol**, v. 33, n. 7, p. 1870-4, 07 2016. ISSN 1537-1719. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27004904> >.

LACOSTE, V. et al. Genetic diversity and molecular evolution of human and non-human primate Gammaherpesvirinae. **Infect Genet Evol**, v. 10, n. 1, p. 1-13, Jan 2010. ISSN 1567-7257. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19879975> >.

\_\_\_\_\_. Simian homologues of human gamma-2 and betaherpesviruses in mandrill and drill monkeys. **J Virol**, v. 74, n. 24, p. 11993-9, Dec 2000. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11090203> >.

LANDER, E. S. et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. **Nature**, v. 409, n. 6822, p. 860-921, Feb 2001. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11237011> >.

LAPIN, B. A. et al. **Characterization of the baboon herpesvirus (HVP) associated with malignant lymphoma in the Sukhumi hamadrayas baboon colony, p.413–414**. Elsevier North Holland, Inc. 1979.

LARUSSA, P. et al. Determination of immunity to varicella-zoster virus by means of an intradermal skin test. **J Infect Dis**, v. 152, n. 5, p. 869-75, Nov 1985. ISSN 0022-1899. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2995511> >.

LASKUS, T. et al. Lack of evidence for hepatitis G virus replication in the livers of patients coinfecting with hepatitis C and G viruses. **J Virol**, v. 71, n. 10, p. 7804-6, Oct 1997. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9311866> >.

LEE, H. C. et al. Postnatal cytomegalovirus infection from frozen breast milk in preterm, low birth weight infants. **Pediatr Infect Dis J**, v. 26, n. 3, p. 276, Mar 2007. ISSN 0891-3668. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17484235> >.

LEFAUX, B. et al. Nonhuman primates might be highly susceptible to cross-species infectivity by human alpha-herpesviruses. **Vet Pathol**, v. 41, n. 3, p. 302-4, May 2004. ISSN 0300-9858. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15176377> >.

LEGOFF, J.; PÉRÉ, H.; BÉLEC, L. Diagnosis of genital herpes simplex virus infection in the clinical laboratory. **Virol J**, v. 11, p. 83, May 2014. ISSN 1743-422X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24885431> >.

LI, L. et al. Herpes B virus gD interaction with its human receptor--an in silico analysis approach. **Theor Biol Med Model**, v. 11, p. 27, Jun 2014. ISSN 1742-4682. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24902525> >.

LI, S. L.; BIBERFELD, P.; ERNBERG, I. DNA of lymphoma-associated herpesvirus (HVMF1) in SIV-infected monkeys (*Macaca fascicularis*) shows homologies to EBNA-1, -2 and -5 genes. **Int J Cancer**, v. 59, n. 2, p. 287-95, Oct 1994. ISSN 0020-7136. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7927931> >.

LIMA, M. **Uma proposta para a conservação dos primatas da Mata Atlântica do sul da Bahia**. Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Ciências Biológicas, da Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa 1990.

LONGA, C. S. et al. Human herpesvirus 1 in wild marmosets, Brazil, 2008. **Emerg Infect Dis**, v. 17, n. 7, p. 1308-10, Jul 2011. ISSN 1080-6059. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21762598> >.

LOOKER, K.; GARNETT, G.; SCHMID, G. **An estimate of the global prevalence and incidence of herpes simplex virus type 2 infection.** . Bull World Health Organ 86:805–812, A. 2008.

LOPES, N. **Avaliação da atividade antiviral de um polissacarídeo sulfatado de *Caesalpinia ferrea* e do flavonoide quercetina contra o vírus herpes simplex tipo 1 (HSV-1)**. Universidade Estadual de Londrina: Dissertação 2012.

LUPI, O.; SEMENOVICH, I.; PEREIRA JR, A. **Epidemiologia dos Herpesvírus. In: Lupi O, Silva AG, Pereira Jr AC. Herpes – Clínica, diagnóstico e tratamento.** . Rio de Janeiro: Medsi; 2000. p.15-31. : p.15-31. 2000.

MACLEAN, C. **Kaposi's sarcoma in Nigeria**. Br. J. Cancer: 17, 195–205 1963.

MAHALINGAM, R.; MESSAOUDI, I.; GILDEN, D. Simian varicella virus pathogenesis. **Curr Top Microbiol Immunol**, v. 342, p. 309-21, 2010. ISSN 0070-217X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20186611> >.

MANCUSO, R.; AL., E. **Intrafamilial transmission of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus and seronegative infection in family members of classic Kaposi's sarcoma patients**. *J. Gen. Virol*: 92 2011.

MANSFIELD, K. G. et al. Experimental infection of rhesus and pig-tailed macaques with macaque rhadinoviruses. **J Virol**, v. 73, n. 12, p. 10320-8, Dec 1999. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10559350> >.

MAURER, K. et al. CD46 is a cellular receptor for bovine viral diarrhea virus. **J Virol**, v. 78, n. 4, p. 1792-9, Feb 2004. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14747544> >.

MBULAITEYE, S.; AL., E. **Molecular evidence for mother-to-child transmission of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus in Uganda and K1 gene evolution within the host** *J. Infect. Dis*: 205, 1869–1876 2012.

MCCARTHY, K. et al. Exanthematous disease in patas monkeys caused by a herpes virus. **Lancet**, v. 2, n. 7573, p. 856-7, Oct 1968. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4175746> >.

MCCLURE, H. M.; KEELING, M. E. **Viral disease noted in the Yerkes Primate Center colony**. *J. Anim Sci* 21:1002–1010: Lab Anim Sci 1971.

MCCLURE, H. M. et al. Natural Herpesvirus hominis infection of tree shrews (*Tupaia glis*). **Lab Anim Sci**, v. 22, n. 4, p. 517-21, Aug 1972. ISSN 0023-6764. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4340293> >.

\_\_\_\_\_. Natural genital herpesvirus hominis infection in chimpanzees (*Pan troglodytes* and *Pan paniscus*). **Lab Anim Sci**, v. 30, n. 5, p. 895-901, Oct 1980. ISSN 0023-6764. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6253747> >.

MEIER, J. et al. Human cytomegalovirus reactivation during lactation and mother-to-child transmission in preterm infants. **J Clin Microbiol**, v. 43, n. 3, p. 1318-24, Mar 2005. ISSN 0095-1137. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15750102> >.

MELLENDEZ, L. V. et al. An apparently new herpesvirus from primary kidney cultures of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). **Lab Anim Care**, v. 18, n. 3, p. 374-81, Jun 1968. ISSN 0094-5331. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4233372> >.

\_\_\_\_\_. **Natural Herpes simplex infection in the owl monkey (*Aotus trivirgatus*)** *Lab Anim Care*: 19: 38–45, 1969 1969.

\_\_\_\_\_. Natural herpes simplex infection in the owl monkey (*Aotus trivirgatus*). **Lab Anim Care**, v. 19, n. 1, p. 38-45, Feb 1969. ISSN 0094-5331. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4304237> >.

\_\_\_\_\_. Herpesvirus ateles, a new lymphoma virus of monkeys. **Nat New Biol**, v. 235, n. 58, p. 182-4, Feb 1972. ISSN 0090-0028. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4621875> >.

MELLO, M. T.; RAICK, A. N. **Surto fatal de infecção herpética em pequeno grupo de *Callithrix jacchus***. . Campinas–S.P. Anais. Campinas. A Primatologia no Brasil In: 2nd Congresso Brasileiro de Primatologia, vol. 2, p. 496, 1985.

MENDES, S. L. et al. ***Alouatta guariba***. . In: IUCN Red List of Threatened Species. version 2010.2. Disponível em [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org) 2008.

MERTZ, G. J.; ROSENTHAL, S. L.; STANBERRY, L. R. Is herpes simplex virus type 1 (HSV-1) now more common than HSV-2 in first episodes of genital herpes? **Sex Transm Dis**, v. 30, n. 10, p. 801-2, Oct 2003. ISSN 0148-5717. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14520182> >.

MESSAOUDI, I. et al. Simian varicella virus infection of rhesus macaques recapitulates essential features of varicella zoster virus infection in humans. **PLoS Pathog**, v. 5, n. 11, p. e1000657, Nov 2009. ISSN 1553-7374. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19911054> >.

METTENLEITER, T. C.; KLUPP, B. G.; GRANZOW, H. Herpesvirus assembly: an update. **Virus Res**, v. 143, n. 2, p. 222-34, Aug 2009. ISSN 1872-7492. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19651457> >.

MOGHADDAM, A. et al. An animal model for acute and persistent Epstein-Barr virus infection. **Science**, v. 276, n. 5321, p. 2030-3, Jun 1997. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9197263> >.

MONTEIRO DA CRUZ, M. A. **Dinâmica reprodutiva em uma população de Saguido-Nordeste ( *Callithrix jacchus* ) na Estação Ecológica do Tapacurá, Pernambuco**. Universidade de São Paulo 1998.

MURRAY, P.; ROSENTHAL, K.; PFALLER, M. **Medical microbiology**. . Rio de Janeiro: Elsevier 2015.

MÄTZ-RENSING, K. et al. Fatal Herpes simplex infection in a group of common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Vet Pathol**, v. 40, n. 4, p. 405-11, Jul 2003. ISSN 0300-9858. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12824512> >.

MÜHE, J.; WANG, F. Non-human Primate Lymphocryptoviruses: Past, Present, and Future. **Curr Top Microbiol Immunol**, v. 391, p. 385-405, 2015. ISSN 0070-217X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26428382> >.

NANKERVIS, G. A. et al. A prospective study of maternal cytomegalovirus infection and its effect on the fetus. **Am J Obstet Gynecol**, v. 149, n. 4, p. 435-40, Jun 1984. ISSN 0002-9378. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6328998> >.

NEUBAUER, R. H. et al. Establishment of a lymphoblastoid cell line and isolation of an Epstein-Barr-related virus of gorilla origin. **J Virol**, v. 31, n. 3, p. 845-8, Sep 1979. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/92573> >.

NEVELS, M.; NITZSCHE, A.; PAULUS, C. How to control an infectious bead string: nucleosome-based regulation and targeting of herpesvirus chromatin. **Rev Med Virol**, v. 21, n. 3, p. 154-80, May 2011. ISSN 1099-1654. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21538665> >.

NIEDOBITEK, G.; AGATHANGGELOU, A.; FINERTY, E. A. S. **Latent Epstein-Barr virus infection in cottontop tamarins**. *Am. J. Pathol.* . 145:969–978. 1994.

NORBERG, P.; BERGSTRÖM, T.; LILJEQVIST, J. A. Genotyping of clinical herpes simplex virus type 1 isolates by use of restriction enzymes. **J Clin Microbiol**, v. 44, n. 12, p. 4511-4, Dec 2006. ISSN 0095-1137. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17035491> >.

NORBERG, P. et al. Phylogenetic analysis of clinical herpes simplex virus type 1 isolates identified three genetic groups and recombinant viruses. **J Virol**, v. 78, n. 19, p. 10755-64, Oct 2004. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15367642> >.

Ouwendijk, W. J. et al. Simian varicella virus infection of Chinese rhesus macaques produces ganglionic infection in the absence of rash. **J Neurovirol**, v. 18, n. 2, p. 91-9, Apr 2012. ISSN 1538-2443. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22399159> >.

P; PALESE. **Inhibition of Influenza Virus Replication in Tissue Culture by 2-deoxy-2,3-dehydro-N-trifluoroacetylneuraminic acid (FANA): Mechanism of Action**. COMPANS, R. W. 1976.

PALESE, P.; COMPANS, R. W. **Inhibition of Influenza Virus Replication in Tissue Culture by 2-deoxy-2,3-dehydro-N-trifluoroacetylneuraminic acid (FANA): Mechanism of Action**. *J. gen. Virol Great Britain*. 33, 159-163 1976.

PALMER, A. E. B virus, Herpesvirus simiae: historical perspective. **J Med Primatol**, v. 16, n. 2, p. 99-130, 1987. ISSN 0047-2565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3035187> >.

PAPALOUKAS, O.; GIANNOULI, G.; PAPAEVANGELOU, V. Successes and challenges in varicella vaccine. **Ther Adv Vaccines**, v. 2, n. 2, p. 39-55, Mar 2014. ISSN 2051-0136. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24757524> >.

PARK, N.; SKERN, T.; GUSTIN, K. E. Specific cleavage of the nuclear pore complex protein Nup62 by a viral protease. **J Biol Chem**, v. 285, n. 37, p. 28796-805, Sep 2010.

ISSN 1083-351X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20622012> >.

PAWESKA, J. T. et al. Fatal human infection with rabies-related Duvenhage virus, South Africa. **Emerg Infect Dis**, v. 12, n. 12, p. 1965-7, Dec 2006. ISSN 1080-6040. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17326954> >.

PAYTON, M. E. et al. Comparative transmission of multiple herpesviruses and simian virus 40 in a baboon breeding colony. **Comp Med**, v. 54, n. 6, p. 695-704, Dec 2004. ISSN 1532-0820. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15679269> >.

PEARCE, A. F.; LYLES, D. S. Vesicular stomatitis virus induces apoptosis primarily through Bak rather than Bax by inactivating Mcl-1 and Bcl-XL. **J Virol**, v. 83, n. 18, p. 9102-12, Sep 2009. ISSN 1098-5514. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19587033> >.

PELLETT, P.; ROIZMAN, B. **The Family Herpesviridae: a brief introduction**. In: Knipe D and Howley P, editors. Fields virology, 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins p. 1802–2 2013.

PERNG, G. et al. **Virus-induced neuronal apoptosis blocked by the herpes simplex virus latency-associated transcript**. Science. 287:1500–1503 2000.

PERNG, G. C.; JONES, C. Towards an understanding of the herpes simplex virus type 1 latency-reactivation cycle. **Interdiscip Perspect Infect Dis**, v. 2010, p. 262415, 2010. ISSN 1687-7098. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20169002> >.

PERSE DA SILVA, A. et al. Genotypic Characterization of Herpes Simplex Virus Type 1 Isolates in Immunocompromised Patients in Rio de Janeiro, Brazil. **PLoS One**, v. 10, n. 9, p. e0136825, 2015. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26407292> >.

PICKERING, L. **Varicella-zoster infections**. In: PICKERING, L.K., ed. **Red Book: 2003 Report of the Committee on Infectious Diseases** . . AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS.. 26. ed. Illinois, Elk Grove Village, American Academy of Pediatrics.: p. 672-686 2003.

PIRET, J.; BOIVIN, G. Resistance of herpes simplex viruses to nucleoside analogues: mechanisms, prevalence, and management. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 55, n. 2, p. 459-72, Feb 2011. ISSN 1098-6596. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21078929> >.

PLANCOULAIN, S. et al. Human herpesvirus 8 transmission from mother to child and between siblings in an endemic population. **Lancet**, v. 356, n. 9235, p. 1062-5, Sep 2000. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11009141> >.

PLOTKAY, S. **Diseases of callitrichidae: a review**. J. Med. Primatol.: 21:189–236. 1992.

PR., M.; ROSENTHAL, K.; PFALLER, M. **Medical microbiology**. . Rio de Janeiro: Elsevier 2015.

PREVENTION, C. C. F. D. C. A. **Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 years**. United States, 2005-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*: 59(15):456-459 2010.

RAMER, J. C. et al. Fatal lymphoproliferative disease associated with a novel gammaherpesvirus in a captive population of common marmosets. **Comp Med**, v. 50, n. 1, p. 59-68, Feb 2000. ISSN 1532-0820. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10987671> >.

RAMSAY, E. et al. Fatal Herpesvirus hominis encephalitis in a white-handed gibbon. **J Am Vet Med Assoc**, v. 181, n. 11, p. 1429-30, Dec 1982. ISSN 0003-1488. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6294039> >.

RANASINGHE, C.; RAMSHAW, I. A. Genetic heterologous prime-boost vaccination strategies for improved systemic and mucosal immunity. **Expert Rev Vaccines**, v. 8, n. 9, p. 1171-81, Sep 2009. ISSN 1744-8395. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19722891> >.

RAUSCHER, F. J. et al. Fos-associated protein p39 is the product of the jun proto-oncogene. **Science**, v. 240, n. 4855, p. 1010-6, May 1988. ISSN 0036-8075. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3130660> >.

RAYNOR, B. D. Cytomegalovirus infection in pregnancy. **Semin Perinatol**, v. 17, n. 6, p. 394-402, Dec 1993. ISSN 0146-0005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8160023> >.

RAZONABLE, R. R.; HUMAR, A. **Cytomegalovirus in solid organ transplantation**. *American Journal of Transplantation*. vol. 13, no. s4, pp. 93–106 2013.

REIL, H. et al. Clinical validation of a new triplex real-time polymerase chain reaction assay for the detection and discrimination of Herpes simplex virus types 1 and 2. **J Mol Diagn**, v. 10, n. 4, p. 361-7, Jul 2008. ISSN 1525-1578. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18556766> >.

REIS, A. D.; PANNUTI, C. S.; DE SOUZA, V. A. [Prevalence of varicella-zoster virus antibodies in young adults from different Brazilian climatic regions]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 36, n. 3, p. 317-20, 2003 May-Jun 2003. ISSN 0037-8682. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12908030> >.

RICKINSON, A.; KIE, E. **Epstein–Barr virus**. In: **Fields Virology (Knipe, D. M., and Howley, P. M., Eds.)**. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkens: pp. 2655–2700. 2007.

RIVAILLER, P.; CHO, Y. G.; WANG, F. Complete genomic sequence of an Epstein-Barr virus-related herpesvirus naturally infecting a new world primate: a defining point in the evolution of oncogenic lymphocryptoviruses. **J Virol**, v. 76, n. 23, p. 12055-68,



Dec 2002. ISSN 0022-538X. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12414947> >.

RIVAILLER, P. et al. Complete nucleotide sequence of the rhesus lymphocryptovirus: genetic validation for an Epstein-Barr virus animal model. **J Virol**, v. 76, n. 1, p. 421-6, Jan 2002. ISSN 0022-538X. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11739708> >.

ROIZMAN. **The replication of herpesviruses**. FURLONG. In: FraenkelConrat H, ed. *Comprehensive Virology*, New York:: 229–403 p.

ROIZMAN, B.; KNIPE, D.; WHITLEY, R. **Herpes simplex viruses**. In: **Knipe DM, Howley PM (eds) Fields Virology, 5th edn**. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia: pp. 2502 – 2601 2007.

ROIZMAN, B.; KNIPE, D. M.; WHITLEY, R. J. **Herpes Simplex Viruses**. In: **KNIPE, D. M. e HOWLEY, P. M. (Ed.)**. *Fields Virology* . fifth.: fifth. Philadelphia: Lippincort, Williams & Wilkins, v.2. p.2502 – 2601 2007.

ROSE, T. et al. **Identification of two homologs of the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8) in retroperitoneal fibromatosis of different macaque species** j.Virol: 71, 4138–4144. 1997.

ROSS, A. **Modication of chicken pox in family contacts by administration of gamma globulin**. *New Engl. J. Med*: 267:369–376 1962.

ROSSETTO, E. V.; ANGERAMI, R. N.; LUNA, E. J. A. What to expect from the 2017 yellow fever outbreak in Brazil? **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 59, p. e17, 04 2017. ISSN 1678-9946. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28423092> >.

RUIZ-MIRANDA, C. R. et al. **Distribuição do sagüi ( *Callithrix jacchus* ) nas áreas de ocorrência do mico-leão-dourado ( *Leontopithecus rosalia* ) no estado do Rio de Janeiro**. *Neotropical Primates*: 8 (3): 98-101 2000.

RYLANDS, A. **Taxonomy of the Neotropical Primates**: database. International Union for Conservation of Nature (IUCN), Species Survival Commission (SSC). Primate Specialist Group, IUCN, Gland. 2012.

RYLANDS, A. B. et al. ***Callithrix jacchus* . In: IUCN Red List of Threatened Species, Version 2011.2**. Disponível em [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org) 2008.

SABAT, S. et al. Epstein-Barr virus encephalitis presenting as cerebellar hemorrhage. **Neuroradiol J**, v. 28, n. 6, p. 555-8, Dec 2015. ISSN 1971-4009. Disponível em: <  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26475484> >.

SABIN, A. B.; WRIGHT, A. M. ACUTE ASCENDING MYELITIS FOLLOWING A MONKEY BITE, WITH THE ISOLATION OF A VIRUS CAPABLE OF REPRODUCING THE DISEASE. **J Exp Med**, v. 59, n. 2, p. 115-36, Jan 1934. ISSN 0022-1007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19870235> >.

SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Mol Biol Evol**, v. 4, n. 4, p. 406-25, Jul 1987. ISSN 0737-4038. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3447015> >.

SAKULWIRA, K. et al. Serological evidence of herpesvirus infection in gibbons. **BMC Microbiol**, v. 2, p. 11, May 2002. ISSN 1471-2180. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12038968> >.

\_\_\_\_\_. Orangutan herpesvirus. **J Med Primatol**, v. 33, n. 1, p. 25-9, Feb 2004. ISSN 0047-2565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15061729> >.

SALLERAS, L. et al. Seroepidemiology of varicella-zoster virus infection in Catalonia (Spain). Rationale for universal vaccination programmes. **Vaccine**, v. 19, n. 2-3, p. 183-8, Sep 2000. ISSN 0264-410X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10930671> >.

SALVA, I.; SILVA, I. V.; CUNHA, F. Epstein-Barr virus-associated cholestatic hepatitis. **BMJ Case Rep**, v. 2013, Dec 2013. ISSN 1757-790X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24343806> >.

SAÚDE, I. E. M. D. **MONITORAMENTO DAS EMERGÊNCIAS EM SAÚDE PÚBLICA**. Centro de Informações Estratégicas de Vigilância em Saúde/Unidade de Resposta Rápida – CIEVS/URR: Informe Epidemiológico 084/2017 2017.

SCHALLER, M. D. et al. pp125FAK a structurally distinctive protein-tyrosine kinase associated with focal adhesions. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 89, n. 11, p. 5192-6, Jun 1992. ISSN 0027-8424. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1594631> >.

SCHILLINGER, J. A. et al. Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 and characteristics associated with undiagnosed infection: New York City, 2004. **Sex Transm Dis**, v. 35, n. 6, p. 599-606, Jun 2008. ISSN 0148-5717. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18418295> >.

SCHMIDT, N. J. et al. Serological investigation of an outbreak of simian varicella in *Erythrocebus patas* monkeys. **J Clin Microbiol**, v. 18, n. 4, p. 901-4, Oct 1983. ISSN 0095-1137. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6313751> >.

SCHRENZEL, M. D. et al. Naturally occurring fatal herpes simplex virus 1 infection in a family of white-faced saki monkeys (*Pithecia pithecia pithecia*). **J Med Primatol**, v. 32, n. 1, p. 7-14, Feb 2003. ISSN 0047-2565. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12733597> >.

SEDÝ, J. R.; SPEAR, P. G.; WARE, C. F. Cross-regulation between herpesviruses and the TNF superfamily members. **Nat Rev Immunol**, v. 8, n. 11, p. 861-73, Nov 2008. ISSN 1474-1741. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18949019> >.

SEKULIN, K. et al. **Natural zoonotic infections of two marmosets and one domestic rabbit with herpes simplex virus type 1 did not reveal a correlation with a certain gG-, gI-**

or **gE genotype** Clin Microbiol Infect. : 16(11):1669-72. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03163.x. 2010.

SHELDRIK, P.; BERTHELOT, N. Inverted repetitions in the chromosome of herpes simplex virus. **Cold Spring Harb Symp Quant Biol**, v. 39 Pt 2, p. 667-78, 1975. ISSN 0091-7451. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/169022> >.

SILVEIRA et al. **Ordem Primates. Pp. 67-71. In: Reis, N.R.; Perachi, A.L.; Fandino-Marino, H. & Rocha, V.J. (ed.). Mamíferos da Fazenda Monte Alegre - Paraná. Editora da Universidade Estadual de Londrina. 224p 2005.**

SLAVIN, G. et al. **Kaposi's sarcoma in East African children: a report of 51 cases** J. Pathol: 100, 187–199 1970.

SMITH, P. C. et al. The gibbon (*Hylobates lar*); a new primate host for Herpesvirus hominia. I. A natural epizootic in a laboratory colony. **J Infect Dis**, v. 120, n. 3, p. 292-7, Sep 1969. ISSN 0022-1899. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4309804> >.

SMITH, T. E.; SCHAFFNER, C. M.; FRENCH, J. A. **Social and developmental influences on reproductive function in female Wied's black tuftedear marmosets (*Callithrix kuhli*)**. Hormone Behaviour: 31: 159-168 1997.

SOULIER, J. E. A. **Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in multicentric Castleman's disease** Blood. 86, 1276–1280 1995.

STAGNO, S. et al. Infant pneumonitis associated with cytomegalovirus, Chlamydia, Pneumocystis, and Ureaplasma: a prospective study. **Pediatrics**, v. 68, n. 3, p. 322-9, Sep 1981. ISSN 0031-4005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6269042> >.

STETTER, M. D.; WORLEY, M. B.; RUIZ, B. **Herpesvirus associated malignant lymphoma in a slow loris (*Nycticebus coucagn*)**. J. Zoo Wildl. Med.: 26:155–160. 1995.

STEVENS, J. G. Human herpesviruses: a consideration of the latent state. **Microbiol Rev**, v. 53, n. 3, p. 318-32, Sep 1989. ISSN 0146-0749. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2552271> >.

STRIER, K. B.; MENDES, S. L.; SANTOS, R. R. **Timing of births in sympatric brown howler monkeys (*Alouatta fusca clamitans*) and northern muriquis (*Brachyteles arachnoides hypoxanthus*)**. American Journal of Primatology, 55: 87-100.: 55: 87-100. 2001.

SWANSON, S.; FELDMAN, P. S. Cytomegalovirus infection initially diagnosed by skin biopsy. **Am J Clin Pathol**, v. 87, n. 1, p. 113-6, Jan 1987. ISSN 0002-9173. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3026168> >.

SZPARA, M. L. et al. Evolution and diversity in human herpes simplex virus genomes. **J Virol**, v. 88, n. 2, p. 1209-27, Jan 2014. ISSN 1098-5514. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24227835> >.

TACKET, C. O. et al. Humoral, mucosal, and cellular immune responses to oral Norwalk virus-like particles in volunteers. **Clin Immunol**, v. 108, n. 3, p. 241-7, Sep 2003. ISSN 1521-6616. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14499247> >.

THIRY, N. et al. The seroepidemiology of primary varicella-zoster virus infection in Flanders (Belgium). **Eur J Pediatr**, v. 161, n. 11, p. 588-93, Nov 2002. ISSN 0340-6199. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12424583> >.

THOMAS, R. et al. Evidence of shared Epstein-Barr viral isolates between sexual partners, and low level EBV in genital secretions. **J Med Virol**, v. 78, n. 9, p. 1204-9, Sep 2006. ISSN 0146-6615. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16847960> >.

TOMA, H. S. et al. Ocular HSV-1 latency, reactivation and recurrent disease. **Semin Ophthalmol**, v. 23, n. 4, p. 249-73, 2008 Jul-Aug 2008. ISSN 0882-0538. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18584563> >.

TOOME, B. K.; BOWERS, K. E.; SCOTT, G. A. Diagnosis of cutaneous cytomegalovirus infection: a review and report of a case. **J Am Acad Dermatol**, v. 24, n. 5 Pt 2, p. 860-7, May 1991. ISSN 0190-9622. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1646834> >.

TORRES, N. et al. **n vitro antiviral activity of dehydroepian- drosterone, 17 synthetic analogs and ERK modulators against her-pes simplex virus type 1.** *Antivir Res*: 95:37 – 48 2012.

TRIMARCHI, H. et al. **Cytomegalovirus maculopapulareruption in a kidney transplant patient.** *TransplantInfectious Disease*: vol. 3, no. 1, pp. 47–50 2001.

VALEGÅRD, K. et al. The three-dimensional structure of the bacterial virus MS2. **Nature**, v. 345, n. 6270, p. 36-41, May 1990. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2330049> >.

\_\_\_\_\_. Crystal structure of an RNA bacteriophage coat protein-operator complex. **Nature**, v. 371, n. 6498, p. 623-6, Oct 1994. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7523953> >.

VOCHEM, M. et al. Transmission of cytomegalovirus to preterm infants through breast milk. **Pediatr Infect Dis J**, v. 17, n. 1, p. 53-8, Jan 1998. ISSN 0891-3668. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9469396> >.

VOGEL, P. et al. Seroepidemiologic studies of cytomegalovirus infection in a breeding population of rhesus macaques. **Lab Anim Sci**, v. 44, n. 1, p. 25-30, Feb 1994. ISSN 0023-6764. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8007656> >.

WACHTMAN, L.; MANSFIELD, K. **Nonhuman Primates in Biomedical Research: Diseases**. 2nd ed.. Elsevier. Viral Diseases of Nonhuman Primates.; p. 19-20.: London 2012.

WADSWORTH, S.; JACOB, R. J.; ROIZMAN, B. Anatomy of herpes simplex virus DNA. II. Size, composition, and arrangement of inverted terminal repetitions. **J Virol**, v. 15, n. 6, p. 1487-97, Jun 1975. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/167196> >.

WANG, F. et al. Simian homologues of Epstein-Barr virus. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 356, n. 1408, p. 489-97, Apr 2001. ISSN 0962-8436. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11313007> >.

\_\_\_\_\_. Simian homologues of Epstein-Barr virus. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 356, n. 1408, p. 489-97, Apr 2001. ISSN 0962-8436. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11313007> >.

WEDDERBURN, N. et al. **Infectious mononucleosis-like response in common marmosets infected with Epstein-Barr virus**. *J. Infect. Dis.* 150:878–882. 1984.

WENNER, H. A. et al. Clinical and pathogenetic studies of Medical Lake macaque virus infections in cynomolgus monkeys (simian varicella). **J Infect Dis**, v. 135, n. 4, p. 611-22, Apr 1977. ISSN 0022-1899. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/192806> >.

WESTMORELAND, S. V.; MANSFIELD, K. G. Comparative pathobiology of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus and related primate rhadinoviruses. **Comp Med**, v. 58, n. 1, p. 31-42, Feb 2008. ISSN 1532-0820. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19793454> >.

WHITBY, D. et al. Novel Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus homolog in baboons. **J Virol**, v. 77, n. 14, p. 8159-65, Jul 2003. ISSN 0022-538X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12829855> >.

WHITLEY, R. **Herpes simplex virus**. In: **Scheld WM, Whitley RJ, Marra CM (eds) Infections of the central nervous system, 4th edn.** . Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia,; pp. 137 – 156 2014.

WHITLEY, R.; HILLIARD, J. **Cercopithecine herpesvirus (B virus)**. Philadelphia, PA: p 2888 –2903. In Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE (ed), *Fields virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

WHITLEY, R. J. et al. Protracted pneumonitis in young infants associated with perinatally acquired cytomegaloviral infection. **J Pediatr**, v. 89, n. 1, p. 16-22, Jul 1976. ISSN 0022-3476. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/180275> >.

WHO, W. H. O. **Herpes simplex virus**. . acessado 23 março 2018: WHO 2017.

WILSON, A. C.; MOHR, I. A cultured affair: HSV latency and reactivation in neurons. **Trends Microbiol**, v. 20, n. 12, p. 604-11, Dec 2012. ISSN 1878-4380. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22963857> >.

WILSON, L. E. et al. Progression of liver fibrosis among injection drug users with chronic hepatitis C. **Hepatology**, v. 43, n. 4, p. 788-95, Apr 2006. ISSN 0270-9139. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16557548> >.

WILSON, T. M. Cotranslational disassembly of tobacco mosaic virus in vitro. **Virology**, v. 137, n. 2, p. 255-65, Sep 1984. ISSN 0042-6822. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18639825> >.

WOLF, R. H. et al. Pathology and clinical history of Delta herpesvirus infection in patas monkeys. **Lab Anim Sci**, v. 24, n. 1, p. 218-21, Feb 1974. ISSN 0023-6764. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4360748> >.

WUTZLER, P. et al. Seroprevalence of varicella-zoster virus in the German population. **Vaccine**, v. 20, n. 1-2, p. 121-4, Oct 2001. ISSN 0264-410X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11567755> >.

YANG, S.; GEONG, J.; KIM, J. **Clinical characteristics of Primary Epstein Barr Virus Hepatitis wit elevation of alkaline phosphatase and y-Glutamyltransferase in Children** Yonsei Med: 55:107-12 2014.

YEAGER, A. S. et al. Sequelae of maternally derived cytomegalovirus infections in premature infants. **J Pediatr**, v. 102, n. 6, p. 918-22, Jun 1983. ISSN 0022-3476. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6304275> >.

YOW, M. D. et al. Epidemiologic characteristics of cytomegalovirus infection in mothers and their infants. **Am J Obstet Gynecol**, v. 158, n. 5, p. 1189-95, May 1988. ISSN 0002-9378. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2835906> >.

ZERBONI, L. et al. Varicella-zoster virus glycoprotein E is a critical determinant of virulence in the SCID mouse-human model of neuropathogenesis. **J Virol**, v. 85, n. 1, p. 98-111, Jan 2011. ISSN 1098-5514. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20962081> >.

ZHANG, W. et al. Visualization of membrane protein domains by cryo-electron microscopy of dengue virus. **Nat Struct Biol**, v. 10, n. 11, p. 907-12, Nov 2003. ISSN 1072-8368. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14528291> >.