



Thèse

En vue de l'obtention du grade de

Docteur de l'Université de Guyane

Spécialité : *Physiologie et Biologie des Organismes-Populations-Interactions*

Présentée et soutenue publiquement le *17 septembre 2019* par :

SAMANTHA JAMES

Herpèsvirus de primates et de chauves-souris du Nouveau Monde : modèles d'étude des relations évolutives hôtes-virus.

JURY

Mathieu NACHER

PU-PH

Président du Jury

Sonia BURREL

MCU-PH

Rapporteur

Antoine GESSAIN

MD, PhD, HDR

Rapporteur

Vincent LACOSTE

PhD, HDR

Directeur de Thèse

Ecole Doctorale n°587 : Diversités, Santé et développement en Amazonie

**Herpèsvirus de primates et de chauves-souris du Nouveau Monde : modèles
d'étude des relations évolutives hôtes-virus**

TABLE DES MATIÈRES

Table des matières	3
Remerciements	6
Résumé du manuscrit	10
Abstract	13
Avant-Propos.....	15
Liste des figures.....	16
Liste des tableaux.....	17
Lexique.....	18
Introduction.....	21
I. Généralités sur les herpèsvirus	22
A. Classification	22
B. Nomenclature.....	26
C. Sous-famille, genres et virus humains	27
C.1. <i>Alphaherpesvirinae</i>	27
C.2. <i>Betaherpesvirinae</i>	27
C.3. <i>Gammaherpesvirinae</i>	28
D. Morphologie des particules virales infectieuses	29
E. Propriétés des génomes, gènes et profils d'expression.....	30
F. Caractéristiques générales du cycle de réplication / cycle lytique	34
G. Caractéristiques générales de la latence virale	37
H. Evolution virale	38

I.	Epidémiologie.....	39
J.	Pathogénicité et oncogénèse	40
II.	Les herpèsvirus de primates non-humains (PNHs)	42
A.	Les primates non-humains (PNHs).....	42
A.1.	Définition des Primates	42
A.1.1	Classification des primates	42
B.	Herpèsvirus de primates	51
B.1.	<i>Alphaherpesvirinae</i>	53
B.2.	<i>Betaherpesvirinae</i>	54
B.3.	<i>Gammaherpesvirinae</i>	55
B.4.	Propriétés génomiques des herpèsvirus de PNH	57
B.5.	Modes de transmission	60
B.6.	Pathogénicité	61
B.7.	Relations évolutives.....	67
III.	Les Herpèsvirus de Chiroptères.....	69
A.	Les Chiroptères.....	69
A.1.	Bioécologie des chauves-souris	70
A.1.1	Répartition géographique et régimes alimentaires	71
A.1.2	Caractéristiques biologiques et écophysiologiques	74
A.1.3	Les chiroptères de Guyane	76
A.2.	Les chiroptères en tant que réservoirs de pathogènes	77
B.	Herpèsvirus de chauves-souris	79

B.1. DBatVir	82
B.2. Séquences d'herpèsvirus dans DBatVir	83
B.3. <i>Alphaherpesvirinae</i>	83
B.4. <i>Betaherpesvirinae</i>	85
B.5. <i>Gammaherpesvirinae</i>	86
B.6. Herpèsvirus non classés.....	88
B.7. Séquences génomiques	88
B.8. Pathogénicité	90
B.9. Biologie de l'infection ou Tropisme cellulaire.....	91
B.10. Epidémiologie : distribution et prévalence.....	92
B.11. Phylogénie et Evolution	95
IV. Objectifs de la thèse.....	98
Premier Article :	102
Deuxième Article:	105
Discussion et perspectives	116
Bibliographie	121

REMERCIEMENTS

Aussi loin que je m'en souviene j'ai toujours aimé les sciences !! Cependant, je n'aurais jamais imaginé arriver aussi loin. Dès la licence, je ne pensais pas poursuivre en master mais j'ai saisi l'opportunité de continuer mes études. En master, le Dr Vincent LACOSTE de l'Institut Pasteur de la Guyane nous a présenté son travail en virologie et notamment ses recherches sur les herpèsvirus de primates. À ce moment-là il n'y avait plus aucun doute ni aucune réserve, je devais absolument poursuivre en thèse au sein du Laboratoire des Interactions Virus-Hôtes.

Je tiens donc à te remercier, Vincent, tout particulièrement, pour m'avoir donné l'envie de poursuivre, l'opportunité d'aller jusqu'au bout, tout en découvrant les différents aspects du monde de la recherche. Merci pour ton soutien et ton accompagnement durant ces six années de thèse.

Je souhaite également remercier tous ceux qui ont participé au bon déroulement de cette thèse en m'accordant le financement nécessaire afin de mener à bien mes travaux de recherche. Un grand merci au Fond Social Européen (FSE) ainsi qu'à la Collectivité Territoriale de Guyane (CTG).

Merci à l'Université de Guyane, notamment à l'école doctorale ED587 et à l'Institut Pasteur de la Guyane, sans lesquels la réalisation de mes travaux de recherche et la validation de mon mémoire n'auraient pu être possible.

Mes sincères remerciements à Madame Sonia Burrel et Monsieur Antoine Gessain qui m'ont fait l'honneur d'accepter d'être rapporteur de cette thèse ainsi qu'à Monsieur Mathieu Nacher d'avoir endossé le rôle d'examineur au sein de mon jury.

Je dis un immense merci à Anne Lavergne. Merci pour les conseils que tu m'as apportés, que ce soit au niveau des expérimentations, de la rédaction et de la réflexion scientifique. Merci d'avoir également bien voulu participer à la réalisation de ce manuscrit de thèse. D'un côté plus personnel, je te dis merci du fond du cœur d'avoir été à mes côtés, présente et bienveillante à tout instant. Tes nombreux soupirs chaque fois que tu passais la porte du bureau ou les cliquetis énergétiques de ton clavier me redonnaient le sourire !!

Merci à toi Benoît de Thoisy. Nos échanges n'ont pas été nombreux mais ils furent fructueux. Toujours de bons conseils, avec une vision et une analyse scientifique tout à fait fascinante.

Je tiens maintenant à remercier Edith Darcissac et Damien Donato, toujours présents lorsque j'avais besoin d'aide au cours de mes expérimentations, que ce soit sur la mise en place d'un protocole ou sur l'analyse des résultats obtenus. Vous vous êtes toujours rendus disponibles pour répondre à mes questions et me faire partager votre expérience. Les va-et-vient quotidiens dans notre bureau sans aucune raison particulière ou les discussions interminables sur tout et rien que nous avons entamées à de nombreuses reprises me rendaient parfois folle mais font parties de ce qui rend les membres de cette équipe unique.

Un grand merci aux autres membres de l'équipe qui ont avant tout été de simples collègues et qui au fil du temps sont devenus des amis et des personnes chères à mon cœur. Marie-Claude, Soura, Edouard, Gersande, Sarkis et surtout toi Arielle qui m'as été d'un grand secours à de nombreuses reprises. Comme tu peux le constater ton jeune Padawan devient à son tour maître Jedi !! Merci à tous pour la bonne humeur, les bons et les mauvais moments partagés ensemble, merci pour votre soutien et votre amitié. J'espère vous l'avoir bien rendue ☺ ! Je ne sais pas si j'aurais pu m'en sortir sans vous et vos encouragements car vous savez tous ce que représente une thèse.

Une pensée également pour Claudiane, Tani, Camille, Agathe, Luana, les docteurs certifiés et docteurs en devenir qui ont eu ce même coup de folie que moi de réaliser une thèse grâce à laquelle j'ai pu faire votre rencontre. Vous êtes des filles formidables et je ne vous souhaite que le meilleur pour la suite.

Un merci tout à fait spécial au frère Flamand Claude et Dominique, vous êtes le genre d'amis que tout le monde rêverait d'avoir. Vous trouvez toujours du temps pour les autres malgré vos emplois du temps de ministre et de président ! Un merci à mon partenaire de scrabble, on sait tous les deux que tu profitais que je sois occupée par la thèse pour gagner !!! Et un merci à toi Claude pour m'avoir écouté et accueilli dans ton bureau quand j'en avais besoin. Votre bonne humeur contagieuse réchauffe le cœur.

Je ne peux surtout pas oublier mes voisins de vateries. Ce fameux logement mis à disposition par l'Institut Pasteur de la Guyane où se croisent et se recroisent de fabuleuses personnes de différentes cultures. Les apéros Pasteur, les sorties, les discussions et les amitiés qui y sont nées ont contribué à rendre cette thèse inoubliable. Je pense particulièrement à vous les filles, Marine, Aurélie, Elodie et Mélanie, ce « gang » de martiniquaise qui a envahi ma vie, qui s'est imposé à moi et dont je ne peux plus me passer. Et à toi aussi Johan, « my nigger », l'un des plus belles rencontres faites en Guyane. Ces années de thèse furent quand même pleines de rebondissements... Nous avons déjoué la mort ensemble et notre amitié reste intacte même par-delà les océans.

On dit qu'on ne choisit pas sa famille mais ce n'est pas totalement vrai. Certaines personnes entre dans vos vies et c'est comme si vous les aviez toujours connues. Elles deviennent si importantes et indispensables qu'elles font parties intégrantes de votre famille. Fabrice comment ne pas te dire merci ?! Tu sais déjà... je ne pourrais pas trouver les mots justes pour t'exprimer toute ma gratitude. Merci d'avoir été là pour les hauts et les bas, je sais

que je n'ai pas toujours été un cadeau ☺. JM, ton amitié n'a pas de prix, mon chouchou que je ne supportais pas au début, je ne peux plus imaginer ma vie sans toi ! Vous m'avez tous les deux toujours poussée à me surpasser et à aller de l'avant.

Je ne pourrais pas conclure sans remercier ceux par qui ce travail n'aurait jamais été possible. Ma maman, Flora, mon roc, mon modèle, celle qui a fait de moi la femme que je suis, ma petite sœur, Stéphanie, véritable peste que j'aime de tout mon cœur, mes grands-parents, Mélus et Constance, et ma marraine, Cloraine. Vous m'avez accompagné tout au long de mes études et tout au long de ma vie. Vous m'avez guidé dans mes choix et permis d'être une personne accomplie. Merci à vous et à tous mes oncles, tantes, cousins et cousines.

Et puis bon je vais me remercier moi-même. Et oui cette thèse a été une fabuleuse expérience professionnelle mais aussi personnelle et cela malgré et sans doute grâce à la difficulté qu'elle a représenté. Elle m'a permis de me découvrir, de grandir et de réaliser que j'étais capable de bien plus que je ne pouvais l'imaginer.

Pour finir, merci Seigneur de m'avoir accordé force et courage. Merci pour toutes ces personnes sans qui je n'y serais pas arrivée.

Merci à tous !!

RÉSUMÉ DU MANUSCRIT

Les virus appartenant à la famille *Herpesviridae* (ordre *Herpesvirales*) sont des virus à ADN double brin enveloppés répartis au sein de trois sous-familles : *Alpha-*, *Beta-* et *Gamma-herpesvirinae*. Ces virus ont été identifiés à partir d'un large spectre d'espèces hôtes, allant des mammifères aux reptiles en passant par les oiseaux. Ils ont la capacité de persister toute au long de la vie de l'hôte sous forme latente et de se réactiver. La plupart de ces virus sont par ailleurs spécifiques d'une espèce hôte. La large distribution des herpèsvirus, associée à une infection généralement asymptomatique chez l'hôte naturel suggèrent que ces virus auraient co-évolué avec leurs hôtes.

Mon premier axe de travail a porté sur l'identification de cytomégalovirus (CMV, genre *Cytomegalovirus*) chez les primates non-humains du nouveau Monde (PNHNM) afin de voir si la diversification de ces virus suivait celle de leurs hôtes. De fait, une étude préalable conduite sur les primates de l'ancien monde avait démontré que les CMV les infectant présentaient un fort signal de co-divergence avec leurs hôtes. Or, parmi les différentes espèces de primates testées, seules quelques-unes provenaient du Nouveau Monde. Afin de répondre à cette question, nous avons effectué un criblage moléculaire de 244 échantillons d'ADN sanguin provenant de 20 espèces d'Amérique centrale et du sud. Par une approche de PCR utilisant des amorces consensus dégénérées ciblant des motifs hautement conservés du gène de l'ADN polymérase des herpèsvirus, nous avons caractérisé de nouvelles séquences virales de 12 espèces appartenant à sept genres représentatifs des trois familles de PNHNM. Ces résultats démontrent ainsi que la plupart des espèces de PNHNM peuvent être infectées par un virus appartenant au genre *Cytomegalovirus*. Par ailleurs, les analyses phylogénétiques effectuées, couplées à la datation moléculaire des séquences obtenues, soutiennent cette hypothèse co-évolutive. Cette étude nous a conduit à proposer que les séquences de CMVs de

PNHNM puissent servir d'outil moléculaire afin d'étudier la systématique non encore totalement résolue de ces primates.

Mon second axe visait à identifier des herpèsvirus de chauves-souris du Nouveau Monde afin d'en étudier la distribution et la diversité. La recherche d'herpèsvirus chez les chauves-souris est plus récente. Elle a bénéficié de l'intérêt porté à ces mammifères au début des années 2000 du fait de leur rôle de réservoirs de virus potentiellement zoonotiques. C'est à partir de 2007 que les premières séquences d'herpèsvirus de chauves-souris ont été décrites. Il s'en est suivi la description de dizaines de nouvelles séquences identifiées de différentes espèces d'Afrique, d'Asie, d'Océanie, d'Europe et d'Amérique. Néanmoins, la distribution des espèces testées était géographiquement inégale et seules quelques-unes provenaient du Nouveau Monde. Nous avons effectué un criblage moléculaire de 195 échantillons d'ADN sanguin provenant de 11 espèces appartenant à trois familles (Phyllostomidae, Mormoopidae et Molossidae). En utilisant la même approche que celle appliquée au PNHNM, nous avons obtenu des séquences virales (*ADN polymérase* et/ou *Glycoprotéine B*) de toutes les espèces testées. Celles-ci se répartissent au sein des sous familles *Beta-* et *Gamma-herpesvirinae*. Quatorze séquences partielles du gène de l'*ADN polymérase*, correspondant à trois beta- et onze gamma-herpèsvirus, ont été identifiées. Douze séquences partielles du gène de la *glycoprotéine B*, toutes de gamma-herpèsvirus, ont été caractérisées. Chaque séquence était spécifique à une espèce de chauve-souris et, chez certaines espèces, de multiples virus ont été identifiés. Les analyses phylogénétiques de ces séquences ont permis d'identifier des clades spécifiques aux virus de chauve-souris. Ceux composés de séquences obtenues à partir de différentes espèces appartenant à des sous-familles distinctes suivent la taxonomie des chauves-souris. Cette étude confirme l'étonnante diversité des herpèsvirus de chauve-souris et élargit nos connaissances sur leur spectre d'hôtes.

Ces travaux sont les plus larges conduits à ce jour en termes de diversité d'espèces de primates non-humains et de chauves-souris néotropicales testées. Il n'en reste pas moins que les échantillons testés ne représentent qu'une petite proportion de cette diversité. D'autres analyses, sur un plus large panel d'espèces représentatives d'autres régions géographiques permettront d'augmenter notre compréhension de l'histoire évolutive de ces virus

ABSTRACT

Viruses belonging to the *Herpesviridae* family (order *Herpesvirales*) are enveloped double-stranded DNA viruses distributed into three subfamilies: *Alpha*-, *Beta*- and *Gammaherpesvirinae*. These viruses have been identified from a wide range of host species, ranging from mammals to reptiles to birds. They have the ability to persist throughout the life of the host in a latent form and to reactivate. Most of these viruses are specific to a host. The wide distribution of herpesviruses, generally associated with an asymptomatic infection in their natural host, suggests that these viruses have co-evolved with their hosts.

The first part of this work was dedicated to the identification of cytomegaloviruses (CMV, genus *Cytomegalovirus*) in New World non-human primates (NWNHP) to see if the diversification of these viruses followed that of their hosts. A previous study on Old World primates had demonstrated that CMVs infecting them showed a strong signal of co-divergence with their hosts. Nevertheless, among the different species of primates tested, only a few were from the New World. To test this hypothesis, we performed a molecular screening of 244 blood DNA samples from 20 Central and South American species. Through a PCR approach using degenerate consensus primers targeting highly conserved motifs of the *DNA polymerase* gene of herpesviruses, we characterized new viral sequences from 12 species belonging to seven representative genera of the three families of NWNHP. These results demonstrate that most species of NWNHP can be infected with a virus belonging to the *Cytomegalovirus* genus. In addition, phylogenetic analyzes of the obtained sequences combined with their molecular dating support a co-evolutionary scenario. This study led us to propose that CMVs sequences of NWNHP could serve as a molecular marker with which to infer the not yet fully resolved systematics of these primates.

The second part of this work was on identifying herpesviruses from New World bats to study their distribution and diversity. The search for herpesviruses in bats is more recent. In

the early 2000s it benefited from studies dedicated to other viral families given their role as reservoirs of potentially zoonotic viruses. The first description of bat herpesvirus sequences dated back from 2007. Over the past decade, dozens of herpesvirus sequences have been described from different bat species on every continent. Nevertheless, the distribution of the tested species was geographically uneven and only a few were from the New World. Molecular screening of 195 blood DNA samples from 11 species belonging to three families (Phyllostomidae, Mormoopidae and Molossidae) was performed. Using the same approach as applied to NWNHP, we obtained viral sequences (*DNA polymerase* and/or *glycoprotein B*) from all tested species. These are distributed within the *Beta*- and *Gamma-herpesvirinae* subfamilies. Fourteen partial sequences of the *DNA polymerase* gene, corresponding to three beta- and eleven gamma-herpesviruses, have been identified. Twelve partial sequences of the *glycoprotein B* gene, all gamma-herpesviruses, have been characterized. Each sequence was specific to a bat species and in some species multiple viruses were identified. Phylogenetic analyzes of these sequences have identified clades specific to bat viruses. Those composed of sequences obtained from different species belonging to distinct subfamilies follow the taxonomy of bats. This study confirms the astonishing diversity of bat herpesviruses and broadens our knowledge on their host spectrum.

This work is the largest conducted to date in terms of species diversity of non-human primates and bats from the Neotropical realm. Nevertheless, the samples tested represent only a tiny part of this diversity. Further analyzes, on a broader panel of representative species from other geographic areas will increase our understanding of the evolutionary history of these viruses.

AVANT-PROPOS

Le projet initial de ma thèse comportait deux aspects distincts. Le premier, faisant l'objet de ce manuscrit, portait sur l'identification d'herpèsvirus dans la faune sauvage (primates non-humains et chauves-souris) de Guyane et l'étude de leurs relations évolutives. Le second traitait de la protéine Rta (pour *Replication and transcription activator*) de l'herpèsvirus humain 8 (HHV8). Il avait pour objectif d'identifier les interactions de cette protéine très précoce de l'HHV8 avec le génome du virus d'Epstein-Barr (EBV) dans les lignées cellulaires de lymphome primitif des séreuses qui sont à 80% co-infectées. Travailler sur ce projet m'a permis de maîtriser de nombreuses techniques de biologie moléculaire et cellulaire. J'ai de plus généré un certain nombre d'outils. Cependant, je n'ai pas réussi à générer de résultats exploitables dans le cadre d'une publication. J'ai donc décidé de ne pas développer cet aspect dans la suite de mon manuscrit.

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Représentation schématique de la structure d'une particule d'herpèsvirus.....	30
Figure 2 : Illustration simplifiée de la structure génomique des herpèsvirus de primate.	31
Figure 3 : Représentation schématique de l'organisation séquentielle du génome des herpèsvirus illustrée sur la base de différents gammaherpèsvirus de primates..	33
Figure 4 : Entrée du virus dans la cellule..	35
Figure 5: Représentation schématique du micro-ordre Catarrhini.....	45
Figure 6: Représentation schématique du micro-ordre Platyrrhini.	50
Figure 7 : Hypothèse actuelle des relations intraordinales chez les chiroptères.....	71
Figure 8 : Distribution spatiale et richesse spécifique des chiroptères dans le Monde.....	72
Figure 9 : Répartition des espèces de chauves-souris pour lesquelles un (des) herpèsvirus a (ont) été identifié(s) par des études virologiques.	81
Figure 10 : Carte thermique de la richesse virale totale observée par ordre de mammifères et par famille virale.....	99
Figure 11 : Distribution globale de la richesse virale chez les chauves-souris.	101

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Ordre <i>Herpesvirales</i>	24
Tableau 2 : Herpèsvirus humains et maladies associées	41
Tableau 3: Différentes classifications des Platyrrhini proposées au fur et à mesure des révisions.	49
Tableau 4 : Herpèsvirus de primates selon l'ICTV MSL#33.....	52
Tableau 5: Herpèsvirus de primates et maladies associées, majoritairement malignes.....	66
Tableau 6: Diversité et distribution des chiroptères modernes.....	73

LEXIQUE

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Rinonucléique

BGHV8 : *bat gammaherpesvirus 8*

bp : *base pair* (pour paire de base)

CalHV3 : *Callitrichine herpesvirus 3*

CeHV1 : *Cercopithecine Herpesvirus 1*

CMV : Cytomégalovirus

CODEHOP : *Consensus DEgenerate Hybrid Oligonucleotide Primer*

DrHV : *Desmodus rotundus herpesvirus*

E : *Early*

EBV/HHV4 : Epstein-Barr virus/ Herpèsvirus humain type 4

EfHV : *Eptesicus fuscus herpesvirus*

EGHV : *Elephant gammaherpesvirus*

FABHV1 : *Fruit bat alphaherpesvirus 1*

HCMV/HHV5/ HuBHV5 : *Human Cytomegalovirus/ Herpèsvirus humain type 5*

HHV6 : Herpèsvirus humain type 6

HHV7 : Herpèsvirus humain type 7

HSV1/HHV1 : Herpès simplex virus 1/ Herpèsvirus humain type 1

HSV2/HHV2 : Herpès simplex virus 2/ Herpèsvirus humain type 2

HTLV1 : *Human T cell leukemia/lymphoma virus type 1*

HVA : *Herpesvirus ateles*

HVS : *Herpesvirus saimiri*

ICTV : *International Committee on Taxonomy of Viruses*

IE : *Immediate early*

IR : *Internal Repeat*

KSHV/HHV8 : *Kaposi's sarcoma associated herpesvirus/ Herpèsvirus humain type 8*

L : *Late*

LCV : *Lymphocryptovirus*

McHV : *Macacine gammaherpesvirus*

McHV : *Macacine herpèsvirus*

MERS-CoV : *Middle East respiratory syndrome coronavirus*

MgGHV : *Megabat gammaherpesvirus*

MneHV6 : *Macaca nemestrina herpesvirus 6*

MneHV7 : *Macaca nemestrina herpesvirus 7*

MsHV : *Miniopterus schreibersii herpesvirus*

MSL : *Master species list*

NWM : *New World Monkey*

oriLyt : *Origine de réplication lytique*

OWM : *Old World Monkey*

PCR : *Polymerase chain reaction*

PgHV : *Pteropus giganteus herpesvirus*

PNH : *Primate Non-humain*

RCMV : *Rat cytomegalovirus*

RGHV1 : *Rhinolophus gammaherpesvirus 1*

RhLCV : *Rhesus lymphocryptovirus*

RV : *Rhadinovirus*

SARS-CoV : *Severe acute respiratory syndrome coronavirus*

SIDA : *Syndrome d'immunodéficience acquise*

Sp. : abréviation de *species* au singulier désignant une espèce du genre décrit.

Spp. : abréviation de *species* au pluriel désignant toutes les espèces appartenant au genre décrit.

SSV-1 : *Simian sarcoma virus 1*

THV : *Tree shrew herpesvirus*

TR : *Terminal Repeat*

UL : *Unique large*

Us : *Unique small*

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VZV/HHV3 : Virus de la Varicelle et du Zona/ Herpèsvirus humain type 3

INTRODUCTION

I. Généralités sur les herpèsvirus

Les herpèsvirus constituent un ensemble de virus répartis au sein de l'ordre *Herpesvirales* (Davison et al., 2009; Strauss, 2000). Ce nom, dérivé du grec ερπειν (herpein), qui signifie "se faufiler, ramper", fait référence aux lésions dermatologiques caractéristiques causées par deux herpèsvirus humains : le bouton de fièvre provoqué par l'herpès simplex de type 1 (HSV-1) ainsi que la varicelle et le zona induits par le virus de la varicelle et du zona (VZV). La diversité des herpèsvirus concerne aussi bien la nature de l'hôte et le tropisme cellulaire que l'organisation fonctionnelle du génome viral et l'expression du pouvoir pathogène. Ils présentent néanmoins un grand nombre de propriétés communes ainsi que des similitudes au niveau des processus physiologiques de l'infection qui permettent d'affirmer leur unité (Pellett and Roizman, 2013). De fait, les virus de cet ordre partagent tous un même type de morphologie, certaines propriétés biologiques clés et un mode de réplication commun. Un autre trait majeur aux herpèsvirus est leur capacité à établir une infection latente à vie chez l'hôte avec des réactivations périodiques.

A. Classification

La classification des herpèsvirus a récemment été mise à jour par le Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV pour *International Committee on Taxonomy of Viruses*) (<https://talk.ictvonline.org/>) aboutissant à la création de l'ordre des *Herpesvirales* (Davison et al., 2009; King et al., 2012). Cet ordre comprend plusieurs centaines d'espèces virales, identifiées à partir d'un large spectre d'hôtes allant des invertébrés aux mammifères en passant par les amphibiens et les reptiles. Il se divise en trois familles, trois sous-familles et 19 genres. L'actuelle famille des *Herpesviridae* ne comprend plus maintenant que les virus de mammifères, d'oiseaux et de reptiles, alors que la famille des *Alloherpesviridae* est constituée

des virus de poissons et de grenouilles et que celle des *Malacoherpesviridae* est composée de virus de mollusques marins (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Ordre *Herpesvirales*

Famille	Sous-Famille	Genre	Espèce*	Acronyme
<i>Alloherpesviridae</i>		<i>Batrachovirus</i>	<i>Ranid herpesvirus 1</i>	RaHV1
		<i>Cyprinivirus</i>	<i>Cyprinid herpesvirus 3</i>	CyHV3
		<i>Ictalurivirus</i>	<i>Ictalurid herpesvirus 1</i>	IcHV1
		<i>Salmonivirus</i>	<i>Salmonid herpesvirus 1</i>	SalHV1
<i>Herpesviridae</i>	<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Iltovirus</i>	<i>Gallid alphaherpesvirus 1</i>	GaHV1
		<i>Mardivirus</i>	<i>Gallid alphaherpesvirus 2</i>	GaHV2
		<i>Scutavirus</i>	<i>Chelonid alphaherpesvirus 5</i>	ChHV5
		<i>Simplexvirus</i>	<i>Human alphaherpesvirus 1</i>	HHV1
		<i>Varicellovirus</i>	<i>Human alphaherpesvirus 3</i>	HHV3
	<i>Betaherpesvirinae</i>	<i>Cytomegalovirus</i>	<i>Human betaherpesvirus 5</i>	HHV5
		<i>Muromegalovirus</i>	<i>Murid betaherpesvirus 1</i>	MuHV1
		<i>Proboscivirus</i>	<i>Elephantid betaherpesvirus 1</i>	EiHV1
		<i>Roseolovirus</i>	<i>Human betaherpesvirus 6A et 6B</i>	HHV6A/HHV6B
	<i>Gamma herpesvirinae</i>	<i>Lymphocryptovirus</i>	<i>Human gammaherpesvirus 4</i>	HHV4
		<i>Macavirus</i>	<i>Alcelaphine gammaherpesvirus 1</i>	AIHV1
		<i>Percavirus</i>	<i>Equid gammaherpesvirus 2</i>	EHV2
		<i>Rhadinovirus</i>	<i>Saimiriine gammaherpesvirus 2</i>	SaVH2
<i>Malacoherpesviridae</i>		<i>Aurivirus</i>	<i>Haliotid herpesvirus 1</i>	HalHV1
		<i>Ostreavirus</i>	<i>Ostreid herpesvirus 1</i>	OsHV1

* Espèce type du genre viral

Historiquement, l'appartenance d'un virus à la famille *Herpesviridae* était basée sur la morphologie des particules virales. Observés en microscopie électronique, les virions des différents membres de cette famille virale possèdent en effet tous la même architecture globale. Avec l'abondance des séquences disponibles, génomiques ou non, les espèces virales sont maintenant identifiées principalement sur la base d'informations dérivées de séquences génétiques. Les critères permettant de définir une espèce virale appartenant à l'ordre des *Herpesvirales* ont été décrits dans le 9ème rapport de l'ICTV : « Un herpèsvirus peut être classé comme une espèce s'il a des caractéristiques épidémiologiques ou biologiques distinctes et un génome distinct qui représente une lignée répliquative indépendante. Des informations de séquence suffisantes pour démontrer qu'un virus représente une lignée répliquative distincte d'une espèce connue sont donc nécessaires afin de considérer que le virus en question existe dans la nature, occupe une niche écologique propre et qu'il peut être reconnu formellement comme une espèce virale. Pour certains gènes bien étudiés, il existe des niveaux de différence de séquence au-delà desquels il ne fait aucun doute que les virus en question ont des propriétés épidémiologiques et biologiques distinctes. De tels virus peuvent être reconnus en tant qu'espèces sur la base d'informations de séquence limitées. Il y a aussi des virus étroitement apparentés présentant des différences relativement faibles dans les séquences de gènes individuels, mais dont les différences génétiques s'étendent sur l'ensemble des génomes respectifs impliquant que ceux-ci représentent des lignées de répllication indépendantes. Ces virus ont également des caractéristiques épidémiologiques et biologiques distinctes (par exemple l'identité de l'hôte, les propriétés pathogéniques et épidémiologiques et l'absence de recombinaisons naturels) et répondent ainsi à la définition d'espèce » (Davison et al., 2009; King et al., 2012). Cent quatre virus, répondant à ces critères, sont reconnus en tant qu'espèces dans l'ordre des *Herpesvirales* selon la liste (MSL # 33) publiée le 17 octobre 2018 par l'ICTV (<https://talk.ictvonline.org/files/master-species-list/m/msl/7992>). La plupart

(89) appartiennent à la famille des *Herpesviridae*. Plusieurs dizaines d'autres virus ne sont pas encore officiellement reconnus en tant qu'espèces, certains sont en attente d'approbation.

B. Nomenclature

En plus de leur classification, l'ICTV a également établi un système officiel afin de nommer les espèces virales. Selon ce schéma, le nom est composé de trois éléments. Le premier dérive du nom taxonomique de l'hôte naturel du virus en question. Le niveau taxonomique utilisé par défaut est celui de la famille et, à l'exception des virus infectant l'homme (Human), il se termine en « -id ». Les autres exceptions concernent les virus de la famille des *Bovidae*, désignés par la sous-famille ou le genre de l'hôte, ainsi que ceux des primates non-humains (PNH) désignés par le genre. Ces noms se terminent par « -ine ». Le deuxième élément correspond au mot « alphaherpesvirus », « betaherpesvirus » ou « gammaherpesvirus » en fonction de la sous-famille à laquelle le virus appartient. Pour les virus appartenant aux familles *Alloherpesviridae* et *Malacoherpesviridae*, divisées en genres, ce deuxième élément correspond à « herpesvirus ». Le troisième élément, enfin, consiste en un chiffre dont la finalité est de donner un identifiant unique à l'espèce virale ainsi nommée (**Tableau 1**). Il n'implique pas l'existence d'une série complète ou continue ni une relation particulière entre virus portant le même numéro. Il est choisi autant que possible afin d'éviter toute confusion par rapport aux chiffres initialement utilisés dans la littérature. Cependant, un certain nombre d'herpèsvirus, en particulier ceux infectant les humains, possédaient des noms largement adoptés avant l'introduction de cette dénomination formelle. Par conséquent, ces noms de virus sont considérés comme synonymes du nom officiellement attribué. On retrouve ainsi souvent dans la littérature une double dénomination, par ex. *Human cytomegalovirus* (HCMV) / *Human betaherpesvirus 5* (HHV5) ou encore HuBHV5 selon la dernière proposition soumise à l'ICTV en juin 2018 par le groupe d'étude des *Herpesvirales*.

C. Sous-famille, genres et virus humains

Les virus appartenant à la famille des *Herpesviridae* se répartissent au sein de trois sous-familles elles-mêmes divisées en 13 genres (**Tableau 1**). Comme mentionné plus haut, l'appartenance à l'une de ces sous-familles était initialement basée sur des propriétés biologiques distinctes comme le tropisme cellulaire puis, plus récemment, sur la base des propriétés génétiques de chacune des espèces virales. De fait, le nombre croissant de séquences disponibles dans les bases de données et leur comparaison ont permis d'identifier des blocs de gènes conservés ainsi que des gènes homologues parmi ces virus. Les virus appartenant à la même sous-famille présentent en général le plus grand nombre de gènes homologues qui, de plus, possèdent les alignements de séquences les plus proches ainsi qu'une organisation fonctionnelle de leurs génomes proche.

C.1. *Alphaherpesvirinae*

La sous-famille *Alphaherpesvirinae* est divisée en cinq genres : *Simplexvirus*, *Varicellovirus*, *Mardivirus*, *Iltovirus* et *Scutavirus*. Trois virus humains appartiennent à cette sous-famille, les herpès simplex de type 1 et 2 (HSV1/HHV1 et HSV2/HHV2) qui appartiennent au genre *Simplexvirus*, et le virus de la varicelle et du zona (VZV/HHV3) qui, lui, appartient au genre *Varicellovirus*. Leur tropisme concerne de façon non exclusive la peau, les muqueuses et le système nerveux. Ils possèdent un cycle réplcatif court et une propagation rapide en culture cellulaire. Ils induisent une forte lyse des cellules infectées et ont la capacité d'établir leur cycle latent dans les ganglions sensoriels.

C.2. *Betaherpesvirinae*

La sous-famille des *Betaherpesvirinae* se divise en quatre genres : *Cytomegalovirus*, *Roseolovirus*, *Muromegalovirus* et *Proboscivirus*. Les virus appartenant à cette sous-famille

possèdent un cycle réplcatif long, ont une croissance lente en culture cellulaire et ne peuvent se répliquer que sur un nombre restreint de systèmes cellulaires en comparaison des *Alphaherpesvirinae*. Leur site de latence se situe au niveau de certaines cellules hématopoïétiques, dont les cellules progénitrices de la moelle osseuse et de la lignée monocyttaire (Luppi et al., 1998; Miyake et al., 2006; Sinclair, 2008). Quatre herpèsvirus humains sont trouvés dans cette sous-famille: le cytomégalovirus humain (HCMV/HHV5), membre du genre *Cytomegalovirus*; les herpèsvirus humains 6A (HHV6A), 6B (HHV6B) et 7 (HHV7). Ces trois derniers appartiennent au genre *Roseolovirus*. HCMV/HHV5 est considéré comme le virus prototype de cette sous-famille. Ce virus établit principalement la latence dans les cellules de la lignée myéloïde, se réactivant périodiquement (Goodrum et al., 2012). Les virus HHV6A, HHV6B et HHV7 sont eux des virus T-lymphotropes (Berneman et al., 1992; Lusso et al., 1988; Takahashi et al., 1989).

Les HHV6A et HHV6B ont longtemps été considérés comme des variants de l'espèce virale HHV6 (Schirmer et al., 1991). Cependant ces virus, bien que similaires au niveau génomique et de leur organisation génétique, sont distincts au regard de leur épidémiologie, de leur tropisme et de leur pathogénèse (Ablashi et al., 1991; Dominguez et al., 1999). De ce fait, en 2012, après de longues années de discussion, ces deux virus ont chacun été reconnus en tant qu'espèces virales par l'ICTV portant ainsi à neuf le nombre d'herpèsvirus humains (Ablashi et al., 2014, 1993).

C.3. *Gammaherpesvirinae*

La sous-famille des *Gammaherpesvirinae* comprend quatre genres : *Lymphocryptovirus* (*gamma1-herpesvirinae*), *Rhadinovirus* (*gamma2-herpesvirinae*), *Percavirus* et *Macavirus*. Les virus de cette sous-famille établissent leur latence au niveau des cellules lymphocytaires. *In vitro*, tous les membres de cette sous-famille se répliquent dans les cellules

lymphoblastoïdes et certains causent des infections lytiques dans les cellules épithéliales et fibroblastiques. Deux membres de cette sous-famille infectent les humains : le virus d'Epstein-Barr (EBV) / herpèsvirus humain 4 (HHV4) et l'herpèsvirus humain 8 (HHV8) aussi connu sous le nom d'herpèsvirus associé au sarcome de Kaposi (KSHV) (Chang et al., 1994; Damania and Cesarman, 2013; Epstein et al., 1964; Longnecker et al., 2013). Ils appartiennent respectivement aux genres *Lymphocryptovirus* et *Rhadinovirus*.

D. Morphologie des particules virales infectieuses

Les particules virales matures d'herpèsvirus partagent certains caractères morphologiques communs observables en microscopie électronique (Davison, 2007a). Elles possèdent toutes la même architecture globale: le core, la capside, le tégment et l'enveloppe. Le core contient un génome à ADN linéaire bicaténaire de grande taille (de plus de 100 kb) enroulé sur lui-même en une structure torique (Furlong et al., 1972; Pellett and Roizman, 2013). Il est enfermé à l'intérieur d'une capside icosaédrique de symétrie $T = 16$. Cette structure de capside hautement organisée comprend un total de 162 capsomères : 150 capsomères hexamériques et 12 pentamériques (Brown and Newcomb, 2011). La structure de la capside ~ 125 nm est ensuite enrobée dans une matrice protéique beaucoup moins ordonnée, connue sous le nom de tégment. Le tégment est composé d'un nombre important de protéines virales différentes nécessaires lors des tout premiers stades de l'infection ainsi que lors de la maturation des nouveaux virions (Guo et al., 2010; Pellett and Roizman, 2013). Enfin, le tégment est enveloppé à son tour par une enveloppe lipidique dérivée de la cellule hôte produisant un virion de ~ 100 à 300 nm de diamètre (Mettenleiter et al., 2009) (**Figure 1**). L'enveloppe virale est hérissée de nombreuses glycoprotéines virales essentielles lors des premières étapes de l'infection (absorption/fusion/pénétration) ainsi que lors de la maturation des particules virales. Ces glycoprotéines, une dizaine d'espèces moléculaires différentes par virus, contribuent aux différences biologiques entre les espèces virales et ont donc un rôle

majeur dans la spéciation et le tropisme cellulaire des herpèsvirus (Eisenberg et al., 2012; Krummenacher et al., 2013; Mori et al., 2003).

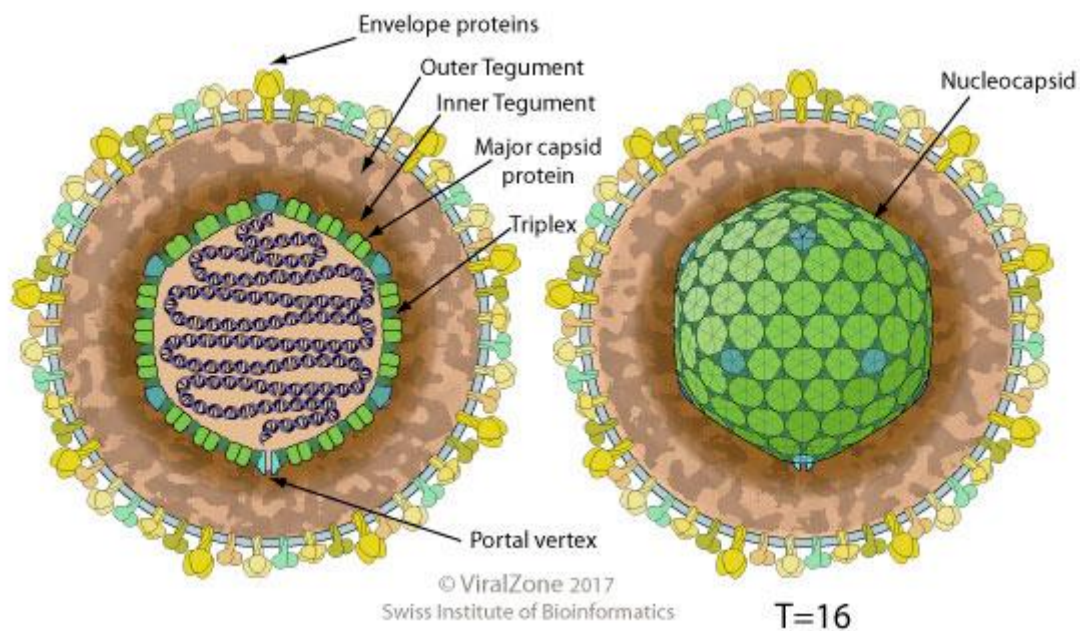


Figure 1: Représentation schématique de la structure d'une particule d'herpèsvirus
(d'après https://viralzone.expasy.org/176?outline=all_by_species)

E. Propriétés des génomes, gènes et profils d'expression

Le génome des herpèsvirus est composé d'une molécule d'ADN double brin de 125 à 295 kpb ayant un contenu en GC variant de 31 à 77% en fonction de l'espèce virale (Pellett and Roizman, 2013). Linéaire au sein du virion, le génome viral se retrouve sous forme épisomale en de multiples copies dans le noyau de la cellule infectée voire, rarement, sous forme intégrée (EBV, HHV6) (Hurley et al., 1991; Morissette and Flamand, 2010). Le génome de tout herpèsvirus est constitué d'une région unique (*i.e.* non répétées) et de séquences répétées internes ou terminales, directes ou inversées. L'arrangement de ces séquences répétées résulte en différents types de structures génomiques réparties en cinq classes, de A à E (**Figure 2**). La structure génomique est similaire entre les virus appartenant au même genre mais sensiblement différente entre les genres.

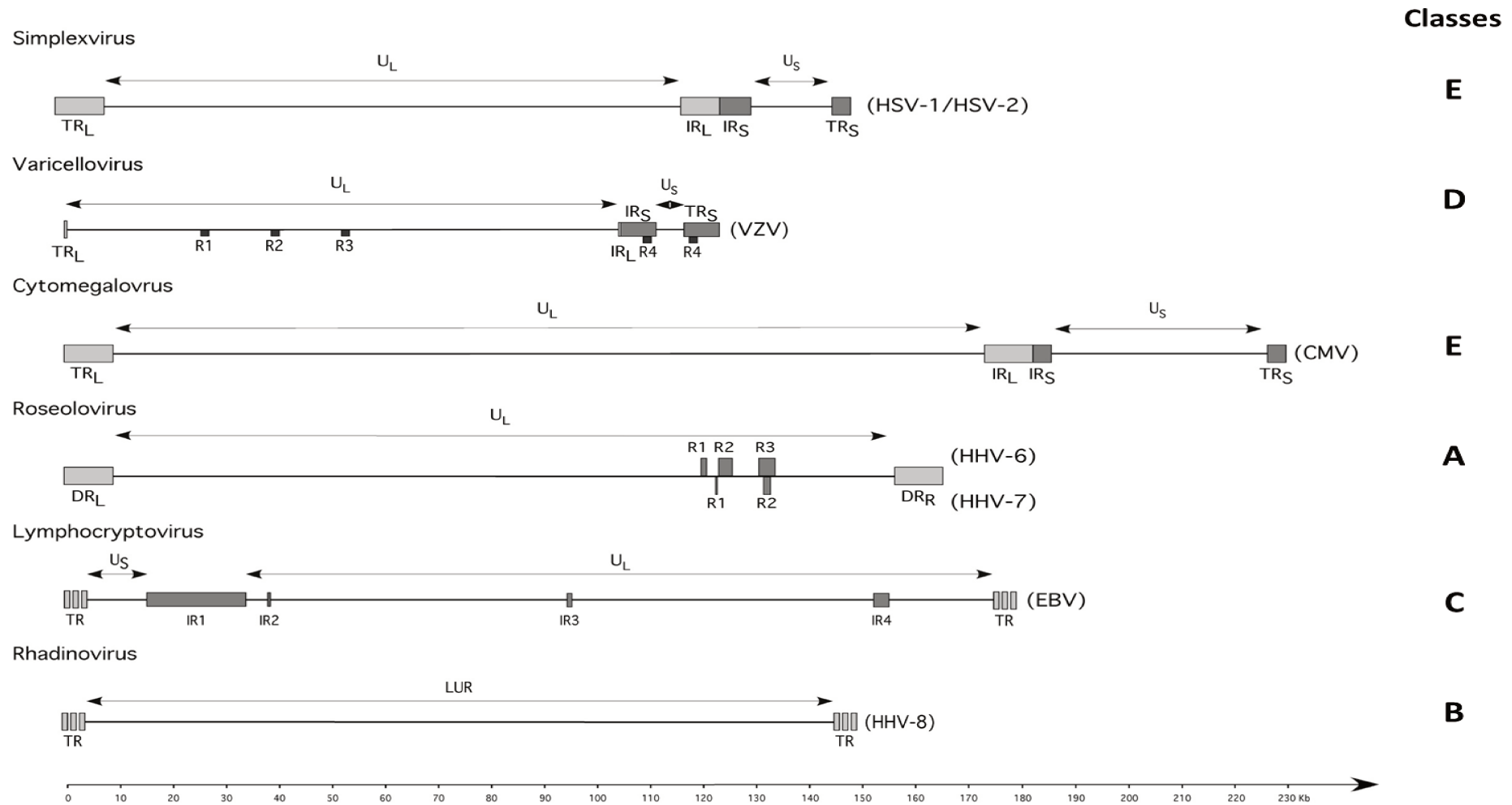


Figure 2 : Illustration simplifiée de la structure génomique des herpèsvirus de primate. Représentation linéaire du génome des virus des différents genres représentés ici par les virus humains. La région codante de la plupart de ces virus est scindée en deux régions U_s et U_L (pour Unique small et large) par des régions répétées internes (IR pour Internal repeat) de taille variable. Le génome des rhadinovirus est constitué d'une région unique centrale (LUR pour long unique region) contenant toutes les phases ouvertes de lecture flanquée à ses extrémités par des régions répétées terminales (TR). (D'après (Lacoste, 2011))

Les deux brins de l'ADN génomique sont codants, cependant pas sur la totalité de leur séquence. Le génome des herpesvirus est constitué de 70 à plus de 200 phases de lecture ouverte en fonction de l'espèce virale, ainsi que de microARNs en nombre variable d'une espèce à l'autre et d'ARNs non codants de fonction inconnue (Pellett and Roizman, 2013). Une quarantaine de gènes, arrangés en blocs, au nombre de six, sont conservés entre les différents virus (**Figure 3**) (Chee et al., 1990; Davison, 2007b; Davison and Taylor, 1987). Les gènes conservés au sein d'un bloc conservent généralement le même ordre et la même orientation mais l'arrangement des blocs n'est conservé qu'entre virus appartenant au même genre. Ces gènes codent généralement des protéines de capsides, d'autres impliquées dans les mécanismes de réplication de l'ADN ou encore d'empaquetage. Ceci renforce le point de vue selon lequel, en dépit de leur diversité génétique, ces virus conservent les mêmes stratégies de réplication. Enfin, ces blocs de gènes conservés au sein de la famille sont séparés par des blocs de gènes spécifiques de la sous-famille, voire de l'espèce virale (**Figure 3**) (Pellett and Roizman, 2013). Parmi ces gènes spécifiques, un certain nombre code des homologues de gènes cellulaires acquis à partir du génome de l'hôte. Les protéines codées par ces gènes doivent mimer la fonction de leur « équivalent » cellulaire facilitant ainsi l'évasion virale vis-à-vis de la réponse immune ou d'autres mécanismes de défense de l'hôte. Par ailleurs, certains de ces homologues de gènes cellulaires présentent des propriétés de transformation *in vitro*.

F. Caractéristiques générales du cycle de réplication / cycle lytique

Le cycle de réplication des herpèsvirus inclut séquentiellement l'interaction entre plusieurs glycoprotéines virales et leurs récepteurs et co-récepteurs cellulaires, la migration de la capside dans le cytoplasme, la pénétration du génome viral dans le noyau cellulaire où se dérouleront la transcription et la réplication suivies de la morphogénèse virale et de l'acquisition de l'enveloppe au niveau de structures membranaires endocellulaires (Eisenberg et al., 2012; Pellett and Roizman, 2013) (**Figure 4**).

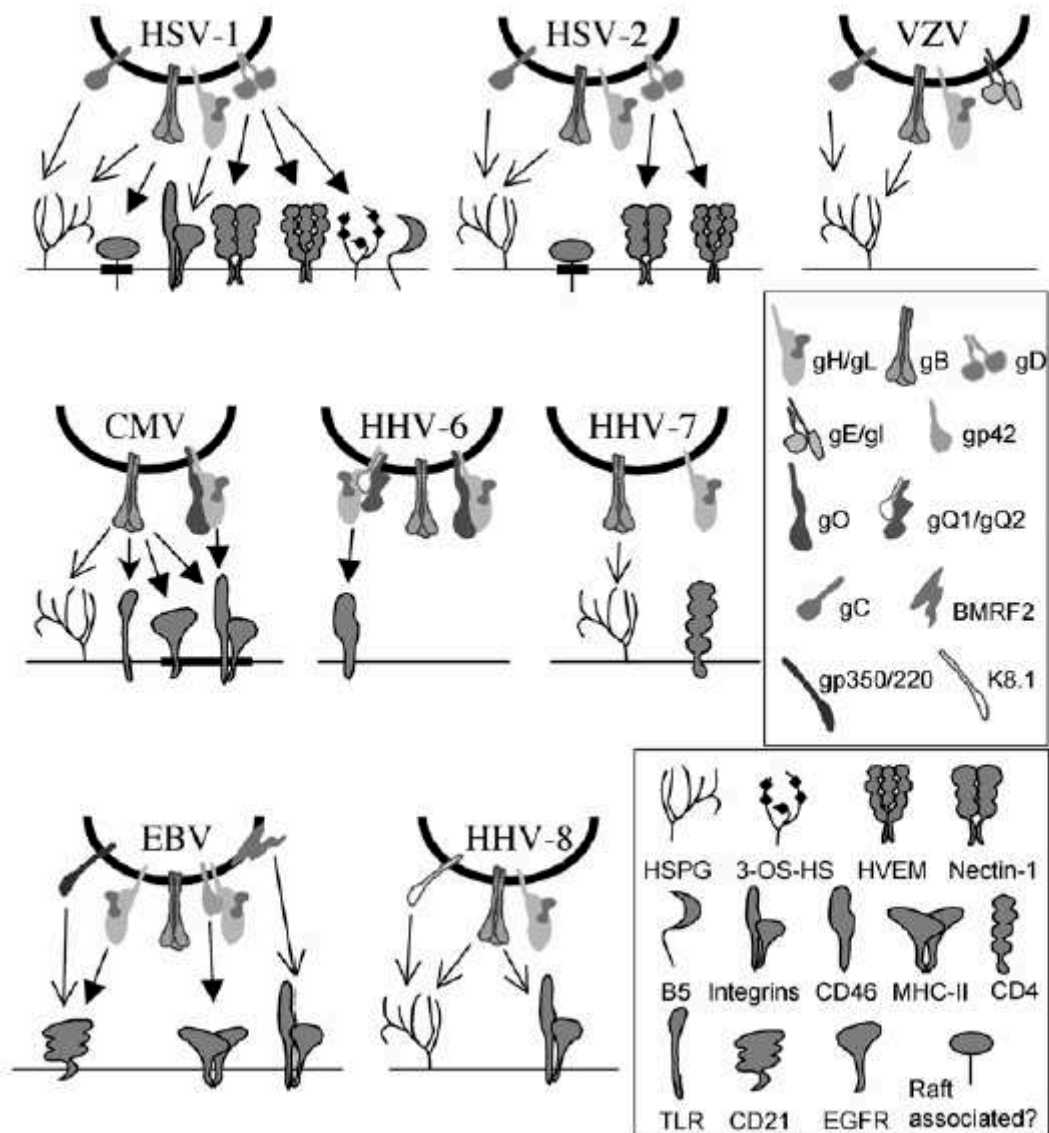


Figure 4 : Entrée du virus dans la cellule. Les glycoprotéines virales interagissent avec les molécules de la surface cellulaire. Les interactions d'attachement sont indiquées par des flèches ouvertes et les interactions avec les récepteurs d'entrée sont indiquées par des flèches pleines. Les lignes fines horizontales sous les virions représentent la membrane cellulaire et ses parties épaissies indiquent une implication des radeaux lipidiques. Toutes les interactions indiquées ne se produisent pas nécessairement sur les mêmes cellules ou au même moment pour que l'entrée se produise (d'après (Krummenacher et al., 2013)).

La transcription du génome viral fait appel à de nombreuses protéines virales : protéines de régulation transactivant les étapes en aval et/ou rétro-inhibant les étapes d'amont, enzymes participant au métabolisme des nucléotides et à la réplication de l'ADN dont une ADN polymérase spécifique. C'est pourquoi l'expression des gènes viraux est régulée temporellement de façon précise. Ils sont exprimés de manière consécutive, en cascade, pour aboutir à la production de nouvelles particules virales. Les premiers exprimés sont les gènes

très précoces (IE pour *immediate early*), suivis des gènes précoces (E pour *early*), puis tardifs (L pour *late*) (Honess and Roizman, 1974; Jenner et al., 2001; Tsao et al., 2009). L'expression des gènes d'une classe cinétique est dépendante de celle de la classe précédente. Par ailleurs, l'expression des gènes tardifs ne se fait qu'une fois le génome viral répliqué. Alors que les gènes très précoces et précoces codent des protéines impliquées dans la réplication et l'activation des gènes tardifs, ces derniers codent majoritairement des protéines structurales nécessaires à l'assemblage des virions. Ces différentes classes de gènes sont définies *in vitro* en fonction de leur expression ou non en présence de différents inhibiteurs. Les gènes très précoces s'expriment en présence d'inhibiteur de la synthèse protéique ce qui n'est pas le cas des gènes précoces qui eux s'expriment en présence d'inhibiteur de la réplication virale contrairement aux gènes tardifs (Gruffat et al., 2016; Sun et al., 1999).

La réplication de l'ADN est initiée par des réarrangements d'ADN qui permettent l'accès du génome à un certain nombre de protéines virales à l'origine de réplication lytique (oriLyt). Un complexe polymérase / élongation est ensuite formé et la réplication du génome se poursuit par un mécanisme en cercle roulant par lequel le génome parental circularisé aboutit à la production de concatémères du génome (Deiss et al., 1986; Jacob et al., 1979; Thomson et al., 1994; Turner et al., 2002; Zimmermann and Hammerschmidt, 1995). La formation de structures de capsides précurseur se produit en même temps que la réplication de l'ADN de telle sorte qu'après la réplication les concatémères sont clivés en génomes unitaires puis emballés dans des capsides précurseurs (Homa and Brown, 1997; Thomson et al., 1994; Turner et al., 2002; Zimmermann and Hammerschmidt, 1995). Le modèle dominant actuel suggère que les nucléocapsides subissent un processus d'enveloppement, de des-enveloppement et de ré-enveloppement afin de traverser la membrane nucléaire jusqu'au relargage de virions matures par bourgeonnement au niveau de la membrane plasmique (Mettenleiter et al., 2009; Mori et al., 2008; Torrisi et al., 1999).

G. Caractéristiques générales de la latence virale

Une des caractéristiques de l'infection à herpèsvirus réside en leur capacité à établir après l'infection primaire une infection latente chez l'hôte naturel leur permettant de persister tout au long de la vie de l'hôte. Ainsi, au cours de la phase de latence, le génome viral est maintenu dans la cellule hôte sous forme d'épisome nucléaire en l'absence de production de virions infectieux. Seul un petit nombre de gènes viraux nécessaires à la réplication et à la persistance des épisomes est exprimé (Grinde, 2013). Ceci permet l'échappement au système immunitaire de l'hôte et la transmission du virus au cours des divisions cellulaires. Ce dogme central n'est cependant peut-être pas vrai pour tous les herpèsvirus. De fait, il a été observé pour certains virus tels que l'EBV, mais aussi les HHV-6A et -6B, que le génome viral pouvait s'intégrer dans les chromosomes de la cellule hôte infectée (Arbuckle et al., 2013, 2010; Delecluse et al., 1993; Delecluse and Hammerschmidt, 1993; Kaufer et al., 2011). Cette intégration semble fournir un mécanisme alternatif de latence somatique (Arbuckle et al., 2013, 2010). Ce phénomène est néanmoins original au sein des herpèsvirus et survient peu fréquemment, décrit chez seulement 0,5 à 1 % des personnes infectées.

En fonction de l'entité virale, la latence s'établit au niveau de types cellulaires spécifiques : à titre d'exemples, dans les neurones des ganglions de la racine dorsale pour l'HSV-1, dans les lymphocytes B pour l'EBV. Le nombre de gènes exprimés est aussi variable d'un virus à l'autre (Cohrs and Gilden, 2001; Grinde, 2013).

La latence virale recouvre donc des processus moléculaires complexes qui diffèrent selon les herpèsvirus et vont bien au-delà de la simple persistance du génome viral dans le noyau de la cellule infectée. Par ailleurs, les génomes latents conservent toujours la capacité à se réactiver en réponse à un stimulus afin de passer en phase lytique. C'est d'ailleurs cette capacité de réactivation qui distingue la latence d'une infection abortive.

H. Evolution virale

L'origine des herpèsvirus est estimée à environ 400 millions d'années (McGeoch et al., 2006). Les trois sous-familles, *Alpha*, *Beta* et *Gamma*, au sein de la famille *Herpesviridae*, auraient vu le jour il y a 180 à 220 millions d'années (McGeoch et al., 1995). Les principaux genres au sein des sous-familles auraient émergés avant la radiation des mammifères, il y a 60 à 80 millions d'années. Les spéciations ont, elles, probablement eu lieu au cours des 80 derniers millions d'années. Jusque récemment, ces virus étaient considérés avoir évolué selon un processus de co-spéciation impliquant une évolution parallèle et interdépendante avec leurs hôtes au cours du temps (Davison, 2002; McGeoch et al., 2006, 2000, 1995). Sur la base d'incongruences topologiques, des études récentes ont remis en cause cette hypothèse, montrant que d'autres événements, tels que les duplications et les transferts inter-espèces, jouent un rôle central dans leur évolution (Ehlers et al., 2008; Escalera-Zamudio et al., 2016). Cependant, ces études ayant été réalisées avec des phylogénies sans datation, n'ont pas permis d'évaluer la fréquence de ces événements évolutifs. Les premières études utilisant une datation comparée ont confirmé la co-évolution des virus et de leurs hôtes tout en relevant le rôle d'autres processus tels que les duplications et transferts (Anoh et al., 2018; Lavergne et al., 2014; Leendertz et al., 2009). Celles-ci étaient cependant restreintes à un unique genre viral et à un ordre de mammifères. Afin de comprendre la répartition actuelle des herpèsvirus au sein de groupes d'hôtes distincts, Brito & Pinney ont récemment effectué une analyse de phylogénie comparée, calibrée dans le temps, en sélectionnant uniquement les virus pour lesquels la séquence génomique complète était disponible dans les bases de données (Bruto and Pinney, 2018). Cet échantillon, bien que restreint en nombre d'espèces virales, était représentatif des différentes sous-familles et genres viraux ainsi qu'en termes de diversité d'hôtes. Cette analyse a confirmé des désaccords topologiques entre les arbres des virus et de leurs hôtes et a permis de mettre en évidence des déséquilibres chronologiques sur les temps

de divergence. Ils ont ainsi révélé que les transferts jouent un rôle clé dans l'évolution des *Alphaherpesvirinae* mais sont rares chez les *Beta* et les *Gammaherpesvirinae*. Pour ces deux sous-familles, les duplications suivies de pertes semblent abondantes et pourraient mieux expliquer les désaccords topologiques entre leurs phylogénies et celles de leurs hôtes. Cependant, les pertes virales peuvent avoir été surévaluées du fait du jeu de données traité dans l'étude. De surcroît, étant donné que les niveaux de pertes les plus élevés ont été observés pour les genres viraux pour lesquels peu de taxons ont été échantillonnés, il est possible que ces pertes correspondent en fait à des virus non encore découverts. Quoiqu'il en soit, la disponibilité de nouvelles techniques d'analyse phylogénétique ainsi que de quantités croissantes de séquences d'herpèsvirus (génomiques ou fragmentaires) a permis de reconsidérer l'histoire évolutive des membres de la famille des *Herpesviridae*. Dans la mesure où de plus en plus de séquences virales issues d'un large éventail d'espèces hôtes deviennent disponibles, notre compréhension de la nature réelle de leurs liens évolutifs se fait de plus en plus détaillée.

I. Epidémiologie

L'épidémiologie des herpèsvirus se fonde sur une transmission de proximité entre sujets infectés et sujets réceptifs, transmission à la fois horizontale et verticale. Cette capacité de transmission est très élevée, expliquant le maintien de ces virus à travers les générations. Elle repose moins sur la faible capacité des virions à persister dans le milieu extérieur que sur le réservoir de sujets infectés chez lesquels la persistance du virus et la possibilité indéfinie de réactivations fournissent une source pérenne de transmission et de nouvelles infections (Agut, 2011).

Chez l'homme, l'épidémiologie est caractérisée par une transmission communautaire, le plus souvent précoce dans la vie, et une prévalence élevée de l'infection dans toutes les

populations (Agut, 2011). On note cependant un gradient décroissant de cette prévalence des régions intertropicales vers les pôles, plus ou moins évident selon le virus considéré. Il existe plusieurs modes de transmission chez l'adulte qui sont tous interhumains : par contact direct, cutané ou muqueux, intime avec des excréta de patients infectés (urine, salive, sécrétions cervicales, sperme), par le sang au cours d'une transfusion ou par greffe d'organes ou de moelle de donneurs séropositifs (pour le CMV) (Whitley, 1996). Ainsi, en France, dans la population adulte, les prévalences dépassent 90% pour VZV, EBV, HHV6 et HHV7, sont approximativement égales à 70% pour HSV1, 50% pour HCMV, 20% pour HSV2 et inférieures à 5% pour HHV8 (Agut, 2011). Elles sont toutes notablement plus élevées et ce, à tous les âges de la vie, dans les pays de la zone intertropicale. La transmission sexuelle est aussi fréquemment en cause pour certains tels qu'HSV2, HCMV et HHV8 (Strauss, 2000).

J. Pathogénicité et oncogénèse

L'infection par un herpèsvirus chez son hôte naturel est généralement inapparente. Cependant, dans un contexte où la réponse immunitaire est compromise, les herpèsvirus sont alors responsables d'une forte morbidité et mortalité. Par ailleurs, le risque de développer une maladie augmente de façon dramatique lorsqu'un herpèsvirus est transmis à un hôte non naturel. Du fait, en partie, au tropisme cellulaire différent en fonction des virus, le spectre des maladies associées est large, allant chez l'homme de l'éruption cutanée bénigne à des infections du système nerveux central fatales, aux lymphomes (**Tableau 2**). Seuls les virus appartenant à la sous-famille des *Gamma-herpesvirinae* présentent des propriétés oncogènes.

Tableau 2 : Herpèsvirus humains et maladies associées (Agut, 2011)

Sous-famille	Espèce virale(abréviation, autre nom)	Principales maladies associées		
		Maladies habituelles du sujet immunocompétent	Maladies sévères du sujet immunodéprimé	Maladies spécifiques du nouveau-né et de l'enfant
<i>Alphaherpesvirinae</i>	Herpes simplex virus type 1 (HSV-1, herpèsvirus humain 1)	Gingivostomatite Herpès labial Herpès cutané Kératoconjonctivite	Herpès cutanéomuqueux extensif Atteintes viscérales	Herpès néonatal
	Herpes simplex virus type 2 (HSV-2, herpèsvirus humain 2)	Herpès génital Herpès cutané Méningite	Herpès cutanéomuqueux extensif Atteintes viscérales	Herpès néonatal
	Virus varicelle-zona (VZV, herpèsvirus humain 3)	Varicelle Zona	Varicelle maligne Zona généralisé	Varicelle néonatale grave
<i>Betaherpesvirinae</i>	Cytomégalo virus (CMV, herpèsvirus humain 5)	Fièvre Syndrome mononucléosique Hépatite	Pneumopathie Rétinite Encéphalite Colite	Infection congénitale symptomatique (maladie des inclusions cytomégaliqes)
	Herpèsvirus humain 6 (HHV-6)	Exanthème subit (roséole infantile)	Encéphalite Hépatite	Exanthème subit Infection néonatale sévère ?
	Herpèsvirus humain 7 (HHV-7)	Inconnues à ce jour	Inconnues à ce jour	Inconnues à ce jour
<i>Gammaherpesvirinae</i>	Virus Epstein-Barr (EBV, herpèsvirus humain 4)	Mononucléose infectieuse Hépatite	Syndrome lymphoprolifératif	Inconnues à ce jour
	Herpèsvirus humain 8 (HHV-8, herpèsvirus associé à la maladie de Kaposi)	Syndrome mononucléosique Syndrome lymphoprolifératif aigu ?	Maladie de Kaposi Lymphome des séreuses Maladie de Castleman	Inconnues à ce jour

II. Les herpesvirus de primates non-humains (PNHs)

A. Les primates non-humains (PNHs)

A.1. Définition des Primates

L'ordre des Primates a été introduit par Charles Linné en 1758 (Linnaeus, 1758). L'Homme y figure aux côtés des singes et des paresseux pour former l'ordre des anthropomorphes, dont le nom a ensuite évolué en Primates qui signifie « premier ». Les espèces composant l'ordre des Primates sont définies aux moyens des caractères communs suivants : « *Quatre incisives inférieures parallèles, une seule canine* [à chaque demi-mâchoire], *une paire de mamelles pectorales, extrémités des membres antérieurs propres à saisir, clavicules, se déplacent sur quatre pattes, grimpent aux arbres et se nourrissent de fruits* » (Toulemonde-Darre, 2007). Au fil des études menées sur le sujet, la taxonomie des primates a subi de nombreuses révisions (Schneider and Sampaio, 2015). On s'accorde actuellement sur le fait que 69 genres de primates sont issus d'un ancêtre commun qui serait apparu il y a environ 85 millions d'années (période Crétacé/Paléocène) (Perelman et al., 2011).

Aujourd'hui, les primates non-humains (PNHs) sont principalement retrouvés dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie, de l'Afrique et de l'Amérique centrale et du sud. Ils y occupent aussi bien des milieux forestiers, que des savanes, des steppes mais également des milieux semi-arides et désertiques.

A.1.1 Classification des primates

L'ordre des Primates est divisé en deux sous-ordres : Strepsirrhini (Prosimiens non tarsiers) et Haplorrhini. La forme de la face (allongée en museau ou pas) et la présence ou pas

d'un rhinarium (truffe sans poils, humide, narines fendues) permettent de distinguer ces deux sous-ordres. Par ailleurs, le sous-ordre Strepsirrhini est divisé en trois infra-ordres (Lemuriformes, Chiromyiformes et Lorisiformes) tandis que le sous-ordre Haplorrhini est lui divisé en deux infra-ordres (Tarsiiformes et Simiiformes). Cependant, l'appartenance des tarsiers (Tarsiiformes) à l'ordre des primates fait encore débat. Ainsi donc, traditionnellement, les lémuriens (Lemuriformes), l'aye-aye (Chiromyiformes), les loris et galagos (Lorisiformes) ainsi que les tarsiers (si tant est que ces derniers appartiennent aux primates) sont considérés comme des prosimiens (Voevodin and Marx, 2009a). Ce sont les primates les plus primitifs, leur séparation avec les simiens étant intervenue il y a 75 à 98 millions d'années (Perelman et al., 2011). Le nombre d'espèces varie de 261 à 377 en fonction des études (Perelman et al., 2011).

La classification des Simiiformes commence au niveau du micro-ordre. Ils se différencient en Platyrrhiniens (singes à narines larges ou plates et orientées vers l'extérieur) et en Catarrhiniens (singes à narines rapprochées et orientées vers le bas). Les Platyrrhiniens regroupent les singes du Nouveau Monde (NWMs pour *New World Monkeys*) et les Catarrhiniens ceux de l'Ancien Monde (OWMs pour *Old World Monkeys*) ainsi que les grands singes et l'homme. La divergence entre les Platyrrhiniens et les Catarrhiniens a eu lieu il y a 38 à 48 millions d'années (Fleagle, 2013; Perelman et al., 2011; Poux et al., 2006; Tejedor, 2008; Wilkinson et al., 2011). De plus, les Platyrrhiniens sont considérés comme un groupe monophylétique ayant évolué indépendamment des Catarrhiniens (Opazo et al., 2006; Rosenberger, 2011; Tejedor, 2008).

a. Catarrhiniens

Le micro-ordre des Catarrhiniens est constitué des primates non humains africains et asiatiques (genres *Macaca*, *Chlorocebus*, *Papio*, *Cercopithecus*, ...), des grands singes et de l'homme. Il se divise en deux superfamilles : les Ceropithecoidea et les Hominoidea (**Figure**

5). La superfamille Cercopithecoidea se décline en une famille unique des Cercopithecidae à laquelle plus de 150 espèces d'OWMs appartiennent. Cette famille est divisée en deux sous-familles distinctes sur le plan écologique et morphologique : les Cercopithecinae (singes à joues) et les Colobinae (singes mangeurs de feuilles). Elle représente l'une des plus larges et diverses familles de primates regroupant au moins vingt-deux genres dont douze appartiennent aux Cercopithecinae et dix aux Colobinae (Disotell, 1996; Groves, 2016, 1993; Perelman et al., 2011). Quant à la superfamille des Hominoidea, elle se subdivise en deux familles des Hylobatidae et des Hominidae. Il n'existe pas de sous-famille en tant que niveau de classification dans la superfamille des Hominoidea. Les Cercopithecidae ont divergé des Hylobatidae/Hominidae il y a environ 32 millions d'années (Perelman et al., 2011). Les estimations actuelles montrent que les Hylobatidae ont par la suite divergé des Hominidae il y a environ 20 millions d'années tandis que la première divergence chez les Hominidae se serait produite il y a environ 17 millions d'années (Perelman et al., 2011). Les Catarrhiniens n'étant pas le sujet de ma thèse, je ne développe pas plus cette partie.

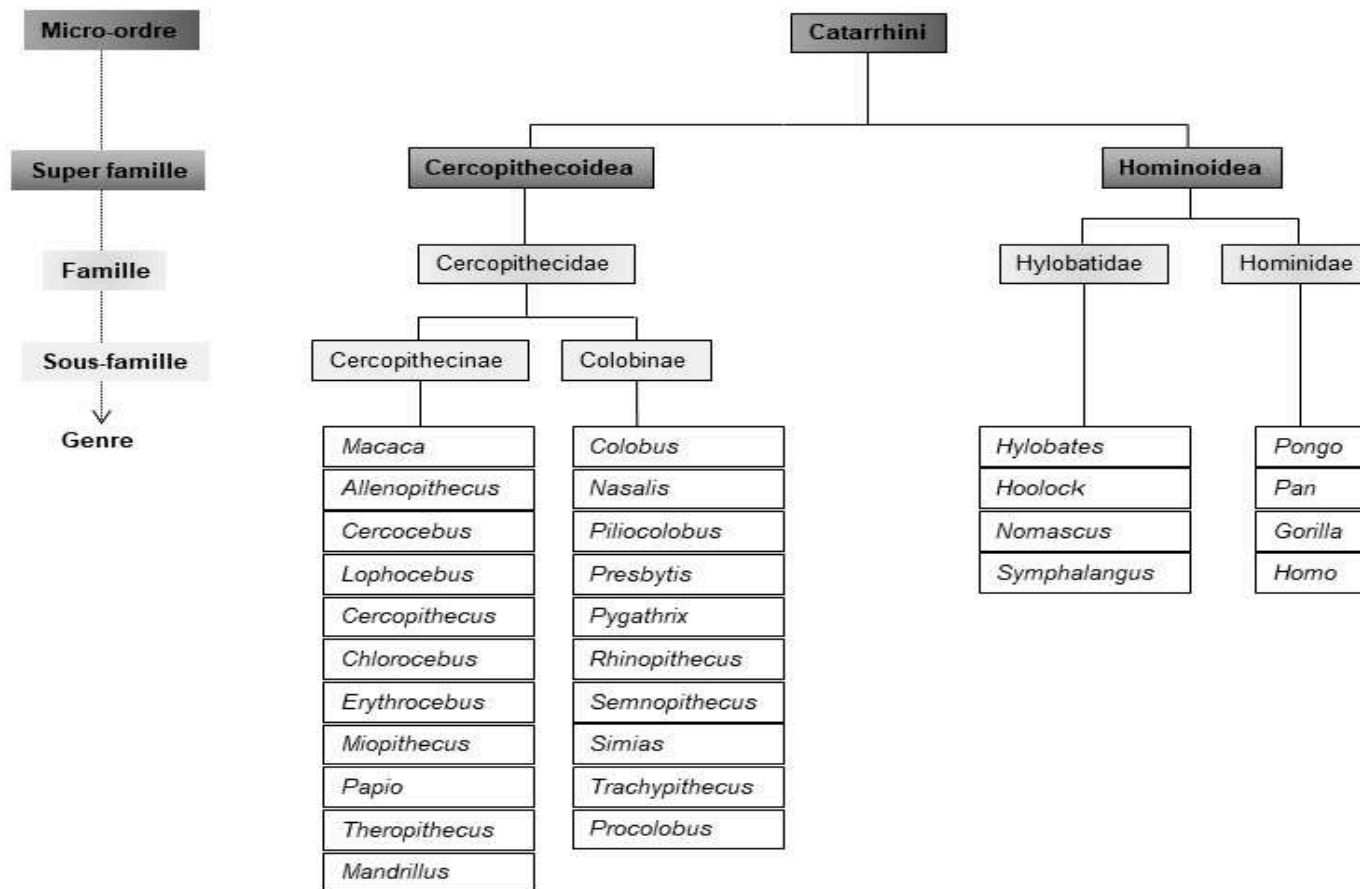


Figure 5: Représentation schématique du micro-ordre Catarrhini. Adapté d'après (Voevodin and Marx, 2009b)

b. Platyrrhiniens

L'Amérique du Sud abrite des communautés animales distinctes des autres continents dont les Platyrrhini encore appelés NWMs (Garber and Estrada, 2009). Les NWMs ont colonisé la quasi-totalité des niches disponibles des régions néotropicales d'Amérique centrale et du sud mais l'origine et l'évolution d'une telle diversité restent mal comprises (Aristide et al., 2015; Bond et al., 2015; Lynch Alfaro et al., 2015). Différentes hypothèses ont été proposées, sans qu'aucune ne soit privilégiée (Haffer, 1997; Jameson Kiesling et al., 2015; Vallejos-Garrido et al., 2017). De fait, les premières études, portant sur la diversification des espèces de platyrrhiniens et leur taxonomie, se basant sur des données morphologiques, ont montré des résultats discordants (**Tableau 3**) (Groves, 2001; Rylands and Mittermeier, 2009; Schneider et al., 2001). Historiquement, la répartition des NWMs au sein de trois familles, Cebidae, Pitheciidae et Atelidae, a été proposée (Ford, 1986; Kay, 1990; Rosenberger, 1984). Par la suite, une quatrième famille (Aotidae) a été ajoutée (Groves, 2001). D'autres auteurs ont même proposé l'existence d'une cinquième famille, Callitrichidae (Rylands, 2000). Avec le développement de la biologie moléculaire, les relations phylogénétiques entre les NWMs ont largement été étudiées sur la base de séquences géniques nucléaires et mitochondriales (Carneiro et al., 2018; Martins-Junior et al., 2018; Opazo et al., 2006; Perelman et al., 2011; Perez et al., 2012; Ruiz-García et al., 2014; Wildman et al., 2009) ainsi que d'autres types de marqueurs tels que des éléments courts intercalés (SINEs pour *short interspersed nuclear elements*) (Ray et al., 2005). Un consensus s'est finalement dégagé avec trois clades monophylétiques majeurs correspondants aux trois familles (Rylands et al., 2012) : le premier constitué des petits singes « à griffes » (Cebidae : *Cebuella*, *Mico*, *Callithrix*, *Callimico*, *Sanguinus*, *Leontopithecus*, *Saimiri*, *Cebus*, *Sapajus* et *Aotus*), le deuxième comprenant les grands singes frugivores-folivores à queue préhensile (Atelidae : *Alouatta*, *Ateles*, *Lagothrix* et *Brachyteles*) et le troisième regroupant les prédateurs disséminateurs de graines

(Pitheciidae : *Callicebus*, *Pithecia*, *Chiropotes*, et *Cacajao*). Cependant, des divergences continuent à persister quant aux relations phylogénétiques entre les familles (**Tableau 3**).

Il en est de même au regard des liens existants entre certains genres au sein de ces familles ou de leur appartenance à l'une ou l'autre des familles (Ford, 1986; Kay, 1990; Rosenberger, 2011, 1981). Ainsi, le positionnement des genres *Aotus*, *Callicebus*, *Saimiri* et *Cebus* a été longtemps discuté (**Tableau 3**). Un consensus a finalement été trouvé pour le genre *Callicebus* appartenant à la sous-famille Callicebinae au sein de la famille Pitheciidae (Schneider et al., 1996, 1993) ainsi que pour le positionnement des genres *Cebus* et *Saimiri* vis-à-vis du genre *Callithrix* au sein des Cebidae (Osterholz et al., 2009; Perelman et al., 2011; Perez et al., 2012; Singer et al., 2003; Wildman et al., 2009). En fonction du marqueur moléculaire utilisé, le positionnement du genre *Aotus* vis-à-vis des genres *Saimiri* et *Cebus* au sein de la famille Cebidae fait, lui, toujours débat (Perelman et al., 2011; Perez et al., 2012; Wildman et al., 2009).

Il persiste aussi des divergences au niveau du nombre d'espèces constituant certains genres. A titre d'exemple, alors que seize espèces de *Pithecia* ont été décrites, seules cinq sont actuellement reconnues (Marsh, 2014). De même, la classification des taxons du genre *Ateles* a été révisée de nombreuses fois (Collins and Dubach, 2000; Froehlich et al., 1991; Groves, 2001; Kellogg and Goldman, 1944; Medeiros et al., 1997). Kellogg et Goodman ont réalisé la première analyse taxonomique complète du genre en se basant sur les caractéristiques morphologiques (couleur du pelage, longueur des poils et mesures crâniennes) ainsi que sur des données biogéographiques (Kellogg and Goldman, 1944). Ces analyses les ont amenés à séparer les *Ateles* en quatre espèces : *Ateles goeffroyi* (avec neuf sous-espèces restreintes à la Mésio-Amérique), *Ateles fusciceps* (deux sous-espèces réparties le long de la côte Pacifique du nord-ouest et de l'Amérique du sud), *Ateles belzebuth* (avec trois sous-espèces réparties dans tout le bassin amazonien et le nord de la Colombie) et *Ateles paniscus* (avec deux sous-

espèces, une au nord du fleuve Amazone dans la région des Guyanes et une au sud du fleuve : dans le centre et le sud-ouest de l'Amazonie brésilienne ainsi que la Bolivie et le Pérou) (Morales-Jimenez et al., 2015). Néanmoins, d'autres études basées sur les caractères morphologiques, cytogénétiques et moléculaires ont abouti à la classification des *Ateles* en sept espèces : *Ateles paniscus*, *A. chamek*, *A. belzebuth*, *A. marginatus*, *A. hybridus* et *A. fusciceps* (Groves, 2001). Concernant le genre *Cebus*, certains groupes ont proposé que différentes espèces qui lui sont affiliées soient réparties au sein d'un nouveau genre, le genre *Sapajus* (Alfaro et al., 2012b, 2012a; Boubli et al., 2012; Hershkovitz, 1955, 1949; Perelman et al., 2011; Silva Jr, 2001). Silva a étudié les capucins de manière exhaustive (Silva Jr, 2001) et a conclu que la morphologie des individus touffus et non touffus (Hershkovitz, 1955, 1949) est si distinctes qu'ils devraient être considérés comme appartenant à des genres distincts. Cependant, ce n'est que plus récemment, sur la base d'études morphologiques, génétiques, comportementales, écologiques et biogéographiques plus approfondies, qu'une division entre les capucins robustes (touffus) du genre *Sapajus* et les capucins graciles (non touffus) du genre *Cebus* a pu être établie (Alfaro et al., 2012b, 2012a; Boubli et al., 2012).

En conclusion, la taxonomie des primates non humains du Nouveau Monde est un champ d'investigation majeur. En fonction des caractères étudiés et des méthodes d'analyses utilisées, des divergences persistent quant à la phylogénie des Platyrrhini et certains points n'ont toujours pas été résolus.

Tableau 3: Différentes classifications des Platyrrhini proposées au fur et à mesure des révisions. Extrait de (Schneider and Sampaio, 2015)

Schneider, 2000	Groves, 2001	Rylands and Mittermeier, 2009
1 Family Cebidae	1 Family Cebidae	1 Family Callitrichidae
1.1 Subfamily Callitrichinae <i>Callithrix, Cebuella, Mico, Saguinus, Leontopithecus, Callimico</i>	1.1 Subfamily Callitrichinae Gray, 1821 <i>Callithrix</i> Erxleben, 1777 <i>Callimico</i> Miranda-Ribeiro, 1911 <i>Leontopithecus</i> Lesson, 1840 <i>Saguinus</i> Hoffmannsegg, 1807	<i>Callithrix, Saguinus, Callimico, Leontopithecus</i> <i>Cebuella</i> Gray, 1866 <i>Callibella</i> , Van Roosmalen & Van Roosmalen, 2003 <i>Mico</i> Lesson, 1840
1.2 Subfamily Cebinae <i>Cebus, Saimiri</i>	1.2 Subfamily Cebinae Bonaparte, 1821 <i>Cebus</i> Erxleben, 1777	2 Family Cebidae 2.1 Subfamily Cebinae <i>Cebus</i>
1.3 Subfamily Aotinae <i>Aotus</i>	1.3 Subfamily Saimiriinae Miller, 1812 <i>Saimiri</i> Voigt, 1831	2.2 Subfamily Saimiriinae <i>Saimiri</i>
2 Family Pitheciidae	2 Family Aotidae Elliot, 1913 <i>Aotus</i> Illiger, 1811	3 Family Aotidae <i>Aotus</i>
2.1 Subfamily Pitheciinae <i>Pithecia, Chiropotes, Cacajao</i>	3 Family Pitheciidae Mivart, 1965 3.1 Subfamily Pitheciinae Mivart, 1965 <i>Pithecia</i> Desmarest, 1804 <i>Chiropotes</i> Lesson, 1840 <i>Cacajao</i> Lesson, 1840	4 Family Pitheciidae 4.1 Subfamily Pitheciinae <i>Pithecia, Chiropotes, Cacajao</i>
2.2 Subfamily Callicebinae <i>Callicebus</i>	3.2 Subfamily Callicebinae Pocock, 1925 <i>Callicebus</i> Thomas, 1903	4.2 Subfamily Callicebinae <i>Callicebus</i>
3 Family Atelidae	4 Family Atelidae Gray, 1825	5 Family Atelidae
3.1 Subfamily Alouattinae <i>Alouatta</i>	4.1 Subfamily Alouattinae Trouessart, 1897 <i>Alouatta</i> Lacepede, 1799	5.1 Subfamily Alouattinae <i>Alouatta</i>
3.2 Subfamily Atelinae <i>Ateles, Brachyteles, Lagothrix</i>	4.2 Subfamily Atelinae Gray, 1825 <i>Ateles</i> É. Geoffroy, 1806 <i>Brachyteles</i> Spix, 1823 <i>Lagothrix</i> É. Geoffroy, 1806 <i>Oreonax</i> Thomas, 1927	5.2 Subfamily Atelinae <i>Ateles, Brachyteles, Lagothrix, Oreonax</i>

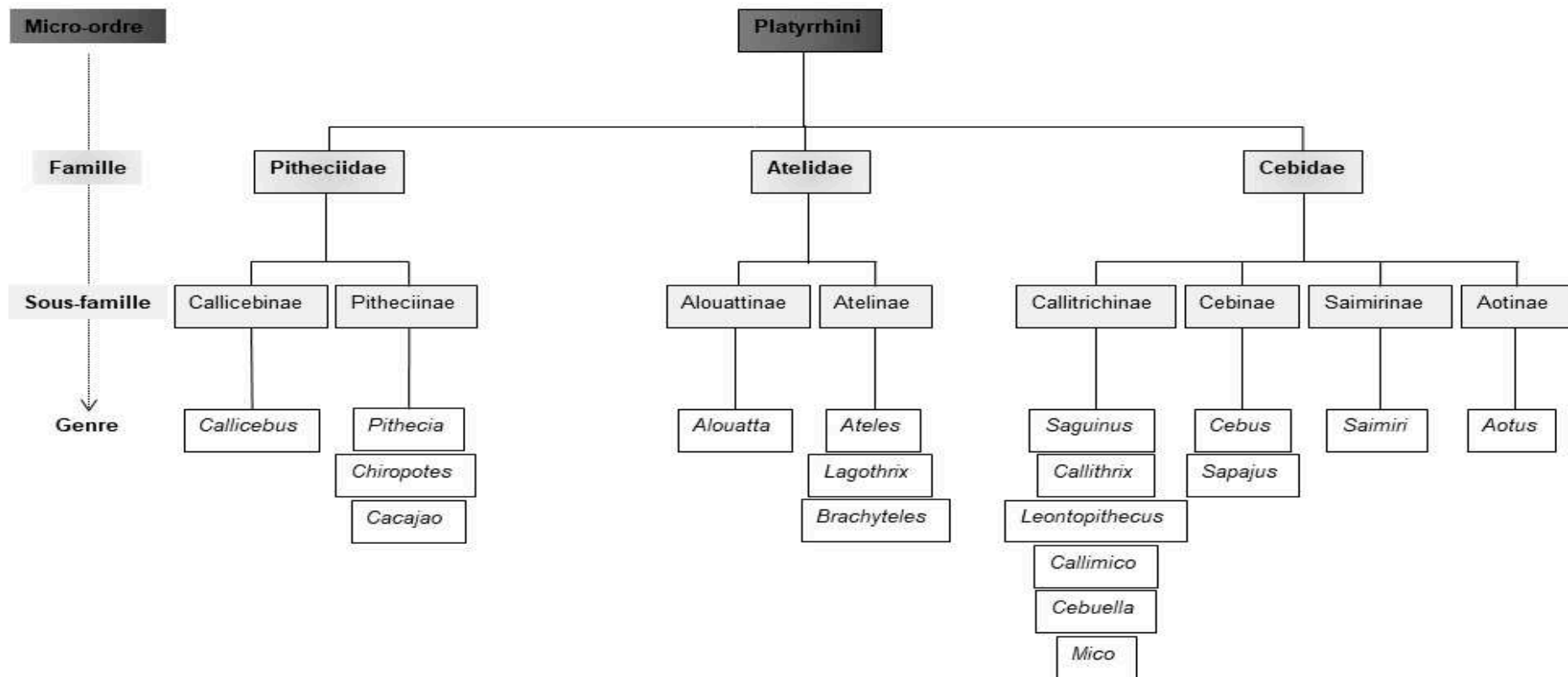


Figure 6: Représentation schématique du micro-ordre Platyrrhini. Adapté d'après (Voevodin and Marx, 2009b)

B. Herpèsvirus de primates

Les herpèsvirus de primates appartiennent tous à la famille des *Herpesviridae*. Ils se répartissent au sein des trois sous-familles *Alpha-*, *Beta-* et *Gamma-herpesvirinae*. Des homologues simiens de chacun des virus humains ont été identifiés à partir de la plupart des espèces de primates testées. On dénombre ainsi plusieurs dizaines de virus de primates non humains. Seule une petite partie est officiellement reconnue par l'ICTV (**Tableau 4**). Ceci est dû au fait que la plupart de ces virus ne sont que partiellement caractérisés et ne remplissent pas les critères de l'ICTV. En effet, alors qu'historiquement les premiers herpèsvirus de primates ont d'abord été mis en évidence par des approches sérologiques avant d'être observés en microscopie électronique, la disponibilité de nouvelles techniques moléculaires basées sur l'amplification génique (PCR), associée au développement de nouveaux outils informatiques, a abouti à l'explosion du nombre de séquences d'herpèsvirus identifiées. L'approche développée par l'équipe de Tim Rose, utilisant des amorces consensus dégénérées déterminées par le programme CODEHOP (pour *Consensus DEgenerate Hybrid Oligonucleotide Primer*) ciblant les gènes de l'ADN polymérase, de la Glycoprotéine B ou encore de la *Terminase*, a ainsi permis la caractérisation « fragmentaire » de dizaines de virus au cours des deux dernières décennies (Ehlers et al., 2003; Lacoste et al., 2010; Leendertz et al., 2009; Rose, 2005; Rose et al., 1997).

Tableau 4 : Herpèsvirus de primates selon l'ICTV MSL#33

		Dénomination officielle (ICTV)			Dénomintaion usuelle			
Famille	Sous-Famille	Genre	Nom	Acronyme	Nom	Acronyme	Hôte naturel	
Herpesviridae	Alphaherpesvirinae	Simplex virus						
			Ateline alphaherpesvirus 1	AtHV1	Spider monkey herpesvirus	HVA1	Singe araignée	
			Cercopithecine alphaherpesvirus 2	CeHV2	Simian agent 8	SA8	Singe vert	
			Human alphaherpesvirus 1	HHV1	Herpes simplex virus type 1	HSV1	Homme	
			Human alphaherpesvirus 2	HHV2	Herpes simplex virus type 2	HSV2	Homme	
			Macacine alphaherpesvirus 1	McHV1	Cercopithecine herpesvirus 1, herpesvirus simiae, B virus	BV	Macaque	
			Panine alphaherpesvirus 3	PnHV3	Chimpanzee alpha-1 herpesvirus	ChHV	Chimpanzé	
			Papiine alphaherpesvirus 2	PaHV2	Cercopithecine herpesvirus 16, Herpesvirus papio 2	HVP2	Babouin	
			Saimiriine alphaherpesvirus 1	SaHV1	Herpesvirus saimiri 1	HVS1	Singe écureuil	
			Varicellovirus					
		Cercopithecine alphaherpesvirus 9	CeHV9	Simian varicella virus, Liverpool vervet herpesvirus, Patas monkey herpesvirus, Medical Lake macaque herpesvirus	SVV	Vervet, Patas, Macaque		
		Human alphaherpesvirus 3	HHV3	Varicella-zoster virus	VZV	Homme		
	Betaherpesvirinae	Cytomegalovirus						
			Aotine betaherpesvirus 1	AoHV1	Owl Monkey Cytomegalovirus	OMCV	Douroucouli	
			Cebine betaherpesvirus 1	CbHV1	Capuchin monkey cytomegalovirus	CMCV	Capucin	
			Cercopithecine betaherpesvirus 5	CeHV5	African green monkey cytomegalovirus, Simian cytomegalovirus	AgmCMV	Singe vert	
			Human betaherpesvirus 5	HHV5	Human cytomegalovirus	HCMV	Homme	
			Macacine betaherpesvirus 3	McHV3	Cercopithecine herpesvirus 8, Rhesus monkey cytomegalovirus	RhCMV	Macaque	
			Papiine betaherpesvirus 3	PaHV3	Baboon cytomegalovirus	BaCMV	Babouin	
			Saimiriine betaherpesvirus 4	SaHV4	Squirrel monkey cytomegalovirus	SMCMV	Singe écureuil	
			Panine betaherpesvirus 2	PnHV2	Chimpanzee cytomegalovirus	ChCMV	Chimpanzé	
			Roseolovirus					
			Human betaherpesvirus 6A	HHV6A	Human herpesvirus 6A	HHV6A	Homme	
			Human betaherpesvirus 6B	HHV6B	Human herpesvirus 6B	HHV6B	Homme	
		Human betaherpesvirus 7	HHV7	Human herpesvirus 7	HHV7	Homme		
Gamma herpesvirinae	Lymphocryptovirus							
		Callithricine gammaherpesvirus 3	CalHV3	Marmoset lymphocryptovirus	CalHV3	Ouistiti		
		Cercopithecine gammaherpesvirus 14	CeHV14	African green monkey lymphocryptovirus	AgmLCV	Sing vert		
		Gorilline gammaherpesvirus 1	GoHV1	Pongine herpesvirus 3, Gorilla herpesvirus	GorLCV	Gorille		
		Human gammaherpesvirus 4	HHV4	Epstein-Barr virus	EBV	Homme		
		Macacine gammaherpesvirus 4	McHV4	Cercopithecine herpesvirus 15, Rhesus lymphocryptovirus	RhLCV	Macaque		
		Panine gammaherpesvirus 1	PnHV1	Pongine herpesvirus 1, Herpesvirus pan	PoHV1	Chimpanzé		
		Papiine gammaherpesvirus 1	PaHV1	Cercopithecine herpesvirus 12, Herpesvirus Papio, baboon herpesvirus	HVP	Babouin		
		Pongine gammaherpesvirus 2	PoHV2	Herpesvirus pongo, Orangutan herpesvirus	HV pongo	Orang outan		
		Rhadinovirus						
		Ateline gammaherpesvirus 2	AtHV2	Herpesvirus ateles strain 810	HVA2	Singe araignée		
		Ateline gammaherpesvirus 3	AtHV3	Herpesvirus ateles strain 73	HVA3	Singe araignée		
		Human gammaherpesvirus 8	HHV8	Human herpesvirus 8, Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus	HHV8, KSHV	Homme		
	Macacine gammaherpesvirus 5	McHV5	Cercopithecine herpesvirus 17, Rhesus radhinovirus	RRV	Macaque			
	Saimiriine gammaherpesvirus 2	SaHV2	Herpesvirus saimiri	HVS	Singe écureuil			

B.1. *Alphaherpesvirinae*

Le premier herpèsvirus de primate non humain (PNH) a été découvert en 1932 dans des circonstances tragiques. De fait, peu de temps après avoir été mordu à la main par un macaque rhésus (*Macaca mulatta*) apparemment sain, le docteur William Brebner mourut d'une encéphalomyélite aiguë (Gay and Holden, 1933). Le virus isolé de ce patient fut appelé « virus B » ou encore herpès B ou *Herpesvirus simiae*. Ces noms sont toujours d'utilisation courante. Le nom donné à ce virus par l'ICTV est *Macacine alphaherpesvirus 1* (McHV1). Possédant une structure presque identique à celle de HSV1 et HSV2, il a été classé dans le genre des *Simplexvirus*. À la fin des années 1950, plusieurs autres virus proches des herpès simplex humains et de l'herpès B ont été identifiés chez les singes de l'ancien et du nouveau monde ainsi que chez les grands singes (Holmes et al., 1964; Malherbe and Harwin, 1957). Aucun de ces derniers ne semble être dangereux pour l'homme. Huit virus de primates, en comptant les HSV1 et HSV2, sont actuellement reconnus par l'ICTV en tant qu'espèce virale appartenant au genre *Simplexvirus* (**Tableau 4**).

Au sein du genre *Varicellovirus*, l'homologue simien du VZV humain est le virus SVV pour Simian Varicella Virus. Selon la classification de l'ICTV, la dénomination officielle de ce virus est *Cercopithecine alphaherpesvirus 9* (CeHV9). Ce virus a été isolé en 1967 chez un singe vert africain (*Chlorocebus aethiops*) (Clarkson et al., 1967). D'autres isolats ont, par la suite, été décrits chez différentes espèces de macaques (*M. fascicularis*, *M. fuscata*, *M. mulatta*, *M. nemestrina*) ou chez le patas (*Erythrocebus patas*) (Blakely et al., 1973; McCarthy et al., 1968). Cependant, l'accumulation de données a montré que ces virus, initialement considérés comme des entités virales distinctes, étaient très proches voire identiques, avec un degré de variabilité correspondant à des isolats d'un même virus. L'hôte naturel du SVV n'est toujours pas connu.

B.2. *Betaherpesvirinae*

Le virus prototype des Cytomegalovirus est le virus humain HCMV ou HHV5. Son premier homologue simien a été identifié en 1957 chez un singe vert d'Afrique (Malherbe and Harwin, 1957). Puis, au début des années 1970, des études sérologiques ont montré que de nombreuses espèces de primates de l'ancien monde ainsi que certaines du nouveau monde devaient être infectées par des virus proches du HCMV (Minamishima et al., 1971; Swack et al., 1971). Par la suite, les cytomégalo virus du macaque rhésus, de différentes espèces de babouins (olive, jaune et chacma), drills, chimpanzés, singes verts, singes de nuit et singes écureuils ont été isolés (Black et al., 1963; Blewett et al., 2003, 2001; Daniel et al., 1973; Hansen et al., 2003; Rangan and Chaiban, 1980; Swanson et al., 1998; Wroblewska et al., 1979). Le génome de ces virus, à l'exception de ceux de babouins et de drills, ont été séquencés. D'autres CMV de grands singes (gorilles, bonobos, chimpanzés communs de différentes sous-espèces et orang outans) et de nombreux autres espèces de singes de l'ancien monde (différentes espèces de macaques et de babouins, de mandrills, colobes, ainsi que de cercocèbes et de cercopithèques) ont été identifiés par des approches de PCR et ne sont que partiellement caractérisés (Anoh et al., 2018; Leendertz et al., 2009; Murthy et al., 2013; Prepens et al., 2007; Seimon et al., 2015). Sept de ces virus, en plus du virus humain sont actuellement reconnus par l'ICTV (**Tableau 4**). D'autres sont en attente d'être reconnus en tant qu'espèce. À noter que deux types de virus distincts ont été identifiés chez les chimpanzés communs et les gorilles (Leendertz et al., 2009). Il est donc vraisemblable que la plupart des espèces de primates soient porteuses d'un virus de type CMV.

Les herpesvirus humains HHV6 et HHV7 ont été respectivement découvert en 1986 et 1990 (Frenkel et al., 1990; Salahuddin et al., 1986). Ces virus humains ont été, pendant près de 20 ans, les seuls représentant du genre *Roseolovirus*. De fait, alors que dès la fin des années 1980 une étude sérologique suggérait l'existence d'homologues de l'HHV6 chez un

certain nombre d'espèces de PNH (chimpanzés, gorilles, macaques, babouins, ...), ce n'est qu'en 2005 que les premières séquences virales proches de l'HHV6, issues de chimpanzés communs (*Pan troglodytes*), ont été publiées (Higashi et al., 1989; Lacoste et al., 2005). Par la suite, cette même équipe a partiellement caractérisé des séquences de *Glycoprotéine B* et d'*ADN polymérase* proches de l'HHV7 à partir de toutes les espèces de grands singes Africains testés : gorilles des plaines, bonobos et chimpanzés communs des quatre sous-espèces (Lavergne et al., 2014). Les seuls autres homologues simiens des HHV6 et HHV7 pour le moment caractérisés sont les virus MneHV6 et MneHV7 identifiés de macaques à queue de cochon des îles de la Sonde (*Macaca nemestrina*) du centre national de primatologie de l'état de Washington aux USA (Staheli et al., 2014). La séquence génomique complète du virus MneHV7 a ensuite été générée à partir de prélèvements de salive non cultivés d'un macaque infecté (Staheli et al., 2016). Le nombre d'homologues simiens des HHV6 et HHV7 est donc encore très restreint. Le champ des possibles est large au regard du nombre d'espèces à tester afin de trouver d'autres roseolovirus de PNH. Cependant, l'étude de la diversité de ces virus ne semble que peu susciter l'intérêt des équipes de recherche et des financeurs pour que ce genre viral s'étoffe rapidement de nouvelles découvertes.

B.3. Gammaherpesvirinae

Le virus d'Epstein-Barr, dont le réservoir est strictement humain, est le premier gammaherpèsvirus à avoir été identifié (Epstein et al., 1964). Dès le début des années 1970, l'infection naturelle par des virus proches de l'EBV, classés dans le genre *Lymphocryptovirus* ou *Gammal-herpesvirus*, a été mise en évidence par sérologie chez toutes les espèces de PNH de l'ancien monde étudiées (singés verts, babouins, macaques, chimpanzés communs, gorilles, orangs-outans, gibbons) (Kalter et al., 1973, 1972). Bien que connus de longue date, il a néanmoins fallu attendre la publication en 2003 d'une étude portant sur l'identification de nouveaux homologues simiens de l'EBV pour obtenir les premières séquences partielles de la

plupart de ces virus (Ehlers et al., 2003). Par ailleurs, l'absence de réactions sérologiques croisées chez les PNH du nouveau monde (Platyrrhiniens) avait amené certains auteurs à suggérer que les lymphocryptovirus présentaient un spectre d'hôtes uniquement restreint aux hommes et aux PNH de l'ancien monde. Cette théorie a cependant été remise en cause au début des années 2000 suite à l'identification de séquences proches de l'EBV, tout d'abord chez le ouistiti (CalHV3 pour Callitrichine gammaherpesvirus 3), puis chez d'autres espèces de PNH du nouveau monde (singe écureuil, atèle, singe hurleur, ...) (de Thoisy et al., 2003; Ehlers et al., 2010, 2003; Lavergne et al., 2011; Ramer et al., 2000). On dénombre aujourd'hui une cinquantaine de virus de PNH proches de l'EBV dont huit reconnus par l'ICTV.

L'herpèsvirus saïmiri (Saimiriine gammaherpesvirus 2, SaHV2, initialement connu sous la dénomination HVS) est le prototype des *Gamma2-herpesvirinae* ou *Rhadinovirus*. Ce virus a été originellement isolé du sang d'un singe écureuil (Melendez et al., 1968). Un autre rhadinovirus, très proche de l'HVS, l'herpèsvirus atèle (Ateline gammaherpesvirus 2, AtHV2, initialement HVA) a, lui, été isolé en 1972 chez des singes araignées (Melendez et al., 1972). Pendant plus de vingt ans, ces deux virus de PNH du nouveau monde ont été les seuls représentants du genre *Rhadinovirus* confortant l'hypothèse selon laquelle la diversification des PNH du nouveau et de l'ancien monde avait entraîné la diversification des *Gammaherpesvirinae* en deux genres : lymphocryptovirus infectant l'homme et les PNH de l'Ancien Monde et rhadinovirus restreints aux PNH du Nouveau Monde. La découverte de l'HHV8 en 1994 a non seulement permis de remettre en cause cette théorie, mais a aussi ouvert la voie à un large champ d'investigations portant sur l'identification d'homologues simiens du virus humain (Chang et al., 1994). Six virus proches de l'HHV8 ont ainsi été caractérisés chez les macaques de différentes espèces, deux chez les singes verts d'Afrique, deux chez les mandrills et drills, trois chez les chimpanzés communs, un chez le gorille des

plaines, un chez le babouin ainsi que un chez le gibbon (Damania and Desrosiers, 2001). Seuls cinq, dont l'HHV8, sont actuellement reconnus par l'ICTV. Ces études démontrent ainsi que la plupart sinon toutes les espèces de PNH peuvent être infectées par un gammaherpèsvirus.

Un dernier virus de primate, Saguinine gammaherpesvirus 1 (SgHV1), initialement dénommé Callithrichine herpesvirus 1, identifié chez le ouistiti commun (*Callithrix jacchus*), est reconnu en tant qu'espèce virale par l'ICTV comme appartenant à la sous famille des *Gammaherpesvirinae* mais n'a pas été assigné à un genre.

B.4. Propriétés génomiques des herpesvirus de PNH

La structure du génome des herpesvirus de PNHs est similaire pour tous ceux appartenant au même genre.

Alphaherpèsvirus

Le génome des simplexvirus de PNHs complètement séquencés possèdent le même nombre de gènes qui sont, de plus, colinéaires (Ohsawa et al., 2003; Perelygina et al., 2003; Tyler et al., 2005; Tyler and Severini, 2006). Il y a cependant une exception : bien que classé dans le genre *Simplexvirus*, la structure génomique de HVS1 infectant le singe saimiri est plus proche de celle des varicellovirus que des simplexvirus (Tyler et al., 2011, 2007). D'un point de vue homologie avec l'Homme, le génome de McHV1 est plus proche de celui de HSV2 en terme de taille, contenu en G+C et l'analyse de ce génome révèle que 72 ORFs de McHV1 partagent une homologie de séquence et une organisation génétique significatives avec les ORFs des HSV (Ohsawa et al., 2003; Perelygina et al., 2003).

Concernant les varicellovirus, la « macro » structure (séquences U, TR, IR et Rx) des génomes de SVV et VZV sont identiques (Voevodin and Marx, 2009a). Par ailleurs, ces deux

virus présentent une homologie de séquence ADN globale d'environ 70-75% (Gray et al., 2001; Mahalingam and Gray, 2007). Le génome de SVV code 71 ORFs uniques dont 68 présentent une homologie allant de 27.3% (ORF1) à 75.4% (ORF31, glycoprotéine B) avec leurs homologues du VZV (Gray et al., 2001; Mahalingam and Gray, 2007).

Betaherpèsvirus

Le génome des CMVs sont les plus grands parmi les herpèsvirus (215-230 kb) (Voevodin and Marx, 2009a). Leur organisation est similaire et consiste en deux sous unités uniques (U_L et U_S) flanquées de répétitions droites et gauches terminales et internes (TR_L/TR_S et IR_L/IR_S) (Barry and Chang, 2007). Le génome de RhCMV 68.1 par exemple, possède potentiellement 230 ORFs dont 138 homologues à celles de HCMV (Hansen et al., 2003). Même si une forte similarité génétique existe entre les différents isolats de RhCMV, certaines variations de séquence existent en raison d'une instabilité apparente et une mutation fréquente du génome viral lors du passage *in vitro*, fait similaire qu'on observe chez HCMV (Oxford et al., 2008; Rivailler et al., 2006).

Staheli et al. ont découvert qu'une espèce de macaque (*Macaca nemestrina*) est naturellement infectée par des homologues viraux de HHV6 et HHV7 nommés provisoirement et respectivement MneHV6 (pour *Macaca nemestrina herpesvirus 6*) et MneHV7 (pour *Macaca nemestrina herpesvirus 7*) (Staheli et al., 2014). Par la suite, cette même équipe a déterminé la séquence complète du génome de MneHV7 (segment unique flanqué de régions DR de 10 kb aux extrémités du génome) et a confirmé que le virus est génétiquement et biologiquement similaire à son homologue humain HHV7 (Staheli et al., 2016). En effet la comparaison des deux génomes a révélé que la structure génomique y compris l'emplacement et l'orientation de tous les ORFs sont identiques entre MneHV7 et son homologue humain et qu'il y a un fort taux de conservation nucléotidique de 64%. À noter

que l'ORF U55B uniquement présente dans les souches de HHV7 l'est également dans le génome de MneHV7 (Staheli et al., 2016).

Gammaherpèsvirus

Des lymphocryptovirus et des rhadinovirus similaires à l'EBV et à l'HHV8 respectivement ont été identifiés chez de nombreuses espèces de primates de l'Ancien et du Nouveau Monde (Damania and Desrosiers, 2001; Vincent Lacoste et al., 2000; V. Lacoste et al., 2000; Pedro Simas and Efstathiou, 1998). Autre que l'EBV, les génomes entiers de deux virus simiens ont été séquencés : LCV de macaques rhésus (*Macaca mulatta*) nommé McHV4 (GenBank Acc. No. AY037858) et LCV de marmoset commun (*Callithrix jacchus*) nommé CalHV3 (GenBank Acc. No. NC_004367) (Cho et al., 1999; Rivailler et al., 2002b, 2002a). La taille et la composition du génome de CalHV3 sont similaires à ceux de l'EBV et McHV4 (Rivailler et al., 2002a). Des gènes homologues à ceux de l'EBV et du McHV4 sont présents dans le génome de CalHV3 à l'exception de 14 d'entre eux (Lacoste et al., 2010; Rivailler et al., 2002a). Chez les macaques rhésus, deux lymphocryptovirus (type 1 et type 2) ont été identifiés et le génome complet du LCV de rhésus type 1 (RhLCV1) a été séquencé (Rivailler et al., 2002a, 2002b). L'homologie nucléotidique entre les génomes RhLCV1 et EBV est de 65% et leur organisation génétique semble être colinéaire (Estep et al., 2010). RhLCV1 code pour 80 ORFs qui partagent tous un certain niveau d'homologie avec celles de l'EBV (homologie moyenne étant de 75.6%) (Rivailler et al., 2002b).

Concernant les rhadinovirus, la macrostructure de leur génome est similaire et relativement simple comparé aux autres herpèsvirus : une seule longue région unique (LUR), contenant toutes les ORFs, encadrée par des répétitions terminales (TR). Toutes les ORFs sont situées dans la région LUR. Il existe environ 80 ORFs dans le génome de HVS et HVA et environ 80-90 ORFs dans le génome de RRV (Voevodin and Marx, 2009c). La LUR du virus HVS a été parmi les premiers génomes de rhadinovirus de primates à être séquencé (Albrecht

et al., 1992) et les ORFs identifiés dans ce génome ont été numérotés de manière consécutive de gauche à droite quel que soit le brin codant. Cette simple nomenclature a été par la suite reprise et les ORFs des génomes de HVA et RRV portent des noms identiques à leurs orthologues humains du HSV (Albrecht, 2000; Alexander et al., 2000; Searles et al., 1999). Les génomes de HVS et HVA sont presque complètement colinéaires. Comparé à ces derniers, le génome de RRV comporte plusieurs insertions désignées R1, R2, etc. (R pour *Rhesus monkey*) tout comme son homologue humain HHV8 (K1, K2, etc., K pour *Kaposi sarcoma*) (Russo et al., 1996; Searles et al., 1999) et la plupart des ORF K et R sont homologues.

B.5. Modes de transmission

Les herpèsvirus se transmettent généralement de façon horizontale à partir de porteurs sains. Ces virus sont excrétés par les fluides corporels, la salive semblant jouer un rôle majeur dans la transmission virale. Les réactivations intermittentes accompagnées d'excrétion sporadique de virus infectieux jouent un rôle important dans la capacité de ces virus à diffuser à d'autres hôtes tout en ayant un impact minime chez l'hôte infecté. La propagation virale dans les communautés simiennes varie donc d'un virus à l'autre. Elle dépend aussi des caractéristiques comportementales des espèces hôtes et, pour les animaux en captivité, des conditions de captivité. Si l'on prend l'exemple des lymphocryptovirus, les déterminants épidémiologiques de l'infection des PNH par un lymphocryptovirus sont proches de ceux de l'EBV chez l'homme (Wang *et al.* 2001). Les animaux nouveau-nés sont séropositifs du fait du passage des anticorps maternels de la mère au petit. Ils deviennent séronégatifs dans les quatre à six mois après la naissance, puis la plupart séro-convertissent à nouveau dans l'année, indiquant une forte prévalence de l'infection à LCV (Fujimoto & Honjo, 1991; Jenson *et al.* 2000). Les modes de transmission, la séroconversion de toute la colonie avant l'âge adulte, la réactivation du virus lors de stress ou d'immunosuppression ont bien été

décrits chez les babouins (Fujimoto & Honjo, 1991; Jenson *et al.* 2000). De plus, tout indique que la relation hôte/virus des PNH est similaire à celle de l'homme vis-à-vis de l'EBV. En effet, les PNH, comme l'homme, présentent une réponse anticorps tout au long de la vie.

Il est ainsi communément observé qu'à l'âge adulte la majorité des animaux, en particulier ceux en captivité, soient infectés par différents herpèsvirus. C'est la raison pour laquelle la prévalence des différents herpèsvirus au sein des différentes communautés de primates ne sera pas plus développée car la majorité des études traitant de ce sujet l'ont été à partir d'animaux en captivité pour lesquels les taux de prévalence variaient largement, allant de cinq à 100% selon les publications. Pour exemple, une étude de prévalence de CMVs réalisée chez des Drills (*Mandrillus leucophaeus*) nés en liberté et en captivité, révèle une prévalence d'anticorps réactifs pour DrCMV (pour *Drill cytomegalovirus*) de 93.2% chez les individus testés (Blewett et al., 2003), tandis qu'une autre étude effectuée chez des macaques en captivité montre une prévalence de MneHV6 et MneHV7 de 10% et 25% respectivement dans la salive des PNH testés (Staheli et al., 2014).

B.6. Pathogénicité

Un niveau élevé d'homologie génétique et physiologique avec l'homme a fait des PNHs un modèle animal essentiel pour la recherche biomédicale. Les PNHs ont été essentiels pour la compréhension de la pathogenèse virale, ainsi que pour le développement de vaccins et de traitements (Hu, 2005; Kummrow and Brüne, 2018; Sullivan et al., 2000; 't Hart et al., 2017). Dans le cas des herpèsvirus, la proximité génétique des virus de PNHs, leur prévalence, et la disponibilité d'outils cellulaires et moléculaires ont largement contribué à l'étude comparative de leurs mécanismes physiopathologiques. Cependant, l'infection par un herpèsvirus chez son hôte naturel semble inapparente et il n'est pas aisé d'étudier la pathogénicité des herpèsvirus

chez leurs hôtes *in natura*. C'est la raison pour laquelle il n'y a guère que pour les animaux en captivité que la pathogénicité de ces virus soit documentée.

Alphaherpèsvirus :

L'herpès B mérite un traitement particulier. De fait, il est à ce jour le seul herpèsvirus de PNH transmissible à l'homme chez lequel l'infection peut entraîner de graves méningoencéphalites et souvent la mort (Elmore & Eberle, 2008). Chez son hôte naturel (macaques de différentes espèces), la primo-infection à herpès B peut être associée à de simples conjonctivites ou infections oro-pharyngées, similaires à celles observées lors de la primo-infection par HSV1 chez l'homme, qui finissent par guérir et cicatriser (Huff and Barry, 2003). La plupart des macaques contaminés sont porteurs sains, mais certaines circonstances peuvent entraîner la réactivation du virus favorisant l'excrétion virale, et augmentent le risque de transmission. Tout comme l'HSV1, l'herpès B établit une infection latente dans les ganglions sensoriels (Huff and Barry, 2003). La transmission du virus à d'autres espèces de singes peut être fatale comme il a été observé chez les capucins (Coulibaly et al., 2004) ou encore dans une colonie de singes de Brazza (Thompson et al., 2000). Lorsque transmis à l'homme, il provoque une maladie du système nerveux central aiguë sévère dont le taux de mortalité chez les patients non traités se situe entre 70 et 80%. Heureusement, les cas de transmission de l'herpès B du singe à l'homme sont très rares et seule une cinquantaine de cas ont été rapportés à ce jour depuis le premier cas identifié en 1932 (Cohen et al., 2002). Or, il est impossible de prévoir l'évolution clinique d'une exposition à l'herpès B. Toute exposition non protégée à un macaque infecté par l'herpès B, en particulier à un macaque rhesus, présente donc le risque de contracter ce virus.

Concernant le SVV, la grande majorité de notre compréhension de sa pathogénèse est due à des études expérimentales impliquant son inoculation à de singes verts et à de macaques cynomolgus (Gray et al., 1998; Mahalingam et al., 2007). Chez ces animaux, la maladie se

caractérise par une fièvre et une éruption cutanée sur la face, l'abdomen et les extrémités (Gray et al., 1998). Les individus, dans les cas les plus graves, présentent des symptômes similaires à ceux observés au cours d'une infection par VZV chez l'homme (pneumonie, hépatite, éruption cutanée hémorragique) (Estep et al., 2010). Le SVV établit, comme le VZV, une infection latente dans les ganglions sensoriels des singes survivants (Mahalingam et al., 2007). En dépit des fortes similitudes génétiques et cliniques entre le SVV et le VZV, très peu de données démontrent la capacité du SVV à provoquer une maladie clinique chez l'homme. Néanmoins, les personnes travaillant avec le virus ou des animaux infectés doivent prendre les précautions nécessaires afin de se protéger d'une éventuelle transmission.

Betaherpèsvirus :

Le rhésus Cytomégalovirus, RhCMV, est un virus très prévalent chez son hôte naturel. La majorité des singes rhésus au sein de populations sauvages est infectée par le RhCMV et près de 100% des macaques rhésus des centres de primatologie sont positifs pour ce virus (Jones-Engel and Engel, 2006; Powers and Fröh, 2008). De manière similaire au CMV chez l'homme, l'infection par RhCMV chez des macaques en bonne santé est généralement asymptomatique, persiste à vie et s'accompagne d'une excrétion fréquente du virus dans la salive et l'urine (Asher et al., 1974; Huff et al., 2003). Des craintes ont été émises quant à la capacité des CMV de primates à infecter les êtres humains constituant ainsi une menace potentielle pour la santé humaine. Il a été montré que les CMV simiens y compris RhCMV pouvaient infecter des cellules humaines *in vitro* (Lilja and Shenk, 2008). Un cas d'infection apparemment due à une souche de CMV de singe vert d'Afrique chez un enfant atteint d'encéphalite a d'ailleurs été rapporté (Huang et al., 1978; Stagno et al., 1973). Il est néanmoins important de noter qu'il s'agit de cas isolés et, à ce jour, aucun lien définitif entre l'infection par un CMV de PNH et une maladie humaine n'a été confirmé.

Concernant les Roseolovirus, il a été montré que MneHV6 et MneHV7 infectent naturellement leur hôte *Macaca nemestrina* et présente une prévalence et un tropisme (glandes salivaires des individus infectés) identiques à HHV6 et HHV7 faisant de ces virus de parfaits modèles d'études pour leurs homologues humains (Staheli et al., 2016, 2014). Actuellement, aucune donnée au regard de la pathogénicité de ces virus ainsi que de ceux identifiés chez les grands singes d'Afrique n'est disponible.

Gammaherpèsvirus :

De manière similaire à l'EBV, certains lymphocryptovirus de PNH de l'ancien monde sont associés à des lymphomes B ou T qui peuvent être spontanés ou bien associés à une co-infection par un virus de type SIV (pour *Simian Immunodeficiency Virus*) (**Tableau 5**) (Longnecker et al., 2013; Marr-Belvin et al., 2008). Chez les PNH du nouveau monde, seul le virus CalHV3 semble être associé à des symptômes cliniques de type lymphomes spontanés à cellules B (Cho et al., 2001; Ramer et al., 2000). Au niveau des rhadinovirus, l'HVS ne provoque pas de symptôme chez son hôte naturel, le singe écureuil. L'infection par HVS peut cependant s'avérer pathogène chez d'autres espèces de singes. Lors d'infections expérimentales, ce virus a provoqué des lymphomes T aigus en moins de deux mois chez d'autres espèces de PNH du nouveau monde non naturellement infectées par ce virus, comme les tamarins, les ouistitis à toupet blanc ou encore les singes de nuit (Fleckenstein and Desrosiers, 1982). Comme l'HVS, l'herpèsvirus atèle, HVA, lui aussi non pathogène chez son hôte naturel, provoque expérimentalement des lymphomes T chez d'autres espèces de PNH du nouveau monde. Parmi les différents rhadinovirus identifiés chez des PNH de l'ancien monde, seuls les virus de macaques semblent être associés à des maladies. Ainsi, les virus RFHVMm et RFHVMn (pour Retroperitoneal Fibromatosis Herpesvirus from *Macaca mulatta* et *M. nemestrina*) sont associés, chez des animaux co-infectés par un rétrovirus de type D et ayant développé un SIDA, à une maladie proche d'un point de vue morphologique

et histologique du sarcome de Kaposi, la fibromatose rétropéritonéale (**Tableau 5**) (Bosch et al., 1999; Rose et al., 1997). Le virus RRV est, lui, associé, chez des macaques co-infectés par le SIV, à un désordre lymphoprolifératif proche de la maladie de Castleman multicentrique (Desrosiers et al., 1997). Enfin, le virus MfusRHV (pour *Macaca fuscata* Rhadinovirus) infectant les macaques japonais (*Macaca fuscata*) semble être associé à une maladie démyélinisante spontanée proche de la sclérose en plaque humaine (données non publiées, AY528864). Aucune pathologie clinique n'a été associée aux autres *gamma2-herpèsvirus* de PNH.

Tableau 5: Herpèsvirus de primates et maladies associées, majoritairement malignes. Adapté d’après (Lacoste, 2011). Seuls les acronymes des virus officiellement reconnus par l’ICTV sont notés (cf tableau 4).

	Abréviation	Nom commun	Acronyme officiel	Date de découverte	Hôte naturel	Maladies associées
Lymphocryptovirus	EBV	Epstein-Barr Virus	HHV4	1964	Homme	Lymphome de Burkitt, Mononucléose infectieuse Carcinome du nasopharynx, Leucoplasie orale Certains lymphomes non-Hodgkinien ou lymphomes à cellules T et NK Maladie de Hodgkin, Carcinome gastrique
	HVP	Herpesvirus papio	PaHV1	1974	Babouin (<i>Papio sp.</i>)	Lymphome B spontané
	HV pongo	Herpesvirus pongo	PoHV2	1977	Orang-outan (<i>Pongo sp.</i>)	Leucémie myélomonocytaire spontanée
	Cyno EBV	Cynomolgus EBV		1981	Macaque crabier (<i>Macaca fascicularis</i>)	Lymphome à cellules B chez les macaques infectés par le SIVsm
	RhLCV	Rhesus Lymphocryptovirus	McHV4	1986	Macaque rhésus (<i>Macaca mulatta</i>)	Lymphome à cellules B chez les macaques infectés par le SIVsm
	HV _{MA}	Macaca arctoides herpesvirus		1995	Macaque à face rouge (<i>Macaca arctoides</i>)	Lymphome à cellules B
	HV _{MNE}	Macaca nemestrina herpesvirus		1999	Macaque à queue de cochon (<i>Macaca nemestrina</i>)	Lymphome T cutané Mycosis fungoides
	CalHV3	Marmoset lymphocryptovirus	CalHV3	2000	Ouistiti à toupet blanc (<i>Callithrix jacchus</i>)	Lymphome B spontané
Rhadinovirus	HVS	Herpesvirus Saïmiri	SaHV2	1968	Singe écureuil (<i>Saimiri sciureus</i>)	Pas de maladie associée chez l'hôte naturel Lymphome à cellules T chez l'hôte non homologue infecté expérimentalement
	HVA	Herpesvirus Ateles	AtHV3	1972	Singe araignée (<i>Ateles spp.</i>)	Pas de maladie associée chez l'hôte naturel Lymphome à cellules T chez l'hôte non homologue infecté expérimentalement
	HHV8	Human herpesvirus 8	HHV8	1994	Homme	Sarcome de Kaposi Maladie de Castleman multicentrique Lymphome primitif des séreuses
	RFHVMm et RFHVMn	Retroperitoneal Fibromatosis associated Herpesvirus from Macaca mulatta and Macaca nemestrina		1997	Macaque rhésus et à queue de cochon (<i>Macaca mulatta</i> et <i>Macaca nemestrina</i>)	Fibromatose Rétropéritonéale affectant les macaques infectés par un rétrovirus de type D appelé Rétrovirus simien 2 (SRV-2) ayant
	RRV	Rhesus monkey Rhadinovirus	McHV5	1997	Macaque rhésus (<i>Macaca mulatta</i>)	Désordre lymphoprolifératif à cellules B hyperblastiques chez les macaques rhésus infectés par le SIV
	MfusRHV	Macaca fuscata Rhadinovirus		2005	Macaque japonais (<i>Macaca fuscata</i>)	Maladie démyélinisante spontanée (proche de la sclérose en plaque)

B.7. Relations évolutives

Toutes les analyses phylogénétiques des séquences nucléotidiques ou protéiques, par différentes approches, à partir des séquences de gènes uniques ou de gènes concaténés de virus de primates, supportent la phylogénie connue des herpesvirus en trois sous-familles *Alpha*, *Beta* et *Gamma*. Au sein de trois des quatre genres pour lesquels un nombre suffisant de virus de primates a été identifié (*Simplexvirus*, *Cytomegalovirus* et *Rhadinovirus*), trois groupes phylogénétiques majeurs se distinguent correspondant aux virus de grands singes, de singes de l'ancien monde et de singes du nouveau monde. Ces groupes phylogénétiques présentent ainsi un profil d'évolution similaire à celui des hôtes suggérant une co-évolution virus/hôte (McGeoch, 2001). Au niveau du genre *Roseolovirus*, les données sont rares avec seules des séquences de virus de grands singes et de macaques (de *Macaca nemestrina*) pour le moment identifiées. Cependant, les analyses phylogénétiques basées sur les segments de séquence disponibles sont compatibles avec une co-évolution de ces virus avec leurs hôtes. Concernant les *Lymphocryptovirus*, seuls deux sous-groupes moléculaires tiennent : les virus de PNH du nouveau monde forment un clade monophylétique qui s'oppose au clade des virus de PNH de l'ancien monde (de Thoisy et al., 2003; Ehlers et al., 2010). Bien que les relations évolutives des *Lymphocryptovirus* de PNH du nouveau monde semblent globalement cohérentes avec celles de leurs hôtes, la phylogénie des virus de PNH de l'ancien monde est plus complexe et ne semble pas suivre un modèle d'« évolution synchrone » entre virus et hôtes (Gerner et al., 2004). La différence de taille des branches, donc la distance évolutive, est plus courte au niveau des virus de primates de l'ancien monde que pour ceux du nouveau monde. De ce fait, l'analyse détaillée des regroupements au niveau de ce sous-groupe est moins bien résolue. Ceci suggère que les LCV de PNH de l'ancien monde auraient une vitesse évolutive plus lente que ceux du nouveau monde ou encore que, sur la base d'une vitesse évolutive constante et similaire entre les virus du nouveau et de l'ancien monde, les LCV du

nouveau monde seraient des virus plus « primitifs » que ceux de l'ancien monde (Fogg et al., 2005). Afin de pouvoir clarifier les relations évolutives de ces virus, des données de séquence plus importantes (autres espèces étudiées, autres gènes ...) semblent indispensables. Enfin, au sein du genre des *Rhadinovirus*, l'identification de virus distincts à partir de la plupart des espèces testées de PNH de l'ancien monde (macaques, singes verts, chimpanzés et mandrills) a abouti à la caractérisation de deux génogroupes distincts, RV1 et RV2 (pour *Rhadinovirus group 1* et 2), dont l'existence a été confirmée d'un point de vue phylogénétique.

III. Les Herpèsvirus de Chiroptères

A. Les Chiroptères

Les chauves-souris sont des animaux méconnus et globalement mal aimés (Hoffmaster et al., 2016). Au fil du temps et des civilisations, elles ont suscité crainte, méfiance et superstitions à l'origine de diverses croyances et légendes. Ainsi, dans la Rome Antique et dans la religion chrétienne, les chauves-souris sont associées à des démons. Cette vision négative est largement illustrée dans des œuvres littéraires, artistiques et cinématographiques (par exemple : « Le sommeil de la raison engendre des monstres » gravure de Goya, « le Récitatif sur la chauve-souris » du poète Cao Zhi où elles sont considérées comme des animaux rusés et néfastes). Le régime alimentaire des espèces hématophages a quant à lui donné naissance en Europe à la légende de Dracula de Bram Stoker en 1897 alors même que ce régime ne concerne que trois espèces de chauves-souris (*Desmodus rotundus*, *Diphylla ecaudata* et *Diaemus youngi*) qui plus est des Amériques (Centrale et du Sud) et Caribéennes (Arellano-Sota, 1988; Ito et al., 2016; Stoker, 1981). Toutefois, les Mayas et les Aztèques les considéraient, eux, comme des êtres protecteurs. En Chine, elles symbolisent la longévité, la chance et le bonheur (Kunz et al., 2011).

Les chauves-souris jouent pourtant un rôle primordial dans le maintien et la diversité des milieux naturels. De fait, de par leurs caractéristiques bio-écologiques, en particulier leur capacité à voler et la diversité de leurs régimes alimentaires, elles participent au bon fonctionnement des écosystèmes : les chauves-souris insectivores régulent les populations d'insectes en consommant des quantités innombrables, les nectarivores assurent la pollinisation de nombreuses plantes en dispersant le pollen et maintiennent ainsi la diversité génétique des plantes à fleurs et les chauves-souris frugivores aident au maintien de la diversité des forêts en disséminant des graines (Kunz et al., 2011). De plus, ces différentes

espèces redistribuent les nutriments *via* leur guano soutenant ainsi les écosystèmes terrestres, aquatiques et cavernicoles (Kunz et al., 2011). Elles représentent de bons indicateurs de l'état écologique des milieux naturels.

A.1. Bioécologie des chauves-souris

L'ordre des chiroptères est le deuxième ordre de mammifères en termes de diversité d'espèces (20 % des espèces de mammifères) après celui des rongeurs. Cet ordre regroupe près de 1300 espèces réparties en 21 familles et près de 200 genres (Fenton and Simmons, 2015a). Sur la base de caractéristiques morphologiques ainsi que de leur capacité d'écholocation, les chauves-souris ont initialement été réparties en deux groupes ou sous-ordres : (i) *Mégachiroptères* comprenant les chauves-souris de grande taille (40 cm – 2.20 m d'envergure) et de masse corporelle importante (15 – 1500 gr) ; et (ii) *Microchiroptères* regroupant les chauves-souris de plus petite taille (22 – 135 cm), de faible masse corporelle (2 – 160 gr) et capables d'écholocation. Depuis, les analyses phylogénétiques basées sur des données moléculaires les ont classées en deux sous-ordres : *Yinpterochiroptera* et *Yangochiroptera* (Teeling et al., 2005). Le sous-ordre *Yinpterochiroptera* comprend la famille des Pteropodidae non écholocalisantes et la superfamille des Rhinolophoidea écholocalisantes. Le sous-ordre *Yangochiroptera* est constitué des superfamilles des Emballonuroidea, Noctillionoidea et Vespertillionoidea qui utilisent toutes l'écholocation laryngée (Teeling et al., 2005). Au cours de ces deux dernières décennies, le nombre de familles de chauves-souris a également évolué et est passé de 18 à 21 avec la reconnaissance des familles Cistugidae, Miniopteridae et Rhinonycteridae (Armstrong et al., 2016; Sotero-Caio et al., 2017). En dépit de la réorganisation des sous-ordres et des familles de chiroptères, toutes les chauves-souris forment un groupe monophylétique bien supporté avec un ancêtre commun trouvant son origine il y a environ 62 millions d'années (Amador et al., 2018; dos Reis et al., 2014).

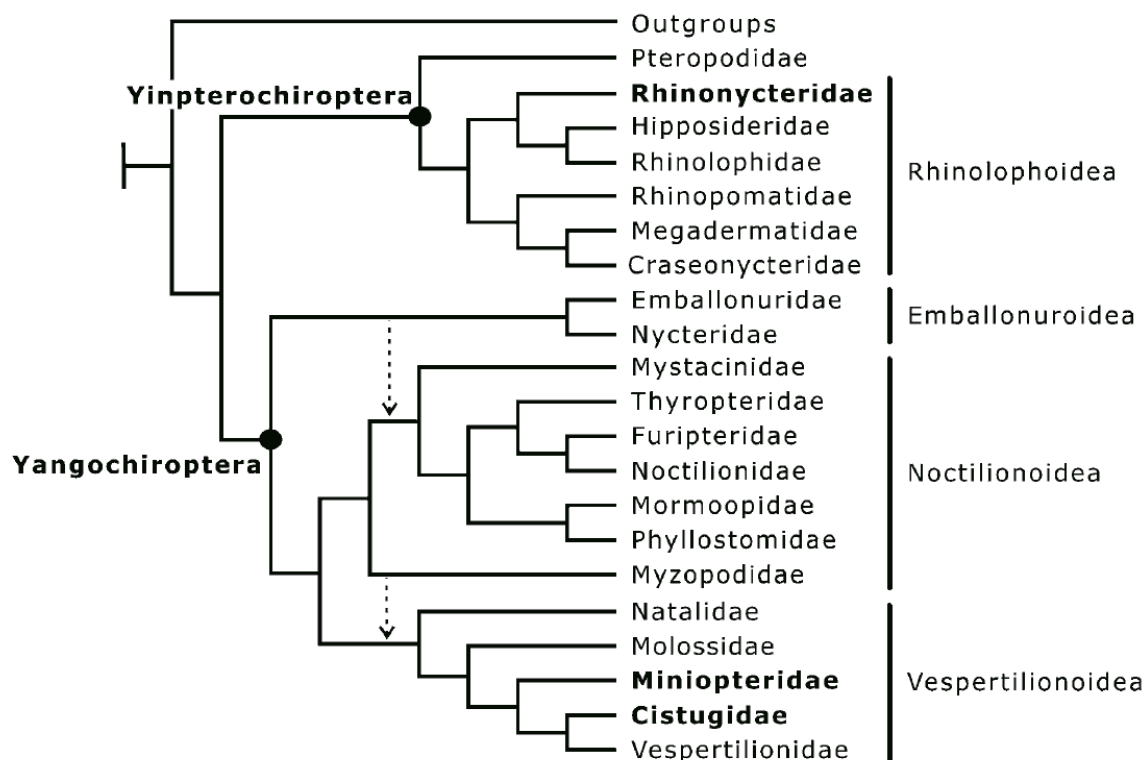


Figure 7 : Hypothèse actuelle des relations intraordinales chez les chiroptères (d'après Amador et al., 2018).

L'utilisation des termes microchiroptère et mégachiroptère étant toujours d'actualité, ils seront utilisés dans la suite du manuscrit.

A.1.1 Répartition géographique et régimes alimentaires

a. Répartition géographique

La plupart des espèces de chauves-souris vivent dans des régions tropicales et subtropicales (Fenton and Simmons, 2015b). À titre d'exemple, la Colombie compte environ 180 espèces de chauves-souris tandis que le Royaume-Uni en possède 16 (Fenton and Simmons, 2015b; Wickramasinghe et al., 2004). Il existe trois principaux centres de biodiversité : les forêts tropicales humides d'Amérique, du sud-est asiatique et la région des savanes d'Afrique équatoriale (Jones, 2006). La plus grande diversité d'espèces et de genres de chauves-souris se situe en Amazonie. Les îles tropicales possèdent, *a contrario*, une diversité de chauves-souris relativement faible. Il existe, par exemple, une seule espèce de

chauves-souris vivant à Hawaï et quatre aux Galápagos (Fenton and Simmons, 2015a). De même, les îles des grandes Antilles (Cuba, Hispaniola, Jamaïque, Porto Rico) ainsi que celles de l'archipel du Japon possèdent chacune une modeste faune d'environ 25 espèces de chauves-souris (Fenton and Simmons, 2015a). La distribution générale des familles de chauves-souris est résumée dans le **Tableau 6** et la **Figure 8**.

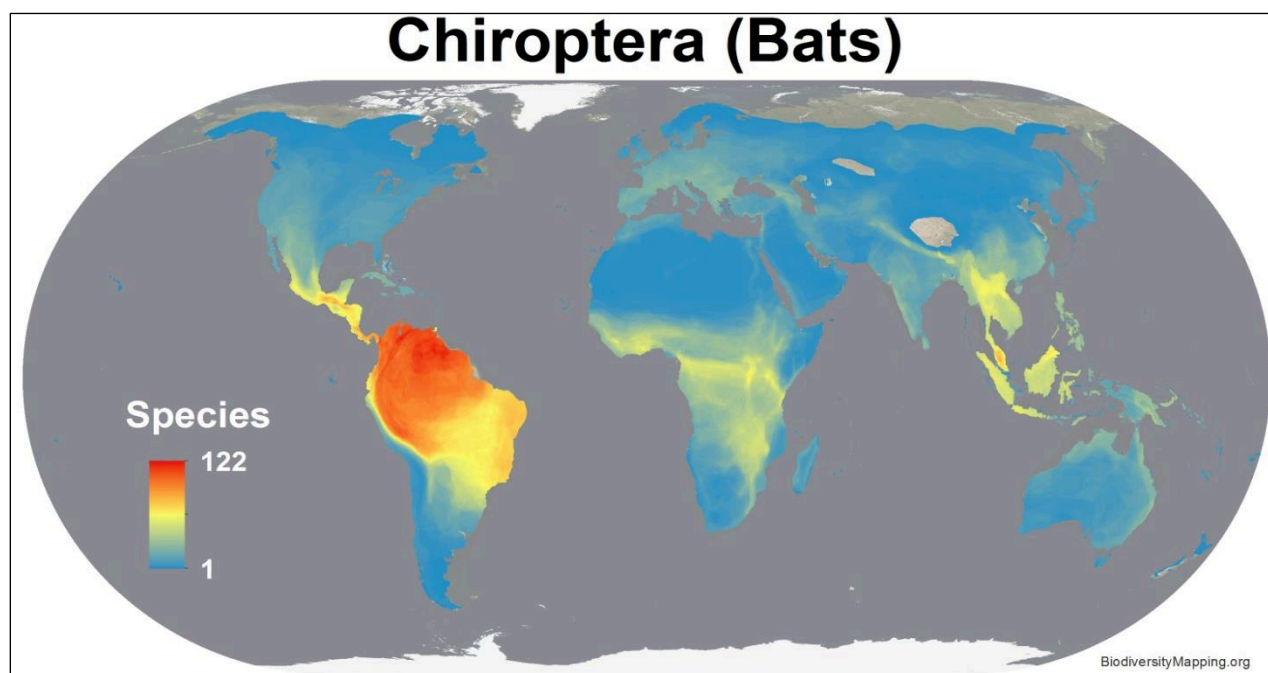


Figure 8 : Distribution spatiale et richesse spécifique des chiroptères dans le Monde. D'après les données de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature.
[\(https://biodiversitymapping.org/wordpress/index.php/mammals/\)](https://biodiversitymapping.org/wordpress/index.php/mammals/)

b. Régimes alimentaires

Comme nous l'avons évoqué précédemment, le régime alimentaire des chauves-souris est différent en fonction des espèces (**Tableau 6**). Une grande majorité est insectivore. D'autres sont carnivores (pouvant consommer des grenouilles, oiseaux voire même d'autres chauves-souris ...) ou piscivores. D'autres espèces encore sont frugivores, nectarivores ou pollinivores. Les chauves-souris vampires sont, elles, hémaphages pouvant, selon les espèces, consommer préférentiellement le sang des oiseaux ou celui d'autres mammifères à sang chaud.

Tableau 6: Diversité et distribution des chiroptères modernes. Adapté de (Fenton and Simmons, 2015b)

Nom vernaculaire anglais	Famille	Nb. d'espèces	Écholocation	Régime alimentaire	Distribution
Old World Fruit Bats	<i>Pteropodidae</i>	198	absent ou claquements de langue	fruits, fleurs, feuilles	Afrique, Asie, Australie, îles du Pacifique
Mouse-tailed Bats	<i>Rhinopomatidae</i>	6	laryngé	insectes	Afrique, Asie du Sud
Bumblebee Bats, Kitti's hog-nosed Bat	<i>Crasoncyteridae</i>	1	laryngé	insectes	Asie du Sud-Est
Horseshoe Bats	<i>Rhinolophidae</i>	93	laryngé	insectes	Eurasie, Afrique, Asie du Sud-Est, Australie
Old World Leaf-nosed Bats	<i>Hipposideridae</i>	9	laryngé	insectes	Afrique, Asie du Sud-Est, Australie
False Vampire Bats	<i>Megadermatidae</i>	5	laryngé	insectes, petits animaux	Afrique, Asie du Sud-Est, Australie
Slit-faced Bats, Hollow-faced Bats	<i>Nycteridae</i>	16	laryngé	insectes, petits animaux	Afrique, Asie du Sud-Est
Sheath-tailed Bats, Sac-winged Bats	<i>Emballonuridae</i>	54	laryngé	insectes	Pantropicale : Afrique, Asie du Sud, Australie, Amériques tropicales
New World Leaf-nosed Bats	<i>Phyllostomidae</i>	201	laryngé	fruits, fleurs, feuilles, insectes, petits animaux, sang	Amériques tropicales, îles des Caraïbes
Mustached Bats	<i>Mormoopidae</i>	10	laryngé	insectes	Amériques tropicales, îles des Caraïbes
Bulldog Bats, Fisherman Bats	<i>Noctilionidae</i>	2	laryngé	insectes, poissons	Amériques tropicales, îles des Caraïbes
Smoky Smoky Bats	<i>Furipteridae</i>	2	laryngé	insectes	Amériques tropicales
New World Disk-winged Bats	<i>Thyropteridae</i>	5	laryngé	insectes	Amériques tropicales
Old World Disk-winged Bats	<i>Myzopodidae</i>	2	laryngé	insectes	Madagascar
New Zealand Short-tailed Bats	<i>Mystacinidae</i>	2	laryngé	insectes, fruits, fleurs	Nouvelle Zélande
Funnel-eared Bats	<i>Natalidae</i>	12	laryngé	insectes	Amériques tropicales
Free-tailed Bats	<i>Molossidae</i>	113	laryngé	insectes	Eurasie, Afrique, Asie, Australie, Amériques
Bent-winged Bats, Long-winged Bats	<i>Miniopteridae</i>	29	laryngé	insectes	Eurasie, Afrique, Asie, Australie
Wing-gland Bats	<i>Cistugidae</i>	2	laryngé	insectes	Afrique du Sud
Vesper Bats	<i>Vespertilionidae</i>	451	laryngé	insectes, poissons	Mondiale, sauf l'Arctique et l'Antarctique

A.1.2 Caractéristiques biologiques et écophysiologiques

Le vol actif et l'écholocation sont les principales caractéristiques qui distinguent les chiroptères des autres mammifères (Fenton and Simmons, 2015b).

a. La capacité de vol

Les chiroptères sont capables de vol actif grâce à de nombreuses adaptations morphologiques et physiologiques mises en place au cours de l'évolution comme leurs membres antérieurs modifiés en ailes (*patagium*) et la forte vascularisation des ailes qui permet la régulation thermique lors du vol (Simmons et al., 2008). Du grec « chiro- » signifiant « main » et « ptera » signifiant « aile », l'aile des chiroptères possède un avant-bras, des métacarpiens et des phalanges allongées (Cooper and Sears, 2013). Cette morphologie, très différente de celle des oiseaux, leur permet de se déplacer sur des distances relativement longues. Dans les zones tropicales et subtropicales, les chiroptères sont majoritairement sédentaires. Néanmoins, dans les environnements aux fortes variations saisonnières, certaines espèces sont capables de migrer sur plus de 2 000 kms (Fleming et al., 2003). Les mégachiroptères peuvent quant à eux se déplacer sur des dizaines de kilomètres à la recherche de nourriture (Fleming et al., 2003; Weber et al., 2015).

b. L'écholocation

En 1794, le biologiste Lazzaro Spallanzani a été le premier à évoquer l'hypothèse de la « vision acoustique » des chauves-souris. En 1937, Donald Griffin réitère les expériences de Spallanzani et prouve que ces mammifères sont en effet aptes à se localiser en utilisant l'écho. Il appela ce phénomène l'écholocation : le pharynx produit des ultrasons que la trachée ou la feuille nasale de l'animal amplifie. En présence d'un obstacle ou d'une proie, les ondes sont réfléchies et réceptionnées par l'oreille interne des chiroptères (Pedersen and Müller, 2013). Cependant, tous les chiroptères ne sont pas capables d'écholocation. En effet, les

mégachiroptères auraient développé leur audition, vision nocturne et olfaction (Ollivier et al., 2004; Raghuram et al., 2009) en devenant frugivores ou nectarivores au détriment de l'écholocation qui servait initialement à repérer les insectes (Jones and Teeling, 2006). Dans d'autres cas, de nombreux *Pteropodidae* (*Eonycteris*, *Cynopterus* et *Macroglossus*) produisent des cliquetis avec leurs ailes dont les échos permettent de détecter et d'identifier des objets dans l'obscurité (Boonman et al., 2014).

c. Longévité et socialité de chiroptères

Selon la théorie du « rate of living », les organismes à métabolisme élevé ont une espérance de vie réduite (Pearl, 1928). En effet, lorsqu'un métabolisme est actif, il provoque un stress oxydatif conduisant au vieillissement prématuré des cellules. Cependant, cette théorie ne semble pas s'appliquer aux chauves-souris qui sont des espèces longévives (Wilkinson and South, 2002) (Fenton and Simmons, 2015b; Wilkinson and South, 2002). Ces mammifères ont une espérance de vie moyenne de 10 à 25 ans et certains individus peuvent vivre plus d'une trentaine d'année. Cette longévité est aussi due au fait que les chauves-souris ont peu de prédateurs.

Les systèmes sociaux des chauves-souris sont parmi les plus complexes et les plus diversifiés au sein des mammifères. L'état des connaissances actuelles est très insuffisant pour expliquer les variations observées (Perony et al., 2015). Bien que l'on observe quelques espèces solitaires, le caractère grégaire de la plupart entraîne le rassemblement d'un grand nombre de chauves-souris en un même gîte qui peut être mono-ou pluri-spécifique. Les gîtes fréquentés par les chauves-souris présentent également une grande variété, localisés en milieux naturels (grottes, abris sous-roche, troncs d'arbres, écorces ou divers feuillages) ou anthropisés (habitations, ponts, carbets, etc...). Le choix des gîtes et leur utilisation dépendent de leur diversité et de leur abondance, de la distribution et de l'abondance des ressources alimentaires mais également des dépenses énergétiques liées à la taille des chauves-souris et

aux caractéristiques environnementales (McCracken et al., 2006; Perony et al., 2015). La taille des colonies est aussi variable en fonction des espèces. Les plus grandes colonies peuvent compter plusieurs millions d'individus. La forte densité parfois observée et la cohabitation entre différentes espèces de chauves-souris dans les grands abris protégés tels que les grottes n'induisent pas forcément de modification dans la structure sociale de chacune des espèces (Fenton and Simmons, 2015b). Chez la plupart des espèces, les femelles effectuent l'élevage commun des progénitures dans des colonies appelées maternités tandis que les mâles, plus solitaires, forment des groupes entre eux ou vivent en harem (petits groupes composés d'un mâle et d'une dizaine de femelles) (Perony et al., 2015). Le système de reproduction est aussi variable en fonction des espèces. Des études ont mis en évidence une socialité maintenue toute l'année chez les chauves-souris tropicales tandis que chez les espèces de zones tempérées, la socialité se limite parfois à de courtes périodes au cours de l'année (Kunz and Lumsden, 2003; McCracken et al., 2006).

A.1.3 Les chiroptères de Guyane

Les forêts d'Amérique du Sud abritent la plus grande diversité de chauves-souris en nombre de familles, de genres et d'espèces (**Figure 8**) (Fenton and Simmons, 2015a). Les espèces guyanaises présentent, pour la plupart, une large répartition géographique épousant l'Amazonie et le plateau des Guyanes et s'étendent souvent des contreforts des Andes jusqu'à la forêt atlantique brésilienne (Catzeflis et al., 2013). La Guyane est sans doute l'une des régions tropicales où la faune de chiroptères est la mieux connue. La faune de Guyane compte environ 200 espèces de mammifères dont 107 appartiennent à l'ordre des chiroptères et au sous-ordre des *Yangochiroptera* (Catzeflis, 2017). Les 107 espèces de chauves-souris sont réparties en neuf familles (Emballonuridae, Phyllostomidae, Mormoopidae, Noctilionidae, Furipteridae, Thyropteridae, Natalidae, Molossidae et Vespertilionidae) et 55 genres dont 34

appartiennent à la famille des Phyllostomidae, soit plus de 60% des espèces (Catzeflis, 2017). La diversité des chiroptères, en particulier celle des Phyllostomidae, se reflète notamment par la diversité importante de leurs régimes alimentaires, systèmes sociaux, types de gîtes, zones de chasse, rythmes d'activités et de leurs stratégies de reproduction permettant de minimiser la compétition entre les espèces (Salmier, 2016).

A.2. Les chiroptères en tant que réservoirs de pathogènes

Les chauves-souris sont le réservoir de microorganismes, virus, bactéries, champignons et parasites, dont certains hautement infectieux et pathogènes (Brook and Dobson, 2015; Mühldorfer, 2013; Rodhain, 2015). Du fait de leur longévité, de leur capacité à occuper diverses niches écologiques ainsi que de leur capacité à voler, ces mammifères participent au maintien et à la transmission de pathogènes à l'origine de l'émergence de nouvelles maladies humaines et/ou animales (Brook and Dobson, 2015; Kuzmin et al., 2011; Mühldorfer, 2013). En effet, suite à la mise en évidence du rôle des chauves-souris dans les cycles épizootiques de la rage bovine en Amérique latine au début du 20^{ème} siècle, leur rôle en tant que réservoirs d'autres lyssavirus ainsi que de coronavirus (SARS-CoV and MERS-CoV pour *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus* et *Middle-East Respiratory Syndrome Coronavirus* respectivement), henipavirus (virus Nipah et Hendra), filovirus (Marburg, les, Ebola), etc..., d'importance en santé publique, a été confirmé (Amman et al., 2012; Carini, 1911; Field et al., 2001; Leroy et al., 2005; Li, 2005; Rahman et al., 2011). Ces virus sont associés à une transmission zoonotique, directe ou indirecte, aux populations humaines exposées. Or, les nombreuses modifications environnementales induites par l'homme au cours des dernières décennies ont « rapproché » des espèces animales qui n'avaient jusqu'alors que peu voire aucun contact entre elles. Ces changements sont de nature à rapprocher les populations de chauves-souris des habitats humains (occupation de caves, de greniers ou même de

clochers...) ou des élevages d'animaux et peuvent ainsi favoriser le franchissement de barrières d'espèces et l'émergence de zoonoses (Rodhain, 2015).

Les chiroptères suscitent donc un intérêt grandissant dans la communauté scientifique et la recherche de virus potentiellement zoonotiques est le sujet de nombreux programmes de recherche et de surveillance visant à caractériser leurs viromes (ainsi que d'autres agents infectieux) (Ge et al., 2012; Salmier et al., 2017; Wu et al., 2016). Le nombre de virus identifiés ne cesse de croître (Anthony et al., 2017; Brook and Dobson, 2015; Corman et al., 2014; Lau et al., 2005). À ce jour, plus de 80 virus ont été isolés et des centaines partiellement caractérisés, chez différentes espèces de chauves-souris, dont des membres des familles *Rhabdoviridae*, *Togaviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Flaviviridae*, *Bunyaviridae*, *Hepeviridae*, *Picornaviridae*, *Herpesviridae*, *Adenoviridae*, *Coronaviridae* et *Filoviridae* (Brook and Dobson, 2015; Calisher et al., 2008). La recherche de virus appartenant à la famille des *Herpesviridae* a bénéficié de ce type de recherche « viromique » à large spectre ainsi que de projets spécifiques dédiés. Tous ces virus n'ont pas un potentiel zoonotique et ne représentent d'ailleurs pas un problème majeur de santé publique. À ce titre, certains écologistes se sont inquiétés de l'impact négatif que pouvait avoir une telle production scientifique, réduisant les chauves-souris à des réservoirs de virus hautement pathogènes, sur la perception et l'attitude du grand public vis-à-vis de ces animaux (López-Baucells et al., 2018).

B. Herpèsvirus de chauves-souris

La recherche d'herpèsvirus chez les chauves-souris est relativement récente. Comme évoqué plus haut, elle a bénéficié de l'intérêt porté à ces mammifères au début des années 2000 du fait de leur rôle de réservoirs de virus potentiellement zoonotiques (Calisher et al., 2006; Kupferschmidt, 2013; Li, 2005; Smith and Wang, 2013; Wong et al., 2007; Zaki et al., 2012). La première description d'un herpèsvirus de chauves-souris est néanmoins antérieure, datant de 1996 (Tandler, 1996). Au cours d'une étude portant sur l'analyse par microscopie électronique de l'ultrastructure des glandes salivaires de chauves-souris, des cellules infectées par de nombreuses particules virales ont été observées chez deux animaux de l'espèce *Myotis lucifugus* (Tandler, 1996). Les caractéristiques morphologiques des particules virales, combinées à la cytomégalie des cellules, ont amené les auteurs à identifier ces particules comme étant de type CMV. D'autres virus, dénommés Agua Preta et Parixa, identifiés comme herpèsvirus sur la base d'analyses sérologiques ainsi que de leur effet cytopathogène en culture cellulaire avaient été isolés à partir d'individus de deux espèces frugivores, *Carollia subrufa* et *Lonchophylla thomasi* (famille Phyllostomidae), sud américaines (Calisher et al., 2006). D'autres isolats avaient, d'autre part, été obtenus à partir d'organes d'individus de l'espèce *Eidolon helvum* (famille Pteropodidae) au Cameroun ainsi que d'un individu d'une espèce non identifiée de République Centrafricaine (<http://www.pasteur.fr/recherche/banques/CROA>) (Razafindratsimandresy et al., 2009). Néanmoins, aucune séquence virale n'avait été générée afin de confirmer l'appartenance de chacun de ces virus à la famille *Herpesviridae*. Ce n'est qu'à partir de 2007 que les premières séquences d'herpèsvirus de chauves-souris ont été décrites (Wibbelt et al., 2007). Il s'en est suivi la description de dizaines de nouvelles séquences identifiées de différentes espèces de chauves-souris d'Afrique, d'Asie, d'Océanie, d'Europe et d'Amérique (**Figure 9**) (Dacheux et al., 2014; Donaldson et al., 2010; Escalera-Zamudio et al., 2015; Ge et al., 2012; Geldenhuys

et al., 2018; Hayman, 2016; Holz et al., 2018; Host and Damania, 2016; Jánoska et al., 2011; Molnár et al., 2008; Paige Brock et al., 2013; Razafindratsimandresy et al., 2009; Salmier et al., 2017; Sasaki et al., 2014; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018; Watanabe et al., 2010, 2009; Wibbelt et al., 2007; Wu et al., 2012; Zhang et al., 2012). Ces séquences ont été obtenues soit en ciblant spécifiquement cette famille virale par des approches moléculaires basées sur la PCR et le séquençage des produits obtenus soit par des approches de métagénomique (Ehlers et al., 1999; Mizutani et al., 2007; Rose, 2005; VanDevanter et al., 1996; Watanabe et al., 2008). Les études de métagénomique virale étaient pour la plupart dédiées à l'évaluation du virome des espèces de chauves-souris investiguées (Baker et al., 2013; Dacheux et al., 2014; Donaldson et al., 2010; Ge et al., 2012; Geldenhuys et al., 2018; Salmier et al., 2017; Wu et al., 2016, 2012). Elles ont permis de mettre en évidence de nombreuses séquences de virus connus ou nouveaux dont, pour partie, des séquences d'herpèsvirus. D'autres ont été menées afin de caractériser des séquences génomiques virales (Noguchi et al., 2018; Sasaki et al., 2014; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018; Zhang et al., 2012). Les séquences d'herpèsvirus ainsi obtenues correspondent à des séquences partielles ou complètes du gène de l'*ADN polymerase*, de la *glycoprotéine B*, de la *terminase* et plus rarement à d'autres gènes (capside, ...) ou encore à quelques séquences génomiques.

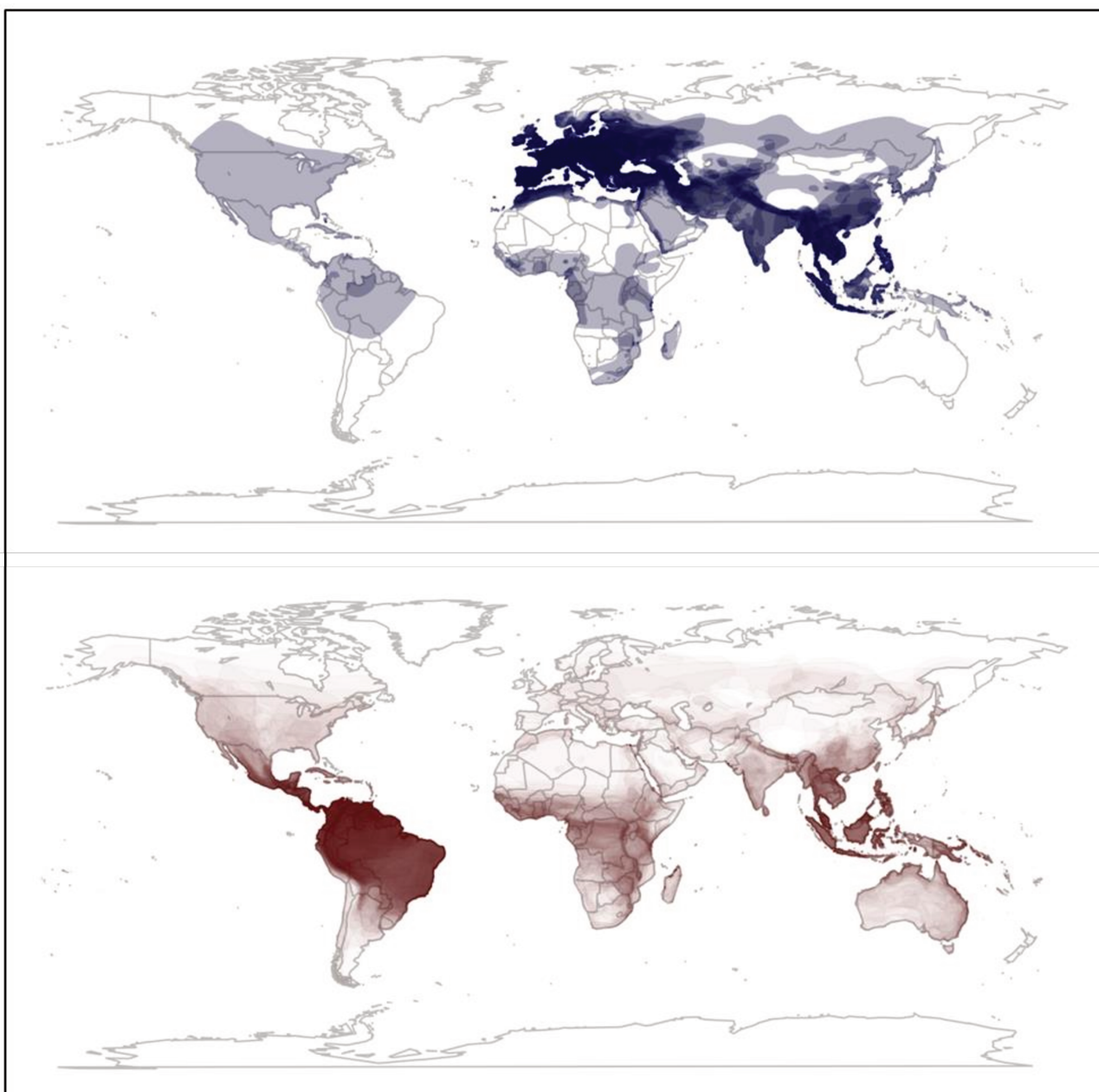


Figure 9 : Répartition des espèces de chauves-souris pour lesquelles un (des) herpèsvirus a (ont) été identifié(s) par des études virologiques d'après (Hayman, 2016). Les virus ont été identifiés *via* la base de données virale DBatVir (<http://www.mgc.ac.cn/DBatVir/>) et les distributions d'espèces *via* la base de données de l'UICN (<http://www.iucnredlist.org/>). En bleu est représentée la distribution des espèces de chauves-souris chez lesquelles un ou des herpèsvirus ont été identifiés. En marron, la distribution des espèces de chauves-souris non encore identifiées comme hôtes d'herpèsvirus.

B.1. DBatVir

La base de données DBatVir (<http://www.mgc.ac.cn/cgi-bin/DBatVir/main.cgi>) recense les séquences virales issues de la littérature et d'enregistrements publiés dans les bases de données du *National Center for Biotechnology Information* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) identifiées à partir de chauves-souris (Chen et al., 2014). Y sont exclues les séquences de virus de phages, d'insectes et de plantes. Au-delà des données virologiques, DBatVir intègre aussi les données écologiques et épidémiologiques des espèces de chauves-souris à partir desquelles les séquences virales ont été identifiées. La dernière mise à jour disponible au moment de l'écriture de ce paragraphe datait du mois de Janvier 2019. Cependant, certaines de dernières séquences d'herpèsvirus publiées en 2018 n'y étaient pas incluses (; Holz et al., 2018; Noguchi et al., 2018; Wada et al., 2018; Wray et al., 2016). Par ailleurs, le recensement des séquences et leur classification au sein des différentes sous-familles et genres se basant sur l'enregistrement dans la base de données GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), certaines séquences y sont répertoriées comme « *unclassified herpesvirus* » bien qu'elles aient été décrites par les auteurs comme appartenant à l'une ou l'autre des sous-familles voire à l'un ou l'autre des genres (Anthony et al., 2013a; Baker et al., 2013; Zheng et al., 2016). La description faite dans les paragraphes suivants sur la distribution des différents herpèsvirus de chauves-souris au sein des différentes sous-familles/genres est basée sur DBatVir tout en prenant en compte ces différents éléments.

Ainsi, en Janvier 2019, 9 842 séquences de virus d'animaux appartenant à 28 familles virales et détectées de 282 espèces de chauves-souris étaient répertoriées. Ces séquences ont été mises en évidence à partir de prélèvements sanguins, oraux, d'urine ou de fèces, ou encore d'organes (reins, foie, rate, poumons, cœur, cerveau) de chauves-souris des cinq continents aussi bien insectivores, frugivores, nectarivores, omnivores, qu'hématophages. Les trois-quarts de ces séquences virales (7 361) ont été identifiés d'espèces de chauves-souris

appartenant au sous-ordre des Microchiroptères. La grande majorité, 8 708 / 9 842 (88.5%), correspond à des séquences de virus à ARN.

B.2. Séquences d'herpèsvirus dans DBatVir

Mille cent douze séquences sont issues de virus à ADN (simple et double brins) dont 232 appartiennent à la famille des *Herpesviridae*. Ces dernières se répartissent au sein des trois sous-familles mais plus de la moitié (144 séquences) est non classée. Les séquences d'herpèsvirus ont été identifiées à partir de 53 espèces de chauves-souris de sept familles distinctes (*Vespertilionidae*, *Miniopteridae*, *Molossidae*, *Phyllostomidae*, *Rhinolophidae*, *Hipposideridae* et *Pteropodidae*). Ces séquences ont été mises en évidence à partir de prélèvements de fèces ou oraux et, dans une moindre mesure, d'échantillons tissulaires, d'urine, de sang ou de cultures cellulaires. Les espèces de chauves-souris à partir desquelles les séquences d'herpèsvirus ont été identifiées provenaient d'Asie (Chine, Bangladesh, Japon, Philippines, Cambodge, Indonésie, Malaisie), d'Afrique (Afrique du Sud, Ghana, Cameroun, République Centrafricaine, Kenya et Madagascar), d'Europe (Espagne, Allemagne et Hongrie), d'Océanie (Australie) et d'Amérique (USA, Canada, Mexique, Guatemala, Guyane et Brésil). Sur les 232 séquences répertoriées, seules huit ont été identifiées d'espèces de chauves-souris du Nouveau Monde (six d'Amérique du Nord et Centrale et deux Sud-américaine). Ces huit séquences ont été identifiées à partir de six espèces de chauves-souris au régime alimentaire insectivore (pour trois espèces), hémaphage (deux espèces) et nectarivore (une espèce).

B.3. *Alphaherpesvirinae*

Seize séquences virales appartenant à la sous-famille *Alphaherpesvirinae* sont disponibles dans les bases de données. Toutes appartiennent au genre *Simplexvirus*. Quatorze séquences ont été identifiées de quatre espèces de chauves-souris appartenant toutes, sauf une,

à la famille Pteropodidae et présentant toutes un régime alimentaire frugivore (Razafindratsimandresy et al., 2009). La seule exception correspond à la séquence virale identifiée d'une chauve-souris de l'espèce *Lonchophylla thomasi* appartenant à la famille Phyllostomidae au régime alimentaire nectarivore prélevée au Brésil. Les autres chauves-souris ont été prélevées en Afrique (Cameroun et Madagascar) et en Asie (Cambodge). Les deux dernières séquences ont été obtenues à partir de chauve-souris de République Centrafricaine et d'Indonésie (du genre *Pteropus*) pour lesquelles l'espèce n'a pas été identifiée. La plupart de ces séquences virales ont été obtenues à partir de prélèvements oraux et correspondent à des séquences partielles de l'*ADN polymérase* (Razafindratsimandresy et al., 2009). Des séquences identiques ont été obtenues à partir des différents individus des espèces *Eidolon dupreanum* et *Eidolon helvum*. Elles ont été décrites comme appartenant à la même entité virale (Razafindratsimandresy et al., 2009). La dernière séquence d'alphaherpèsvirus correspond au virus dénommé Fruit bat alphaherpèsvirus 1, isolé d'un prélèvement de tissu de rein d'une chauve-souris du genre *Pteropus*, dont la séquence génomique complète a été générée par une approche de séquençage de nouvelle génération (Sasaki et al., 2014). Au total, les 16 séquences d'alphaherpèsvirus identifiées correspondent à cinq espèces virales distinctes.

Le traitement d'échantillons de chauves-souris de l'espèce *Eidolon helvum* (Pteropodidae), prélevées au Ghana, par métagénomique a permis d'identifier d'autres séquences d'herpèsvirus (Baker et al., 2013). Parmi celles-ci deux contigs correspondaient à des séquences d'alphaherpèsvirus. Néanmoins, ces séquences n'ayant pas été soumises dans les bases de données biologiques, elles ne sont pas répertoriées dans DBatVir.

B.4. *Betaherpesvirinae*

Trente-neuf séquences d'herpèsvirus de chauves-souris appartiennent à la sous-famille *Betaherpesvirinae*. Vingt-sept ont été classées dans le genre *Cytomegalovirus*, les douze autres sont non classées. Elles ont été identifiées de 26 espèces de chauves-souris réparties au sein de cinq familles (*Vespertilionidae*, *Miniopteridae*, *Molossidae*, *Pteropodidae*, *Rhinolophidae*) et de 10 genres (Donaldson et al., 2010; Jánoska et al., 2011; Pozo et al., 2016; Watanabe et al., 2010; Wibbelt et al., 2007; Zhang et al., 2012). Toutes les espèces à partir desquelles ces séquences ont été identifiées sont insectivores à l'exception d'une frugivore (*Rousettus aegyptiacus*). La majeure partie a été échantillonnée en Espagne (22/26 espèces). La plupart des séquences générées correspond à des séquences de l'ADN polymérase et/ou de la terminase identifiées à partir de prélèvements oraux (Pozo et al., 2016).

Une séquence génomique d'un betaherpèsvirus dénommé MsHV pour *Miniopterus schreibersii* Herpesvirus, a été obtenue par séquençage haut-débit (Zhang et al., 2012). De même, la séquence dénommée Cytomegalovirus *Eptesicus fuscus*/IT/USA/2009 (accession # HQ585116), correspondant à une séquence partielle du gène de la capsid virale, a également été générée par une approche de métagénomique (Donaldson et al., 2010). D'autres séquences, identifiées d'autres espèces de chauves-souris (*Eidolon helvum*, *Rhinolophus ferrumequinum*, *Tylonycteris robustula*, *Pteropus giganteus*, *Cynopterus sphinx*, *Eonycteris spelaea*), ont aussi été décrites par les auteurs comme étant des séquences de betaherpèsvirus (Anthony et al., 2013b; Baker et al., 2013; Wu et al., 2012; Zheng et al., 2016). Néanmoins, ces séquences, ont été répertoriées dans GenBank en tant qu'« unclassified *Herpesviridae* ».

Si l'on considère l'ensemble de ces séquences, cela porte à 53 le nombre de séquences de betaherpèsvirus de chauves-souris disponibles dans les bases de données. S'y ajoutent

celles récemment décrites, au nombre de neuf, identifiées à partir d'individus de *Pteropus* sp. d'Indonésie et de deux sous-espèces de *Miniopterus orianae* (*M. orianae bassanii* et *M. orianae oceanensis*) d'Australie non encore répertoriées (Holz et al., 2018; Wada et al., 2018). Enfin, une dernière séquence de betaherpèsvirus, détectée par PCR chez des individus de l'espèce *Desmodus rotundus* au Guatemala, a été décrite par Wray et al. (Wray et al., 2016). Cependant, cette séquence, dénommée DrHV-2, ne semble pas avoir été relâchée dans les bases de données. Enfin, à l'exception des séquences de betaherpèsvirus (Egyptian fruit bat betaherpesvirus ainsi que *Rousettus aegyptiacus* betaherpesvirus 1 et 2) identifiées de rousettes d'Égypte (*Rousettus aegyptiacus*) en captivité aux zoos de Budapest et de Cadix, toutes les autres séquences de betaherpèsvirus de chauves-souris ont été identifiées à partir d'animaux capturés dans la nature (Jánoska et al., 2011; Pozo et al., 2016).

B.5. *Gammaherpesvirinae*

Trente-trois séquences d'herpèsvirus ont été classées dans la sous famille *Gammaherpesvirinae*. Onze appartiennent au genre *Rhadinovirus*, les 22 autres correspondent à des gammaherpèsvirus non classés. Elles ont été majoritairement identifiées de prélèvements de tissus ou oraux à partir de 24 espèces de chauves-souris appartenant à cinq familles (Vespertilionidae, Miniopteridae, Molossidae, Phyllostomidae et Pteropodidae). Les chauves-souris à partir desquelles ces séquences ont été identifiées ont été capturées pour la plupart en Europe (Allemagne, Espagne, Hongrie) (Jánoska et al., 2011; Molnár et al., 2008; Pozo et al., 2016; Wibbelt et al., 2007). Les autres espèces proviennent des Amériques (Canada, USA, Mexique, Guyane), d'Afrique (Afrique du Sud) et d'Asie (Chine) (Escalera-Zamudio et al., 2015; Geldenhuys et al., 2018; Salmier et al., 2017; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018). Les séquences obtenues correspondent à des séquences des gènes de la *Glycoprotéines B*, de l'*ADN polymérase* ou de la *terminase*. Par ailleurs, deux séquences génomiques de

gammaherpèsvirus ont été identifiées des espèces *Eptesicus fuscus* et *Myotis velifer* au Canada et aux Etats-Unis, respectivement (Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018).

Les onze séquences classées dans le genre *Rhadinovirus* ont toutes été identifiées d'espèces de chauves-souris insectivores originaires d'Europe appartenant aux familles Vespertilionidae et Miniopteridae (Jánoska et al., 2011; Molnár et al., 2008; Pozo et al., 2016; Wibbelt et al., 2007). Les autres séquences, correspondant à des gammaherpèsvirus non classés, sont issues de 18 espèces de chauves-souris toutes insectivores à l'exception de *Rousettus aegyptiacus*, frugivore, et des deux espèces hématophages, *D. rotundus* et *Diphylla ecaudata*. Comme évoqué précédemment dans la partie sur les *Betaherpesvirinae*, les deux séquences identifiées de la roussette égyptienne (*R. aegyptiacus*) l'ont été à partir d'animaux en captivité alors que toutes les autres séquences ont été identifiées à partir d'animaux sauvages (Jánoska et al., 2011; Pozo et al., 2016).

Un nombre important de séquences, 90 au total, décrites comme étant des séquences de gammaherpèsvirus par leurs auteurs, sont référencées comme « unclassified » herpèsvirus (Baker et al., 2013; Zheng et al., 2016). Cependant, ces 90 séquences virales ne correspondent pas à des espèces virales distinctes. De fait, 78 d'entre elles ont été identifiées à partir de prélèvements de fèces de seulement six espèces de chauves-souris : *Scotophilus kuhlii*, *Rhinolophus blythi*, *Miniopterus schreibersii*, *Hipposideros pomona*, *H. larvatus* et *Cynopterus sphinx* (Zheng et al., 2016). Nombre des séquences issues de différents individus d'une espèce de chauve-souris correspondent en fait à des souches ou des variants de la même espèce virale.

D'autres séquences de gammaherpèsvirus, de description récente, n'ont pas encore été enregistrées dans DBatVir ni même, pour certaines, de manière surprenante, soumises à GenBank (Holz et al., 2018; Noguchi et al., 2018; Sasaki et al., 2014; Wada et al., 2018; Wray

et al., 2016). Finalement, la dernière séquence de gammaherpèsvirus non encore répertoriée dans DBatVir, dénommé *Rhinolophus gammaherpesvirus 1*, a été caractérisée à partir d'un individu de l'espèce *Rhinolophus ferrumequinum* au Japon (Noguchi et al., 2018). Cette séquence, générée par une approche de séquençage haut débit correspond à la troisième séquence génomique de gammaherpèsvirus de chauve-souris actuellement disponible.

B.6. Herpèsvirus non classés

Cent-quarante-quatre séquences d'herpèsvirus de chauves-souris sont donc répertoriées dans GenBank et DBatVir en tant qu'herpèsvirus non classés. Ces séquences sont majoritaires au sein de la famille (144/232 séquences). Elles ont été identifiées de seize espèces de chauves-souris insectivores (dix espèces), frugivores (cinq espèces) et nectarivore (une espèce) qui appartiennent aux familles Pteropodidae (six espèces), Rhinolophidae (trois espèces), Hipposideridae (trois espèces), Vespertilionidae (deux espèces) et Miniopteridae (deux espèces). Ces séquences virales sont majoritairement issues d'espèces de chauves-souris d'Asie (Chine, Bangladesh, Philippines, Malaisie et Japon) et pour quelques autres d'Afrique (Ghana et Kenya). Elles correspondent à des séquences de l'*ADN polymérase* et de la *Glycoprotéine B* et ont été obtenues à partir de prélèvements de fèces, de salive, d'urine et de tissus. Ainsi donc, hormis les 14 séquences de betaherpèsvirus répertoriées comme non classées, les autres séquences non classées ont été décrites comme appartenant à la sous-famille des *Gammaherpesvirinae* (Anthony et al., 2013a; Sano et al., 2015; Watanabe et al., 2009; Wu et al., 2012; Zheng et al., 2016).

B.7. Séquences génomiques

Actuellement, cinq séquences génomiques d'herpèsvirus de chauves-souris sont décrites dans la littérature : un alpha, un beta et trois gamma (Noguchi et al., 2018; Sasaki et al., 2014; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018; Zhang et al., 2012). A l'exception de l'alpha-

herpèsvirus FBAHV1, pour *fruit bat alphaherpesvirus 1*, isolé d'une chauve *Pteropus* sp. dont l'espèce n'a pas été identifiée, les autres virus dont les génomes ont été caractérisés ont été découverts de façon fortuite (Sasaki et al., 2014). De fait, les virus MsHV (pour *Miniopterus schreibersii* herpesvirus) ainsi qu'EfHV (pour *Eptesicus fuscus* herpesvirus) et RGHV-1 (pour *Rhinolophus gammaherpesvirus 1*) ont été mis en évidence lors de l'établissement de lignées cellulaires du fait de leur effet cytopathogène en cultures primaires (Noguchi et al., 2018; Subudhi et al., 2018; Zhang et al., 2012). Le virus BGHV8 (pour *bat gammaherpesvirus 8*) a, quant à lui, été découvert en étudiant des cellules tumorales d'une chauve-souris adulte de l'espèce *Myotis velifer incautus* trouvée dans une grotte au Texas (Shabman et al., 2016). Analysant le profil transcriptomique de la lignée cellulaire établie à partir de la tumeur, Shabman *et al.* ont remarqué que de nombreuses séquences correspondaient à des séquences d'herpèsvirus (Shabman et al., 2016). Des recherches plus approfondies ont montré qu'il s'agissait d'un nouvel herpèsvirus. Les virus EfHV et BGHV8 appartiennent au genre *Rhadinovirus* alors que RGHV-1 appartient au genre *Percavirus*. Le génome de ces virus a une taille allant de 129 563 paires de base (pb) (exception faite d'une région répétée non résolue) pour BGHV8 à 222 870 bp pour le betaherpèsvirus MsHV avec un contenu en GC allant de 51.9% (MsHV) à 61% (FBAHV1). Ils présentent tous une organisation génomique colinéaire à celle des virus appartenant à la même sous-famille. L'annotation de ces génomes, menée à l'aide de différents programmes en fonction des études, a permis d'identifier 67 phases de lecture ouvertes pour FBAHV1, 190 pour MsHV ainsi que 75, 77 et 84 pour les virus EfHV, BGHV8 et RGHV-1, respectivement. La plupart des gènes identifiés sont communs à l'ensemble des herpèsvirus (les fameux « core genes »). Certains présentent d'ailleurs une forte identité de séquence (>80%) avec leurs homologues fonctionnels (Sasaki et al., 2014). D'autres sont spécifiques à la sous-famille ou au genre viral. D'autres enfin, en nombre variable, de fonction connue ou inconnue, sont spécifiques de

l'espèce virale (Noguchi et al., 2018; Sasaki et al., 2014; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018; Zhang et al., 2012).

B.8. Pathogénicité

La recherche de virus chez les chauves-souris s'est principalement limitée à l'identification d'agents pathogènes, de manière spécifique ou non, qui présentent une menace potentielle pour la santé humaine et/ou animale. L'impact de ces agents infectieux sur ces animaux et leur importance sur leur mortalité sont donc largement méconnus et ont été négligés dans la plupart des études publiées (Duignan et al., 2003; Wibbelt et al., 2010). Ceci est d'autant plus vrai pour les herpèsvirus dont la recherche a bénéficié de campagnes de piégeage conduites dans le cadre de programmes de surveillance visant à identifier différents types d'agents pathogènes (Bowden et al., 2001; Chua et al., 2002; Iehlé et al., 2007; Johnson et al., 2006; Lau et al., 2005; Reynes et al., 2005). Ils ont donc été identifiés pour la grande majorité à partir de prélèvements d'animaux apparemment sains (Razafindratsimandresy et al., 2009; Watanabe et al., 2010).

Certains beta- et gamma-herpèsvirus ont cependant été identifiés à partir d'animaux blessés ou moribonds voire morts (Muhldorfer et al., 2011; Wibbelt et al., 2007). De même, une séquence de gammaherpèsvirus dénommée *Eptesicus serotinus* rhadinovirus 1 (strain GHV) a été détectée chez une sérotine commune qui présentait des signes d'ictère et d'anorexie avant de mourir (Molnár et al., 2008). Un dernier gammaherpèsvirus, dénommé BatGHV_*Pteropus vampyrus*, a été identifié chez une roussette de Malaisie adulte en captivité atteinte de conjonctive chronique (Paige Brock et al., 2013). Cependant, aucun lien de causalité entre les signes cliniques observés et les herpèsvirus identifiés n'a pu être démontré (Muhldorfer et al., 2011; Wibbelt et al., 2007) (Molnár et al., 2008) (Paige Brock et al., 2013). Si l'on considère les alpha-herpèsvirus, il n'y a que pour le virus FBAHV1 que des

analyses anatomo-pathologiques ont été menées. Les analyses macroscopiques effectuées sur des tissus d'espèces de chauves-souris à partir desquelles FBAHV1 a été identifié n'ont pas révélé de signes sérieux d'infection. Ces résultats suggèrent que l'infection naturelle par ce virus n'est pas létale (Sasaki et al., 2014).

Considérant le nombre de séquences d'herpèsvirus de chauves-souris détectées au cours des 10 dernières années, les études portant sur leur pouvoir pathogène sont donc rares. Le rôle causal des virus détectés au niveau des lésions ou au regard des signes cliniques observés n'a pas pu être prouvé. Il n'y a pour le moment guère que pour le gammaherpèsvirus BGHV8, identifié à partir de cellules tumorales d'une chauve-souris adulte de l'espèce *Myotis velifer incautus* que l'on puisse suspecter des propriétés oncogènes, à l'image des gammaherpèsvirus humains EBV et HHV-8 (Chang et al., 1994; Murata et al., 2014; Shabman et al., 2016).

B.9. Biologie de l'infection ou Tropisme cellulaire

Un autre aspect qui n'a pour le moment pas trop été étudié concerne la biologie des herpèsvirus de chauves-souris. Ceci est principalement dû au fait que la plupart de ces virus ne sont que partiellement caractérisés et que seuls quelques isolats viraux sont disponibles. Des études d'infection expérimentale *in vitro* et *in vivo* ont toutefois été menées pour ceux isolés (Noguchi et al., 2018; Sasaki et al., 2014; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018; Zhang et al., 2012). Le nombre et le type de lignées cellulaires testées pour ces infections *in vitro* était cependant variable d'une étude à l'autre. Ainsi, en fonction des études, des lignées cellulaires de chauves-souris (FBKT1, PaKi, BKT1), d'hamster (CHO-K1), de singe vert d'Afrique (Vero), humaines (IMR-32, SK-N-SH, A549, HeLa, Huh-7 et HepG2) ou encore de macaque, vache, cheval, porc, chien, chat, lapin, souris ont été testées. La lignée Vero est la seule lignée qui ait été utilisée dans toutes les études (Noguchi et al., 2018; Sasaki et al., 2014; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018; Zhang et al., 2012). Alors que les essais

d'infection *in vitro* du virus FBAHV1 ont montré que toutes les lignées cellulaires testées (neuf lignées) étaient permissives à l'infection par ce virus, les tentatives avec le virus MsHV (13 lignées) se sont révélées infructueuses (Sasaki et al., 2014; Zhang et al., 2012). Au regard des gammaherpèsvirus, *EfHV* et *BGHV8*, ces virus ont montré des capacités d'infection et de réplication très distinctes en fonction des lignées (Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018). Les seules tentatives pour le virus *RGHV-1* ont été effectuées sur les lignées BKT1 (lignée cellulaire de *Rhinolopus ferrumequinum*, son hôte naturel) et Vero dans le but de propager le virus (Noguchi et al., 2018). Ces différents virus ont donc montré un tropisme plus ou moins étroit *in vitro*. Étant donné que la capacité d'un virus à se développer dans une lignée cellulaire dérivée d'une autre espèce animale que son espèce hôte ne confirme pas nécessairement son tropisme pour cette espèce, des études supplémentaires sont nécessaires pour comprendre la sensibilité *in vivo* de ces animaux à ces virus.

L'infection expérimentale de souris de laboratoire BALB/c par inoculation intranasale de FBAHV1 a montré que les souris étaient susceptibles à l'infection par ce virus (Sasaki et al., 2014). Les examens macroscopiques, les analyses histopathologiques et immunohistochimiques ainsi que la quantification du génome viral ont montré que l'infection virale était retrouvée dans le foie, les poumons ainsi que le cerveau et que ces organes révélaient des signes évocateurs d'une infection à herpèsvirus.

B.10. Épidémiologie : distribution et prévalence

L'ensemble des études menées au cours de la dernière décennie afin d'identifier des séquences d'herpèsvirus chez les chauves-souris a démontré la large distribution de cette famille virale au sein de cet ordre de mammifères. Quelle que soit l'espèce testée, une séquence d'herpèsvirus a été mise en évidence. Lorsque cela n'a pas été le cas, la taille de l'échantillon testé est à incriminer. Par ailleurs, pour nombre d'espèces, de manière similaire à

ce qui est observé chez les autres mammifères, des séquences distinctes correspondant à des entités virales différentes, appartenant à la même sous-famille ou à des sous-familles virales différentes, ont été identifiées. Certains de ces virus ont été identifiés chez différents individus d'une même espèce hôte ou encore à partir d'un même individu. Dans la plupart des études, les séquences d'herpèsvirus ont été identifiées à partir d'écouvillons oro-pharyngés ou de fèces suggérant que la voie oro-fécal est importante dans la transmission (Pozo et al., 2016; Zheng et al., 2016). Par ailleurs, la plupart des herpèsvirus identifiés semblent avoir une spécificité d'hôte stricte (Pozo et al., 2016). Néanmoins, certaines séquences virales ont été identifiées à partir de différentes espèces de chauves-souris suggérant qu'une transmission interspécifique puisse voir lieu (Razafindratsimandresy et al., 2009; Sano et al., 2015; Wibbelt et al., 2007). Au regard des outils moléculaires utilisés ainsi que des données de séquences générées (fragments courts de moins de 200 bp d'un gène conservé), ces données sont toutefois à considérer avec prudence et demande à être confirmées. Ainsi, la réévaluation des résultats initiaux de PCR à l'aide d'amorces spécifiques de chaque virus identifiés a donné des résultats sensiblement différents pour certains (Wibbelt et al., 2007). De fait, alors que les séquences des différents herpèsvirus ont toutes pu être réamplifiées et étaient identiques aux séquences initialement identifiées, le nombre d'individus positifs et le nombre d'espèces positives pour un virus donné ont été redéfinis. Des études supplémentaires sont donc nécessaires afin de confirmer ou pas la spécificité d'espèces des virus identifiés comme pluri-spécifiques. Dans ce contexte, les caractères bio-écologiques des chauves-souris tels que leurs aires de répartition, grégarité mais aussi la distance phylogénétique entre les différentes espèces hôtes sont à prendre en considération (Mühldorfer et al., 2011).

Des taux de prévalence des différents virus chez leurs espèces hôtes ont été calculés dans certaines études. Ces taux varient de quelques pourcent à quelques dizaines voire 100% (Sano et al., 2015; Watanabe et al., 2010; Wibbelt et al., 2007; Zheng et al., 2016). Assez

souvent, lorsque le taux de prévalence est élevé, la taille de l'échantillon est petite. Dans la plupart des cas, les prévalences ont été calculées sur la base d'une positivité en PCR qui plus est à l'aide de couples d'amorces consensus dégénérées donc non spécifiques de la séquence virale en question. Bien que ces approches puissent fournir des informations précieuses, et à défaut d'autres outils, les résultats doivent être interprétés avec prudence. En ce sens, l'absence de tests sérologiques spécifiques des virus identifiés est un obstacle majeur aux recherches épidémiologiques. Au-delà de ces contraintes techniques, la taille des échantillons, très variable d'une étude à l'autre ou même au sein de la même étude, ainsi que le type d'échantillons testé (salive, fèces, tissus, sang, ...) sont autant de biais rendant difficile l'interprétation des taux de prévalence et impossible leur comparaison. Il n'y a guère que pour le virus FABHV1, isolé de *Pteropus sp.*, que des approches moléculaires et sérologiques ont été utilisées afin d'examiner sa prévalence chez différentes espèces de chauves-souris d'Indonésie. Ainsi l'analyse par PCR effectuée sur des ADN extraits de rates de 133 chauves-souris de quatre espèces en utilisant des amorces spécifiques de FABHV1 a montré que 9% des chauves-souris portaient des séquences identiques à 99% à la séquence de FABHV1. Les individus positifs en PCR appartenaient à trois (*Pteropus vampyrus*, *Pteropus sp.* et à *Acerodon celebensis*) des quatre espèces capturées. Aucun variant de FABHV1 n'a été identifié au travers de ce screening. Cependant, le gène ciblé étant hautement conservé (83.3 % d'identité en acides aminés avec son homologue de l'HSV-1) et la taille du fragment amplifié relativement petite, il est possible que les séquences amplifiées à partir des autres espèces de chauves-souris que celle à partir de laquelle FABHV1 a été isolé correspondent à des virus proches de FABHV1 mais néanmoins distincts. Les sérums ont en parallèle été testés par ELISA et séroneutralisation. Des anticorps anti-FABHV1 et neutralisants ont été détectés dans 42% et 48% des échantillons de sérum, respectivement. Des individus séropositifs ont été identifiés chez les quatre espèces de chauves-souris testées, avec une

incidence variable en fonction des espèces et du site de capture. Ce screening a ainsi montré que FABHV1 ou des virus proches étaient largement répandus chez les différentes espèces de chauves-souris d'Indonésie testées. Il démontre aussi les écueils des différentes approches techniques en termes de sensibilité et spécificité.

B.11. Phylogénie et Evolution

Les analyses phylogénétiques effectuées à partir des séquences de l'*ADN polymérase*, de la *glycoprotéine B* ou de la *terminase*, ont montré que les herpèsvirus de chauves-souris présentaient une grande diversité génétique et qu'ils se répartissaient au sein des trois sous-familles de la famille des *Herpesviridae*. De plus, au sein des sous-familles, les séquences d'herpèsvirus de chauve-souris ont tendance à se regrouper en clades distincts. Par ailleurs, en fonction du gène étudié ainsi que de la taille des séquences incluses dans les analyses (séquences partielles ou complètes de gènes, concaténations de séquences) les phylogénies sont plus ou moins robustes. Elles restent cependant concordantes entre elles. Le problème majeur est que pour obtenir une vision globale des relations évolutives des herpèsvirus de chauves-souris, la masse importante de données générées dans cette multitude d'études manque d'homogénéité ce qui contraint toute analyse à travailler sur un jeu de données limité.

Les analyses phylogénétiques effectuées à partir des séquences du gène de l'*ADN polymérase* (UL30) des différents alpha-herpèsvirus de chauves-souris identifiés ont confirmé que toutes ces séquences appartenaient bien au genre *Simplexvirus* (Razafindratsimandresy et al., 2009; Sasaki et al., 2014). Elles ont par ailleurs montré que les séquences des virus (FBAHV1 et CSG248) de *Pteropus* (*P. sp.* et *P. lylei*, respectivement) étaient proches l'une de l'autre, tout comme les séquences virales (CS732G et Dak An Y 7) d'*Eidolon* (*E. dupreanum* et *E. helvum*, respectivement). De plus, ces quatre séquences issues de chauves-souris de la famille Pteropodidae forment un groupe monophylétique distant de la séquence

(Parixa virus, Be An 422840) issue d'une chauve-souris de l'espèce *Lonchophylla thomasi* (famille Phyllostomidae).

Afin d'obtenir une vision détaillée des relations évolutives des betaherpèsvirus de chauves-souris, les analyses phylogénétiques ont été menées soit en analysant les séquences de l'*ADN polymérase* ou de la *terminase* ou en concaténant ces séquences (Pozo et al., 2016). Ces gènes sont ceux pour lesquels le plus grand nombre de séquences est disponible. Néanmoins, les jeux de données en fonction du gène étudié ne sont pas identiques et de ce fait la résolution des groupes phylogénétiques peut être plus ou moins bien soutenue. Ainsi, les analyses phylogénétiques réalisées à l'aide des fragments de gènes individuels (*ADN polymérase* ou *terminase*) présentent une résolution inférieure à celle basée sur la concaténation des deux. Quoiqu'il en soit, sur la base de ces différentes phylogénies on observe que la plupart des séquences d'herpèsvirus de chauve-souris attribuées à la sous-famille *Betaherpesvirinae* sont regroupées dans un groupe monophylétique unique, bien soutenu, ne comprenant que des séquences de virus de chauves-souris. Ce groupe monophylétique est distinct des autres groupes de *Betaherpesvirinae* correspondant aux genres *Cytomegalo*-, *Muromegalo*-, *Roseolo*- et *Probosci-virus*. Il est par ailleurs subdivisé en trois sous-groupes bien supportés correspondant chacun aux différentes familles de chauves-souris étudiées : Vespertilionidae, Miniopteridae et Molossidae. En outre, le groupe contenant les virus de Vespertilionidae est divisé en deux groupes différents, l'un contenant des virus détectés chez des chauves-souris appartenant au genre *Myotis* et le second contenant des virus liés aux autres genres des chauves-souris Vespertilionidae. Les seuls virus qui n'appartiennent pas à ce groupe monophylétique sont ceux détectés chez les espèces de chauves-souris de la famille Rhinolophidae (Pozo et al., 2016; Wu et al., 2012). De fait, les virus RfBHV1 et RferBHV2 détectés chez *Rhinolophus ferrumequinum* et RhipBHV1 chez *R. hipposideros*, se regroupent dans un clade distinct de tous les autres betaherpèsvirus de chauve-souris. Ces

virus sont étroitement liés aux virus du genre *Roseolovirus*. Ils se situent à la base du groupe des roseolovirus. À noter qu'ils sont les seuls virus de type roseolovirus qui ne soient pas des virus de primates. Au regard des données disponibles les analyses phylogéniques de betaherpèsvirus de chauves-souris sont congruentes avec les relations évolutives des familles, de la plupart des grands groupes au sein des familles, ainsi qu'avec les relations intra-génériques connues des chauves-souris (Hoofe and Bussche, 2003; Simmons, 2005; Teeling et al., 2005). Ces phylogénies indiquent qu'au moins deux événements de transfert différents se sont produits dans l'histoire évolutive des betaherpèsvirus de chauve-souris et à l'origine de la diversification des chauves-souris. Depuis, les événements de spéciation ont suivi ceux des hôtes avec *a priori* peu de phénomènes de transmission inter-espèces. Ces résultats sont en adéquation avec l'hypothèse d'un processus d'évolution parallèle entre les herpèsvirus et leurs hôtes (McGeoch et al., 1995; Zhang et al., 2012).

IV. Objectifs de la thèse

Les herpesvirus sont très largement répandus dans le règne animal. La majorité des herpesvirus sont associés à une seule espèce hôte et presque toutes les espèces hôtes étudiées à ce jour sont infectées par au moins une espèce d'herpesvirus. À ce titre, ils présentent un succès évolutif spectaculaire. Comme nous l'avons vu en introduction, le modèle d'évolution qui prévalait jusque récemment était un modèle d'évolution conjointe de ces virus avec leurs hôtes. Dans le cadre de ma thèse, je me suis intéressée à la diversité et aux relations évolutives des virus de la famille des *Herpesviridae* chez deux ordres mammifères, les primates et les chauves-souris, en me focalisant sur des espèces du Nouveau Monde.

Le premier herpesvirus de primate non humain, l'herpès B (*Macacine alphaherpesvirus 1*), a été découvert en 1932 (Gay and Holden, 1933). Ce virus de macaques appartient au genre *Simplexvirus*. Au fil des décennies, des centaines de séquences d'herpesvirus de primates, réparties au sein des trois sous-familles des *Herpesviridae*, ont été caractérisés. Ces virus de PNH ont été identifiés de manière concomitante aux virus humains voire même, dans le cas des rhadinovirus, de manière antérieure. Sur l'ensemble, une vingtaine de virus sont actuellement reconnus par l'ICTV (**Figure 10**). Ces virus, à l'exception des gammaherpesvirus, semblent suivre un modèle de co-évolution avec leurs espèces hôtes. L'équipe de Bernhard Ehlers a caractérisé en 2009 un certain nombre de cytomégalovirus de grands singes et de singes de l'ancien monde (Leendertz et al., 2009). Dans le cadre de leur étude, ils ont montré la co-évolution de ces virus avec leurs espèces hôtes. Par ailleurs, seuls deux CMVs issus de deux espèces de PNHs du Nouveau Monde étaient connus. Profitant d'une collection d'ADN de primates du Nouveau Monde majoritairement constituée au milieu des années 90 lors de la mise en eau du barrage hydroélectrique de Petit-Saut en Guyane ainsi que dans le cadre d'une collaboration avec le Pr. Manuel Ruiz-Garcia de l'Université

Nationale de Colombie, nous nous sommes intéressés à rechercher des séquences de cytomégalo virus chez ces primates. Notre objectif était double : identifier de nouveaux CMVs afin d'accroître nos connaissances sur la distribution et diversité génétique de ce genre viral et étudier leur processus d'évolution. Par ailleurs, sur la base du modèle de co-évolution observé pour les virus infectant les primates de l'ancien monde, nous souhaitons déterminer si les séquences de CMVs identifiées pourraient servir de marqueur moléculaire afin de résoudre la phylogénie des PNHs du Nouveau Monde pour lesquels les outils et marqueurs utilisés jusque-là ne font pas consensus.

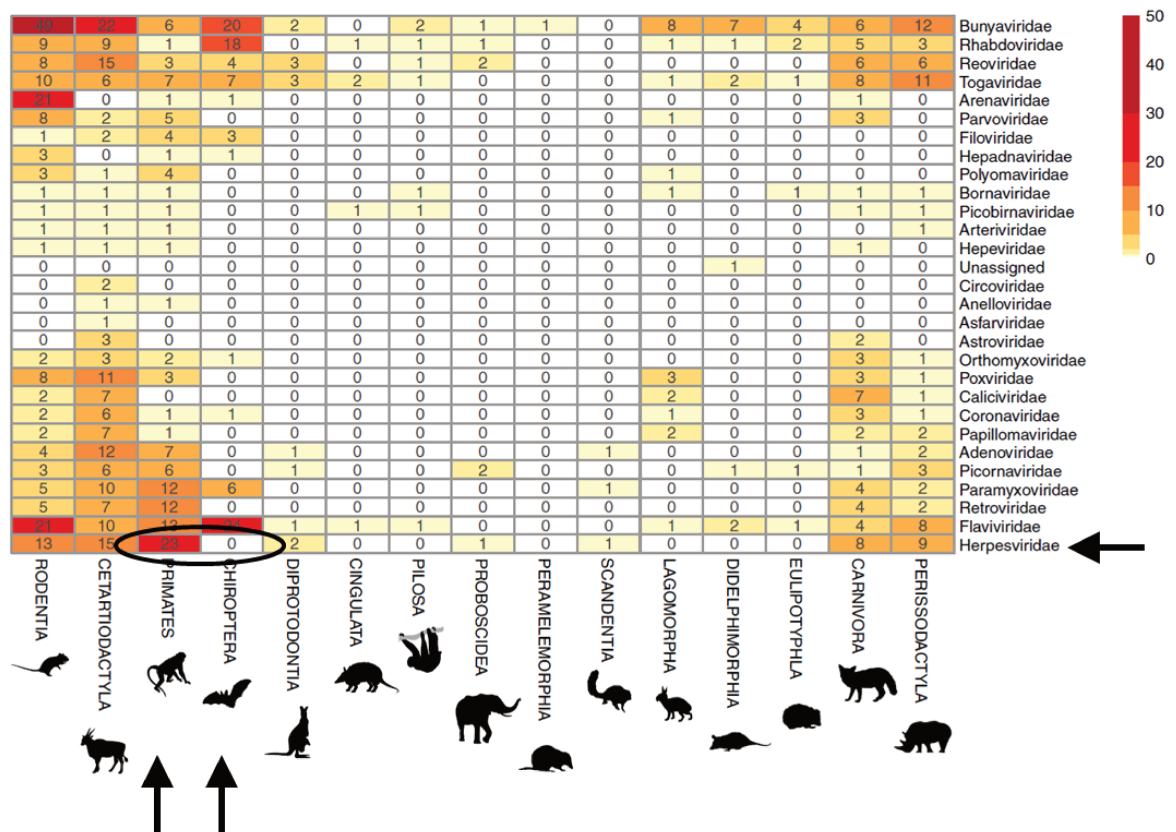


Figure 10 : Carte thermique de la richesse virale totale observée par ordre de mammifères et par famille virale. L'ensemble de données comprend 754 espèces de mammifères et 586 espèces virales reconnues par l'ICTV. La carte de chaleur a été agrégée par rangées et colonnes de façon à grouper les taxons avec des niveaux similaires de richesse virale observée. Les flèches indiquent les ordres des primates et des chiroptères ainsi que la famille *Herpesviridae*. Adaptée de (Hayman, 2016)

La caractérisation d'herpèsvirus de chauves-souris est beaucoup plus récente. De fait, les premières séquences n'ont été publiées qu'en 2007 (Wibbelt et al., 2007). Au cours de 12 dernières années, des centaines de séquences d'herpèsvirus ont été identifiées de dizaines

d'espèces de chauves-souris (**Figure 11**). Seuls deux virus sont actuellement reconnus en tant qu'espèce virale par l'ICTV. De manière singulière, alors que l'Amazonie est un hotspot de diversité en termes d'espèces de chauves-souris, seules deux séquences sont actuellement disponibles : une séquence d'un alphaherpèsvirus issue de l'espèce *Lonchophylla thomasi* d'un individu du Brésil et une séquence de gammaherpèsvirus de l'espèce *Molossus molossus* que le laboratoire a récemment identifié (**Figure 11**) (Razafindratsimandresy et al., 2009; Salmier et al., 2017). Dans le cadre d'un programme de recherche sur la circulation du virus de la rage, le laboratoire a effectué des captures de chauves-souris en Guyane sur une période de 10 ans et en 2015 en Martinique. Tirant parti de cette collection unique d'échantillons de chauves-souris, nous nous sommes intéressés à rechercher la présence éventuelle d'herpèsvirus dans les différentes espèces de chauves-souris collectées de façon à mieux comprendre la distribution et la diversité des herpèsvirus circulant chez ces chauves-souris du Nouveau Monde et de décrire leurs relations phylogénétiques.

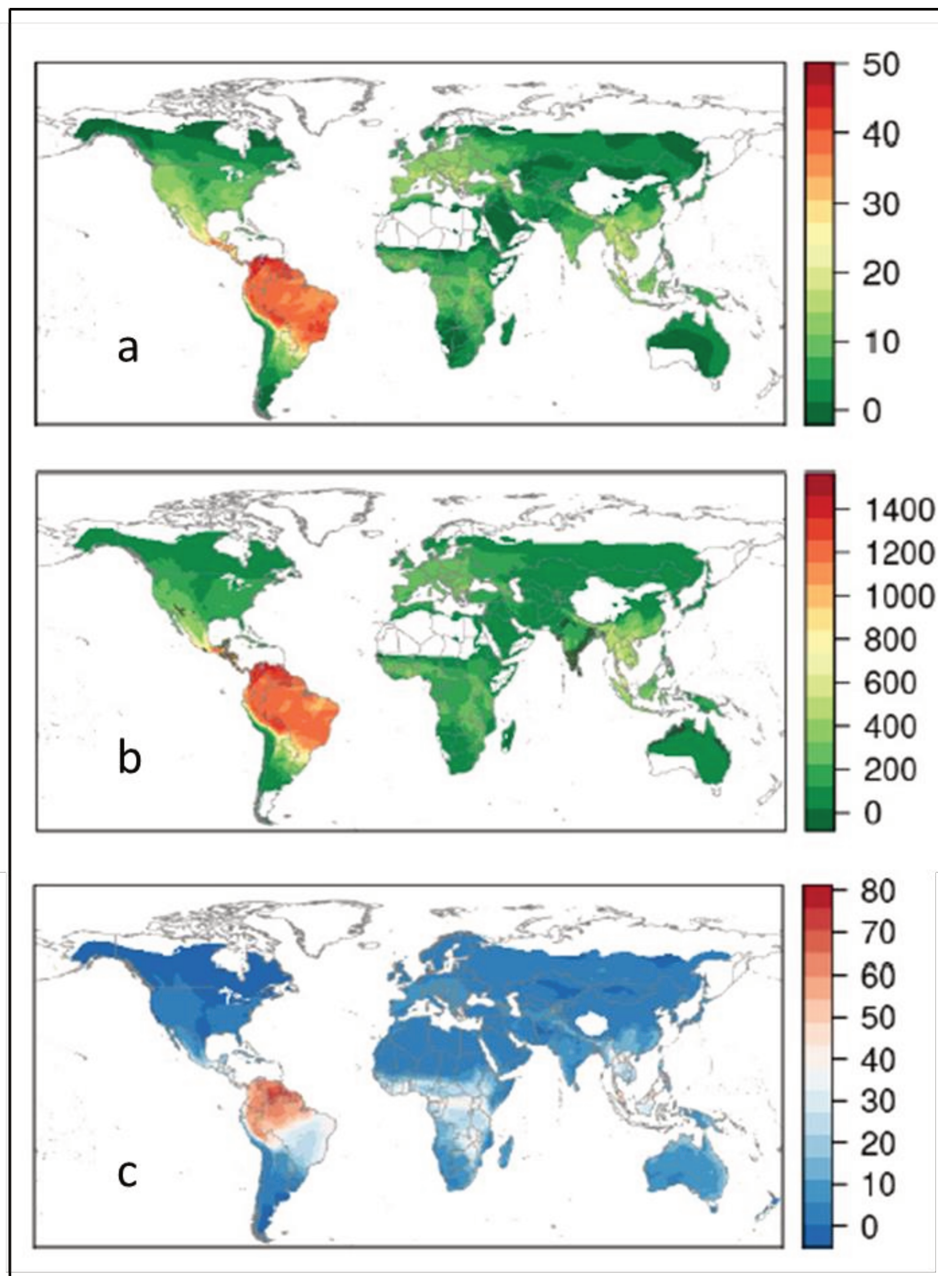


Figure 11 : Distribution globale de la richesse virale chez les chauves-souris. (a) Richesse globale en espèces de chauves-souris (n=1117), (b) Richesse virale totale prédite pour un effort maximum de recherche, (c) Distribution des espèces de chauves-souris pour lesquelles aucun virus n'est décrit dans la littérature. Les régions colorées en rose/rouge dans le panel c représentent celles avec une faible surveillance virale. **Adaptée de (Hayman, 2016)**

PREMIER ARTICLE :

***DNA polymerase* sequences of New World Monkey Cytomegaloviruses: another molecular marker with which to infer Platyrrhini systematics**

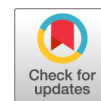
Propos Introductif

La description ces dernières décennies de nombreux virus de primates non-humains (PNH) appartenant à la famille des *Herpesviridae* a permis de développer des hypothèses de co-évolution entre les hôtes et leurs virus. Cependant, parmi les différentes espèces de PNH testées pour les cytomégalovirus (CMV), seul un petit nombre correspondaient à des espèces du Nouveau Monde. Des investigations supplémentaires, basées sur l'identification et l'analyse de séquences de CMV de primates non humains du Nouveau Monde (PNHNM), nous semblaient donc importantes pour accroître nos connaissances sur la diversité génétique de ce genre viral et étudier les processus d'évolution de ce dernier.

En collaboration avec le professeur Ruiz-García de l'Université Nationale de Colombie, nous avons testé au total 244 échantillons d'ADN de PNHNM, correspondant à huit genres et 20 espèces différentes d'Amérique du Sud et Centrale, en utilisant la stratégie CODEHOP développée par l'équipe de Tim Rose. Cette approche, basée sur l'utilisation d'amorces consensus dégénérées, cible des motifs conservés du gène de l'*ADN polymérase* des herpèsvirus et permet ainsi d'amplifier des séquences de virus proches mais néanmoins distinctes de ceux déjà connus. En parallèle, le statut taxonomique de chaque individu, à partir duquel nous avons identifié une séquence virale, a été déterminé par séquençage du gène mitochondrial cytochrome b et/ou d'un fragment du gène codant la cytochrome oxydase II.

Cette approche nous a permis de caractériser partiellement douze virus de type cytomégalovirus de douze espèces différentes appartenant à six genres et représentatives des quatre familles de PNHNM. Ces résultats démontrent ainsi que la plupart des espèces de PNHNM peuvent être infectées par un virus appartenant au genre *Cytomegalovirus*. Cette étude est par ailleurs la plus large jamais conduite en termes de diversité d'espèces de PNHNM. Les analyses phylogénétiques effectuées à partir de séquences générées démontrent

que les CMV de PNHNM appartiennent à un groupe phylogénétique distinct de celui des PNH de l'ancien monde. La détermination parallèle de l'hôte montre une bonne corrélation entre les groupes monophylétiques des virus et ceux des primates au niveau du genre. De plus, les analyses d'horloge moléculaire montre que les nœuds phylogénétiques séparant les CMV de PNHNM sont congruents avec les dates de divergences de leurs hôtes. Ces résultats nous ont donc permis d'améliorer l'état des connaissances sur le spectre d'hôtes de ce genre viral et tend à démontrer la coévolution de ces virus avec leurs hôtes. Sur la base de ces résultats, nous proposons ainsi que les séquences de l'*ADN polymérase* des CMVs pourraient servir d'outils moléculaires afin d'étudier la systématique des PNHNM non encore totalement résolue.



DNA Polymerase Sequences of New World Monkey Cytomegaloviruses: Another Molecular Marker with Which To Infer Platyrrhini Systematics

Samantha James,^{a,b} Damien Donato,^a Jean-François Pouliquen,^a Manuel Ruiz-García,^c Anne Lavergne,^{a,b}
 Vincent Lacoste^{a,b,d}

^aLaboratoire des Interactions Virus-Hôtes, Institut Pasteur de la Guyane, Cayenne, French Guiana

^bUniversité de la Guyane, École Doctorale 587-Diversités, Santé et Développement en Amazonie, Cayenne, French Guiana

^cLaboratorio de Genética de Poblaciones-Biología Evolutiva, Unidad de Genética, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, DC, Colombia

^dDépartement de Virologie, Institut Pasteur, Paris, France

ABSTRACT Over the past few decades, a large number of studies have identified herpesvirus sequences from many mammalian species around the world. Among the different nonhuman primate species tested so far for cytomegaloviruses (CMVs), only a few were from the New World. Seeking to identify CMV homologues in New World monkeys (NWMs), we carried out molecular screening of 244 blood DNA samples from 20 NWM species from Central and South America. Our aim was to reach a better understanding of their evolutionary processes within the Platyrrhini parvorder. Using PCR amplification with degenerate consensus primers targeting highly conserved amino acid motifs encoded by the herpesvirus DNA polymerase gene, we characterized novel viral sequences from 12 species belonging to seven genera representative of the three NWM families. BLAST searches, pairwise nucleotide and amino acid sequence comparisons, and phylogenetic analyses confirmed that they all belonged to the *Cytomegalovirus* genus. Previously determined host taxa allowed us to demonstrate a good correlation between the distinct monophyletic clades of viruses and those of the infected primates at the genus level. In addition, the evolutionary branching points that separate NWM CMVs were congruent with the divergence dates of their hosts at the genus level. These results significantly expand our knowledge of the host range of this viral genus and strongly support the occurrence of cospeciation between these viruses and their hosts. In this respect, we propose that NWM CMV DNA polymerase gene sequences may serve as reliable molecular markers with which to infer Platyrrhini phylogenetics.

IMPORTANCE Investigating evolutionary processes between viruses and nonhuman primates has led to the discovery of a large number of herpesviruses. No study published so far on primate cytomegaloviruses has extensively studied New World monkeys (NWMs) at the subspecies, species, genus, and family levels. The present study sought to identify cytomegalovirus homologues in NWMs and to decipher their evolutionary relationships. This led us to characterize novel viruses from 12 of the 20 primate species tested, which are representative of the three NWM families. The identification of distinct viruses in these primates not only significantly expands our knowledge of the host range of this viral genus but also sheds light on its evolutionary history. Phylogenetic analyses and molecular dating of the sequences obtained support a virus-host coevolution.

KEYWORDS *Cytomegalovirus*, CMV, New World monkeys, evolution, phylogeny

Received 6 June 2018 Accepted 27 June 2018

Accepted manuscript posted online 5 July 2018

Citation James S, Donato D, Pouliquen J-F, Ruiz-García M, Lavergne A, Lacoste V. 2018. DNA polymerase sequences of New World monkey cytomegaloviruses: another molecular marker with which to infer Platyrrhini systematics. *J Virol* 92:e00980-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00980-18>.

Editor Richard M. Longnecker, Northwestern University

Copyright © 2018 American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Address correspondence to Vincent Lacoste, vincent.lacoste@pasteur.fr.

New World monkeys (NWMs) of tropical forests from Central to South America belong to the Platyrrhini parvorder (1). They first appeared in the Neotropics in the late Eocene or early Oligocene and subsequently evolved into broad and diverse families, subfamilies, and genera (Fig. 1) (2, 3). To shed light on their phylogeny and evolution, NWMs have been studied extensively through use of morphological, biogeographical, behavioral, and molecular data (2, 4–17). Over the last few decades, contrasting hypotheses have been proposed, presumably due to different markers and the presence of polymorphisms in the features considered. Agreement on the main clades of NWMs has been reached by use of different approaches, revealing a unique phylogenetic arrangement of Platyrrhini, with three monophyletic families: Pitheciidae, Atelidae, and Cebidae (Table 1; Fig. 1) (4, 5, 11, 12, 14–16). Nevertheless, the relationships between them continue to be debated. Through the analysis of intergeneric and intrageneric relationships, intrafamily relationships have also been studied in depth. By incorporating all the available data, major advances have been made, and many taxonomic controversies have been clarified (6). Therefore, the Pitheciidae family is composed of the genera *Callicebus*, *Pithecia*, *Chiropotes*, and *Cacajao*, the Atelidae family of *Alouatta*, *Ateles*, *Brachyteles*, and *Lagothrix*, and the Cebidae family of *Cebuella*, *Mico*, *Callithrix*, *Callimico*, *Saguinus*, *Leontopithecus*, *Saimiri*, *Cebus*, *Sapajus*, and *Aotus*. However, relationships between or within some subfamilies and/or genera remain under discussion. Among the Cebidae, the phylogenetic position of the Aotinae subfamily remains unclear (15). Indeed, molecular data did not allow determination of whether Aotinae is a sister clade of Callitrichinae or, alternatively, if Aotinae, Saimiriinae, and Cebinae are sisters to Callitrichinae (4, 12, 14–16). Moreover, the number of platyrrhine genera is also still under discussion, such as the division of *Cebus* into the *Sapajus* (tufted capuchins) and *Cebus* (untufted capuchins) genera (4, 17–19). As a result, neither the diversity nor the taxonomy of NWMs is fully known. To appreciate the details of Platyrrhini evolution, much work still needs to be done at various taxonomic levels.

Viruses of the genus *Cytomegalovirus* belong to the *Betaherpesvirinae* subfamily within the *Herpesviridae* family of the order *Herpesvirales* (20). Eight cytomegaloviruses (CMVs) are recognized as species by the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), according to the latest master species list (MSL 32), released on 12 March 2018 (<https://talk.ictvonline.org/files/master-species-lists/m/msl/7185>). Human betaherpesvirus 5 (HHV5), commonly referred to in the literature as human cytomegalovirus (HCMV), is the CMV type species. So far, cytomegaloviruses have been characterized only from primates. Since the initial description of a cytomegalovirus in African green monkeys in 1957, whose current species name is *Cercopithecine betaherpesvirus 5* (CeHV5), natural infections by such viruses have been described for several Old World monkey (OWM) species, including baboons, macaques, colobuses, chimpanzees, gorillas, and others (21–32). In contrast, cytomegaloviruses of NWMs are represented by only three viral entities, from *Aotus trivirgatus* (northern owl monkey), *Saimiri sciureus* (common squirrel monkey), and *Cebus* sp. (capuchin) animals, despite the wide diversity of platyrrhines (33–35). It is presumed that all primate species harbor CMVs following a cospeciation process, but data supporting this assumption are scarce. The most extensive analyses of primate CMVs conducted, to date, are those of Leendertz et al. (27) and Anoh et al. (31). Using phylogenetic analyses, these studies demonstrated a species-specific distribution of these viruses. This species specificity indicates a long-term coevolution of CMVs with their natural hosts. The identification of two clades, each composed of chimpanzee and gorilla CMVs, suggests that they have coevolved following a horizontal transmission event between these great apes millions of years ago (27). Nevertheless, interspecies transmissions in the wild are rare events (27, 29, 31, 32).

With the exception of the three above-mentioned CMVs of NWMs, there has been little prior organized effort to discover cytomegaloviruses in neotropical primates. The number of NWM species tested, to date, therefore accounts for only a tiny part of their diversity. We thought that additional investigations on a larger number of species were required. We therefore addressed the possible presence of CMVs in different NWM

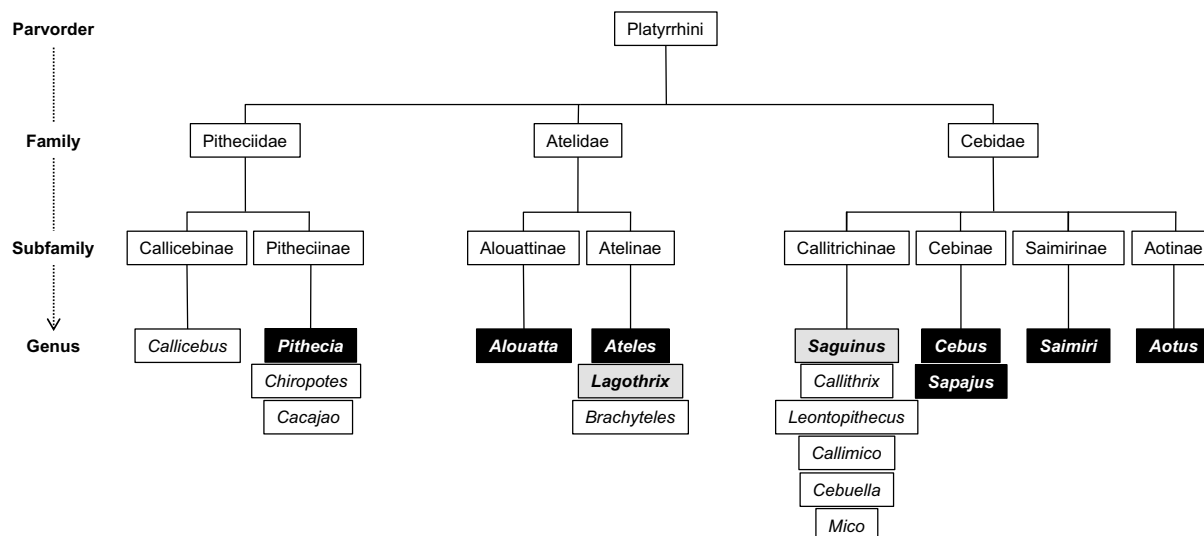


FIG 1 Diagram representation of Platyrrhini taxa in descending order down to the genus level. Black and gray boxes represent NWM genera tested for CMVs. Black boxes correspond to NWM genera from which CMV sequences have been characterized, while gray boxes represent NWM genera from which no CMV sequence was obtained in the present study. (Adapted from reference 3 with permission of the publisher.)

species for which we previously partially characterized Epstein-Barr virus (EBV)-like viruses (36, 37). The purpose was to gain greater insight into the distribution and diversity of CMVs infecting the Platyrrhini primates. Furthermore, based on the coevolution observed between OWMs and their specific CMVs, we wished to determine whether NWM CMV sequences could help to decipher evolutionary relationships of their host species (27, 31). Given that multiple molecular markers of mitochondrial and nuclear DNAs are available, host species can be characterized along with their viruses, allowing progress to be made on their respective patterns of diversification. Here we report the finding of sequences of cytomegaloviruses in different NWM species and achieve a better understanding of the evolutionary processes between these viruses and their Platyrrhini hosts.

RESULTS

To look for the presence of CMV-like viruses in our collection of NWMs, we attempted to amplify a fragment of the highly conserved herpesvirus DNA polymerase gene from the peripheral blood mononuclear cell (PBMC) DNA of each wild-caught primate under previously described PCR conditions (28, 36). A total of 244 samples from 20 different species of the three NWM families were tested (Table 1). DNA samples from 12 species scored positive after nested PCRs (nPCRs) (Table 1). No primate belonging to the *Saguinus* and *Lagothrix* genera scored positive. Indeed, no amplification was observed for any samples from the three tamarin species (*Saguinus midas*, *Saguinus labiatus*, and *Saguinus oedipus*) and the four woolly monkey subspecies (*Lagothrix lagotricha cana*, *L. l. lagotricha*, *L. l. lugens*, and *L. l. poeppigii*). We then used different pairs of consensus-degenerate and specific PCR primers to obtain longer sequences of the DNA polymerase gene from each positive animal (Table 2; Fig. 2). The concatenated nucleotide sequences generated were between 448 and 2,026 bp long, depending on the viral strain (Table 1).

BLAST searches demonstrated that all sequences identified belonged to the *Cytomegalovirus* genus and revealed the presence of 12 distinct sequences. Four sequences were identified twice in *Saimiri boliviensis boliviensis*, *Aotus nancymae*, *Pithecia pithecia*, and *Alouatta seniculus* animals, while the sequence in *Alouatta macconnelli* was identified in five individuals (Table 1). Virus names and abbreviations were given to the 12 distinct viruses (Table 1), as follows: the viruses were named after the host species (for *Saimiri* hosts, after the subspecies), followed by three uppercase letters corresponding

TABLE 1 New World nonhuman primates tested for cytomegaloviruses by use of molecular methods and survey results^e

Primate Taxonomy																					
O	s	O	I	O	Family ^a	Subfamily	Genus	species	subspecies	Common Name	Origin	Number ^b	Size ^c	Informal names							
														Name	Acronym						
Primates	Haplorhini	Simiiformes	Platyrrhini			Cebidae	Callitrichinae	<i>Saguinus</i>	<i>midas</i>	Red-handed tamarin	French Guiana	0/54									
									<i>labiatus</i>	White-lipped tamarin	Peru	0/2									
									<i>oedipus</i>	Cottontop tamarin	Colombia	0/2									
									<i>Sapajus</i> ^d	<i>apella</i>	Tufted capuchin	French Guiana	0/5								
										<i>apella</i>	Tufted capuchin	Colombia	1/10	910	<i>S. apella</i> CMV1	SapeCMV1					
								Cebinae		<i>Cebus</i>	<i>albifrons</i>	White-fronted capuchin	Colombia	1/10	448	<i>C. albifrons</i> CMV1	CalbCMV1				
											<i>capucinus</i>	White-headed capuchin	Colombia	1/10	448	<i>C. capucinus</i> CMV1	CcapCMV1				
								Saimirinae	<i>Saimiri</i>	<i>boliviensis</i>	<i>boliviensis</i>	Black-capped squirrel monkey	Colombia	2/3	448	<i>S. b. boliviensis</i> CMV1	SbolCMV1				
										<i>sciureus</i>	<i>sciureus</i>	Common squirrel monkey	French Guiana	0/4							
										<i>sciureus</i>	<i>albigena</i>	Colombian common squirrel monkey	Colombia	1/1	910	<i>S. s. albigena</i> CMV1	SalbCMV1				
										<i>sciureus</i>	<i>macrodon</i>	Ecuadorian common squirrel monkey	Colombia	0/1							
							Aotinae	<i>Aotus</i>	<i>vociferans</i>		Spix's night monkey	Peru	1/5	451	<i>A. vociferans</i> CMV1	AvocCMV1					
									<i>nancymaeae</i>		Nancy Ma's night monkey	Peru	2/6	964	<i>A. nancymaeae</i> CMV1	AnanCMV1					
							Pitheciidae	Pitheciinae	<i>Pithecia</i>	<i>pithecia</i>	White-faced saki	French Guiana	2/4	916	<i>P. pithecia</i> CMV1	PpitCMV1					
												Alouattinae	<i>Alouatta</i>	<i>macconnelli</i>	Guyanese red howler	French Guiana	5/94	1724	<i>A. macconnelli</i> CMV1	AmacCMV1	
														<i>seniculus</i>	Venezuelan red howler	Colombia	2/8	1724	<i>A. seniculus</i> CMV1	AsenCMV1	
														<i>caraya</i>	Black howler	Argentina	0/1				
														<i>palliata</i>	Mantled howler	Mexico	1/2	988	<i>A. palliata</i> CMV1	ApalCMV1	
												Atelidae	<i>Ateles</i>	<i>paniscus</i>	Red-faced spider monkey	French Guiana	1/5	2026	<i>A. paniscus</i> CMV1	ApanCMV1	
														<i>belzebuth</i>	White-fronted spider monkey	Colombia	0/3				
														<i>fusciceps</i>	<i>robustus</i>	Black-headed spider monkey	Colombia	0/4			
														<i>geoffroyi</i>	Geoffroy's spider monkey	Guatemala	0/3				
												Atelinae		<i>Lagothrix</i>	<i>lagotricha</i>	<i>cana</i>	Gray woolly monkey	Brazil	0/1		
						<i>lagotricha</i>	<i>lagotricha</i>	Brown woolly monkey	Colombia	0/2											
						<i>lagotricha</i>	<i>lugens</i>	Colombian woolly monkey	Colombia	0/2											
						<i>lagotricha</i>	<i>poepigii</i>	Silvery woolly monkey	Peru	0/2											

^aAccording to the work of Perelman et al. (4).^bNumber of CMV-positive animals (by PCR, cloning, and sequencing)/number of tested animals.^cSizes of the DNA polymerase gene fragments obtained, in base pairs.^dAccording to the work of Alfaro et al. (17).^eAbbreviations: O, order; sO, suborder; iO, infraorder; pO, parvorder; CMV, cytomegalovirus.

to the viral genus (CMV for *Cytomegalovirus*), to which they were then assigned the Arabic numeral 1, as previously done by us and others (27, 36).

To obtain a full vision of the genetic diversity of these new CMV sequences, pairwise sequence comparisons were made for the 447-bp/149-amino-acid (aa) fragment of the DNA polymerase gene common to all primate CMVs. All 12 sequences obtained differed from each other at the nucleotide level. Sequences that were identified in different specimens of the same primate species, e.g., AnanCMV1, AsenCMV1, AmacCMV1, SbolCMV1, and PpitCMV1, were 100% identical, with the exception of the two PpitCMV1 sequences, which showed 99.6% nucleotide identity (Table 3). For clarity, comparisons of the percentages of identity between the different newly identified NWM CMVs are reported by grouping viral sequences at the host genus level (Table 3). Overall, the new sequences exhibited 71.1% (AnanCMV1 versus ApanCMV1) to 99.6% (CalbCMV1 versus CebHV1 or *Cebus* sp. herpesvirus) nucleotide identity and 79.6% (CcapCMV1 versus ApanCMV1 and AnanCMV1 versus ApalCMV1) to 100% (AmacCMV1 versus AsenCMV1 as well as SbolCMV1 versus SalbCMV1) amino acid identity among themselves and the other available NWM CMV sequences (Table 3). Viruses infecting NWMs of the same genus presented more than 92% nucleotide and amino acid identities (Table 3). Comparisons between CMVs of different NWM genera ranged from 71.1% (*Aotus* CMVs versus *Ateles* CMVs) to 88.7% (*Sapajus* CMVs versus *Cebus* CMVs) at the nucleotide level and from 79.6% (*Aotus* and *Alouatta* CMVs versus *Cebus* and *Ateles*

TABLE 2 Oligonucleotide primers used for cytomegalovirus DNA polymerase gene consensus and specific PCRs

Oligonucleotide	Orientation ^a	Location ^b	Sequence (5' → 3') ^c	CMV sequence(s) amplified
DNA polymerase				
degenerate primers				
CMV1F1	+	721–749	GAC AAG AAG TTG ACN ACN TTY GGN TGG TG	AmacCMV1, AsenCMV1, ApanCMV1
CMV1R1	–	1534–1559	ACG CCG GCY TCR TAR TGR AAR TTD AT	AmacCMV1, AsenCMV1, ApanCMV1
CMV1R2	–	1480–1504	CGT CCT GHA CRC ART AYT TNC CNA C	AmacCMV1, AsenCMV1, ApanCMV1
CMV2F1	+	1330–1352	GAY ATG TAY CCN GTS TGY ATG GC	AmacCMV1, AsenCMV1, ApanCMV1, PpitCMV1, SapeCMV1, SalbCMV1
CMV2F2	+	1372–1394	TAC AAR YTV AAY ACB ATG GCS GA	AmacCMV1, AsenCMV1, ApanCMV1, PpitCMV1, SapeCMV1, SalbCMV1
DFASA ^d	+	1768–1793	GTG TTC GAC TTY GCN AGY YTN TAY CC	All
CMV3F1	+	1795–1817	TCH ATY ATY ATG GCN CAY AAY CT	All
CMV3F2	+	2062–2090	ACG TGC AAT TCT TTY TAY GGB TTY ACN GG	All
CMV3R1	–	2269–2303	CGA TAG CAC ACA AAC ACR CTR TCN GTR TCN CCR TA	All
CMV3R2	–	2125–2147	CCG ATD CGN GTR ATR CTR GCC GC	All
CMV4F1	+	2266–2291	ATC TAY GKG GAC ACS GAY AGY GTS TT	AmacCMV1, AsenCMV1, ApalCMV1, AnanCMV1, ApanCMV1
CMV4R1	–	2782–2801	GCC GCY ARN CGY TTD ATG AC	ApalCMV1, AnanCMV1, ApanCMV1
CMV4R2	–	2477–2498	CGC ACC ARR TCR ACN CCY TTC A	AmacCMV1, AsenCMV1, ApalCMV1, AnanCMV1, ApanCMV1
CMV4R3	–	2419–2444	ATA TAC CGY TTY TTR CAG ATC ATC AT	AmacCMV1, AsenCMV1, ApalCMV1, AnanCMV1, ApanCMV1
DNA polymerase antisense				
specific primers				
(in combination with CMV2F1 or CMV2F2) ^e				
PitR1	–	1958–1978	TGC GCT GAG CAA CCC ATT TAG	PpitCMV1
PitR2	–	1912–1932	ACG CAC CTC CGA CTT CAC AAA	PpitCMV1
AotR1	–	2019–2039	TTG TCG AGC AGC GTC CTC TTG	AnanCMV1, AvocCMV1
AotR2	–	1884–1904	ACC GTA CCG TTT TCG AAG TTA	AnanCMV1, AvocCMV1
SapR1	–	2106–2126	GCG ACT GGC AAA CAC GGT AAC	SapeCMV1
CapR2	–	1994–2016	GGG ATC TGT GCA ATC TTT CAT GG	CalbCMV1, CcapCMV1
CapR3	–	1939–1961	CGG GTC AAC AAT TCA GAA AGC AC	SapeCMV1, CalbCMV1, CcapCMV1
AteR1	–	1994–2016	CGG ATC TCT GCA ATT TTT CAT GG	ApanCMV1
AteR2	–	1935–1957	TCA GCA GTT CGG ACA ACA CTG AA	ApanCMV1
SaiR1	–	1948–1969	CCA CCC ACT TCG TTA GCA GCT C	SbolCMV1, SalbCMV1
SaiR2	–	2155–2175	ACG CGC GGT GTC TTG TAA CAT	SbolCMV1, SalbCMV1
AloR1	–	1959–1979	TTC CGT TGA GCC ACC CAT TTA	AmacCMV1, AsenCMV1, ApalCMV1
AloR2	–	1932–1954	GCA ATT CCG ATA GCA CTG AGG AA	AmacCMV1, AsenCMV1, ApalCMV1

^a+, sense; –, antisense.^bPositions relative to ATG of the DNA polymerase gene of AoHV1 (accession number [FJ483970](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/FJ483970)).^cLetters at positions of degeneracy follow the International Unit Base codes.^dDegenerate oligonucleotide primer described by Rose et al. (46).^eFor clarity, all antisense specific primers are indicated as XxxR1 for R1 primers and XxxR2 for R2 primers in Fig. 2.

CMVs) to 99.3% (*Sapajus* CMVs versus *Cebus* CMVs) at the amino acid level. NWM CMV sequences exhibited 59.8% (*Cebus* CMVs versus *Macaca* CMVs) to 72.7% (*Aotus* CMVs versus *Colobus* CMVs) nucleotide sequence identities and 61.9 to 68.7% amino acid sequence identities with OWM CMVs. The levels of nucleotide and amino acid sequence identities with CMVs of the Hominidae, except HHV5, ranged from 61 to 72% and from 66 to 72.8%, respectively. Identities with HHV5 ranged from 61.6% (*Alouatta* CMVs) to 70.9% (*Aotus* CMVs) at the nucleotide level and from 66% (*Alouatta* CMVs) to 72.8% (*Aotus* CMVs) at the amino acid level.

All phylogenetic analyses performed on nucleotide or amino acid sequences of the newly characterized CMV sequences and those of other primate CMVs available in the databases clearly placed the new sequences in a monophyletic lineage of NWM viruses in the *Cytomegalovirus* genus. The phylogenetic analysis presented in Fig. 3 is based on amino acid sequences. The NWM CMV lineage diverged from the OWM CMV lineage with a posterior probability value of 1. Remarkably, considering the OWM CMV lineage, the phylogenetic tree formed two major monophyletic groups, consisting of Hominoidea and Cercopithecoidea viruses. Within the Cercopithecoidea sequences, the

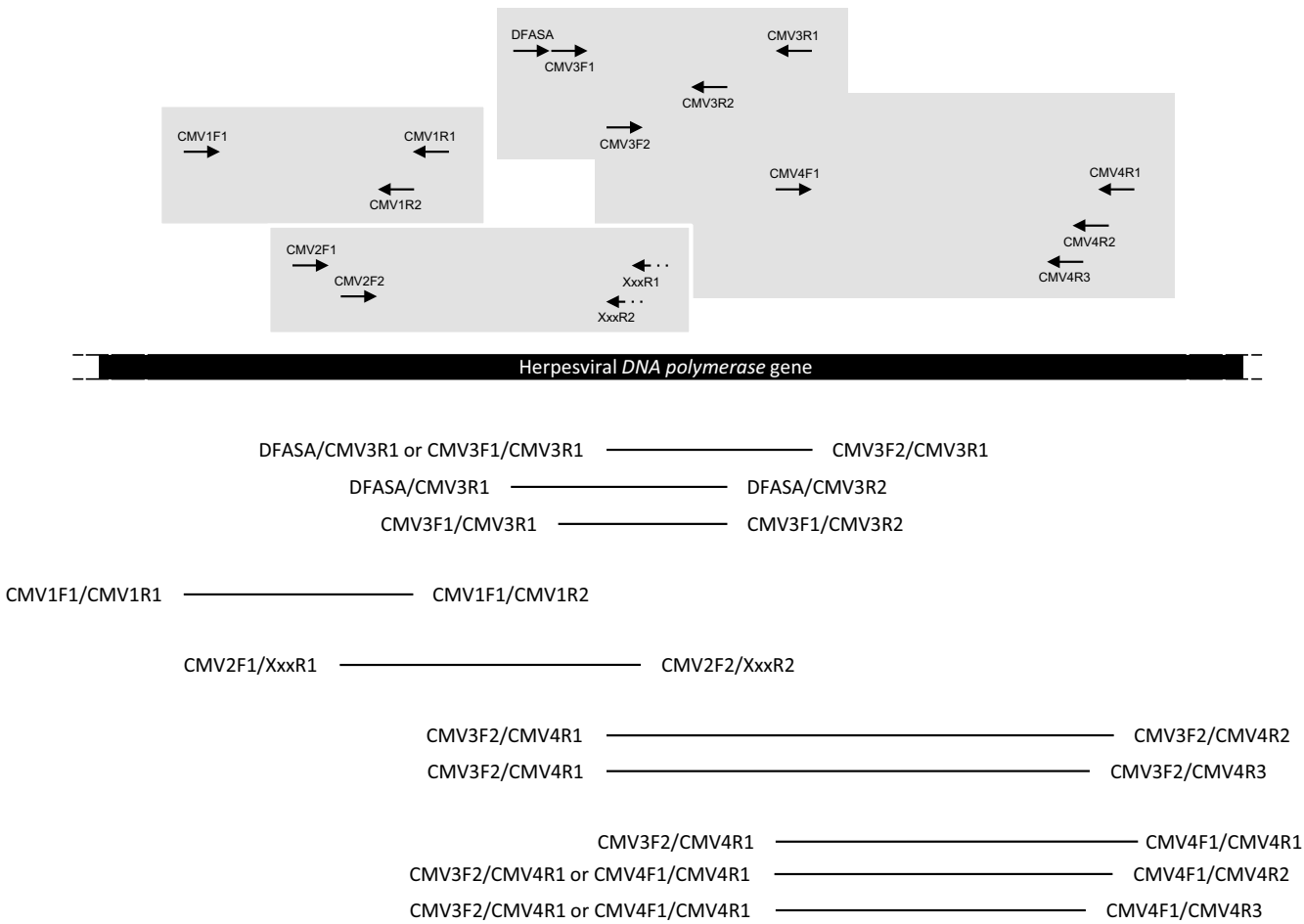


FIG 2 Relative positions and orientations of the PCR primers used in this study. The different combinations of primers used in nested or seminested PCRs are represented above the herpesviral DNA polymerase gene sequence, in different gray boxes. Primers XxxR1 and XxxR2, represented by dotted arrows, correspond to the different antisense specific primers used in a degenerate (CMV2F1 or CMV2F2)-nondegenerate nPCR assay (Table 2). Bars below the sequence represent the different nested PCR products expected. The pairs of primers on the left side of the bars indicate those used for the first-round PCR, while those on the right side correspond to those used in the nested PCRs. The sequences of the oligonucleotide primers are given in Table 2.

Colobus CMV sequences are the basal taxon, with the formation of additional clades comprising Asian *Macaca*, *Cercopithecus/Chlorocebus*, and *Papio/Mandrillus/Cercocebus* taxa.

Considering NWM CMVs, analyses demonstrated the existence of five distinct lineages supported by high posterior probability values. The phylogenetic relationships between the different NWM CMVs were correlated with the families and genera to which the infected primates belong. The only exception was the hierarchical branching order of the *Aotus/Saimiri/Cebus* genera within the Cebidae, which was not supported. Thus, viruses from *Aotus* spp. (AoHV1, AvocCMV1, and AnanCMV1) all grouped together in a monophyletic clade, as did those from *Saimiri* (SaHV4, SschV, SalbCMV1, and SbolCMV1), *Cebus/Sapajus* (CebHV1, CebusHV, CalbCMV1, CcapCMV1, and SapeCMV1), *Alouatta* (ApalCMV1, AmacCMV1, and AsenCMV1), and *Pithecia* (PpitCMV1). Furthermore, viruses from *Alouatta* spp. were related to ApanCMV1 from *Ateles* in a monophyletic clade of viruses infecting Atelidae monkeys, with a posterior probability of 1, while those from *Saimiri*, *Aotus*, and *Cebus/Sapajus* belonged to a monophyletic clade of Cebidae, which was supported by a posterior probability of 0.91.

To explore the cospeciation hypothesis, a time calibration analysis was performed on our data set. Cytomegaloviruses identified in NWMs diverged from those of OWMs about 32.45 million years ago (MYA) (95% highest posterior density interval [HPD],

TABLE 3 Nucleotide and amino acid identities between the novel cytomegaloviruses and all other nonhuman primate cytomegaloviruses and HCMV^a

Viruses of		% identity ^b with													
		Sapajus		Cebus		Saimiri		Aotus		Pithecia		Alouatta		Ateles	
		(SapeCMV1)		(CalbCMV1, CcapCMV1)		(SbolCMV1, SalbCMV1)		(AvocCMV1, AnanCMV1)		(PpitCMV1)		(AmacCMV1, AsenCMV1, ApalCMV1)		(ApanCMV1)	
		Nucleotide	Amino acid	Nucleotide	Amino acid	Nucleotide	Amino acid	Nucleotide	Amino acid	Nucleotide	Amino acid	Nucleotide	Amino acid	Nucleotide	Amino acid
Cn	<i>Sapajus</i>			87.6 - 88.7	98.0 - 99.3	76.1 - 77.0	89.1	74.3 - 75.4	85.7	72.9 - 73.1	83.7	74.5 - 74.7	83.0 - 85.0	75.9	80.3
Cd ^c	<i>Cebus</i> ^d	87.6 - 88.7	98.0 - 99.3	95.7 - 99.6	98.0 - 99.3	72.2 - 77.2	87.1 - 88.4	74.0 - 75.4	85.0 - 87.1	72.0 - 72.5	83.0 - 84.4	74.3 - 75.4	81.6 - 83.7	74.5 - 74.7	79.6 - 81.0
	<i>Saimiri</i> ^e	76.1 - 77.4	89.1	75.2 - 77.7	87.1 - 87.8	97.1 - 97.7	99.3 - 100	74.3 - 74.9	85.71	74.7 - 75.6	82.31	74.7 - 76.1	85.0 - 85.7	75.2 - 75.6	83.67
An	<i>Aotus</i> ^f	74.3 - 75.4	85.7 - 86.4	74.0 - 75.6	85.0 - 87.8	74.0 - 74.7	85.7 - 86.4	94.8 - 96.2	96.6 - 98.6	74.0 - 74.7	83.7 - 85.0	71.8 - 74.8	79.6 - 82.3	71.1 - 72.2	81.63
Pd	<i>Pithecia</i>	72.9 - 73.1	83.7	72.0 - 72.5	83.0 - 83.7	74.72	82.3 - 83.3	74.0 - 74.7	84.4 - 85.0	99.6	100	72.9 - 75.2	83.0 - 85.0	75.2 - 75.4	84.35
Ad	<i>Alouatta</i>	74.5 - 74.7	82.3 - 83.0	74.3 - 75.4	81.6 - 83.0	74.9 - 76.1	85.0 - 85.7	71.8 - 73.1	79.6 - 81.6	72.9 - 75.2	83.0 - 85.0	92.1 - 98.9	97.3 - 100	82.2 - 83.5	91.2 - 92.5
	<i>Ateles</i>	75.9	80.3	74.5 - 74.7	79.6 - 80.3	75.4 - 75.6	83.67	71.1 - 71.6	81.63	75.2 - 75.4	84.35	82.2 - 83.5	91.2 - 92.5	-	-
Hd ^g	<i>Homo</i>	64.1 - 64.6	67.35	64.3 - 65.9	66.7 - 68.0	63.2 - 64.3	67.35	70.0 - 70.9	72.1 - 72.8	65.2 - 66.1	70.07	61.6 - 63.7	65.99	62.1 - 63.0	67.35
	<i>Pan</i>	61.85	66.67	63.2 - 63.7	66.0 - 66.7	63.2 - 63.4	66.67	71.6 - 72.0	71.4 - 72.1	66.1 - 66.6	70.07	61.2 - 62.7	66.67	62.08	68.03
	<i>Gorilla</i>	62.98	67.35	63.7 - 63.9	66.7 - 68.0	62.3 - 62.5	67.35	71.33	72.1 - 72.8	62.98	70.75	61.0 - 62.1	65.99	60.95	68.03
Po	<i>Pongo</i>	64.11	69.39	63.4 - 64.1	69.4	65.5 - 65.7	68.03	70.4 - 70.7	71.43	66.14	69.39	62.5 - 63.4	68.0 - 68.7	62.53	68.71
Ce ^g	<i>Macaca</i>	62.1 - 63.4	63.3 - 64.0	59.8 - 61.6	61.9 - 63.3	62.1 - 63.2	64.6 - 65.3	65.9 - 66.6	65.3 - 67.4	63.4 - 63.9	64.6 - 65.3	60.3 - 62.1	64.6 - 66.7	62.5 - 63.0	64.6 - 65.3
	<i>Papio</i>	64.8 - 66.4	64.0 - 64.6	62.1 - 63.4	61.9 - 63.3	62.1 - 62.3	66.0 - 66.7	68.2 - 69.1	64.0 - 65.3	64.6 - 64.8	65.3 - 66.0	62.3 - 63.4	66.0 - 66.7	62.53	65.3
	<i>Mandrillus</i>	64.1 - 65.7	64.0 - 66.0	61.8 - 63.4	61.9 - 64.6	61.4 - 63.0	66.7 - 68.0	67.5 - 68.8	64.6 - 67.4	64.3 - 65.9	66.0 - 68.0	60.9 - 64.6	66.0 - 68.0	61.8 - 62.7	65.3 - 67.4
	<i>Cerco/Chloro</i>	63.7 - 65.5	64.6 - 66.0	61.6 - 68.8	63.3 - 65.3	60.9 - 63.7	66.7 - 68.0	67.5 - 69.3	65.3 - 68.0	63.7 - 65.5	66.7 - 68.7	61.8 - 65.0	66.7 - 68.7	60.5 - 63.2	66.0 - 68.0
Co	<i>Colobus</i>	63.9 - 64.1	65.3	63.9	63.3 - 65.3	63.7 - 64.6	68.7	72.2 - 72.7	68.0	66.1 - 66.4	66.7	63.4 - 66.1	67.4 - 68.0	62.5 - 62.8	66.7

^aNumbers refer to values obtained in comparison with the 447-bp fragment of the conserved DNA polymerase gene that is available for all viruses.^bSequences identified from specimens from the same primate species showing 100% nucleotide identity, e.g., SbolCMV1, AnanCMV1, AmacCMV1, and AsenCMV1, are not included.^cAbbreviations: Cd, Cebidae; Cn, Cebinae; Sn, Saimiriinae; An, Aotinae; Pd, Pitheciidae; Pn, Pitheciinae; Ad, Atelidae; Al, Alouattinae; At, Atelinae; Hd, Hominidae; Hn, Homininae; Po, Pongidae; Ce, Cercopithecidae; Cr, Cercopithecinae; Co, Colobinae.^dNucleotide and amino acid identities of viruses of *Cebus* rely on the sequences generated in this study as well as on sequences of CebHV1 (accession number JQ264772) and CebusHV (accession number AF292067).^eNucleotide and amino acid identities of viruses of *Saimiri* rely on the sequences generated in this study as well as on sequences of SaHV4 (accession number FJ483967) and SscHV (accession number AF292065).^fNucleotide and amino acid identities of viruses of *Aotus* rely on the sequences generated in this study as well as on the sequence of AoHV1 (accession number FJ483970).^gHominidae and Cercopithecidae viral sequences used to calculate nucleotide and amino acid identities correspond to those shown in Fig. 3. Their GenBank accession numbers and associated publications are all reported in the figure and its legend.

17.76 to 52.33 MYA) (Table 4). In the New World clade, three major groups were identified, corresponding to viruses hosted by members of the (i) Pitheciidae, (ii) Atelidae, and (iii) Cebidae. The Pitheciidae viruses diverged from those of the two other groups 22.33 MYA (95% HPD, 16.25 to 28.21 MYA), and intraspecific divergence of PpitCMV1 occurred 1.15 MYA. The divergence between Atelidae and Cebidae viruses is estimated to have occurred 17.16 MYA (95% HPD, 10.29 to 24.25 MYA). Within the group of Atelidae viruses, the divergence between ApanCMV1, identified in *Ateles paniscus*, and viruses identified in *Alouatta* spp. (ApalCMV1, AmacCMV1, and AsenCMV1) is estimated to have occurred 8.29 MYA (95% HPD, 2.57 to 14.82 MYA). Viruses identified in the three different *Alouatta* species (*Alouatta palliata*, *Alouatta macconnelli*, and *Alouatta seniculus*) diverged 3.11 MYA (95% HPD, 0.47 to 6.82 MYA) (ApalCMV1 versus AmacCMV1/AsenCMV1), while AmacCMV1 diverged from AsenCMV1 1.33 MYA (95% HPD, 0.02 to 3.45 MYA). Within the Cebidae group, the divergence between viruses of the Aotinae, Cebinae, and Saimiriinae occurred around 11.54 MYA (95% HPD, 5.82 to 17.89 MYA). Within the group of cytomegaloviruses hosted by the different *Aotus* species, AoHV1, identified in *A. trivirgatus*, diverged from the others about 3.98 MYA (95% HPD, 0.8 to 8.25 MYA), while AnanCMV1 diverged from AvocCMV1 2.15 MYA (95% HPD, 0.2 to 4.88 MYA). Within the group of viruses identified in the Cebinae, CcapCMV1 from *Cebus capucinus* diverged from the others 3.26 MYA (95% HPD, 0.59 to 6.94 MYA). SapCMV1, identified in *Sapajus apella*, diverged from the other viruses detected in *Cebus albifrons* and *Cebus* spp. 2.09 MYA (0.32 to 4.68 MYA). Finally, within the group of viruses identified in the *Saimiri* genus, SsciCMV1/SaHV4, detected in *S. sciureus*, diverged from those hosted by *S. boliviensis* and *Saimiri albigena* (SbolCMV1 and SalbCMV1) 2.68 MYA (95% HPD, 0.28 to 6.14 MYA).

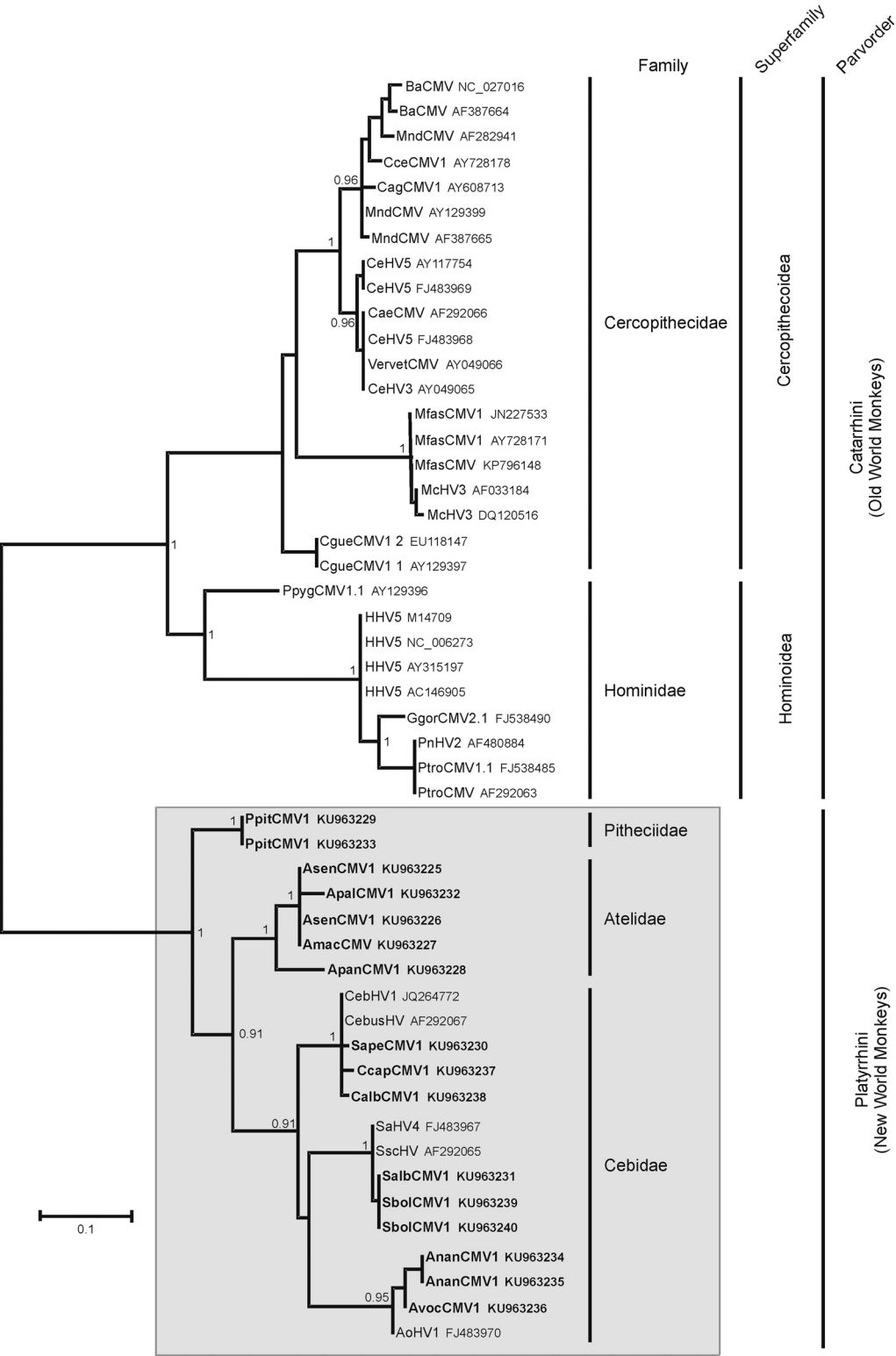


FIG 3 Phylogenetic analysis of primate cytomegalovirus sequences. The phylogenetic tree was derived from the partial amino acid sequences of the DNA polymerase genes (149 aa) of 50 representatives of primate cytomegaloviruses, using the Bayesian method with the JTT+G model of amino acid evolution. Sequences generated in this study are shown in bold. Posterior probabilities of the Bayesian analysis (>0.9) are shown next to the nodes. The scale bar indicates the number of amino acid substitutions per site. The major clades representing Old World and New World primate families, superfamilies (for OWM), and parvorders are labeled on the right side of the figure. The virus names are associated with their accession numbers. Viruses of the Cercopithecoidea comprise those of the chacma (BaCMV NC_027016 [21, 59]) and olive (BaCMV AF387664 [22]) baboons, the moustached guenon (CceCMV1 AY728178), the agile mangabey (CagCMV1 AY608713), the

(Continued on next page)

TABLE 4 Estimates of Platyrrhini divergence times based on CMV DNA polymerase gene sequence data and comparison with other estimates

Node	Divergence time (MYA [95% HPD])		
	This study	Perelman et al. (4)	Jameson Kiesling et al. (16)
Catarrhini/Platyrrhini	32.45 (17.76–52.33)	43.47 (38.55–48.36)	37.72 (36.04–42.07)
Pitheciidae/Atelidae + Cebidae	22.33 (16.25–28.21)	24.82 (20.55–29.25)	25.51 (25.14–26.36)
Atelidae/Cebidae	17.16 (10.29–24.25)	22.76 (18.14–27.08)	24.04 (22.6–25.29)
Atelinae/Alouattinae	8.29 (2.57–14.82)	16.13 (10.52–21.35)	15.29 (13.29–17.99)
Within <i>Alouatta</i>	3.11 (0.47–6.82)	Not determined	5.14 (3.65–6.8)
Within Cebidae	11.54 (5.82–17.89)	19.95 (15.66–24.03)	20.86 (18.48–22.86)
Within <i>Aotus</i>	3.98 (0.8–8.25)	5.54 (3.20–7.85)	4.39 (3.12–5.75)
Within <i>Cebus</i>	3.26 (0.59–6.94)	6.00 (3.13–9.35)	5.19 (3.69–6.78)
Within <i>Saimiri</i>	2.68 (0.28–6.14)	2.24 (1.05–3.73)	0.97 (0.51–1.45)

DISCUSSION

This study is the largest conducted, to date, to molecularly characterize CMVs in NWMs in terms of species diversity. It partially characterized 12 cytomegaloviruses from 12 distinct species belonging to seven genera and three NWM families. BLAST searches of the *Cytomegalovirus* sequences identified further revealed that all but one were new viral sequences close to but distinct from already published CMV sequences from *Aotus trivirgatus*, *Saimiri sciureus*, and *Cebus* spp. The only exception was the viral sequence from *C. albifrons*, which showed 99.6% identity at the nucleotide level to CebusHV (accession number [AF292067](#)) and CebHV1 (accession number [JQ264772](#)), both identified from unspecified *Cebus* spp. These three viral sequences were therefore considered to correspond to the same viral species. In addition, the newly identified viral sequences are completely host specific, with no identification of cross-species transmission in our sample. The observations on sequence comparisons, phylogenetic analysis, and host specificity of the sequences reported in this paper are close to the species demarcation criteria outlined in the 9th ICTV report for formal recognition of new herpesvirus species (38; https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/).

By refining the degeneracy of the PCR primers used to screen the sample collection, we were able to specifically target and identify CMV sequences, even though some of the primates tested were coinfecting with lymphocryptoviruses (36). Indeed, we formerly identified 17 EBV-related viruses from 15 NWM species belonging to seven genera and three families from the same collection of samples (36, 37). These new combinations of screening primers are therefore good molecular tools to be used for future studies. Nevertheless, among the 20 NWM species tested, we did not characterize any CMV sequences from our collection of *Saguinus* and *Lagothrix* samples. Considering the relatively small sampling size for most species belonging to these two genera, with the exception of *Saguinus midas*, it is conceivable that we missed a CMV-like virus from them. Nevertheless, for the other primate species tested, the sampling size was equivalent or even smaller, and we identified CMV sequences for almost all of them. More strikingly, despite the large sample size of *Saguinus midas* monkeys screened (54 individuals) and the different PCR approaches used (different

FIG 3 Legend (Continued)

drill (MndCMV [AF282941](#) and MndCMV [AF387665](#) [strain OCOM6-2] [22, 28]), the mandrill (MndCMV [AY129399](#)), the African green monkey (CeHV5 [AY117754](#), CeHV5 [FJ483969](#) [strain Colburn], CeHV5 [FJ483969](#) [strain 2715], CaeCMV [AF292066](#), VervetCMV [AY049066](#) [strain CSG], and CeHV3 [AY049065](#) [22, 60]), the cynomolgus macaque (MfasCMV1 [JN227533](#) [strain Ottawa], MfasCMV1 [AY728171](#), and MfasCMV [KP796148](#) [strain Mauritius] [61, 62]), the rhesus macaque (McHV3 [AF033184](#) and McHV3 [DQ120516](#) [isolate CMV 180.92] [63, 64]), and the mantled guereza (CgueCMV1.1 [AY129397](#) and CgueCMV1.2 [EU118147](#) [30]). Viruses of the Hominidae comprise those of the Bornean orangutan (PpygCMV1.1 [AY129396](#)), the human (HHV5 [M14709](#) [strain AD169], HHV5 [NC_006273](#) [strain Merlin], HHV5 [AY315197](#) [strain Towne], and HHV5 [AC146905](#) [isolate Toledo] [65–68]), the Western gorilla (GgorCMV2.1 [FJ538490](#) [27]), and the common chimpanzee (PnHV2 [AF480884](#) [strain Heberling], PtroCMV1.1 [FJ538485](#), and PtroCMV [AF292063](#) [27, 66]). Regarding viruses of New World monkeys, in addition to those described in the present study, viruses of the Cebidae comprise those of the capuchin monkey (CebHV1 [JQ264772](#) and CebusHV [AF292067](#) [from *Cebus* spp.]), the common squirrel monkey (SaHV4 [FJ483967](#) and SscHV [AF292065](#)), and the three-striped night monkey (AoHV1 [FJ483970](#)).

combinations of primers with different levels of degeneracy and different PCR cycling conditions), no PCR product was identified. The negativity of the *Saguinus* and *Lagothrix* genera for CMV-related viruses can be explained by a lack of primer matching or by a loss of CMVs during evolution within these genera. Likewise, in our former studies of EBV-related sequences, we were unsuccessful in amplifying EBV sequences from individuals of the *Aotus* and *Alouatta* genera (36, 37). Taken together, these results highlight the need for more in-depth analyses of representative samples of these and other species of these genera to clarify this point. Moreover, for some of the positive samples, we were unsuccessful in generating longer sequences of the DNA polymerase gene. Whether this is due to the low quality/small amount of the remaining DNA or a low viral load or reflects technical difficulties, i.e., an inadequate level of degeneracy of the primers designed for some of these viruses, is not clear. Nonetheless, the sequence data generated here were sufficient to gain insight into the genetic relationships.

Pairwise nucleotide and amino acid sequence comparisons demonstrated that the viral sequences analyzed present different levels of genetic diversity among them (Table 3); the smallest divergences were detected when viral sequences from primates belonging to the same genus were analyzed. Phylogenetic analyses showed that CMV sequences grouped according to the primate genera from which they were detected. Thereafter, the phylogenetic clustering and diversification followed those proposed for NWM species, corroborating the hypothesis of joint evolution of the viruses with the speciation of their hosts (4, 6). In contrast, analyses of NWM EBV sequences have fallen short of achieving a completely resolved phylogeny (36). While a clear cospeciation can be seen in the terminal branchings within major lineages according to the primate subfamilies, the phylogenetic relationships between them are not concordant with the current interpretations of the host pattern of diversification at the family level. In addition, for OWMs, there is a similar incongruence between the *Lymphocryptovirus* phylogeny and that of the corresponding host lineages (39, 40). One can therefore argue that, within the *Herpesviridae* family, DNA polymerase gene sequences from viruses of the *Cytomegalovirus* genus are better molecular markers than those from viruses of the *Lymphocryptovirus* genus for testing hypotheses of herpesvirus-primate coevolution. On the basis of the available data, our analysis nevertheless has two limitations regarding viruses of Cebidae that do not perfectly reflect current interpretations of their hosts' diversification pattern. While viral sequences from members of the Cebidae segregate into three well-supported clades, each corresponding to the host genus from which they were identified, i.e., *Cebus/Sapajus*, *Saimiri*, and *Aotus*, the relationships between the three clades are not phylogenetically supported (Fig. 3). The second limitation concerns SapeCMV1, identified from *Sapajus apella*, which phylogenetically falls within the group of *Cebus* viruses (Fig. 3). Nevertheless, pairwise sequence comparison of SapeCMV1 with the viral sequences identified from *Cebus* spp. shows that the nucleotide divergence of SapeCMV1 is over the maximum 8% observed for viral sequences identified from NWM species of the same genus (Table 3). These combined results (on SapeCMV1 and the other *Cebus* viruses) do not, for the moment, make it possible to confidently separate the *Cebus* genus into two genera as observed on analyses of *Alu* elements and by phylogenomics (4, 18). However, our virus results agree quite well with the mitogenomics findings obtained in recent studies, where *Sapajus* is a taxon within *Cebus* (19). These limits should be resolved by screening an extensive taxon sampling of the different *Sapajus* spp. as well as of Callitrichinae for the presence of cytomegaloviruses.

Finally, these data support virus-host coevolution in terms of branching order as well as divergence time. Indeed, for each NWM genus tested, the estimated timing of diversification of viruses is in agreement with host sequence divergence date estimates from previously published studies (Table 4) (4, 11, 16). Nevertheless, dates obtained at superior taxonomic levels are more recent than those based on different types of data sets or models. These discrepancies can be attributed to the fact that a majority of NWM taxa remain to be tested and that no CMV sequence is available for numerous

genera. This therefore limits the significance of our estimates for the major primate lineages, for the moment, and emphasizes the need for further studies.

Here we conclusively expand our knowledge of the viral diversity, distribution, and evolutionary relationships of NWM CMVs. Even if the evolutionary history of these viruses is not fully resolved, and despite the limitations mentioned above, these results strongly support the hypothesis of coevolution of these new viruses with their hosts. In light of these data, we propose that CMV DNA polymerase gene sequences may serve as genetic markers to define the evolutionary links of their host species. Indeed, despite the number of studies conducted over the past few decades and the fast-growing number of host DNA sequence data sets, a unifying consensus of the evolutionary hierarchy of NWMs has not fully been reached, partly because not all phylogenies from these data sets agree but also due to a large proportion of missing data for some taxa (2, 4–16). The search for and identification of CMV DNA polymerase gene sequences therefore seem to be an alternative to help solve this issue. Given the high prevalence rates of CMVs in wild primates, their spread through close contact with infectious bodily fluids, and their persistence for the lifetime of the host, cytomegalovirus sequences, if present, should be obtained easily through our PCR approach (21, 22, 41–43). Considering the number of all presently known NWM species, we tested only a fraction of their diversity. This suggests that a great number of cytomegaloviruses remain to be identified in this important group of primates. These results argue for a wider and more systematic sampling and exploration of NWMs to evaluate the presence of CMVs and to confirm the usefulness of those sequences as a new molecular tool to infer the systematics of Platyrrhini.

MATERIALS AND METHODS

Sample collection. The collection of blood DNA samples has been described in detail elsewhere (Table 1) (36, 37, 44–46). In brief, we tested a total of 244 DNA samples from 20 NWM species (26 subspecies) belonging to the three families and six of the seven subfamilies, according to Schneider and Sampaio (6). All samples were previously genetically identified by phylogenetic analysis of mitochondrial DNA (mtDNA) genes, including the cytochrome *c* oxidase subunit I (*COX1*) and/or cytochrome *b* (*Cytb*) gene (36).

Ethics. This study is based on samples that were collected several years ago. Biological material from French Guiana was collected in 1994 and 1995, along the Sinnamary River, Petit Saut Hydroelectric Dam, under the supervision of veterinarians of the “Faune Sauvage” team, led by Jean-Christophe Vié (47). Blood sampling from live animals was carried out in accordance with French animal care regulations and the laws of France. The other samples were collected directly from animals killed in the field by indigenous hunters for their own purposes, with the full consent of the hunters and in accordance with the laws of Brazil, Colombia, Mexico, Peru, Guatemala, and Argentina.

Initial screening of samples. Molecular screening was done by seminested PCR amplification with degenerate consensus primers targeting highly conserved amino acid motifs of the herpesvirus DNA polymerase gene (Table 2). To maximize the chances of amplifying CMV-like sequences, the primers of Rose et al. were refined based on the alignment of all primate cytomegalovirus DNA polymerase gene sequences available in the databases (Table 2) (48). The CMV3F1, CMV3F2, and CMV3R1 primers were designed and used in place of primers QAHNA, VYGA, and GDTD1B, respectively, while the sense primer DFASA was kept as it was. Two different combinations of primers (DFASA/CMV3R1 and CMV3F1/CMV3R1) were used on each DNA sample in separate reaction mixtures for the first-round PCR (Fig. 2). In the second-round PCR, the CMV3F2/CMV3R1 primers were used. PCR analyses were performed at an annealing temperature of 60°C, with an elongation time of 30 s, for 35 cycles. All amplicons of approximately the expected size were purified, cloned by TA cloning, and sent for sequencing to Genewiz, Takeley, United Kingdom.

Partial DNA polymerase gene amplification. To obtain the nucleotide sequence upstream of the CMV3F2 motif, a degenerate primer (CMV3R2) was derived from the complementary sequences of the small fragments and used in an nPCR amplification with the DFASA or CMV3F1 primer pool, using the initial PCR products as templates (Table 2; Fig. 2). Then, to generate longer segments of the DNA polymerase gene for each newly identified virus, we tried to obtain upstream and downstream sequences by using different sets of consensus degenerate and species-specific primers designed using the primate CMV DNA polymerase gene sequence alignment (Table 2; Fig. 2). Overlapping amplicons were generated, cloned, and sequenced as described above. Each sequence corresponds to at least three independent clones sequenced on both strands. Contig sequences were then assembled using MEGA 5.05 software (49).

Phylogenetic analysis. Raw sequences were analyzed and edited in MEGA 5.05 (49). Sequences were confirmed to be CMV sequences by homology analysis using the NCBI BLAST search tool (50). Multiple-sequence alignments with all other previously published primate CMV sequences were constructed using ClustalW, and alignments were checked manually. Sequences were translated into amino acids,

and both nucleotide and amino acid sequences were checked for irregularities. Hypervariable regions were removed before performing analyses. Sequence identity was calculated using uncorrected *P* distances. Phylogenetic trees were inferred from the aligned amino acid sequences. The JTT+G model was selected as the best-fitting model of amino acid evolution under the corrected Akaike information criterion (AICc) by use of MEGA 5.05 and was used for the Bayesian approach (51), which was performed with MrBayes 3.2.2 to infer phylogenetic relationships (52). Markov chain Monte Carlo (MCMC) simulations were run for 10,000,000 generations, with four simultaneous chains, using a sample frequency of 500 and a burn-in of 25,000. Majority-rule consensus trees were obtained from the output. Validation of the inference was assessed based on the standard deviation (SD) of split frequencies, which was less than the expected threshold value of 0.01 (calculated value of 0.002).

Time calibration. Divergence times between clades were calculated using a relaxed Bayesian molecular clock model with an uncorrelated lognormal rate of distribution, as implemented in BEAST, version 1.7.4 (53). A monophyletic constraint was imposed for the nodes used to calibrate evolutionary rates. Two calibration points were applied as normal priors to constrain the ages of the Platyrrhini and Homo-Pan clades: the time of the most recent common ancestor (tMRCA) of Platyrrhini to 23.5 MYA (SD = 3.0) and that of Homo-Pan to 6.5 MYA (SD = 0.8) (54–56). These calibration points are based on fossil dates (57). The amino acid substitution model was the same as that described above. A Yule process of speciation was used as the tree prior. Results were obtained for 10,000,000 generations, with the first 2,500,000 discarded as burn-in and parameter values sampled every 100 generations. The effective sample sizes for parameter estimates and convergence were checked using Tracer, version 1.5.0, software (58). The final tree, with divergence estimates and their 95% HPDs, was computed in TreeAnnotator v1.4.5 (53).

Accession number(s). The sequences reported in this paper have been deposited in the GenBank database under accession numbers KU963225 to KU963240.

ACKNOWLEDGMENTS

Warm thanks go to Benoît de Thoisy for providing NWM DNA samples from French Guiana.

S.J. was supported by a grant from the Université de la Guyane, École Doctorale 587-Diversités, Santé et Développement en Amazonie, and by a grant from the Collectivité Territoriale de la Guyane. This study was funded by a European commission REGPOT-CT-2011-285837-STRonGer grant within the FP7 and an Investissement d'Avenir grant managed by the Agence Nationale de la Recherche (CEBA) (grant ANR-10-LABX-25-01). It was also supported by grants 1203-09-11239 (Colciencias) and 120108-E0102141 (Fondo para la Acción Ambiental) to M.R.-G.

The funders had no role in study design, data collection and interpretation, or the decision to submit the work for publication.

We declare that we have no competing financial interests.

A.L., M.R.-G., and V.L. contributed to the study design. M.R.-G. collected some of the samples. S.J., D.D., J.-F.P., A.L., and V.L. performed the molecular and genetic analyses. S.J., A.L., and V.L. analyzed the data and wrote the article. All authors participated in the final writing and editing.

REFERENCES

1. Groves CP. 2005. Order Primates, p 111–184. In Wilson DE, Reeder DM (ed), *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*, 3rd ed, vol 2. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD.
2. Rylands AB, Mittermeier RA. 2009. The diversity of the New World primates (Platyrrhini): an annotated taxonomy, p 23–54. In Garber PA, Estrada A, Bicca-Marques JC, Heymann EW, Stier KB (ed), *South American primates—comparative perspectives in the study of behavior, ecology, and conservation*. Springer-Verlag New York, New York, NY. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-78705-3>.
3. Voevodin AF, Marx PA, Jr. 2009. Classification of nonhuman primates, p 3–38. In *Simian virology*. Wiley-Blackwell, Ames, IA.
4. Perelman P, Johnson WE, Roos C, Seuanez HN, Horvath JE, Moreira MA, Kessing B, Pontius J, Roelke M, Rumpel Y, Schneider MP, Silva A, O'Brien SJ, Pecon-Slatery J. 2011. A molecular phylogeny of living primates. *PLoS Genet* 7:e1001342. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001342>.
5. Schneider H, Canavez FC, Sampaio I, Moreira MA, Tagliaro CH, Seuanez HN. 2001. Can molecular data place each neotropical monkey in its own branch? *Chromosoma* 109:515–523. <https://doi.org/10.1007/s004120000106>.
6. Schneider H, Sampaio I. 2015. The systematics and evolution of New World primates—a review. *Mol Phylogenet Evol* 82:348–357. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.10.017>.
7. Schneider H, Sampaio I, Harada ML, Barroso CM, Schneider MP, Czelusniak J, Goodman M. 1996. Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini, primates) based on two unlinked nuclear genes: IRBP intron 1 and epsilon-globin sequences. *Am J Phys Anthropol* 100:153–179. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199606\)100:2<153::AID-AJPA1>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199606)100:2<153::AID-AJPA1>3.0.CO;2-Z).
8. Schneider H, Schneider MP, Sampaio I, Harada ML, Stanhope M, Czelusniak J, Goodman M. 1993. Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini, primates). *Mol Phylogenet Evol* 2:225–242. <https://doi.org/10.1006/mpev.1993.1022>.
9. Rylands AB, Mittermeier RA, Silva JS, Jr. 2012. Neotropical primates: taxonomy and recently described species and subspecies. *Int Zoo Yearb* 46:11–24. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.2011.00152.x>.
10. Rylands AB, Schneider H, Langguth A, Mittermeier RA, Groves CP, Rodrigues-Luna E. 2000. An assessment of the diversity of New World primates. *Neotrop Primates* 8:61–93.
11. Opazo JC, Wildman DE, Prychitko T, Johnson RM, Goodman M. 2006. Phylogenetic relationships and divergence times among New World

- monkeys (Platyrrhini, Primates). *Mol Phylogenet Evol* 40:274–280. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.11.015>.
12. Wildman DE, Jameson NM, Opazo JC, Yi SV. 2009. A fully resolved genus level phylogeny of neotropical primates (Platyrrhini). *Mol Phylogenet Evol* 53:694–702. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.07.019>.
 13. Singer SS, Schmitz J, Schwegk C, Zischler H. 2003. Molecular cladistic markers in New World monkey phylogeny (Platyrrhini, Primates). *Mol Phylogenet Evol* 26:490–501. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00312-3](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00312-3).
 14. Ray DA, Xing J, Hedges DJ, Hall MA, Laborde ME, Anders BA, White BR, Stoilova N, Fowlkes JD, Landry KE, Chemnick LG, Ryder OA, Batzer MA. 2005. Alu insertion loci and platyrrhine primate phylogeny. *Mol Phylogenet Evol* 35:117–126. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.10.023>.
 15. Osterholz M, Walter L, Roos C. 2009. Retropositional events consolidate the branching order among New World monkey genera. *Mol Phylogenet Evol* 50:507–513. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.12.014>.
 16. Jameson Kiesling NM, Yi SV, Xu K, Gianluca Sperone F, Wildman DE. 2015. The tempo and mode of New World monkey evolution and biogeography in the context of phylogenomic analysis. *Mol Phylogenet Evol* 82:386–399. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.03.027>.
 17. Alfaro JW, Silva JD, Jr, Rylands AB. 2012. How different are robust and gracile capuchin monkeys? An argument for the use of *Sapajus* and *Cebus*. *Am J Primatol* 74:273–286. <https://doi.org/10.1002/ajp.22007>.
 18. Martins AM, Jr, Amorim N, Carneiro JC, de Mello Affonso PR, Sampaio I, Schneider H. 2015. Alu elements and the phylogeny of capuchin (*Cebus* and *Sapajus*) monkeys. *Am J Primatol* 77:368–375. <https://doi.org/10.1002/ajp.22352>.
 19. Ruiz-Garcia M, Castillo MI, Luengas-Villamil K. 2016. It is misleading to use *Sapajus* (robust capuchins) as a genus? A review of the evolution of the capuchins and suggestions on their systematics, p 209–268. In Ruiz-Garcia M, Shostell JM (ed), *Phylogeny, molecular population genetics, evolutionary biology and conservation of the neotropical primates*. Nova Science Publisher, Inc, New York, NY.
 20. Davison AJ, Eberle R, Ehlers B, Hayward GS, McGeoch DJ, Minson AC, Pellett PE, Roizman B, Studdert MJ, Thiry E. 2009. The order Herpesvirales. *Arch Virol* 154:171–177. <https://doi.org/10.1007/s00705-008-0278-4>.
 21. Blewett EL, White G, Saliki JT, Eberle R. 2001. Isolation and characterization of an endogenous cytomegalovirus (BaCMV) from baboons. *Arch Virol* 146:1723–1738. <https://doi.org/10.1007/s007050170059>.
 22. Blewett EL, Lewis J, Gadsby EL, Neubauer SR, Eberle R. 2003. Isolation of cytomegalovirus and foamy virus from the drill monkey (*Mandrillus leucophaeus*) and prevalence of antibodies to these viruses amongst wild-born and captive-bred individuals. *Arch Virol* 148:423–433. <https://doi.org/10.1007/s00705-002-0937-9>.
 23. Asher DM, Gibbs CJ, Jr, Lang DJ, Gajdusek DC, Chanock RM. 1974. Persistent shedding of cytomegalovirus in the urine of healthy rhesus monkeys. *Proc Soc Exp Biol Med* 145:794–801. <https://doi.org/10.3181/00379727-145-37897>.
 24. Malherbe H, Harwin R. 1957. Seven viruses isolated from the vervet monkey. *Br J Exp Pathol* 38:539–541.
 25. Black PH, Hartley JW, Rowe WP. 1963. Isolation of a cytomegalovirus from African green monkey. *Proc Soc Exp Biol Med* 112:601–605. <https://doi.org/10.3181/00379727-112-28115>.
 26. Wroblewska Z, Gilden D, Devlin M, Huang ES, Rorke LB, Hamada T, Furukawa T, Cummins L, Kalter S, Koprowski H. 1979. Cytomegalovirus isolation from a chimpanzee with acute demyelinating disease after inoculation of multiple sclerosis brain cells. *Infect Immun* 25:1008–1015.
 27. Leendertz FH, Deckers M, Schempp W, Lankester F, Boesch C, Mugisha L, Dolan A, Gatherer D, McGeoch DJ, Ehlers B. 2009. Novel cytomegaloviruses in free-ranging and captive great apes: phylogenetic evidence for bidirectional horizontal transmission. *J Gen Virol* 90:2386–2394. <https://doi.org/10.1099/vir.0.011866-0>.
 28. Lacoste V, Maucel A, Dubreuil G, Lewis J, Georges-Courbot MC, Rigoulet J, Petit T, Gessain A. 2006. Simian homologues of human gamma-2 and betaherpesviruses in mandrill and drill monkeys. *J Virol* 74: 11993–11999. <https://doi.org/10.1128/JVI.74.24.11993-11999.2000>.
 29. Murthy S, Couacy-Hymann E, Metzger S, Nowak K, De Nys H, Boesch C, Wittig R, Jarvis MA, Leendertz FH, Ehlers B. 2013. Absence of frequent herpesvirus transmission in a nonhuman primate predator-prey system in the wild. *J Virol* 87:10651–10659. <https://doi.org/10.1128/JVI.01104-13>.
 30. Prepens S, Kreuzer KA, Leendertz F, Nitsche A, Ehlers B. 2007. Discovery of herpesviruses in multi-infected primates using locked nucleic acids (LNA) and a bigenic PCR approach. *Virol J* 4:84. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-4-84>.
 31. Anoh AE, Murthy S, Akoua-Koffi C, Couacy-Hymann E, Leendertz FH, Calvignac-Spencer S, Ehlers B. 2017. Cytomegaloviruses in a community of wild nonhuman primates in Tai National Park, Cote D'Ivoire. *Viruses* 10:E11. <https://doi.org/10.3390/v10010011>.
 32. Seimon TA, Olson SH, Lee KJ, Rosen G, Ondzie A, Cameron K, Reed P, Anthony SJ, Joly DO, Karesh WB, McAloose D, Lipkin WI. 2015. Adenovirus and herpesvirus diversity in free-ranging great apes in the Sangha region of the Republic of Congo. *PLoS One* 10:e0118543. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118543>.
 33. Daniel MD, Melendez LV, King NW, Barahona HH, Fraser CE, Garcia FG, Silva D. 1973. Isolation and characterization of a new virus from owl monkeys: herpesvirus aotus type 3. *Am J Phys Anthropol* 38:497–500. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330380254>.
 34. Daniel MD, Melendez LV, King NW, Fraser CE, Barahona HH, Hunt RD, Garcia FG, Trum BF. 1971. Herpes virus aotus: a latent herpesvirus from owl monkeys (*Aotus trivirgatus*) isolation and characterization. *Proc Soc Exp Biol Med* 138:835–845. <https://doi.org/10.3181/00379727-138-36002>.
 35. Rangan SR, Chaiban J. 1980. Isolation and characterization of a cytomegalovirus from the salivary gland of a squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Lab Anim Sci* 30:532–540.
 36. Lavergne A, de Thoisy B, Pouliquen JF, Ruiz-Garcia M, Lacoste V. 2011. Partial molecular characterisation of New World non-human primate lymphocryptoviruses. *Infect Genet Evol* 11:1782–1789. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.07.017>.
 37. de Thoisy B, Pouliquen JF, Lacoste V, Gessain A, Kazanji M. 2003. Novel gamma-1 herpesviruses identified in free-ranging New World monkeys (golden-handed tamarin [*Saguinus midas*], squirrel monkey [*Saimiri sciureus*], and white-faced saki [*Pithecia pithecia*]) in French Guiana. *J Virol* 77:9099–9105. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.16.9099-9105.2003>.
 38. Pellett PE, Davison AJ, Eberle R, Hayward BEGS, Lacoste V, Minson AC, Nicholas J, Roizman B, Studdert MJ, Wang F. 2011. Order *Herpesvirales*, p 99–107. In King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ (ed), *Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Inc, Oxford, United Kingdom.
 39. Ehlers B, Ochs A, Leendertz F, Goltz M, Boesch C, Matz-Rensing K. 2003. Novel simian homologues of Epstein-Barr virus. *J Virol* 77:10695–10699. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.19.10695-10699.2003>.
 40. Ehlers B, Spiess K, Leendertz F, Peeters M, Boesch C, Gatherer D, McGeoch DJ. 2010. Lymphocryptovirus phylogeny and the origins of Epstein-Barr virus. *J Gen Virol* 91:630–642. <https://doi.org/10.1099/vir.0.017251-0>.
 41. Mocarski ES, Shenk T, Griffiths PD, Pass RF. 2013. Cytomegaloviruses, p 1960–2014. In Knipe DM, Howley PM, Cohen JL, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Racaniello VR, Roizman B (ed), *Fields virology*, 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
 42. Cannon MJ, Hyde TB, Schmid DS. 2011. Review of cytomegalovirus shedding in bodily fluids and relevance to congenital cytomegalovirus infection. *Rev Med Virol* 21:240–255. <https://doi.org/10.1002/rmv.695>.
 43. Reeves M, Sinclair J. 2008. Aspects of human cytomegalovirus latency and reactivation. *Curr Top Microbiol Immunol* 325:297–313.
 44. de Thoisy B, Vogel I, Reynes JM, Pouliquen JF, Carme B, Kazanji M, Vie JC. 2001. Health evaluation of translocated free-ranging primates in French Guiana. *Am J Primatol* 54:1–16.
 45. Ruiz-Garcia M, Castillo MI, Vasquez C, Rodriguez K, Pinedo-Castro M, Shostell J, Leguizamon N. 2010. Molecular systematics and phylogeography of the white-fronted capuchin (*Cebus albifrons*; Cebidae, Primates) by means of mtCOII gene sequences. *Mol Phylogenet Evol* 57:1049–1061. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.09.002>.
 46. Ruiz-Garcia M, Pinedo-Castro MO. 2010. Molecular systematics and phylogeography of the genus *Lagothrix* (Atelidae, Primates) by means of the mitochondrial COII gene. *Folia Primatol (Basel)* 81:109–128. <https://doi.org/10.1159/000315070>.
 47. Vie JC. 1999. Wildlife rescues—the case of the Petit Saut hydroelectric dam in French Guiana. *Oryx* 33:115–126.
 48. Rose TM, Strand KB, Schultz ER, Schaefer G, Rankin GW, Jr, Thouless ME, Tsai CC, Bosch ML. 1997. 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.
 49. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 28:2731–2739. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>.
 50. Johnson M, Zaretskaya I, Raytselis Y, Merezuk Y, McGinnis S, Madden TL. 2008. NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic Acids Res* 36: W5–W9. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn201>.

51. Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2011. ProtTest 3: fast selection of best-fit models of protein evolution. *Bioinformatics* 27: 1164–1165. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr088>.
52. Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP. 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst Biol* 61:539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>.
53. Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol Biol Evol* 29:1969–1973. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss075>.
54. Poux C, Douzery EJ. 2004. Primate phylogeny, evolutionary rate variations, and divergence times: a contribution from the nuclear gene IRBP. *Am J Phys Anthropol* 124:1–16. <https://doi.org/10.1002/ajpa.10322>.
55. Kay RF, Fleagle JG, Mitchell TR, Colbert M, Bown T, Powers DW. 2008. The anatomy of *Dolichocebus gaimanensis*, a stem platyrrhine monkey from Argentina. *J Hum Evol* 54:323–382. <https://doi.org/10.1016/j.jhevol.2007.09.002>.
56. Vignaud P, Durringer P, Mackaye HT, Likies A, Blondel C, Boissier JR, De Bonis L, Eisenmann V, Etienne ME, Geraads D, Guy F, Lehmann T, Lihoreau F, Lopez-Martinez N, Mourer-Chauvire C, Otero O, Rage JC, Schuster M, Viriot L, Zazzo A, Brunet M. 2002. Geology and palaeontology of the Upper Miocene Toros-Menalla hominid locality, Chad. *Nature* 418:152–155. <https://doi.org/10.1038/nature00880>.
57. Tavaré S, Marshall CR, Will O, Soligo C, Martin RD. 2002. Using the fossil record to estimate the age of the last common ancestor of extant primates. *Nature* 416:726–729. <https://doi.org/10.1038/416726a>.
58. Rambaut A, Drummond AJ. 2009. Tracer, version 1.5.0. <http://beast.community/tracer>.
59. Blewett EL, Sherrod CJ, Texier JR, Conrad TM, Dittmer DP. 2015. Complete genome sequences of *Mandrillus leucophaeus* and *Papio ursinus* cytomegaloviruses. *Genome Announc* 3:e00781–15. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00781-15>.
60. Johnson G, Dick D, Ayers M, Petric M, Tellier R. 2003. Detection and species-level identification of primate herpesviruses with a comprehensive PCR test for human herpesviruses. *J Clin Microbiol* 41:1256–1258. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.3.1256-1258.2003>.
61. Marsh AK, Willer DO, Ambagala AP, Dzamba M, Chan JK, Pilon R, Fournier J, Sandstrom P, Brudno M, MacDonald KS. 2011. Genomic sequencing and characterization of cynomolgus macaque cytomegalovirus. *J Virol* 85:12995–13009. <https://doi.org/10.1128/JVI.05840-11>.
62. Russell JN, Marsh AK, Willer DO, Ambagala AP, Dzamba M, Chan JK, Pilon R, Fournier J, Brudno M, Antony JM, Sandstrom P, Evans BJ, MacDonald KS. 2016. A novel strain of cynomolgus macaque cytomegalovirus: implications for host-virus co-evolution. *BMC Genomics* 17:277. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2588-3>.
63. Swanson R, Bergquam E, Wong SW. 1998. Characterization of rhesus cytomegalovirus genes associated with anti-viral susceptibility. *Virology* 240:338–348. <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8935>.
64. Rivailler P, Kaur A, Johnson RP, Wang F. 2006. Genomic sequence of rhesus cytomegalovirus 180.92: insights into the coding potential of rhesus cytomegalovirus. *J Virol* 80:4179–4182. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.8.4179-4182.2006>.
65. Kouzarides T, Bankier AT, Satchwell SC, Weston K, Tomlinson P, Barrell BG. 1987. Sequence and transcription analysis of the human cytomegalovirus DNA polymerase gene. *J Virol* 61:125–133.
66. Davison AJ, Dolan A, Akter P, Addison C, Dargan DJ, Alcendor DJ, McGeoch DJ, Hayward GS. 2003. The human cytomegalovirus genome revisited: comparison with the chimpanzee cytomegalovirus genome. *J Gen Virol* 84:17–28. <https://doi.org/10.1099/vir.0.18606-0>.
67. Dunn W, Chou C, Li H, Hai R, Patterson D, Stolz V, Zhu H, Liu F. 2003. Functional profiling of a human cytomegalovirus genome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:14223–14228. <https://doi.org/10.1073/pnas.2334032100>.
68. Murphy E, Yu D, Grimwood J, Schmutz J, Dickson M, Jarvis MA, Hahn G, Nelson JA, Myers RM, Shenk TE. 2003. Coding potential of laboratory and clinical strains of human cytomegalovirus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:14976–14981. <https://doi.org/10.1073/pnas.2136652100>.

DEUXIÈME ARTICLE:

Novel herpesviruses of neotropical bats and their relationships with other members of the *Herpesviridae* family.

Propos Introductif

Depuis la description des premières séquences d'herpèsvirus de chauves-souris en 2007, de nouvelles séquences sont continuellement décrites dans la littérature. Ces séquences ont été caractérisées par des approches moléculaires, y compris des approches de métagénomique, à partir de prélèvements tissulaires, oraux et rectaux. Ces séquences virales ont été trouvées chez des chauves-souris des cinq continents, indiquant une distribution mondiale. Elles ont été identifiées dans la majorité des cas d'animaux apparemment sains. D'un point de vue phylogénétique, les chauves-souris abritent une grande diversité d'herpèsvirus qui se répartissent au sein des trois sous-familles virales. Au sein d'une même sous-famille (ou des genres) les séquences d'herpèsvirus de chauves-souris tendent à se grouper entre elles.

Ainsi, lorsque nous avons démarré ce projet, de manière tout à fait singulière, seule une séquence d'herpèsvirus identifiée chez une espèce de chauves-souris du Brésil était décrite dans la littérature en dépit de l'abondante production de données des dernières années. Par conséquent, il nous semblait essentiel d'améliorer nos connaissances et notre compréhension de la diversité génétique des virus associés aux chauves-souris. Nous nous sommes donc intéressés à rechercher et à mettre en évidence la présence de virus appartenant à la famille des *Herpesviridae* chez 11 espèces de Guyane et de Martinique.

Nous avons testé plus de 195 prélèvements de sang de chauves-souris par la même approche que celle utilisée sur les primates et de nouvelles séquences virales ont pu être identifiées chez toutes les espèces de chauves-souris testées. Nous avons obtenu des séquences partielles des gènes de l'*ADN polymérase* ainsi que de la *Glycoprotéine B* pour la plupart d'entre eux. L'analyse des séquences a révélé qu'elles se répartissaient au sein des deux sous-familles, *Beta-* et *Gamma-herpesvirinae*. La plupart correspondent à des *Gamma-herpesvirinae*. Ce travail représente la plus large étude conduite à ce jour en termes de

diversité d'espèces hôtes originaires de cette région géographique. En parallèle, les chauves-souris ont toutes été identifiées au niveau morphologique et moléculaire. Les analyses phylogénétiques des séquences *Beta-* et *Gammaherpesvirinae* ont mis en évidence l'existence de différents clades bien définis en fonction des différentes familles hôtes. De plus, ces clusters sont en harmonie avec les relations évolutives de la plupart des grands groupes au sein des familles, notamment pour les *Betaherpesvirinae*. Les données obtenues pour les *Gammaherpesvirinae* sont plus complexes.

Novel herpesviruses of neotropical bats and their relationships with other members of the Herpesviridae family.

Samantha James,^{a,b} Damien Donato,^a Anne Lavergne,^{a,b} Vincent Lacoste^{a,b,c,d,#}

^a Laboratoire des Interactions Virus-Hôtes, Institut Pasteur de la Guyane, Cayenne, French Guiana

^b Université de la Guyane, Ecole doctorale 587 « Diversités, Santé et Développement en Amazonie », Cayenne, French Guiana

^c Département de Virologie, Institut Pasteur, Paris, France

^d Current affiliation: Unité de Biologie des Infections Virales Emergentes, Centre International de Recherche en Infectiologie, Institut Pasteur, Lyon, France

Running head: Herpesviruses of New World bat species

Address correspondence to Vincent Lacoste, vincent.lacoste@pasteur.fr

Word counts: Abstract **265 words** Main text **5 842 words**

Figures # **3** Tables # **1** Supplementary Tables # **4**

ABSTRACT (265 words)

In the past decade, a large number of studies have identified herpesvirus sequences from many bat species around the world. Nevertheless, the discovery of bat herpesviruses is geographically uneven. Of the various bat species tested so far, only a few were from the New World. Seeking to investigate the distribution and diversity of herpesviruses circulating in neotropical bats, we carried out a molecular screening of 195 blood DNA samples from 11 species of three bat families (Phyllostomidae, Mormoopidae and Molossidae). Using polymerase chain reaction amplification, with degenerate consensus primers targeting highly conserved amino acid motifs of the herpesvirus *DNA polymerase* and *Glycoprotein B* genes, we have characterized novel viral sequences from all tested species. BLAST searches, pairwise nucleotide and amino acid sequence comparisons, as well as phylogenetic analyses confirmed that they all belonged to the *Herpesviridae* family, of the *beta*- and *Gamma-herpesvirinae* subfamilies. Fourteen partial *DNA polymerase* gene sequences, of which three *beta*- and eleven *gamma*-herpesviruses were identified. Twelve partial *Glycoprotein B* gene sequences, all *gamma*-herpesviruses, were characterized. Every sequence was specific to a bat species and, in some species (*Desmodus rotundus*, *Carollia perspicillata* and *Pteronotus rubiginosus*), multiple viruses were identified. Phylogenetic analyses of *beta*- and *gamma*-herpesvirus sequences allowed identifying bat-specific clades. Those composed of sequences obtained from different bat species belonging to distinct sub-families follow the taxonomy of bats. This study confirms the astonishing diversity of bat herpesviruses and broadens our knowledge of their host range. Nevertheless, it also emphasizes the fact that, to fully appreciate the details of the evolutionary history of these viruses, much remains to be done at various taxonomic levels.

Keywords: Chiropters, Beta-herpesvirus, Gamma-herpesvirus, *DNA polymerase*, *Glycoprotein B*, evolution, phylogeny.

44 **HIGHLIGHTS**

- 45 • Molecular screening was carried out on 11 bat species from French Guiana and Martinique.
- 46 • Partial *DNA polymerase* gene sequences of fourteen viruses were characterized, three beta-
- 47 and eleven gamma-herpesviruses, as well as twelve *Glycoprotein B*, all of gamma-
- 48 herpesviruses.
- 49 • Genetic characterization of these sequences reveals a high degree of genetic divergence.
- 50 • On a phylogenetic viewpoint, most of the newly identified herpesvirus sequences fall within
- 51 bat-specific clades well-correlated with the taxonomy of their hosts.
- 52 • This study is the largest conducted in terms of species diversity from the New World.

1. INTRODUCTION

With over 1,200 species, representing more than 20% of all registered mammal species, Chiroptera is the second-largest species-rich mammalian order (Fenton, 1997). Bats are present on all continents except the poles and a few isolated oceanic islands. They are highly diverse in terms of their anatomy and lifestyles, and have different diets (insectivorous, frugivorous, nectarivorous, carnivorous, piscivorous or hematophagous). Thanks to their biological traits, bats provide key ecosystem services (Kunz et al., 2011; López-Baucells et al., 2018). At the same time, as a natural reservoir of many viruses, their global distribution, abundance, ability to fly and migrate over large distances, diversity of diets and sociality, are all factors that favor the acquisition and spread of viruses (Calisher et al., 2006; Drexler et al., 2012; Mackenzie, 2005; Wong et al., 2007). They are thus considered to play a major role in the emergence and transmission of zoonotic viruses such as lyssaviruses, coronaviruses, paramyxoviruses or filoviruses (Baker et al., 2013b; Calisher et al., 2006; Davis et al., 2006; Freuling et al., 2011; Halpin et al., 2000; Kupferschmidt, 2013; Leroy et al., 2005; Li, 2005; Luby et al., 2009; Smith and Wang, 2013; Towner et al., 2009; Wong et al., 2007; Yob et al., 2001; Zaki et al., 2012). Bats are also carriers of other viruses of which adeno-, astro-, polyoma-, picorna- or even herpes-viruses (Drexler et al., 2011; Fagrouch et al., 2012; Jánoska et al., 2011; Lau et al., 2011; Y. Li et al., 2010).

Herpesviruses of mammals all belong to the *Herpesviridae* family. Members of this viral family are grouped into three subfamilies (*Alpha-*, *Beta-* and *Gamma-herpesvirinae*) and 13 genera (Davison et al., 2009; Pellett et al., 2011). This repartition into subfamilies and genera reflects the diversity of the different known viral species. This diversity concerns the nature of the host and the cellular tropism as well as the functional organization of the viral genome and the pathogenic properties. In addition, each mammal species can carry multiple herpesvirus species. Most

herpesviruses are thought to have evolved in association with a single host species. However, there are examples of cross-species transmission (Ehlers et al., 2008). The first description of bat herpesvirus sequences dated back from 2007 (Wibbelt et al., 2007). Over the past decade, dozens of herpesvirus sequences have been described from different bat species on every continent (Anthony et al., 2013; Baker et al., 2013a; Dacheux et al., 2014; Dietrich et al., 2018; Donaldson et al., 2010; Escalera-Zamudio et al., 2016; Ge et al., 2012; Geldenhuys et al., 2018; He et al., 2013; Holz et al., 2018; Hu et al., 2017; Jánoska et al., 2011; L. Li et al., 2010; Molnár et al., 2008; Mühlendorfer et al., 2011; Noguchi et al., 2018; Paige Brock et al., 2013; Pozo et al., 2016; Razafindratsimandresy et al., 2009; Salmier et al., 2017; Sano et al., 2015; Sasaki et al., 2014; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018; Wada et al., 2018; Watanabe et al., 2010, 2009; Wray et al., 2016; Wu et al., 2012; Yang et al., 2013; Zhang et al., 2012; Zheng et al., 2016, 2018). Most of them were characterized from apparently healthy animals sampled during trapping campaigns in the frame of random surveillance programs. These sequences were obtained either by PCR approaches specifically targeting different genes of this viral family or through metagenomic analyses from feces, anal swabs, digestive tract and saliva samples and, to a lesser extent, from tissue, urine and blood samples or cell cultures (Ehlers et al., 1999; Mizutani et al., 2007; Rose et al., 1997; VanDevanter et al., 1996; Watanabe et al., 2008). Metagenomic studies were mostly dedicated to the evaluation of the virome of the investigated bat species (Baker et al., 2013a; Dacheux et al., 2014; Donaldson et al., 2010; Ge et al., 2012; Geldenhuys et al., 2018; Hu et al., 2017; L. Li et al., 2010; Salmier et al., 2017; Wu et al., 2016, 2012). They allowed identifying already known or new virus sequences, some of which of herpesviruses. Others were conducted to characterize herpesvirus genomic sequences (Noguchi et al., 2018; Sasaki et al., 2014; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018; Zhang et al., 2012). Most sequences thus corresponded to partial or complete sequences of the *Glycoprotein B*, *DNA polymerase* or *terminase* genes. Five full-length

genomic sequences have also been described: one alpha (Fruit bat alphaherpesvirus 1, FBAHV1 from *Pteropus* sp.), one beta (*Miniopterus schreibersii* Herpesvirus, MsHV from *M. schreibersii*) and three gamma-herpesviruses (*Eptesicus fuscus* Herpesvirus, *Ef_HV* from *E. fuscus*; Bat gammaherpesvirus 8, BGHV8 from *Myotis velifer incautus* and *Rhinolophus* gammaherpesvirus 1, RGHV1 from *R. ferrumequinum*) (Noguchi et al., 2018; Sasaki et al., 2014; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018; Zhang et al., 2012). To date, two bat herpesviruses (FBAHV1 and BGHV8) have been recognized as species by the International Committee for Taxonomy of Viruses (ICTV) according to the latest master species list (MSL# 34) released on March 08, 2019 (<https://talk.ictvonline.org/files/master-species-lists/m/msl/8266>). Their ICTV official names are *Pteropodid alphaherpesvirus 1* (PtAHV1) and *Vespertilionid gammaherpesvirus 1* (VeGHV1). They were classified in the *Simplexvirus* and *Percavirus* genera, respectively. As of September 2019, when it was last updated, the DBatVir (<http://www.mgc.ac.cn/DBatVir/>) database, which lists bat viral sequences identified from the literature and from records published in the National Center for Biotechnology Information databases (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>), reported 233 bat herpesvirus sequences (Chen et al., 2014). A few others have not yet been included (Holz et al., 2018; Noguchi et al., 2018; Wada et al., 2018). They are distributed among the three *Herpesvirinae* sub-families but more than half of them (144 sequences) are unclassified *Herpesviridae*. In total, they were identified from 53 species of seven bat families (Vespertilionidae, Pteropodidae, Rhinolophidae, Molossidae, Phyllostomidae, Miniopteridae, and Hipposideridae). Nevertheless, the discovery of bat herpesviruses is geographically unequal. Most sequences are from Asian, African and European bat species. Comparatively, few data are available regarding herpesviruses of New World species. Indeed, of the 233 recorded sequences, only eight are from New World bat species, six from North and Central America and two from South America (Donaldson et al., 2010; Escalera-Zamudio et al., 2016; Razafindratsimandresy et al., 2009; Salmier et al., 2017; Shabman

et al., 2016; Subudhi et al., 2018). The ones from North and Central America were identified from two insectivorous and two hematophagous bat species and corresponded to beta- and gamma-herpesvirus sequences (Donaldson et al., 2010; Escalera-Zamudio et al., 2016; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018). Those from South America, one alpha- and one gamma-, were identified from a nectarivorous and an insectivorous species, respectively (Razafindratsimandresy et al., 2009; Salmier et al., 2017). In addition, Wray *et al.* reported the characterization of two other herpesvirus sequences, DrHV-1 and DrHV-2, respectively described as gamma and beta-herpesvirus, from *Desmodus rotundus* individuals from Guatemala (Wray et al., 2016). Unfortunately, these last sequences have not been released in the databases.

With the exception of the two above-mentioned sequences, there has been no prior organized effort to discover herpesviruses in neotropical bat species from South America. This is particularly surprising given that in South America, Amazonia is one of the unique regions with highest biodiversity in the world to which bats are no exception (Lopez-Baucells et al., 2016; Paglia et al., 2012). To ascertain the distribution and diversity of herpesviruses circulating in neotropical bat species, additional investigations were required. Taking advantage of a unique collection of bat samples constituted over the past ten years in French Guiana, South America, and in 2015 in Martinique, French West Indies, we addressed the presence of herpesviruses in the different bat species collected by analyzing two distinct informative partial genes. Here, we report finding sequences of herpesviruses in all New World bat species tested and describe their phylogenetic relationships.

2. RESULTS

2.1. Screening and characterization of partial sequences of herpesvirus *DNA polymerase* gene in bat samples.

To look for the presence of herpesvirus sequences in our collection of bats, we attempted to amplify a fragment of the highly conserved herpesvirus *DNA polymerase* (*DPol*) gene from the PBMC DNA of each wild-caught bat using two different sets of degenerate primers and PCR conditions as described previously (Ehlers et al., 1999; Rose et al., 1997; VanDevanter et al., 1996). A total of 195 samples from 11 bat species were tested (**Table 1**). DNA samples (39/195 = 20%) from 10 species scored positive after the nested PCRs (nPCRs) (**Table 1**). No bat belonging to the *Pteronotus rubiginosus* species scored positive. BLAST searches demonstrated that all sequences identified belonged to the *Herpesviridae* family and revealed the presence of 14 distinct sequences. Three sequences belonged to the *Betaherpesvirinae* subfamily while the 11 others to the *Gammaherpesvirinae*. Three distinct sequences, all gamma, were identified from the *D. rotundus* individuals as well as two distinct gammaherpesvirus sequences from the *Carolia perspicillata* ones. Informal virus names and abbreviations were given to the 14 distinct viruses as explained in the *Materials and Methods* section (**Table 1**).

All identified sequences were species-specific and all but the two sequences from *Molossus molossus* viruses, MmolBHV1 and MmolGHV1, and the one from *Pteronotus alitonus*, PaliBHV1, were characterized from at least two individuals (**Table 1**). So, DrotGHV1, DrotGHV2 and DrotGHV3 were identified from 10, four and three over 22 *D. rotundus* individuals, respectively while DyouGHV1, AplaGHV1 and SangGHV1 were each identified from five individuals. We also characterized a few cases of co-infections: two *D. rotundus* individuals were co-infected with

DrotGHV1 and DrotGHV2 and three with DrotGHV1 and DrotGHV3 as well as one *C. perspicillata* individual infected with CperGHV1 and CperGHV2.

We then designed species-specific antisense primers to extend each of the newly identified sequence in upstream direction by about 300-bp with a one round of semi-nested semi-specific PCR (**Supplementary Table 1**). This had resulted in concatenated nucleotide sequences of 439- and 454-bp in size for betaherpesviruses and of 472-bp in size for gammaherpesviruses.

2.2. Screening and characterization of partial sequences of herpesvirus *Glycoprotein B* gene in bat samples.

We then attempted to amplify a 500-bp fragment of the *Glycoprotein B* (*Gb*) gene (**Table 1**). An amplification product of the expected size was obtained from 23 samples (23/195=11.8%) belonging to nine different bat species (**Table 1**). We did not get any amplification product from *Artibeus planirostris*, *P. alitonus* and *M. molossus* (from French Guiana) individuals. BLAST searches of the obtained sequences demonstrated that all belonged to the *Herpesviridae* family and revealed the presence of 12 distinct sequences, all of the *Gammaherpesvirinae* subfamily. Among them, three different sequences were identified in *D. rotundus* (DrotGHVA, DrotGHVB and DrotGHVC) and two in *P. rubiginosus* (PrubGHVA and PrubGHVB). Each viral sequence identified was specific to a bat species and, even though some viruses were identified in different individuals of the same species, we did not identify any case of co-infection (**Table 1**).

2.3. Pairwise sequence comparison of *DPol* sequences.

Sequence identity was determined by comparing nucleotide and amino acid sequences of all herpesviruses identified in the different bat species with viruses of the same subfamily described

in several mammalian orders (**Supplementary Table 2 and Supplementary Table 3**). For clarity, comparison of the percentage of identity between the different newly identified bat viruses with those of other bat species has been reported by grouping viral sequences at the host family level and with those of other mammals according to the viral genus. All sequences obtained from the different bat species differed from each other at the nucleotide and amino acid levels. Sequences identified in different specimens of the same species were 100% identical with the exception of DrotGHV1 sequences showing 99.6 to 100% identity at the nucleotide level and DrotGHV3 sequences showing 99.2 to 100% nucleotide identity and 97.5 to 100% amino acid identity (**Supplementary Table 3**).

For betaherpesviruses, the three new sequences exhibited among themselves from 53.6% (StilBHV1 vs. PaliBHV1) to 65.4% (StilBHV1 vs. MmolBHV1) nucleotide identity and from 63.7% to 66.9% amino acid identity (**Supplementary Table 2**). They showed from 48.8 to 67.3% of nucleotide identity and from 43.5 to 75% amino acid identity with the other bat betaherpesviruses. The three viruses were more distantly related to betaherpesviruses of Rhinolophidae than to those of Miniopteridae, Molossidae and Vespertilionidae. At last, they were more closely related to viruses of the *Cytomegalovirus* and *Muromegalovirus* genera than to those of the two other betaherpesvirus genera (**Supplementary Table 2**).

Considering gammaherpesviruses, the new sequences exhibited among themselves from 48.6% (DrotGHV2 vs. DyouGHV1) to 95.5% (McoiGHV1 vs. MmolGHV1) nucleotide identity and from 43.2% (DrotGHV1 vs. DrotGHV2) to 97.5% (McoiGHV1 vs. MmolGHV1) amino acid identity (**Supplementary Table 3**). The percentage of identity between the three viruses identified in *D. rotundus* ranged from 49% to 55.1% at the nucleotide level and from 43.2% to 58% at the amino

acid level. The two sequences detected in *C. perspicillata* showed 62.9% and 64.2% identity in nucleotides and amino acids, respectively. Comparison with the other bat gammaherpesviruses gave similar results, ranging from 44.1 to 86.9% nucleotide identity and from 40.7 to 91.4% amino acid identity. In addition, the level of nucleotide and amino acid identity with the other mammal gammaherpesviruses ranged from 42 to 69.4% and from 35.8 to 69.1%, respectively.

2.4. Pairwise sequence comparison of *Gb* sequences.

Sequence identity of *Gb* sequences was determined by comparing sequences of all bat gammaherpesviruses identified as well as with those of other mammal gammaherpesviruses representative of the different gammaherpesvirus genera (**Supplementary Table 4**). All sequences here obtained from the different bat species differed from each other at the nucleotide and amino acid levels. Sequences identified from several individuals of the same species were 100% identical with the exception of DrotGHVA sequences, showing 99.1 to 100% sequence identities at the nucleotide and amino acid levels, and PrubGHVB sequences showing 99.4% nucleotide identity and 98.3% amino acid identity (**Supplementary Table 4**). The percentage of identity between the three viruses identified in *D. rotundus* ranged from 62.1% to 85.5% at the nucleotide level and from 59.1% to 93% at the amino acid level, while the two distinct sequences detected in *P. rubiginosus* showed 56.4% and 54.8 - 55.7% nucleotide and amino acid identities, respectively.

Overall, the percentages of nucleotide and amino acid identities between the newly identified sequences with those already published from bats or other mammals were higher or on the same order of magnitude as for *DPol* sequences (**Supplementary Table 3** vs. **Supplementary Table 4**). Thus, the new sequences exhibited among them from 56.4% (PrubGHVA vs. PrubGHVB) to 92% (McoiGHVA vs. MmolGHVA) nucleotide identity and from 51.3% (CperGHVA vs. PrubGHVB)

to 95.7% (McoiGHVA vs. MmolGHVA) amino acid identity (**Supplementary Table 4**). Comparison with the other chiropteran gammaherpesviruses ranged from 48.7 to 93.7% nucleotide identity and from 41.7 to 98.3% amino acid identity. At last, the level of nucleotide and amino acid identity with the other mammal gammaherpesviruses ranged from 49.3 to 69.8% and from 45.2 to 74.8%, respectively.

2.5. Phylogenetic analyses of betaherpesvirus *DPol* sequences.

Phylogenetic analyses performed on nucleotide sequences of the newly characterized betaherpesvirus partial *DPol* sequences with those of other betaherpesviruses available in the databases grouped the bat viral sequences in three well-supported monophyletic clades only composed of bat virus sequences (**Figure 1**). These monophyletic groups are distinct from the other groups of *Betaherpesvirinae* corresponding to the genera *Cytomegalo*-, *Muromegalo*-, *Roseolo*- and *Probosci-virus*. The first group of bat sequences is composed of two viral sequences detected in *Rhinolophus ferrumequinum* of the family Rhinolophidae (Pozo et al., 2016, Wu et al., 2012). These viruses are closely related with viruses of the *Roseolovirus* genus. The two other lineages are closed to the *Cytomegalovirus* genus. The first one is only composed of sequences identified from Vespertilionidae bats. In addition, this clade is divided into two different groups, one containing sequences detected in bats belonging to the genus *Myotis* as well as the one identified from *Tylonycteris robustula* and the second one containing viral sequences detected from the other Vespertilionidae genera (*Nyctalus*, *Pipistrellus*, *Eptesicus*, ...). The third clade is composed of sequences of Molossidae, Phyllostomidae, Mormoopidae and Miniopteridae. It is further subdivided into four well-supported lineages corresponding to the different families of bats studied. The three betaherpesvirus sequences we characterized belong to this third clade. The sequence from *M. molossus*, MmolBHV1, groups with sequences from *Tadarida* in a clade of Molossidae

viruses. The two others, StilBHV1 and PaliBHV1, identified from bats of the Phyllostomidae and Mormoopidae families, respectively, are the only representative viruses of these bat families. StilBHV1 and PaliBHV1 belong to well-supported monophyletic lineages of Molossidae + Phyllostomidae and of Mormoopidae + Miniopteridae viruses, respectively.

2.6. Phylogenetic analyses of gammaherpesviruses *DPol* sequences.

The phylogenetic analysis based on *DNA polymerase* sequences of *Gammaherpesvirinae* shows that bat viral sequences are distributed all over the tree (**Figure 2**). Based on this sequence dataset, all that could be obtained is a multifurcated tree with low support of the deepest nodes. Therefore, resolution of the branching pattern is incomplete and phylogenetic relationships between the different *gammaherpesvirinae* genera are not supported. Nevertheless, in the terminal branchings, certain highly supported clades can be recognized. Two of them correspond to the *Lymphocryptovirus* (LCV) and Old World primate *Rhadinovirus* (OWPRHV) genera. Three others are bat-specific (clades I, II and III). Eight of the eleven new sequences reported here fall within two clades (clades I and II). These two clades only comprise viral sequences of Phyllostomidae. Clade I consists of five novel sequences (AgeoGHV1, DrotGHV3, AplaGHV1, SangGHV1 and CperGHV1 from *A. geoffroyi*, *D. rotundus*, *A. planirostris*, *S. angeli* and *C. perspicillata*, respectively) representative of the four different sub-families of Phyllostomidae tested. Clade II comprises three viral sequences infecting Desmodontinae bats: two new sequences, DrotGHV1 and DyouGHV1, from *D. rotundus* and *Diaemus youngi*, as well as the one previously described from *Diphylla ecaudata* (*Diphylla ecaudata* gammaherpesvirus SD12, accession number KU942403). Clade II also includes, at its basis, CperGHV2 from *C. perspicillata*. Clades I and II are highly supported with posterior probability (pp) values of 0.93 and 1, respectively. The third clade, clade III, supported by a pp of 0.93, is constituted of previously published viral sequences

identified from Vespertilionidae of different species and from one Pteropodidae species. Regarding the three other sequences we identified that do not belong to these well-supported clades, the third sequence from *D. rotundus*, DrotGHV2, clusters with sequences of the *Lymphocryptovirus* genus, though with a low support, while the two sequences from *Molossus*, MmolGHV1 and McoiGHV1, are grouped together on a lineage apart.

2.7. Phylogenetic analyses of gammaherpesviruses *Gb* sequences.

The phylogenetic analysis between the newly characterized bat *Gammaherpesvirinae Gb* sequences with those of already published sequences from bats and of representative *Gammaherpesvirinae* sequences available in the databases is presented in **Figure 3**. Almost all nodes of the tree are highly supported (pp> 0.7) and the main clades of *Lymphocryptovirus*, *Rhadinovirus*, *Macavirus* and *Percavirus* genera can be recognized. This analysis clearly places the bat viral sequences into nine well-supported (pp over 0.91) and bat-specific clades (named a to i) scattered over the entire tree. Four clades are only composed of sequences identified from bat species of the same family (clades c, e, g and h) while the five others comprise sequences from bats belonging to different families (clades a, b, d, f and i). Some sequences do not belong to these clades: They correspond to previously published viral sequences from *Scotophilus kuhlii* and *Rhinolophus blythi* closely associated with bovine herpesvirus sequences (Bovine herpesvirus 6 and Bovine lymphotropic herpesvirus) that belong to the *Macavirus* genus and to the viral sequence identified from *Hipposideros pomona* that is associated with *Sorex araneus* gammaherpesvirus (SaraGHV1) and viral sequences from Carnivora (MusHV1, FcatGHV1 and LrufGHV1) but with a posterior probability under 0.7 (Watanabe et al., 2009; Zheng et al., 2016). This last sequence as well as those of clades a and b from bat species of the Vespertilionidae, Rhinolophidae and Miniopteridae families belong to a monophyletic well-supported (pp=0.96) lineage of

Percaviruses. The last non-clustered sequence, PrubGHVB from *P. rubiginosus*, is located at the basis of the *Gammaherpesvirinae* subfamily.

All new sequences here identified, except PrubGHVB, fall within three distinct clades (d, e and g). Clade d is composed of sequences of Mormoopidae (PrubGHVA) and of Phyllostomidae of the Desmodontinae subfamily that includes viral sequences from *D. rotundus*, *D. youngi* and *D. ecaudata*. Two distinct sequences from *D. rotundus*, DrotGHVB and DrotGHVC, belong to this clade. These two sequences are closely associated with the *D. rotundus* gammaherpesvirus sequence previously described from Mexico (Escalera-Zamudio et al., 2016). In addition, the sequence from *D. youngi*, DyouGHVA, is associated with the one from *D. ecaudata* (Escalera-Zamudio et al., 2016). Within this clade, viruses of Desmodontinae form a highly supported (pp=1) subclade associated with PrubGHVA from *P. rubiginosus*. In addition, clade d belongs to a highly-supported monophyletic lineage (pp=0.88) also composed of two other clades, clade c of Pteropodidae bats and the *Rhadinovirus* clade of Old World primates (OWPRHV). Clade e comprises five newly identified Phyllostomidae viruses, AgeoGHVA from *A. geoffroyi*, CperGHVA from *C. perspicillata*, SangGHVA and StilGHVA, from *S. angeli* and *S. tildae*, respectively, and DrotGHVA from *D. rotundus*. The phylogenetic relationships between the different viral sequences of clade e are well-correlated with the taxonomy of the bats and the different well-supported sub-clades are differentiated according to the sub-families (Glossophaginae, Carolliinae, Stenodermatinae and Desmodontinae) to which the infected bats belong. Indeed, viruses from *Sturnira* species (SangGHVA and StilGHVA) group together and are related to CperGVHA from *C. perspicillata* in a monophyletic clade with a posterior probability of 0.96. These two clades are related to AgeoGHVA with a pp value of 0.95. Finally, these Stenodermatinae, Carolliinae and Glossophaginae clades group together with DrotGHVA of

Desmodontinae in a monophyletic clade (clade e) supported with a posterior probability value of 1. The same phylogenetic clustering correlated with the bat subfamilies from which the viruses have been identified is also observed for clade h of Vespertilionidae viruses. Clade e is located at the basis of a highly supported monophyletic lineage comprising *Percavirus* and *Rhadinovirus* sequences, with the exception of rhadinoviruses of Muridae (BsavRHHV1, McerRHHV1 and MmusRHHV1), bat sequences of clades a to d, as well as the unclassified *Tapirus terrestris* and *Saimiri sciureus* gammaherpesviruses, TterGHV1 and SsciGHV2. From its side, clade g is composed of sequences from the two Molossidae species tested, *M. molossus* and *M. coibensis*. It possesses a basal position relative to a large clade comprising all percaviruses and rhadinoviruses including rhadinoviruses of Muridae as well as the unclassified *Procaravia capensis* gammaherpesvirus, PcapGHV2, and clade f.

3. DISCUSSION

In this study, we describe partial *DPol* and *Gb* sequences of herpesviruses from 11 New World bat species belonging to the Phyllostomidae (of four subfamilies), Mormoopidae and Molossidae families (**Table 1**). This is the largest study conducted to date to molecularly characterize herpesvirus sequences in New World bats in terms of species diversity. A viral sequence has been obtained for every tested species. With no distinction of the viral subfamily, 20% of the samples were found positive for *DPol* and 11.8% for *Gb*. Except for *P. rubiginosus* for which we did not generate any *DPol* sequence and *A. planirostris* and *P. altonus* for which no *Gb* sequence was amplified, the two types of sequences were obtained for all other species. Nevertheless, for the species from which both sequences were obtained, PCR targeting *Gb* was less sensitive than the one targeting *DPol* with a fewer number of positive samples (**Table 1**). In addition, for *Gb*, only gammaherpesvirus sequences have been obtained. These results prove that, to screen samples, the

combinations of primers targeting *DPol* are a better tool both in terms of sensitivity and diversity of amplified sequences. This also suggests that for *Gb* other combinations of primers should be used to allow amplification of sequences of other subfamilies. Nevertheless, the fact that we preferentially amplified gammaherpesvirus sequences is not only a question of primer degeneracy, but also depends on the type of samples tested. Indeed, of all the bat herpesvirus described in the literature at the moment, most alpha- and beta-herpesviruses (globally underrepresented compared to gamma-herpesviruses) were amplified from oral swabs (Pozo et al., 2016; Razafindratsimandresy et al., 2009). It will therefore be important for future studies to test not only other bat species but also different types of samples from the same species.

Considering our sample size per species, the two *Desmodontinae* species (*D. rotundus* and *D. youngii*) had a higher infection rate in comparison to the other tested species. This could be attributed to the peculiar ecology of these species: their gregariousness and feeding habits, particularly their propensity to share their blood meal, suggest that oral shedding of these viruses could play a role in their transmission. This is consistent with previous studies showing that the oral-fecal route was important for the transmission of herpesviruses in chiroptera (Salmier et al., 2017; Sano et al., 2015; Wu et al., 2012; Zheng et al., 2016).

From a phylogenetic perspective, in view of the available data, it appears that differential clustering exists between bat betaherpesvirus sequences according to their host families (**Figure 1**). In addition, these clusters are also congruent with the evolutionary relationships of most large groups within families (Hoofer and Bussche, 2003; Simmons, 2005; Teeling, 2005). Nevertheless, the phylogenetic relationships between them are not concordant with the current interpretations of the host pattern of diversification at the family level. Even though the different clades are all well-

supported, given that only a few bat betaherpesvirus sequences are available and that only one betaherpesvirus sequence is available for certain families while others are not represented, currently limits interpretations.

Regarding *Gammaherpesvirinae*, the phylogeny based on *Gb* sequences is well-supported with well-defined clades corresponding to the different known genera. Comparatively, the topology of the *DPol* tree is less reliable and exhibits poor overall support. The two phylogenies being based on alignments of similar size, the lower support observed for *DPol* can be attributed to an overall higher level of sequence divergence. To reinforce the phylogenetic signal of *DPol* sequences, it would have been possible to concatenate them with *Gb* sequences. We, nevertheless, preferred to analyze them separately given that i) sequences available in the databases are not equivalent for the two genes, with a few more *Gb* sequences available, ii) we did not identify the two types of sequences for every species, iii) the two types of sequences have not, in every case, been amplified from the same individual, and iv) some species (*D. rotundus*, *C. perspicillata* and *P. rubiginosus*) were infected with viruses belonging to the same subfamily. This is also the reason why we provisionally named the *DPol* and *Gb* sequences using different nomenclatures: a numeral *vs.* an alphabetical order for the *DPol* and *Gb* sequences, respectively. Whatsoever, the two phylogenies show that bat *Gammaherpesvirinae* are scattered over the entire tree (**Figures 2 and 3**). They also demonstrate that viral sequences from Phyllostomidae are distributed in two distinct clades, while those of Molossidae fall together on a branch apart. Based on the *Gb* phylogeny, which is in agreement with the known phylogeny of *Gammaherpesvirinae*, we further observe that viruses of Phyllostomidae are close to the *Rhadinovirus* and *Percavirus* genera while those of Molossidae possess a basal position relative these genera. At last, within the different clades (c, d, e and h), composed of viral sequences obtained from bat species belonging to different subfamilies, the

phylogenetic relationships of the different viral sequences demonstrate a good correlation with the taxonomy of the host species (**Figure 3**). These results are in support of a co-evolutionary scenario. Nevertheless, each bat-specific clade is only represented by a few number of sequences from different species ($2 < n < 5$). Due to the paucity of the available data considering the number of bat species, subfamilies and families that remain to test, this assumption will only be confirmed when more sequences will be available.

This study greatly expands our knowledge on the distribution and genetic variation of bat herpesviruses. It adds new insights into the viromes of bats from French Guiana and Martinique and, as could be expected, confirms the astonishing diversity of bat herpesviruses. However, we are still far from having deciphered the in-depth details of this diversity. Indeed, the number of New World bat species tested still accounts for only a tiny part of them. In French Guiana alone, 107 bat species are currently recognized, with a number evolving steadily mostly due to the splitting of taxa on the basis of new genetic evidence (Catzefflis, 2017, 2015; Simmons and Voss, 1998). Therefore, the number of tested species accounts for just 10% of the local bats, suggesting a wide diversity of herpesviruses awaiting discovery. These results emphasize the crucial need for a better assessment of herpesvirus distribution in bats. Analysis of other species at a wider geographical scale, as well as of the same species but on other types of samples, should maximize our chance to detect the whole diversity of bat herpesviruses and should therefore expand our understanding of the diversification processes and evolutionary history of these viruses.

4. MATERIALS AND METHODS

4.1. Ethical and legal statements. All animals were captured, handled and sampled following ASM guidelines under the supervision of researchers granted the French animal experimentation

level 1 diploma (Sikes and the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists, 2016). Bats captured in Martinique received ad hoc authorizations (# 2014 140-008) delivered by the Préfecture de Martinique. In French Guiana, bats are not protected by law, but captures that occurred within protected areas (nature reserves) received ad hoc authorizations (# 35 from 03/21/2013 and # 59 dated 04/17/2013 delivered by the Préfecture de la Guyane). The use of the genetic resources was declared to the French Ministry of Environment under the reference TSP 128 316, in compliance with the Access and Benefit Sharing procedure implemented by the Loi pour la Reconquête de la Biodiversité.

4.2. Collection of specimens and biological material and DNA extraction. All bats examined in this study were collected as part of an investigation program on rabies virus circulation. In French Guiana, captures were implemented in bat communities during a 10-year period (de Thoisy et al., 2016). In Martinique, bats were captured in January 2015. All captures were performed with nets and animals were kept in individual bags before being sampled for blood. Samples were stored at -80°C for later use in the lab. All animals were aged, sexed and identified morphologically in the field. When possible errors of species identification were suspected, identification was molecularly confirmed by sequencing a fragment of the mitochondrial *Cytochrome Oxidase I* or *Cytochrome b* genes (Borisenko et al., 2008). Nucleic acids were extracted using the NucliSENS easyMAG® bio-robot (bioMérieux®, Marcy l'Etoile, France). A total of 195 DNA samples from 11 bat species belonging to three families (Phyllostomidae, Mormoopidae and Molossidae) were obtained (**Table 1**).

4.3. Screening of samples. Molecular screening was done by semi-nested or nested polymerase chain reaction amplifications with degenerate consensus primers targeting highly conserved amino

acid (aa) motifs of the herpesvirus *DNA polymerase* and *Glycoprotein B* genes (**Supplementary Table 1**) (Prepens et al., 2007; Rose et al., 1997; VanDevanter et al., 1996). For the *DNA polymerase* amplification, two sets of primers targeting the same region of the gene but with different levels of degeneracy were used on each DNA sample in separate reactions for the first-round PCR (DFASA/GDTD1B or DFA+ILK/KG1) and second-round PCR (VYGA/GDTD1B or TGV/IYG) (**Supplementary Table 1**) (Rose et al., 1997; VanDevanter et al., 1996). For the *Glycoprotein B* amplification, one set of primers was used: 2759s/2762as for the first-round PCR and 2760s/2761as for the second-round PCR (66). All amplicons of approximately the expected size were purified, cloned by TA cloning and sent for sequencing to Genewiz®, Takeley, UK (<https://www.genewiz.com/>). To help increase the possibility of identifying different herpesvirus sequences from each obtained amplicon, five to eight clones of the “screening amplicons” were sequenced on both strands.

4.4. Partial *DNA polymerase* gene amplification. To obtain the nucleotide sequence upstream of the VYGA or TGV motif, species-specific non-degenerate primers were derived from the complementary sequences of the small fragments and used in an nPCR amplification with the DFASA or DFA primer pools using the initial PCR products as templates (**Supplementary Table 1**). Overlapping amplicons were generated, cloned and sequenced as described above. Each sequence corresponds to at least three independent clones sequenced on both strands. Contig sequences were then assembled using MEGA 5.05 software (Tamura et al., 2011). The concatenated nucleotide sequences are between 439- and 472-bp in size depending on the strain.

4.5. Phylogenetic analysis. Raw sequences were analyzed and edited in MEGA 5.05 (Tamura et al., 2011). Sequence homology analyses were performed using BLAST program at the National

Center of Biotechnology Information (NCBI) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (48). Then, multiple sequence alignments were constructed using ClustalW with all other previously published bat herpesvirus sequences extracted from GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>) or DBatVir (<http://www.mgc.ac.cn/DBatVir/>) as well as representative sequences for each genus or subfamily. Alignments were checked manually. Nucleotide and amino acid sequences were checked for irregularities and variable regions were removed before performing phylogenetic analyses. Pairwise sequence identity (at the nucleotide and amino acid levels) of the partial coding sequences was calculated with MEGA version 5.05 using uncorrected p-distances.

Phylogenetic trees were inferred from the aligned nucleotide sequences. The best-fitted model of nucleotide substitution (GTR + I + G) were determined for each dataset using MEGA 5.05 under corrected Akaike information criteria (AICc) and used for the Bayesian approach with Mr. Bayes 3.2.2 (49, 50). Markov Chain Monte Carlo (MCMC) simulations were run for 10,000,000 generations, with four simultaneous chains, using a sample frequency of 100 and a burn-in of 25,000. Majority rule consensus trees were obtained from the output. Validation of the inference was assessed based on the standard deviation of split frequencies, which was less than the expected threshold value of 0.01. Trees obtained were rooted using HHV4 (**Figure 1**) or HHV1 (**Figure 2** and **Figure 3**) sequences and visualized using the FigTree v1.4 program (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) (Rambaut, 2009).

4.6. Informal naming of novel herpesviruses. For the readability of the paper, the novel viruses were named trinomially according to the host species from which they were identified and the viral subfamily they were assigned to. The first two words designate the name of the bat species in italics, while the third word designates the tentative assignment of the novel virus to a

herpesvirus subfamily within the *Herpesviridae*. Then, a number (for *DNA polymerase* sequences) or a letter (for *Glycoprotein B* sequences) was given to differentiate different viruses identified from the same host species and belonging to the same herpesvirus subfamily. Example: *Desmodus rotundus* Gammaherpesvirus 1. Abbreviations use the first letter of the generic host name in uppercase and the first three letters of the specific host name, followed by three uppercase letters corresponding to the viral subfamily (BHV or GHV for Betaherpesvirus or Gammaherpesvirus, respectively) to which they were then assigned the Arabic numeral (1, 2, ...) for the *DNA polymerase* sequences or a letter in uppercase following the alphabetical order (A, B, ...) for the *Glycoprotein B* sequences. Example: *Desmodus rotundus* GammaHerpesVirus 1, DrotGHV1.

4.7. Accession numbers. The sequences reported in this paper were deposited in the GenBank database under accession numbers **XXX** to **XXX**.

ACKNOWLEDGMENTS

All field volunteers and owners and/or managers of capture sites are warmly acknowledged for their assistance in captures.

FUNDING

This study benefited from the CAROLIA and RESERVOIRS programs supported by European funds (ERDF/FEDER) and assistance from Région Guyane and Direction Régionale pour la Recherche et la Technologie. It also received a European Commission "REGPOT-CT-2011-285837-STRonGer" grant within the FP7 and "Investissement d'Avenir" grants managed by the Agence Nationale de la Recherche (CEBA, Ref. ANR-10-LABEX-25-01). S.J. was supported by a grant from the Université de la Guyane, Ecole doctorale "Diversités, Santé et Développement en Amazonie" and by a grant from the Collectivité Territoriale de la Guyane. The funders had no role in study design, data collection and interpretation, or the decision to submit the work for publication.

AUTHORS' CONTRIBUTION

SJ and VL conceived the project, AL and BdT provided samples, SJ and DD performed the molecular and genetic analyses, SJ, AL and VL performed the sequence and phylogenetic analyses, SJ, AL and VL analyzed the data, SJ and VL wrote the paper. All authors read and commented on the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

COMPETING INTERESTS

The authors declare that they have no competing financial interests.

5. REFERENCES

- Anthony, S.J., Epstein, J.H., Murray, K.A., Navarrete-Macias, I., Zambrana-Torrel, C.M., Solovyov, A., Ojeda-Flores, R., Arrigo, N.C., Islam, A., Ali Khan, S., Hosseini, P., Bogich, T.L., Olival, K.J., Sanchez-Leon, M.D., Karesh, W.B., Goldstein, T., Luby, S.P., Morse, S.S., Mazet, J.A.K., Daszak, P., Lipkin, W.I., 2013. A Strategy To Estimate Unknown Viral Diversity in Mammals. *mBio* 4. <https://doi.org/10.1128/mBio.00598-13>
- Baker, K.S., Leggett, R.M., Bexfield, N.H., Alston, M., Daly, G., Todd, S., Tachedjian, M., Holmes, C.E.G., Crameri, S., Wang, L.-F., Heeney, J.L., Suu-Ire, R., Kellam, P., Cunningham, A.A., Wood, J.L.N., Caccamo, M., Murcia, P.R., 2013a. Metagenomic study of the viruses of African straw-coloured fruit bats: Detection of a chiropteran poxvirus and isolation of a novel adenovirus. *Virology* 441, 95–106. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.03.014>
- Baker, K.S., Todd, S., Marsh, G.A., Crameri, G., Barr, J., Kamins, A.O., Peel, A.J., Yu, M., Hayman, D.T.S., Nadjm, B., Mtove, G., Amos, B., Reyburn, H., Nyarko, E., Suu-Ire, R., Murcia, P.R., Cunningham, A.A., Wood, J.L.N., Wang, L.-F., 2013b. Novel, potentially zoonotic paramyxoviruses from the African straw-colored fruit bat *Eidolon helvum*. *J. Virol.* 87, 1348–1358. <https://doi.org/10.1128/JVI.01202-12>
- Borisenko, A.V., Lim, B.K., Ivanova, N.V., Hanner, R.H., Hebert, P.D.N., 2008. DNA barcoding in surveys of small mammals communities: a field study in Suriname. *Molecular Ecology Resources* 8, 471–9.
- Calisher, C.H., Childs, J.E., Field, H.E., Holmes, K.V., Schountz, T., 2006. Bats: Important Reservoir Hosts of Emerging Viruses. *Clinical Microbiology Reviews* 19, 531–545. <https://doi.org/10.1128/CMR.00017-06>
- Catzefflis, F., 2017. Liste des Mammifères de Guyane française (novembre 2017). https://www.sfepm.org/pdf/MAMM-GUYANE_Catzefflis_mars2017.pdf

569 Catzefflis, F., 2015. Liste des Mammifères de Guyane française (octobre 2015).
 570 http://www.kwata.net/medias/images/upload/MAMM-GUYANE_Catzefflis-oct2015.pdf
 571 Chen, L., Liu, B., Yang, J., Jin, Q., 2014. DBatVir: the database of bat-associated viruses. Database
 572 2014, bau021–bau021. <https://doi.org/10.1093/database/bau021>
 573 Dacheux, L., Cervantes-Gonzalez, M., Guigon, G., Thiberge, J.-M., Vandenbogaert, M., Maufrais,
 574 C., Caro, V., Bourhy, H., 2014. A Preliminary Study of Viral Metagenomics of French Bat
 575 Species in Contact with Humans: Identification of New Mammalian Viruses. PLoS ONE 9,
 576 e87194. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087194>
 577 Davis, P.L., Bourhy, H., Holmes, E.C., 2006. The evolutionary history and dynamics of bat rabies
 578 virus. Infect. Genet. Evol. 6, 464–473. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2006.02.007>
 579 Davison, A.J., Eberle, R., Ehlers, B., Hayward, G.S., McGeoch, D.J., Minson, A.C., Pellett, P.E.,
 580 Roizman, B., Studdert, M.J., Thiry, E., 2009. The Order Herpesvirales. Arch Virol 154, 171–
 581 177. <https://doi.org/10.1007/s00705-008-0278-4>
 582 de Thoisy, B., Bourhy, H., Delaval, M., Pontier, D., Dacheux, L., Darcissac, E., Donato, D.,
 583 Guidez, A., Larrous, F., Lavenir, R., Salmier, A., Lacoste, V., Lavergne, A., 2016. Bioecological
 584 Drivers of Rabies Virus Circulation in a Neotropical Bat Community. PLoS Negl Trop Dis 10,
 585 e0004378. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004378>
 586 Dietrich, M., Kearney, T., Seamark, E.C.J., Paweska, J.T., Markotter, W., 2018. Synchronized shift
 587 of oral, faecal and urinary microbiotas in bats and natural infection dynamics during seasonal
 588 reproduction. Royal Society Open Science 5, 180041. <https://doi.org/10.1098/rsos.180041>
 589 Donaldson, E.F., Haskew, A.N., Gates, J.E., Huynh, J., Moore, C.J., Frieman, M.B., 2010.
 590 Metagenomic analysis of the viromes of three North American bat species: viral diversity among
 591 different bat species that share a common habitat. Journal of virology 84, 13004–13018.

592 Drexler, J.F., Corman, V.M., Müller, M.A., Maganga, G.D., Vallo, P., Binger, T., Gloza-Rausch,
 593 F., Cottontail, V.M., Rasche, A., Yordanov, S., Seebens, A., Knörnschild, M., Oppong, S., Adu
 594 Sarkodie, Y., Pongombo, C., Lukashev, A.N., Schmidt-Chanasit, J., Stöcker, A., Carneiro,
 595 A.J.B., Erbar, S., Maisner, A., Fronhoffs, F., Buettner, R., Kalko, E.K.V., Kruppa, T., Franke,
 596 C.R., Kallies, R., Yandoko, E.R.N., Herrler, G., Reusken, C., Hassanin, A., Krüger, D.H.,
 597 Matthee, S., Ulrich, R.G., Leroy, E.M., Drosten, C., 2012. Bats host major mammalian
 598 paramyxoviruses. *Nat Commun* 3, 796. <https://doi.org/10.1038/ncomms1796>
 599 Drexler, J.F., Corman, V.M., Wegner, T., Tateno, A.F., Zerbinati, R.M., Gloza-Rausch, F.,
 600 Seebens, A., Müller, M.A., Drosten, C., 2011. Amplification of Emerging Viruses in a Bat
 601 Colony. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 449–456. <https://doi.org/10.3201/eid1703.100526>
 602 Ehlers, B., Borchers, K., Grund, C., Frolich, K., Ludwig, H., Buhk, H.-J., 1999. Detection of New
 603 DNA Polymerase Genes of Known and Potentially Novel Herpesviruses by PCR with
 604 Degenerate and Deoxyinosine-Substituted Primers. *Virus Genes* 18, 211–220.
 605 <https://doi.org/10.1023/A:1008064118057>
 606 Ehlers, B., Dural, G., Yasmum, N., Lembo, T., de Thoisy, B., Ryser-Degiorgis, M.P., Ulrich, R.G.,
 607 McGeoch, D.J., 2008. Novel mammalian herpesviruses and lineages within the
 608 Gammaherpesvirinae: cospeciation and interspecies transfer. *Journal of virology* 82, 3509–16.
 609 <https://doi.org/10.1128/JVI.02646-07>
 610 Escalera-Zamudio, M., Rojas-Anaya, E., Kolokotronis, S.-O., Taboada, B., Loza-Rubio, E.,
 611 Méndez-Ojeda, M.L., Arias, C.F., Osterrieder, N., Greenwood, A.D., 2016. Bats, Primates, and
 612 the Evolutionary Origins and Diversification of Mammalian Gammaherpesviruses. *mBio* 7,
 613 e01425-16. <https://doi.org/10.1128/mBio.01425-16>
 614 Fagrouch, Z., Sarwari, R., Lavergne, A., Delaval, M., de Thoisy, B., Lacoste, V., Verschoor, E.J.,
 615 2012. Novel polyomaviruses in South American bats and their relationship to other members of

the family Polyomaviridae. *Journal of General Virology* 93, 2652–2657.
<https://doi.org/10.1099/vir.0.044149-0>

Fenton, M., 1997. Science and the conservation of bats. *J Mammal* 78, 1–14.

Freuling, C.M., Beer, M., Conraths, F.J., Finke, S., Hoffmann, B., Keller, B., Kliemt, J., Mettenleiter, T.C., Mühlbach, E., Teifke, J.P., Wohlsein, P., Müller, T., 2011. Novel lyssavirus in Natterer's bat, Germany. *Emerging Infect. Dis.* 17, 1519–1522.
<https://doi.org/10.3201/eid1708.110201>

Ge, X., Li, Y., Yang, X., Zhang, H., Zhou, P., Zhang, Y., Shi, Z., 2012. Metagenomic Analysis of Viruses from Bat Fecal Samples Reveals Many Novel Viruses in Insectivorous Bats in China. *Journal of Virology* 86, 4620–4630. <https://doi.org/10.1128/JVI.06671-11>

Geldenhuys, M., Mortlock, M., Weyer, J., Bezuidt, O., Seamark, E.C., Kearney, T., Gleasner, C., Erkkila, T.H., Cui, H., Markotter, W., 2018. A metagenomic viral discovery approach identifies potential zoonotic and novel mammalian viruses in *Neoromicia* bats within South Africa. *PloS one* 13, e0194527.

Halpin, K., Young, P.L., Field, H.E., Mackenzie, J.S., 2000. Isolation of Hendra virus from pteropid bats: a natural reservoir of Hendra virus. *J. Gen. Virol.* 81, 1927–1932.
<https://doi.org/10.1099/0022-1317-81-8-1927>

He, B., Li, Z., Yang, F., Zheng, J., Feng, Y., Guo, H., Li, Y., Wang, Y., Su, N., Zhang, F., Fan, Q., Tu, C., 2013. Virome Profiling of Bats from Myanmar by Metagenomic Analysis of Tissue Samples Reveals More Novel Mammalian Viruses. *PLoS ONE* 8, e61950.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061950>

Holz, P.H., Lumsden, L.F., Druce, J., Legione, A.R., Vaz, P., Devlin, J.M., Hufschmid, J., 2018. Virus survey in populations of two subspecies of bent-winged bats (*Miniopterus orianae*

639 bassanii and oceanensis) in south-eastern Australia reveals a high prevalence of diverse
 640 herpesviruses. PLoS One 13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197625>
 641 Hoofer, S.R., Bussche, R.A.V.D., 2003. Molecular Phylogenetics of the Chiropteran Family
 642 Vespertilionidae. Acta Chiropterologica 5, 1–63. <https://doi.org/10.3161/001.005.s101>
 643 Hu, D., Zhu, C., Wang, Y., Ai, L., Yang, L., Ye, F., Ding, C., Chen, J., He, B., Zhu, J., Qian, H.,
 644 Xu, W., Feng, Y., Tan, W., Wang, C., 2017. Virome analysis for identification of novel
 645 mammalian viruses in bats from Southeast China. Scientific Reports 7.
 646 <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11384-w>
 647 Jánoska, M., Vidovszky, M., Molnár, V., Liptovszky, M., Harrach, B., Benkő, M., 2011. Novel
 648 adenoviruses and herpesviruses detected in bats. The Veterinary Journal 189, 118–121.
 649 <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.06.020>
 650 Kunz, T.H., Braun de Torrez, E., Bauer, D., Lobova, T., Fleming, T.H., 2011. Ecosystem services
 651 provided by bats. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1223, 1–38. <https://doi.org/10.1111/j.1749->
 652 6632.2011.06004.x
 653 Kupferschmidt, K., 2013. Link to MERS Virus Underscores Bats' Puzzling Threat. Science 341,
 654 948–949. <https://doi.org/10.1126/science.341.6149.948>
 655 Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y., Lai, K.K.Y., Huang, Y., Yip, C.C.Y., Shek, C.-T., Lee, P., Lam, C.S.F.,
 656 Chan, K.-H., Yuen, K.-Y., 2011. Complete Genome Analysis of Three Novel Picornaviruses
 657 from Diverse Bat Species. Journal of Virology 85, 8819–8828.
 658 <https://doi.org/10.1128/JVI.02364-10>
 659 Leroy, E.M., Kumulungui, B., Pourrut, X., Rouquet, P., Hassanin, A., Yaba, P., Délicat, A.,
 660 Paweska, J.T., Gonzalez, J.-P., Swanepoel, R., 2005. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus.
 661 Nature 438, 575–576. <https://doi.org/10.1038/438575a>

662 Li, L., Victoria, J.G., Wang, C., Jones, M., Fellers, G.M., Kunz, T.H., Delwart, E., 2010. Bat guano
 663 virome: predominance of dietary viruses from insects and plants plus novel mammalian viruses.
 664 Journal of virology 84, 6955–6965.

665 Li, W., 2005. Bats Are Natural Reservoirs of SARS-Like Coronaviruses. Science 310, 676–679.
 666 <https://doi.org/10.1126/science.1118391>

667 Li, Y., Ge, X., Zhang, H., Zhou, P., Zhu, Y., Zhang, Y., Yuan, J., Wang, L.-F., Shi, Z., 2010. Host
 668 Range, Prevalence, and Genetic Diversity of Adenoviruses in Bats. Journal of Virology 84,
 669 3889–3897. <https://doi.org/10.1128/JVI.02497-09>

670 Lopez-Baucells, A., Rocha, R., Bobrowiec, P., Bernard, E., Palmeirim, J., Meyer, C., 2016. Field
 671 Guide to Amazonian Bats. Instituto Nacional de Pesquisas de Amazonia, Manaus, BR.

672 López-Baucells, A., Rocha, R., Fernández-Llamazares, Á., 2018. When bats go viral: negative
 673 framings in virological research imperil bat conservation. Mammal Review 48, 62–66.
 674 <https://doi.org/10.1111/mam.12110>

675 Luby, S.P., Gurley, E.S., Hossain, M.J., 2009. Transmission of human infection with Nipah virus.
 676 Clin. Infect. Dis. 49, 1743–1748. <https://doi.org/10.1086/647951>

677 Mackenzie, J.S., 2005. Emerging zoonotic encephalitis viruses: Lessons from Southeast Asia and
 678 Oceania. Journal of NeuroVirology 11, 434–440. <https://doi.org/10.1080/13550280591002487>

679 Mizutani, T., Endoh, D., Okamoto, M., Shirato, K., Shimizu, H., Arita, M., Fukushi, S., Saijo, M.,
 680 Lim, C.K., Ito, M., Nerome, R., Takasaki, T., Ishii, K., Suzuki, T., Kurane, I., Morikawa, S.,
 681 Nishimura, H., 2007. Rapid Genome Sequencing of RNA Viruses. Emerg Infect Dis 13, 322–
 682 324. <https://doi.org/10.3201/eid1302.061032>

683 Molnár, V., Jánoska, M., Harrach, B., Glávits, R., Pálmai, N., Rigó, D., Sós, E., Liptovszky, M.,
 684 2008. Detection of a novel bat gammaherpesvirus in Hungary. Acta Veterinaria Hungarica 56,
 685 529–538. <https://doi.org/10.1556/AVet.56.2008.4.10>

686 Mühlendorfer, K., Speck, S., Kurth, A., Lesnik, R., Freuling, C., Müller, T., Kramer-Schadt, S.,
 687 Wibbelt, G., 2011. Diseases and Causes of Death in European Bats: Dynamics in Disease
 688 Susceptibility and Infection Rates. PLoS ONE 6, e29773.
 689 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029773>
 690 Noguchi, K., Kuwata, R., Shimoda, H., Mizutani, T., Hondo, E., Maeda, K., 2018. The complete
 691 genomic sequence of Rhinolophus gammaherpesvirus 1 isolated from a greater horseshoe bat.
 692 Archives of virology. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-4040-2>
 693 Paglia, A.P., da Fonseca, G.A.B., Rylands, A.B., Herrmann, G., Aguiar, L.M.S., Chiarello, A.G.,
 694 Leite, Y.L.R., Costa, L.P., Siciliano, S., Kierulff, M.C.M., Mendes, S.L., Tavares, V. da C.,
 695 Mittermeier, R.A., Patton, J.L., 2012. Annotated Checklist of Brazilian Mammals., 2nd ed,
 696 Occasional Papers in Conservation Biology. Conservation International, Arlington, VA.
 697 Paige Brock, A., Cortés-Hinojosa, G., Plummer, C.E., Conway, J.A., Roff, S.R., Childress, A.L.,
 698 Wellehan Jr, J.F., 2013. A novel gammaherpesvirus in a large flying fox (Pteropus vampyrus)
 699 with blepharitis. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 25, 433–437.
 700 Pellett, P., Davison, A., Eberle, R., Ehlers, B., Hayward, G., Lacoste, V., Minson, A., Nicholas, J.,
 701 Roizman, B., Studdert, M., Wang, F., 2011. Herpesvirales, in: Virus Taxonomy; Classification
 702 and Nomenclature of Viruses, Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of
 703 Viruses. Academic Press, London, United Kingdom, pp. 99–107.
 704 Pozo, F., Juste, J., Vázquez-Morón, S., Aznar-López, C., Ibáñez, C., Garin, I., Aihartza, J., Casas,
 705 I., Tenorio, A., Echevarría, J.E., 2016. Identification of Novel Betaherpesviruses in Iberian Bats
 706 Reveals Parallel Evolution. PLoS One 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169153>
 707 Prepens, S., Kreuzer, K.A., Leendertz, F., Nitsche, A., Ehlers, B., 2007. Discovery of herpesviruses
 708 in multi-infected primates using locked nucleic acids (LNA) and a bigenic PCR approach.
 709 Virology journal 4, 84. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-4-84>

710 Razafindratsimandresy, R., Jeanmaire, E.M., Counor, D., Vasconcelos, P.F., Sall, A.A., Reynes,
 711 J.-M., 2009. Partial molecular characterization of alphaherpesviruses isolated from tropical bats.
 712 Journal of General Virology 90, 44–47. <https://doi.org/10.1099/vir.0.006825-0>
 713 Rose, T.M., Strand, K.B., Schultz, E.R., Schaefer, G., Rankin, G.W., Thouless, M.E., Tsai, C.C.,
 714 Bosch, M.L., 1997. Identification of two homologs of the Kaposi's sarcoma-associated
 715 herpesvirus (human herpesvirus 8) in retroperitoneal fibromatosis of different macaque species.
 716 J Virol 71, 4138–4144.
 717 Salmier, A., Tirera, S., de Thoisy, B., Franc, A., Darcissac, E., Donato, D., Bouchier, C., Lacoste,
 718 V., Lavergne, A., 2017. Virome analysis of two sympatric bat species (*Desmodus rotundus* and
 719 *Molossus molossus*) in French Guiana. PLOS ONE 12, e0186943.
 720 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186943>
 721 Sano, K., Okazaki, S., Taniguchi, S., Masangkay, J.S., Puentespina, R., Eres, E., Cosico, E.,
 722 Quibod, N., Kondo, T., Shimoda, H., Hatta, Y., Mitomo, S., Oba, M., Katayama, Y., Sassa, Y.,
 723 Furuya, T., Nagai, M., Une, Y., Maeda, K., Kyuwa, S., Yoshikawa, Y., Akashi, H., Omatsu, T.,
 724 Mizutani, T., 2015. Detection of a novel herpesvirus from bats in the Philippines. Virus Genes
 725 51, 136–139. <https://doi.org/10.1007/s11262-015-1197-6>
 726 Sasaki, M., Setiyono, A., Handharyani, E., Kobayashi, S., Rahmadani, I., Taha, S., Adiani, S.,
 727 Subangkit, M., Nakamura, I., Sawa, H., Kimura, T., 2014. Isolation and Characterization of a
 728 Novel Alphaherpesvirus in Fruit Bats. J Virol 88, 9819–9829.
 729 <https://doi.org/10.1128/JVI.01277-14>
 730 Shabman, R.S., Shrivastava, S., Tsibane, T., Attie, O., Jayaprakash, A., Mire, C.E., Dilley, K.E.,
 731 Puri, V., Stockwell, T.B., Geisbert, T.W., Sachidanandam, R., Basler, C.F., 2016. Isolation and
 732 Characterization of a Novel Gammaherpesvirus from a Microbat Cell Line. mSphere 1.
 733 <https://doi.org/10.1128/mSphere.00070-15>

734 Sikes, R.S., the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists, 2016.
 735 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in
 736 research and education: JMAMMAL 97, 663–688. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyw078>
 737 Simmons, N.B., 2005. Order Chiroptera, in: Wilson, D.E., Reeder, D.M. (Eds.), Mammal Species
 738 of the World: A Taxonomic and Geographic Reference. John Hopkins University Press,
 739 Baltimore, MD, pp. 312–525.

740 Simmons, N.B., Voss, R.S., 1998. The mammals of Paracou, French Guiana, a Neotropical lowland
 741 rainforest fauna. Part 1, Bats. Bulletin of the AMNH ; no. 237. Paracou bats.

742 Smith, I., Wang, L.-F., 2013. Bats and their virome: an important source of emerging viruses
 743 capable of infecting humans. Current Opinion in Virology 3, 84–91.
 744 <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.11.006>

745 Subudhi, S., Rapin, N., Dorville, N., Hill, J.E., Town, J., Willis, C.K.R., Bollinger, T.K., Misra,
 746 V., 2018. Isolation, characterization and prevalence of a novel Gammaherpesvirus in Eptesicus
 747 fuscus , the North American big brown bat. Virology 516, 227–238.
 748 <https://doi.org/10.1016/j.virol.2018.01.024>

749 Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011. MEGA5: molecular
 750 evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum
 751 parsimony methods. Molecular biology and evolution 28, 2731–9.
 752 <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>

753 Teeling, E.C., 2005. A Molecular Phylogeny for Bats Illuminates Biogeography and the Fossil
 754 Record. Science 307, 580–584. <https://doi.org/10.1126/science.1105113>

755 Towner, J.S., Amman, B.R., Sealy, T.K., Carroll, S.A.R., Comer, J.A., Kemp, A., Swanepoel, R.,
 756 Paddock, C.D., Balinandi, S., Khristova, M.L., Formenty, P.B.H., Albarino, C.G., Miller, D.M.,
 757 Reed, Z.D., Kayiwa, J.T., Mills, J.N., Cannon, D.L., Greer, P.W., Byaruhanga, E., Farnon, E.C.,

758 Atimnedi, P., Okware, S., Katongole-Mbidde, E., Downing, R., Tappero, J.W., Zaki, S.R.,
 759 Ksiazek, T.G., Nichol, S.T., Rollin, P.E., 2009. Isolation of genetically diverse Marburg viruses
 760 from Egyptian fruit bats. *PLoS Pathog.* 5, e1000536.
 761 <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000536>
 762 VanDevanter, D.R., Warrener, P., Bennett, L., Schultz, E.R., Coulter, S., Garber, R.L., Rose, T.M.,
 763 1996. Detection and analysis of diverse herpesviral species by consensus primer PCR. *J Clin*
 764 *Microbiol* 34, 1666–1671.
 765 Wada, Y., Sasaki, M., Setiyono, A., Handharyani, E., Rahmadani, I., Taha, S., Adiani, S., Latief,
 766 M., Kholilullah, Z.A., Subangkit, M., Kobayashi, S., Nakamura, I., Kimura, T., Orba, Y., Sawa,
 767 H., 2018. Detection of novel gammaherpesviruses from fruit bats in Indonesia. *Journal of*
 768 *Medical Microbiology* 67, 415–422. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000689>
 769 Watanabe, S., Maeda, K., Suzuki, K., Ueda, N., Iha, K., Taniguchi, S., Shimoda, H., Kato, K.,
 770 Yoshikawa, Y., Morikawa, S., Kurane, I., Akashi, H., Mizutani, T., 2010. Novel
 771 Betaherpesvirus in Bats. *Emerging Infectious Diseases* 16, 986–988.
 772 <https://doi.org/10.3201/eid1606.091567>
 773 Watanabe, S., Mizutani, T., Sakai, K., Kato, K., Tohya, Y., Fukushi, S., Saijo, M., Yoshikawa, Y.,
 774 Kurane, I., Morikawa, S., Akashi, H., 2008. Ligation-mediated amplification for effective rapid
 775 determination of viral RNA sequences (RDV). *Journal of Clinical Virology* 43, 56–59.
 776 <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2008.05.004>
 777 Watanabe, S., Ueda, N., Iha, K., Masangkay, J.S., Fujii, H., Alviola, P., Mizutani, T., Maeda, K.,
 778 Yamane, D., Walid, A., Kato, K., Kyuwa, S., Tohya, Y., Yoshikawa, Y., Akashi, H., 2009.
 779 Detection of a new bat gammaherpesvirus in the Philippines. *Virus Genes* 39, 90–93.
 780 <https://doi.org/10.1007/s11262-009-0368-8>

781 Wibbelt, G., Kurth, A., Yasmum, N., Bannert, M., Nagel, S., Nitsche, A., Ehlers, B., 2007.
 782 Discovery of herpesviruses in bats. *Journal of General Virology* 88, 2651–2655.
 783 <https://doi.org/10.1099/vir.0.83045-0>
 784 Wong, S., Lau, S., Woo, P., Yuen, K.-Y., 2007. Bats as a continuing source of emerging infections
 785 in humans. *Reviews in Medical Virology* 17, 67–91. <https://doi.org/10.1002/rmv.520>
 786 Wray, A.K., Olival, K.J., Morán, D., Lopez, M.R., Alvarez, D., Navarrete-Macias, I., Liang, E.,
 787 Simmons, N.B., Lipkin, W.I., Daszak, P., Anthony, S.J., 2016. Viral Diversity, Prey Preference,
 788 and Bartonella Prevalence in *Desmodus rotundus* in Guatemala. *EcoHealth* 13, 761–774.
 789 <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1183-z>
 790 Wu, Z., Ren, X., Yang, L., Hu, Y., Yang, J., He, G., Zhang, J., Dong, J., Sun, L., Du, J., Liu, L.,
 791 Xue, Y., Wang, J., Yang, F., Zhang, S., Jin, Q., 2012. Virome Analysis for Identification of
 792 Novel Mammalian Viruses in Bat Species from Chinese Provinces. *Journal of Virology* 86,
 793 10999–11012. <https://doi.org/10.1128/JVI.01394-12>
 794 Wu, Z., Yang, L., Ren, X., He, G., Zhang, J., Yang, J., Qian, Z., Dong, J., Sun, L., Zhu, Y., Du, J.,
 795 Yang, F., Zhang, S., Jin, Q., 2016. Deciphering the bat virome catalog to better understand the
 796 ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *The ISME*
 797 *Journal* 10, 609–620. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.138>
 798 Yang, F., Wang, Y., Zheng, W., He, B., Jiang, T., Li, Y., Xia, L., Feng, Y., Fan, Q., Tu, C., 2013.
 799 [Metagenomic analysis of bat virome in several Chinese regions]. *Sheng wu gong cheng xue*
 800 *bao* = Chinese journal of biotechnology 29, 586–600.
 801 Yob, J.M., Field, H., Rashdi, A.M., Morrissy, C., van der Heide, B., Rota, P., bin Adzhar, A.,
 802 White, J., Daniels, P., Jamaluddin, A., Ksiazek, T., 2001. Nipah virus infection in bats (order
 803 Chiroptera) in peninsular Malaysia. *Emerging Infect. Dis.* 7, 439–441.
 804 <https://doi.org/10.3201/eid0703.010312>

805 Zaki, A.M., van Boheemen, S., Bestebroer, T.M., Osterhaus, A.D.M.E., Fouchier, R.A.M., 2012.
 806 Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *New England*
 807 *Journal of Medicine* 367, 1814–1820. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721>
 808 Zhang, H., Todd, S., Tachedjian, M., Barr, J.A., Luo, M., Yu, M., Marsh, G.A., Crameri, G., Wang,
 809 L.-F., 2012. A Novel Bat Herpesvirus Encodes Homologues of Major Histocompatibility
 810 Complex Classes I and II, C-Type Lectin, and a Unique Family of Immune-Related Genes.
 811 *Journal of Virology* 86, 8014–8030. <https://doi.org/10.1128/JVI.00723-12>
 812 Zheng, X., Qiu, M., Chen, S., Xiao, J., Ma, L., Liu, S., Zhou, J., Zhang, Q., Li, X., Chen, Z., Wu,
 813 Y., Chen, H., Jiang, L., Xiong, Y., Ma, S., Zhong, X., Huo, S., Ge, J., Cen, S., Chen, Q., 2016.
 814 High prevalence and diversity of viruses of the subfamily Gammaherpesvirinae, family
 815 Herpesviridae, in fecal specimens from bats of different species in southern China. *Archives of*
 816 *Virology* 161, 135–140. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2614-9>
 817 Zheng, X.Y., Qiu, M., Guan, W.J., Li, J.M., Chen, S.W., Cheng, M.J., Huo, S.T., Chen, Z., Wu,
 818 Y., Jiang, L.N., Chen, Q., 2018. Viral metagenomics of six bat species in close contact with
 819 humans in southern China. *Archives of virology* 163, 73–88. [https://doi.org/10.1007/s00705-](https://doi.org/10.1007/s00705-017-3570-3)
 820 [017-3570-3](https://doi.org/10.1007/s00705-017-3570-3)

FIGURE LEGEND

FIG. 1. Phylogenetic tree of betaherpesvirus *DNA polymerase* sequences. The phylogenetic tree was derived from the partial nucleotide sequences of the *DNA polymerase* gene of 83 representatives of betaherpesviruses using the Bayesian method with the GTR + I + G model of nucleotide evolution. Human herpesvirus 4 sequence (HHV4 NC_009334) served as outgroup. The tree is shown as a majority rule consensus tree. Support for nodes was provided by the posterior probabilities of the corresponding clades. All resolved nodes have posterior probability greater than 0.75. A scale indicating divergence, as substitutions per site, is at the foot. Sequences generated in this study are in boldface. The virus names are associated with their accession numbers. The *Proboscivirus*, *Roseolovirus*, *Muromegalovirus* and *Cytomegalovirus* genera are collapsed for clarity, and the size of the collapsed clade is arbitrary. Collapsed *Proboscivirus* clade comprises sequences of Elephant endotheliotropic herpesviruses: EEHV1 (NC_020474), EEHV1B (HM568550), EEHV2 (HM568558), EEHV3 (JQ300065), EEHV4 (EU658934), EEHV5 (NC_024696), EEHV6 (HM060765) and EEHV7A (JQ300083). The *Roseolovirus* clade comprises sequences of MndHV β (AF282942), PanHV6 (AY359407), HHV6A and HHV6B (NC_001664 and NC_000898, respectively), HHV7 (NC_001716), PtroHV7 (KJ843227 and KJ843228), PpanHV7 (KJ843230), GgorHV7 (KJ843231) and MneHV7 (NC_030200). *Muromegalovirus* clade is composed of RatCMV/MuHV2/MuHV8 strains (AY728086, KP967684 and NC_019559), RexuCMV1 (EF125071), BindCMV3 (EF125067), MmusCMV2 (GU017485), MCMV/MuHV1 (AM886412 and NC_004065), MarvCMV1 (EF125059), MglacMV1 (EF125061), AflaCMV2 (EF125063) and RatCMV Maastricht (NC_002512). Finally, viruses of the *Cytomegalovirus* collapsed clade are: AoHV1 (FJ483970), PpitCMV1 (KU963229),

AsenCMV1 (KU963225), AmacCMV1 (KU963227), ApanCMV1 (KU963228), SalbCMV1 (KU963231), SaHV4 (FJ483967), CapeCMV1 (KU963230), CebHV1 (JQ264772), MndCMV (AY129399), BaCMV (NC_027016), CeHV5 strains (JQ264771 and FJ483968), MfasCMV1 strains (KP796148 and AY728171), McHV3 (AF033184 and DQ120516), CgueCMV1.1 (AY129397), GgorCMV2.1 (FJ538490), PnHV2 (AF480884) and HHV5 strains (M14709, AC146905 and AY315197).

FIG.2. Phylogenetic tree of Gammaherpesvirus *DNA polymerase* sequences. The phylogenetic tree was derived from the partial nucleotide sequences of the *DNA polymerase* gene of 82 representatives of gammaherpesviruses using the Bayesian method with the GTR + I + G model of nucleotide evolution. Herpes simplex virus type 1 sequence (HHV1 M10792) served as outgroup. The tree is shown as a majority rule consensus tree. Support for nodes was provided by the posterior probabilities of the corresponding clades. All resolved nodes have posterior probability greater than 0.75. A scale indicating divergence, as substitutions per site, is at the foot. Sequences generated in this study are in boldface. The virus names are associated with their accession numbers. For bat viruses, the host species from which the virus has been identified is indicated after the virus name. In addition, they are colour-coded according to the bat families. Abbreviations of virus names use the first letter of the generic host name in uppercase and the first three letters of the specific host name followed by either GHV (Gammaherpesvirus), LCV (*Lymphocryptovirus*), RHV (*Rhadinovirus*) or HV (Herpesvirus) and an Arabic numeral (1, 2, 3, 4) depending on the virus. Therefore, Rfer stands for *Rhinolophus ferrumequinum*, Ccro for *Crocuta crocuta*, Ezeb for *Equus zebra*, Pvam for *Pteropus vampyrus*, Sara for *Sorex araneus*, Lruf for *Lynx rufus*, Fcat for *Felis catus*, Tbel for *Tupaia belangeri*, Emax for *Elephas maximus*, Deca for *Diphylla ecaudata*, Pham for *Papio hamadryas*, Ggor for *Gorilla gorilla*, Mfas for *Macaca fascicularis*, Asyl for *Apodemus*

sylvaticus, Bind for *Bandicota indica*, MglA for *Myodes glareolus*, Bbab for *Babyrousa babyrussa*,
Sbar for *Sus barbatus*, Dbic for *Diceros bicornis*, Ssci for *Saimiri sciureus*, Tter for *Tapirus*
terrestris, Mmus for *Mus musculus*, Mcer for *Mus cervicolor*, Bsav for *Bandicota savilei*, Pcon for
Puma concolor, Pleo for *Panthera leo*, Ptro for *Pan troglodytes*, Mfus for *Macaca fuscata*, Pcap
for *Procavia capensis*, Rrup for *Rupicapra rupicapra* and Hlib for *Hexaprotodon liberiensis*.
Others that do not exactly follow this naming are listed: HDHV1 stands for *Hipposideros diadema*
herpesvirus 1, MrGHV1 and MrGHV2 for *Myotis ricketti* gammaherpesvirus 1 and 2, respectively,
EHV2 and EHV5 for Equid herpesvirus 2 and 5, respectively, VeGHV1 for *Vespertilionid*
Gammaherpesvirus 1, MusHV1 for Mustelid herpesvirus 1, SaHV2 for Saimiriine herpesvirus 2,
AtHV3 for Ateline herpesvirus 3, PLHV2 and 3 for Porcine lymphotropic herpesvirus 2 and 3,
respectively, MGHV for Megabat gammaherpesvirus, CalHV3 for Callitrichine herpesvirus 3,
HHV4 and 8 for Human herpesvirus 4 and 8, MHV68 for Murine herpesvirus 68, BoHV4 and 6
for Bovine herpesvirus 4 and 6, respectively, OvHV2 for Ovine herpesvirus 2, AlHV1 for
Alcelaphine herpesvirus 1, T2rRHV for Type 2 ruminant rhadinovirus, BLHV for Bovine
lymphotropic herpesvirus, SuHV1 for Suid herpesvirus 1. Latin numerals I, II and III on the right-
hand side indicate the three well-supported bat gammaherpesvirus clades. LCV and OWPRHV on
the right-hand side stand for *Lymphocryptovirus* and Old World primate *Rhadinovirus*.

FIG.3. Phylogenetic tree of Gammaherpesvirus Glycoprotein B sequences. The phylogenetic
tree was derived from the partial nucleotide sequences of the *Glycoprotein B* gene of 99
representatives of gammaherpesviruses using the Bayesian method with the GTR + I + G model of
nucleotide evolution. Herpes simplex virus type 1 sequence (HHV1 JN555585) served as outgroup.
The tree is shown as a majority rule consensus tree. Support for nodes was provided by the posterior
probabilities of the corresponding clades. All resolved nodes have posterior probability greater than

892 0.7. A scale indicating divergence, as substitutions per site, is at the foot. Sequences generated in
893 this study are in boldface. The virus names are associated with their accession numbers. For bat
894 viruses, the host species from which the virus has been identified is indicated after the virus name.
895 They are further colour-coded according to bat families. Abbreviations of virus names follow the
896 same system as for Figure 2. SsynLCV2 stands for *Symphalangus syndactylus* lymphocryptovirus
897 2, CpRHV2 for Caprine herpesvirus 2, MusHV1 for Mustelid herpesvirus 1 and RGHV1 for
898 *Rhinolophus* gammaherpesvirus 1. The different well-supported bat gammaherpesvirus clades are
899 indicated by letters (a, b, ..., i) on the right-hand side. OWPRHV on the right-hand side stands for
900 Old World primate *Rhadinovirus*.

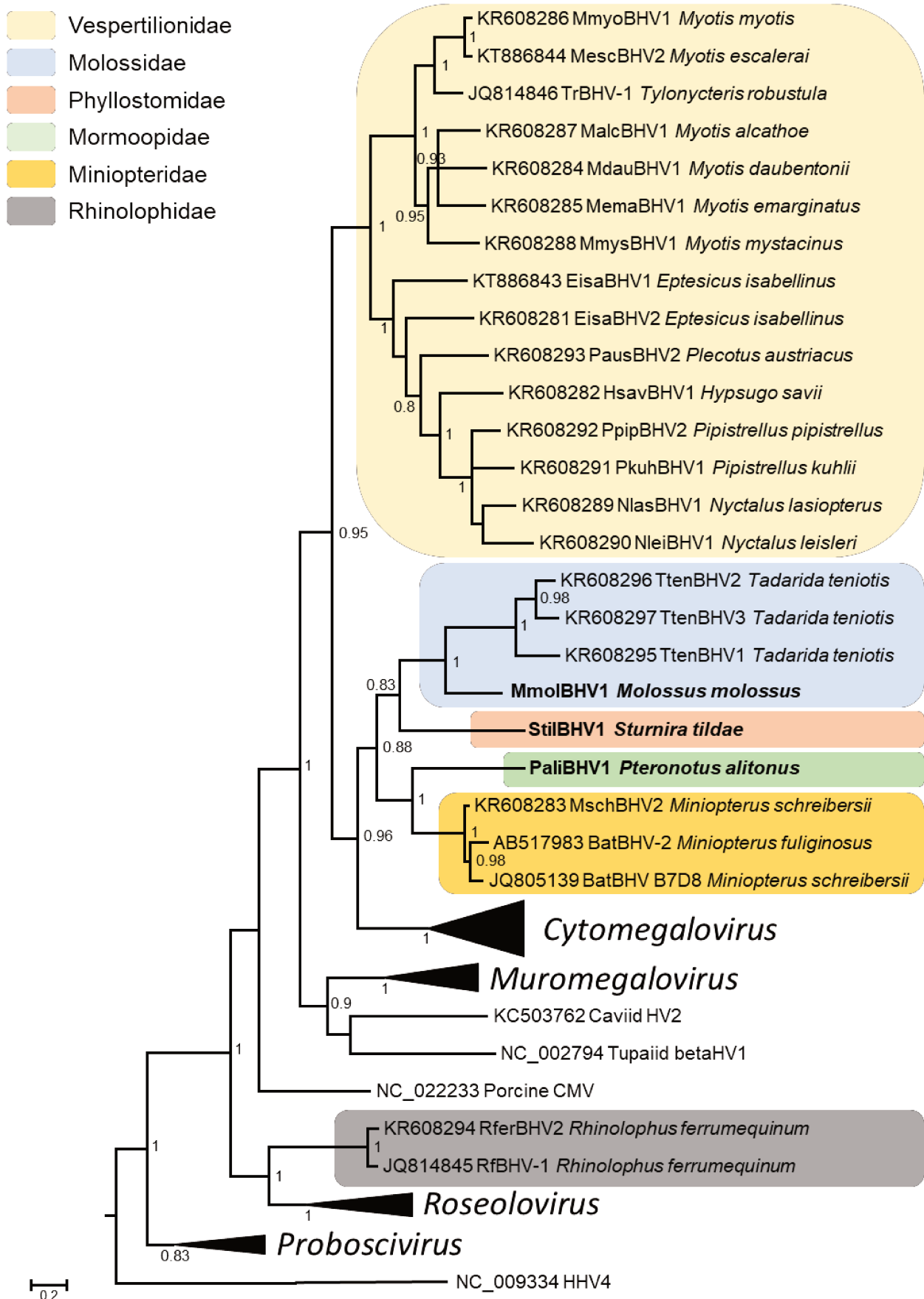


Figure 1. Phylogenetic tree of betaherpesvirus *DNA polymerase* sequences.

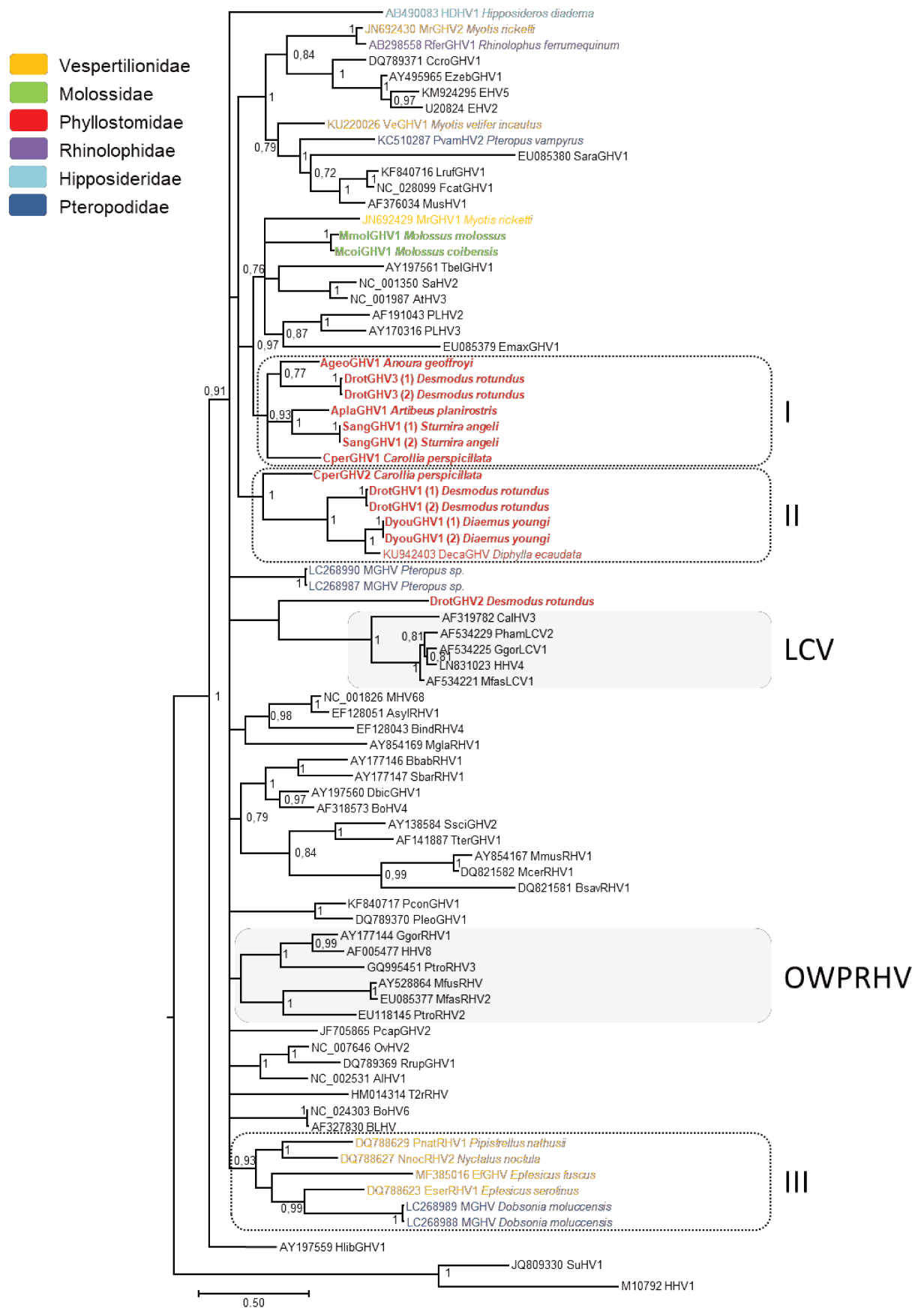


Figure 2. Phylogenetic tree of Gammaherpesvirus DNA polymerase sequences.

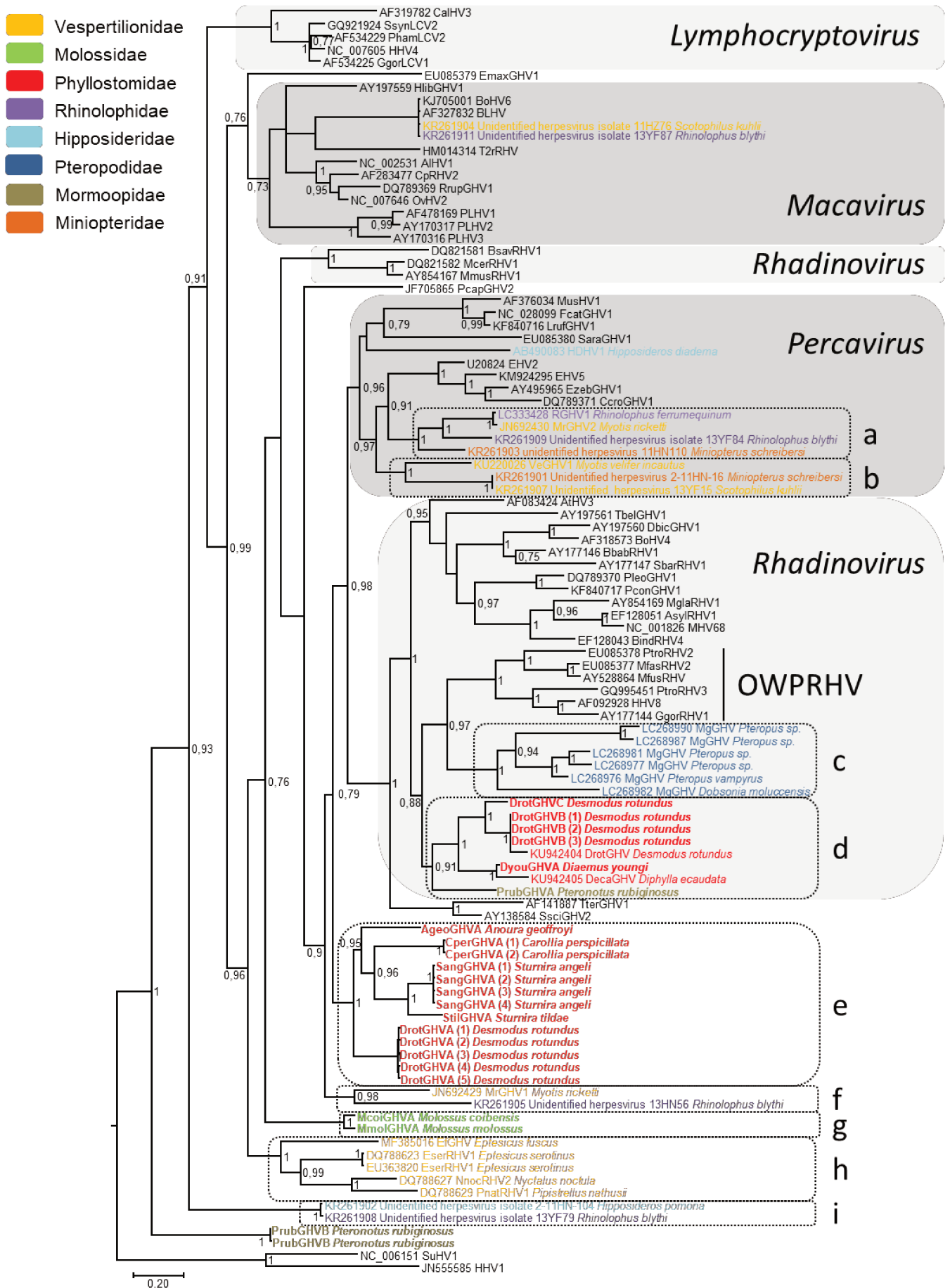


Figure.3. Phylogenetic tree of Gammaherpesvirus Glycoprotein B sequences.

TABLE 1. New World bat species tested for herpesviruses using molecular methods and survey results

O	Family	Subfamily	Species	Common name	Origin	N	DNA Polymerase			Glycoprotein B		
							Informal name	Acronym	n	Informal name	Acronym	n
Chiroptera	Phyllostomidae	Desmodontinae	<i>Desmodus rotundus</i>	Common vampire bat	French Guiana	22	<i>Desmodus rotundus</i> Gammaherpesvirus 1	DrotGHV1	10	<i>Desmodus rotundus</i> Gammaherpesvirus A	DrotGHVA	5
							<i>Desmodus rotundus</i> Gammaherpesvirus 2	DrotGHV2	4	<i>Desmodus rotundus</i> Gammaherpesvirus B	DrotGHVB	3
							<i>Desmodus rotundus</i> Gammaherpesvirus 3	DrotGHV3	3	<i>Desmodus rotundus</i> Gammaherpesvirus C	DrotGHVC	1
		Glossophaginae	<i>Diaemus youngi</i>	White-winged vampire bat	French Guiana	8	<i>Diaemus youngi</i> Gammaherpesvirus 1	DyouGHV1	5	<i>Diaemus youngi</i> Gammaherpesvirus A	DyouGHVA	1
			<i>Anoura geoffroyi</i>	Geoffroy's tailless bat	French Guiana	20	<i>Anoura geoffroyi</i> Gammaherpesvirus 1	AgeoGHV1	2	<i>Anoura geoffroyi</i> Gammaherpesvirus A	AgeoGHVA	1
		Carollinae	<i>Carollia perspicillata</i>	Seba's short-tailed bat	French Guiana	20	<i>Carollia perspicillata</i> Gammaherpesvirus 1	CperGHV1	2	<i>Carollia perspicillata</i> Gammaherpesvirus A	CperGHVA	2
							<i>Carollia perspicillata</i> Gammaherpesvirus 2	CperGHV2	2			
		Stenodermatinae	<i>Artibeus planirostris</i>	Flat-faced fruit-eating bat	French Guiana	20	<i>Artibeus planirostris</i> Gammaherpesvirus 1	AplaGHV1	5			
			<i>Sturnira tildae</i>	Tilda's yellow-shouldered bat	French Guiana	18	<i>Sturnira tildae</i> Betaherpesvirus 1	StilBHV1	2	<i>Sturnira tildae</i> Gammaherpesvirus A	StilGHVA	1
			<i>Sturnira angeli</i>		Martinique	18	<i>Sturnira angeli</i> Gammaherpesvirus 1	SangGHV1	5	<i>Sturnira angeli</i> Gammaherpesvirus A	SangGHVA	4
	Mormoopidae		<i>Pteronotus rubiginosus</i>		French Guiana	15				<i>Pteronotus rubiginosus</i> Gammaherpesvirus A	PrubGHVA	1
										<i>Pteronotus rubiginosus</i> Gammaherpesvirus B	PrubGHVB	2
			<i>Pteronotus alitonus</i>		French Guiana	5	<i>Pteronotus alitonus</i> Betaherpesvirus 1	PaliBHV1	1			
	Molossidae		<i>Molossus coibensis</i>	Coiban mastiff bat	French Guiana	17	<i>Molossus coibensis</i> Gammaherpesvirus 1	McoiGHV1	2	<i>Molossus coibensis</i> Gammaherpesvirus A	McoiGHVA	1
			<i>Molossus molossus</i>	Pallas's mastiff bat	French Guiana	12	<i>Molossus molossus</i> Gammaherpesvirus 1	MmolGHV1	1			
			<i>Molossus molossus</i>	Pallas's mastiff bat	Martinique	20	<i>Molossus molossus</i> Betaherpesvirus 1	MmolBHV1	1	<i>Molossus molossus</i> Gammaherpesvirus A	MmolGHVA	1

Abbreviations: O, order; N: number of tested animals; n: number of herpesvirus-positive animals (by PCR, cloning and sequencing) for either DNA polymerase or Glycoprotein B.

Supplementary Table 1. Primers used for Glycoprotein B and DNA polymerase consensus and specific PCRs

Oligonucleotide	Orientation ^a	5' -> 3' sequence ^b	CMV sequence amplified
<i>Gb degenerate primers^c</i>			
2759s	+	CCT CCC AGG TTC ART WYG CMT AYG A	All
2762as	-	CCG TTG AGG TTC TGA GTG TAR TAR TTR TAY TC	All
2760s	+	AAG ATC AAC CCC ACN AGN GTN ATG	All
2761as	-	GTG TAG TAG TTG TAC TCC CTR AAC ATN GTY TC	All
<i>DNA pol degenerate primers^d</i>			
DFASA	+	GTG TTC GAC TTY GCN AGY YTN TAY CC	All
DFA	+	GAY TTY GCN AGY YTN TAY CC	All
GDTD1B	-	CGG CAT GCG ACA AAC ACG GAG TCN GTR TCN CCR TA	All
VYGA	+	ACGTGCAACGCGGTGTAYGGNKTNACNGG	All
ILK	+	TCC TGG ACA AGC AGC ARN YSG CNM TNA A	All
KG1	-	GTC TTG CTC ACC AGN TCN ACN CCY TT	All
TGV	+	TGT AAC TCG GTG TAY GGN TTY ACN GGN GT	All
IYG	-	CAC AGA GTC CGT RTC NCC RTA DAT	All
<i>DNA pol antisense specific primers (in combination with DFA or DFASA)</i>			
DrotGHV1R	-	TGA TTT TTC CAA CAT TGT TCT CCC	DrotGHV1
DrotGHV2R	-	AAG CAT TGT TCT GCC TTG TAG CG	DrotGHV2
DrotGHV3R	-	GGA TTT TTC AAG CAT GGT TCT CCC	DrotGHV3
DyouGHVR	-	GAG CCT GGG GTG AGA TGG ATT C	DyouGHV1
AgeoGHVR	-	CTG GAG TGT GAC TGT CTC GGC TAT C	AgeoGHV1
CperGHV1R	-	TCT CCC TTG TAA AGT AAC TGT CTC TGC	CperGHV1
CperGHV2R	-	TTC AAG CAT TGT CCG TCC CTG	CperGHV2
AplaGHVR	-	TTT TGG CAA CAT CAT CAG GAG TTA G	AplaGHV1
StilBHVR	-	CAT CTC CCG CCC GAT CCG GGT AAT GGA	StilBHV1
SangGHVR	-	AGC TAC ATC CTG TGG GCT AAG GG	SangGHV1
Psp3BHVR	-	CGT GTT CGA TAA CAT ATC CCT ACC T	Psp3BHV1
McoimolGHVR	-	TGC CCC TTA GAG TGA CAG TTT CAG CA	McoiGHV1 / MmolGHV1
MmolBHVR	-	CGC GAC CTA TCT TCG TGA TGG AC	MmolBHV1

^a +, sense; -, antisense.

^b Positions of degeneracy follow the International Unit Base codes.

^c Degenerate oligonucleotide primers described in Prepens *et al.* (XX).

Degenerate oligonucleotide primers described in vanDevanter *et al.* (XX) and in Rose *et al.* (XX).

Supplementary Table 2. Nucleotide and amino acid identities between the three novel bat betaherpesviruses identified and other betaherpesviruses on the basis of DNA polymerase partial gene sequences

	StilBHV1		% identity with Psp3BHV1		MmolBHV1	
	nct	aa	nct	aa	nct	aa
StilBHV1 (Phyllostomidae)	100,0	100,0	53,6	63,7	65,4	66,9
Psp3BHV1 (Mormoopidae)	53,6	63,7	-	-	57,9	66,1
MmolBHV1 (Molossidae)	65,4	66,9	57,9	66,1	-	-
<i>betaherpesvirus of</i>						
Miniopteridae	62,5 - 64,1	66,1 - 67,7	59,2 - 60,6	66,9 - 67,7	65,7 - 67,3	64,5 - 67,7
Molossidae	60,9 - 62,7	63,7 - 66,1	55,8 - 57,1	61,3 - 63,7	64,6 - 66,5	71,8 - 75,0
Vespertilionidae	56,8 - 62,2	57,3 - 62,1	50,9 - 59,2	49,2 - 58,1	54,7 - 63,8	53,2 - 61,3
Rhinolophidae	53,4	50,0 - 50,8	48,8 - 49,1	43,5 - 44,4	53,4 - 55,2	50,0 - 50,8
<i>betaherpesvirus genera</i>						
Cytomegalovirus	54,4 - 63,0	56,5 - 62,9	53,9 - 57,9	58,9 - 66,1	57,4 - 66,2	59,7 - 65,3
Muromegalovirus	55,0 - 62,2	52,4 - 61,3	45,8 - 57,6	53,2 - 57,3	56,8 - 63,5	55,6 - 61,3
Roseolovirus	44,2 - 51,2	45,2 - 50,0	48,8 - 53,9	42,7 - 46,0	45,3 - 52,8	45,2 - 48,4
Proboscivirus	47,7 - 60,1	49,2 - 53,2	46,4 - 53,9	48,4 - 51,6	49,6 - 62,2	50,0 - 52,4
<i>unclassified betaherpesvirus</i>						
Cavid HV2	57,1	58,9	55,2	53,2	59,2	57,3
Tupaid beta HV 1	62,2	60,5	49,1	58,1	64,1	62,9
Porcine CMV	58,2	58,1	50,1	52,4	61,7	62,1

In bold are indicated the lowest and highest values of nucleotide and amino acid identities between the newly identified viruses as well as with the other betaherpesviruses of the different bat families.

Supplementary Table 3. Nucleotide and amino acid identities between the novel bat gammaherpesviruses identified and other gammaherpesviruses on the basis of DNA

		DrotGHV1		DrotGHV2		DrotGHV3		DyouGHV1		AgeoGHV1		% identity with CperGHV1		CperGHV2		AplaGHV1		SangGHV1		McoiGHV1		MmolGHV1	
		nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa
gammaherpesvirus of	DrotGHV1 (Phyllostomidae)	99,6 - 100,0	100,0	49,0 - 49,4	43,2	54,7 - 55,1	58,0	71,0	82,7	60,0	55,6	60,4	61,7	62,0	66,7	52,7	53,1	59,2	60,5	56,7	58,0	56,7	58,0
	DrotGHV2 (Phyllostomidae)	49,0 - 49,4	43,2	100,0	100,0	52,7 - 53,1	49,4	48,6	48,1	53,5	46,9	54,3	49,4	55,2	48,1	58,8	50,6	53,1	46,9	55,1	49,4	54,7	49,4
	DrotGHV3 (Phyllostomidae)	54,7 - 55,1	58,0	52,7 - 53,1	49,4	99,2 - 100,0	97,5 - 100,0	58,4 - 58,8	56,8	73,5 - 73,9	74,1 - 75,3	69,8 - 70,6	75,3 - 76,5	59,2	63,0 - 64,2	70,2 - 70,6	70,4 - 71,6	66,1 - 66,5	76,5	65,7 - 66,1	70,4	66,9 - 67,3	70,4
	DyouGHV1 (Phyllostomidae)	71,0	82,7	48,6	48,1	58,4 - 58,8	56,8	100,0	100,0	55,1	53,1	57,1	56,8	61,0	63,0	56,3	51,9	58,0	56,8	58,4	58,0	58,8	58,0
	AgeoGHV1 (Phyllostomidae)	60,0	55,6	53,5	46,9	73,5 - 73,9	74,1 - 75,3	55,1	53,1	100,0	100,0	73,1	76,5	62,0	64,2	70,6	72,8	68,6	72,8	63,7	66,7	63,7	66,7
	CperGHV1 (Phyllostomidae)	60,4	61,7	54,3	49,4	69,8 - 70,6	75,3 - 76,5	57,1	56,8	73,1	76,5	100,0	100,0	62,9	64,2	71,0	75,3	68,2	76,5	69,8	71,6	68,6	71,6
	CperGHV2 (Phyllostomidae)	62,0	66,7	55,2	48,1	59,2	63,0 - 64,2	61,0	63,0	62,0	64,2	62,9	64,2	100,0	100,0	62,9	60,5	61,2	64,2	62,4	61,7	62,0	61,7
	AplaGHV1 (Phyllostomidae)	52,7	53,1	58,8	50,6	70,2 - 70,6	70,4 - 71,6	56,3	51,9	70,6	72,8	71,0	75,3	62,9	60,5	100,0	100,0	75,9	81,5	65,7	69,1	63,7	66,7
	SangGHV1 (Phyllostomidae)	59,2	60,5	53,1	46,9	66,1 - 66,5	76,5	58,0	56,8	68,6	72,8	68,2	76,5	61,2	64,2	75,9	81,5	100,0	100,0	63,3	66,7	60,8	66,7
	McoiGHV1 (Molossidae)	56,7	58,0	55,1	49,4	65,7 - 66,1	70,4	58,4	58,0	63,7	66,7	69,8	71,6	62,4	61,7	65,7	69,1	63,3	66,7	100,0	100,0	95,5	97,5
	MmolGHV1 (Molossidae)	56,7	58,0	54,7	49,4	66,9 - 67,3	70,4	58,8	58,0	63,7	66,7	68,6	71,6	62,0	61,7	63,7	66,7	60,8	66,7	95,5	97,5	-	-
	Phyllostomidae	72,2	85,2	49,4	46,9	53,9 - 54,3	58,0	86,9	91,4	58,0	53,1	57,6	59,3	63,7	63,0	54,7	51,9	58,0	59,3	57,6	56,8	57,1	56,8
	Pteropodidae	47,3 - 55,5	51,9 - 60,5	52,7 - 53,9	43,2 - 50,6	57,6 - 62,4	50,6 - 63,0	51,8 - 58,8	50,6 - 59,3	55,9 - 62,4	59,3 - 66,7	51,0 - 63,7	56,8 - 67,9	55,1 - 60,4	58,0 - 65,4	55,9 - 61,2	54,3 - 64,2	52,2 - 61,2	55,6 - 64,2	50,6 - 58,4	54,3 - 61,7	50,2 - 58,8	51,9 - 59,3
	Hipposideridae	49,4 - 49,8	46,9	47,3	43,2	54,7 - 55,5	49,4 - 50,6	49,8	48,1	54,3	50,6	52,2	48,1	47,8	48,1	53,5	48,1	53,9	50,6	52,7	51,9	53,1	54,3
	Rhinolophidae	55,5	59,3	49,8	45,7	58,4	60,5 - 61,7	60,4	60,5	62,9	65,4	59,2	58,0	60,0	63,0	60,4	55,6	58,8	58,0	60,4	61,7	59,6	59,3
	Vespertilionidae	44,1 - 60,0	46,9 - 61,7	49,0 - 58,4	40,7 - 53,1	57,6 - 64,9	53,1 - 64,2	51,8 - 60,8	45,7 - 63,0	57,6 - 63,3	54,3 - 67,9	54,7 - 66,9	55,6 - 69,1	48,6 - 59,6	46,9 - 63,0	53,1 - 62,9	51,9 - 65,4	54,3 - 64,5	51,9 - 65,4	51,4 - 62,9	49,4 - 66,7	51,8 - 62,9	48,1 - 69,1
	Miniopteridae	53,9	54,3	54,3	51,9	59,2 - 59,6	58,0 - 59,3	53,1	54,3	59,2	59,3	63,3	58,0	55,5	59,3	55,1	53,1	58,4	55,6	61,6	56,8	60,0	56,8
	Molossidae	55,9	51,9	56,7	53,1	61,2 - 62,0	54,3 - 56,8	52,7	50,6	57,6	50,6	58,0	54,3	57,1	54,3	58,4	46,9	56,7	54,3	57,1	51,9	57,6	51,9
gammaherpesvirus genera																							
gammaherpesvirus genera	<i>Lymphocryptovirus</i>	43,3 - 46,5	37,0 - 43,2	50,6 - 53,1	45,7 - 46,9	51,4 - 58,4	44,4 - 55,6	48,2 - 51,8	38,3 - 46,9	55,9 - 58,0	45,7 - 54,3	48,6 - 51,8	46,9 - 51,9	47,3 - 49,4	44,4 - 45,7	53,9 - 56,3	45,7 - 49,4	51,0 - 53,5	46,9 - 50,6	47,3 - 51,0	40,7 - 46,9	47,3 - 50,2	43,2 - 49,4
	<i>Macavirus</i>	42,0 - 55,9	42,0 - 51,9	50,2 - 55,9	45,7 - 51,9	58,4 - 66,9	56,8 - 67,9	49,8 - 55,1	45,7 - 51,9	57,1 - 66,1	54,3 - 64,2	50,6 - 61,6	48,1 - 63,0	47,3 - 57,1	45,7 - 58,0	58,0 - 67,3	54,3 - 64,2	57,6 - 64,5	50,6 - 61,7	52,7 - 64,5	51,9 - 63,0	52,7 - 65,3	49,4 - 64,2
	<i>Rhadinovirus</i>	43,7 - 62,0	40,7 - 63,0	42,9 - 56,3	39,5 - 54,3	52,7 - 64,9	50,6 - 67,9	51,4 - 62,9	43,2 - 61,7	50,6 - 65,7	49,4 - 66,7	47,8 - 69,4	45,7 - 67,9	51,8 - 65,3	46,9 - 69,1	52,2 - 68,6	46,9 - 67,9	50,6 - 64,5	48,1 - 65,4	48,6 - 64,1	45,7 - 66,7	48,2 - 62,9	46,9 - 64,2
	<i>Percavirus</i>	48,6 - 56,7	51,9 - 63,0	47,0 - 53,9	35,8 - 46,9	60,0 - 65,7	59,3 - 65,4	54,7 - 58,4	50,6 - 60,5	58,0 - 63,3	54,3 - 64,2	56,7 - 62,9	53,1 - 64,2	54,3 - 60,0	55,6 - 63,0	57,6 - 62,4	53,1 - 59,3	57,6 - 61,2	54,3 - 61,7	53,9 - 61,2	56,8 - 61,7	53,5 - 60,4	54,3 - 60,5
unclassified gammaherpesvirus																							
unclassified gammaherpesvirus	<i>Elephas maximus gammaherpesvirus 1</i>	51,4	46,9	46,9	39,5	53,5 - 54,3	42,0	53,1	45,7	55,9	44,4	57,1	49,4	53,5	45,7	55,5	50,6	58,4	50,6	52,2	45,7	50,6	43,2
	<i>Procyon capensis gammaherpesvirus 2</i>	50,2	54,3	49,8	46,9	60,8 - 61,6	63,0 - 64,2	58,0	58,0	60,0	60,5	55,9	59,3	55,9	60,5	62,9	59,3	60,8	66,7	58,4	60,5	58,0	59,3
	<i>Sorex araneus gammaherpesvirus 1</i>	47,3 - 47,8	45,7	44,1	37,0	46,5	46,9 - 48,1	50,2	44,4	47,8	42,0	47,3	44,4	49,8	48,1	50,6	43,2	51,8	46,9	46,1	46,9	45,3	44,4
	<i>Tupaia belangeri gammaherpesvirus 1</i>	58,4	56,8	53,2	46,9	62,9 - 63,3	64,2 - 65,4	54,7	56,8	64,5	58,0	60,4	61,7	59,2	60,5	63,7	58,0	60,0	58,0	58,4	61,7	57,1	59,3

In bold are indicated the lowest and highest values of nucleotide and amino acid identities between the newly identified viruses, with the other viruses of the different bat families or depending on the virus genera for the non-bat viruses.

Supplementary Table 4. Nucleotide and amino acid identities between the novel bat gammaherpesviruses identified and other gammaherpesviruses on the basis of Glycoprotein B partial gene sequences.

	DrotGHVA		DrotGHVB		DrotGHVC		DyouGHVA		AgeoGHVA		CperGHVA		StilGHVA		SangGHVA		PrubGHVA		PrubGHVB		McoiGHVA		MmolGHVA	
	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa	nct	aa
DrotGHVA (Phyllostomidae)	99,1 - 100	99,1 - 100,0	62,1 - 62,7	59,1	64,1 - 64,7	59,1	60,7 - 61,3	59,1	74,1 - 73,5	78,3 - 79,1	72,4 - 72,9	76,5 - 77,4	71,8 - 72,4	74,8 - 75,7	72,9	77,4 - 78,3	60,7 - 61,3	62,6 - 63,5	59,3 - 69,4	55,7 - 57,4	67,2 - 67,5	70,4 - 71,3	67,2 - 67,8	70,4 - 71,3
DrotGHVB (Phyllostomidae)	62,1 - 62,7	59,1	100,0	100,0	85,5	93,0	77,2	93,0	63,0	60,9	61,3	56,5	61,5	57,4	61,5	58,3	74,6	80,9	59,0	53,9 - 54,8	60,7	63,5	62,1	62,6
DrotGHVC (Phyllostomidae)	64,1 - 64,7	59,1	85,5	93,0	-	-	76,6	93,9	65,0	60,9	61,5	56,5	63,0	58,3	64,4	59,1	72,4	78,3	58,4	53,9 - 54,8	61,5	63,5	62,7	62,6
DyouGHVA (Phyllostomidae)	60,7 - 61,3	59,1	77,2	93,0	76,6	93,9	-	-	61,3	60,0	60,7 - 61,0	56,5	62,1	58,3	62,4	59,1	72,4	81,7	60,1	53,9 - 54,8	63,2	64,3	63,8	63,5
AgeoGHVA (Phyllostomidae)	74,1 - 73,5	78,3 - 79,1	63,0	60,9	65,0	60,9	61,3	60	-	-	69,8	73,9	70,1	77,4	72,4	81,7	63,8	64,3	58,4 - 59,0	53,0 - 54,8	63,0	70,4	63,8	71,3
CperGHVA (Phyllostomidae)	72,4 - 72,9	76,5 - 77,4	61,3	56,5	61,5	56,5	60,7 - 61,0	56,5	69,8	73,9	100,0	100,0	70,7	76,5	69,2	76,5	59,5 - 59,8	60,9	58,1 - 58,7	51,3 - 53,0	62,4 - 62,7	72,2	63,8 - 64,1	70,4
StilGHVA (Phyllostomidae)	71,8 - 72,4	74,8 - 75,7	61,5	57,4	63,0	58,3	62,1	58,3	70,1	77,4	70,7	76,5	-	-	81,5	93,9	62,1	60,0	61,0 - 61,5	53,9 - 54,8	67,8	73,9	65,8	72,2
SangGHVA (Phyllostomidae)	72,9	77,4 - 78,3	61,5	58,3	64,4	59,1	62,4	59,1	72,4	81,7	69,2	76,5	81,5	93,9	100,0	100,0	61,0	62,6	58,7 - 59,3	55,7 - 56,5	68,1	73,0	67,8	73,9
PrubGHVA (Mormoopidae)	60,7 - 61,3	62,6 - 63,5	74,6	80,9	72,4	78,3	72,4	81,7	63,8	64,3	59,5 - 59,8	60,9	62,1	60,0	61,0	62,6	-	-	56,4	54,8 - 55,7	58,1	63,5	57,0	62,6
PrubGHVB (Mormoopidae)	59,3 - 69,4	55,7 - 57,4	59,0	53,9 - 54,8	58,4	53,9 - 54,8	60,1	53,9 - 54,8	58,4 - 59,0	53,0 - 54,8	58,1 - 58,7	51,3 - 53,0	61,0 - 61,5	53,9 - 54,8	58,7 - 59,3	55,7 - 56,5	56,4	54,8 - 55,7	99,4	98,3	56,7 - 57,0	53,9 - 54,8	57,0 - 57,3	53,0 - 53,9
McoiGVHA (Molossidae)	67,2 - 67,5	70,4 - 71,3	60,7	63,5	61,5	63,5	63,2	64,3	63,0	70,4	62,4 - 62,7	72,2	67,8	73,9	68,1	73,0	58,1	63,5	56,7 - 57,0	53,9 - 54,8	-	-	92,0	95,7
MmolGHVA (Molossidae)	67,2 - 67,8	70,4 - 71,3	62,1	62,6	62,7	62,6	63,8	63,5	63,8	71,3	63,8 - 64,1	70,4	65,8	72,2	67,8	73,9	57,0	62,6	57,0 - 57,3	53,0 - 53,9	92,0	95,7	-	-
<i>gammaherpesvirus of</i>																								
Phyllostomidae	59,3 - 60,4	53,0 - 59,1	77,5 - 92,6	81,7 - 93,0	77,2 - 79,2	77,4 - 93,9	71,5 - 93,7	75,7 - 98,3	59,8 - 60,7	54,8 - 60,9	59,3 - 60,4	52,2 - 56,5	59,0 - 61,3	51,3 - 59,1	59,3 - 61,8	53,0 - 60,0	70,9 - 71,8	69,6 - 80,9	56,1 - 59,3	44,3 - 53,9	57,5 - 62,7	54,8 - 64,3	58,4 - 64,1	54,8 - 63,5
Pteropodidae	57,8 - 64,1	58,3 - 62,6	60,7 - 66,7	60,9 - 66,1	59,5 - 66,7	60,9 - 67,0	61,0 - 66,1	62,6 - 67,8	57,0 - 63,5	60,9 - 64,3	55,6 - 60,1	56,5 - 67,0	57,8 - 62,4	53,9 - 62,6	58,4 - 61,8	55,7 - 62,6	56,4 - 63,0	64,3 - 69,6	54,4 - 57,0	45,2 - 54,8	57,8 - 65,8	59,1 - 63,5	58,4 - 65,5	60,0 - 63,5
Rhinolophidae	58,1 - 67,2	49,6 - 64,3	51,9 - 60,1	48,7 - 61,7	52,4 - 60,7	47,0 - 58,3	55,0 - 62,7	47,8 - 60,9	56,1 - 64,4	49,6 - 62,6	53,3 - 65,2	47,8 - 63,5	55,8 - 67,0	50,4 - 67,0	55,3 - 67,5	51,3 - 63,5	48,7 - 64,4	50,4 - 61,7	53,6 - 61,5	41,7 - 55,7	54,1 - 65,5	50,4 - 63,5	53,8 - 64,7	51,3 - 64,3
Vespertilionidae	60,1 - 68,1	54,8 - 73,0	55,3 - 63,8	51,3 - 62,6	54,7 - 63,5	51,3 - 60,9	56,1 - 61,8	52,2 - 61,7	56,7 - 67,2	55,7 - 62,6	55,8 - 67,8	52,2 - 67,0	60,1 - 67,2	59,1 - 71,3	59,8 - 68,4	59,1 - 70,4	52,7 - 66,1	53,0 - 62,6	55,3 - 61,0	48,7 - 53,9	58,7 - 67,0	56,5 - 66,1	57,5 - 66,1	55,7 - 66,1
Miniopteridae	60,1 - 65,5	54,8 - 67,0	59,8 - 61,3	57,4	58,4 - 60,4	54,8 - 55,7	59,8 - 61,0	57,4 - 58,3	59,0 - 65,8	55,7 - 63,5	55,8 - 64,7	52,2 - 60,0	63,0 - 66,7	59,1 - 62,6	63,0 - 65,8	59,1 - 63,5	61,3 - 61,8	55,7 - 59,1	57,0 - 59,5	48,7 - 53,0	61,3 - 63,8	58,3 - 59,1	61,5 - 62,7	55,7 - 59,1
<i>gammaherpesvirus genera</i>																								
<i>Lymphocryptovirus</i>	59,0 - 60,1	54,8 - 57,4	52,7 - 55,0	47,0 - 53,9	51,9 - 54,4	47,0 - 53,0	54,1 - 59,8	46,1 - 53,0	55,6 - 57,3	50,4 - 53,0	56,7 - 58,1	53,0 - 56,5	54,1 - 59,8	51,3 - 54,8	57,0 - 60,4	51,3 - 53,9	49,3 - 51,6	47,0 - 51,3	59,5 - 63,0	53,9 - 57,4	60,1 - 64,7	55,7 - 57,4	59,5 - 62,7	55,7 - 57,4
<i>Macavirus</i>	61,3 - 67,0	60,0 - 66,1	57,3 - 61,0	53,0 - 60,0	55,8 - 62,1	51,3 - 60,9	58,1 - 63,8	53,0 - 61,7	58,1 - 65,2	58,3 - 67,8	58,1 - 67,0	58,3 - 64,3	61,0 - 65,2	58,3 - 64,3	60,4 - 65,5	59,1 - 64,3	54,4 - 65,5	55,7 - 63,5	56,1 - 61,0	48,7 - 56,5	61,8 - 67,8	60,0 - 66,1	61,5 - 65,8	58,3 - 67,0
<i>Rhadinovirus</i>	56,4 - 65,0	51,3 - 67,0	55,3 - 69,2	53,0 - 74,8	55,0 - 69,2	51,3 - 71,3	55,8 - 69,8	53,0 - 73,0	55,0 - 63,8	51,3 - 67,8	55,6 - 65,2	48,7 - 66,1	55,3 - 63,5	52,2 - 67,0	56,1 - 63,2	52,2 - 67,0	54,7 - 66,1	54,8 - 72,2	50,7 - 60,7	45,2 - 55,7	55,8 - 68,9	53,9 - 70,4	57,0 - 67,5	53,0 - 71,3
<i>Percavirus</i>	62,7 - 68,1	57,4 - 67,0	59,5 - 63,0	53,9 - 63,5	57,8 - 63,8	52,2 - 62,6	59,0 - 63,8	53,9 - 63,5	60,4 - 65,2	55,7 - 62,6	61,0 - 66,1	53,9 - 60,9	58,4 - 63,5	54,8 - 60,0	59,3 - 62,7	54,8 - 60,9	57,0 - 61,3	53,0 - 60,9	56,4 - 60,7	43,5 - 50,4	60,1 - 63,5	59,1 - 65,2	61,3 - 63,5	57,4 - 66,1
<i>unclassified gammaherpesvirus</i>																								
Elephas maximus gammaherpesvirus 1	59,5 - 60,1	58,3 - 59,1	59,3	55,7	60,1	53,9	63,0	55,7	61,5	58,3	57,0	57,4	59,0	56,5	59,8	56,5	60,4	55,7	54,7 - 55,3	50,4 - 51,3	59,3	56,7	57,8	55,7
Procavia capensis gammaherpesvirus 2	68,7 - 68,9	72,2 - 73,0	58,1	59,1	60,4	58,3	59,5	60,0	63,5	70,4	63,0	65,2	66,7	72,2	70,9	73,9	59,3	63,5	59,8 - 60,4	55,7 - 57,4	65,5	68,7	68,4	70,4
Sorex araneus gammaherpesvirus 1	65,5 - 66,4	58,3	57,0	53,0	59,3	55,7	58,1	55,7	61,8	58,3	61,8 - 62,1	55,7	57,8	55,7	58,1	57,4	59,0	51,3	55,6 - 56,1	47,8 - 49,6	59,0	58,3	59,8	59,1
Tupaia belangeri gammaherpesvirus 1	58,7 - 59,5	57,4 - 58,3	63,2	63,5	64,1	61,7	66,4	63,5	62,7	61,7	61,0 - 61,3	59,1	61,8	57,4	61,8	60,0	64,4	66,1	54,1 - 54,4	47,0 - 47,8	57,8	60,9	58,1	58,3

In bold are indicated the lowest and highest values of nucleotide and amino acid identities between the newly identified viruses, with the other viruses of the different bat families or depending on the virus genera for the non-bat viruses.

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Le protocole de PCR développé par Tim Rose et son équipe, utilisant des primers consensus dégénérés déterminés par le programme CODEHOP, s'est révélé être un outil d'une extraordinaire puissance afin de caractériser de nouveaux herpèsvirus (Rose et al., 1998; Staheli et al., 2011; VanDevanter et al., 1996). Cette approche a ainsi permis au cours de deux dernières décennies à de multiples équipes de caractériser des dizaines de nouvelles séquences d'herpèsvirus à partir d'un large spectre d'espèces hôtes dont une liste exhaustive est impossible à générer (Pellett, 2014). Cette technique m'a permis, au cours de ma thèse, d'identifier de nouvelles séquences de cytomégalovirus de la plupart des espèces de primates du Nouveau Monde testées ainsi que des séquences de *Beta-* et *Gamma-herpesvirinae* de 11 espèces de chauves-souris. Cette approche ne permet cependant que d'amplifier des séquences de quelques centaines à quelques milliers de paires de base de quelques gènes conservés (*DNA polymérase*, *glycoprotéine B*, *terminase*, *UTPase*) au sein de l'ordre *Herpesvirales*. Bien que l'information générée soit suffisante afin d'étudier la diversité de ces virus et de mener des études d'évolution moléculaire, elle s'avère limitée au regard de la taille de ces virus, de l'ordre d'une centaine de Kb (Voevodin and Marx, 2008). Elle peut aussi s'avérer fastidieuse et consommatrice de matériel biologique souvent précieux. Nous avons ainsi été confrontés à ce problème lorsque nous avons voulu générer des séquences plus grandes de l'*ADN polymérase* des différents cytomégalovirus de PNHNMs que nous avons identifiés. De fait, nombre de nos tentatives se sont révélées infructueuses. Ceci s'explique par le fait qu'au sein de ces protéines seuls quelques motifs sont suffisamment conservés afin de dessiner de nouveaux couples de primers dégénérés. De même, au regard des différents gammaherpèsvirus de chauves-souris, ayant identifié des séquences de la *glycoprotéine B* et de l'*ADN polymérase*, tous deux colinéaires, nous avons tenté de faire la jonction entre les deux de façon à obtenir des séquences de plus de 3 Kb. Cette approche n'a cependant fonctionné que pour deux virus, de *C. perspicillata* et *D. rotundus*. Quoi qu'il en soit, les

données générées dans le cadre de ma thèse ouvrent un champ d'investigation beaucoup plus large et plusieurs axes de recherche me paraissent particulièrement intéressants à développer.

Le premier concerne la diversité des espèces hôtes testées. Bien que ces études soient les plus larges jamais conduites en termes de diversité d'espèces, que ce soit pour les PNHNMs comme pour les chauves-souris du Nouveau Monde, nous n'avons testé qu'une petite partie de la diversité de ces mammifères. Ainsi, les 11 espèces de chauves-souris testées ne représentent que 10% des espèces identifiées sur le seul territoire de la Guyane. Il sera donc intéressant de tester un plus large éventail d'espèces à partir de prélèvements obtenus dans le cadre de nouvelles captures (chauves-souris) par le laboratoire ou de collaborations avec des partenaires du sous-continent. L'identification de nouvelles séquences d'autres espèces hôtes permettra d'augmenter nos connaissances sur leur diversité et liens évolutifs et par ailleurs, concernant les cytomégalo virus de PNHNMs, nous permettra de tester notre modèle selon lequel ces séquences virales peuvent servir d'outil moléculaire afin d'étudier la systématique des PNHNMs.

Le deuxième concerne le type de prélèvement analysé. Les ADNs que nous avons testés ont tous été extraits de prélèvements sanguins. Or, dans le cadre du projet portant sur les chauves-souris, nous avons très largement généré des séquences de gamma-herpès virus et quelques séquences de beta. Bien que ce biais d'amplification puisse provenir de la dégénérescence de primers favorisant l'amplification de certains genres ou sous-famille au détriment d'autres, il me semble important de tester d'autres types de prélèvements comme des écouvillons salivaires afin de voir si l'on obtient des séquences d'alpha-herpès virus. De fait, parmi tous les herpès virus de chauves-souris décrits dans la littérature, la plupart des séquences d'alpha- et de beta-herpès virus ont été amplifiées à partir de prélèvements de salive (Pozo et al., 2016; Razafindratsimandresy et al., 2009).

Le troisième volet, dans la suite des études menées au sein du laboratoire, serait de dessiner de nouveaux couples de primers, en modifiant leur niveau de dégénérescence de façon à amplifier préférentiellement des séquences de roséolovirus, comme nous l'avons fait pour les cytomégalovirus. De fait, le laboratoire a publié les premières séquences de roséolovirus (HHV7-like) de grands singes d'Afrique (Lavergne et al., 2014). Hormis ces séquences, seules des séquences virales de macaques, MneHV6 et MneHV7, ont été identifiées (Staheli et al., 2016, 2014). Il serait donc intéressant de tester notre collection d'ADN de PNHNMs afin de caractériser les premières séquences de roséolovirus de primates non humains du Nouveau Monde.

Un quatrième axe à développer serait de générer la séquence complète de certains de ces virus. Concernant les PNHNMs, nous étions limités afin de développer un tel projet par notre collection d'échantillons uniquement constitué d'ADN. Pour les chauves-souris, nous n'avons pas ce problème étant en possession de différents types de prélèvements (sang, salive, fèces, organes). De plus, le laboratoire continue par ailleurs à effectuer des captures. Il nous serait donc possible de tester de nouveaux échantillons (sérum, salive, organe, ...) par notre approche PCR puis, une fois certains échantillons identifiés positifs pour tel ou tel virus, d'essayer de le propager en culture. Des études d'infection expérimentale *in vitro* ont été menées pour les cinq virus isolés (FBAHV1, MsHV, EfHV, BGHV8 et RGHV-1) (Noguchi et al., 2018; Sasaki et al., 2014; Shabman et al., 2016; Subudhi et al., 2018; Zhang et al., 2012). Bien que le nombre et le type de lignées cellulaires testées pour ces infections *in vitro* ait été variable d'une étude à l'autre et que les capacités d'infection et de réplication des virus étaient très distinctes en fonction des lignées, la lignée Vero s'est montrée permissive pour quatre des cinq virus (à l'exception de MsHV). Nous pourrions donc tenter d'infecter *in vitro* la lignée Vero à l'aide d'un échantillon préalablement identifié positif afin de produire du virus puis de générer la séquence génomique par une approche de séquençage haut débit. Dans cette

optique, nous avons testé les lignées cellulaires de *C. perspicillata* et *D. rotundus* générées par le laboratoire afin de voir si elles étaient infectées par un herpèsvirus (Sarkis et al., 2018). Ces lignées se sont malheureusement révélées négatives.

Enfin, afin d’aller plus avant dans l’étude des relations évolutives des primates non-humains du Nouveau Monde, en particulier au regard des relations entre les genres *Cebus/Saimiri/Aotus* ainsi que de la scission du genre *Cebus* en deux genres *Cebus* et *Sapajus*, et afin de conforter (ou d’infirmer) notre modèle selon lequel les séquences de CMVs peuvent servir cet objectif, il sera nécessaire de poursuivre nos investigations en augmentant nos échantillonnages et en affinant aussi peut-être nos outils car, comme évoqué plus haut, la majorité des taxons de PNHNM reste à tester.

BIBLIOGRAPHIE

- Ablashi, D., Agut, H., Alvarez-Lafuente, R., Clark, D.A., Dewhurst, S., DiLuca, D., Flamand, L., Frenkel, N., Gallo, R., Gompels, U.A., Höllsberg, P., Jacobson, S., Luppi, M., Lusso, P., Malnati, M., Medveczky, P., Mori, Y., Pellett, P.E., Pritchett, J.C., Yamanishi, K., Yoshikawa, T., 2014. Classification of HHV-6A and HHV-6B as distinct viruses. *Arch Virol* 159, 863–870. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1902-5>
- Ablashi, D., Agut, H., Berneman, Z., Campadelli-Fiume, G., Carrigan, D., Ceccerini-Nelli, L., Chandran, B., Chou, S., Collandre, H., Cone, R., Dambaugh, T., Dewhurst, S., DiLuca, D., Foa-Tomasi, L., Fleckenstein, B., Frenkel, N., Gallo, R., Gompels, U., Hall, C., Jones, M., Lawrence, G., Martin, M., Montagnier, L., Neipel, F., Nicholas, J., Pellett, P., Razzaque, A., Torrelli, G., Thomson, B., Salahuddin, S., Wyatt, L., Yamanishi, K., 1993. Human herpesvirus-6 strain groups: a nomenclature. *Archives of Virology* 129, 363–366. <https://doi.org/10.1007/BF01316913>
- Ablashi, D.V., Balachandran, N., Josephs, S.F., Hung, C.L., Krueger, G.R.F., Kramarsky, B., Salahuddin, S.Z., Gallo, R.C., 1991. Genomic polymorphism, growth properties, and immunologic variations in human herpesvirus-6 isolates. *Virology* 184, 545–552. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(91\)90424-A](https://doi.org/10.1016/0042-6822(91)90424-A)
- Agut, H., 2011. Herpèsvirus et Herpèsviroses humaines. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France* 287. <https://doi.org/10.4267/2042/48099>
- Albrecht, J.-C., 2000. Primary Structure of the Herpesvirus Ateles Genome. *Journal of Virology* 74, 1033–1037. <https://doi.org/10.1128/JVI.74.2.1033-1037.2000>
- Albrecht, J.C., Nicholas, J., Biller, D., Cameron, K.R., Biesinger, B., Newman, C., Wittmann, S., Craxton, M.A., Coleman, H., Fleckenstein, B., 1992. Primary structure of the herpesvirus saimiri genome. *Journal of Virology* 66, 5047–5058.
- Alexander, L., Denekamp, L., Knapp, A., Auerbach, M.R., Damania, B., Desrosiers, R.C., 2000. The Primary Sequence of Rhesus Monkey Rhadinovirus Isolate 26-95: Sequence Similarities to Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus and Rhesus Monkey Rhadinovirus Isolate 17577. *J Virol* 74, 3388–3398.
- Alfaro, J.W.L., Boubli, J.P., Olson, L.E., Fiore, A.D., Wilson, B., Gutiérrez-Espeleta, G.A., Chiou, K.L., Schulte, M., Neitzel, S., Ross, V., Schwochow, D., Nguyen, M.T.T., Farias, I., Janson, C.H., Alfaro, M.E., 2012a. Explosive Pleistocene range expansion leads to widespread Amazonian sympatry between robust and gracile capuchin monkeys. *Journal of Biogeography* 39, 272–288. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02609.x>
- Alfaro, J.W.L., Silva, J.D.S.E., Rylands, A.B., 2012b. How Different Are Robust and Gracile Capuchin Monkeys? An Argument for the Use of *Sapajus* and *Cebus*. *American Journal of Primatology* 74, 273–286. <https://doi.org/10.1002/ajp.22007>
- Amador, L.I., Arévalo, R.L.M., Almeida, F.C., Catalano, S.A., Giannini, N.P., 2018. Bat Systematics in the Light of Unconstrained Analyses of a Comprehensive Molecular Supramatrix. *J Mammal Evol* 25, 37–70. <https://doi.org/10.1007/s10914-016-9363-8>
- Amman, B.R., Carroll, S.A., Reed, Z.D., Sealy, T.K., Balinandi, S., Swanepoel, R., Kemp, A., Erickson, B.R., Comer, J.A., Campbell, S., Cannon, D.L., Khristova, M.L., Atimnedi,

- P., Paddock, C.D., Kent Crockett, R.J., Flietstra, T.D., Warfield, K.L., Unfer, R., Katongole-Mbidde, E., Downing, R., Tappero, J.W., Zaki, S.R., Rollin, P.E., Ksiazek, T.G., Nichol, S.T., Towner, J.S., 2012. Seasonal Pulses of Marburg Virus Circulation in Juvenile *Rousettus aegyptiacus* Bats Coincide with Periods of Increased Risk of Human Infection. *PLoS Pathog* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002877>
- Anoh, A.E., Murthy, S., Akoua-Koffi, C., Couacy-Hymann, E., Leendertz, F.H., Calvignac-Spencer, S., Ehlers, B., 2018. Cytomegaloviruses in a Community of Wild Nonhuman Primates in Taï National Park, Côte D'Ivoire. *Viruses* 10, 11. <https://doi.org/10.3390/v10010011>
- Anthony, S.J., Epstein, J.H., Murray, K.A., Navarrete-Macias, I., Zambrana-Torrel, C.M., Solovyov, A., Ojeda-Flores, R., Arrigo, N.C., Islam, A., Ali Khan, S., Hosseini, P., Bogich, T.L., Olival, K.J., Sanchez-Leon, M.D., Karesh, W.B., Goldstein, T., Luby, S.P., Morse, S.S., Mazet, J.A.K., Daszak, P., Lipkin, W.I., 2013a. A Strategy To Estimate Unknown Viral Diversity in Mammals. *mBio* 4. <https://doi.org/10.1128/mBio.00598-13>
- Anthony, S.J., Gilardi, K., Menachery, V.D., Goldstein, T., Ssebidde, B., Mbabazi, R., Navarrete-Macias, I., Liang, E., Wells, H., Hicks, A., Petrosov, A., Byarugaba, D.K., Debbink, K., Dinno, K.H., Scobey, T., Randell, S.H., Yount, B.L., Cranfield, M., Johnson, C.K., Baric, R.S., Lipkin, W.I., Mazet, J.A.K., 2017. Further Evidence for Bats as the Evolutionary Source of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. *mBio* 8. <https://doi.org/10.1128/mBio.00373-17>
- Anthony, S.J., Ojeda-Flores, R., Rico-Chavez, O., Navarrete-Macias, I., Zambrana-Torrel, C.M., Rostal, M.K., Epstein, J.H., Tipps, T., Liang, E., Sanchez-Leon, M., Sotomayor-Bonilla, J., Aguirre, A.A., Avila-Flores, R., Medellin, R.A., Goldstein, T., Suzan, G., Daszak, P., Lipkin, W.I., 2013b. Coronaviruses in bats from Mexico. *The Journal of general virology* 94, 1028–38. <https://doi.org/10.1099/vir.0.049759-0>
- Arbuckle, J.H., Medveczky, M.M., Luka, J., Hadley, S.H., Luegmayr, A., Ablashi, D., Lund, T.C., Tolar, J., Meirleir, K.D., Montoya, J.G., Komaroff, A.L., Ambros, P.F., Medveczky, P.G., 2010. The latent human herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro. *PNAS* 107, 5563–5568. <https://doi.org/10.1073/pnas.0913586107>
- Arbuckle, J.H., Pantry, S.N., Medveczky, M.M., Prichett, J., Loomis, K.S., Ablashi, D., Medveczky, P.G., 2013. Mapping the telomere integrated genome of human herpesvirus 6A and 6B. *Virology* 442, 3–11. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.03.030>
- Arellano-Sota, C., 1988. Biology, ecology, and control of the vampire bat. *Reviews of infectious diseases* 10, S615–S619.
- Aristide, L., Rosenberger, A.L., Tejedor, M.F., Perez, S.I., 2015. Modeling lineage and phenotypic diversification in the New World monkey (Platyrrhini, Primates) radiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution, Phylogeny and Biogeography of Neotropical Primates* 82, 375–385. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.11.008>

- Armstrong, K.N., Goodman, S.M., Benda, P., Hand, S.J., 2016. A common name for the bat family Rhinonycteridae—the Trident Bats. *Zootaxa* 4179, 115. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4179.1.7>
- Asher, D.M., Gibbs, C.J., Lang, D.J., Gajdusek, D.C., 1974. Persistent Shedding of Cytomegalovirus in the Urine of Healthy Rhesus Monkeys. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 145, 794–801. <https://doi.org/10.3181/00379727-145-37897>
- Baker, K.S., Leggett, R.M., Bexfield, N.H., Alston, M., Daly, G., Todd, S., Tachedjian, M., Holmes, C.E.G., Cramer, S., Wang, L.-F., Heeney, J.L., Suu-Ire, R., Kellam, P., Cunningham, A.A., Wood, J.L.N., Caccamo, M., Murcia, P.R., 2013. Metagenomic study of the viruses of African straw-coloured fruit bats: Detection of a chiropteran poxvirus and isolation of a novel adenovirus. *Virology* 441, 95–106. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.03.014>
- Barry, P.A., Chang, W.L.W., 2007. Primate betaherpesviruses, in: *Human Herpesviruses : Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. Cambridge University Press.
- Berneman, Z.N., Ablashi, D.V., Li, G., Eger-Fletcher, M., Reitz, M.S., Hung, C.L., Brus, I., Komaroff, A.L., Gallo, R.C., 1992. Human herpesvirus 7 is a T-lymphotropic virus and is related to, but significantly different from, human herpesvirus 6 and human cytomegalovirus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 10552–10556.
- Black, P.H., Hartley, J.W., Rowe, W.P., 1963. Isolation of a Cytomegalovirus from African Green Monkey. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 112, 601–605. <https://doi.org/10.3181/00379727-112-28115>
- Blakely, G.A., Lourie, B., Morton, W.G., Evans, H.H., Kaufmann, A.F., 1973. A Varicella-like Disease in Macaque Monkeys. *J Infect Dis* 127, 617–625. <https://doi.org/10.1093/infdis/127.6.617>
- Blewett, E.L., Lewis, J., Gadsby, E.L., Neubauer, S.R., Eberle, R., 2003. Isolation of cytomegalovirus and foamy virus from the drill monkey (*Mandrillus leucophaeus*) and prevalence of antibodies to these viruses amongst wild-born and captive-bred individuals. *Archives of Virology* 148, 423–433. <https://doi.org/10.1007/s00705-002-0937-9>
- Blewett, E.L., White, G., Saliki, J.T., Eberle, R., 2001. Isolation and characterization of an endogenous cytomegalovirus (BaCMV) from baboons. *Arch. Virol.* 146, 1723–1738. <https://doi.org/10.1007/s007050170059>
- Bond, M., Tejedor, M.F., Campbell Jr, K.E., Chornogubsky, L., Novo, N., Goin, F., 2015. Eocene primates of South America and the African origins of New World monkeys. *Nature* 520, 538–541. <https://doi.org/10.1038/nature14120>
- Boonman, A., Bumrungsri, S., Yovel, Y., 2014. Nonecholocating Fruit Bats Produce Biosonar Clicks with Their Wings. *Current Biology* 24, 2962–2967. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.077>

- Bosch, M.L., Harper, E., Schmidt, A., Strand, K.B., Thormahlen, S., Thouless, M.E., Wang, Y., 1999. Activation in vivo of retroperitoneal fibromatosis-associated herpesvirus, a simian homologue of human herpesvirus-8. *Journal of general virology* 80, 467–475.
- Boubli, J.P., Rylands, A.B., Farias, I.P., Alfaro, M.E., Alfaro, J.L., 2012. Cebus Phylogenetic Relationships: A Preliminary Reassessment of the Diversity of the Untufted Capuchin Monkeys. *American Journal of Primatology* 74, 381–393. <https://doi.org/10.1002/ajp.21998>
- Bowden, T.R., Westenberg, M., Wang, L.-F., Eaton, B.T., Boyle, D.B., 2001. Molecular Characterization of Menangle Virus, a Novel Paramyxovirus which Infects Pigs, Fruit Bats, and Humans. *Virology* 283, 358–373. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.0893>
- Brito, A.F., Pinney, J.W., 2018. The evolution of protein domain repertoires: shedding light on the origins of herpesviruses. *bioRxiv* 423525. <https://doi.org/10.1101/423525>
- Brook, C.E., Dobson, A.P., 2015. Bats as ‘special’ reservoirs for emerging zoonotic pathogens. *Trends in Microbiology* 23, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.12.004>
- Brown, J.C., Newcomb, W.W., 2011. Herpesvirus Capsid Assembly: Insights from Structural Analysis. *Curr Opin Virol* 1, 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.06.003>
- Calisher, C.H., Childs, J.E., Field, H.E., Holmes, K.V., Schountz, T., 2006. Bats: Important Reservoir Hosts of Emerging Viruses. *Clinical Microbiology Reviews* 19, 531–545. <https://doi.org/10.1128/CMR.00017-06>
- Calisher, C.H., Holmes, K.V., Dominguez, S.R., Schountz, T., Cryan, P., 2008. Bats prove to be rich reservoirs for emerging viruses. *Microbe* 3, 521–528.
- Carini, A., 1911. Sur une grande épizootie de rage. *Ann Inst Pasteur* 25, 843–6.
- Carneiro, J., Sampaio, I., de Sousa e Silva-Júnior, J., Farias, I., Hrbek, T., Pissinatti, A., Silva, R., Martins-Junior, A., Boubli, J., Ferrari, S.F., Schneider, H., 2018. Phylogeny, molecular dating and zoogeographic history of the titi monkeys (*Callicebus* , Pitheciidae) of eastern Brazil. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 124, 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.03.001>
- Catzefflis, F., 2017. Liste des Mammifères de Guyane française (mars 2017).
- Catzefflis, F., Dewynter, M., Pineau, K., 2013. Liste taxonomique commentée des chiroptères de Guyane. *Le Rhinolophe* 19, 89–102.
- Chang, Y., Cesarman, E., Pessin, M.S., Lee, F., Culpepper, J., Knowles, D.M., Moore, P.S., 1994. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi’s sarcoma. *Science* 266, 1865–9.
- Chee, M.S., Bankier, A.T., Beck, S., Bohni, R., Brown, C.M., Cerny, R., Horsnell, T., Hutchison, C.A., Kouzarides, T., Martignetti, J.A., Preddie, E., Satchwell, S.C., Tomlinson, P., Weston, K.M., Barrell, B.G., 1990. Analysis of the Protein-Coding Content of the Sequence of Human Cytomegalovirus Strain AD169, in: McDougall,

- J.K. (Ed.), *Cytomegaloviruses, Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 125–169.
- Chen, L., Liu, B., Yang, J., Jin, Q., 2014. DBatVir: the database of bat-associated viruses. Database 2014, bau021–bau021. <https://doi.org/10.1093/database/bau021>
- Cho, Y.-G., Gordadze, A.V., Ling, P.D., Wang, F., 1999. Evolution of Two Types of Rhesus Lymphocryptovirus Similar to Type 1 and Type 2 Epstein-Barr Virus. *J Virol* 73, 9206–9212.
- Cho, Y.-G., Ramer, J., Rivallier, P., Quink, C., Garber, R.L., Beier, D.R., Wang, F., 2001. An Epstein–Barr-related herpesvirus from marmoset lymphomas. *PNAS* 98, 1224–1229. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.3.1224>
- Chua, K.B., Lek Koh, C., Hooi, P.S., Wee, K.F., Khong, J.H., Chua, B.H., Chan, Y.P., Lim, M.E., Lam, S.K., 2002. Isolation of Nipah virus from Malaysian Island flying-foxes. *Microbes and Infection* 4, 145–151. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(01\)01522-2](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(01)01522-2)
- Clarkson, M.J., Thorpe, E., McCarthy, K., 1967. A virus disease of captive vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops*) caused by a new herpesvirus. *Archiv f Virusforschung* 22, 219–234. <https://doi.org/10.1007/BF01240517>
- Cohen, J.I., Davenport, D.S., Stewart, J.A., Deitchman, S., Hilliard, J.K., Chapman, L.E., 2002. Recommendations for Prevention of and Therapy for Exposure to B Virus (*Cercopithecine Herpesvirus 1*). *Clin Infect Dis* 35, 1191–1203. <https://doi.org/10.1086/344754>
- Cohrs, R.J., Gilden, D.H., 2001. Human Herpesvirus Latency. *Brain Pathology* 11, 465–474. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2001.tb00415.x>
- Collins, A.C., Dubach, J.M., 2000. Phylogenetic Relationships of Spider Monkeys (*Ateles*) Based on Mitochondrial DNA Variation. *International Journal of Primatology* 21, 381–420. <https://doi.org/10.1023/A:1005435718241>
- Cooper, L.N., Sears, K.E., 2013. How to Grow a Bat Wing, in: *Bat Evolution, Ecology, and Conservation*. Springer, New York, NY, pp. 3–20. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7397-8_1
- Corman, V.M., Ithete, N.L., Richards, L.R., Schoeman, M.C., Preiser, W., Drosten, C., Drexler, J.F., 2014. Rooting the Phylogenetic Tree of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus by Characterization of a Conspecific Virus from an African Bat. *J Virol* 88, 11297–11303. <https://doi.org/10.1128/JVI.01498-14>
- Coulibaly, C., Hack, R., Seidl, J., Chudy, M., Itter, G., Plesker, R., 2004. A natural asymptomatic herpes B virus infection in a colony of laboratory brown capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Lab. Anim.* 38, 432–438. <https://doi.org/10.1258/0023677041958891>
- Dacheux, L., Cervantes-Gonzalez, M., Guigon, G., Thiberge, J.-M., Vandenbogaert, M., Maufrais, C., Caro, V., Bourhy, H., 2014. A Preliminary Study of Viral Metagenomics of French Bat Species in Contact with Humans: Identification of New Mammalian Viruses. *PLoS ONE* 9, e87194. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087194>

- Damania, B., Cesarman, E., 2013. Kaposi's sarcoma associated herpesvirus, in: Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds.), *Fields Virology* 6th Ed. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, pp. 2080–2128.
- Damania, B., Desrosiers, R.C., 2001. Simian homologues of human herpesvirus 8. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356, 535–543. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0782>
- Daniel, M.D., Melendez, L.V., King, N.W., Barahona, H.H., Fraser, C.E.O., Garcia, F.G., Silva, D., 1973. Isolation and characterization of a new virus from owl monkeys: Herpesvirus aotus type 3. *American Journal of Physical Anthropology* 38, 497–500. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330380254>
- Davison, A.J., 2007a. Overview of classification, in: Arvin, A., Campadelli-Fiume, G., Mocarski, E., Moore, P.S., Roizman, B., Whitley, R., Yamanishi, K. (Eds.), *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. Cambridge University Press, p. Chapter 1.
- Davison, A.J., 2007b. Comparative analysis of the genomes, in: Arvin, A., Campadelli-Fiume, G., Mocarski, E., Moore, P.S., Roizman, B., Whitley, R., Yamanishi, K. (Eds.), *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. Cambridge University Press, p. Chapter 2.
- Davison, A.J., 2002. Evolution of the herpesviruses. *Veterinary Microbiology, Importance of Veterinary Herpesviruses in the Context of Pathogenesis, Immunology and Gene Therapy* 86, 69–88. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00492-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00492-8)
- Davison, A.J., Eberle, R., Ehlers, B., Hayward, G.S., McGeoch, D.J., Minson, A.C., Pellett, P.E., Roizman, B., Studdert, M.J., Thiry, E., 2009. The Order Herpesvirales. *Arch Virol* 154, 171–177. <https://doi.org/10.1007/s00705-008-0278-4>
- Davison, A.J., Taylor, P., 1987. Genetic Relations between Varicella-Zoster Virus and Epstein-Barr Virus. *Journal of General Virology* 68, 1067–1079. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-68-4-1067>
- de Thoisy, B., Pouliquen, J.-F., Lacoste, V., Gessain, A., Kazanji, M., 2003. Novel Gamma-1 Herpesviruses Identified in Free-Ranging New World Monkeys (Golden-Handed Tamarin [*Saguinus midas*], Squirrel Monkey [*Saimiri sciureus*], and White-Faced Saki [*Pithecia pithecia*]) in French Guiana. *J. Virol.* 77, 9099–9105. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.16.9099-9105.2003>
- Deiss, L.P., Chou, J., Frenkel, N., 1986. Functional domains within the a sequence involved in the cleavage-packaging of herpes simplex virus DNA. *J. Virol.* 59, 605–618.
- Delecluse, H.J., Bartnizke, S., Hammerschmidt, W., Bullerdiek, J., Bornkamm, G.W., 1993. Episomal and integrated copies of Epstein-Barr virus coexist in Burkitt lymphoma cell lines. *J. Virol.* 67, 1292–1299.
- Delecluse, H.J., Hammerschmidt, W., 1993. Status of Marek's disease virus in established lymphoma cell lines: herpesvirus integration is common. *J. Virol.* 67, 82–92.

- Desrosiers, R.C., Sasseville, V.G., Czajak, S.C., Zhang, X., Mansfield, K.G., Kaur, A., Johnson, R.P., Lackner, A.A., Jung, J.U., 1997. A herpesvirus of rhesus monkeys related to the human Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *J Virol* 71, 9764–9769.
- Dietrich, M., Kearney, T., Seamark, E.C.J., Paweska, J.T., Markotter, W., 2018. Synchronized shift of oral, faecal and urinary microbiotas in bats and natural infection dynamics during seasonal reproduction. *Royal Society Open Science* 5, 180041. <https://doi.org/10.1098/rsos.180041>
- Disotell, T.R., 1996. The phylogeny of Old World monkeys. *Evol. Anthropol.* 5, 18–24. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6505\(1996\)5:1<18::AID-EVAN6>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6505(1996)5:1<18::AID-EVAN6>3.0.CO;2-S)
- Dominguez, G., Dambaugh, T.R., Stamey, F.R., Dewhurst, S., Inoue, N., Pellett, P.E., 1999. Human Herpesvirus 6B Genome Sequence: Coding Content and Comparison with Human Herpesvirus 6A. *Journal of Virology* 73, 8040–8052.
- Donaldson, E.F., Haskew, A.N., Gates, J.E., Huynh, J., Moore, C.J., Frieman, M.B., 2010. Metagenomic analysis of the viromes of three North American bat species: viral diversity among different bat species that share a common habitat. *Journal of virology* 84, 13004–13018.
- dos Reis, M., Donoghue, P.C.J., Yang, Z., 2014. Neither phylogenomic nor palaeontological data support a Palaeogene origin of placental mammals. *Biology Letters* 10, 20131003. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2013.1003>
- Duignan, P., Horner, G., O'Keefe, J., 2003. Infectious and emerging diseases of bats, and health status of bats in New Zealand. *Surveillance* 30, 12–15.
- Ehlers, B., Borchers, K., Grund, C., Frolich, K., Ludwig, H., Buhk, H.-J., 1999. Detection of New DNA Polymerase Genes of Known and Potentially Novel Herpesviruses by PCR with Degenerate and Deoxyinosine-Substituted Primers. *Virus Genes* 18, 211–220. <https://doi.org/10.1023/A:1008064118057>
- Ehlers, B., Dural, G., Yasmum, N., Lembo, T., de Thoisy, B., Ryser-Degiorgis, M.P., Ulrich, R.G., McGeoch, D.J., 2008. Novel mammalian herpesviruses and lineages within the Gammaherpesvirinae: cospeciation and interspecies transfer. *Journal of virology* 82, 3509–16. <https://doi.org/10.1128/JVI.02646-07>
- Ehlers, B., Ochs, A., Leendertz, F., Goltz, M., Boesch, C., Mätz-Rensing, K., 2003. Novel Simian Homologues of Epstein-Barr Virus. *J Virol* 77, 10695–10699. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.19.10695-10699.2003>
- Ehlers, B., Spieß, K., Leendertz, F., Peeters, M., Boesch, C., Gatherer, D., McGeoch, D.J., 2010. Lymphocryptovirus phylogeny and the origins of Epstein-Barr virus. *Journal of General Virology* 91, 630–642. <https://doi.org/10.1099/vir.0.017251-0>
- Eisenberg, R.J., Atanasiu, D., Cairns, T.M., Gallagher, J.R., Krummenacher, C., Cohen, G.H., 2012. Herpes Virus Fusion and Entry: A Story with Many Characters. *Viruses* 4, 800–832. <https://doi.org/10.3390/v4050800>
- Epstein, M.A., Achong, B.G., Barr, Y.M., 1964. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *The Lancet* 283, 702–703.

- Escalera-Zamudio, M., Rojas-Anaya, E., Kolokotronis, S.-O., Taboada, B., Loza-Rubio, E., Méndez-Ojeda, M.L., Arias, C.F., Osterrieder, N., Greenwood, A.D., 2016. Bats, Primates, and the Evolutionary Origins and Diversification of Mammalian Gammaherpesviruses. *mBio* 7, e01425-16. <https://doi.org/10.1128/mBio.01425-16>
- Escalera-Zamudio, M., Zepeda-Mendoza, M.L., Loza-Rubio, E., Rojas-Anaya, E., Méndez-Ojeda, M.L., Arias, C.F., Greenwood, A.D., 2015. The evolution of bat nucleic acid-sensing Toll-like receptors. *Molecular Ecology* 24, 5899–5909. <https://doi.org/10.1111/mec.13431>
- Estep, R.D., Messaoudi, I., Wong, S.W., 2010. Simian herpesviruses and their risk to humans. *Vaccine* 28S2, B78–B84. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.11.026>
- Fenton, M.B., Simmons, N.B., 2015a. It's a bat!, in: *Bats: A World of Science and Mystery*. University of Chicago Press. <https://doi.org/10.7208/chicago/9780226065267.001.0001>
- Fenton, M.B., Simmons, N.B., 2015b. *Bats: A World of Science and Mystery*. University of Chicago Press. <https://doi.org/10.7208/chicago/9780226065267.001.0001>
- Field, H., Young, P., Yob, J.M., Mills, J., Hall, L., Mackenzie, J., 2001. The natural history of Hendra and Nipah viruses. *Microbes and Infection* 3, 307–314. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(01\)01384-3](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(01)01384-3)
- Fleagle, J.G., 2013. Chapter 5 - New World Anthropoids, in: *Primate Adaptation and Evolution (Third Edition)*. Academic Press, San Diego, pp. 89–118. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378632-6.00005-7>
- Fleckenstein, B., Desrosiers, R.C., 1982. Herpesvirus saimiri and Herpesvirus ateles, in: Roizman, B. (Ed.), *The Herpesviruses, The Viruses*. Springer US, Boston, MA, pp. 253–332. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-4163-5_6
- Fleming, T.H., Eby, P., Kunz, T., Fenton, M., 2003. Ecology of bat migration. *Bat ecology* 156, 164–65.
- Fogg, M.H., Carville, A., Cameron, J., Quink, C., Wang, F., 2005. Reduced Prevalence of Epstein-Barr Virus-Related Lymphocryptovirus Infection in Sera from a New World Primate. *J. Virol.* 79, 10069–10072. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.15.10069-10072.2005>
- Ford, S.M., 1986. Systematics of the New World monkeys. In *Comparative Primate Biology. Systematics, Evolution and Anatomy* 1, 73–135.
- Frenkel, N., Schirmer, E.C., Wyatt, L.S., Katsafanas, G., Roffman, E., Danovich, R.M., June, C.H., 1990. Isolation of a new herpesvirus from human CD4+ T cells. *PNAS* 87, 748–752. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.2.748>
- Froehlich, J.W., Supriatna, J., Froehlich, P.H., 1991. Morphometric analyses of Ateles: systematic and biogeographic implications. *American Journal of Primatology* 25, 1–22. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350250102>

- Furlong, D., Swift, H., Roizman, B., 1972. Arrangement of Herpesvirus Deoxyribonucleic Acid in the Core. *J. Virol.* 10, 1071–1074.
- Garber, P.A., Estrada, A., 2009. Advancing the Study of South American Primates, in: *South American Primates, Developments in Primatology: Progress and Prospects*. Springer, New York, NY, pp. 3–19. https://doi.org/10.1007/978-0-387-78705-3_1
- Gay, F.P., Holden, M., 1933. The Herpes Encephalitis Problem, II. *J Infect Dis* 53, 287–303. <https://doi.org/10.1093/infdis/53.3.287>
- Ge, X., Li, Y., Yang, X., Zhang, H., Zhou, P., Zhang, Y., Shi, Z., 2012. Metagenomic Analysis of Viruses from Bat Fecal Samples Reveals Many Novel Viruses in Insectivorous Bats in China. *Journal of Virology* 86, 4620–4630. <https://doi.org/10.1128/JVI.06671-11>
- Geldenhuys, M., Mortlock, M., Weyer, J., Bezuidt, O., Seamark, E.C., Kearney, T., Gleasner, C., Erkkila, T.H., Cui, H., Markotter, W., 2018. A metagenomic viral discovery approach identifies potential zoonotic and novel mammalian viruses in *Neoromicia* bats within South Africa. *PloS one* 13, e0194527.
- Gerner, C.S., Dolan, A., McGeoch, D.J., 2004. Phylogenetic relationships in the Lymphocryptovirus genus of the Gammaherpesvirinae. *Virus Research* 99, 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2003.10.011>
- Goodrum, F., Caviness, K., Zagallo, P., 2012. Human cytomegalovirus persistence. *Cellular Microbiology* 14, 644–655. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2012.01774.x>
- Gray, W.L., Starnes, B., White, M.W., Mahalingam, R., 2001. The DNA Sequence of the Simian Varicella Virus Genome. *Virology* 284, 123–130. <https://doi.org/10.1006/viro.2001.0912>
- Gray, W.L., Williams, R.J., Chang, R., Soike, K.F., 1998. Experimental simian varicella virus infection of St. Kitts vervet monkeys. *Journal of Medical Primatology* 27, 177–183. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0684.1998.tb00069.x>
- Grinde, B., 2013. Herpesviruses: latency and reactivation – viral strategies and host response. *Journal of Oral Microbiology* 5. <https://doi.org/10.3402/jom.v5i0.22766>
- Groves, C., 2016. Primates (Taxonomy), in: *The International Encyclopedia of Primatology*. John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781119179313.wbprim0045>
- Groves, C.P., 2001. *PRIMATE TAXONOMY*. Smithsonian.
- Groves, C.P., 1993. Order Primates, in: “*Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*” Wilson, D.E. and Reeder, D.M, Eds. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., pp. 243–277.
- Gruffat, H., Marchione, R., Manet, E., 2016. Herpesvirus Late Gene Expression: A Viral-Specific Pre-initiation Complex Is Key. *Front Microbiol* 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00869>

- Guo, H., Shen, S., Wang, L., Deng, H., 2010. Role of tegument proteins in herpesvirus assembly and egress. *Protein Cell* 1, 987–998. <https://doi.org/10.1007/s13238-010-0120-0>
- Haffer, J., 1997. Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview. *Biodiversity & Conservation* 6, 451–476.
- Hansen, S.G., Strelow, L.I., Franchi, D.C., Anders, D.G., Wong, S.W., 2003. Complete Sequence and Genomic Analysis of Rhesus Cytomegalovirus. *Journal of Virology* 77, 6620–6636. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.12.6620-6636.2003>
- Hayman, D.T.S., 2016. Bats as Viral Reservoirs. *Annual Review of Virology* 3, 77–99. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042203>
- Hershkovitz, P., 1955. Notes on American Monkeys of the Genus *Cebus*. *J Mammal* 36, 449–452. <https://doi.org/10.2307/1375688>
- Hershkovitz, P., 1949. Mammals of northern Colombia. Preliminary report No. 4: Monkeys (Primates), with taxonomic revisions of some forms. *Proc US Nat Mus* 98, 323–427.
- Higashi, K., Asada, H., Kurata, T., Ishikawa, K.-I., Hayami, M., Spriatna, Y., Sutarman, Yamanishi, K., 1989. Presence of Antibody to Human Herpesvirus 6 in Monkeys. *Journal of General Virology* 70, 3171–3176. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-70-12-3171>
- Hoffmaster, E., Vonk, J., Mies, R., 2016. Education to Action: Improving Public Perception of Bats. *Animals* 6, 6. <https://doi.org/10.3390/ani6010006>
- Holmes, A.W., Caldwell, R.G., Dedmon, R.E., Deinhardt, F., 1964. Isolation and Characterization of a New Herpes Virus. *The Journal of Immunology* 92, 602–610.
- Holz, P.H., Lumsden, L.F., Druce, J., Legione, A.R., Vaz, P., Devlin, J.M., Hufschmid, J., 2018. Virus survey in populations of two subspecies of bent-winged bats (*Miniopterus orianae bassanii* and *oceanensis*) in south-eastern Australia reveals a high prevalence of diverse herpesviruses. *PLoS One* 13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197625>
- Homa, F.L., Brown, J.C., 1997. Capsid assembly and DNA packaging in herpes simplex virus. *Reviews in Medical Virology* 7, 107–122. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1654\(199707\)7:2<107::AID-RMV191>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1654(199707)7:2<107::AID-RMV191>3.0.CO;2-M)
- Honess, R.W., Roizman, B., 1974. Regulation of Herpesvirus Macromolecular Synthesis I. Cascade Regulation of the Synthesis of Three Groups of Viral Proteins. *J. Virol.* 14, 8–19.
- Hoofer, S.R., Bussche, R.A.V.D., 2003. Molecular Phylogenetics of the Chiropteran Family Vespertilionidae. *Acta Chiropterologica* 5, 1–63. <https://doi.org/10.3161/001.005.s101>
- Host, K.M., Damania, B., 2016. Discovery of a Novel Bat Gammaherpesvirus. *mSphere* 1, e00016–16.
- Hu, S.-L., 2005. Non-Human Primate Models for AIDS Vaccine Research [WWW Document]. <https://doi.org/info:doi/10.2174/1568005054201508>

- Huang, E.S., Kilpatrick, B., Lakeman, A., Alford, C.A., 1978. Genetic analysis of a cytomegalovirus-like agent isolated from human brain. *J Virol* 26, 718–723.
- Huff, J.L., Barry, P.A., 2003. B-Virus (Cercopithecine herpesvirus 1) Infection in Humans and Macaques: Potential for Zoonotic Disease. *Emerg Infect Dis* 9, 246–250. <https://doi.org/10.3201/eid0902.020272>
- Huff, J.L., Eberle, R., Capitanio, J., Zhou, S.S., Barry, P.A., 2003. Differential detection of B virus and rhesus cytomegalovirus in rhesus macaques. *J. Gen. Virol.* 84, 83–92. <https://doi.org/10.1099/vir.0.18808-0>
- Hurley, E.A., Agger, S., McNeil, J.A., Lawrence, J.B., Calendar, A., Lenoir, G., Thorley-Lawson, D.A., 1991. When Epstein-Barr virus persistently infects B-cell lines, it frequently integrates. *J Virol* 65, 1245–1254.
- Iehlé, C., Razafitrimo, G., Razainirina, J., Goodman, S.M., Faure, C., Georges-Courbot, M.-C., Rousset, D., Reynes, J.-M., 2007. Henipavirus and Tioman Virus Antibodies in Pteropodid Bats, Madagascar. *Emerg Infect Dis* 13, 159–161. <https://doi.org/10.3201/eid1301.060791>
- Ito, F., Bernard, E., Torres, R.A., 2016. What is for Dinner? First Report of Human Blood in the Diet of the Hairy-Legged Vampire Bat *Diphylla ecaudata*. *Acta Chiropterologica* 18, 509–515. <https://doi.org/10.3161/15081109ACC2016.18.2.017>
- Jacob, R.J., Morse, L.S., Roizman, B., 1979. Anatomy of Herpes Simplex Virus DNA XII. Accumulation of Head-to-Tail Concatemers in Nuclei of Infected Cells and Their Role in the Generation of the Four Isomeric Arrangements of Viral DNA. *J. Virol.* 29, 448–457.
- Jameson Kiesling, N.M., Yi, S.V., Xu, K., Gianluca Sperone, F., Wildman, D.E., 2015. The tempo and mode of New World monkey evolution and biogeography in the context of phylogenomic analysis. *Molecular Phylogenetics and Evolution, Phylogeny and Biogeography of Neotropical Primates* 82, 386–399. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.03.027>
- Jánoska, M., Vidovszky, M., Molnár, V., Liptovszky, M., Harrach, B., Benkő, M., 2011. Novel adenoviruses and herpesviruses detected in bats. *The Veterinary Journal* 189, 118–121. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.06.020>
- Jenner, R.G., Alba, M.M., Boshoff, C., Kellam, P., 2001. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus latent and lytic gene expression as revealed by DNA arrays. *Journal of virology* 75, 891–902. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.2.891-902.2001>
- Johnson, N., Wakeley, P.R., Brookes, S.M., Fooks, A.R., 2006. European Bat Lyssavirus Type 2 RNA in *Myotis daubentonii*. *Emerg Infect Dis* 12, 1142–1144. <https://doi.org/10.3201/eid1207.060287>
- Jones, G., Teeling, E., 2006. The evolution of echolocation in bats. *Trends in Ecology & Evolution* 21, 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.01.001>
- Jones, K.E., 2006. Chiroptera (Bats). *Encyclopedia of Life Sciences*. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0004129>

- Jones-Engel, L., Engel, G.A., 2006. Disease risk analysis: a paradigm for using health-based data to inform primate conservation and public health. *American Journal of Primatology* 68, 851–854. <https://doi.org/10.1002/ajp.20292>
- Kalter, S.S., Heberling, R.L., Ratner, J.J., 1973. EBV Antibody in Monkeys and Apes. *Unifying Concepts of Leukemia* 39, 871–875. <https://doi.org/10.1159/000427915>
- Kalter, S.S., Heberling, R.L., Ratner, J.J., 1972. EBV Antibody in Sera of Non-human Primates. *Nature* 238, 353–354. <https://doi.org/10.1038/238353a0>
- Kaufer, B.B., Jarosinski, K.W., Osterrieder, N., 2011. Herpesvirus telomeric repeats facilitate genomic integration into host telomeres and mobilization of viral DNA during reactivation. *Journal of Experimental Medicine* 208, 605–615. <https://doi.org/10.1084/jem.20101402>
- Kay, R.F., 1990. The phyletic relationships of extant and fossil Pitheciinae (Platyrrhini, Anthropoidea). *Journal of Human Evolution, The Platyrrhine Fossil Record* 19, 175–208. [https://doi.org/10.1016/0047-2484\(90\)90016-5](https://doi.org/10.1016/0047-2484(90)90016-5)
- Kellogg, R., Goldman, E.A., 1944. Review of the spider monkeys. *Proceedings of the United States National Museum*.
- King, A.M.Q., Adams, M.J., Lefkowitz, E.J., 2012. *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses : Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier.
- Krummenacher, C., Carfi, A., Eisenberg, R.J., Cohen, G.H., 2013. Entry of Herpesviruses into Cells: The Enigma Variations, in: Pöhlmann, S., Simmons, G. (Eds.), *Viral Entry into Host Cells, Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer New York, New York, NY, pp. 178–195. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7651-1_10
- Kummrow, M.S., Brüne, M., 2018. Review: psychopathologies in captive nonhuman primates and approaches to diagnosis and treatment. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 49, 259–271. <https://doi.org/10.1638/2017-0137.1>
- Kunz, T.H., Braun de Torrez, E., Bauer, D., Lobova, T., Fleming, T.H., 2011. Ecosystem services provided by bats: Ecosystem services provided by bats. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1223, 1–38. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06004.x>
- Kunz, T.H., Lumsden, L.F., 2003. Ecology of cavity and foliage roosting bats, in: Kunz, T.H., Fenton, M.B. (Eds.), *Bat Ecology*. University of Chicago Press, pp. 3–89.
- Kupferschmidt, K., 2013. Link to MERS Virus Underscores Bats' Puzzling Threat. *Science* 341, 948–949. <https://doi.org/10.1126/science.341.6149.948>
- Kuzmin, I.V., Bozick, B., Guagliardo, S.A., Kunkel, R., Shak, J.R., Tong, S., Rupprecht, C.E., 2011. Bats, emerging infectious diseases, and the rabies paradigm revisited. *Emerging Health Threats Journal* 4, 7159. <https://doi.org/10.3402/ehth.v4i0.7159>
- Lacoste, V., 2011. Herpèsvirus de Primates. *Bulletin Académie Vétérinaire de France* 164, 293–304.

- Lacoste, V., Lavergne, A., de Thoisy, B., Pouliquen, J.-F., Gessain, A., 2010. Genetic diversity and molecular evolution of human and non-human primate Gammaherpesvirinae. *Infection, Genetics and Evolution* 10, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.10.009>
- Lacoste, V., Mauclore, P., Dubreuil, G., Lewis, J., Georges-Courbot, M.C., Rigoulet, J., Petit, T., Gessain, A., 2000. Simian homologues of human gamma-2 and betaherpesviruses in mandrill and drill monkeys. *Journal of virology* 74, 11993–9.
- Lacoste, Vincent, Mauclore, P., Dubreuil, G., Lewis, J., Georges-Courbot, M.-C., Gessain, A., 2000. Virology: KSHV-like herpesviruses in chimps and gorillas. *Nature* 407, 151–152. <https://doi.org/10.1038/35025145>
- Lacoste, V., Verschoor, E.J., Nerrienet, E., Gessain, A., 2005. A novel homologue of Human herpesvirus 6 in chimpanzees. *Journal of General Virology* 86, 2135–2140. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81034-0>
- Lau, S.K., Woo, P.C., Li, K.S., Huang, Y., Tsoi, H.-W., Wong, B.H., Wong, S.S., Leung, S.-Y., Chan, K.-H., Yuen, K.-Y., 2005. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 14040–14045.
- Lavergne, A., de Thoisy, B., Pouliquen, J.-F., Ruiz-García, M., Lacoste, V., 2011. Partial molecular characterisation of New World non-human primate lymphocryptoviruses. *Infection, Genetics and Evolution* 11, 1782–1789. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.07.017>
- Lavergne, A., Donato, D., Gessain, A., Niphuis, H., Nerrienet, E., Verschoor, E.J., Lacoste, V., 2014. African Great Apes Are Naturally Infected with Roseoloviruses Closely Related to Human Herpesvirus 7. *J Virol* 88, 13212–13220. <https://doi.org/10.1128/JVI.01490-14>
- Leendertz, F.H., Deckers, M., Schempp, W., Lankester, F., Boesch, C., Mugisha, L., Dolan, A., Gatherer, D., McGeoch, D.J., Ehlers, B., 2009. Novel cytomegaloviruses in free-ranging and captive great apes: phylogenetic evidence for bidirectional horizontal transmission. *Journal of General Virology* 90, 2386–2394. <https://doi.org/10.1099/vir.0.011866-0>
- Leroy, E.M., Kumulungui, B., Pourrut, X., Rouquet, P., Hassanin, A., Yaba, P., Délicat, A., Paweska, J.T., Gonzalez, J.-P., Swanepoel, R., 2005. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature* 438, 575–576. <https://doi.org/10.1038/438575a>
- Li, W., 2005. Bats Are Natural Reservoirs of SARS-Like Coronaviruses. *Science* 310, 676–679. <https://doi.org/10.1126/science.1118391>
- Lilja, A.E., Shenk, T., 2008. Efficient replication of rhesus cytomegalovirus variants in multiple rhesus and human cell types. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 19950–19955. <https://doi.org/10.1073/pnas.0811063106>
- Linnaeus, C., 1758. *Systema naturae*, vol. 1. *Systema naturae*, Vol. 1.

- Longnecker, R.M., Kieff, E., Cohen, J.I., 2013. Epstein-barr virus, in: *Fields Virology: Sixth Edition*. Wolters Kluwer Health Adis (ESP).
- López-Baucells, A., Rocha, R., Fernández-Llamazares, Á., 2018. When bats go viral: negative framings in virological research imperil bat conservation. *Mammal Review* 48, 62–66. <https://doi.org/10.1111/mam.12110>
- Luppi, M., Barozzi, P., Garber, R., Maiorana, A., Bonacorsi, G., Artusi, T., Trovato, R., Marasca, R., Torelli, G., 1998. Expression of Human Herpesvirus-6 Antigens in Benign and Malignant Lymphoproliferative Diseases. *The American Journal of Pathology* 153, 815–823. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65623-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65623-4)
- Lusso, P., Markham, P.D., Tschachler, E., Veronese, F. di M., Salahuddin, S.Z., Ablashi, D.V., Pahwa, S., Krohn, K., Gallo, R.C., 1988. In vitro cellular tropism of human B-lymphotropic virus (human herpesvirus-6). *Journal of Experimental Medicine* 167, 1659–1670. <https://doi.org/10.1084/jem.167.5.1659>
- Lynch Alfaro, J.W., Cortés-Ortiz, L., Di Fiore, A., Boubli, J.P., 2015. Special issue: Comparative biogeography of Neotropical primates. *Molecular Phylogenetics and Evolution, Phylogeny and Biogeography of Neotropical Primates* 82, 518–529. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.09.027>
- Mahalingam, R., Gray, W.L., 2007. The simian varicella virus genome contains an invertible 665 base pair terminal element that is absent in the varicella zoster virus genome. *Virology* 366, 387–393. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.04.030>
- Mahalingam, R., Traina-Dorge, V., Wellish, M., Lorino, R., Sanford, R., Ribka, E.P., Alleman, S.J., Brazeau, E., Gilden, D.H., 2007. Simian varicella virus reactivation in cynomolgus monkeys. *Virology* 368, 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.06.025>
- Malherbe, H., Harwin, R., 1957. Seven Viruses Isolated from the Vervet Monkey. *Br J Exp Pathol* 38, 539–541.
- Marr-Belvin, A.K., Carville, A.K., Fahey, M.A., Boisvert, K., Klumpp, S.A., Ohashi, M., Wang, F., O’Neil, S.P., Westmoreland, S.V., 2008. Rhesus Lymphocryptovirus Type 1-associated B-cell Nasal Lymphoma in SIV-infected Rhesus Macaques. *Vet Pathol* 45, 914–921. <https://doi.org/10.1354/vp.45-6-914>
- Marsh, L.K., 2014. A Taxonomic Revision of the Saki Monkeys, *Pithecia Desmarest*, 1804. *Neotropical Primates* 21, 1–165. <https://doi.org/10.1896/044.021.0101>
- Martins-Junior, A.M.G., Carneiro, J., Sampaio, I., Ferrari, S.F., Schneider, H., 2018. Phylogenetic relationships among Capuchin (Cebidae, Platyrrhini) lineages: An old event of sympatry explains the current distribution of *Cebus* and *Sapajus*. *Genetics and Molecular Biology* 41, 699–712. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2017-0012>
- Mccarthy, K., Thorpe, E., Laursen, A.C., Heymann, C.S., Beale, A.J., 1968. Eanthematous Disease in patas monkey caused by a Herpes virus. *The Lancet* 292, 856–857. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(68\)91006-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(68)91006-4)

- McCracken, G.F., Lumsden, L.F., Kunz, T.H., 2006. Roosting ecology and population biology. Functional and evolutionary ecology of bats (A. Zubaid, GF McCracken and TH Kunz, eds.). Oxford University Press, New York 179–184.
- McGeoch, D.J., 2001. Molecular evolution of the gamma-Herpesvirinae. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356, 421–435. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0775>
- McGeoch, D.J., Cook, S., Dolan, A., Jamieson, F.E., Telford, E.A.R., 1995. Molecular Phylogeny and Evolutionary Timescale for the Family of Mammalian Herpesviruses. *Journal of Molecular Biology* 247, 443–458. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1995.0152>
- McGeoch, D.J., Dolan, A., Ralph, A.C., 2000. Toward a Comprehensive Phylogeny for Mammalian and Avian Herpesviruses. *J Virol* 74, 10401–10406.
- McGeoch, D.J., Rixon, F.J., Davison, A.J., 2006. Topics in herpesvirus genomics and evolution. *Virus Research, Comparative Genomics and Evolution of Complex Viruses* 117, 90–104. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2006.01.002>
- Medeiros, M.A., Barros, R.M.S., Pieczarka, J.C., Nagamachi, C.Y., Ponsa, M., Garcia, M., Garcia, F., Egozcue, J., 1997. Radiation and speciation of spider monkeys, genus *Ateles*, from the cytogenetic viewpoint. *American Journal of Primatology* 42, 167–178. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2345\(1997\)42:3<167::AID-AJP1>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2345(1997)42:3<167::AID-AJP1>3.0.CO;2-V)
- Melendez, L.V., Daniel, M.D., Hunt, R.D., Garcia, F.G., 1968. An apparently new herpesvirus from primary kidney cultures of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Lab Anim Care* 18, 374–381.
- Melendez, L.V., Hunt, R.D., King, N.W., Barahona, H.H., Daniel, M.D., Fraser, C.E.O., Garcia, F.G., 1972. *Herpesvirus ateles*, a New Lymphoma Virus of Monkeys. *Nature New Biology* 235, 182–184. <https://doi.org/10.1038/newbio235182b0>
- Mettenleiter, T.C., Klupp, B.G., Granzow, H., 2009. Herpesvirus assembly: An update. *Virus Research, Virus Research - 25th Anniversary Issue* 143, 222–234. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.03.018>
- Minamishima, Y., Graham, B.J., Benyesh-Melnick, M., 1971. Neutralizing Antibodies to Cytomegaloviruses in Normal Simian and Human Sera. *Infect Immun* 4, 368–373.
- Miyake, F., Yoshikawa, T., Sun, H., Kakimi, A., Ohashi, M., Akimoto, S., Nishiyama, Y., Asano, Y., 2006. Latent infection of human herpesvirus 7 in CD4+ T lymphocytes. *Journal of Medical Virology* 78, 112–116. <https://doi.org/10.1002/jmv.20511>
- Mizutani, T., Endoh, D., Okamoto, M., Shirato, K., Shimizu, H., Arita, M., Fukushi, S., Saijo, M., Lim, C.K., Ito, M., Nerome, R., Takasaki, T., Ishii, K., Suzuki, T., Kurane, I., Morikawa, S., Nishimura, H., 2007. Rapid Genome Sequencing of RNA Viruses. *Emerg Infect Dis* 13, 322–324. <https://doi.org/10.3201/eid1302.061032>
- Molnár, V., Jánoska, M., Harrach, B., Glávits, R., Pálmai, N., Rigó, D., Sós, E., Liptovszky, M., 2008. Detection of a novel bat gammaherpesvirus in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica* 56, 529–538. <https://doi.org/10.1556/AVet.56.2008.4.10>

- Morales-Jimenez, A.L., Disotell, T., Di Fiore, A., 2015. Revisiting the phylogenetic relationships, biogeography, and taxonomy of spider monkeys (genus *Ateles*) in light of new molecular data. *Molecular Phylogenetics and Evolution, Phylogeny and Biogeography of Neotropical Primates* 82, 467–483. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.09.019>
- Mori, Y., Koike, M., Moriishi, E., Kawabata, A., Tang, H., Oyaizu, H., Uchiyama, Y., Yamanishi, K., 2008. Human Herpesvirus-6 Induces MVB Formation, and Virus Egress Occurs by an Exosomal Release Pathway. *Traffic* 9, 1728–1742. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2008.00796.x>
- Mori, Y., Yang, X., Akkapaiboon, P., Okuno, T., Yamanishi, K., 2003. Human Herpesvirus 6 Variant A Glycoprotein H-Glycoprotein L-Glycoprotein Q Complex Associates with Human CD46. *Journal of Virology* 77, 4992–4999. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.8.4992-4999.2003>
- Morissette, G., Flamand, L., 2010. Herpesviruses and Chromosomal Integration. *Journal of Virology* 84, 12100–12109. <https://doi.org/10.1128/JVI.01169-10>
- Mühldorfer, K., 2013. Bats and Bacterial Pathogens: A Review. *Zoonoses and Public Health* 60, 93–103. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01536.x>
- Muhldorfer, K., Schwarz, S., Fickel, J., Wibbelt, G., Speck, S., 2011. Genetic diversity of *Pasteurella* species isolated from European vespertilionid bats. *Veterinary microbiology* 149, 163–71. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.10.002>
- Mühldorfer, K., Speck, S., Kurth, A., Lesnik, R., Freuling, C., Müller, T., Kramer-Schadt, S., Wibbelt, G., 2011. Diseases and Causes of Death in European Bats: Dynamics in Disease Susceptibility and Infection Rates. *PLoS ONE* 6, e29773. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029773>
- Murata, T., Sato, Y., Kimura, H., 2014. Modes of infection and oncogenesis by the Epstein–Barr virus. *Rev. Med. Virol.* 24, 242–253. <https://doi.org/10.1002/rmv.1786>
- Murthy, S., Couacy-Hymann, E., Metzger, S., Nowak, K., Nys, H.D., Boesch, C., Wittig, R., Jarvis, M.A., Leendertz, F.H., Ehlers, B., 2013. Absence of Frequent Herpesvirus Transmission in a Nonhuman Primate Predator-Prey System in the Wild. *Journal of Virology* 87, 10651–10659. <https://doi.org/10.1128/JVI.01104-13>
- Noguchi, K., Kuwata, R., Shimoda, H., Mizutani, T., Hondo, E., Maeda, K., 2018. The complete genomic sequence of *Rhinolophus gammaherpesvirus* 1 isolated from a greater horseshoe bat. *Archives of virology*. <https://doi.org/10.1007/s00705-018-4040-2>
- Ohsawa, K., Black, D.H., Sato, H., Rogers, K., Eberle, R., 2003. Sequence and genetic arrangement of the UL region of the monkey B virus (*Cercopithecine herpesvirus* 1) genome and comparison with the UL region of other primate herpesviruses. *Arch Virol* 148, 989–997. <https://doi.org/10.1007/s00705-003-0011-2>
- Ollivier, F.J., Samuelson, D.A., Brooks, D.E., Lewis, P.A., Kallberg, M.E., Komáromy, A.M., 2004. Comparative morphology of the tapetum lucidum (among selected species).

- Veterinary Ophthalmology 7, 11–22. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2004.00318.x>
- Opazo, J.C., Wildman, D.E., Prychitko, T., Johnson, R.M., Goodman, M., 2006. Phylogenetic relationships and divergence times among New World monkeys (Platyrrhini, Primates). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40, 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.11.015>
- Osterholz, M., Walter, L., Roos, C., 2009. Retropositional events consolidate the branching order among New World monkey genera. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 50, 507–513. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.12.014>
- Oxford, K.L., Eberhardt, M.K., Yang, K.-W., Strelow, L., Kelly, S., Zhou, S.-S., Barry, P.A., 2008. Protein coding content of the ULb' region of wild-type rhesus cytomegalovirus. *Virology* 373, 181–188. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.10.040>
- Paige Brock, A., Cortés-Hinojosa, G., Plummer, C.E., Conway, J.A., Roff, S.R., Childress, A.L., Wellehan Jr, J.F., 2013. A novel gammaherpesvirus in a large flying fox (*Pteropus vampyrus*) with blepharitis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 25, 433–437.
- Pearl, R., 1928. *The rate of living*. University Press London.
- Pedersen, S.C., Müller, R., 2013. Nasal-Emission and Nose leaves, in: *Bat Evolution, Ecology, and Conservation*. Springer, New York, NY, pp. 71–91. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7397-8_4
- Pedro Simas, J., Efstathiou, S., 1998. Murine gammaherpesvirus 68: a model for the study of gammaherpesvirus pathogenesis. *Trends in Microbiology* 6, 276–282. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(98\)01306-7](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(98)01306-7)
- Pellett, P.E., 2014. Commentary: Trunkloads of Viruses. *Journal of Virology* 88, 13520–13522. <https://doi.org/10.1128/JVI.02359-14>
- Pellett, P.E., Roizman, B., 2013. Herpesviridae, in: *Fields Virology*. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, pp. 1802–1822.
- Perelman, P., Johnson, W.E., Roos, C., Seuánez, H.N., Horvath, J.E., Moreira, M.A.M., Kessing, B., Pontius, J., Roelke, M., Rumpler, Y., Schneider, M.P.C., Silva, A., O'Brien, S.J., Pecon-Slattery, J., 2011. A Molecular Phylogeny of Living Primates. *PLoS Genet* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001342>
- Perelygina, L., Zhu, L., Zurkühlen, H., Mills, R., Borodovsky, M., Hilliard, J.K., 2003. Complete Sequence and Comparative Analysis of the Genome of Herpes B Virus (Cercopithecine Herpesvirus 1) from a Rhesus Monkey. *J Virol* 77, 6167–6177. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.11.6167-6177.2003>
- Perez, S.I., Klaczko, J., dos Reis, S.F., 2012. Species tree estimation for a deep phylogenetic divergence in the New World monkeys (Primates: Platyrrhini). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 65, 621–630. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.07.014>

- Perony, N., Sueur, C., Kerth, G., 2015. La socialité complexe des chauves-souris, in: *Analyse Des Réseaux Sociaux Appliquée à l'éthologie et l'écologie*. Éditions Matériologiques, Paris, pp. 205–231. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3568.0807>
- Poux, C., Chevret, P., Huchon, D., de Jong, W.W., Douzery, E.J.P., 2006. Arrival and Diversification of Caviomorph Rodents and Platyrrhine Primates in South America. *Syst Biol* 55, 228–244. <https://doi.org/10.1080/10635150500481390>
- Powers, C., Früh, K., 2008. Rhesus CMV: an emerging animal model for human CMV. *Med Microbiol Immunol* 197, 109–115. <https://doi.org/10.1007/s00430-007-0073-y>
- Pozo, F., Juste, J., Vázquez-Morón, S., Aznar-López, C., Ibáñez, C., Garin, I., Aihartza, J., Casas, I., Tenorio, A., Echevarría, J.E., 2016. Identification of Novel Betaherpesviruses in Iberian Bats Reveals Parallel Evolution. *PLoS One* 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169153>
- Prepens, S., Kreuzer, K.A., Leendertz, F., Nitsche, A., Ehlers, B., 2007. Discovery of herpesviruses in multi-infected primates using locked nucleic acids (LNA) and a bigenic PCR approach. *Virology journal* 4, 84. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-4-84>
- Raghuram, H., Thangadurai, C., Gopukumar, N., Nathar, K., Sripathi, K., 2009. The role of olfaction and vision in the foraging behaviour of an echolocating megachiropteran fruit bat, *Rousettus leschenaulti* (Pteropodidae). *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde* 74, 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2008.02.008>
- Rahman, M.A., Hossain, M.J., Sultana, S., Homaira, N., Khan, S.U., Rahman, M., Gurley, E.S., Rollin, P.E., Lo, M.K., Comer, J.A., Lowe, L., Rota, P.A., Ksiazek, T.G., Kenah, E., Sharker, Y., Luby, S.P., 2011. Date Palm Sap Linked to Nipah Virus Outbreak in Bangladesh, 2008. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 12, 65–72. <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0656>
- Ramer, J.C., Garber, R.L., Steele, K.E., Boyson, J.F., O'Rourke, C., Thomson, J.A., 2000. Fatal Lymphoproliferative Disease Associated with a Novel Gammaherpesvirus in a Captive Population of Common Marmosets [WWW Document]. URL <https://www.ingentaconnect.com/content/aalas/cm/2000/00000050/00000001/art00013#> (accessed 8.13.18).
- Rangan, S.R., Chaiban, J., 1980. Isolation and characterization of a cytomegalovirus from the salivary gland of a squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Lab Anim Sci* 30, 532–540.
- Ray, D.A., Xing, J., Hedges, D.J., Hall, M.A., Laborde, M.E., Anders, B.A., White, B.R., Stoilova, N., Fowlkes, J.D., Landry, K.E., Chemnick, L.G., Ryder, O.A., Batzer, M.A., 2005. Alu insertion loci and platyrrhine primate phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 35, 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.10.023>
- Razafindratsimandresy, R., Jeanmaire, E.M., Counor, D., Vasconcelos, P.F., Sall, A.A., Reynes, J.-M., 2009. Partial molecular characterization of alphaherpesviruses isolated from tropical bats. *Journal of General Virology* 90, 44–47. <https://doi.org/10.1099/vir.0.006825-0>

- Reynes, J.-M., Counor, D., Ong, S., Faure, C., Seng, V., Molia, S., Walston, J., Georges-Courbot, M.C., Deubel, V., Sarthou, J.-L., 2005. Nipah Virus in Lyle's Flying Foxes, Cambodia. *Emerg Infect Dis* 11, 1042–1047. <https://doi.org/10.3201/eid1107.041350>
- Rivailler, P., Cho, Y., Wang, F., 2002a. 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* 76, 12055–12068. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.23.12055-12068.2002>
- Rivailler, P., Jiang, H., Cho, Y., Quink, C., Wang, F., 2002b. Complete Nucleotide Sequence of the Rhesus Lymphocryptovirus: Genetic Validation for an Epstein-Barr Virus Animal Model. *J Virol* 76, 421–426. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.1.421-426.2002>
- Rivailler, P., Kaur, A., Johnson, R.P., Wang, F., 2006. Genomic Sequence of Rhesus Cytomegalovirus 180.92: Insights into the Coding Potential of Rhesus Cytomegalovirus. *J Virol* 80, 4179–4182. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.8.4179-4182.2006>
- Rodhain, F., 2015. Chauves-souris et virus : des relations complexes. *Bulletin de la Société de pathologie exotique* 108, 272–289. <https://doi.org/10.1007/s13149-015-0448-z>
- Rose, T.M., 2005. CODEHOP-mediated PCR – A powerful technique for the identification and characterization of viral genomes. *Virol J* 2, 20. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-2-20>
- Rose, T.M., Schultz, E.R., Henikoff, J.G., Pietrokovski, S., McCallum, C.M., Henikoff, S., 1998. Consensus-degenerate hybrid oligonucleotide primers for amplification of distantly related sequences. *Nucleic Acids Res* 26, 1628–1635.
- Rose, T.M., Strand, K.B., Schultz, E.R., Schaefer, G., Rankin, G.W., Thouless, M.E., Tsai, C.C., Bosch, M.L., 1997. 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.
- Rosenberger, A.L., 2011. Evolutionary Morphology, Platyrrhine Evolution, and Systematics. *The Anatomical Record* 294, 1955–1974. <https://doi.org/10.1002/ar.21511>
- Rosenberger, A.L., 1984. Fossil New World monkeys dispute the molecular clock. *Journal of Human Evolution* 13, 737–742. [https://doi.org/10.1016/S0047-2484\(84\)80023-8](https://doi.org/10.1016/S0047-2484(84)80023-8)
- Rosenberger, A.L., 1981. Systematics: the higher taxa. *Ecology and behavior of neotropical primates* 1, 9–27.
- Ruiz-García, M., Pinedo-Castro, M., Shostell, J.M., 2014. How many genera and species of woolly monkeys (Atelidae, Platyrrhine, Primates) are there? The first molecular analysis of *Lagothrix flavicauda*, an endemic Peruvian primate species. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 79, 179–198. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.05.034>
- Russo, J.J., Bohenzky, R.A., Chien, M.C., Chen, J., Yan, M., Maddalena, D., Parry, J.P., Peruzzi, D., Edelman, I.S., Chang, Y., Moore, P.S., 1996. Nucleotide sequence of the

- Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (HHV8). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93, 14862–7.
- Rylands, A.B., 2000. An assessment of the diversity of New World primates. *Neotropical primates* 8, 61–93.
- Rylands, A.B., Mittermeier, R.A., 2009. The Diversity of the New World Primates (Platyrrhini): An Annotated Taxonomy, in: *South American Primates, Developments in Primatology: Progress and Prospects*. Springer, New York, NY, pp. 23–54. https://doi.org/10.1007/978-0-387-78705-3_2
- Rylands, A.B., Mittermeier, R.A., Silva, J.S., 2012. Neotropical primates: taxonomy and recently described species and subspecies: *Neotropical Primate Taxonomy*. *International Zoo Yearbook* 46, 11–24. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1090.2011.00152.x>
- Salahuddin, S.Z., Ablashi, D.V., Markham, P.D., Josephs, S.F., Sturzenegger, S., Kaplan, M., Halligan, G., Biberfeld, P., Wong-Staal, F., Kramarsky, B., Gallo, R.C., 1986. Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* 234, 596–601. <https://doi.org/10.1126/science.2876520>
- Salmier, A., 2016. Réponse des chiroptères aux environnements : diversité virale et potentiel d’adaptation (phdthesis). Université de Guyane.
- Salmier, A., Tirera, S., de Thoisy, B., Franc, A., Darcissac, E., Donato, D., Bouchier, C., Lacoste, V., Lavergne, A., 2017. Virome analysis of two sympatric bat species (*Desmodus rotundus* and *Molossus molossus*) in French Guiana. *PLOS ONE* 12, e0186943. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186943>
- Sano, K., Okazaki, S., Taniguchi, S., Masangkay, J.S., Puentespina, R., Eres, E., Cosico, E., Quibod, N., Kondo, T., Shimoda, H., Hatta, Y., Mitomo, S., Oba, M., Katayama, Y., Sassa, Y., Furuya, T., Nagai, M., Une, Y., Maeda, K., Kyuwa, S., Yoshikawa, Y., Akashi, H., Omatsu, T., Mizutani, T., 2015. Detection of a novel herpesvirus from bats in the Philippines. *Virus Genes* 51, 136–139. <https://doi.org/10.1007/s11262-015-1197-6>
- Sarkis, S., Lise, M.-C., Darcissac, E., Dabo, S., Falk, M., Chaulet, L., Neuveut, C., Meurs, E.F., Lavergne, A., Lacoste, V., 2018. Development of molecular and cellular tools to decipher the type I IFN pathway of the common vampire bat. *Developmental & Comparative Immunology* 81, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.10.023>
- Sasaki, M., Setiyono, A., Handharyani, E., Kobayashi, S., Rahmadani, I., Taha, S., Adiani, S., Subangkit, M., Nakamura, I., Sawa, H., Kimura, T., 2014. Isolation and Characterization of a Novel Alpha herpesvirus in Fruit Bats. *J Virol* 88, 9819–9829. <https://doi.org/10.1128/JVI.01277-14>
- Schirmer, E.C., Wyatt, L.S., Yamanishi, K., Rodriguez, W.J., Frenkel, N., 1991. Differentiation between two distinct classes of viruses now classified as human herpesvirus 6. *PNAS* 88, 5922–5926. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.13.5922>

- Schneider, H., Canavez, F.C., Sampaio, I., Moreira, M.Â.M., Tagliaro, C.H., Seuánez, H.N., 2001. Can molecular data place each neotropical monkey in its own branch? *Chromosoma* 109, 515–523. <https://doi.org/10.1007/s004120000106>
- Schneider, H., Sampaio, I., 2015. The systematics and evolution of New World primates – A review. *Molecular Phylogenetics and Evolution, Phylogeny and Biogeography of Neotropical Primates* 82, 348–357. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.10.017>
- Schneider, H., Sampaio, I., Harada, M.L., Barroso, C.M.L., Schneider, M.P.C., Czelusniak, J., Goodman, M., 1996. Molecular phylogeny of the New World monkeys (Platyrrhini, primates) based on two unlinked nuclear genes: IRBP intron 1 and ϵ -globin sequences. *American Journal of Physical Anthropology* 100, 153–179. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199606\)100:2<153::AID-AJPA1>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199606)100:2<153::AID-AJPA1>3.0.CO;2-Z)
- Schneider, H., Schneider, M.P.C., Sampaio, I., Harada, M.L., Stanhope, M., Czelusniak, J., Goodman, M., 1993. Molecular Phylogeny of the New World Monkeys (Platyrrhini, Primates). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2, 225–242. <https://doi.org/10.1006/mpev.1993.1022>
- Searles, R.P., Bergquam, E.P., Axthelm, M.K., Wong, S.W., 1999. Sequence and Genomic Analysis of a Rhesus Macaque Rhadinovirus with Similarity to Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus/Human Herpesvirus 8. *Journal of Virology* 73, 3040–3053.
- Seimon, T.A., Olson, S.H., Lee, K.J., Rosen, G., Ondzie, A., Cameron, K., Reed, P., Anthony, S.J., Joly, D.O., McAloose, D., Lipkin, W.I., 2015. Adenovirus and Herpesvirus Diversity in Free-Ranging Great Apes in the Sangha Region of the Republic of Congo. *PLOS ONE* 10, e0118543. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118543>
- Shabman, R.S., Shrivastava, S., Tsibane, T., Attie, O., Jayaprakash, A., Mire, C.E., Dilley, K.E., Puri, V., Stockwell, T.B., Geisbert, T.W., Sachidanandam, R., Basler, C.F., 2016. Isolation and Characterization of a Novel Gammaherpesvirus from a Microbat Cell Line. *mSphere* 1. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00070-15>
- Silva Jr, J. de S., 2001. Especiacao nos macacos-pregos e caiararas, género *Cebus* Erxleben, 1777 (Primates, Cebidae). PhD thesis. Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Simmons, N.B., 2005. An Eocene Big Bang for Bats. *Science* 307, 527–528. <https://doi.org/10.1126/science.1108871>
- Simmons, N.B., Seymour, K.L., Habersetzer, J., Gunnell, G.F., 2008. Primitive Early Eocene bat from Wyoming and the evolution of flight and echolocation. *Nature* 451, 818–821. <https://doi.org/10.1038/nature06549>
- Sinclair, J., 2008. Human cytomegalovirus: Latency and reactivation in the myeloid lineage. *Journal of Clinical Virology, CMV Special Issue* 41, 180–185. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2007.11.014>
- Singer, S.S., Schmitz, J., Schwiegk, C., Zischler, H., 2003. Molecular cladistic markers in New World monkey phylogeny (Platyrrhini, Primates). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26, 490–501. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00312-3](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00312-3)

- Smith, I., Wang, L.-F., 2013. Bats and their virome: an important source of emerging viruses capable of infecting humans. *Current Opinion in Virology* 3, 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.11.006>
- Sotero-Caio, C.G., Baker, R.J., Volleth, M., 2017. Chromosomal Evolution in Chiroptera. *Genes (Basel)* 8. <https://doi.org/10.3390/genes8100272>
- Stagno, S., Reynolds, D.W., Lakeman, A., Charamella, L.J., Alford, C.A., 1973. Congenital Cytomegalovirus Infection: Consecutive Occurrence Due to Viruses with Similar Antigenic Compositions. *Pediatrics* 52, 788–794.
- Staheli, J.P., Boyce, R., Kovarik, D., Rose, T.M., 2011. CODEHOP PCR and CODEHOP PCR Primer Design, in: Park, D.J. (Ed.), *PCR Protocols, Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. 57–73. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-944-4_5
- Staheli, J.P., Dyen, M.R., Deutsch, G.H., Basom, R.S., Fitzgibbon, M.P., Lewis, P., Barcy, S., 2016. Complete Unique Genome Sequence, Expression Profile, and Salivary Gland Tissue Tropism of the Herpesvirus 7 Homolog in Pigtailed Macaques. *Journal of Virology* 90, 6657–6674. <https://doi.org/10.1128/JVI.00651-16>
- Staheli, J.P., Dyen, M.R., Lewis, P., Barcy, S., 2014. Discovery and biological characterization of two novel pig-tailed macaque homologs of HHV-6 and HHV-7. *Virology* 471–473, 126–140. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.10.008>
- Stoker, B., 1981. *Dracula*. Bantam Classics.
- Strauss, S., 2000. Introduction to herpesviridae. *Principles and practice of infectious diseases* 2, 1756–1762.
- Subudhi, S., Rapin, N., Dorville, N., Hill, J.E., Town, J., Willis, C.K.R., Bollinger, T.K., Misra, V., 2018. Isolation, characterization and prevalence of a novel Gammaherpesvirus in *Eptesicus fuscus*, the North American big brown bat. *Virology* 516, 227–238. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2018.01.024>
- Sullivan, N.J., Sanchez, A., Rollin, P.E., Yang, Z., Nabel, G.J., 2000. Development of a preventive vaccine for Ebola virus infection in primates. *Nature* 408, 605–609. <https://doi.org/10.1038/35046108>
- Sun, R., Lin, S.F., Staskus, K., Gradoville, L., Grogan, E., Haase, A., Miller, G., 1999. Kinetics of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus gene expression. *Journal of virology* 73, 2232–42.
- Swack, N.S., Liu, O.C., Hsiung, G.D., 1971. Cytomegalovirus infections of Monkeys and Baboons. *Am J Epidemiol* 94, 397–402. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a121334>
- Swanson, R., Bergquam, E., Wong, S.W., 1998. Characterization of Rhesus Cytomegalovirus Genes Associated with Anti-viral Susceptibility. *Virology* 240, 338–348. <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8935>

- 't Hart, B.A., Serguera, C., Kap, Y.S., Gran, B., 2017. Non-human primates are essential models in the translational research of multiple sclerosis. *Drug Discovery Today: Disease Models, Use of non-human primate disease models* 23, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2018.01.001>
- Takahashi, K., Sonoda, S., Higashi, K., Kondo, T., Takahashi, H., Takahashi, M., Yamanishi, K., 1989. Predominant CD4 T-lymphocyte tropism of human herpesvirus 6-related virus. *J Virol* 63, 3161–3163.
- Tandler, B., 1996. Cytomegalovirus in the principal submandibular gland of the little brown bat, *Myotis lucifugus*. *Journal of Comparative Pathology* 114, 1–9. [https://doi.org/10.1016/S0021-9975\(96\)80057-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(96)80057-0)
- Teeling, E.C., Springer, M.S., Madsen, O., Bates, P., O'Brien, S.J., Murphy, W.J., 2005. A Molecular Phylogeny for Bats Illuminates Biogeography and the Fossil Record. *Science* 307, 580–584.
- Tejedor, M.F., 2008. The origin and evolution of Neotropical Primates. *Arq Mus Nac* 66, 251–269.
- Thompson, S.A., Hilliard, J.K., Kittel, D., Lipper, S., Giddens, W.E., Black, D.H., Eberle, R., 2000. Retrospective analysis of an outbreak of B virus infection in a colony of DeBrazza's monkeys (*Cercopithecus neglectus*). *Comparative medicine* 50, 649–657.
- Thomson, B.J., Dewhurst, S., Gray, D., 1994. Structure and heterogeneity of the a sequences of human herpesvirus 6 strain variants U1102 and Z29 and identification of human telomeric repeat sequences at the genomic termini. *J. Virol.* 68, 3007–3014.
- Torrise, M.R., Gentile, M., Cardinali, G., Cirone, M., Zompetta, C., Lotti, L.V., Frati, L., Faggioni, A., 1999. Intracellular Transport and Maturation Pathway of Human Herpesvirus 6. *Virology* 257, 460–471. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9699>
- Toulemonde-Darre, F., 2007. Structure, évolution et expression de gènes «chimériques» spécifiques des Primates (PhD Thesis). Université Nice Sophia Antipolis.
- Tsao, E.H., Kellam, P., Sin, C.S.Y., Rasaiyaah, J., Griffiths, P.D., Clark, D.A., 2009. Microarray-based determination of the lytic cascade of human herpesvirus 6B. *Journal of General Virology* 90, 2581–2591. <https://doi.org/10.1099/vir.0.012815-0>
- Turner, S., DiLuca, D., Gompels, U.A., 2002. Characterisation of a human herpesvirus 6 variant A 'amplicon' and replication modulation by U94-Rep 'latency gene.' *Journal of Virological Methods* 105, 331–341. [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(02\)00130-1](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(02)00130-1)
- Tyler, S., Severini, A., Black, D., Walker, M., Eberle, R., 2011. Structure and sequence of the saimiriine herpesvirus 1 genome. *Virology* 410, 181–191. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2010.11.008>
- Tyler, S.D., Peters, G.A., Grose, C., Severini, A., Gray, M.J., Upton, C., Tipples, G.A., 2007. Genomic cartography of varicella-zoster virus: A complete genome-based analysis of strain variability with implications for attenuation and phenotypic differences. *Virology* 359, 447–458. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.09.037>

- Tyler, S.D., Peters, G.A., Severini, A., 2005. Complete genome sequence of cercopithecine herpesvirus 2 (SA8) and comparison with other simplexviruses. *Virology* 331, 429–440. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.09.042>
- Tyler, S.D., Severini, A., 2006. The Complete Genome Sequence of Herpesvirus Papio 2 (Cercopithecine Herpesvirus 16) Shows Evidence of Recombination Events among Various Progenitor Herpesviruses. *J Virol* 80, 1214–1221. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.3.1214-1221.2006>
- Vallejos-Garrido, P., Rivera, R., Inostroza-Michael, O., Rodríguez-Serrano, E., Hernández, C.E., 2017. Historical dynamics and current environmental effects explain the spatial distribution of species richness patterns of New World monkeys. *PeerJ* 5, e3850. <https://doi.org/10.7717/peerj.3850>
- VanDevanter, D.R., Warrener, P., Bennett, L., Schultz, E.R., Coulter, S., Garber, R.L., Rose, T.M., 1996. Detection and analysis of diverse herpesviral species by consensus primer PCR. *J Clin Microbiol* 34, 1666–1671.
- Voevodin, A., Marx, P.A., 2008. Frag-Virus: a new term to distinguish presumptive viruses known primarily from sequence data. *Virology journal* 5, 34. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-5-34>
- Voevodin, A.F., Marx, P.A., 2009a. Simian virology. John Wiley & Sons.
- Voevodin, A.F., Marx, P.A., 2009b. Classification of Nonhuman Primates, in: *Simian Virology*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1–38. <https://doi.org/10.1002/9780813809793.ch1>
- Voevodin, A.F., Marx, P.A., 2009c. Rhadinoviruses, in: *Simian Virology*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 347–368. <https://doi.org/10.1002/9780813809793.ch16>
- Wada, Y., Sasaki, M., Setiyono, A., Handharyani, E., Rahmadani, I., Taha, S., Adiani, S., Latief, M., Kholilullah, Z.A., Subangkit, M., Kobayashi, S., Nakamura, I., Kimura, T., Orba, Y., Sawa, H., 2018. Detection of novel gammaherpesviruses from fruit bats in Indonesia. *Journal of Medical Microbiology* 67, 415–422. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000689>
- Watanabe, S., Maeda, K., Suzuki, K., Ueda, N., Iha, K., Taniguchi, S., Shimoda, H., Kato, K., Yoshikawa, Y., Morikawa, S., Kurane, I., Akashi, H., Mizutani, T., 2010. Novel Betaherpesvirus in Bats. *Emerging Infectious Diseases* 16, 986–988. <https://doi.org/10.3201/eid1606.091567>
- Watanabe, S., Mizutani, T., Sakai, K., Kato, K., Tohya, Y., Fukushi, S., Saijo, M., Yoshikawa, Y., Kurane, I., Morikawa, S., Akashi, H., 2008. Ligation-mediated amplification for effective rapid determination of viral RNA sequences (RDV). *Journal of Clinical Virology* 43, 56–59. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2008.05.004>
- Watanabe, S., Ueda, N., Iha, K., Masangkay, J.S., Fujii, H., Alviola, P., Mizutani, T., Maeda, K., Yamane, D., Walid, A., Kato, K., Kyuwa, S., Tohya, Y., Yoshikawa, Y., Akashi, H., 2009. Detection of a new bat gammaherpesvirus in the Philippines. *Virus Genes* 39, 90–93. <https://doi.org/10.1007/s11262-009-0368-8>

- Weber, N., Duengkae, P., Fahr, J., Dechmann, D.K.N., Phengsakul, P., Khumbucha, W., Siriaronrat, B., Wacharapluesadee, S., Maneeorn, P., Wikelski, M., Newman, S., 2015. High-resolution GPS tracking of Lyle's flying fox between temples and orchards in central Thailand. *The Journal of Wildlife Management* 79, 957–968. <https://doi.org/10.1002/jwmg.904>
- Whitley, R.J., 1996. Herpesviruses, in: Baron, S. (Ed.), *Medical Microbiology*. University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston (TX).
- Wibbelt, G., Kurth, A., Yasmum, N., Bannert, M., Nagel, S., Nitsche, A., Ehlers, B., 2007. Discovery of herpesviruses in bats. *Journal of General Virology* 88, 2651–2655. <https://doi.org/10.1099/vir.0.83045-0>
- Wibbelt, G., Moore, M.S., Schountz, T., Voigt, C.C., 2010. Emerging diseases in Chiroptera: why bats? *Biol Lett* 6, 438–440. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2010.0267>
- Wickramasinghe, L.P., Harris, S., Jones, G., Jennings, N.V., 2004. Abundance and Species Richness of Nocturnal Insects on Organic and Conventional Farms: Effects of Agricultural Intensification on Bat Foraging. *Conservation Biology* 18, 1283–1292. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2004.00152.x>
- Wildman, D.E., Jameson, N.M., Opazo, J.C., Yi, S.V., 2009. A fully resolved genus level phylogeny of neotropical primates (Platyrrhini). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 53, 694–702. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.07.019>
- Wilkinson, G.S., South, J.M., 2002. Life history, ecology and longevity in bats. *Aging Cell* 1, 124–131. <https://doi.org/10.1046/j.1474-9728.2002.00020.x>
- Wilkinson, R.D., Steiper, M.E., Soligo, C., Martin, R.D., Yang, Z., Tavaré, S., 2011. Dating Primate Divergences through an Integrated Analysis of Palaeontological and Molecular Data. *Syst Biol* 60, 16–31. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syq054>
- Wong, S., Lau, S., Woo, P., Yuen, K.-Y., 2007. Bats as a continuing source of emerging infections in humans. *Reviews in Medical Virology* 17, 67–91. <https://doi.org/10.1002/rmv.520>
- Wray, A.K., Olival, K.J., Morán, D., Lopez, M.R., Alvarez, D., Navarrete-Macias, I., Liang, E., Simmons, N.B., Lipkin, W.I., Daszak, P., Anthony, S.J., 2016. Viral Diversity, Prey Preference, and Bartonella Prevalence in *Desmodus rotundus* in Guatemala. *EcoHealth* 13, 761–774. <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1183-z>
- Wroblewska, Z., Gilden, D., Devlin, M., Huang, E.-S., Rorke, L.B., Hamada, T., Furukawa, T., Cummins, L., Kalter, S., Koprowski, H., 1979. Cytomegalovirus Isolation from a Chimpanzee with Acute Demyelinating Disease After Inoculation of Multiple Sclerosis Brain Cells. *Infection and Immunity* 25, 1008–1015.
- Wu, Z., Ren, X., Yang, L., Hu, Y., Yang, J., He, G., Zhang, J., Dong, J., Sun, L., Du, J., Liu, L., Xue, Y., Wang, J., Yang, F., Zhang, S., Jin, Q., 2012. Virome Analysis for Identification of Novel Mammalian Viruses in Bat Species from Chinese Provinces. *Journal of Virology* 86, 10999–11012. <https://doi.org/10.1128/JVI.01394-12>

- Wu, Z., Yang, L., Ren, X., He, G., Zhang, J., Yang, J., Qian, Z., Dong, J., Sun, L., Zhu, Y., Du, J., Yang, F., Zhang, S., Jin, Q., 2016. Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *The ISME Journal* 10, 609–620. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.138>
- Zaki, A.M., van Boheemen, S., Bestebroer, T.M., Osterhaus, A.D.M.E., Fouchier, R.A.M., 2012. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *New England Journal of Medicine* 367, 1814–1820. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721>
- Zhang, H., Todd, S., Tachedjian, M., Barr, J.A., Luo, M., Yu, M., Marsh, G.A., Cramer, G., Wang, L.-F., 2012. A Novel Bat Herpesvirus Encodes Homologues of Major Histocompatibility Complex Classes I and II, C-Type Lectin, and a Unique Family of Immune-Related Genes. *Journal of Virology* 86, 8014–8030. <https://doi.org/10.1128/JVI.00723-12>
- Zheng, X., Qiu, M., Chen, S., Xiao, J., Ma, L., Liu, S., Zhou, J., Zhang, Q., Li, X., Chen, Z., Wu, Y., Chen, H., Jiang, L., Xiong, Y., Ma, S., Zhong, X., Huo, S., Ge, J., Cen, S., Chen, Q., 2016. High prevalence and diversity of viruses of the subfamily Gammaherpesvirinae, family Herpesviridae, in fecal specimens from bats of different species in southern China. *Archives of Virology* 161, 135–140. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2614-9>
- Zimmermann, J., Hammerschmidt, W., 1995. Structure and role of the terminal repeats of Epstein-Barr virus in processing and packaging of virion DNA. *J. Virol.* 69, 3147–3155.