

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE
Bartonella spp. EM MOSCAS STREBLIDAE E ÁCAROS
MACRONYSSIDAE E SPINTURNICIDAE PARASITAS
DE QUIRÓPTEROS**

Renan Bressianini do Amaral

Biólogo

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE
Bartonella spp. EM MOSCAS STREBLIDAE E ÁCAROS
MACRONYSSIDAE E SPINTURNICIDAE PARASITAS
DE QUIRÓPTEROS**

Renan Bressianini do Amaral

Orientador: Prof. Dr. Marcos Rogério André

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária.

2018

A485d Amaral, Renan Bressianini do
Detecção e caracterização molecular de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae e ácaros Macronyssidae e Spinturnicidae parasitas de quirópteros / Renan Bressianini do Amaral. -- Jaboticabal, 2017
xvi, 101 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: Marcos Rogério André
Banca examinadora: Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho, Daniel Guariz Pinheiro
Bibliografia

1. Bartonelose. 2. Filogenia. 3. Hippoboscoidea. 4. Morcegos. 5. Mesostigmata. 6. qPCR. 7. Rio de Janeiro. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 576.8:599.4

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE Bartonella spp. EM MOSCAS STREBLIDAE E ÁCAROS MACRONYSSIDAE E SPINTURNICIDAE PARASITAS DE QUIRÓPTEROS

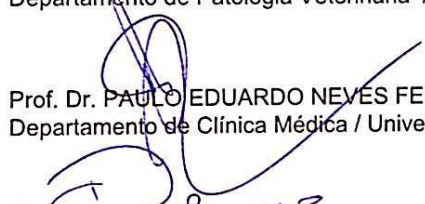
AUTOR: RENAN BRESSIANINI DO AMARAL

ORIENTADOR: MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. PAULO EDUARDO NEYES FERREIRA VELHO
Departamento de Clínica Médica / Universidade Estadual de Campinas



Prof. Dr. DANIEL GUARIZ PINHEIRO
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 21 de fevereiro de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Renan Bressianini do Amaral – nascido na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, em 12 de maio de 1994. Formado em Ciências Biológicas (Bacharelado) pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, Jaboticabal, São Paulo, no ano de 2015. Durante a graduação, foi bolsista PROPE (2014-2015) e FAPESP (Processo 2015/03262-1) trabalhando com pesquisas na área de Parasitologia sob a orientação do Prof. Dr. Marcos R. André. Ingressou no curso de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária na FCAV/UNESP em março de 2016, com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) até agosto de 2016 e Bolsa FAPESP (Processo número 2016/12574-0) até fevereiro de 2018.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Márcia dos Reis Bressianini do Amaral e

Teotônio Firmino do Amaral

Por todo apoio, amor e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Marcia dos Reis Bressianini do Amaral e Teotônio Firmino do Amaral, e minha irmã Juliana pelo apoio incondicional, todos os dias.

Aos meus primos, Thuany Galego, Reginaldo Coscrato e Ana Paula Galego, pelo incentivo a seguir sempre em frente.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcos R. André, pela oportunidade, conselhos e ensinamentos, tanto na época de Graduação quanto na Pós-graduação.

Às Professoras Rosangela Z. Machado e Darci Moraes Barros-Battesti, pelos ensinamentos passados a cada dia.

Aos meus amigos, Adryelle Moreira, Matheus Panosso, Ricardo Khouri, Luciano Tomazinho, Caio Camassutti, Fernando Carabolante, Mauricio de Vitto Bárbara Paiva, Gustavo Felippelli, pelo companheirismo.

Aos meus companheiros do laboratório de imunoparasitologia, Arvelino Souza, Livia Perles, Otávio Fidelis, Rafaela Beraldo, Simone Fernandes, Maria Eduarda Furquim, Natália Serra, Inalda Ramos, Keyla Carstens, Priscila Ikeda, Victória Valente, Diego Zanatto e Kayo Neto, pela amizade, ensinamentos compartilhados e colaboração no trabalho apresentado.

À aluna de Iniciação Científica Amanda Barbosa, por todo auxílio nas análises moleculares realizadas.

Às Pesquisadoras, Prof^a. Dr^a. Kátia M.Famadas e Dr^a Elizabete L. Captivo, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, por gentilmente cederem as amostras dos ectoparasitas identificados, para que pudéssemos realizar o trabalho.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia

Agropecuária.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida no primeiro semestre do programa de Mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo Auxílio à Pesquisa (Processo: 2015/14896-1) e pela bolsa de mestrado concedida (Processo: 2016/12574-0).

Sumário

| | |
|--|------|
| LICENÇA SISBIO..... | III |
| RESUMO..... | X |
| Abstract..... | XI |
| LISTA DE TABELAS | XII |
| LISTA DE FIGURAS | XIII |
| Página | XIII |
| Página | XIV |
| Página | XV |
| Página | XVI |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA..... | 4 |
| 2.1. Ordem Chiroptera..... | 4 |
| 2.2. Dípteros Streblidae..... | 5 |
| 2.3. Ácaros Macronyssidae e Spinturnicidae | 6 |
| 2.4. Gênero <i>Bartonella</i> | 7 |
| 2.4.1. Taxonomia..... | 7 |
| 2.4.2. Bartoneloses..... | 8 |
| 2.5. <i>Bartonella</i> spp. em morcegos..... | 11 |
| 2.6. <i>Bartonella</i> spp. em ectoparasitas de morcegos | 22 |
| 3. OBJETIVOS..... | 27 |
| 3.1. Objetivo Geral | 27 |
| 4. Material e Métodos | 28 |
| 4.1. Área de estudo, captura e colheita dos ectoparasitas..... | 28 |
| 4.2. Identificação dos morcegos e ectoparasitas hematófagos..... | 28 |
| 4.3. Extração de DNA dos exemplares de ectoparasitas | 29 |
| 4.4. Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR)..... | 30 |
| 4.4.1. PCR convencional (cPCR) para o gene endógeno <i>cox-1</i> de moscas Streblidae e ácaros Macronyssidae e Spinturnicidae | 30 |
| 4.4.2. Reações de Amplificação para <i>Bartonella</i> spp. | 30 |
| 4.5. Caracterização molecular de <i>Bartonella</i> spp..... | 32 |
| 4.6. Eletroforese de DNA em gel de agarose..... | 33 |
| 4.7. Purificação dos produtos amplificados..... | 34 |

| | |
|---|-----|
| 4.8. Sequenciamento | 34 |
| 4.9. Análise das Sequências..... | 35 |
| 5. RESULTADOS | 38 |
| 5.1. Captura dos morcegos e ectoparasitas..... | 38 |
| 5.2. Extração de DNA dos exemplares de ectoparasitas..... | 45 |
| 5.3. Reação de Amplificação para o gene endógeno <i>cox-1</i> das moscas Streblidae | 47 |
| 5.4. Reações de Amplificação para <i>Bartonella</i> spp..... | 48 |
| 5.5. Caracterização molecular de <i>Bartonella</i> spp..... | 50 |
| 5.6. Análises pelo BLAST | 53 |
| 6. DISCUSSÃO..... | 66 |
| 7. CONCLUSÃO | 72 |
| 8. REFERÊNCIAS..... | 73 |
| Apêndices..... | 87 |
| Apêndice 1 | 88 |
| Apêndice 2 | 101 |



Autorização para atividades com finalidade científica

| | |
|-----------------|-----------------------------------|
| Número: 28064-2 | Data da Emissão: 16/11/2011 12:00 |
|-----------------|-----------------------------------|

Dados do titular

| | |
|---|--------------------------|
| Nome: Elizabete Captivo Lourenço | CPF: 102.220.997-39 |
| Título do Projeto: Dinâmica populacional de morcegos e seus ectoparasitas em área de regeneração de mata ciliar, Estado do Rio de Janeiro | |
| Nome da Instituição : UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO | CNPJ: 29.427.465/0001-05 |

Cronograma de atividades

| # | Descrição da atividade | Início (mês/ano) | Fim (mês/ano) |
|---|------------------------|------------------|---------------|
| 1 | Captura | 04/2011 | 04/2015 |

De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Observações e ressalvas

| | |
|---|---|
| 1 | As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia. |
| 2 | Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso. |
| 3 | Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior. |
| 4 | A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação. |
| 5 | O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ. |
| 6 | O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor. |
| 7 | Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen . |
| 8 | Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade. |

Outras ressalvas

| | |
|---|--|
| 1 | 1- Só será permitida a entrada do titular da pesquisa e sua equipe na Rebio do Tinguá, mediante a apresentação da Autorização de pesquisa em mãos. 2- O titular da pesquisa deverá encaminhar a Rebio do Tinguá, relatórios e outros referente a pesquisa, atendendo IN 154/2007/ICMBIO, para fins de consulta (Estrada do Comércio, 3400, tinguá, Nova Iguaçu-RJ., Cep: 26063-630) |
|---|--|

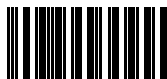
Equipe

| # | Nome | Função | CPF | Doc. Identidade | Nacionalidade |
|---|----------------------------------|-------------|----------------|------------------------|---------------|
| 1 | Renan Medeiros Dias | Colaborador | 126.262.117-88 | 21464678-8 DETRAN-RJ | Brasileira |
| 2 | Priscilla Maria Peixoto Patricio | Colaborador | 131.244.287-57 | 111659215 Detran-RJ | Brasileira |
| 3 | Kátia Maria Famadas | Orientador | 632.286.537-49 | 311298 MAer-RJ | Brasileira |
| 4 | Michele da Costa Pinheiro | Colaborador | 087.671.547-19 | 121114219 DIC-RJ | Brasileira |
| 5 | Luiz Antonio Costa Gomes | Colaborador | 116.412.177-40 | 21.726.327-6 DETRAN-RJ | Brasileira |

Locais onde as atividades de campo serão executadas

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 93241494





Autorização para atividades com finalidade científica

| | |
|-----------------|-----------------------------------|
| Número: 28064-2 | Data da Emissão: 16/11/2011 12:00 |
|-----------------|-----------------------------------|

Dados do titular

| | |
|---|--------------------------|
| Nome: Elizabete Captivo Lourenço | CPF: 102.220.997-39 |
| Título do Projeto: Dinâmica populacional de morcegos e seus ectoparasitas em área de regeneração de mata ciliar, Estado do Rio de Janeiro | |
| Nome da Instituição : UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO | CNPJ: 29.427.465/0001-05 |

| # | Município | UF | Descrição do local | Tipo |
|---|-------------|----|-----------------------------|------------|
| 1 | NOVA IGUACU | RJ | RESERVA BIOLÓGICA DO TINGUA | UC Federal |
| 2 | NOVA IGUACU | RJ | Tingua | Fora de UC |

Atividades X Táxons

| # | Atividade | Táxons |
|---|---|--|
| 1 | Captura de animais silvestres in situ | Insecta, Not Assigned, Chiroptera |
| 2 | Coleta/transporte de amostras biológicas in situ | Chiroptera |
| 3 | Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ | Chiroptera (*Qtde: 2), Not Assigned (*Qtde: 20), Insecta (*Qtde: 20) |
| 4 | Marcação de animais silvestres in situ | Chiroptera |

* Qtde. de indivíduos por espécie/localidade/unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

| | | |
|---|---|-----------------|
| 1 | Amostras biológicas (Outros mamíferos) | Ectoparasita |
| 2 | Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres) | Captura manual |
| 3 | Método de captura/coleta (Outros mamíferos) | Rede de neblina |
| 4 | Método de marcação (Outros mamíferos) | Colar |

Destino do material biológico coletado

| # | Nome local destino | Tipo Destino |
|---|--|---------------------------|
| 1 | UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO | Laboratório de acarologia |

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 93241494





Autorização para atividades com finalidade científica

| | |
|-----------------|-----------------------------------|
| Número: 28064-2 | Data da Emissão: 16/11/2011 12:00 |
|-----------------|-----------------------------------|

Dados do titular

| | |
|---|--------------------------|
| Nome: Elizabete Captivo Lourenço | CPF: 102.220.997-39 |
| Título do Projeto: Dinâmica populacional de morcegos e seus ectoparasitas em área de regeneração de mata ciliar, Estado do Rio de Janeiro | |
| Nome da Instituição : UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO | CNPJ: 29.427.465/0001-05 |

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

| Táxon* | Qtde. | Tipo de amostra | Qtde. | Data |
|--------|-------|-----------------|-------|------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 93241494





Autorização para atividades com finalidade científica

| | | |
|--|--|---|
| Número: 32284-5 | Data da Emissão: 26/06/2015 16:46 | Data para Revalidação*: 25/07/2016 |
| * De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão. | | |

Dados do titular

| | |
|--|--------------------------|
| Nome: Elizabete Captivo Lourenço | CPF: 102.220.997-39 |
| Título do Projeto: BIODIVERSIDADE DE ECTOPARASITOS DE MORCEGOS E RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO | |
| Nome da Instituição : UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO | CNPJ: 29.427.465/0001-05 |

Cronograma de atividades

| # | Descrição da atividade | Início (mês/ano) | Fim (mês/ano) |
|---|---------------------------|------------------|---------------|
| 1 | Ectoparasitos de morcegos | 01/2012 | 01/2017 |

Observações e ressalvas

| | |
|---|---|
| 1 | As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia. |
| 2 | Esta autorização NAO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso. |
| 3 | Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior. |
| 4 | A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). |
| 5 | O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ. |
| 6 | O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor. |
| 7 | Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen . |
| 8 | Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade. |

Outras ressalvas

| | |
|---|--|
| 1 | Avisar antecipadamente a visita nesta UC; entregar o resultado da pesquisa na administração da UC. |
| 2 | Os pesquisadores deverão portar cópia desta autorização e estar devidamente identificados, por meio de crachá e/ou uniforme, sempre que comparecerem à unidade de conservação para realizar as atividades. Todos os equipamentos e estruturas de apoio, bem como marcações e sinalizações, deverão ser retirados ao término da pesquisa. |

Equipe

| # | Nome | Função | CPF | Doc. Identidade | Nacionalidade |
|---|----------------------------------|-------------|----------------|-------------------------------|---------------|
| 1 | Michele da Costa Pinheiro | Colaborador | 087.671.547-19 | 121114219 DIC-RJ | Brasileira |
| 2 | Priscilla Maria Peixoto Patricio | Colaborador | 131.244.287-57 | 111659215 Detran-RJ | Brasileira |
| 3 | Kelly Regina Freitas Freire | Colaborador | 119.303.427-21 | 278176011 Detran-RJ | Brasileira |
| 4 | Luiza Carvalho Prado | Colaborador | 146.173.767-20 | 21.168.842-9 DETRAN-DIC-RJ | Brasileira |
| 5 | Kátia Maria Famadas | Orientador | 632.286.537-49 | 311298 MAer-RJ | Brasileira |

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 59375654





Autorização para atividades com finalidade científica

| | | |
|--|--|---|
| Número: 32284-5 | Data da Emissão: 26/06/2015 16:46 | Data para Revalidação*: 25/07/2016 |
| * De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão. | | |

Dados do titular

| | |
|--|--------------------------|
| Nome: Elizabete Captivo Lourenço | CPF: 102.220.997-39 |
| Título do Projeto: BIODIVERSIDADE DE ECTOPARASITOS DE MORCEGOS E RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO | |
| Nome da Instituição : UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO | CNPJ: 29.427.465/0001-05 |

| | | | | | |
|---|------------------------------|-------------|----------------|----------------------|------------|
| 6 | Fernanda Mendes Gabriel | Colaborador | 058.925.697-13 | 0208177857 Detran-RJ | Brasileira |
| 7 | Bruno Barbosa da Silva | colaborador | 120.186.827-09 | 121 187579 detran-RJ | Brasileira |
| 8 | Aline Quintanilha de Freitas | colaborador | 118.510.217-52 | 126079474 IFF-RJ | Brasileira |

Locais onde as atividades de campo serão executadas

| # | Município | UF | Descrição do local | Tipo |
|---|-----------------------|----|--------------------------------|--------------------|
| 1 | GUAPIMIRIM | RJ | RJ | Fora de UC Federal |
| 2 | DUQUE DE CAXIAS | RJ | RJ | Fora de UC Federal |
| 3 | SEROPEDICA | RJ | RJ | Fora de UC Federal |
| 4 | RIO DE JANEIRO | RJ | RJ | Fora de UC Federal |
| 5 | SEROPEDICA | RJ | FLORESTA NACIONAL MARIO XAVIER | UC Federal |
| 6 | ITAGUAI | RJ | Coroa Grande | Fora de UC Federal |
| 7 | | RJ | PARQUE NACIONAL DA TIJUCA | UC Federal |
| 8 | CAMPOS DOS GOYTACAZES | RJ | Campos de Goytacazes | Fora de UC Federal |
| 9 | SANTA MARIA MADALENA | RJ | Santa Maria Madalena | Fora de UC Federal |

Atividades X Táxons

| # | Atividade | Táxons |
|---|---|--|
| 1 | Captura de animais silvestres in situ | Insecta, Prostigmata, Chiroptera, Sarcotiformes, Parasitiformes |
| 2 | Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ | Insecta (*Qtde: 30), Sarcotiformes (*Qtde: 30), Parasitiformes (*Qtde: 30), Chiroptera (*Qtde: 2), Prostigmata (*Qtde: 30) |
| 3 | Marcação de animais silvestres in situ | Chiroptera |
| 4 | Observação e gravação de imagem ou som | Chiroptera |

* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Amostras biológicas (Outros mamíferos) | Ectoparasita |
| 2 | Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres) | Outros métodos de captura/coleta(Manual com auxílio de pinça) |
| 3 | Método de captura/coleta (Outros mamíferos) | Rede de neblina, Captura manual |
| 4 | Método de marcação (Outros mamíferos) | Colar |

Destino do material biológico coletado

| # | Nome local destino | Tipo Destino |
|---|--|--------------|
| 1 | UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO | |

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 59375654





Autorização para atividades com finalidade científica

| | | |
|--|--|---|
| Número: 32284-5 | Data da Emissão: 26/06/2015 16:46 | Data para Revalidação*: 25/07/2016 |
| * De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão. | | |

Dados do titular

| | |
|--|--------------------------|
| Nome: Elizabete Captivo Lourenço | CPF: 102.220.997-39 |
| Título do Projeto: BIODIVERSIDADE DE ECTOPARASITOS DE MORCEGOS E RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO | |
| Nome da Instituição : UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO | CNPJ: 29.427.465/0001-05 |

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

| Táxon* | Qtde. | Tipo de amostra | Qtde. | Data |
|--------|-------|-----------------|-------|------|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 59375654





Autorização para atividades com finalidade científica

| | | |
|--|--|---|
| Número: 32284-5 | Data da Emissão: 26/06/2015 16:46 | Data para Revalidação*: 25/07/2016 |
| * De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão. | | |

Dados do titular

| | |
|--|--------------------------|
| Nome: Elizabete Captivo Lourenço | CPF: 102.220.997-39 |
| Título do Projeto: BIODIVERSIDADE DE ECTOPARASITOS DE MORCEGOS E RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO | |
| Nome da Instituição : UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO | CNPJ: 29.427.465/0001-05 |

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 59375654



DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Bartonella* spp. EM MOSCAS STREBLIDAE E ÁCAROS MACRONYSSIDAE E SPINTURNICIDAE PARASITAS DE QUIRÓPTEROS

Resumo – Dentre os ectoparasitas encontrados em morcegos, destacam-se as moscas Streblidae e ácaros Macronyssidae e Spinturnicidae. A família Streblidae compreende um grupo monofilético de dípteros hematófagos Hippoboscoidea que parasitam morcegos. Enquanto ácaros da família Spinturnicidae são ectoparasitas exclusivos de quirópteros, aqueles da família Macronyssidae também parasitam outras espécies de mamíferos. Embora a ocorrência de *Bartonella* spp. tenha sido relatada em morcegos amostrados na Europa, África, Ásia e América Central e do Sul, poucos são os estudos acerca da ocorrência e diversidade genética de *Bartonella* spp. em moscas Hippoboscoidea e ácaros parasitas de quirópteros. O presente trabalho teve como objetivo investigar a ocorrência e traçar inferências filogenéticas de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae e ácaros de Spinturnicidae e Macronyssidae parasitas de morcegos no Brasil. Entre maio de 2011 a abril de 2012 e setembro de 2013 a dezembro de 2014, 404 moscas de Streblidae, 100 Macronyssidae e 100 ácaros de Spinturnicidae foram coletadas de duas localidades no município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, no sudeste do Brasil. Todos os 20 pools de ácaros e 202 (50%) mostraram-se positivos na PCR para o gene endógeno *cox-1* de invertebrados. Quarenta (19,8%) de 202 moscas Streblidae foram positivas para *Bartonella* spp. em ensaios de qPCR baseados no gene *nuoG*. : 6/32 (18%) *Paratrachobius longicrus*, 7/24 (29%) *Strebla guajiro*, 2/5 (40%) *Aspidoptera phyllostomatis*, 5/43 (11%) *Aspidoptera falcata*, 1/10 (10%) *Trichobius anducei*, 1/4 (25%) *Megistopoda aranea* e 18/55 (32%) *Trichobius joblingi*, coletados das seguintes espécies: *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata*, *Artibeus planirostris*, *Sturnira lilium*, *Artibeus obscurus*. Foram obtidas seis sequências para *Bartonella* (*nuoG* [n = 2], *gltA* [n = 2], *rpoB* [n = 1], *ribC* [= 1]). Nenhum dos ácaros Macronyssidae e Spinturnicidae amostrados mostrou-se positivo para *Bartonella* spp. As análises filogenéticas das sequências, suportadas pela baixa identidade pelo BLAST, sugerem a circulação de mais de um genótipo/espécie de *Bartonella* em moscas da família Streblidae no Rio de Janeiro, Brasil, os quais mostraram-se filogeneticamente próximos àqueles previamente detectados em morcegos e roedores na América, e em ruminantes na Europa. Tal fato evidenciando um possível intercâmbio de espécies de *Bartonella* entre hospedeiros vertebrados pertencentes às ordens Chiroptera, Rodentia e Artiodactyla.

Palavras-chave: Bartonelose, Filogenia, Hippoboscoidea, Morcegos, Mesostigmata, qPCR, Rio de Janeiro.

MOLECULAR DETECTION AND CHARACTERIZATION OF *Bartonella* spp. IN STREBLIDAE FLIES AND MACRONYSSIDAE AND SPINTURNICIDAE MITES PARASITES OF BATS

Abstract - Among the ectoparasites found in bats, stand out Streblidae flies and Macronyssidae and Spinturnicidae mites. The Streblidae family comprises a monophyletic group of Hippoboscoidea hematophagous dipterans that parasitize bats. While mites of the Spinturnicidae family are ectoparasites unique to chiropterans, those of the Macronyssidae family also parasitize other species of mammals. Although the occurrence of *Bartonella* spp. has been reported in bats sampled in Europe, Africa, Asia and Central and South America, there are few studies on the occurrence and genetic diversity of *Bartonella* spp. in Hippoboscoidea flies and mites parasites of bats. This study aimed to investigate the occurrence and perform phylogenetic inferences of *Bartonella* spp. in Streblidae flies and Spinturnicidae and Macronyssidae mites parasites of bats in Brazil. Between May 2011 to April 2012 and September 2013 to December 2014, 404 Streblidae flies, 100 Macronyssidae and 100 Spinturnicidae mites were collected from two locations in the district of Nova Iguaçu, state of Rio de Janeiro, in southeastern Brazil. All 20 mite pools and 202 (50%) Streblidae flies showed to be positive in PCR assays targeting *cox-1* gene. Forty (19.8%) of 202 Streblidae flies were positive for *Bartonella* spp. in qPCR assays based on the *nuoG* gene: *Paratrachobius longicrus*, 7/24 (29%) *Strebla guajiro*, 2/5 (40%) *Aspidoptera phyllostomatis*, 5/43 (11%) *Aspidoptera falcata*, 1/10 (10%) *Trichobius anducei*, 1/4 (25%) *Megistopoda aranea* and 18/55 (32%) *Trichobius joblingi*, collected from the following species: *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata*, *Artibeus planirostris*, *Sturnira lilium*, *Artibeus obscurus*. Six *Bartonella* sequences were obtained (*nuoG* [n=2], *gltA* [n=2], *rpoB* [n=1], *ribC* [n=1]). None of the sampled Macronyssidae and Spinturnicidae mites were positive for *Bartonella* spp. Phylogenetic analyzes of the sequences, supported by low BLAST identity, suggest the circulation of more than one *Bartonella* genotype/species in family Streblidae flies in Rio de Janeiro, Brazil, which were shown to be phylogenetically close to those previously detected in bats and rodents in America, and in ruminants in Europe. This fact evidences a possible interchange of *Bartonella* species among vertebrate hosts belonging to the orders Chiroptera, Rodentia and Artiodactyla.

KeyWords: Bartonellosis, Phylogeny, Hippoboscoidea, Bats, Mesostigmata, qPCR, Rio de Janeiro.

LISTA DE TABELAS

Página

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Espécies, subespécies ou espécies <i>Candidatus</i> de <i>Bartonella</i> identificadas, por métodos moleculares, em seres humanos..... | 10 |
| Tabela 2. Sequências de oligonucleotídeos iniciadores, genes e sequências térmicas utilizados nos ensaios de cPCR para detecção de <i>Bartonella</i> spp. em amostras de moscas Streblidae e ácaros Macronyssidae e Spinturnicidae coletados de morcegos no Rio de Janeiro, Brasil | 33 |
| Tabela 3. Amostras de moscas Streblidae coletadas no Estado do Rio de Janeiro positivas em ensaios de qPCR para <i>Bartonella</i> spp. baseados no gene nuoG com os respectivos parâmetros de reação..... | 48 |
| Tabela 4. Amostras de moscas Streblidae positivas para <i>Bartonella</i> spp. em ambos os ensaios qPCR e cPCR visando diferentes genes..... | 53 |
| Tabela 5. Porcentagem de identidade pelo BLAST dos amplicons de <i>Bartonella</i> spp. obtidos em moscas Streblidae coletadas de quirópteros no Estado do Rio de Janeiro..... | 54 |

LISTA DE FIGURAS

Página

| | |
|---|----|
| Figura 1. Mapa de distribuição de <i>Bartonella</i> spp. em morcegos em diversas regiões do mundo..... | 11 |
| Figura 2. Mapa de distribuição de <i>Bartonella</i> spp. em ectoparasitas de quirópteros em diversas regiões do mundo..... | 22 |
| Figura 3. Espécime de <i>Aspiroptera falcata</i> recolhida de um morcego da espécie <i>Sturnira liliium</i> . Faces dorsal (A) e ventral (B). Aumento 32x..... | 39 |
| Figura 4. Espécime de <i>Aspiroptera phyllostomatis</i> recolhida de um morcego da espécie <i>Artibeus planirostris</i> . Vista dorsal (A) e ventral (B). Aumento 32x..... | 39 |
| Figura 5. Espécime de <i>Megistopoda aranea</i> recolhida de um morcego da espécie <i>Artibeus obscurus</i> . Vista dorsal (A) e ventral (B). Aumento 32x | 39 |
| Figura 6. Espécime de <i>Megistopoda proxima</i> recolhida de um morcego da espécie <i>Sturnira liliium</i> . Vista lateral. Aumento 32x..... | 40 |
| Figura 7. Espécime de <i>Paratrichobius longicrus</i> recolhida de um morcego da espécie <i>Artibeus lituratus</i> . Vista lateral. Aumento 32x..... | 40 |
| Figura 8. Espécime de <i>Trichobius joblingi</i> recolhida de um morcego da espécie <i>Carollia perspicillata</i> . Vista dorsal (A) e ventral (B). Aumento 32x | 41 |
| Figura 9. Espécime de <i>Strebla guajiro</i> recolhida de um morcego da espécie <i>Carollia perspicillata</i> . Face ventral. Aumento 32x..... | 41 |
| Figura 10. Espécime de <i>Trichubius anducei</i> recolhida de um morcego da espécie <i>Carollia perspicillata</i> . Face ventral. Aumento 32x | 42 |
| Figura 11. Espécime de <i>Trichobius furmani</i> recolhida de um morcego da espécie <i>Desmodus rotundus</i> . Face ventral. Aumento 32x | 42 |

- Figura 12.** Espécime de *Strebla wiedemanni* recolhida de um morcego da espécie *Desmodus rotundus*. Face ventral. Aumento 32x43
- Figura 13.** Espécime de *Periglischrus ojasti* recolhida de um morcego da espécie *Artibeus lituratus*. Faces dorsal (A) e ventral (B). Aumento 56x.....43
- Figura 14.** Espécime de *Periglischrus iheringi* recolhida de um morcego da espécie *Sturnira lilium*. Faces dorsal (A) e ventral (B). Aumento 56x.....44
- Figura 15.** Espécime de *Chiroptonyssus haematophagus* recolhida de um morcego da espécie *Molossus molossus*. Face ventral. Aumento 56x44
- Figura 16.** Eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplímeros relativos à PCR para gene endógeno *cox-1*. Canaleta 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); Canaleta 2: extração de DNA de “pool” de moscas segundo protocolo Kuramae-Izioka (1997); Canaleta 3: extração de “pool” de moscas com kit; Canaleta 3: extração individual de cada espécime de mosca com kit; Canaleta 5: controle negativo (água ultra-pura esterilizada).....46
- Figura 17.** Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplímeros relativos à PCR para gene endógeno *cox-1*. Canaletas 1 e 26: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); Canaletas 2, 3, 5, 6, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 24, 25, 27, 29, 32, 35, 37, 38, 42, 43, 47, 48: amostras positivas, Canaleta 50: controle negativo (água ultra-pura esterilizada).47
- Figura 18.** Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplímeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *nuoG*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); Canaleta 2: controle positivo: cultura de *Bartonella* sp. obtida de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaletas: 3, 6, 15 e 26: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada).51

Figura 19. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *gltA*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); Canaleta 2: controle positivo: isolado de *Bartonella* sp. obtido de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaletas: 3 e 15: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada)..... 51

Figura 20. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *ribC*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); Canaleta 2: controle positivo: isolado de *Bartonella* sp. obtido de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaleta: 15: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada). 51

Figura 21. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *groEL*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); controle positivo: isolado de *Bartonella* sp. obtido de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaletas: 3, 5 e 7: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada). 52

Figura 22. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *ftsZ*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); controle positivo: isolado de *Bartonella* sp. obtido de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaletas: 13 e 15: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada). 52

Figura 23. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *rpoB*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); controle positivo: isolado de *Bartonella* sp. obtido de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaleta: 15: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada). 53

Figura 24. Análise filogenética das sequências *gltA* de *Bartonella* (1049 pb após alinhamento) com base no método de máxima verossimilhança (MV) e modelo evolutivo GTR + I + G4. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupo externo..... 58

- Figura 25.** Análise filogenética das sequências *gltA* de *Bartonella* (1049 pb após alinhamento) com base no Método de inferência bayesiana (BI) e modelo evolutivo TIM + I + G4. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupo externo.59
- Figura 26.** Análise filogenética das sequências *rpoB* de *Bartonella* (1500 pb após alinhamento) com base no método de máxima verossimilhança (MV) e modelo evolutivo GTR + I + G4. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupo externo.60
- Figura 27.** Análise filogenética das sequências *rpoB* de *Bartonella* (1500 pb após alinhamento) com base no método de inferência bayesiana e modelo evolutivo GTR + I + G4. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella melitensis* foi utilizado como grupo externo.61
- Figura 28.** Análise filogenética das sequências *ribC* de *Bartonella* (641 pb após alinhamento) com base no método de máxima verossimilhança (ML) e modelo evolutivo GTR+I+G4. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella melitensis* foi utilizados como grupo externo.62
- Figura 29.** Análise filogenética das sequências *ribC* de *Bartonella* (641 pb após alinhamento) com base no Método de inferência bayesiana (BI) e modelo TIM+I+G. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella melitencis* foi utilizados como grupo externo.63
- Figura 30.** Análise filogenética das sequências *nuoG* de *Bartonella* (450 pb após alinhamento) com base no método de máxima verossimilhança (MV) e modelo evolutivo TIM+I+G. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella melitencis* foi utilizados como grupo externo.64
- Figura 31.** Análise filogenética das sequências *nuoG* de *Bartonella* (450 pb após alinhamento) com base no Método de inferência bayesiana (BI) e modelo TIM+I+G. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella melitencis* foi utilizados como grupo externo.65

1. INTRODUÇÃO

A ordem Chiroptera é considerada o segundo maior grupo de mamíferos do mundo, compreendendo aproximadamente 20% dos mamíferos e engloba mais de 1200 espécies de morcegos presentes em todos os continentes, com exceção da Antártida (MUHLDORFER et al., 2013). No Brasil, cerca de 47% da diversidade de espécies de quirópteros é encontrada em áreas urbanas (NUNES et al., 2016).

Entre os ectoparasitas de morcegos, as moscas de Streblidae são as mais frequentemente relatadas nos Neotrópicos e associados a espécies de morcegos pertencentes às famílias Phyllostomidae e Noctilionidae (WENZEL, 2005; DICK e GETTINGER, 2005; DICK e MILLER, 2010). A família Streblidae compreende um grupo monofilético de dípteros Hippoboscoidea (PETERSEN et al., 2007; KUTTY et al., 2010; DITTMAR et al., 2015), nos quais é verificada viviparidade adenotrófica. Este grupo compreende não apenas espécies aladas, mas também braquíteras e ápteras, que são ectoparasitas hematófagos obrigatórios de morcegos (DICK e MILLER, 2010; LORD e TABACHNICK, 2015).

Ácaros da subordem Mesostigmata parasitas de quirópteros são distribuídos em quatro famílias: Macronyssidae, Laelapidae, Spelaeorhynchidae e Spinturnicidae. Enquanto as espécies pertencentes às famílias Macronyssidae e Laelapidae podem parasitar outras espécies de mamíferos além de quirópteros, aqueles pertencentes às famílias Spelaeorhynchidae e Spinturnicidae são conhecidas por parasitarem exclusivamente mamíferos da ordem Chiroptera (ALMEIDA, 2012).

Essa diferença em especificidade parasitária proporciona taxas populacionais desiguais. Neste sentido, a baixa especificidade proporciona aos ácaros das

famílias Macronyssidae e Laelapidae a vantagem de expandir sua população em diferentes hospedeiros. Em contrapartida, ácaros das famílias Spelaeorhynchidae e Spinturnicidae, devido à sua alta especificidade em parasitar morcegos, não possuem mecanismos para expandir sua população em outros hospedeiros, embora ainda sejam favorecidos por possuírem características seletivas, tornando o hábitat favorável e diminuindo a competição (WENZEL et al. 1966; ALMEIDA, 2012).

Espécies de *Bartonella* compreendem alfa-proteobactérias intracelulares facultativas Gram negativas pertencentes à ordem Rhizobiales (MORSE et al., 2012). Esses agentes reemergentes, os quais parasitam eritrócitos e células endoteliais de mamíferos, estão associados a doenças em seres humanos e animais (KOSOY et al., 2010; PITASSI et al., 2015; VIEIRA-DAMIANI et al., 2015).

A ocorrência de *Bartonella* spp. foi relatada em morcegos amostrados na Europa (CONCANNON et al., 2005; LILLEY, VEIKKOLAINEN e PULLIAINEN, 2015), África (KOSOY et al., 2010; KAMANI et al., 2014; BROOK et al., 2015; MANNERINGS et al., 2016; LEULMI et al., 2016; DIETRICH et al., 2016), Ásia (LIN et al., 2012; MCKEE et al., 2017), Américas do Sul (BAI et al., 2012; DAVOUST et al., 2016; IKEDA et al., 2017), Central (BAI et al., 2011; JUDSON, FRANK e HADLY, 2015; OLIVAL et al., 2015), e do Norte (LILLEY et al., 2017; STUCKEY et al., 2017). Já a ocorrência de *Bartonella* spp. em moscas Hippoboscoidea foi relatada em moscas Nycteribiidae na África (KAMANI et al., 2014; BROOK et al., 2015; MANNERINGS et al., 2016; LEULMI et al., 2016) e América Central (JUDSON, FRANK e HADLY, 2015). Ainda, *Bartonella* spp. foram detectada em moscas Streblidae nos Estados Unidos da América (REEVES et al., 2015), Porto

Rico, Panamá, China, Filipinas, República Dominicana, Guiana Francesa, Peru, Costa Rica, Eslovênia (MORSE et al., 2012), África do Sul e Suazilândia (DIETRICH et al., 2016). Não existem estudos até o presente momento da ocorrência de *Bartonella* spp. em ácaros parasitas de morcegos.

Ainda que quirópteros sejam considerados reservatórios de *Bartonella* spp., raros são os estudos conduzidos no Brasil no que diz respeito à epidemiologia, diversidade genética e ecologia desses patógenos e, tampouco, sobre os possíveis vetores envolvidos. Recentemente, Ikeda et al (2017) detectaram *Bartonella* spp. filogeneticamente associada a bartonelas de morcegos e roedores da América Latina em morcegos insetívoros e frugívoros amostrados nos estados do Pará, Paraná e Tocantins. Sendo assim, o atual estudo propõe verificar se *Bartonella* spp. circula entre os principais grupos de ectoparasitas (moscas Streblidae e ácaros Macronyssidae e Spinturnicidae) coletados de quirópteros amostrados no estado do Rio de Janeiro, Brasil.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ordem Chiroptera

Morcegos são mamíferos pertencentes à ordem Chiroptera, cujo nome se origina do grego *Cheir*=mão e *pteron*=asas. Esta ordem abrange mamíferos que possuem membros anteriores altamente modificados e especializados para o vôo, com alongamento ósseo e presença de membrana elástica denominada patágio (REIS et al., 2007)

A ordem Chiroptera é dividida em duas subordens: "Megachiroptera", a qual compreende raposas-voadoras em sua maioria frugívoras, e "Microchiroptera", que por sua vez compreende morcegos altamente especializados quanto à ecolocalização. A fauna de morcegos urbanos, caracterizada por 84 espécies, representa 47% da riqueza de morcegos encontrada no Brasil (NOGUEIRA et al., 2014, NUNES et al., 2016).

Cerca de 70% dos morcegos se alimentam de insetos, mas alguns tipos se alimentam regularmente de frutas, néctar ou peixes. Ainda, alguns morcegos, chamados de vampiros, são peculiarmente adaptados para a alimentação sanguínea. Este grupo de mamíferos desempenha papéis ecológicos vitais, tais como polinização de flores e dispersão de sementes de frutas. Muitas espécies de plantas tropicais dependem inteiramente de morcegos para a distribuição de suas sementes. Adicionalmente, estes mamíferos são importantes no controle de pragas de insetos, reduzindo a necessidade de pesticidas (DAVIS e DAVID, 1997).

Morcegos atuam como reservatórios de diversos patógenos, os quais são responsáveis por significantes prejuízos na pecuária e morbidade e mortalidade

humana, incluindo nematoides, protozoários, bactérias e vírus (RUPPRECHT et al., 2001; CONCANNON et al., 2005). No Reino Unido, Gardner, Molyneux e Stebbings (1987) detectaram a presença de três espécies de tripanossomas (*Trypanossoma vespertilionis*, *Trypanossoma dionisii* e *Trypanossoma incertum*), *Polychromophilus* spp. e *Babesia vesperuginis* dentre uma população de 491 morcegos de 15 diferentes espécies. No referido trabalho, os autores sugeriram a participação de percevejos da espécie *Cimex pipistrelli* na transmissão das espécies de tripanossomas acima elencadas, enfatizando a importância dos ectoparasitas no ciclo biológico desses patógenos.

Estudos ainda apontam que morcegos são os primeiros reservatórios de *Trypanossoma cruzi cruzi*, fato que é apoiado devido a descobertas de fósseis, processos de especiação e explicado pela migração desses mamíferos (TEELING et al., 2005; HAMILTON et al., 2012). Tais achados suportam a hipótese de que estes mamíferos sejam os primeiros reservatórios da doença de Chagas, sendo de grande importância para estudos epidemiológicos (RAMÍREZ et al., 2014).

2.2. Dípteros Streblidae

Moscas da família Streblidae são ectoparasitas hematófagos de morcegos, tendendo a apresentar hospedeiros específicos. Neste sentido, uma espécie de mosca normalmente parasita uma única espécie de morcego ou algumas espécies estreitamente relacionadas (WENZEL et al., 1976; DICK e PATTERSON, 2006). Entretanto, alguns membros da subfamília Nycterophiliina possuem menor especificidade, podendo parasitar indivíduos de dois ou mais gêneros diferentes (DICK, 2013).

Muitos aspectos podem influenciar a abundância e estrutura populacional desses dípteros, dentre eles fatores ligados ao hospedeiro (tamanho, comportamento e tipo de refúgio) e fatores abióticos (temperatura e umidade) (LINHARES e KOMENO, 2000; RUI e GRACIOLLI, 2005; ESBERARD et al., 2012; PATRÍCIO et al., 2016). Machos e fêmeas destes dípteros apresentam diferenças em seu ciclo de vida: enquanto machos permanecem a vida toda no corpo do hospedeiro, fêmeas deixam o hospedeiro para larviposição (OVERAL, 1980). Tal fato pode ser comprovado pela predominância de dípteros do sexo masculino encontrados em seus hospedeiros (PATRÍCIO et al., 2016).

O parasitismo por moscas Streblidae e Nycteribiidae já foi descrito em morcegos amostrados nos estados de Roraima (GRACIOLLI e LINARDI, 2002), Maranhão (DIAS et al., 2009; SANTOS et al., 2009; 2013), Mato Grosso do Sul (GRACIOLLI, CÁCERES e BORNSCHEIN 2006; ERIKSSON, GRACIOLLI e FISCHER; SILVA e GRACIOLLI, 2013), Rio de Janeiro (FRANÇA et al., 2010; LOURENÇO et al., 2014; PATRÍCIO, LOURENÇO e FAMADAS, 2016), Minas Gerais (MORAS et al., 2013), Paraná (BENEDITO e CUNHA, 2013) e Sergipe (BEZERRA, VASCONCELOS e BOCCHIGLIERI, 2016). Embora tenha sido descrita uma grande diversidade de ectoparasitas em quirópteros, até a presente data não existem estudos acerca do papel que tais artrópodes teriam nos ciclos de transmissão de agentes patogênicos entre populações de quirópteros no Brasil.

2.3. Ácaros Macronyssidae e Spinturnicidae

Os ácaros da família Macronyssidae parasitam, em sua maioria, morcegos. Entretanto, uma minoria de espécies se comporta de maneira altamente

especializada ao parasitar outros hospedeiros mamíferos, répteis e pássaros (RADOVSKY, 1966). Estes ácaros possuem uma dieta constituída por sangue e linfa, alimentando-se por longos períodos em seus hospedeiros. Posteriormente, abandonam tais hospedeiros, o que sugere que primeiramente tenham se envolvido com morcegos, e posteriormente, passaram a parasitar outros grupos de vertebrados (RADOVSKY,1967).

A família Spinturnicidae, diferentemente dos Macronyssidae, engloba ácaros exclusivamente encontrados em morcegos. Em todos os estágios de seu ciclo de vida se alimentam de sangue. Devido a este fato, os estudos sobre esses ácaros são escassos, uma vez que para estudos sobre seu ciclo de vida é necessário que o morcego seja mantido vivo (BAKER & WHARTON, 1952; ALMEIDA, 2012). Haja vista a alta especificidade a seus hospedeiros, os spinturnicídeos são classificados de acordo com caracteres morfológicos e relação parasita-hospedeiro (ALMEIDA, 2012). Adicionalmente, o parasitismo por ácaros de diversas famílias vem sendo descrito em quirópteros amostrados nos estados de Pernambuco (DANTAS-TORRES et al., 2009), Rio Grande do Sul (SILVA, GRACIOLLI e RUI, 2009), Ceará, Mato Grosso (ALMEIDA et al., 2016) e Mato Grosso do Sul (SILVA, VALIM e GRACIOLLI, 2017).

2.4. Gênero *Bartonella*

2.4.1. Taxonomia

O gênero *Bartonella* engloba bactérias Gram negativas intracelulares facultativas, as quais parasitam principalmente eritrócitos e células endoteliais, além de macrófagos, monócitos e células dendríticas (MUSSO et al., 2001;

EICHER e DEHIO, 2012). Estão distribuídas por todo o mundo, sendo transmitidas principalmente por vetores artrópodes hematófagos, como pulgas, carrapatos, mosquitos, moscas e piolhos (BREITSCHWERDT e KORDICK, 2000; CHOMEL et al., 2009). São classificadas no Filo Proteobacteria, Classe Alphaproteobacteria, Ordem Rhizobiales e Família Bartonellaceae (CHOMEL et al., 2006; PITASSI et al., 2015).

Por muito tempo, o gênero *Bartonella* era reconhecido por apresentar somente uma única espécie, conhecida como *Bartonella bacilliformis*, agente causador da doença de Carrión, observados em pacientes com Febre de Oroya e Verruga Peruana. (KUYKENDALL, 2006; MINNICK et al., 2014).

Baseando-se em estudos moleculares de sequências de DNA da subunidade 16S rRNA, Brenner et al. (1993) observaram relações filogenéticas entre *Rochalimaea quintana* e *B. bacilliformis*. Propuseram, assim, a transferência de *R. quintana*, pertencente à família Rickettsiaceae, para a família Bartonellaceae, mantendo as duas espécies no gênero *Bartonella*, o qual se mostrava como o mais antigo. Com isso, mais quatro espécies do antigo gênero *Rochalimaea* foram renomeadas como *B. quintana*, *B. vinsonii*, *B. henselae* e *B. elizabethae*.

Atualmente, 45 espécies, com algumas contendo mais de uma subespécie, e inúmeros *Candidatus* já foram descritos e isolados de seres humanos, animais domésticos e selvagens (BREITSCHWERDT et al., 2010; KAEWMONGKOL et al., 2011; ANGELAKIS e RAOULT, 2014; OKARO et al., 2017).

2.4.2. Bartoneloses

O gênero *Bartonella* spp. compreende organismos altamente adaptados a parasitar mamíferos, causando uma bacteremia intraeritrocítica de longa duração,

o que aumenta as chances de transmissão desses agentes por vetores para um novo hospedeiro susceptível (MAGGI et al., 2011; PITASSI et al., 2015).

As diversas espécies de mamíferos parasitados, domésticos e selvagens, tais como ruminantes, cães, gatos, roedores e humanos, podem atuar como reservatórios para diferentes espécies de *Bartonella* spp. (DENG et al., 2012). Tal diversidade de hospedeiros implica em desafios epidemiológicos, clínicos e de diagnóstico, tanto para a Medicina Veterinária quanto para a Medicina Humana (BREITSCHWERDT et al., 2010).

Dentre as várias espécies de *Bartonella* parasitas de seres humanos, aquelas mais frequentemente associadas às infecções são *B. henselae*, *B. quintana* e *B. bacilliformis* (ANGELAKIS e RAOULT, 2014; BISWAS e ROLAIN, 2010). Na **Tabela 1** encontram-se as espécies, subespécies ou espécies *Candidatus* de *Bartonella* identificadas por métodos moleculares em seres humanos (VIEIRA-DAMIANI et al., 2015).

Tabela 1. Espécies, subespécies ou espécies *Candidatus* de *Bartonella* identificadas, por métodos moleculares, em seres humanos.

| Espécie | Enfermidade | Referência |
|---|---|---|
| <i>B. bacilliformis</i> | Febre de Oroya, Verruga peruana | CHAMBERLI et al., 2002 |
| <i>B. quintana</i> | Angiomatose bacilar, febre das trincheiras, bacteremia | OHL & SPACH, 2000 |
| <i>B. henselae</i> | Doença da arranhadura do gato, endocardite, peliose hepática, angiomatose bacilar, bacteremia | MAGGI et al., 2013; SLATER et al., 1992 |
| <i>B. elizabethae</i> | Febre, endocardite | DALY et al., 1993 |
| <i>B. grahamii</i> | Doença da arranhadura do gato (linfadenopatia, pápulas avermelhadas, abscesso) | OKSI et al., 2013 |
| <i>B. vinsonii</i> subsp. <i>berkhoffii</i> | Endocardite, artrite, doença neurológica e hemangioendotelioma epitelióide | OLIVEIRA et al., 2010 |
| <i>B. koehlerae</i> | ansiedade, dores de cabeça, espasmos musculares, diminuição da visão periférica e alucinações | BREITSCHWERDT et al., 2011 |
| <i>B. alsatica</i> | Febre, linfadenite e endocardite | RAOULT et al., 2011 |
| <i>B. vinsonii</i> subsp. <i>arupensis</i> | Fadiga, cefaléia e mialgias | WELCH et al., 1999 |
| <i>B. washoensis</i> | Menigite | PROBERT et al., 2009 |
| <i>B. rochalimae</i> | Bacteremia, febre e esplenomegalia | EREMEEVA et al., 2007 |
| <i>B. tamiae</i> | Febre, dor de cabeça, mialgia, exantema maculopapular, exantema petequiral nos braços e pernas, alterações na função hepática | KOSOY et al., 2008 |
| <i>B. melophagi</i> * | Tosse seca, cansaço, dor muscular e arrepios graves | MAGGI et al., 2009 |
| <i>B. mayotimonensis</i> * | Endocardite | LIN et al., 2010 |
| <i>B. volans</i> | Sintomas incertos | BREITSCHWERDT et al., 2009 |
| <i>B. clarridgeiae</i> | Assintomático | VIEIRA-DAMIANI et al., 2015 |

*Espécies candidatas para o gênero *Bartonella*.

Fonte: VIEIRA-DAMIANI et al., 2015 (modificado).

2.5. *Bartonella* spp. em morcegos

A ocorrência de *Bartonella* spp. em quirópteros foi relatado em morcegos amostrados na Europa, África, Ásia e nas Américas (**Figura 1**).

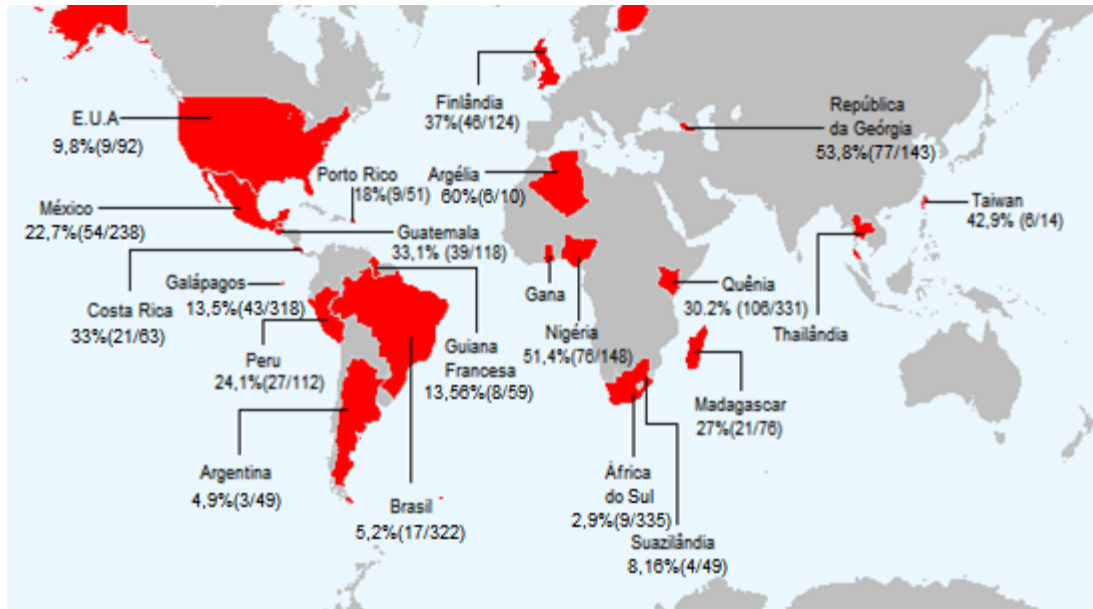


Figura 1. Mapa de distribuição de *Bartonella* spp. em morcegos em diversas regiões do mundo.

No Reino Unido, DNA de *Bartonella* spp. foi detectado em amostras de tecido cardíaco de cinco morcegos pertencentes à quatro espécies distintas, por meio de PCR baseada no gene citrato sintase (*gltA*). As sequências obtidas mostraram identidade de 92,6 a 97,5% entre elas; já quando comparadas com sequências depositadas no Genbank, apresentaram identidade de 94,1% com *Bartonella vinsonii*. Na inferência filogenética pela análise de Máxima Verossimilhança, quatro das cinco sequências foram posicionadas em um clado único, enquanto uma posicionou-se isoladamente. As 5 sequências foram distintas de todas as espécies de *Bartonella* spp. previamente descritas (CONCANNON et al., 2005).

No Quênia, DNA de *Bartonella* spp. foi detectado em 26,1% de morcegos da espécie *Eidolon helvum*, 21% de *Roussetos aegyptiacus*, 44,4% de *Coleura afra*, 87,5% de *Triaenops persicus*, 25% de *Hipposideros commersoni*, e 56,3% de *Miniopterus* spp. (KOSOY et al., 2010). A análise pelo método de *Neighbor-joining* apresentou a formação de 11 clados distintos. Todas as sequências de *Bartonella* spp. obtidas de *R. aegyptiacus* foram semelhantes entre si, e distantes de todas as outras encontradas em morcegos e descritas na literatura, formando um clado único. Todos os quatro genótipos encontrados em *C. afra* apresentaram 98,2 a 99,7% de identidade entre si, formando também um clado único. A sequências encontradas em *T. persicus*, assim como as anteriores, formaram entre si um grupo monofilético. Entre as 16 sequências de *Bartonella* spp. detectadas em *E. helvum*, verificou-se uma identidade variando de 78,6 a 100% entre si, formando então quatro clados distintos. Já a única sequência obtida de *H. commersoni* posicionou-se isoladamente das demais. A relação mais complexa foi aquela observada entre genótipos de *Bartonella* spp. detectados em morcegos do gênero *Miniopterus*. No total, 51 sequências foram obtidas a partir de três espécies de *Miniopterus* (*M. africanus*, *M. minor* e *M. natalensis*) e *Miniopterus* spp. não identificados ao nível da espécie. Dessas amostras de morcegos, foram obtidas 24 sequências distintas, formando 3 clados diferentes.

Na Guatemala, Bai et al. (2011), ao amostrarem 118 morcegos, encontraram 41 (34,75%) positivos para o agente em questão, por meio da técnica de PCR convencional baseada no gene *gltA*. Verificou-se uma ocorrência de 88% (8/9) em *Phyllostomus discolor*, 70% (7/10) em *Phyllostomus davayi*, 48,4% (15/31) em *Desmodus rotundus*, 8,3% (1/12) em *Sturnira lilium* e 13,3 (2/15) em *Glossophagae*

formasoricina. Pelo método de *Neighbor-joining* foi possível identificar 21 genótipos, agrupados em 13 clados distintos. Mais especificamente em três clados, sequências de *Bartonella* spp. obtidas de diferentes espécies de morcegos foram agrupadas, sugerindo então que espécies diferentes de morcegos compartilhem de alguma forma genótipos de *Bartonella* filogeneticamente próximos.

Em Taiwan, Lin et al. (2012) investigaram a ocorrência de *Bartonella* spp. em morcegos, roedores e musaranhos. Apenas uma (*Miniopterus schreibersii*) dentre quatro espécies de morcegos mostrou-se positiva para *Bartonella* spp., com uma frequência de positividade de 6/14 (42,9%). Pela análise filogenética para o gene *gltA* baseada no método de Máxima Verossimilhança, verificou-se que as sequências obtidas de morcegos foram agrupadas em um grupo monofilético, e separado das sequências descritas anteriormente. Tal posicionamento filogenético foi corroborado com análises filogenéticas concatenada para os genes *gltA*, *ftsZ*, *rpoB*, *ribC* e 16S rRNA.

No Peru, nas regiões de Santa Marta e Truenococha, foi encontrada uma prevalência de 24,1% para *Bartonella* spp. em uma população abrangendo 11 diferentes espécies de morcegos, por meio do isolamento a partir de amostras de sangue: 10% (1/10) em *Artibeus obscurus*; 12,5% (2/16) em *Artibeus planirostris*; 100% (2/2) em *Carollia brevicauda*; 13,8% (4/29) em *Carollia perspicillata*; 55,6% (10/18) em *Desmodus rotundus*; 50% (1/2) em *Glossophaga soricina*; 16,7 (1/6) em *Myotis* spp.; 100% (2/2) em *Phyllostomus discolor*; 50% (1/2) em *Phyllostomus hastatus*; 100% (1/1) em *Sturnira liliium*; e 66,7% (2/3) em *Vampyriscus bidens* (BAI et al., 2012). Pela análise pelo método de *Neighbor-joining* foram identificadas 21 sequências para o gene *gltA*, sendo 13 diferentes dos descritos anteriormente,

formando 5 clados distintos. As outras oito sequências foram agrupadas com sequências descritas em morcegos *Desmodus rotundus* na Guatemala.

Na Nigéria, Kamani et al. (2014) amostraram 148 morcegos e 34 moscas da família Nycteribiidae, a fim de determinar a ocorrência de DNA de *Bartonella* spp. Foi detectado em 76 das 148 amostras de sangue de morcegos (51,4%) e em 10 de 24 moscas coletadas (41,7%). A análise filogenética para o gene *gltA* pelo método de Máxima Verossimilhança identificou três grupos distintos, os quais mostraram-se próximos a outros genótipos de *Bartonella* descritas anteriormente em morcegos e ectoparasitas amostrados no Quênia e em Gana.

Em Porto Rico, Olival et al. (2015) detectaram quatro genótipos distintos de *Bartonella* spp. em quirópteros da espécie *Moniphyllus redmani* e em *Trichobius* spp. um ectoparasita (Diptera, Streblidae), comumente encontrado em espécies de morcegos. A análise filogenética para o gene *gltA* pela inferência bayesiana permitiu a identificação de seis genótipos diferentes. Maior diversidade genética foi verificada entre sequências de *Bartonella* spp. detectadas em morcegos da espécie *M. redmani*, com quatro genótipos distintos. Um desses genótipos foi detectado em moscas *Trichobius* sp.. Os autores sugerem que a carga de ectoparasitas e a especificidade do vetor para um indivíduo podem influenciar na diversidade de bartonelas, assim como na prevalência destas entre as espécies de morcegos.

No arquipélago do sudeste da Finlândia foram capturados 124 morcegos da espécie *Myotis daubentonii*. No total, 37% mostraram-se positivos na PCR para *Bartonella* baseada no gene *rpoB* (LILLEY, VEIKKOLAINEN e PULLIAINEN, 2015). A análise filogenética pelo método de Máxima Verossimilhança para os genes *rpoB*

e *gltA* concatenados posicionou as sequências obtidas próximo a *B. tamiae* e *B. bacilliformis*, descritas como espécies ancestrais, indicando uma possível nova espécie denominada '*Candidatus Bartonella hemsundetiensis*'.

Na Costa Rica, DNA de *Bartonella* foi detectado em 13 (60%) de 22 espécies de morcegos, das quais oito eram espécies neotropicais para as quais não havia sido relatada infecção por *Bartonella* spp. (*Micronycteris microtus*, *Carollia sowelli*, *Artibeus lituratus*, *Artibeus jamaicensis*, *Platyrrhinus vittatus*, *Vampyressa tione*, *Anoura geoffroyi* e *Sturnira mordax*). Em suma, 33,3% dos 63 morcegos amostradas no sul da Costa Rica mostraram-se positivos para *Bartonella* spp.. A análise filogenética pelo Inferência Bayesiana agrupou as sequências de *Bartonella* em cinco clados diferentes, onde apenas uma das variantes foi posicionada com uma sequência de *Bartonella* sp. detectada em morcego na Guatemala e em moscas na América Latina (JUDSON et al. (2015).

Na Argélia, Leulmi et al. (2016) detectaram DNA de *B. tamiae* em 60% (6/10) de moscas da família Nycteribiidae e em 60% (6/10) de amostras de baço de morcegos do gênero *Chiroptera* spp..

Na Guiana Francesa, foram amostrados 59 morcegos nas áreas de Saint-Jean-du-Maroni e Malmanoury, a oeste de Caiena. Detectou-se DNA de *Bartonella* sp. em amostras de sangue de oito morcegos (cinco da espécie *Pteronotus parnellii*, dois da espécie *Noctilio albiventris* e um da espécie *Eumops auripendulus*). O cultivo permitiu o isolamento de *Bartonella* spp. de dois morcegos, sendo um da espécie *N. albiventris* e um *P. parnellii*. Com base na proposta de La Scola et al. (2003) para análise de sequência multilocus com base em quatro genes (16S rRNA, *gltA*, *ftsZ* e *rpoB*) e um espaçador intergênico (ITS), os autores

supracitados sugeriram que esse genótipo possa representar uma nova espécie de *Bartonella* circulante (DAVOUST et al., 2016).

Em Gana, Mannerings et al. (2016) testaram 335 amostras de soro de voluntários humanos da região de Acra quanto à presença de anticorpos anti-*Bartonella* spp. Esses indivíduos relataram contato com quirópteros da espécie *Eidolon helvum*. Adicionalmente, foram amostrados 70 animais domésticos (cinco gatos, 23 galinhas, sete bovinos, seis cães, 21 caprinos e oito ovinos) que habitavam locais próximos à colônias de quirópteros. As amostras de sangue foram submetidas à cultura, PCR, e Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Para esta última foram utilizados antígenos de *B. henselae*, *B. quintana*, *B. clarridgeiae*, *B. vinsonii vinsonii*, *B. elizabethae*, e *Bartonella* strain E1–105. Todas as culturas mostraram-se negativas. Pela PCR foi encontrada apenas uma amostra de sangue de humano positiva para *B. clarridgeiae* e uma amostra de sangue de gato positiva para *B. henselae*. Nos ensaios de RIFI, três amostras de soro de humanos mostraram-se reativas para *B. henselae* e cinco para *B. quintana*. Os autores sugerem que devido ao fato de não encontrarem qualquer evidência de exposição humana à *Bartonella* spp. associadas a morcegos sugere-se que as espécies isoladas de morcegos da espécie *E. helvum* nunca ou raramente infectam humanos em Gana. Segundo os autores, moscas da família Nycteribiidae poderiam atuar como vetores na transmissão de *Bartonella* spp. entre morcegos, porém devido ao fato de possuírem alta especificidade por estes hospedeiros, a taxa de transmissão de *Bartonella* spp. de quirópteros para outros animais seria baixa.

Dietrich et al. (2016) pesquisaram a presença de *Bartonella* em amostras de sangue de 384 morcegos pertencentes a 29 espécies na África do Sul e Suazilândia, por meio de métodos moleculares. DNA de *Bartonella* foi detectado em 13 amostras de sangue de quatro espécies de morcegos: *Miniopterus natalensis*, *Nycteris thebaica*, *Epomophorus wahlbergi* e *Rousettus aegyptiacus*. As análises filogenéticas mostraram dois clados distintos. Os genótipos de *Bartonella* detectados de *N. thebaica* e *M. natalensis* foram agrupados com *B. grahamii*, enquanto aqueles detectados em *R. aegyptiacus* formaram um clado distinto e único com suporte de clado de 100%

Reeves et al. (2016) amostraram um total de 318 amostras de morcegos (127 *Artibeus jamaicensis*, 99 *Molossus molossus*, 57 *Ardops nichollsi* e 35 *Brachyphylla cavernarum*) na Ilha de São Cristovão, em Galápagos, objetivando a detecção de *Bartonella* spp. com base em ensaios de PCR baseados no gene *gltA* a partir de amostras de sangue total e cultura. Foi observada positividade para *Bartonella* spp. em 19 amostras (18 de sangue total e uma de cultura) de morcegos da espécie *A. jamaicensis*, em cinco amostras de sangue de morcegos da espécie *A. nichollsi*, e em 19 amostras (18 de sangue e uma de cultura) de morcegos da espécie *B. cavernarum*. As sequências de *Bartonella* spp. detectadas em morcegos da espécie *A. jamaicensis* mostraram 99% de identidade com *B. vinsonii* subsp. *arupensis*. Já as sequências de *Bartonella* spp. detectadas em *B. cavernarum* mostraram identidade de 89% com *B. henselae*. Por último, as sequências de *Bartonella* spp. detectadas em *A. nichollsi* mostraram-se 100% idênticas com aquelas detectadas em morcegos de Porto Rico e Costa Rica.

Han et al. (2017) amostraram 107 morcegos de cinco espécies diferentes no município de Mengyin, província de Shandong, na China, a fim de investigar a ocorrência de *Bartonella* spp., por meio de ensaios de PCR baseados no gene *gltA*. Cerca de 25,2% (27/107) dos morcegos mostraram-se positivos para *Bartonella* spp., com ocorrência de 33,3% (1/3) em *Rhinolophus ferrumequinum*; 20,0% (2/10) em *Rhinolophus pusillus*; 0% (0/15) em *Eptesicus serotinus*; 56,3% (9/16) em *Myotis fimbriatus*; 20,0% (1/5) em *Myotis ricketti*; e 24,1% (14/58) em *Myotis pequinus*. A análise filogenética pelo método de *Neighbor-Joining* posicionou as sequências em 10 filogrupos diferentes; sete desses filogrupos continha sequências detectadas em apenas uma espécie de morcego; já os outros três filogrupos agrupavam sequências de *Bartonella* spp. detectadas em várias espécies de morcegos.

Na República da Geórgia, foram testadas 218 amostras de rins de morcegos no que diz respeito à ocorrência de DNA de *Bartonella* spp., por meio de ensaios de PCR convencional baseados na região intergênica (ITS). Trinta e cinco por cento das amostras de rim de morcegos mostrou-se positiva para *Bartonella* spp.. Todas as oito espécies de morcegos amostradas, com exceção de *Myotis mystacinus*, mostraram positividade para pelo menos um indivíduo. A ocorrência foi de 6% (1/17) em *Eptesicus serotinus*; 48% (13/27) em *Miniopterus schreibersii*; 38% (26/38) em *Myotis blythii*; 29% (12/42) em *Myotis emarginatus*; 9% (1/11) em *Pipistrellus pygmaeus*; 43% (12/28) em *Rhinolophus euryale*; 50% (12/24) em *Rhinolophus ferrumequinum* (BAI et al., 2017). A análise pelo método de *neighbor-joining* baseada na região ITS identificou 25 variantes genéticas. Apenas algumas dessas variantes mostraram-se relativamente próximas entre si, enquanto a

maioria das sequências posicionou-se distantemente umas das outras. No total, obtiveram-se de 21 clados, demonstrando uma heterogeneidade considerável de *Bartonella* spp. nessas espécies de morcegos.

Nos Estados Unidos, Lilley et al. (2017) propuseram investigar a prevalência e diversidade de *Bartonella* spp. em morcegos. Para tal, foram capturados 73 *Myotis lucifugus* e 19 *M. grisescens* nos estados de Kentucky, Michigan, Pensilvânia e Tennessee. As amostras foram submetidas a uma análise de sequência multilocus (*gltA*, *rpoB* e espaçadores intergênicos [ITS]). Nove amostras (9,8%) mostraram-se positivas na PCR para o gene *gltA*. Três sequências mostraram identidade de 99,7-100% com ‘*Candidatus Bartonella mayotimonensis*’ previamente detectado em um paciente humano com endocardite em Iowa, EUA. A análise das sequências *rpoB* e ITS mostrou que uma amostra de *Bartonella* sp. obtida de *Myotis lucifugus* da Península Superior de Michigan apresentava 100% de identidade com ‘*Candidatus Bartonella mayotimonensis*’. Com isso, os autores sugeriram que os morcegos poderiam atuar como possíveis reservatórios de ‘*Candidatus Bartonella mayotimonensis*’ na América do Norte (VEIKKOLAINEN et al., 2014).

Stukey et al. (2017) submeteram amostras de tecido cardíaco de morcegos capturados na França e Espanha a ensaios de PCR convencional para *Bartonella* spp. baseados no gene *gltA*. Das 135 amostras testadas, 12 (8,9%) mostraram-se positivas para *Bartonella* spp., das quais 11 (10%) dos 109 morcegos insetívoros da França e um (3,8%) dos 26 morcegos da Espanha. Todos os genótipos de *Bartonella* detectados foram intimamente relacionadas com *Bartonella* spp. detectada em morcegos na Finlândia e Reino Unido, e à *B. mayotimonensis*,

agente associado à casos de endocardite humana nos Estados Unidos (VEIKKOLAINEN et al., 2014).

Na Argentina, a partir de uma população de 61 morcegos da espécie *Tadarida brasiliensis* capturados em áreas urbanas da cidade de Buenos Aires, Cicuttin et al. (2017) encontraram três amostras teciduais de morcegos (4,9%) positivas para *Bartonella* spp. com base em ensaios de nested PCR baseados no gene 16S rRNA. Uma sequência do gene *gltA* mostrou 100% de identidade com *Bartonella* spp. previamente detectadas em morcegos *Myotis daubentonii* na Finlândia e em morcegos *Noctilio albiventris* da Guiana Francesa, bem como para vários genótipos de *Bartonella* sp. detectados em roedores da África e do Japão. Já as sequências *gltA* de *Bartonella* spp. obtidas mostrará, 100% de identidade entre si e 91,5% com *Bartonella* sp. detectada em *Nyctalus noctula* do Reino Unido, 90,8% com *Bartonella* sp. de *Eptesicus nilssoni* da Finlândia, *Myotis mystacinus* do Reino Unido, 89,7% com *Bartonella* sp. de *Pipistrellus* sp. do Reino Unido e 89,2% com *Bartonella* sp. de *Miniopterus* sp. do Quênia. A análise filogenética pelo método de Máxima Verossimilhança posicionou a sequência de *Bartonella* sp. detectada em *Tadarida brasiliensis* próxima àquelas encontradas em morcegos da família Vespertilionidae, família filogeneticamente relacionada a família Molossidae. Este resultado sugere uma convergência entre as espécies de morcegos em relação às espécies de *Bartonella*.

No Brasil, Ikeda et al. (2017) coletaram um total de 122 amostras de tecido hepático, 107 amostras de tecido de baço, 56 amostras de tecido cardíaco e 40 amostras de sangue de 162 morcegos em diferentes estados do Brasil. Dezesete (5,2%) das 322 amostras mostraram-se positivas para *Bartonella* spp. nos ensaios

qPCR baseados no gene *nuoG*, incluindo quatro amostras teciduais coletadas de três morcegos da espécie *Sturnira lilium* do estado do Paraná, seis (das espécies *Phyllostomus hastatus* [n=1], *Carollia perspicillata* [n =4] e *Natalus espirosantensis* [n=1] amostras de morcegos do estado do Pará; e sete (das espécies *C. perspicillata* [n = 2] e *Glossophaga soricina* [n = 5]) do estado de Tocantins. A análise filogenética pela Inferência Bayesiana agrupou as sequências detectadas em morcegos no Brasil com genótipos previamente detectados em morcegos amostrados em países da América Latina.

No México, Stuckey et al. (2017) capturam 238 morcegos pertencentes a sete gêneros em cinco estados do México Central e na Península de Yucatán. Para detecção de *Bartonella* spp., utilizou-se cultura bacteriana de amostras de sangue total em meio BHI (“Brain Heart Infusion”) e/ou PCR a partir de amostras de tecido cardíaco ou sangue. *Bartonella* spp. foram isoladas ou detectadas em 54 (22,7%) morcegos, dos quais 41 (38%) eram hematófagos, 10 (16,4%) insetívoros e três (4,3%) fitófagos. Este estudo também identificou morcegos da espécie *Balantiopteryx plicata* como possíveis reservatórios de *Bartonella* spp.. A análise filogenética identificou diversos genótipos de *Bartonella* spp. nos morcegos amostrados, os quais mostraram-se diferentes das sequências previamente descritas. Os genótipos detectados mostraram-se intimamente relacionados a sequências de *Bartonella* spp. detectadas em espécies de morcegos na América Latina.

Mais recentemente, na Tailândia, Mckee et al. (2017) realizaram a caracterização molecular de 42 culturas de *Bartonella* spp. obtidas de amostras teciduais de morcegos originados de quatro províncias tailandesas: Chiang Rai

(norte), Kamphaeng Phet (oeste), Khon Kaen (nordeste), e Sa Kaeo (leste). Foram identificados sete novos grupos de genótipos diferentes de *Bartonella* em cinco espécies de morcegos utilizando sequências obtidas a partir de 17 *Chaerephon plicatus*, três *Hipposideros* sp., 12 *Hipposideros larvatus*, quatro *Hipposideros armiger* e um *Taphozous melanopogon*. Neste sentido, os grupos chamados de H1 a H3 foram encontrados em morcegos da espécie *Hipposideros armiger*, *Hipposideros larvatus* e *Hipposideros fulvus*. Os grupos Cp1 a Cp3 foram encontrados em morcegos da espécie *Chaerephon plicatus* e o grupo Tm foi encontrado em morcegos *Taphozous melanopogon* (MCKEE et al., 2017).

2.6. *Bartonella* spp. em ectoparasitas de morcegos

Embora poucos sejam os relatos da ocorrência de *Bartonella* spp. em ectoparasitas de quirópteros, a detecção e diversidade destes agentes já foi descrita em moscas da família Nycteribiidae e Streblidae em países de todos os continentes, exceto Oceania, a saber: Estados Unidos da América, Costa Rica, Peru, República Dominicana, Eslovênia, Argélia, Gana, Nigéria, África do Sul, Suazilândia, Madagascar, China e Filipinas (**Figura 2**).

Figura 2. Mapa de distribuição de *Bartonella* spp. em ectoparasitas de quirópteros em diversas regiões do mundo.

Morse et al. (2012) realizaram um estudo de distribuição global e diversidade genética de *Bartonella* spp. em ectoparasitas de morcegos, utilizando 19 espécies de moscas das famílias Streblidae e Nycteribiidae coletados em 20 espécies de morcegos. Espécimes de moscas foram coletados entre 2003 e 2011 em 14 países diferentes de três continentes: China, Costa Rica, República Dominicana, Guiana Francesa, Gana, Laos, Malásia, México, Panamá, Peru, Filipinas, Porto Rico, Eslovênia e o Estados Unidos da América (Oklahoma e Virgínia). As amostras foram submetidas a ensaios de PCR baseados nos genes *gltA* e 16SrRNA. *Bartonella* spp. foram detectadas em moscas coletadas de morcegos em Porto Rico, Panamá, China, Filipinas, República Dominicana, Guiana Francesa, México, Peru. O referido estudo descreveu 26 novos genótipos de *Bartonella*. Além disso, essa grande diversidade de genótipos de *Bartonella* encontrados em moscas de morcegos sugere que esses ectoparasitas tenham um papel importante como reservatórios.

Nos Estados Unidos, Reeves et al. (2005) coletaram dípteros das famílias Nycteribiidae (espécie *Basilisa boardmani*) e Streblidae (espécie *Trichobius major*) de morcegos *Myotis austroriparius*, e submeteram tais ectoparasitas à PCR convencional para *Bartonella* spp. baseada na região intergênica ITS e o gene *groEL*. DNA de *Bartonella* foi detectado em duas moscas de um único morcego, uma da espécie *Trichobius major*, e em um (7,17%) de 14 testados da espécie *Cimex adjunctus* baseada na região intergênica ITS. Apenas uma sequência de DNA para o gene *groEL* de *Bartonella* spp. obteve qualidade para ser sequenciada, esta sequência pertencia a uma amostra de *Bartonella* sp. detectada em uma das moscas da espécie *T. major* e quando comparada com sequências previamente depositadas, foi obtido 91% de identidade com *Bartonella* sp. detectada em um esquilo da espécie *Sciurus carolinensis*.

Em Gana e em duas ilhas do Golfo da Guiné, 137 moscas adultas da espécie *Cyclopodia greffi greffi* e pertencentes à família Nycteribiidae foram coletadas de morcegos da espécie *Eidolon helvum*. Embora apenas um único isolado tenha sido obtido por cultura em ágar “Brain Heart Infusion” (BHI), devido ao crescimento excessivo de contaminantes, ensaios de PCR detectaram 91 (66,4%) amostras positivas. Foram encontradas 26 (56,5%) amostras positivas em Gana, 23 (71,9%) na Ilha Annobón e 42 (71,2%) na Ilha Bioko. Na análise filogenética pelo método de *Neighbor-joining* foram encontrados 39 genótipos diferentes de *Bartonella* spp. com base em sequências do gene *gltA*. Os referidos genótipos de *Bartonella* sp. detectados em moscas mostraram identidade (71,4 a 100%) com aqueles previamente descritos em morcegos da espécie *E. helvum* (BILLETER et al., 2012).

Na Nigéria, 34 moscas da família Nycteribiidae foram coletadas de morcegos e examinadas quanto à presença de DNA de *Bartonella* spp., por meio de ensaios de PCR em tempo real baseados nos genes *rpoB* e região intergênica do 16S-23S (ITS). Todas as espécies de moscas de morcegos foram identificadas como *Cyclopodia greefii*. DNA de *Bartonella* sp. foi detectado em 10 (41,7%) e 7 (29,2%) dos ectoparasitos com base em ensaios de qPCR baseados na região intergênica 16S-23S e no *rpoB*, respectivamente. A análise filogenética pelo método de Máxima Verossimilhança das sequências do gene *gltA* identificou três grupos distintos juntamente com outras variantes de *Bartonella* sp. anteriormente descritas em morcegos e ectoparasitas no Quênia e Gana, além de um “cluster” filogeneticamente próximo de *B. washoensis* (KAMANI et al., 2014).

Em Madagascar, Brook et al. (2015) coletaram ectoparasitas e colheram amostras de sangue de morcegos frugívoros das espécies *Eidolon dupreanum* e *Pteropus rufus*, amostrados em duas cavernas (Angavobe e Angavokely). Foi detectado DNA de *Bartonella* em 44% (21/47) dos morcegos da espécie *E. dupreanum* e 89% (17/19) das moscas da espécie *Cyclopodia dubia*. Genótipos de *Bartonella* spp. detectados nas moscas formaram quatro clados distintos, posicionando as mesmas proximamente a sequências previamente detectadas em linhagens de *Bartonella ratimassiliensis*, *Bartonella tribocorum*, *Bartonella queenlandensis*, *Bartonella bacilliformis*, *Bartonella henselae*. Adicionalmente, verificou-se a formação de um clado único entre algumas sequências de *Bartonella* spp. detectadas em espécimes de *E. dupreanum* e em moscas da espécie *C. dubia*, sugerindo a presença de um novo genótipo de *Bartonella* sp. circulando entre esses morcegos e ectoparasitas.

Na Costa Rica, Judson et al. (2015) realizaram um estudo para detecção de DNA de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae e Nycteribiidae coletadas de quirópteros. DNA de *Bartonella* spp. foi detectado em 15 (65%) das 23 espécies de moscas estudadas. No total, 52,7% (29/55) dos dípteros amostrados mostraram-se positivos na PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *gltA*. Pela Inferência Bayesiana, os quatro genótipos de *Bartonella* spp. detectados nas moscas foram posicionados proxivamente a bartonelas detectadas em morcegos na Guatemala. Ainda, dois outros genótipos de *Bartonella* identificados no referido estudo mostraram-se intimamente relacionados com *B. washoensis* detectada em roedores, formando um clado único.

Na Algéria, foram coletados carrapatos (*Ixodes vespertillionis*), pulgas (*Ischnopsyllus intermedius*) e moscas Nycteribiidae de dez morcegos não identificados. O DNA foi extraído desses ectoparasitas e, em seguida, foi submetido a ensaios de qPCR para *Bartonella* baseados na região intergênica 16S-23S rRNA. Doze (63,2%) *Ixodes vespertillionis* e oito (72,7%) moscas Nycteribiidae mostraram-se positivos para *Bartonella* spp. Todas as sequências compartilharam 100% de identidade com *B. tamiae* (LEULMI et al., 2016).

Dietrich et al. (2016) pesquisaram a presença de *Bartonella* sp. em 14 ectoparasitas hematófagos coletados de diferentes morcegos frugívoros da espécie *Rousettus aegyptiacus* em Mahune. Cinco (35,71%) moscas Nycteribiidae e uma espécie não identificada mostraram-se positivas para *Bartonella* spp., as quais apresentaram proximidade filogenética com *Bartonella grahamii* e *Bartonella elizabethae*.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

O presente estudo tem como objetivo investigar a ocorrência por métodos moleculares e traçar inferências filogenéticas acerca de *Bartonella* spp. em ectoparasitas (moscas Streblidae e ácaros Macronyssidae e Spinturnicidae) de morcegos amostrados em Nova Iguaçu, Rio de Janeiro.

Objetivos Específicos

- Investigar a presença e quantificar o DNA de *Bartonella* sp. em espécimes de ectoparasitas de quirópteros amostrados no Rio de Janeiro, por meio da PCR em tempo real quantitativa (qPCR) baseada no gene *nuoG*;
- Caracterizar molecularmente as amostras de DNA de *Bartonella* sp. obtidas por meio de ensaios de PCR convencional baseados na região ITS e nos genes *rpoB*, *gltA*, *ribC*, *pap-31*, *groEL*, *ftsZ* e *nuoG*;
- Posicionar as sequências amplificadas em um contexto de parentesco evolutivo, por meio da construção de árvores filogenéticas.

4. Material e Métodos

4.1. Área de estudo, captura e colheita dos ectoparasitas

Durante o período de Maio/2011 a Abril/2012, morcegos foram capturados na Reserva Biológica de Tinguá (22° 34' 57.4" S; 043° 26' 15.9" O) e em duas áreas circunvizinhas (22° 35' 16.53" S; 043° 24' 13.86" O e 22° 36' 50.69" S; 043° 24' 47.17"O), localizadas na região nordeste do município de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro. Os morcegos foram capturados com o auxílio de redes-neblina (12 x 3 m com malha de 20 mm), totalizando 36 noites de captura. Entre setembro/2013 e dezembro/2014, dez amostragens foram realizadas em refúgios de morcegos em oco de sibipuruna (*Caesalpinia pluviosa* Benth.) (22°35'27.91"S e 43°24'54.19"O) na Praça Barão de Tinguá, com o auxílio de redes-neblina instaladas na saída dos morcegos. As moscas e ácaros foram retiradas dos morcegos com auxílio de pinça e acondicionados em microtubos contendo etanol 100%. Os ectoparasitas foram colhidos sob licença do SISBIO/ ICMBio, número 28064-2 (LOURENÇO et al., 2014). A amostragem e identificação de morcegos e ectoparasitas foram realizadas pelas pesquisadoras Prof^a. Dr^a. Kátia M. Famadas e Dr^a Elizabete Captivo Lourenço, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, Rio de Janeiro.

4.2. Identificação dos morcegos e ectoparasitas hematófagos

Os morcegos foram identificados segundo as chaves de Gardner (2007) e Dias e Peracchi (2008). As moscas foram identificadas com auxílio de esteromicroscópio, usando chaves dicotômicas previamente descritas (WENZEL et al., 1966; WENZEL, 1976; GUERRERO, 1994, 1995, 1996, 1998; GRACIOLLI e

CARVALHO, 2001; MILLER e TSCHAPKA, 2001). A nomenclatura seguiu Dick & Graciolli (2006) para Streblidae e Gardner (2007) para morcegos, exceto para *Dermanura*, o qual foi elevado ao *status* de gênero (REDONDO et al., 2008; SOLARI et al., 2009). Um indivíduo adulto fêmea ou macho de cada exemplar de Spinturnicidae foi selecionado sob microscópio estereoscópico das amostras com dois ou mais exemplares para as análises moleculares. Os demais espécimes foram clarificados em ácido láctico 90% em lâminas escavadas e aquecidas em placas aquecedoras. O material foi inspecionado periodicamente e permaneceu neste meio até que a diafanização possibilitasse a visualização das estruturas necessárias à identificação. O material foi montado entre lâmina e lamínula com meio de Hoyer. A identificação se deu com auxílio de microscópio de luz, utilizando chaves de identificação e descrições (MACHADO-ALLISON, 1965; FURMAN, 1966; HERRIN & TIPTON, 1975).

4.3. Extração de DNA dos exemplares de ectoparasitas

Inicialmente, foi realizado teste de extração de DNA utilizando um “pool” com quatro moscas da espécie *Strebla wiedemanni*, segundo protocolo de Kuramae-Izioka (1997), com modificações nas condições de centrifugação, sendo as amostras centrifugadas a 12.000 x g. Adicionalmente, foi realizada extração de DNA das moscas Streblidae individualmente, e para os ácaros, tanto da família Macronyssidae quanto para família Spinturnicidae, foram feitos “pools” a cada 10 amostras, todos com Illustra Blood Genomic Prep Mini Spin Kit (GE Healthcare Life Sciences®), de acordo com as recomendações do fabricante, a fim de determinar o melhor método para extração. Após extração, as amostras de DNA tiveram suas

concentrações e relações 260/280 mensuradas em aparelho espectrofotômetro (Nanodrop®, Thermo Scientific) e armazenadas a -20°C para posterior realização dos ensaios da PCR.

4.4. Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR)

4.4.1. PCR convencional (cPCR) para o gene endógeno *cox-1* de moscas *Streblidae* e ácaros *Macronyssidae* e *Spinturnicidae*

A fim de verificar a presença de inibidores nas amostras de DNA extraídas, foram realizados ensaios de cPCR para o gene codificador da subunidade 1 da proteína do citocromo-c (*cox-1*) para invertebrados (fragmento de 710pb). Para tal, foram utilizados os oligonucleotídeos iniciadores LCO1490 (5' -GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3') e HC02198 (5' -TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3') (FOLMER et al., 1994), contendo uma mistura de 5 µL do DNA-amostra, 0,2 mM de cada deoxinucleotídeo, 0,4 µM de cada oligonucleotídeo iniciador, 3,0 mM de Cloreto de Magnésio, 1,25 U de Taq Platinum DNA Polimerase (Life Technologies®, Carlsbad, Califórnia, Estados Unidos), tampão da PCR e água ultra-pura esterilizada q.s.p. A sequência térmica e de tempo de amplificação foram de: desnaturação inicial a 95°C por 1 minutos, 35 ciclos compostos por desnaturação a 95°C por 15 segundos, anelamento a 55°C por 15 segundos e extensão a 72°C por 10 segundos, e extensão final a 72°C por 5 minutos.

4.4.2. Reações de Amplificação para *Bartonella* spp.

As amostras de DNA positivas para o gene *cox-1* foram submetidas à uma qPCR *Bartonella* spp. baseada no gene *nuoG*, utilizando-se os oligonucleotídeos

iniciadores (Integrated DNA Technologies®, Coralville, Iowa, Estados Unidos) F (5'-CAATCTTCTTTTGCTTCACC-3') e R (5'-TCAGGGCTTTATGTGAATAC-3') e a sonda de hidrólise TaqMan (TexasRed-5'-TTYGTCATTTGAACACG-3'[BHQ2a-Q]3') (ANDRÉ et al., 2015). Os ensaios de amplificação foram realizados em duplicata utilizando uma reação de volume total final de 10 µL, contendo uma mistura de 1 µL do DNA-amostra, 0,6 µM de cada oligonucleotídeo iniciador e sonda de hidrólise, tampão da PCR 2x (GoTaq® qPCR Master Mix, Promega®, Madison, Wisconsin, Estados Unidos) e água ultrapura esterilizada (Nuclease-Free Water, Promega®, Madison, Wisconsin, Estados Unidos) q.s.p. 10 µL. As sequências térmicas e de tempo de amplificação foram de: 95°C por 3 minutos seguidos por 40 ciclos compostos por 95°C por 10 segundos e 52,8°C por 30 segundos. As reações de amplificação foram conduzidas em placas de PCR de padrão baixo do tipo "multiplate unskirted" (BioRad®, Hercules, Califórnia, Estados Unidos) em aparelho termociclador CFX96 Thermal Cycler (BioRad®, Hercules, Califórnia, Estados Unidos). Adicionalmente, foram realizadas análises de sensibilidade das reações de qPCR, utilizando 10 diluições em série do plasmídeo pIDTSMART (Integrated DNA Technologies, Cedar Rapids, EUA) que codifica sequência consenso de um fragmento do gene *nuoG* de *Bartonella* (inserto contendo 83 pb). O número de cópias do plasmídeo foi determinado de acordo com a fórmula $(X \text{ g / mL de DNA} / [\text{comprimento do plasmídeo em pb} \times 660]) \times 6,022 \times 10^{23}$ cópias de plasmídeo/µL. O número de cópias-alvo foi calculado com base em 100% de eficiência de extração de DNA. A eficiência de amplificação foi calculada a partir da inclinação da curva padrão em cada corrida, utilizando a seguinte fórmula $(E = 10^{-1} / \text{inclinação})$ (BUSTIN et al., 2009). Todas as análises

foram realizadas obedecendo às normas estabelecidas pelo *MIQE (Minimum Information for publication of Quantitative real-time PCR Experiments)* (BUSTIN et al., 2009). Água ultra-pura esterilizada (Nuclease-Free Water, Promega®, Madison, Wisconsin, Estados Unidos) foi utilizada como controle negativo nos ensaios de qPCR.

4.5. Caracterização molecular de *Bartonella* spp.

As amostras positivas nos ensaios de qPCR (*nuoG*) foram submetidas a ensaios de PCR convencional baseados nos genes *gltA* (750 bp), *ftsZ* (600 bp), *nuoG* (400 bp), *ribC* (420 bp), 16S-23S rRNA da região intergênica (453-717 pb), e *rpoB* (585 bp) (**Tabela 1**). Os ensaios de cPCR foram realizados utilizando reações de volume total final de 25 µL, contendo uma mistura de 5 µL do DNA-amostra, 0,3 mM de cada deoxinucleotídeo, 0,25 µL de 30 µM de cada oligonucleotídeo iniciador (Integrated DNA Technologies®, Cedar Rapids, EUA), 3,0 mM de cloreto de magnésio, 1,25 U de Taq Platinum DNA Polimerase, tampão da PCR 10X e água ultrapura esterilizada q.s.p. (Thermofisher Scientific®, Carlsbad, California, EUA). Amostras de sangue de morcego da espécie *Sturnira lilium* naturalmente infectados com *Bartonella* sp. (IKEDA et al., 2015) foram utilizadas como controles positivos e água ultra-pura esterilizada (Thermofisher Scientific®, Carlsbad, California, EUA) como controle negativo.

Tabela 2. Sequências de oligonucleotídeos iniciadores, genes-alvo e sequências térmicas utilizados nos ensaios de cPCR para detecção de *Bartonella* spp. em amostras de moscas Streblidae e ácaros Macronyssidae e Spinturnicidae coletadas de morcegos no Rio de Janeiro, Brasil, e anteriormente positivas em ensaios de qPCR (*nuoG*)

| Sequências de oligonucleotídeos (5'-3') | Gene-alvo | Sequências térmicas | Referências |
|---|--|---|---|
| 443f (GCTATGTCTGCATTCTATCA) 1210R (GATCYTCAATCATTTCTTTCCA) | <i>gltA</i> | 94°C por 5 min, 35 ciclos de 94°C por 30 seg, 54°C por 30 seg e 72°C por 1 min, e extensão final de 72°C por 5min. | Billeter et al. (2011) |
| 1615s (ATYACYCATAARCGYCGTCTTTCTGCTCTGG) 2267as (GGATCTAAATCTTCYGTGACGRATACG) | <i>rpoB</i> | 95°C por 2 min, 55 ciclos de 94°C por 15 seg, 62°C por 15 seg e 72°C por 15 seg, e extensão final de 72°C por 5min. | Diniz et al. (2007) |
| <i>nuoGF</i> (GGCGTGATTGTTCTCGTTA) <i>nuoGR</i> (CACGACCACGGCTATCAAT) | <i>nuoG</i> | 94°C por 5 min, 35 ciclos de 94°C por 30 seg, 53°C por 30 seg e 72°C por 1 min, e extensão final de 72°C por 5min. | Colborn et al. (2010) |
| <i>ftsZ</i> (CATATGGTTTTTCATTACTGCGGTATGG) <i>ftsR</i> (TTCTTCGCGAATACGATTAGCAGCTTC) | <i>ftsZ</i> | 94°C por 5 min, 35 ciclos de 94°C por 30 seg, 61°C por 30 seg e 72°C por 1 min, e extensão final de 72°C por 5min. | Paziewska et al. (2011) |
| <i>ribcF</i> (TYGGTTGTGKGAAGATGT) <i>ribcR</i> (AATAATMAGAACATCAAAAA) | <i>ribC</i> | 94°C por 5 min, 35 ciclos de 94°C por 30 seg, 61°C por 30 seg e 72°C por 1 min, e extensão final de 72°C por 5min. | Paziewska et al. (2011) |
| 325s (CTTCAGATGATGATCCCAAGCCTTYTG GCG) 1100as (GAACCGACGACCCCCTGCTTGCAAAGCA) | (<i>ITS</i>) <i>região</i> <i>intergênica</i> <i>do16S-</i> <i>23S do</i> <i>RNA</i> <i>ribossomal</i> | 95°C por 5 min. 55 ciclos de: 94°C por 15 seg., 66°C por 15 seg., 72°C por 15 seg. e 72°C por 1min | Maggie e Breitschwerdt (2005) |
| 1s (ACTTCTGTTATCGCTTTGATTTCTRRCT) 688as (CACCACCAGCAA AATAAGGCATMAY) | <i>pap-31</i> | 95°C por 2 min. 55 ciclos de: 94°C por 15 seg., 58°C por 15 seg., 72°C por 15 seg. e 72°C por 5min | Maggie e Breitschwerdt (2005) |
| HSP1 (GGAAAAAGTNGGCAATGAAG) HSP2 (TCCTTTAACGGTCAACGCATT) | <i>groEL</i> | 95°C por 5 min. 40 ciclos de: 94°C por 45 seg., 47°C por 45 seg., 72°C por 45 seg. e 72°C por 7min | Zeaiter et al. (2002) e Paziewska et al. (2011) |

4.6. Eletroforese de DNA em gel de agarose

Os produtos amplificados nos ensaios de cPCR foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose a 1,0% corado com Brometo de Etídeo (0,5 µL/mL) em tampão de corrida TEB pH 8,0 (44,58 M Tris-base; 0,44 M ácido

bórico; 12,49 mM EDTA). A eletroforese foi realizada a 90 V/ 150mA durante 60 minutos. Para a determinação dos produtos amplificados foi utilizado um marcador de peso molecular de 100 pares de base (Life Technologies®). Os resultados foram então visibilizados e analisados por meio de um transiluminador de luz ultravioleta (ChemiDoc MP Imaging System, BIO RAD®).

4.7. Purificação dos produtos amplificados

Os produtos amplificados das amostras positivas com alta intensidade de banda foram purificados utilizando-se o kit “Silica Bead DNA Gel Extraction Kit” (Fermentas, São PauloSP), de acordo com as recomendações do fabricante. A quantificação de material genômico total do produto purificado foi realizada em aparelho Nanodrop (Thermo Scientific®).

4.8. Sequenciamento

O sequenciamento dos produtos amplificados e purificados foi realizado por técnica automatizada baseada no método de terminação da cadeia por dideoxynucleotídeos (SANGER et al., 1977). Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados foram os mesmos utilizados nos ensaios de cPCR. O protocolo da reação de sequenciamento foi realizado com algumas modificações a partir daquele descrito pelo fabricante do Kit Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (Perkin-Elmer Applied Biosystems).

Foram utilizados 3,5 µL do tampão 2,5x (200 mM Tris-HCl pH 9,0; 5mM MgCl₂); 0,5 µL de Big Dye e 5 pmoles de cada oligonucleotídeo; 2,5 µL de água ultra pura e 1,5 µL de DNA, sendo esta quantidade estimada pela verificação de intensidade das bandas em gel de agarose a 2,0%. As amplificações foram

realizadas inicialmente no termociclador (MJ Research-Inc) a 96°C por 2 minutos e 35 ciclos de desnaturação a 96°C por 45 segundos, anelamento por 30 segundos (temperatura de anelamento variou de acordo com o protocolo de PCR para cada agente conforme **Tabela 2**, e extensão a 60°C por 4 minutos e mantida a 4°C por tempo indeterminado.

O processo de lavagem das amostras foi realizado adicionando-se 80 µL Isopropanol 75% em cada amostra. A placa foi selada com alumínio e, após incubação por 15 minutos em local escuro à temperatura ambiente, foi centrifugada a 4.000g por 30 minutos a 20°C. O sobrenadante foi descartado e 200 µL de Etanol 70% foram adicionados e a placa novamente centrifugada, agora por 10 minutos. O sobrenadante foi novamente descartado e a mesma quantidade de Etanol 70% foi acrescida, repetindo o passo anterior. A placa foi centrifugada invertida (aceleração e desaceleração 1) e em seguida colocada na bomba de vácuo por 5 minutos para completa secagem das amostras. O sequenciamento foi conduzido no sequenciador ABI PRISM 3700 DNA Analyzer (Applied Biosystems). Apenas os produtos de PCR com alta intensidade de banda foram submetidos ao sequenciamento no Centro de Recursos Biológicos e Biologia Genômica (CREBIO - FCAV - UNESP).

4.9. Análise das Sequências

Posteriormente, foi realizada a análise dos eletroferogramas gerados nos sequenciamentos, observando-se a qualidade dos picos correspondentes a cada base sequenciada, respeitando o valor mínimo de 20 de qualidade de cada nucleotídeo para determinar a sequência consenso. Esta última foi obtida pela

análise de ambas as fitas “forward” e “reverse” sequenciadas da mesma amostra, por meio do programa Phred-Phrap versão 23 (EWING e GREEN, 1998; EWING et al., 1998). Após construir a sequência consenso de cada amostra, esta foi submetida à análise pelo programa BLAST (ALTSCHUL et al., 1990), a fim de comparar com aquelas depositadas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>). As sequências salvas em modo “FASTA” foram então alinhadas com outras sequências homólogas do mesmo gene sequenciado retiradas do banco de dados (GenBank), utilizando o software Clustal/W (THOMPSON et al., 1994) via Bioedit v. 7.0.5.3 (HALL, 1999). Os alinhamentos salvos em modo “FASTA” serão transformados em modo Nexus e Phylip pelo site “Alignment Transformation Environment” (GLEZ-PEÑA et al., 2010). Os métodos de análises para filogenia foram de Máxima Verossimilhança, o qual foi realizado utilizando o software W-IQ-Tree (disponível online: <http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>) (NGUYEN et al., 2015; TRIFINOPOULOS et al., 2016) e de Inferência Bayesiana, utilizando o software MrBayes 3.2.2 on XSEDE (RONQUIST e HUELSENBECK, 2003) via portal CIPRES (MILLER et al., 2010). A análise Bayesiana foi realizada com 10 gerações e números de classes de substituição variando conforme o modelo evolutivo para cada conjunto de dados, o qual foi escolhido utilizando o software jModelTest 2 (GUINDON e GASCUEL, 2003; DARRIBA et al., 2012) por critérios de seleção AIC e BIC (POSADA e BUCKLEY, 2004). Os suportes dos clados para as análises de Máxima Verossimilhança foram avaliados por meio de análises de “bootstrap” (FELSENSTEIN, 1985) de 1000 repetições. A edição das árvores filogenéticas,

assim como o enraizamento (via grupo externo), foi realizada utilizando o “software” Treegraph 2.13.0 beta (STOVER e MULLER, 2010).

5. RESULTADOS

5.1. Captura dos morcegos e ectoparasitas

Foi capturado um total de 164 morcegos das espécies *Artibeus lituratus* (n=16), *Sturnira lilium* (n=72), *Carollia perspicillata* (n=57), *Artibeus fimbriatus* (n=8), *Artibeus obscurus* (n=2), *Artibeus planirostris* (n=3), *Diphyla ecaudata* (n=1) e *Desmodus rotundus* (n=5).

Foram coletadas de 1 a 3 moscas da família Streblidae por morcego, totalizando 404 moscas pertencentes às espécies *Paratrichobius longicrus* (n=49), *Megistopoda aranea* (n=4), *Aspidoptera phyllostomatis* (n=9), *Trichobius joblingi* (n=109), *Trichobius anducei* (n=10), *Strebla guajiro* (n=29), *Megistopoda próxima* (n=77), *Aspidoptera falcata* (n=108), *Trichobius furmani* (n=4) e *Strebla wiedemanni* (n=5) (**Figuras 3-12**).

Os ácaros Spinturnicídeos foram identificados como pertencentes a duas espécies: 50 *Periglischrus ojasti* e 50 *Periglischrus iheringi*. Adicionalmente, 100 ácaros da família Macronyssidae foram identificados como pertencentes à espécie *Chiroptonyssus haematophagus* (**Figuras 13-15**).



Figura 3. Espécime de *Aspiroptera falcata* recolhida de um morcego da espécie *Sturnira lilium*. Faces dorsal (A) e ventral (B).

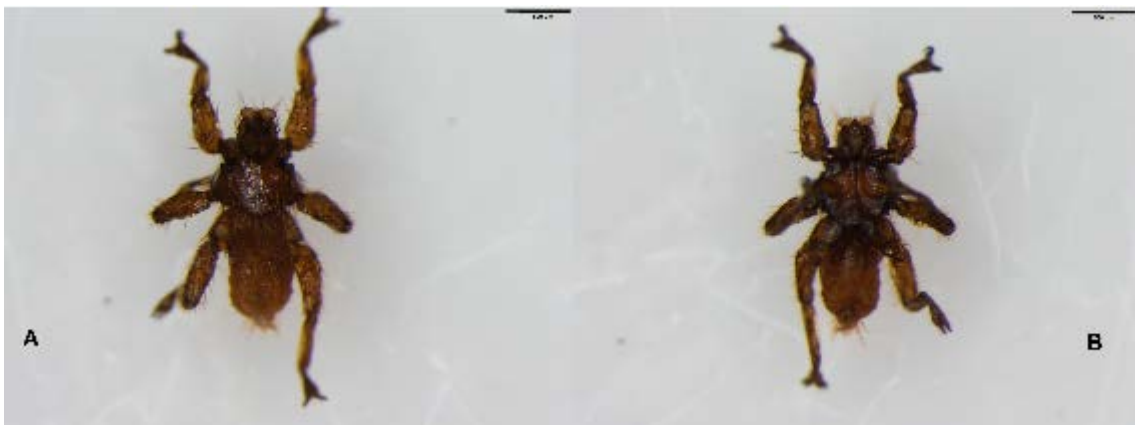


Figura 4. Espécime de *Aspiroptera phyllostomatis* recolhida de um morcego da espécie *Artibeus planirostris*. Faces dorsal (A) e ventral (B). Aumento 32x.



Figura 5. Espécime de *Megistopoda aranea* recolhida de um morcego da espécie *Artibeus obscurus*. Faces dorsal (A) e ventral (B). 32X.



Figura 6. Espécime de *Megistopoda proxima* recolhida de um morcego da espécie *Sturnira lilium*. Face lateral. Aumento 32x.



Figura 7. Espécime de *Paratrichobius longicrus* recolhida de um morcego da espécie *Artibeus lituratus*. Face lateral. Aumento 32x.



Figura 8. Espécime de *Trichobius joblingi* recolhida de um morcego da espécie *Carollia perspicillata*. Faces dorsal (A) e ventral (B). Aumento 32x.



Figura 9. Espécime de *Strebla guajiro* recolhida de um morcego da espécie *Carollia perspicillata*. Face ventral. Aumento 32x.



Figura 10. Espécime de *Trichobius anducei* recolhida de um morcego da espécie *Carollia perspicillata*. Face ventral. Aumento 32x.



Figura 11. Espécime de *Trichobius furmani* recolhida de um morcego da espécie *Desmodus rotundus*. Face ventral. Aumento 32x.

Figura 12. Espécime de *Strebla wiedemanni* recolhida de um morcego da espécie *Desmodus rotundus*. Face lateral. Aumento 32x.



Figura 13. Espécime de *Periglischrus ojasti* recolhida de um morcego da espécie *Artibeus lituratus*. Faces dorsal (A) e ventral (B). Aumento 56x.



Figura 14. Espécime de *Periglischrus iheringi* recolhida de um morcego da espécie *Sturnira lilium*. Faces dorsal (A) e ventral (B). Aumento 56x.



Figura 15. Espécime de *Chiroptonyssus haematophagus* recolhida de um morcego da espécie *Molossus molossus*. Face ventral. Aumento 56x.

5.2. Extração de DNA dos exemplares de ectoparasitas

Para extração de DNA foram realizados três testes: “pool” de quatro moscas pelo método de extração segundo protocolo Kuramae-Izioka (1997); “pool” de quatro moscas com Illustra Blood Genomic Prep Mini Spin Kit (GE Healthcare Life Sciences®), e extração individual das moscas com a utilização deste mesmo “kit”. Como pode ser observado na **Figura 16** do gel de agarose, a extração com “kit” mostrou melhor qualidade no teste do gene de referência *cox-1*, mesmo possuindo menores concentrações de DNA ($\eta\text{G}/\mu\text{L}$) e relações 260/280 e 260/230 obtidas pelo aparelho Nanodrop (Thermo Scientific®), por meio da mensuração da absorbância de cada amostra. Objetivando determinar a prevalência de *Bartonella* spp. em espécimes individuais de moscas, foi escolhida a extração individual das mesmas pelo “kit”, seguindo as instruções do fabricante.

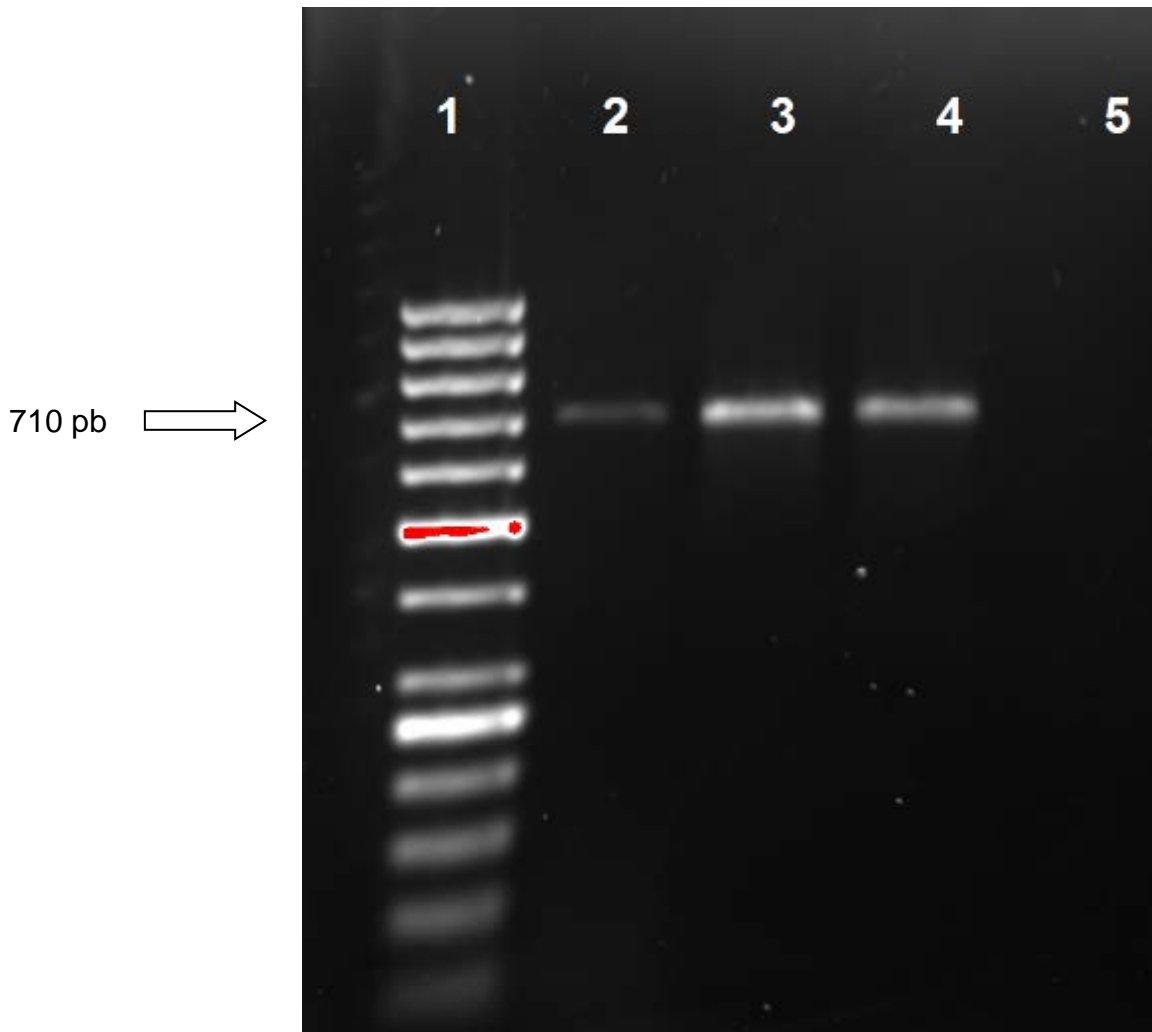


Figura 16. Eletroforese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para gene endógeno *cox-1*. Canaleta 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); Canaleta 2: extração de DNA de “pool” de moscas segundo protocolo Kuramae-Izioka (1997); Canaleta 3: extração de “pool” de moscas com “kit”; Canaleta 3: extração individual de cada espécime de mosca com “kit”; Canaleta 5: controle negativo (água ultra-pura esterilizada).

No total foram extraídas amostras de DNA de 401 amostras de moscas, correspondendo a um “pool” de quatro moscas da espécie *Strebla wiedemanni* e 400 extrações de espécimes individuais de moscas, dentre elas: 49 *Paratrichobius longicrus*, quatro *Megistopoda aranea*, nove *Aspidoptera phyllostomatis*, 109 *Trichobius joblingi*, 10 *Trichubius anducei*, 29 *Strebla guajiro*, 77 *Megistopoda*

proxima, 108 *Aspidoptera falcata*, quatro *Trichobius furmani* e uma *Strebla wiedemanni* (**Apêndice 1**)

Amostras de DNA de ácaros foram extraídas em “pools” de 10 espécimes, totalizando 10 “pools” da família Macronyssidae (espécie *Chiroptonyssus haematophagus*) e 10 “pools” da família Spinturnicidae (sendo cinco da espécie *Periglischrus ojasti* e cinco da espécie *Periglischrus iheringi*) (**Apêndice 2**).

5.3. Reação de Amplificação para o gene endógeno *cox-1* das moscas *Streblidae*

Das 400 amostras de moscas extraídas individualmente, 202 mostraram-se positivas na PCR para o gene endógeno *cox-1* (fragmento de 710 pb). Todos os 20 “pools” de ácaros mostraram-se positivos para o referido gene endógeno, indicando a ausência de inibidores. A **Figura 17** mostra a eletroporese em gel de agarose de amostras positivas na PCR para o gene endógeno *cox-1*.

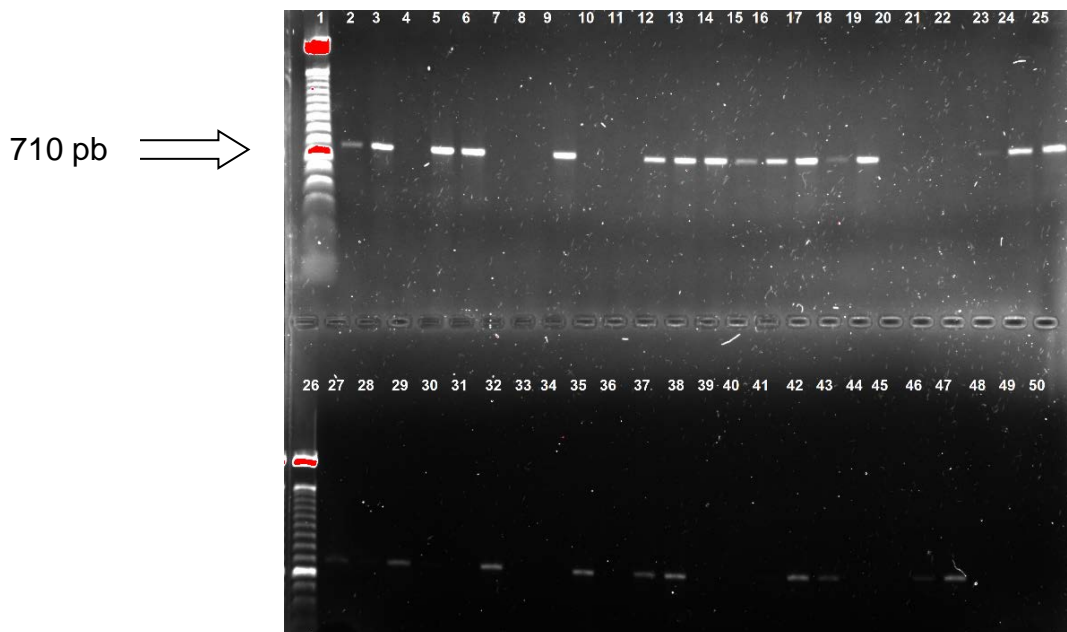


Figura 17. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplímeros relativos à PCR para gene endógeno *cox-1*. Canaletas 1 e 26: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); Canaletas 2, 3, 5, 6, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 24, 25, 27, 29, 32, 35, 37, 38, 42, 43, 47, 48: amostras positivas, Canaleta 50: controle negativo (água ultra-pura esterilizada).

5.4. Reações de Amplificação para *Bartonella* spp.

Enquanto nenhuma amostra de “pool” de ácaros apresentou-se positiva para *Bartonella* spp., 40 (19,8%) de 202 moscas de Streblidae mostraram-se positivas nos ensaios de qPCR para o agente sob estudo com base no gene *nuoG*: 6/32 (18%) *Paratrichobius longicrus*, 7/24 (29%) *Strebla guajiro*, 2/5 (40%) *Aspidoptera phyllostomatis*, 5/43 (11%) *Aspidoptera falcata*, 1/10 (10%) *Trichobius anducei*, 1/4 (25%) *Megistopoda aranea* e 18/55 (32%) *Trichobius joblingi*. As moscas positivas foram coletadas de morcegos pertencentes às seguintes espécies: *Artibeus lituratus*, *Carollia perspicillata*, *Artibeus planirostris*, *Sturnira lilium*, *Artibeus obscurus*. A eficiência, R², “slope” e intercepto-Y das reações variaram de 90,5% a 104,7% (média = 96,32%), 0,987 a 0,998 (média = 0,986), -3,577 a -3,215 (média = -3,422) e 36,506 a 39,454 (média = 38,218), respectivamente. A quantificação de *Bartonella* spp. com base em um fragmento do gene *nuoG* variou de 0,5 - 79000 cópias/μL (Tabela 3).

Tabela 3. Amostras de moscas Streblidae coletadas no Estado do Rio de Janeiro positivas em ensaios de qPCR para *Bartonella* spp. baseados no gene *nuoG* com os respectivos parâmetros de reação.

| Espécie de mosca | Hospedeiro | Média quantificação (copies/μL) | Eficiência | R ² | Inclinação | y-intercepção |
|-----------------------------------|----------------------------|--|------------|----------------|------------|---------------|
| <i>Aspidoptera phyllostomatis</i> | <i>Artibeus fimbriatus</i> | 4,19 X 10 ⁰ | 93,4% | 0,984 | -3,492 | 37,176 |
| <i>Aspidoptera phyllostomatis</i> | <i>Artibeus fimbriatus</i> | 6,00 X 10 ⁰ | 93,4% | 0,984 | -3,492 | 37,176 |
| <i>Aspidoptera falcata</i> | <i>Sturnira lilium</i> | 4,01 X 10 ¹ | 99,4% | 0,953 | -3,335 | 39,454 |
| <i>Aspidoptera falcata</i> | <i>Sturnira lilium</i> | 1,00 X 10 ⁻¹ | 104,8% | 0,983 | -3,211 | 35,813 |
| <i>Aspidoptera falcata</i> | <i>Sturnira lilium</i> | 1,93 X 10 ² | 95% | 0,992 | -3,423 | 37,662 |
| <i>Aspidoptera falcata*</i> | <i>Sturnira lilium</i> | 3,871 X 10 ¹ ; 8,223 X 10 ¹ | 101,6% | 0,997 | -3,284 | 35,821 |

Continua...

Continuação..

| | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------------------|--|--------|-------|--------|--------|
| <i>Aspidoptera falcata*</i> | <i>Sturnira lilium</i> | 1,571 X 10 ¹ ; 3,445 X 10 ¹ | 95% | 0,992 | -3,423 | 37,662 |
| <i>Megistopoda aranea</i> | <i>Artibeus obscurus</i> | 6,27 X 10 ¹ | 99,4% | 0,953 | -3,335 | 39,454 |
| <i>Paratrichobius longicrus</i> | <i>Artibeus lituratus</i> | 3,58 X 10 ⁰ | 93,4% | 0,984 | -3,492 | 37,176 |
| <i>Paratrichobius longicrus</i> | <i>Artibeus lituratus</i> | 9,23 X 10 ⁰ | 90,7% | 0,998 | -3,566 | 38,552 |
| <i>Paratrichobius longicrus</i> | <i>Artibeus lituratus</i> | 4,81 X 10 ¹ | 90,7% | 0,998 | -3,566 | 38,552 |
| <i>Paratrichobius longicrus</i> | <i>Artibeus lituratus</i> | 6,21 X 10 ⁻¹ | 104,8% | 0,983 | -3,211 | 35,813 |
| <i>Paratrichobius longicrus*</i> | <i>Artibeus lituratus</i> | 2,833 X 10 ¹ ; 1,268 X 10 ¹ | 93,4% | 0,984 | -3,492 | 37,176 |
| <i>Paratrichobius longicrus</i> | <i>Artibeus lituratus</i> | 3,58 X 10 ⁰ | 93,4% | 0,984 | -3,492 | 37,176 |
| <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 1,72 X 10 ¹ | 99,4% | 0,953 | -3,335 | 39,454 |
| <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 7,97 X 10 ³ | 99,4% | 0,953 | -3,335 | 39,454 |
| <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 2,27 X 10 ⁰ | 101,6% | 0,997 | -3,284 | 35,821 |
| <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 1,34 X 10 ¹ | 101,6% | 0,997 | -3,284 | 35,821 |
| <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 8,71 X 10 ¹ | 95% | 0,992 | -3,423 | 37,662 |
| <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 4,94 X 10 ¹ | 90,7% | 0,998 | -3,566 | 38,552 |
| <i>Strebla guajiro*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 7,535 X 10 ⁰ ; 2,923 X 10 ⁰ | 99,4% | 0,953 | -3,335 | 39,454 |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 2,26 X 10 ¹ | 93,4% | 0,984 | -3,492 | 37,176 |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 6,47 X 10 ⁰ | 104,8% | 0,983 | -3,211 | 35,813 |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 1,05 X 10 ⁻¹ | 104,8% | 0,983 | -3,211 | 35,813 |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 2,23 X 10 ¹ | 101,6% | 0,997 | -3,284 | 35,821 |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 5,62 X 10 ⁰ | 95% | 0,992 | -3,423 | 37,662 |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 2,80 X 10 ⁰ | 90,7% | 0,998 | -3,566 | 38,552 |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 6,06 X 10 ⁰ | 90,7% | 0,998 | -3,566 | 38,552 |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 9,56 X 10 ⁰ | 90,7% | 0,998 | -3,566 | 38,552 |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 2,46 X 10 ⁰ | 90,7% | 0,998 | -3,566 | 38,552 |
| <i>Trichobius joblingi*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 1,703 X 10 ⁰ ; 2,383 X 10 ⁰ | 93,4% | 0,984 | -3,492 | 37,176 |
| <i>Trichobius joblingi*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 3,45 X 10 ⁻¹ ; 1,58 X 10 ⁰ | 104,8% | 0,983 | -3,211 | 35,813 |

Continua...

Continuação..

| | | | | | | |
|-----------------------------|-------------------------------|----------------------------|--------|-------|--------|--------|
| <i>Trichobius joblingi*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 7,824 X 10 ⁻² ; | 104,8% | 0,983 | -3,211 | 35,813 |
| <i>Trichobius joblingi*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 1,208 X 10 ⁻¹ | | | | |
| <i>Trichobius joblingi*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 5,073 X 10 ⁻¹ ; | 104,8% | 0,983 | -3,211 | 35,813 |
| <i>Trichobius joblingi*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 1,753 X 10 ⁰ | | | | |
| <i>Trichobius joblingi*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 3,355 X 10 ⁻¹ ; | 104,8% | 0,983 | -3,211 | 35,813 |
| <i>Trichobius joblingi*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 6,424 X 10 ⁻¹ | | | | |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 5,25 X 10 ¹ | 99,4% | 0,953 | -3,335 | 39,454 |
| <i>Trichobius joblingi*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 2,141 X 10 ⁻¹ ; | 101,6% | 0,997 | -3,284 | 35,821 |
| <i>Trichobius joblingi*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 7,950 X 10 ⁻¹ | | | | |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 6,50 X 10 ⁰ | 90,7% | 0,998 | -3,566 | 38,552 |
| <i>Trichobius joblingi*</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 1,148 X 10 ⁰ ; | 95% | 0,992 | -3,423 | 37,662 |
| <i>Trichobius anduce*i</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 1,987 X 10 ⁰ | | | | |
| <i>Trichobius anduce*i</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 2,922 X 10 ⁰ ; | 101,6% | 0,997 | -3,284 | 35,821 |
| <i>Trichobius anduce*i</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | 6,016 X 10 ⁰ | | | | |

Para as amostras marcadas com “”, a quantificação de cada replicata foi apresentada ao invés da média desse parâmetro. Tal fato se deve às baixas concentrações de DNA nas referidas amostras, as quais geraram diferenças de Cq das replicatas maiores que 0,5 (efeito Monte Carlo – Bustin et al., 2009).

5.5. Caracterização molecular de *Bartonella* spp.

Dez (25%) de 40 amostras positivas no qPCR também mostraram-se positivas para pelo menos um gene alvo em ensaios de cPCR para *Bartonella* spp.: seis (15%) para o gene *nuoG* (**Figura 18**), dois (5%) para o gene *gltA* (**Figura 19**), quatro (10%) para o gene *ribC* (**Figura 20**), três (7,5%) para o gene *groEL* (**Figura 21**), uma (2,5%) para o gene *ftsZ* (**Figura 22**) e uma (2,5%) para o gene *rpoB* (**Figura 23**). Nenhuma delas mostrou-se positiva nos ensaios de cPCR baseados no gene *pap-31* e região intergênica 16S-23S rRNA (ITS). Devido à baixa intensidade de alguns produtos amplificados, que impediram o sequenciamento de alta qualidade, sequências foram obtidas de apenas seis amostras de *Bartonella* spp. (*nuoG* [n = 2], *gltA* [n = 2], *rpoB* [n = 1], *ribC* [n = 1]) (**Tabela 4**).

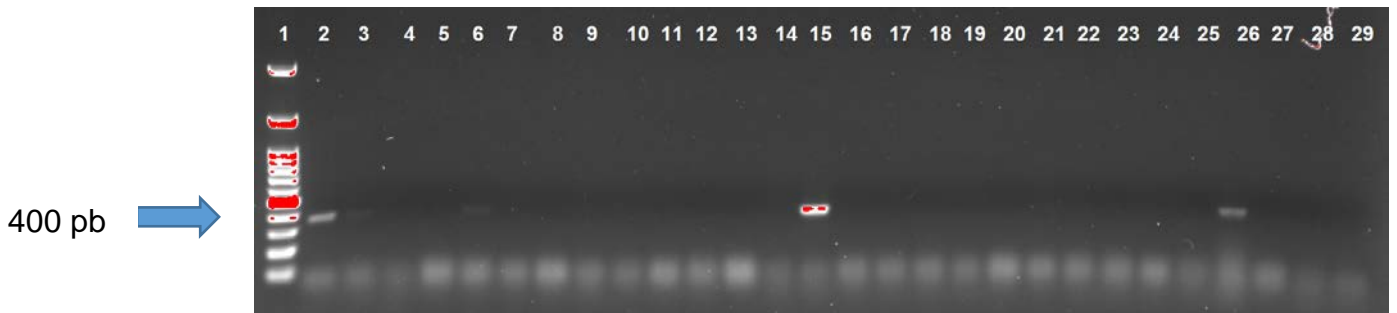


Figura 18. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *nuoG*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); Canaleta 2: controle positivo: cultura de *Bartonella* sp. obtida de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaletas: 3, 6, 15 e 26: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada).



Figura 19. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *gltA*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); Canaleta 2: controle positivo: isolado de *Bartonella* sp. obtido de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaletas: 3 e 15: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada).

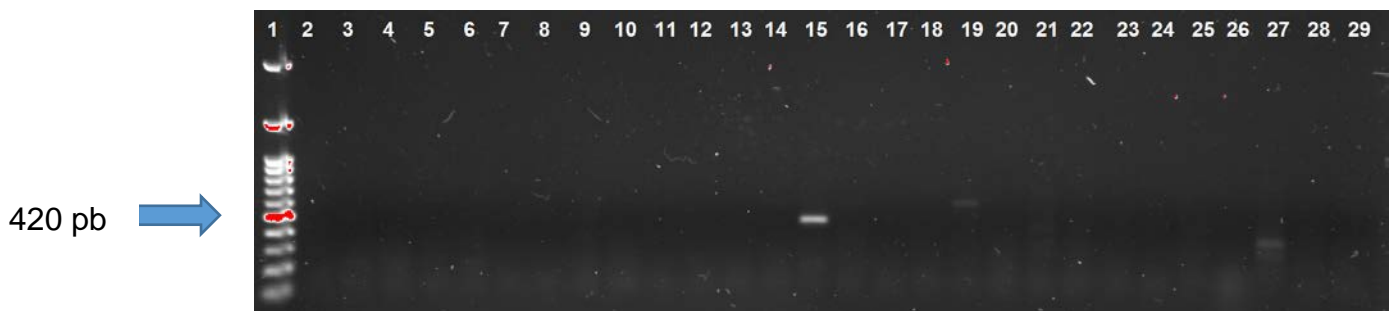


Figura 20. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *ribC*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); Canaleta 2: controle positivo: isolado de *Bartonella* sp. obtido de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaleta: 15: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada).

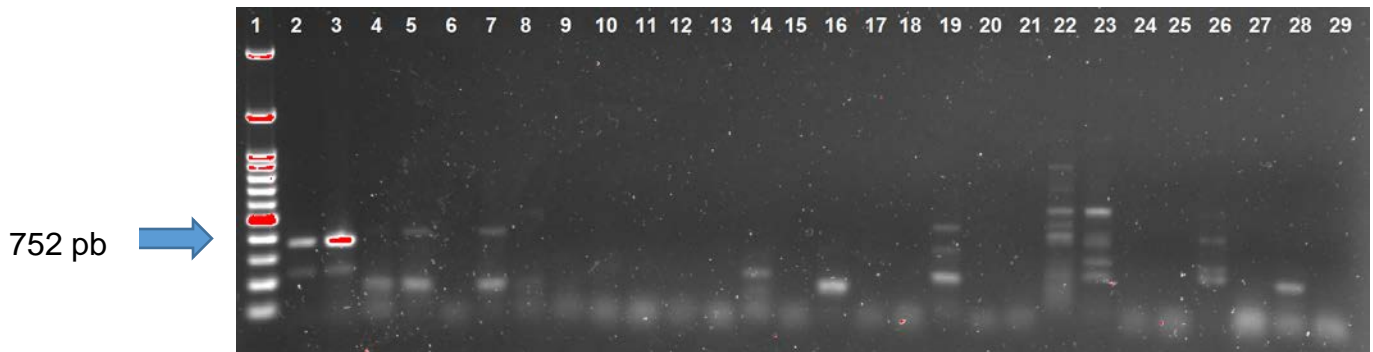


Figura 21. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *groEL*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); controle positivo: isolado de *Bartonella* sp. obtido de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaletas: 3, 5 e 7: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada).

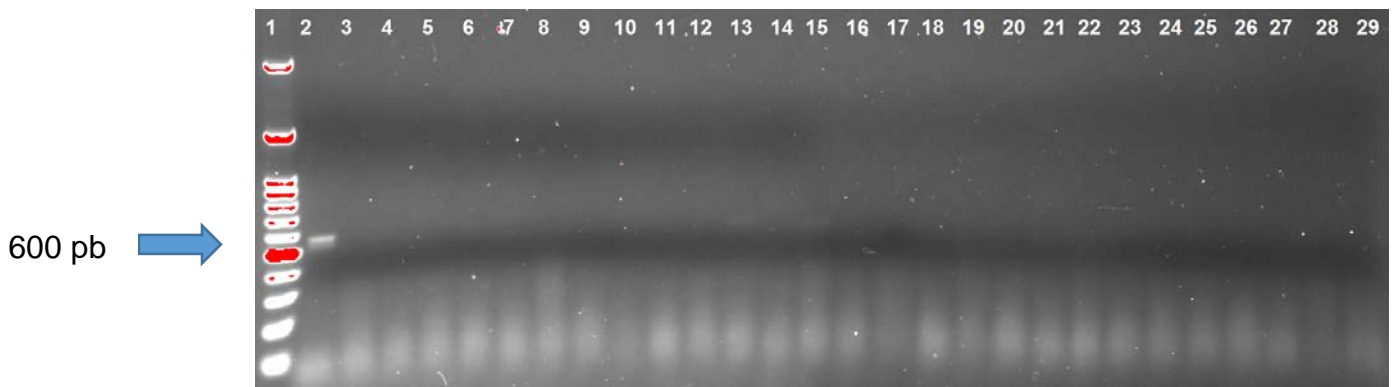


Figura 22. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *ftsZ*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); controle positivo: isolado de *Bartonella* sp. obtido de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaletas: 13 e 15: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada).


800 pb 

Figura 23. Eletroporese em gel de agarose 1% corado com brometo de etídeo mostrando os amplicómeros relativos à PCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *rpoB*. Canaletas 1: marcador de tamanho molecular em escala de 100 pares de bases (Life Technologies®); controle positivo: isolado de *Bartonella* sp. obtido de um morcego da espécie *Sturnira lilium*; Canaleta: 15: amostras positivas, Canaleta 29: controle negativo (água ultra-pura esterilizada). Figura

Tabela 4. Amostras de moscas Streblidae positivas para *Bartonella* spp. em ensaios qPCR e cPCR baseados em diferentes genes.

| Espécie Streblidae | Hospedeiro | Média de quantificação na qPCR (nuoG cópias/ μ L) | cPCR | | | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------------------|--|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|---------------|-----|
| | | | <i>gltA</i> | <i>rpoB</i> | <i>nuoG</i> | <i>groEL</i> | <i>ribC</i> | <i>ftsZ</i> | <i>pap-31</i> | ITS |
| <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | $7,97 \times 10^3$ | Seq | Seq | Seq | NS | Seq | NS | - | - |
| <i>Paratrichobius longicrus</i> | <i>Artibeus lituratus</i> | $3,58 \times 10^0$ | - | - | NS | - | - | - | - | - |
| <i>Paratrichobius longicrus</i> | <i>Artibeus lituratus</i> | $4,81 \times 10^1$ | - | - | NS | - | - | - | - | - |
| <i>Megistopoda aranea</i> | <i>Artibeus obscurus</i> | $6,27 \times 10^1$ | - | - | Seq | - | - | - | - | - |
| <i>Aspidoptera falcata</i> | <i>Sturnira lilium</i> | $4,01 \times 10^1$ | - | - | NS | - | - | - | - | - |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | $2,23 \times 10^1$ | - | - | NS | - | - | - | - | - |
| <i>Aspidoptera falcata</i> | <i>Sturnira lilium</i> | $1,93 \times 10^2$ | - | - | - | NS | NS | - | - | - |
| <i>Aspidoptera phyllostomatis</i> | <i>Artibeus fimbriatus</i> | $6,00 \times 10^0$ | - | - | - | NS | - | - | - | - |
| <i>Trichobius joblingi</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | $2,26 \times 10^1$ | - | - | - | - | NS | - | - | - |
| <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | $1,72 \times 10^1$ | Seq | - | - | - | NS | - | - | - |

ITS = espaçador transcritor intergênico; NS = amostra positiva na cPCR, mas não sequenciada devido à baixa intensidade de produtos amplificados; Seq = Sequências obtidas e depositadas na base de dados GenBank.24

5.6. Análises pelo BLAST

Com base na análise pelo BLAST, enquanto uma sequência do gene *nuoG*

de *Bartonella* sp. mostrou 93% de identidade para *Bartonella* sp. WD16.2 obtida de um veado amostrado no Japão (número de acesso GenBank CP019781), a outra sequência do mesmo gene mostrou 84% de identidade para *B. alsatica* (número de acesso GenBank EF659935). Duas sequências do gene *gltA* de *Bartonella* mostraram identidade de 93-98% para genótipos de *Bartonella* sp. detectados em morcegos amostrados na Costa Rica (números de acesso no GenBank KJ816665 e KJ816687). Uma sequência do gene *rpoB* de *Bartonella* mostrou 89% de identidade com *Bartonella* sp. Khabarovsk de um mamífero asiático (número de acesso no GenBank AB779537). Finalmente, uma sequência do gene *ribC* de *Bartonella* mostrou 84% de identidade para *B. washoensis* (número de acesso GenBank AB292599) (**Tabela 5**). O “query coverage” foi de 96% a 100% em todas as análises das sequências de *Bartonella* sp. pelo BLAST.

Tabela 5. Porcentagem de identidade pelo BLAST dos amplificadores de *Bartonella* spp. obtidos em moscas Streblidae coletadas de quirópteros no Estado do Rio de Janeiro.

| Número de acesso no GenBank | Espécie da mosca Streblidae | Hospedeiro | Gene-alvo | E-value | Máxima porcentagem de identidade pelo Blast |
|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------|---------------------|---|
| MG551538 | <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | <i>gltA</i> | 0.0 | 98% Uncultured <i>Bartonella</i> sp. clone SJ112 (KJ816687) |
| MG65470 | <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | <i>gltA</i> | 0.0 | 93% Uncultured <i>Bartonella</i> sp. clone SJ118 (KJ816665) |
| MG65471 | <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | <i>nuoG</i> | 4x10 ⁻³⁴ | 93% <i>Bartonella alsatica</i> (EF659935) |
| MG65472 | <i>Megistopoda aranea</i> | <i>Artibeus obscurus</i> | <i>nuoG</i> | 2x10 ⁻⁹⁰ | 93% <i>Bartonella</i> sp. WD16.2 (CP019781) |
| MG65473 | <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | <i>ribC</i> | 5x10 ⁻⁷³ | 84% <i>Bartonella washoensis</i> (AB292599) |
| MG65474 | <i>Strebla guajiro</i> | <i>Carollia perspicillata</i> | <i>rpoB</i> | 0.0 | 89% <i>Bartonella</i> sp. Khabarovsk-17 (AB779537) |

5.7. Análises filogenéticas

As árvores filogenéticas inferidas com base em sequências do gene *gltA* de *Bartonella* mostraram topologia muito similar nas análises Bayesiana (BI) e de Máxima Verossimilhança (MV), formando dois *clusters* diferentes. A sequência de *Bartonella* (número de acesso GenBank MG551538) detectada em um espécime de *Strebla guajiro* coletado de *Carollia perspicillata* no estado do Rio de Janeiro foi posicionada sozinha em um ramo, mas estreitamente relacionada a genótipos de *Bartonella* previamente detectados em morcegos da América do Sul, sendo um deles detectado em um morcego (*Sturnira lillium*) no estado do Paraná, Brasil (KY356753), e sequências detectadas em morcegos da Guatemala, México e Costa Rica, com 100% de suporte de ramo nas análises MV e BI. Adicionalmente, tais sequências foram posicionadas em um clado maior relacionado com sequências de *Bartonella* spp. de roedores amostrados no Brasil e E.U.A., além de um genótipo detectado em uma pulga da espécie *Polygenis gwyni* coletada de um roedor da espécie *Sigmodon hispidus* nos E.U.A., com valores de suporte de clado de 99% e 83% nas análises MV e BI. Em outro cluster, a sequência de *Bartonella* (número de acesso GenBank MG65470) obtida em um espécime de *Strebla guajiro* coletado de *Carollia perspicillata* amostrada no estado do Rio de Janeiro foi posicionada proximamente a um genótipo de *Bartonella* previamente detectado em uma mosca do gênero *Trichobius* coletada na República Dominicana (JX416249), além de genótipos detectados em morcegos no México (MF467776) e Costa Rica (KJ816683; KJ816678; KJ816672), com valores de suporte de ramo de 88% e 86% de probabilidade nas análises MV e BI, respectivamente. Além disso, um clado maior agrupou uma sequência (KY356754) detectada em um morcego da espécie

Glossophaga soricina amostrado no estado do Paraná, Brasil, e sequências previamente detectadas em cervídeos e bovinos, dentre as quais *B. capreoli* (AF293392), *B. schoenbuchii* (AJ278181) e *B. chomelii* (AY254308) com 47% e 55% de suporte de clado nas análises de MV e BI, respectivamente (**Figuras 24 e 25**).

A sequência do gene *rpoB* de *Bartonella* (número de acesso GenBank MG65474) obtida a partir de um espécime de *Megistopoda arenea* coletada de *Carollia perspicillata* amostrada no estado do Rio de Janeiro mostrou-se intimamente relacionada ao genótipo de *Bartonella* previamente detectado em um morcego (*Sturnira lillium*) no estado do Paraná, sul do Brasil, com 100% de suporte de clado. Estas duas seqüências foram posicionadas no mesmo grupo formado por *B. taylorii* (AF165995) e genótipos de *Bartonella* detectados em roedores (AB290276) e em um morcego (*Mydos rufocanus*) (AB779537) da Ásia, com suporte de ramo de 54% e 93% de probabilidade nas análises MV e BI (**Figuras 26 e 27**).

A sequência *ribC* de *Bartonella* (número de acesso GenBank MG65473) obtida de um espécime de *Megistopoda arenea* coletada de *Carollia perspicillata* amostrada no estado do Rio de Janeiro foi posicionada próxima à *B. vinsonii* subsp. *vinsonii* (AY116636), *B. vinsonii* subsp. *berkhdefii* (AY116629), *B. vinsonii* subsp. *arupensis* (AY116631 / DQ334261), com suporte de ramo de 67% pelo método MV (**Figura 28**). Quanto à Inferência Bayesiana, a sequência foi posicionada isoladamente em um ramo, mas estreitamente relacionada (74% do suporte de ramo) a *B. tribocorum* (AB292600), *B. elizabethae* (AF548030), *B.*

grahamii (DQ334264), *B. fuyuanensis* (KJ361648) e *B. rattimassiliensis* (AY515137) (**Figura e 29**).

As sequências *nuoG* de *Bartonella* (números de acesso no GenBank MG65471; MG65472) obtida de espécimes de *Strebla guajiro* e *Megistopoda arenea* coletadas de morcegos da espécie *Carollia perspicillata* e *Artibeus obscurus*, respectivamente, no estado do Rio de Janeiro, foram posicionadas em um clado único separado das demais descritas, com suporte de com suporte de ramo de 92% e 54% de probabilidade nas análises MV e BI (**Figuras 30 e 31**).

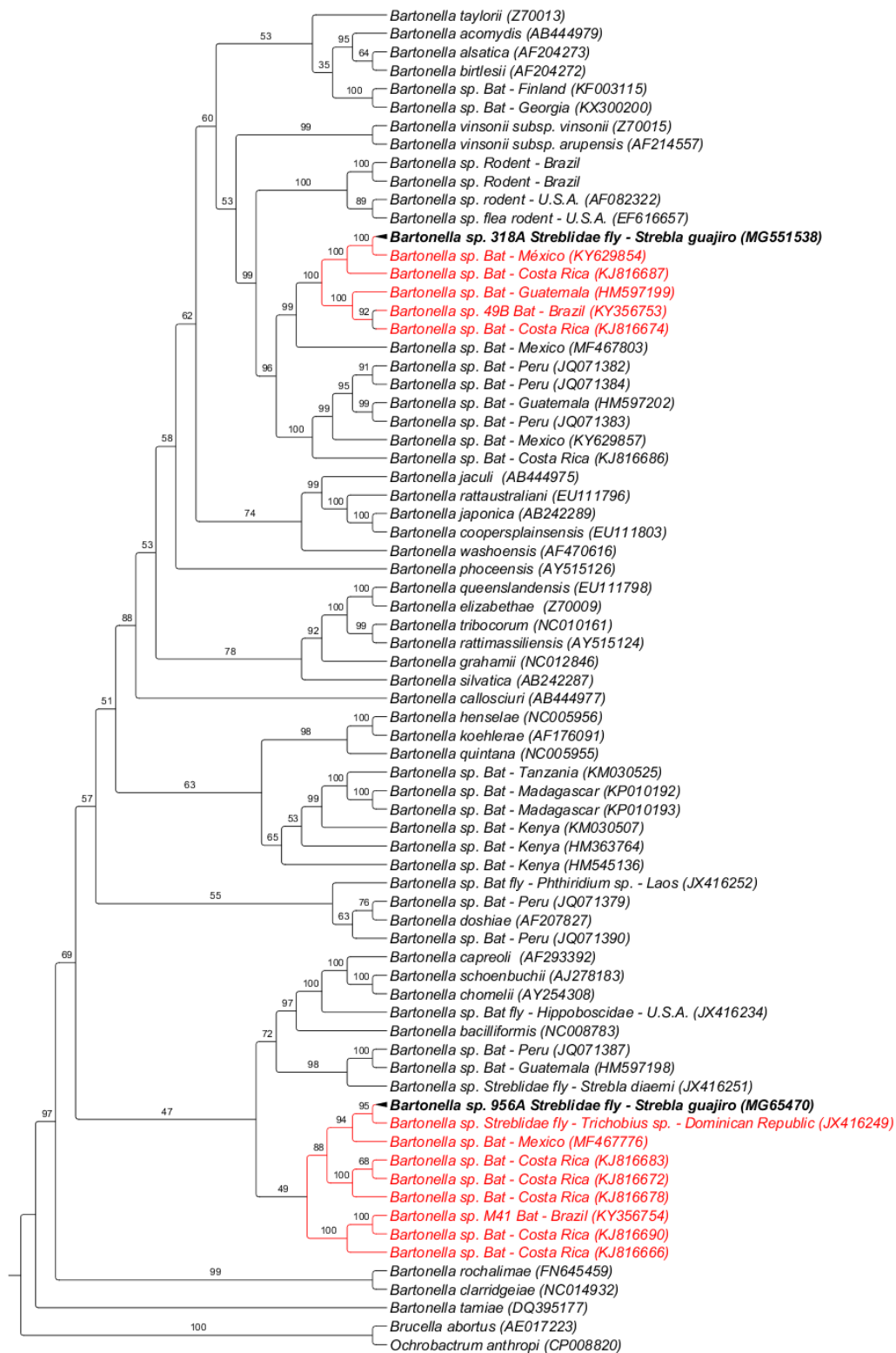


Figura 24. Análise filogenética das sequências *gltA* de *Bartonella* (1049 pb após alinhamento) com base no método de máxima verossimilhança (MV) e modelo evolutivo GTR + I + G4. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupo externo.

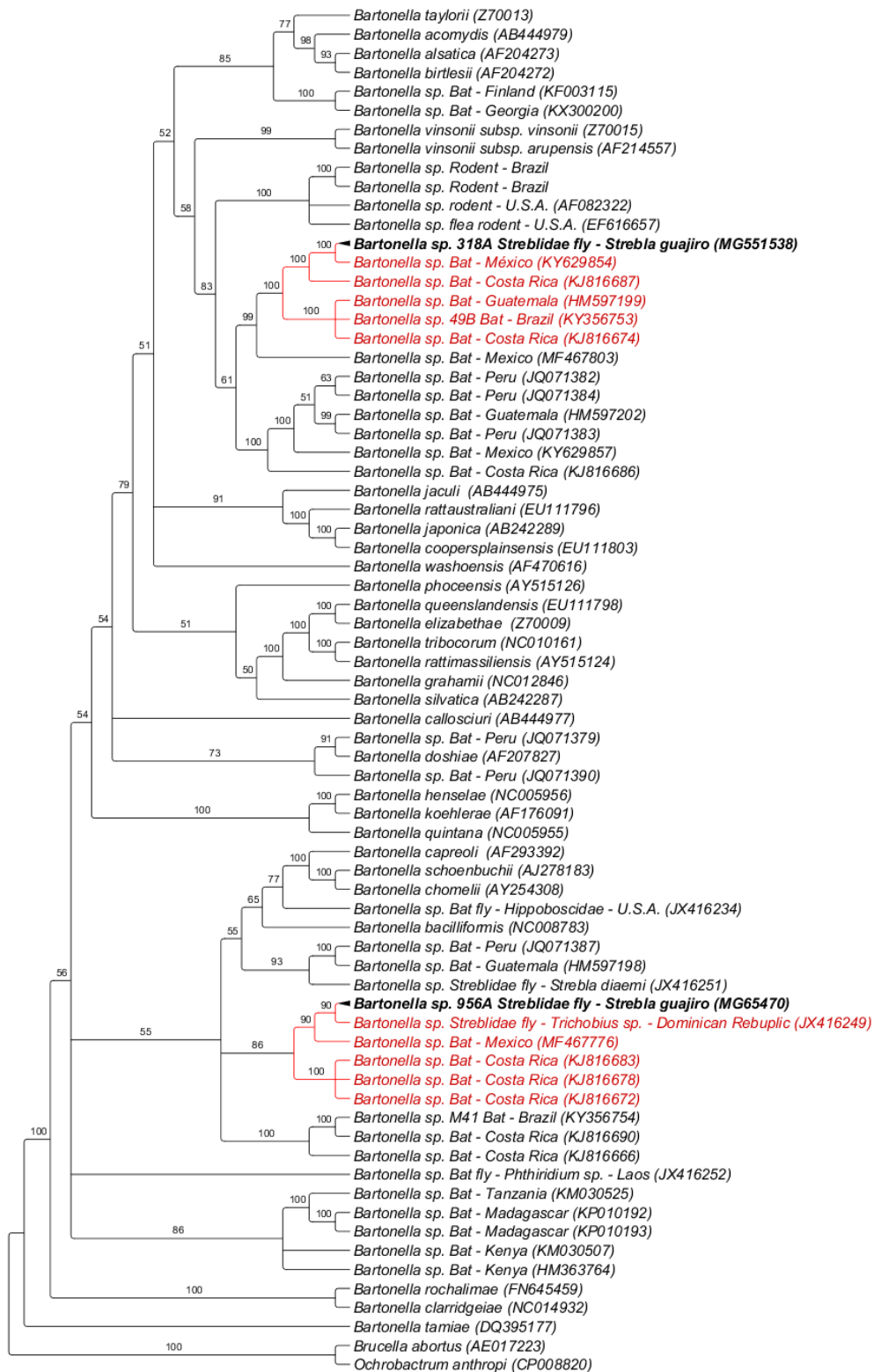


Figura 25. Análise filogenética das sequências *gltA* de *Bartonella* (1049 pb após alinhamento) com base no Método de inferência bayesiana (BI) e modelo evolutivo TIM + I + G4. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupo externo.

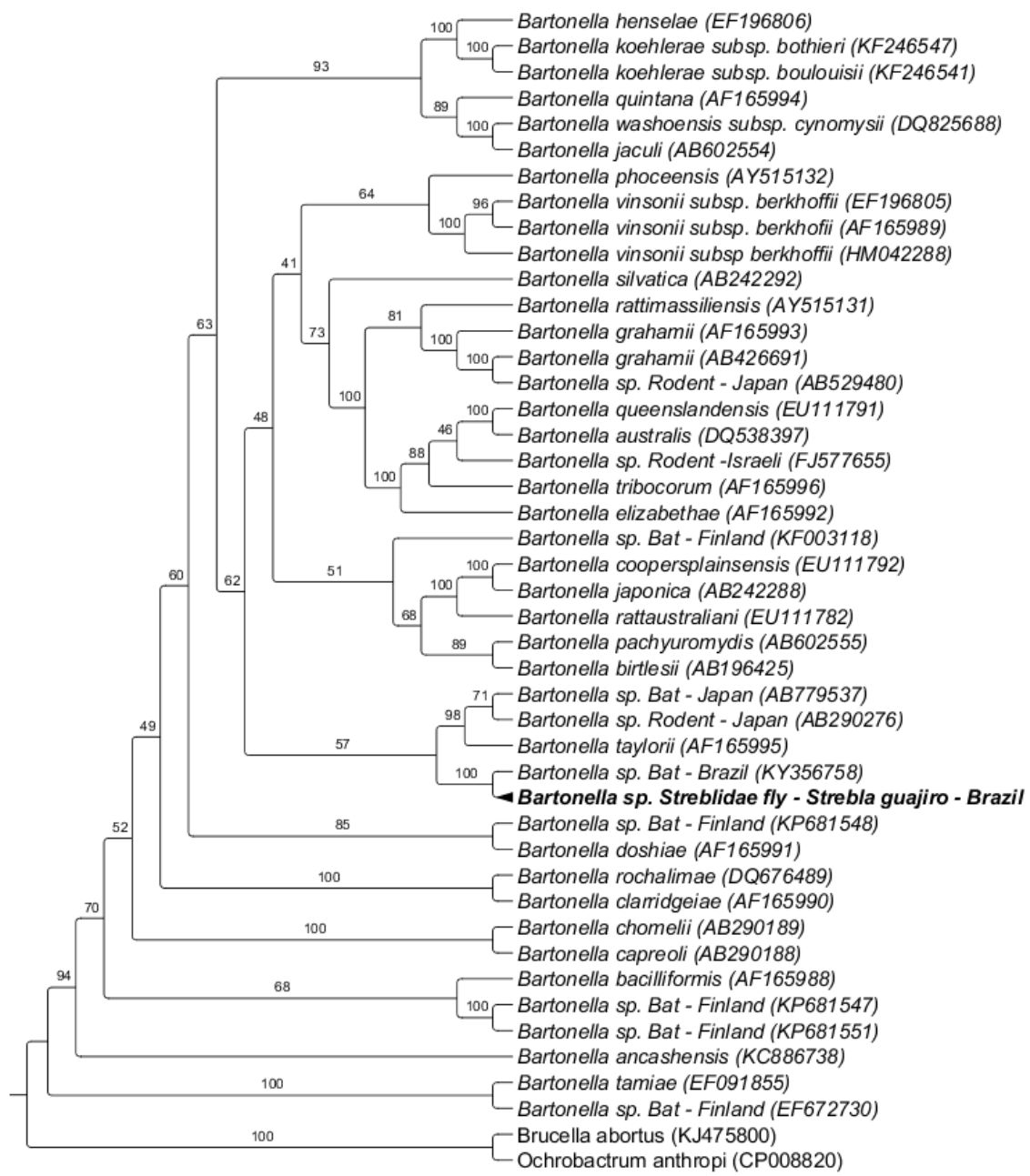


Figura 26.25 Análise filogenética das sequências *rpoB* de *Bartonella* (1500 pb após alinhamento) com base no método de máxima verossimilhança (MV) e modelo evolutivo GTR + I + G4. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupo externo.

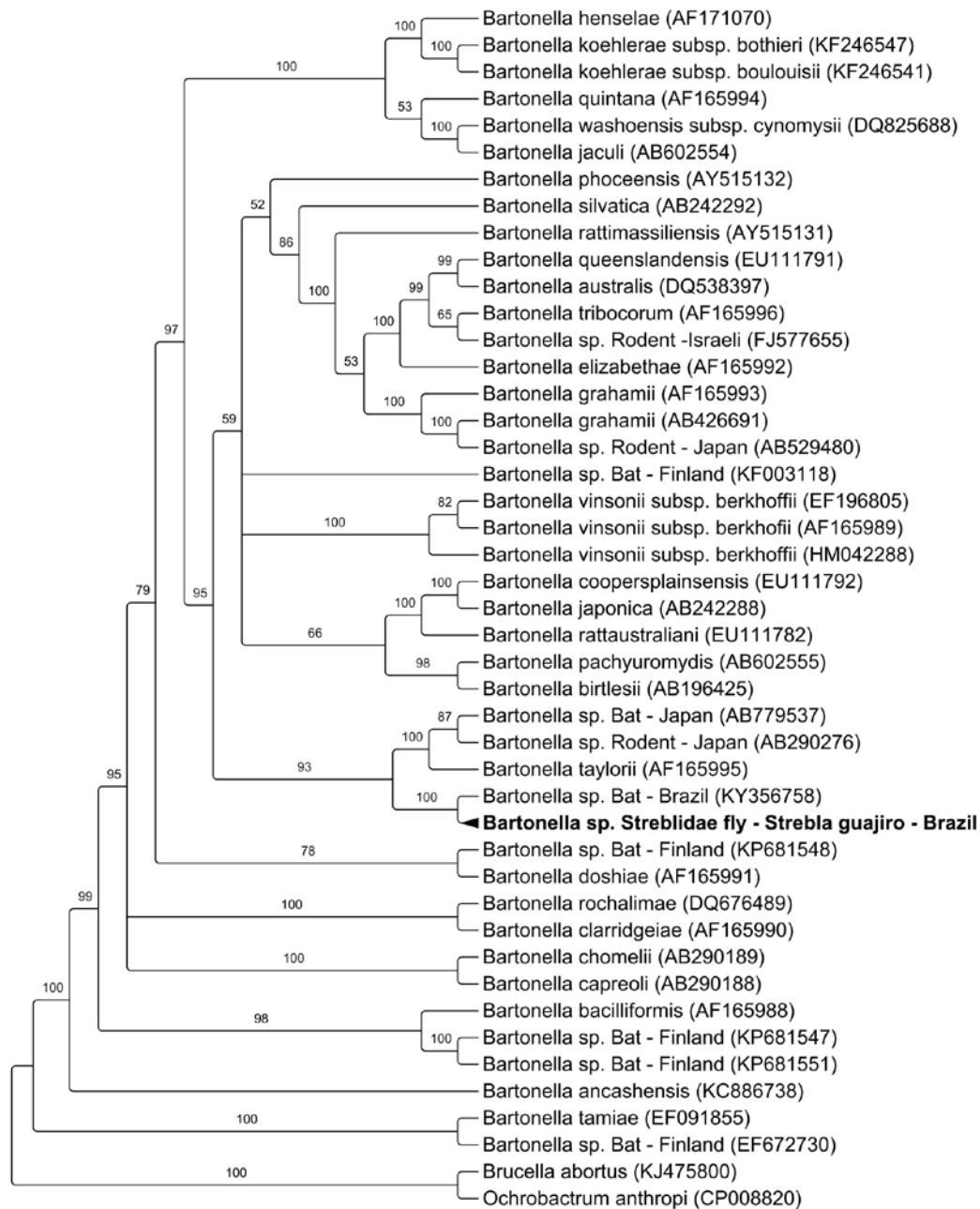


Figura 27. Análise filogenética das sequências *rpoB* de *Bartonella* (1500 pb após alinhamento) com base no método de inferência bayesiana e modelo evolutivo GTR + I + G4. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella melitensis* foi utilizado como grupo externo.

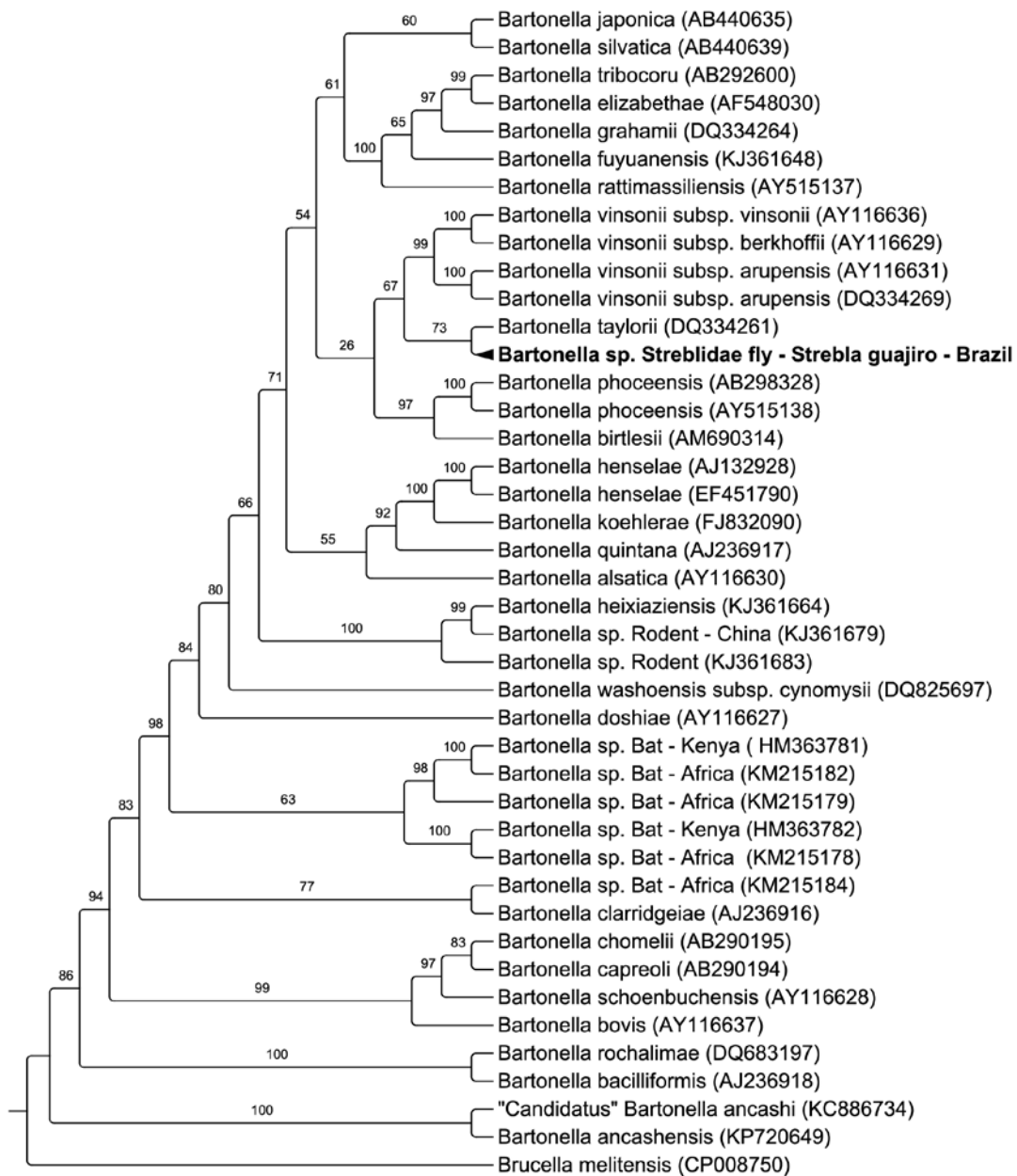


Figura 28. Análise filogenética das sequências *ribC* de *Bartonella* (641 pb após alinhamento) com base no método de máxima verossimilhança (MV) e modelo evolutivo GTR+I+G4. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella melitensis* foi utilizado como grupo externo.

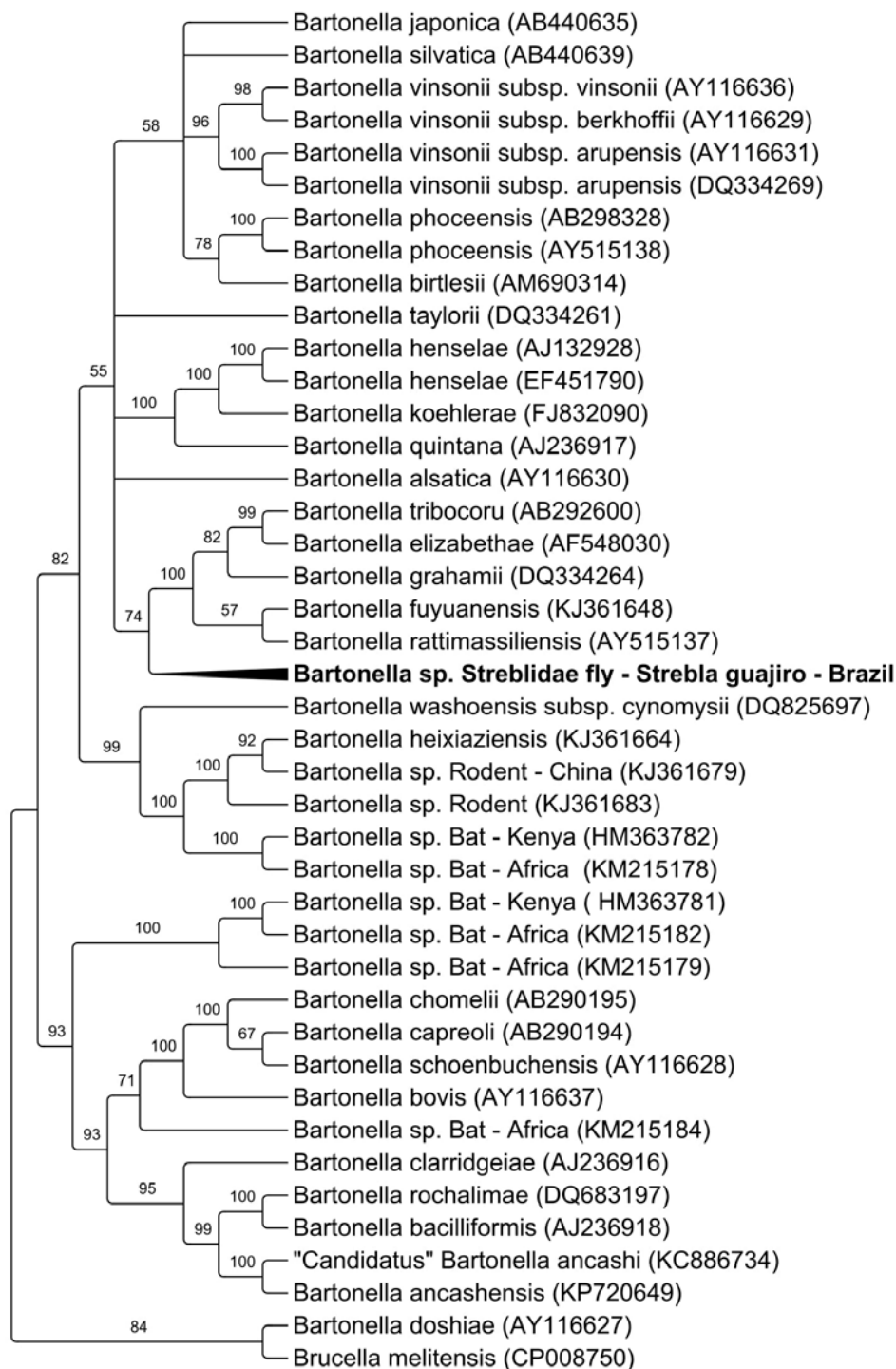


Figura 29. Análise filogenética das sequências *ribC* de *Bartonella* (641 pb após alinhamento) com base no Método de inferência bayesiana (BI) e modelo TIM+I+G. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella melitensis* foi utilizado como grupo externo.

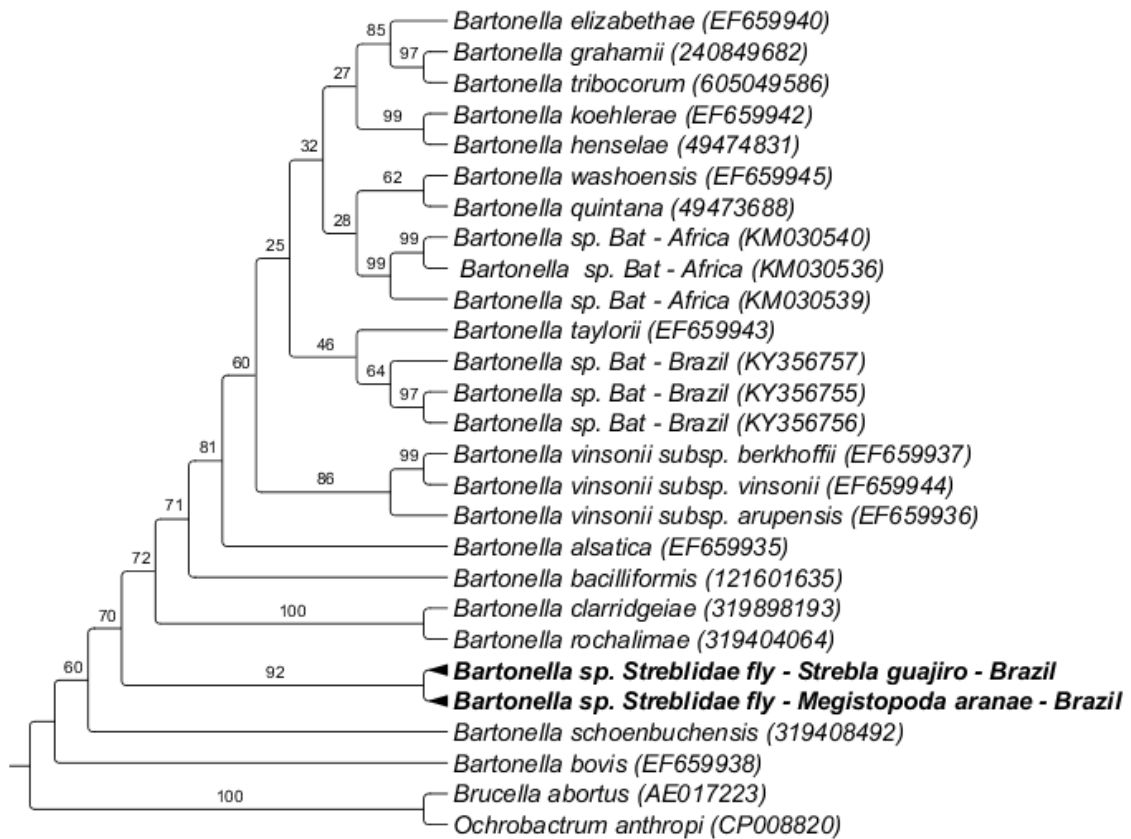


Figura 30. Análise filogenética das sequências *nuoG* de *Bartonella* (450 pb após alinhamento) com base no método de máxima verossimilhança (MV) e modelo evolutivo TIM+I+G. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupo externo.

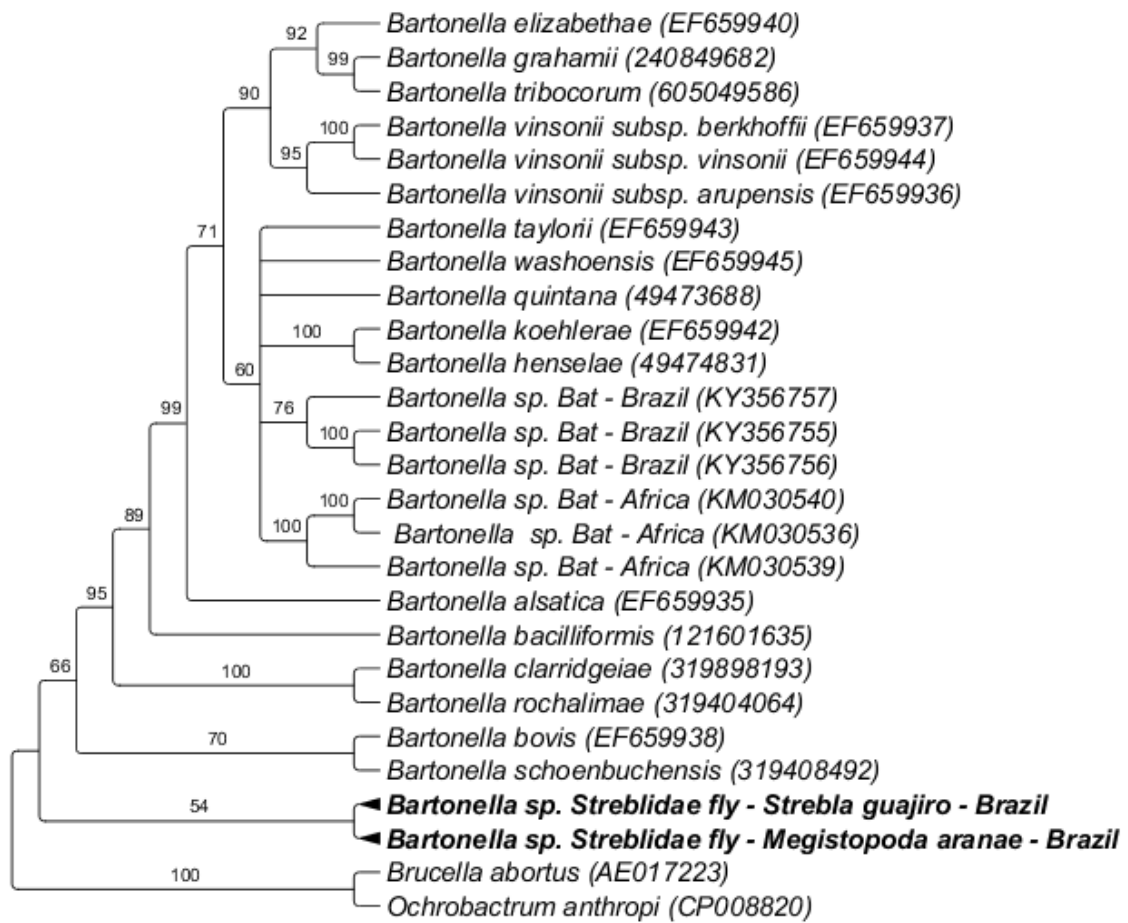


Figura 31. Análise filogenética das sequências *nuoG* de *Bartonella* (450 pb após alinhamento) com base no Método de inferência bayesiana (BI) e modelo TIM+I+G. Os números nos nós correspondem a valores de suporte de clado acessados com 1.000 repetições. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupo externo.

6. DISCUSSÃO

Os estudos envolvendo morcegos e enfermidades causadas por bactérias vêm crescendo em âmbito mundial, devido ao papel deste grupo de mamíferos como reservatórios, hospedeiros e fontes de infecção de diversos agentes patogênicos (MÜHLDORFER, 2013). O presente trabalho relatou a ocorrência e caracterização molecular de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae parasitas de morcegos em duas localidades no estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. Moscas Streblidae são ectoparasitas estritamente hematófagos de morcegos, geralmente apresentando hospedeiros específicos. Uma espécie de mosca Streblidae geralmente parasita uma única espécie de morcego ou algumas espécies intimamente relacionadas (WENZEL, 2005; DICK e PATTERSON, 2005). Este padrão de parasitismo também foi observado no presente estudo, no qual uma determinada espécie de mosca Streblidae foi encontrada parasitando não mais do que duas espécies diferentes de morcegos, pertencentes ao mesmo gênero ou família.

No presente estudo, a ocorrência de *Bartonella* encontrada entre moscas Streblidae (19,8%) foi menor que aquela encontrada entre moscas Nycteribiidae coletadas de morcegos em Gana (66,4%) (MANNERINGS et al., 2016), Nigéria (41,7%) (KAMANI et al., 2015) e Argélia (72,7%) (LEULMI et al., 2016) no continente africano, e do que aquela encontrada entre moscas Streblidae coletadas de morcegos amostrados na Costa Rica (51,8%) (JUDSON, FRANK e HADLY, 2015), na América Central. Por outro lado, a ocorrência relatada no presente estudo foi semelhante à encontrada entre moscas Nycteribiidae coletadas de morcegos na Malásia (26%) (WILKINSON et al., 2016), no continente asiático.

Embora o real papel de moscas Streblidae na transmissão de *Bartonella* spp. ainda não tenha sido confirmado, estudos anteriores sugerem que esses dípteros possam desempenhar um papel importante como hospedeiros invertebrados para este grupo de patógenos, albergando uma grande diversidade de genótipos de *Bartonella* (MORSE et al., 2012). No presente estudo, observamos diversidade de genótipos de *Bartonella* entre moscas de Streblidae pertencentes à mesma espécie, uma vez que dois genótipos de *Bartonella* foram encontrados em espécimes de *Strebla guajiro*, os quais foram posicionados em diferentes clados na filogenia baseada no gene *gltA*.

A ocorrência de *Bartonella* spp. no presente estudo foi encontrada principalmente em moscas Streblidae coletadas de morcegos das espécies *Carollia perspicillata* e *Sturnira lillium*, espécies essas descritas recentemente como hospedeiros de novos genótipos de *Bartonella* no Brasil (IKEDA et al., 2017). Entretanto, no referido trabalho, a ocorrência de *Bartonella* spp. (5,28%) mostrou-se menor que aquela encontrada entre ectoparasitas no presente estudo (19,8%). Tal achado corrobora com a hipótese de que ocorra uma hemoconcentração no trato digestivo dos artrópodes, que poderia contribuir pela melhora na sensibilidade do diagnóstico molecular de *Bartonella*. Desta forma, os ensaios moleculares realizados em artrópodes coletados de hospedeiros poderiam refletir um padrão epidemiológico mais acurado (DE SOUZA et al., 2018).

Estudos recentes envolvendo espécies de moscas Nycteribiidae coletadas de morcegos em Madagascar objetivaram relacionar ecologia bacteriana, rotas de transmissão e especificidade hospedeiro-vetor (WILKINSON et al., 2016). De acordo com Wilkinson et al. (2016), determinados genótipos de *Bartonella* e

moscas podem formar interações mutualísticas, o que pode levar à especificidade de hospedeiro. No referido estudo, embora a análise filogenética tenha agrupado os genótipos encontrados em cinco grupos diferentes de *Bartonella*, observou-se um intercâmbio de genótipos de *Bartonella* entre *Cyclopodia dubia* e *Basilia* sp., espécies de moscas Nycteribiidae que não compartilharam as mesmas espécies de morcegos como hospedeiros. Os autores sugeriram a existência de mecanismos diretos ou indiretos entre os hospedeiros vertebrados que poderiam levar à diversidade de *Bartonella* intra-específica observada nesta família de ectoparasitas (WILKINSON et al., 2016). Semelhantemente, um genótipo de *Bartonella* detectado no presente estudo em um espécime de *Strebla guajiro* coletado de um morcego da espécie *Carollia perspicillata* foi intimamente relacionado com um genótipo de *Bartonella* detectado em *Trichobius* sp. coletado de um morcego da espécie *Phyllonycteris poeyi*, morcego este que possui distribuição restrita na América Central (MANCINA, 2010). Desta forma, moscas Streblidae poderiam atuar como intercambiadores de diferentes genótipos de *Bartonella* entre seus hospedeiros vertebrados, levando à diversidade intra-específica.

Um dos genótipos de *Bartonella* detectado em um espécime de *Strebla guajiro* coletado de *Carollia perspicillata* mostrou-se intimamente relacionado a genótipos de *Bartonella* previamente detectados em morcegos na América Latina, incluindo genótipo detectado previamente no em um morcego da espécie *Sturnira lillium* no Brasil (IKEDA et al., 2017). Além disso, este mesmo genótipo de *Bartonella* também agrupou-se com sequências previamente detectadas em roedores amostrados nos EUA (ELLIS et al., 1999) e Brasil (GONÇALVES et al.,

2016). Do ponto de vista evolutivo, esse posicionamento filogenético pode sugerir uma associação entre genótipos de *Bartonella* que circulam em roedores e morcegos, embora não haja relatos de parasitismo por moscas Streblidae em roedores (KOSOY et al., 2010). Dietrich et al. (2016) também observaram que os genótipos de *Bartonella* detectados em morcegos na África do Sul e Suazilândia agruparam-se com genótipos de *Bartonella* detectados em roedores amostrados na África, embora com um suporte de clado baixo.

A filogenia baseada no gene *gltA* também demonstrou relação entre genótipos de *Bartonella* detectados em moscas Streblidae e morcegos na América Latina com espécies de *Bartonella* encontradas em ruminantes. Similarmente, com base na análise filogenética baseada no gene *ftsZ*, um genótipo de *Bartonella* detectado em um morcego da espécie *Carollia perspicilata* mostrou-se intimamente relacionado a um clado contendo sequências de *B. chomelli* e *B. schoenbuchensis* espécies essas também isoladas de ruminantes (IKEDA et al., 2017).

Embora moscas, pulgas e ácaros parasitas de morcegos não tenham sido encontrados parasitando roedores até o momento, considerando o alto grau de especificidade entre quirópteros e esses artrópodes (WENZEL et al., 1976; DICK e PATTERSON, 2006; POSPISCHIL, 2015), a ocorrência de carrapatos de morcegos em roedores não pode ser descartada. Neste sentido, o carrapato argasideo *Ornithodoros mimon*, descrito originalmente parasitando morcegos na América do Sul (KOHLS et al., 1969; VENZAL et al., 2004; GRACIOLLI et al., 2008), já foi encontrado parasitando roedores no Brasil (PEREIRA et al., 2017). Landulfo et al. (2012) simulou o ciclo de vida dessa espécie de carrapato laboratorialmente utilizando coelhos e roedores como hospedeiros. No referido trabalho, os autores

encontraram um perfil de alimentação do estágio larvário de *O. mimon* semelhante àquele encontrado em morcegos, demonstrando então que essa espécie de carrapato pode parasitar tanto roedores quanto morcegos. Adicionalmente, a ocorrência de ectoparasitas de roedores em morcegos não pode ser descartada. Esse fato poderia explicar a associação filogenética entre genótipos de *Bartonella* encontrados em morcegos e roedores. A associação mútua entre morcegos e roedores no mesmo hábitat, como cavernas, poderia proporcionar oportunidades ecológicas de exposição e compartilhamento de diversos ectoparasitas e agentes patogênicos (WILKINSON et al., 2016).

Embora não existam relatos da ocorrência de *Bartonella* em ácaros da família Spinturnicidae, DNA de *Bartonella* spp. já foi detectado em ácaros da família Macronyssidae coletados de um roedor no Egito (Reeves et al., 2007). A análise pelo BLAST mostrou uma identidade de 81% com *Bartonella* sp. SE-BartB detectada em uma pulga no Egito (DQ166942). Entretanto, até o momento então não foi comprovado se ácaros das famílias Macronyssidae e Spinturnicidae possam atuar como reservatórios e vetores de *Bartonella*.

Finalmente, é necessário salientar que os genótipos de *Bartonella* detectados em ectoparasitas de morcegos do presente estudo mostraram-se intimamente relacionados àqueles detectados anteriormente em roedores (GONÇALVES et al., 2016) e morcegos frugívoros e insetívoros (IKEDA et al., 2017) no Brasil e em diversos países da América. Tendo em mente que 75% das doenças infecciosas emergentes compreendem zoonoses, e que a maioria delas é transmitida por vetores artrópodes (BREITSCHWERDT et al., 2014), estudos sobre a capacidade vetorial de dípteros da família Streblidae na transmissão de

Bartonella spp. são necessários. O aumento do ecoturismo em cavernas no Brasil, associado ao fato que 47% de toda riqueza de espécies de morcegos é encontrada em meio urbano (NUNES et al., 2017), enfatizam a necessidade da continuidade de estudo acerca de agentes bacterianos zoonóticos circulantes em morcegos e ectoparasitas.

Por fim, segundo os critérios previamente estabelecidos por La Scola et al. (2003), os quais definiram um ponto de corte para a definição de espécies de *Bartonella* com base na identidade de sequências referentes a cinco regiões gênicas (16S rRNA, *gltA*, *groEL*, *rpoB*, *ftsZ*, *ribC*) e de uma região intergênica (ITS), os achados do presente trabalho levantam uma interessante questão sobre a relação filogenética entre os genótipos de *Bartonella* spp. encontrados em ectoparasitas da família Streblidae. Haja vista a baixa identidade das sequências encontradas com as demais previamente descritas no GenBank, sugere-se que os genótipos encontrados sejam pertencentes a uma nova espécie de *Bartonella* que circula em ectoparasitas de morcegos, porém filogeneticamente próxima àquelas encontradas em quirópteros, roedores e ruminantes.

O presente trabalho apresenta a primeira evidência molecular da ocorrência de *Bartonella* em moscas Streblidae parasitas de morcegos no Brasil. Estudos futuros com o objetivo de avaliação do papel de moscas Streblidae como vetores para agentes bacterianos zoonóticos entre morcegos são necessários.

7. CONCLUSÃO

- *Bartonella* foi detectada, por métodos moleculares, em moscas Streblidae parasitas de morcegos amostrados no estado do Rio de Janeiro, Brasil;
- A análise filogenética das sequências, suportada pela baixa identidade pelo BLAST, sugere a circulação de mais de um genótipo/espécie de *Bartonella* em moscas da família Streblidae no Rio de Janeiro, Brasil;
- Os genótipos de *Bartonella* detectados em moscas Streblidae no Brasil mostraram-se filogeneticamente próximos àqueles previamente detectados em morcegos e roedores na América, e em ruminantes na Europa, evidenciando um possível intercâmbio de espécies de *Bartonella* entre hospedeiros vertebrados pertencentes às ordens Chiroptera, Rodentia e Artiodactyla.

8. REFERÊNCIAS

- ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W. Basic local alignment search tool. **Journal de Molecular Biology**, New York, v. 215, p. 403-410, 1990.
- ALMEIDA, J. C.; Estudo da preferência de Ácaros (Acari: Spinturnicidae e Macronyssidae) Ectoparasitos, por Região Anatômica em morcegos de Área de Mata Atlântica, Rio de Janeiro, Brasil. 2012. 57f. Tese (Mestrado em Biologia Animal)
- ALMEIDA, J.C.; MARTINS, M.A.; GUEDES, P.G.; PERACCHI, A.L.; FREIRE, N.M.S. New records of mites (Acari: Spinturnicidae) associated with bats (Mammalia, Chiroptera) in two Brazilian biomes: Pantanal and Caatinga. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 18-23, 2016.
- ALGELAKIS, E.; RAOULT, D. Pathogenicity and treatment de *Bartonella* infections. **International Journal de Antimicrobial Agents**, Amesterdã. v. 44, n. 1, p.16-25, 2014.
- ANDRÉ, M. R.; DUMLER, J. S.; HERRERA, H. M.; GONCALVES, L. R.; DE SOUSA, K. C.; SCORPIO, D. G.; DE SANTIS, A. C. G. A.; DOMINGOS, I. H.; DE MACEDO, G. C.; MACHADO, R. Z. Assessment de a quantitative 5' nuclease real-time polymerase chain reaction using the nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase gamma subunit (*nuoG*) por *Bartonella* species in domiciled and stray cats in Brazil. **Journal de Feline Medicine and Surgery**, London, v. 18, n. 10, p. 783-790, 2015.
- BAI, Y.; KOSOY, M.; RECUENCO, S.; ALVAREZ, D.; MORAN, D.; TURMELLE, A.; ELLISON, J.; GARCIA, D. L.; ESTEVEZ, A.; LINDBLADE, K.; RUPPRECHT, C. *Bartonella* spp. in bats, Guatemala. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 17, n. 7, p. 1269-1272, 2011.
- BAI, Y.; KOSOY, M.; RECUENCO, S.; ALVAREZ, D.; MORAN, D.; TURMELLE, A.; ELLISON, J.; GARCIA, D. L.; ESTEVEZ, A.; LINDBLADE, K.; RUPPRECHT, C. *Bartonella* spp. in bats, Guatemala. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 17, n. 7, pp. 1269-1272, 2011.
- BAI, Y.; RECUENCO, S.; GILBERT, A. T.; OSIKOWICZ, L. M.; GO, J.; RUPPRECHT, C.; KOSOY, M. Y. Prevalence and diversity de *Bartonella* spp. in bats in Peru. **American Journal de Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 87, n. 3, pp. 518–523, 2012.
- BAKER, E. W.; WHARTON, G. W. An introduction to acarology. **The Macmillan Co.** New York: 1952. 465p.
- BENEDITO, M.C.; CUNHA, W.L. Diversidade de Ectoparasitas em Chirópteros no Campus da Faculdade de Apucarana (FAP). **Iniciação Científica CESUMAR**, Maringá, v. 15, n. 2, p. 165-170, 2013.

BEZERRA, R.H.; VASCONCELOS, P.F.; BOCCHIGLIERI, A. Ectoparasites of bats (Mammalia: Chiroptera) in Atlantic forest fragments in north-eastern Brazil. **Parasitology Research**, Berlin, v.115, p. 3759– 3765, 2016.

BIRTLES, R. J.; HARRISON, T. G.; MOLYNEUX, D. H. *Grahamella* in small woodland mammals in the U.K.: isolation prevalence and host specificity. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v. 88, n. 3. p.317-327, 1994.

BISWAS, S.; ROLAIN, J.M. *Bartonella* infection: treatment and drug resistance. **Future Microbiology**, London, v. 5, p. 1731-1731, 2010.

BREITSCHWERDT, E. B.; KORDICK, D. L. *Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential por human infection. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington. v.13, p.428-438, 2000.

BREITSCHWERDT, E. B.; MAGGI, R. G.; CHOMEL, B. B.; LAPPIN, M. R. Bartonellosis: an emerging infectious disease de zoonotic importance to animals and human beings. **Journal Veterinary Emergency and Critical Care**, San Antonio, v. 20, n. 1, p. 8-30, 2010.

BREITSCHWERDT, E. B.; MASCARELLI, P. E.; SCHWEICKERT, L. A, MAGGI, R. G.; HEGARTY, B. C.; BRADLEY, J. M.; WOODS, C. W.: Hallucinations, sensory neuropathy, and peripheral visual deficits in a young woman infected with *Bartonella koehlerae*. **Journal de Clinical Microbiology**, Washington, v. 49, n. 9, p.3415–3417. 2011

BREITSCHWERDT, E. B. Bartonellosis: One Health perspectives for an emerging infectious disease. **ILAR Journal**, Washington, v. 55, n. 1, p. 46-58, 2014.

BRENNER, D. J.; O'CONNOR, S. P.; WINKLER, H. H.; STEIGERWALT, A. G. Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., and *Bartonella elizabethae* comb. nov., and to remove the family Bartonellaceae from the order Rickettsiales. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Ames, v. 43, p. 777-786, 1993.

BROOK, C.E.; BAI, Y.; DOBSON, A.P.; OSIKOWICZ, L.M.; RANAIVOSON, H.C.; ZHU, Q.; KOSOY, M.Y.; DITTMAR, K. *Bartonella* spp. in fruit bats and blood-feeding ectoparasites in Madagascar. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v.9, n.2, p. e0003532,, 2015.

BUSTIN, S. A.; BENES, V.; GARSON, J. A.; HELLEMANS, J.; HUGGETT, J.; KUBISTA, M.; MUELLER, R.; NOLAN, T.; PFAFFL, M. W.; SHIPLEY, G. L.; VANDESOMPELE, J.; WITWER, C. T. The MIQE guidelines: minimum inpormention por publication de quantitative real-time PCR experiments. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v. 55, n. 4, p 611-622, 2009.

CONCANNON, R.; WYNN-OWEN, K.; SIMPSON, V. R.; BIRTLES, R. J. Molecular characterization de haemoparasites infecting bats (Microchiroptera) in Cornwall, UK. **Parasitology**, Londres, v. 131, p. 489-496, 2005.

- CHAMBERLIN, J.; LAUGHLIN, L. W.; ROMERO, S.; SOLORZANO, N.; GORDON, S.; ANDRE, R. G.; PACHAS, P.; FRIEDMAN, H.; PONCE, C.; WATTS, D.: Epidemiology de endemic *Bartonella bacilliformis*: a prospective cohort study in a Peruvian mountain valley community. **Journal de Infection Diseases**, Oxford. v. 186, n. 7, p. 983–990, 2002.
- CHOMEL, B. B.; BOULOUIS, H. J.; MARUYAMA, S.; BREITSCHWERDT, E.B. *Bartonella* spp. in pets and effect on human health. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 12, p. 389-394, 2006.
- CHOMEL, B. B.; BOULOUIS, H. J.; BREITSCHWERDT, E. B.; KASTEN, R. W.; VAYSSIER-TAUSSAT, M.; BIRTLES, R. J.; KOEHLER, J. E.; DEHIO, C. Ecological fitness and strategies de adaptation de *Bartonella* species to their hosts and vectors. **Veterinary Research**, Chicago, v.40, n. 2, p.29, 2009.
- COLBORN, J. M.; KOSOY, M.Y.; MOTIN, V. L.; TELEPNEV, M. V.; VALBUENA, G.; MYINT, K. S.; FOFANOV, Y.; PUTONTI, C.; FENG, C.; PERUSKI L. Improved detection of *Bartonella* DNA in mammalian hosts and arthropod vectors by real-time PCR using the NADH dehydrogenase gamma subunit (*nuoG*). **American Society for Microbiology**, Washington, v. 48, n.12, p. 4630-4633, 2010.
- DALY, J. S.; WORTHINGTON, M. G.; BRENNER, D. J.; MOSS, C. W.; HOLLIS, D. G.; WEYANT, R. S.; STEIGERWALT, A. G.; WEAVER, R. E.; DANESHVAR, M. I.; O'CONNOR, S. P.: *Rochalimaea elizabethae* sp. nov. isolated from a patient with endocarditis. **Journal de Clinical Microbiology**, Washington, v. 31, p. 872-881, 1993.
- DANTAS-TORRES, F.; SOARES, F. A. M.; RIBEIRO, C. E. B. P.; DAHER, M. R. DARRIBA, D.; TABOADA, G. L.; DOALLO, R.; POSADA, D. ModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods**, New York, v. 9, n. 8, p. 772, 2012.
- DARRIBA, D.; TABOADA, G.L.; DOALLO, R.; POSADA, D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods**, London, v. 9, n.8, p.772, 2012.
- DAVOUST, B.; MARIÉ, J.L.; DAHMANI, M.; BERENGER, J.M.; BOMPAR, J.M.; BLANCHET, D.; CHEURET, M.; RAOULT, D.; MEDIANNIKOV, O. Evidence de *Bartonella* spp. in blood and ticks (*Ornithodoros hasei*) de Bats, in French Guiana. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont. v. 16, n. 8, p. 516-519, 2016.
- DENG, H.; LE RHUN, D.; BUFFET, J. P. R.; COTTÉ, V.; READ, A.; BIRTLES, R. J.; VAYSSIER-TAUSSAT, M. Strategies de exploitation de mammalian reservoirs by *Bartonella* species. **Veterinary Research**, Paris, v. 43, p. 15, 2012.
- DE SOUSA, K. C. M.; DO AMARAL, R. B.; HERRERA, H. M.; SANTOS, F. M.; MACEDO, G. C.; DE ANDRADE, P. C. E.; BARROS-BATTESTI, D. M.; MACHADO,

R. Z.; ANDRÉ, M. R. Genetic Diversity of *Bartonella* spp. in Wild Mammals and Ectoparasites in Brazilian Pantanal. **Microbial Ecology**. 2018.

DIAS, D.; PERACCHI, A.L. Bats from Tinguá Biological Reserve, Rio de Janeiro state, southeastern Brazil (Mammalia: Chiroptera). **Revista Brasileira De Zoologia**, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 333-369, 2008.

DIAS, P.A.; SANTOS, C.L.C.; RODRIGUES, F.S.; ROSA, L.C.; LOBATO, K.S.; REBÊLO, J.M.M. Espécies de moscas ectoparasitas (Diptera, Hippoboscoidea) de morcegos (Mammalia, Chiroptera) no estado do Maranhão. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 53, n. 1, p. 128-133, 2009.

DICK, C.W.; GETTINGER, D. A faunal survey of streblid flies (Diptera: Streblidae) associated with bats in Paraguay. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 91, n. 5, p. 1015-1024, 2005.

DICK, C.W.; GRACIOLLI, G. Checklist de world Streblidae (Diptera: Hippoboscoidea) [online]. **Nation Science Foundation**, 7p, 2006.

DICK, C. W.; MILLER, J.A. Streblidae (bat flies). In: BROWN, B. V.; BORKENT, A.; CUMMING, J. M.; WOOD, D. M. **Manual of Central American Diptera**. 2ed. Ottawa: 2010. p. 1249-1260.

DICK, C.W.; PATTERSON, B.D. Bat flies: obligate ectoparasites of bats. In: **Micromammals And Macroparasites**. Springer Japan, p. 179-194, 2006.

DICK, C.W. Review of the bat flies of honduras, Central America (Diptera: Streblidae). **Journal of Parasitology Research**, New York, v. 13, 2013.

DIETRICH, M.; TJALE, M. A.; WEYER, J.; KEARNEY, T.; SEAMARK, E. C. J.; NEL, L. H.; MONADJEM, A.; MARKOTTER, W. Diversity de *Bartonella* and *Rickettsia* spp. in Bats and Their Blood-Feeding Ectoparasites from South Africa and Swaziland. **PLoS ONE**, São Francisco, v. 11, n. 3, p. e0152077, 2016.

DINIZ, P.P.V.P.; MAGGI, R.G.; SCHWARTZ, D.S.; CADENAS, M.B.; BRADLEY, M.; HEGARTY, B.; BREITCHWERDT, E.B. Canine bartonellosis: serological and molecular prevalence in Brazil and evidence of co-infection with *Bartonella henselae* and *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii*. **Veterinary Research**, Chicago, v. 38, n. 5, p. 697-710, 2007.

DITTMAR, K.; MORSE, S.F.; DICK, C.W.; PATTERSON, B.D. 13 Bat fly evolution from the Eocene to the Present (Hippoboscoidea, Streblidae and Nycteribiidae). **Parasite Diversity and Diversification: Evolutionary Ecology Meets Phylogenetics**, Dordrecht, p. 246, 2015.

ESBERÁRD, C. E. L.; ASTÚA, D.; GAISE, L.; COSTA, L. M. PEREIRA, L. G. . Do young *Carollia perspicillata* (Chiroptera: Phyllostomidae) present higher infestation

rates of Streblidae (Diptera)? **Brazilian Journal Biology**, São Carlos, v. 72, n. 3, p. 617-621, 2012.

EICHER, S.C.; DEHIO, C. *Bartonella* entry mechanisms into mammalian host. **Cellular microbiology**, Oxford, v.14, n. 8, p. 1166-73. 2012.

EREMEEVA, M. E.; GERNS, H. L.; LYDY, S. L.; GOO, J. S.; RYAN, E. T.; MATHEW, S. S.; FERRARO, M. J.; HOLDEN, J.M.; NICHOLSON, W. L.; DASCH, G. A.; KOEHLER, J. E.: Bacteremia, fever, and splenomegaly caused by a newly recognized *Bartonella* species. **The New England Journal de Medicine**, London, v. 356, p. 2381–2387, 2007.

ERIKSSON, A.; GRACIOLLI, G.; FISCHER, E. Bat flies on phyllostomid hosts in the Cerrado region: component community, prevalence and intensity of parasitism. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 3, p. 274-278, 2011.

EWING, B.; HILLIER, L; WENDL, M.C.; GREEN, P. Base-calling of automated sequencer traces using Phred. I. Accuracy Assesment. **Genome Research**, New York, v.8, n.3, p.175-1985, 1998.

FRANÇA, D.S.; PEREIRA, S.N.; MAAS, A.C.S.; MARTINS, M.A.; BOLZAN, D.P.; DIAS, D.; PERACCHI, A.L. Riqueza de moscas ectoparasitas (Diptera, Streblidae) de morcegos no Instituto Zoobotânico de Morro Azul, Paulo de Frontin, Sudeste do Brasil. **Chiroptera Neotropical**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 18-20, 2010.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, Lancaster, v. 39, n. 4, pp. 783-791, 1985.

FOLMER, O.; BLACK, M.; HOEH, W.; LUTZ, R.; VRIJENHOEK, R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. **Molecular Marine Biology And Biotechnology**, New York, v. 3, n. 5, p. 294-299, 1994.

GARDNER, A. L. Order Chiroptera Blumenbach, 1779. In: GARDNER, A.L. (eds) *Mammals de South America, vol. 1: marsupials, xenarthrans, shrews, and bats*. **The University de Chicago**, Chicago: press. p. 187-484, 2007.

GARDNER, R. A.; MOLYNEUXS, D. H.; STEBBINGS, R. E. Studies on the prevalence of haematozoa of British bats. **Mammal Review**, Oxford. v. 17, p. 75-80, 1987.

GLEZ-PEÑA, D.; GOMEZ-BLANCO, D.; REBOIRO-JATO, M.; FDEZ-RIVEROLA, F.; POSADA, D. ALTER: program-oriented conversion of DNA and protein alignments. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 38, p.14-18, 2010.

GONÇALVES, L. R.; FAVACHO, A. R. M.; ROQUE, A. L.; MENDES, N. S.; JUNIOR, O. L. F.; BENEVENUTE, J. L.; HERRERA, H. M.; D'ANDREA, P. S.; LEMOS, E. R.

S.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Association of *Bartonella* Species with Wild and Synanthropic Rodents in Different Brazilian Biomes. **Applied Environmental and Microbiology**, v. 82, p.7154–7164, 2016.

GUINDON, S.; GASCUEL, O. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. **Systematic Biology**, Oxford. v. 52, p. 696-704, 2003.

GRACIOLLI, G.; CARVALHO, C.J.B. Moscas ectoparasitas (Diptera: Hippoboscoidea) de morcegos (Mammalia: Chiroptera) do estado do Paraná. II. Streblidae. Chave pictórica para gêneros e espécies. **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 1, n. 3, p. 907-960, 2001.

GRACIOLLI, G.; CÁCERES, N.C.; BORNSCHEIN, M.R. Novos registros de moscas ectoparasitas (Diptera, Streblidae e Nycteribiidae) de morcegos (Mammalia, Chiroptera) em áreas de transição cerrado-floresta estacional no Mato Grosso do Sul, Brasil. **Biota Neotropical**, São Paulo, v.6, n.2, 2006.

GRACIOLLI, G.; LINARDI, P.M. Some Streblidae and Nycteribiidae (diptera: hippoboscoidea) from Maracá Island, Roraima, Brazil. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 1, p. 139-141, 2002.

GUERRERO, R. Catálogo de los Streblidae (Diptera: Pupipara) parasitos de murciélagos (Mammalia: Chiroptera) del nuevo mundo II. Los grupos: *pallidus*, *caecus*, *major*, *uniformis* y *longipes* del género *Trichobius* Gervais, 1844. **Acta Biologica Venezuelica**, Caracas, v. 15, p. 1-18, 1994.

GUERRERO, R. Catálogo de los Streblidae (Diptera: Pupipara) parasitos de murciélagos (Mammalia: Chiroptera) del Nuevo Mundo. III. Los grupos: *dugei*, *dunni* y *phyllostomae* del género *Trichobius* Gervais, 1844. **Acta Biologica Venezuelica**, Caracas, v. 15, p. 1-27, 1995.

GUERRERO, R. Catálogo de los Streblidae (Diptera: Pupipara) parasitos de murciélagos (Mammalia: Chiroptera) del nuevo mundo VI. Streblinae. **Acta Biologica Venezuelica**, Caracas, v.16, p.1-25, 1996.

GUERRERO, R. Notas sobre batflies (Diptera, Streblidae). I. O gênero *Trichobius*, com a descrição de duas novas espécies e novas subespécies da Venezuela. **Acta Parasitologica**, Berlin, v. 43, p. 86-93, 1998.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, Oxford, v. 41, p. 95–98, 1999.

HAN, H.J.; WEN, H.L.; ZHAO, L.; LIU, J.W.; LUO, L.M.; ZHOU, C.M.; QIN, X.R.; ZHU, Y.L.; ZHENG, X.X.; YU, X.J. Novel *Bartonella* species in insectivorous bats, northern China. **PLoS One**, São Francisco, v.12, n.1, p. e0167915, 2017.

HAMILTON, P.B.; TEIXEIRA, M. M. G.; STEVENS, J. R. The evolution of *Trypanosoma cruzi*: the bat-seeding hypothesis. **Trends parasitology**, Oxford, n. 28, p. 136–141, 2012.

HERRIN, C.S.; TIPTON, V.J. Spinturnicid mites de Venezuela. **Brigham Young University Science Bulletin**, Provo, v. 20, n. 2, p. 172, 1975.

IKEDA, P.; SEKI, M. C.; CARRASCO, A. O. T.; RUDIAK, L. V.; MIRANDA, J. M. D.; GONÇALVES, S. M. M.; HOPPE, E. G. L.; ALBUQUERQUE, A. C. A.; TEIXEIRA, M. M. G.; PASSOS, C. E.; WERTHER, K.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Evidence and molecular characterization of *Bartonella* spp. and hemoplasmas in neotropical bats in Brazil. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 145, n. 10, p. 2038-2052, 2017.

KAEWMONGKOL, G.; KAEWMONGKOL, S.; OWEN, H.; FLEMING, P. A., ADAMS, P. J.; RYAN, U.; *et al.* Candidatus *Bartonella antechini*: a novel *Bartonella* species detected in fleas and ticks from the yellow-footed antechinus (*Antechinus flavipes*), an Australian marsupial. **Veterinary Microbiology**, Amsterdã, v.149, n.3-4, p.517-521, 2011.

KURAMAE, E. E. A rapid, easy and high yield protocol for total genomic DNA isolation of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium oxysporum*. **Revista UNIMAR**, Maringá, v. 19, n.3, p.638-689, 1997

KUTTY, S.N.; PAPE, T.; WIEGMANN, B.M.; MEIER, R. Molecular phylogeny of the *Calypttratae* (Diptera: Cyclorrhapha) with an emphasis on the superfamily *Oestroidea* and the position of *Mystacinobiidae* and McAlpine's fly. **Systematic Entomology**, Chichester, v. 35, n. 4, p. 614-635, 2010.

JUDSON, S.D.; FRANK, H.K.; HADLY, E.A. Bartonellae are Prevalent and Diverse in Costa Rican Bats and Bat Flies. **Zoonoses Public Health**, Berlim, v. 62, n. 8, p. 609-617, 2015.

KAEWMONGKOL, G.; KAEWMONGKOL, S.; MCINNES, L. M.; BURMEJ, H.; BENNETT, M. D.; ADAMS, P. J.; RYAN, U.; IRWIN, P. J.; FENWICK, S. G. Genetic characterization of flea-derived *Bartonella* species from native animals in Australia suggests host-parasite co-evolution. **Infection, Genetics and Evolution**, Amesterdã, v. 11, n. 8, p. 1868-1872, 2012.

KAMANI, J.; BANETH, G.; MITCHELL, M.; MUMCUOGLU, K.Y.; GUTIÉRREZ, R.; HARRUS, S. *Bartonella* species in bats (Chiroptera) and bat flies (Nycteribiidae) from Nigeria, West Africa. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 14, n. 1, pp. 625-632, 2014.

KOSOY, M.; MORWAY, C.; SHEFF, K. W.; BAI, Y.; COLBORN, J.; CHALCRAFT, L.; DOWELL, S. F.; PERUSKI, L. F.; MALONEY, S. A.; BAGGETT, H.; SUTTHIRATTANA, S.; SIDHIRAT, A.; MARUYAMA, S.; KABEYA, H.; CHOMEL, B. B.; KASTEN, R.; POPOV, V.; ROBINSON, J.; KRUGLOV, A.; PETERSEN, L. R.: *Bartonella tamiae* sp. nov., a newly recognized pathogen isolated from three human

patients from Thailand. **Journal de Clinical Microbiology**, Washington, v. 46, n. 2, p. 772–775, 2008.

KOSOY, M.; BAI, Y.; LYNCH, T.; KUZMIN, I. V.; NIEZGODA, M.; FRANKA, R.; AGWANDA, B.; BREIMAN, R. F.; RUPPRECHT, C. E. *Bartonella* spp. in bats, Kenya. **Emerging Infectious Diseases**, Atlânta, v.16, n.12, pp. 1875-1881, 2010.

KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. MEGA 3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics**, v. 5, n. 2, p. 150-163, 2004.

LEULMI, H.; AOUADI, A.; BITAM, I.; BESSAS, A.; BENAKHLA, A.; RAOULT, D.; PAROLA, P. Detection de *Bartonella tamiae*, *Coxiella burnetii* and *rickettsiae* in arthropods and tissues from wild and domestic animals in northeastern Algeria. **Parasites & Vectors**, Londres, v. 9, n.27, p. 2-8, 2016.

LOURENÇO, E.C.; PATRÍCIO, P.M.P.; PINHEIRO, M.D.C.; DIAS, R.M.; FAMADAS, K.M. Streblidae (Diptera) on bats (Chiroptera) in an area of Atlantic Forest, state of Rio de Janeiro. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 164-170, 2014.

LILLEY, T. M.; VEIKKOLAINEN, V.; PULLIAINEN, A. T. Molecular Detection of 'Candidate Bartonella Hemsundetiensis' in Bats. **Vector-Borne and Zoonotic Disease**, Larchmont. v. 15, n. 11, p. 706-708, 2015.

LILLEY, T. M.; WILSON, C. A.; BERNARD, R. F.; WILLCOX, E. V.; VESTERINEN, E. J.; WEBBER, Q. M.; KURPIERS, L.; PROKKOLA, J. M. EJOTRE, I.; KURTA, A.; FIELD, K. A.; REEDER, D. M.; PULLIAINEN, A. T. Molecular Detection of 'Candidate Bartonella mayotimonensis' in North American Bats. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, N.Y. v. 17, n. 4, p. 243-246, 2017.

LIN, E. Y.; TSIGRELIS, C.; BADDOUR, L. M.; LEPIDI, H.; ROLAIN, J. M.; PATEL, R.; RAOULT, D. 'Candidate Bartonella mayotimonensis' and endocarditis. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 16, n. 3, p. 500–503, 2010.

LIN, J. W.; HSU, Y. M.; CHOMEL, B. B.; LIN, L. K.; PEI, J. C. WU, S. H.; CHANG, C. C. Identification de novel *Bartonella* spp. in bats and evidence de Asian gray shrew as a new potential reservoir de *Bartonella*. **Veterinary Microbiology**, Amsterdã, v.156, p. 119–126, 2012.

LINHARES, A; C. A. Komeno. *Trichobius joblingi*, *Aspidoptera falcata* and *Megistopoda proxima* (Diptera: Streblidae) parasitic on *Carollia perspicillata* and *Sturnira lilium* (Chiroptera: Phyllostomidae) in southeastern Brazil: Sex ratios, seasonality, host site preference, and effect of parasitism on the host. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 86, p. 167-170, 2000.

MACHADO-ALLISON, C.E. Las especies venezolanas del género *Periglischrus* Kolenati 1857 (Acarina: Mesostigmata, Spinturnicidae). **Acta Biologica Venezuelica**, Caracas, v. 4, p. 259-348, 1965.

- MAGGI, R. G.; BREITSCHWERDT, E. B. Isolation de Bacteriophages from *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhdefii* and the Characterization de Pap31 Gene Sequences from Bacterial and Phage DNA. **Journal de Molecular Microbiology and Biotechnology**, Wymonham, v. 9, n. 1, p. 44-51, 2005.
- MAGGI, R. G.; KOSOY, M.; MINTZER, M.; BREITSCHWERDT, E. B.: Isolation de 'Candidatus Bartonella melophagi' from human blood. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v.15, n.1, p.66–68, 2009.
- MAGGI, R. G.; MASCARELLI, P. E.; PULTORACK, E. L.; HEGARTY, B. C.; BRADLEY, J. M.; MOZAYENI, B. R.; BREITSCHWERDT, E. B. *Bartonella* spp. bacteremia in high-risk immunocompetent patients. **Diagnostic Microbiology and Infection Diseases**, New York, v. 71, n. 4, p. 430-437, 2011.
- MAGGI, R. G.; MASCARELLI, P. E.; HAVENGA, L. N.; NAIDOO, V.; BREITSCHWERDT, E. B. Co-infection with *Anaplasma platys*, *Bartonella henselae* and "Candidatus Mycoplasma haematoparvum" in a veterinarian. **Parasites & Vectors**, London, v. 6, n. 103, p.2-10, 2013.
- MANNERINGS, A. O.; OSIKOWICZ, L. M.; RESTIF, O.; NYARKO, E.; SUUIRE, R.; CUNNINGHAM, A. A.; WOOD, J. L. N.; KOSOY, M. Y. Exposure to Bat Associated *Bartonella* spp. among Humans and Other Animals, Ghana. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta. v. 22, n.5, p. 922-924, 2016.
- MCKEE, C. D.; KOSOY, M. Y.; BAI, Y.; OSIKOWICZ, L. M.; FRANKA, R.; GILBERT, A. T.; BOONMAR, S.; RUPPRECHT, C. E.; PERUSKI, L. F. Diversity and phylogenetic relationships among *Bartonella* strains from Thai bats. **PLoS One**, São Francisco, v. 12, n. 7, p. e0181696, 2017.
- MILLER, J.; TSCHAPKA, M. The bat flies de La Selva (Diptera: Nycteribiidae, Streblidae) [online]. **Washington: Systematic Entomology Lab**, 2001. Disponível em: <http://www.biologie.uni-ulm.de/bio3/Batfly/key.html>.
- MILLER, M.A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway por inference de large phylogenetic trees" in Proceedings de the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA, p. 1 – 8, 2010.
- MORAS, L.M.; BERNARDI, L.F.O.; GRACIOLLI, G.; GREGORIN, R. Bat flies (Diptera: Streblidae, Nycteribiidae) and mites (Acari) associated with bats (Mammalia: Chiroptera) in a high-altitude region in southern Minas Gerais, Brazil. **Acta Parasitologica**, São Paulo, v. 58, n. 4, p. 556–563, 2013.
- MORSE, S. F.; OLIVAL, K. J.; KOSOY, M.; BILLETER, S.; PATTERSON, B. D.; DICK, C. W.; DITTMAR, K. Global distribution and genetic diversity de *Bartonella* in bat flies (Hippoboscoidea, Streblidae, Nycteribiidae). **Infection, Genetics and Evolution**, Holanda, v. 12, n. 8, p. 1717–1723, 2012.
- MUHLDORFER, K. Bats and bacterial pathogens: a review. **Zoonoses And Public Health**, Berlin, v. 60, n. 1, p. 93-103, 2013.

MUSSO T, BADOLATO R, RAVARINO D, STORNELLO S, PANZANELLI P, MERLINO C, SAVOIA D, CAVALLO R, PONZI AN, ZUCCA M. Interaction de *Bartonella henselae* with the murine macrophage cell line J774: infection and pro inflammatory response. **Infection Immunity**, Washington, v. 69, n. 10, p. 5974-5980, 2001.

NGUYEN, L. T.; SCHMIDT, H. A.; VON HAESLER, A.; MINH, B. Q. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, n. 32, pp. 268-274, 2015.

NOGUEIRA, M. R.; DE LIMA, I. P.; MORATELLI, R.; TAVARES, V. C.; GREGORIN, R.; PERACCHI, A. L. Checklist of Brazilian bats, with comments on original records. **Check List**, Washington, D.C. v. 10 n. 4, p. 808-821, 2014.

NUNES, H.; ROCHA, F. L.; ESTRELA, P. Bats in urban areas of Brazil: food resources and parasites in disturbed environment. **Urban Ecosystems**, Londres, v. 20, n. 4, p. 953-969, 2017.

O'CONNOR, S.P.; DORSCH, M.; STEIGERWALT, A. G.; BRENNER, D. J.; STACKEBRANDT, E. 16S rRNA sequences of *Bartonella bacilliformis* and cat scratch disease bacillus reveal phylogenetic relationships with the alpha-2 subgroup of the class Proteobacteria. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 29, p. 2144-2150, 1991.

OHL, M. E.; SPACH, D. H. *Bartonella quintana* and urban trench fever. **Clinical Infection Diseases**, Chicago, v. 31, n. 1, p. 131–135, 2000.

OKSI, J.; RANTALA, S.; KILPINEN, S.; SILVENNOINEN, R.; VORNANEN, M.; VEIKKO-LAINEN, V.; EEROLA, E.; PULLIAINEN, A. T.: Cat scratch disease caused by *Bartonella grahamii* in an immunocompromised patient. **Journal de Clinical Microbiology**, Washington, v.51, n. 8, p. 2781–2784, 2013.

OLIVAL K. J.; DITTMAR, K.; BAI, Y.; ROSTAL, M. K.; LEI, B. R.; DASZAK, P.; KOSOY, M. *Bartonella* spp. in a Puerto Rican Bat Community. **Journal de Wildlife Diseases**, Ames, v. 51, n. 1, p. 274-278, 2015.

OLIVEIRA, A. M.; MAGGI, R. G.; WOODS, C. W.; BREITSCHWERDT, E. B.: Suspected needle stick transmission de *Bartonella vinsonii* subspecies *berkhoffii* to a veterinarian. **Journal de Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 24, p. 1229–1232, 2010.

OVERAL, W. L. Host-relations of the batfly *Megistopoda aranea* (Diptera: Streblidae) in Panamá. **University Kansas Science Bulletin**, Kansas, n. 5, p.1-20, 1980.

PATRÍCIO, P. M. P; LOURENÇO, E. C.; FREITAS, A. Q.; FAMADAS K. M. Host morphophysiological conditions and environment abiotic factors correlate with bat flies (Streblidae) prevalence and intensity in *Artibeus* Leach, 1821 (Phyllostomidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 4, p. 648-653, 2016.

PAZIEWSKA, A.; HARRIS, P. D.; ZWOLINSKA, L.; BAJER, A.; SINSKI, E. Recombination within and between species of the Alpha Proteobacterium *Bartonella* infecting rodents. **Microbial Ecology**, New York, v. 61, n. 1, p. 134-145, 2011.

PAZIEWSKA, A.; HARRIS, P. D.; ZWOLINSKA, L.; BAJER, A. SINSKI, E. Differences in the ecology of *Bartonella* infections of *Apodemus flavicollis* and *Myodes glareolus* in a boreal forest. **Parasitology**, Cambridge, v.139, n. 7, p. 881-893, 2012.

PETERSEN, F.T.; MEIER, R.; KUTTY, S.N.; WIEGMANN, B.M. The phylogeny and evolution of host choice in the Hippoboscoidea (Diptera) as reconstructed using four molecular markers. **Molecular Phylogenetics And Evolution**, Maryland Heights, v. 45, n. 1, p. 111-122, 2007.

PITASSI, L. H. U. *Bartonella* spp. e o risco potencial de transmissão por transfusão sanguínea. 2013. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2013.

PITASSI, L. H.; DINIZ, P. P. V. P.; SCORPIO, D. G.; DRUMMOND, M. R.; LANIA, B. G.; CASTRO, M. L. B.; GILIOLI, R.; COLOMBO, S.; SOWY, S.; BREITSCHWERDT, E. B.; NICHOLSON, W. L.; VELHO, P. E. N. F. *Bartonella* spp. bacteremia in blood donors from Campinas, Brazil. **Neglected Tropical Disease**, São Francisco. v. 9, n. 1, 2015.

POSADA, D. Chapter 6: Unit6.15 Using Modeltest and PAUP* to select a model of nucleotide substitution. In: BAXEVANIS, A.D.; DAVISON, D.B.; PAGE, R.D.M.; PETSKO, G.A.; STEIN, L.D.; STORMO, G.D. (eds.) **Current Protocols in Bioinformatics**. New York: John Wiley & Sons, 2003.

PROBERT, W.; LOUIE, J. K.; TUCKER, J. R.; LONGORIA, R.; HOGUE, R.; MOLER, S.; GRAVES, M.; PALMER, H. J.; CASSADY, J.; FRITZ, C. L.: Meningitis due to a "*Bartonella washoensis*"-like human pathogen. **Journal de Clinical Microbiology**, Washington, v. 47, n. 7, p. 2332–2335. 2009.

RADOVSKY, F. Revision of the macronyssid and laelapid mites of bats: outline of classification with descriptions of new genera and new type species. **Journal of Medical Entomology**, Oxford, v. 3, p. 93-99, 1966.

RADOVSKY, F. The Macronyssidae and Laelapidae parasitic on bats. **University of California**, California, p. 1288, 1967.

RAMÍREZ, J. D.; TAPIA-CALLE, G.; MUÑOZ-CRUZ, G.; POVEDA, C.; RENDÓN, L. M.; HINCAPIÉ, E.; GUHL, F.; Trypanosome species in neo-tropical bats: Biological, evolutionary and epidemiological implications. **Jornal of Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdã, n. 22, p. 250-256, 2014.

RAOULT, D.; ROBLOT, F.; ROLAIN, J. M.; BESNIER, J. M.; LOULERGUE, J.; BASTIDES, F.; CHOUTET, P. First isolation of *Bartonella alsatica* from a valve of a

patient with endocarditis. *Journal of clinical microbiology*, Washington, v. 44, n. 1, p. 278-279, 2006.

REDONDO, R.A.F.; BRINA, L.P.S.; SILVA, R.F.; DITCHFIELD, A.D.; SANTOS, F.R. Molecular systematics of the genus *Artibeus* (Chiroptera: Phyllostomidae). **Molecular Phylogenetic And Evolution**, Maryland Heights, v. 49, n. 1, p. 44-58, 2008.

REEVES, W. K.; LOFTIS, A. D.; GORE, J. A.; DASCH, G. A. Molecular evidence for novel *Bartonella* species in *Trichobius major* (Diptera: Streblidae) and *Cimex adjunctus* (Hemiptera: Cimicidae) from two southeastern bat caves, U.S.A. **Journal of Vector Ecology**, Hoboken, v. 30, n. 2, p. 339-41, 2005.

REEVES, W. K.; LOFTIS, A. D.; SZUMLAS, D. E.; ABBASSY, M. M.; HELMY, I. M.; HANAFI, H. A.; DASCH, G. A. Rickettsial pathogens in the tropical rat mite *Ornithonyssus bacoti* (Acari: Macronyssidae) from Egyptian rats (*Rattus spp.*). **Experimental & Applied Acarology**, Amsterdã. v. 41, n. 1-2, p. 101-107, 2007.

RUI, A. M.; GRACIOLLI, G. Moscas ectoparasitas (Diptera, Streblidae) de morcegos (Chiroptera, Phyllostomidae) no sul do Brasil: associações hospedeiros-parasito e taxas de infestação. **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 438-445, 2005.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J.P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, Edam, v. 19, n. 12, p. 1572-1574, 2003.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings de the National Academy de Sciences de the United States de America**, Washington, v. 74, n. 12, p. 5463-5467, 1977.

SANTOS, C.L.C.; DIAS, P.A.; RODRIGUES, F.S.; LOBATO, K.S.; ROSA, L.C.; OLIVEIRA, T.G.; REBÊLO, J.M.M. Moscas Ectoparasitas (Diptera: Streblidae) de Morcegos (Mammalia: Chiroptera) do Município de São Luís, MA: Taxas de Infestação e Associações Parasito-Hospedeiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, n. 5, p. 595-601, 2009.

SANTOS, L.C.; CUBILLA, M.P.; DE MORAES, W.; CUBAS, Z.S.; OLIVEIRA, M.J.; ESTRADA, M.; LEUTENEGGER, C.M.; SYKES, J.E.; LINDSAY, L.L.; MARCONDES, M.; BARROS FILHO, I.R.; BIONDO, A.W. Hemotropic mycoplasma in a free-ranging black howler monkey (*Alouatta caraya*) in Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, Ames, Iowa. v.49, n.3, p. 728-731, 2013.

SILVA, C.L.; GRACIOLLI, G. Prevalence, mean intensity of infestation and host specificity of Spinturnicidae mites (Acari: Mesostigmata) on bats (Mammalia: Chiroptera) in the Pantanal, Brazil. **Acta Parasitologica**, Warszawa, v. 58, n. 2, p. 174-179, 2013.

SILVA, C.L.; GRACIOLLI, G.; RUI, A.M. Novos Registros de Ácaros ectoparasitos (Acari: Spinturnicidae) de Morcegos (Chiroptera: Phyllostomidae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Chiroptera Neotropical**, São Paulo, n. 15, v.2, 2009.

SILVA, C.L.; VALIM, M.P.; GRACIOLLI, G. Ácaros ectoparasitos de morcegos no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, n.107 (Supl.), 2017.

SLATER, L.N.; WELCH, D.F.; MIN, K.W.: *Rochalimaea henselae* causes bacillary angiomatosis and peliosis hepatis. **Archives de Internal Medicine**, Chicago, v. 152, p. 602–606, 1992.

SOLARI, S.; HOOFER, S.R.; LARSEN, P.A.; BROWN, A.D.; BULL, R.J.; GUERRERO, J.A.; ORTEGA, J.; CARRERA, J.P.; BRADLEY, R.D.; BAKER, R.J. Operational criteria for genetically defined species: analysis of the diversification of the small fruit-eating bats, *Dermanura* (Phyllostomidae: Stenodermatinae). **Acta Chiropterologica**, Warsaw, v. 11, n. 2, p. 279-288, 2009.

STOVER, B.C.; MULLER, K.F. TreeGraph 2: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. **BMC Bioinformatics**, London, v.11, n. 7, p. 1-9, 2010.

STUCKEY, M. J.; CHOMEL, B. B.; GALVEZ-ROMERO, G.; OLAVE-LEYVA, J. I.; OBREGÓN-MORALES, C.; MORENO-SANDOVAL, H.; ARÉCHIGA-CEBALLOS, N.; SALAS-ROJAS, M.; AGUILAR-SETIÉN, A. *Bartonella* Infection in Hematophagous, Insectivorous, and Phytophagous Bat Populations of Central Mexico and the Yucatan Peninsula. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, Baltimore, v. 97, n. 2, p. 413-422, 2017.

TEELING, E. C.; SPRINGER, M. S.; MADSEN, O.; BATES, P.; O'BRIEN; S. J.; MURPHY; W. J. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. **Science**, New York, n. 307, p. 580–584, 2005.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, London, v.22, n.22, p. 4673-4680, 1994.

TRIFINOPOULOS, J.; NGUYEN, L.T.; VON HAESLER, A.; MINH, B.Q. W-IQTREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. **Nucleic Acids Research**, London, n. 44, pp. 232-235, 2016.

VIEIRA-DAMIANI, G. V.; DINIZ, P. P. V. P.; PITASSI, L. H. U.; SOWY, S. SCORPIO, D.G.; LANIA, B. G.; DRUMMOND, M. R.; SOARES, T. C. B.; CASTRO, M. L. B.; BREITSCHWERDT, E. B.; NICHOLSON, W. L.; VELHO, P. E. N. F. *Bartonella clarridgeiae* bacteremia detected in an asymptomatic blood donor. **Journal de Clinical Microbiology**, Washington, v. 53, n.1, 2015.

WELCH, D. F.; CARROLL, K. C.; HDEMEISTER, E. K.; PERSING, D. H.; ROBISON, D. A.; STEIGERWALT, A. G.; BRENNER, D. J.: Isolation de a new subspecies, *Bartonella vinsonii* subsp. *arupensis*, from a cattle rancher: identity with isolates found in conjunction with *Borrelia burgdorferi* and *Babesia microti* among naturally

infected mice. **Journal de Clinical Microbiology**, Washington. v. 37, p. 2598–2601, 1999.

WENZEL, R.L. The Streblidae bat flies of Venezuela (Diptera: Streblidae). **Brigham Young University Science Bulletin**, Provo, v.20, p.1-177, 1976.

WENZEL, R.L.; TIPTON, V.J.; KIEWLICZ, A. The streblid batflies de Panama (Diptera: Calyptera: Streblidae). In: WENZEL, R. L.; TIPTON, V.J. Ectoparasites de Panama. **Field Museum de Natural History**, Chicago, p. 405-675, 1966.

ZEAITER, Z.; FOURNIER, P-E.; OGATA, H.; RAOULT, D. Phylogenetic classification de *Bartonella* species by comparing *groEL* sequences. **International Journal de Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 52, n. 1, p.165-171, 2002.

Apêndices

Apêndice 1

Concentração de DNA ($\eta\text{G}/\mu\text{L}$) e relações 260/280 e 260/230 das amostras de DNA extraídas das moscas da família Streblidae, sendo a primeira amostra o “pool” de 4 amostras.

| Hospedeiro | Gênero | Espécie | Quantificação ($\eta\text{G}/\mu\text{L}$) | 260/280 | 260/230 |
|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|---|---------|---------|
| <i>Desmodus rotundus</i> | <i>Strebla</i> | <i>wiedemanni</i> | 3.0 | 0.84 | -0.3 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -48.8 | -8.53 | 0.48 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.8 | 2.09 | -0.36 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.1 | 0.43 | 0.03 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.6 | 0.59 | 0.19 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.4 | 0.69 | -0.10 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -1.1 | 0.99 | 0.33 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.4 | 0.44 | 0.11 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.8 | -8.59 | 0.12 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 1.1 | 0.37 | 0.08 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.3 | 0.15 | 0.13 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.2 | 1.68 | 0.13 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 1.3 | -0.06 | 0.00 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.0 | 5.71 | 0.38 |
| <i>Artibeus fimbriatus</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>phyllostomatis</i> | 0.2 | 1,71 | 0.38 |
| <i>Artibeus fimbriatus</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>phyllostomatis</i> | -0.8 | 0.66 | 0.10 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.5 | 2.16 | -0.54 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 10.9 | 0.9 | 0.29 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.2 | 0.00 | 0.00 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 2.7 | 1.11 | 0.11 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -1.6 | 1.10 | 0.15 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -2.3 | 0.92 | 0.91 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 3.5 | 2.00 | 1.6 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.2 | 10.6 | 0.17 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.9 | 0.38 | 0.22 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.6 | 0.9 | 0.35 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -2.0 | 1.08 | 0.48 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.9 | 0.98 | -4.84 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.4 | 0.85 | 3.08 |
| <i>Artibeus fimbriatus</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>phyllostomatis</i> | 0.5 | 0.53 | 0.11 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|-------|-------|-------|
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.4 | 0.94 | 0.38 |
| <i>Artibeus fimbriatus</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>aranea</i> | -0.6 | 0.52 | 0.38 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.9 | 2.10 | 0.14 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.1 | 0.41 | -3.94 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>phyllostomatis</i> | -0.6 | 0.46 | -0.49 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 1.0 | 0.4 | 0.73 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.9 | 0.6 | -1.7 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.5 | 0.61 | 0.75 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.01 | 0.10 | 0.72 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.1 | -0.04 | -0.09 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.9 | -1.04 | 0.41 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.6 | 0.75 | 0.46 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 1.2 | 0.31 | 0.05 |
| <i>Artibeus fimbriatus</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>phyllostomatis</i> | -0.6 | 0.55 | 0.24 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.3 | 0.89 | 0.14 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.5 | -0.28 | 0.48 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.4 | 1.32 | 0.73 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.9 | 0.54 | 0.12 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.2 | 0.10 | 0.45 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.1 | 0.8 | 0.31 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 1.2 | 1.11 | 0.73 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.2 | 1.54 | 0.23 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.3 | -5.34 | 0.46 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.6 | 1.94 | 0.32 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 1.4 | 1.6 | 0.56 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.7 | 0.53 | 0.11 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.0 | 0.57 | 0.34 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.5 | 0.46 | 0.65 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.6 | 2.00 | 0.77 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.5 | 2.1 | 0.26 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.3 | 0.52 | 0.45 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|-------------------------------|--------------------|-----------------|------|-------|------|
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 0.2 | 0.89 | 0.23 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.8 | 0.69 | 0.88 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1,1 | 0.4 | 0.34 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.5 | 0.00 | 0.36 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.2 | 1.11 | 0.43 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>anducei</i> | 0.6 | 0.94 | 0.54 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 1.6 | 2.15 | 0.48 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 3.0 | 0.99 | 0.85 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.9 | 0.43 | 0.21 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.4 | 0.38 | 0.01 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.2 | -0.05 | 0.64 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.8 | 0.37 | 0.56 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 0.67 | 0.44 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.4 | 0.52 | 0.30 |
| <i>Artibeus fimbriatus</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>aranaea</i> | -1.3 | 0.91 | 0.42 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 1.1 | 1.71 | 0.61 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 0.3 | 1.68 | 0.68 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.5 | 0.79 | 0.46 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.8 | 0.93 | 0.30 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.3 | 0.79 | 0.13 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.1 | 0.82 | 0.11 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.5 | 0.90 | 0.15 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.7 | 1.15 | 0.56 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.4 | 1.67 | 0.09 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.2 | 1.03 | 0.35 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.1 | 2.7 | 0.49 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 0.59 | 1.2 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|------|-------|------|
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.9 | 0.31 | 0.16 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.0 | 0.43 | 0.67 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.3 | 0.8 | 0.34 |
| <i>Artibeus planirostris</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>phyllostomatis</i> | -0.1 | 0.78 | 0.63 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.5 | 1.07 | 0.66 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 1.7 | 1.30 | 0.20 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.3 | 0.78 | 0.47 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.2 | 1.99 | 0.17 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.1 | 1.63 | 0.66 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.7 | 0.44 | 0.48 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.2 | 0.14 | 0.28 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.3 | 0.09 | 0.36 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>anducei</i> | 0.6 | 0.67 | 0.13 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.3 | 0.11 | 0.65 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>anducei</i> | -0.2 | 1.16 | 0.23 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 1.4 | -0.29 | 0.41 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.4 | 0.75 | 0.46 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.6 | 0.61 | 0.63 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.1 | 0.45 | 0.88 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>anducei</i> | 0.9 | 0.55 | 0.18 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.5 | 0.84 | 0.44 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.3 | 0.36 | 0.58 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -1.0 | 0.76 | 0.12 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 2.0 | 0.89 | 0.73 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 3.4 | 1.55 | 0.80 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.6 | 1.54 | 0.72 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.2 | 1.47 | 0.75 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|-------------------------------|-----------------------|-----------------------|------|-------|------|
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>anducei</i> | 0.6 | 1.04 | 0.49 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 0.3 | 1.64 | 0.64 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrachobius</i> | <i>longicrus</i> | 1.1 | 1.31 | 0.47 |
| <i>Artibeus fimbriatus</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>phyllostomatis</i> | -2.3 | 0.45 | 0.05 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrachobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.1 | 0.33 | 0.17 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 0.4 | 0.86 | 0.27 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.2 | 0.8 | 0.43 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.4 | 1.11 | 0.49 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 0.7 | 0.67 | 0.52 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 0.1 | 0.59 | 0.58 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.9 | 0.4 | 0.21 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.4 | 2.5 | 0.33 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.9 | 1.69 | 0.62 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrachobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.7 | 1.15 | 0.4 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.1 | 1.93 | 0.65 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.5 | 0.43 | 0.67 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.1 | 0.64 | 0.54 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.3 | 0.15 | 0.14 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 1.2 | 0.87 | 0.19 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 0.4 | 0.47 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.6 | -1.16 | 0.55 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.3 | 0.52 | 0.10 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.5 | 0.67 | 0.54 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.1 | 0.99 | 0.52 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 0.1 | 1.09 | 0.44 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 1.9 | 0.20 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 0.3 | 1.94 | 0.9 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.9 | 0.92 | 0.41 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.5 | 0.37 | 0.49 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|-------------------------------|-----------------------|------------------|------|------|------|
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 1.1 | 2.09 | 0.73 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.9 | 2.67 | -1,2 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.2 | 1.18 | 0.14 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.0 | 0.33 | 0.54 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.8 | 0.99 | 0.66 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -2.7 | 1.6 | 0.27 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1.6 | 1.39 | 0.03 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -2.0 | 1.43 | 0.49 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 3.3 | 0.22 | 0.83 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 2.1 | 0.19 | 0.9 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.2 | 0.08 | 0.46 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1.3 | 0.91 | 0.31 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.5 | 0.44 | 0.67 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.7 | 0.56 | 0.32 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.1 | 0.78 | 0.35 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1.5 | 0.69 | 0.03 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1 | 0.32 | 0.29 |
| <i>Diphyla ecaudata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>furmani</i> | -0.5 | 1.12 | 0.55 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -2.3 | 0.04 | 0.02 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.8 | 0.53 | 0.4 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.3 | 0.12 | 0.0 |
| <i>Desmodus rotundus</i> | <i>Trichobius</i> | <i>furmani</i> | 0.6 | 0.14 | 0.30 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.3 | 0.38 | 0.15 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -1.6 | 1.7 | 0.16 |
| <i>Desmodus rotundus</i> | <i>Trichobius</i> | <i>furmani</i> | -1.4 | 0.48 | 0.74 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 2.1 | 0.73 | 0.70 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 4.0 | 0.25 | 0.53 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.2 | 0.51 | 0.19 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.4 | 1.45 | 0.8 |
| <i>Desmodus rotundus</i> | <i>Trichobius</i> | <i>furmani</i> | 0.1 | 1.32 | 0.26 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.2 | 1.60 | 0.58 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.6 | 1.73 | 0.19 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 2.1 | 1.59 | 2.5 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1.6 | 0.49 | 0.17 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|-------------------------------|-----------------------|------------------|------|-------|-------|
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -1.5 | 0.63 | 0.68 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 1.3 | 0.46 | -0.56 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 1.7 | 0.38 | 0.48 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | 0.4 | 1.3 | 0.35 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.6 | 1.39 | 0.11 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.3 | 1.69 | 0.39 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.0 | 0.45 | 0.02 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.9 | 0.9 | 0.08 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.2 | 0.10 | 0.28 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.8 | 0.05 | 0.01 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.2 | 0.89 | 0.17 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.1 | 0.33 | 0.63 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.1 | 1.54 | 0.9 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.2 | 1.34 | 0.82 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -2.7 | 1.42 | 0.46 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.1 | 1.11 | 0.27 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.6 | 1.08 | 0.38 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 2.1 | 1.60 | 0.73 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.9 | 0.75 | 0.07 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 0.45 | 0.26 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.5 | 0.63 | 0.51 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.9 | 0.73 | 0.45 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.6 | 0.67 | 0.19 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -1.0 | 0.61 | 0.91 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.1 | -0.24 | 0.72 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.9 | 0.6 | 0.42 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.5 | 0.84 | 0.30 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 0.73 | 0.17 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.2 | 0.43 | 0.22 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 1.0 | 1.63 | 0.11 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.6 | 0.75 | 0.29 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|------------------------------|-----------------------|------------------|------|-------|-------|
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 1.4 | 1.63 | 0.54 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.2 | 0.56 | 0.28 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.6 | 0.42 | 0.75 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.7 | 0.99 | 0.48 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1.0 | 0.87 | 0.15 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.6 | 1.75 | 0.71 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.1 | 1.36 | 0.71 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.7 | 0.64 | 0.43 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.6 | 1.2 | 0.43 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.0 | 0.0 | -0.16 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.4 | 0.23 | 0.52 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.3 | 0.1 | 0.12 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 1.3 | 0.6 | 0.61 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.2 | -0.67 | 0.73 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.9 | 0.44 | 0.13 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.3 | 0.98 | 0.51 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -1.8 | 0.34 | 0.34 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -2.4 | 0.65 | 0.41 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.4 | 0.76 | 0.18 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.3 | 0.82 | 0.54 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -1.1 | 1.10 | 0.63 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.3 | 1.6 | 0.34 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.1 | 1.06 | 0.96 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.7 | 0.14 | 0.32 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 1.1 | 1.7 | 0.37 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 2.5 | 2.67 | 1.2 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.3 | 1.00 | 0.93 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 2.2 | 1.56 | 0.43 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.6 | 1.34 | 0.80 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1.6 | 0.13 | 0.83 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -2.1 | 0.9 | 0.5 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.3 | 0.82 | 0.90 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.0 | 0.94 | 0.25 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 1.2 | 1.98 | 0.92 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.7 | 1.18 | 0.12 |
| <i>Artibeus planirostris</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.5 | 1.53 | 0.43 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|------------------------------|-----------------------|-------------------|------|-------|------|
| <i>Artibeus planirostris</i> | <i>Paratrichobius</i> | <i>longicrus</i> | -0.5 | 1.53 | 0.43 |
| <i>Desmodus rotundus</i> | <i>Strebla</i> | <i>wiedemanni</i> | 1.3 | 1.23 | 0.77 |
| <i>Artibeus obscurus</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>aranea</i> | 0.5 | 0.15 | 0.30 |
| <i>Artibeus obscurus</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>aranea</i> | 1.0 | 0.85 | 0.45 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.5 | 0.61 | 0.75 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.6 | 0.55 | 0.24 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.3 | 0.89 | 0.14 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Trichobius</i> | <i>anducei</i> | 1.4 | -5.34 | 0.12 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Trichobius</i> | <i>anducei</i> | 3.0 | 0.89 | 0.46 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Trichobius</i> | <i>anducei</i> | 0.0 | 0.57 | 0.34 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.6 | 2.15 | 0.48 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.9 | 0.99 | 0.85 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 1.1 | 0.43 | 0.21 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.6 | 1.32 | 0.12 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.0 | 1.54 | 0.45 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -1.3 | 0.53 | 0.31 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.3 | 0.75 | 0.73 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1,1 | 0.00 | 0.23 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 1.4 | 1.11 | 0.56 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.7 | 0.94 | 0.34 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 3.0 | 2.15 | 0.12 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.4 | 0.99 | 0.34 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.4 | 0.43 | 0.46 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.8 | 0.38 | 0.23 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 1.6 | 0.52 | 0.34 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 3.0 | 0.94 | 0.36 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.2 | 1.11 | 0.43 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.4 | 0.4 | 0.54 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 1.1 | -0.05 | 0.48 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1.3 | 0.37 | 0.85 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1,1 | 0.67 | 0.21 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.7 | 0.52 | 0.01 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.1 | 0.91 | 0.64 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.3 | 1.99 | 0.56 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1.3 | 2.15 | 0.36 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 1.1 | 0.38 | 0.43 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|------------------------|--------------------|-----------------|------|-------|------|
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.8 | 0.67 | 0.54 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 1.6 | 1.68 | 0.48 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.4 | 0.79 | 0.64 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.9 | 0.93 | 0.56 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.8 | 0.67 | 0.44 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.2 | 0.52 | 0.30 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.4 | 0.91 | 0.42 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.9 | 0.79 | 0.68 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.1 | 1.15 | 0.13 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 1.7 | 2.7 | 0.13 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.3 | 0.31 | 0.56 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.2 | 0.59 | 0.35 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1.1 | 0.52 | 0.23 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.2 | 1.54 | 0.23 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.3 | -5.34 | 0.46 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.6 | 1.94 | 0.32 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.7 | 2.7 | 0.49 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.2 | 1.03 | 0.35 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -1.1 | 2.7 | 0.49 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.1 | 0.78 | 0.63 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.3 | 0.44 | 0.48 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.4 | 0.14 | 0.28 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.8 | 0.59 | 1.2 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.1 | 1.11 | 0.27 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -1.6 | 1.08 | 0.38 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 2.1 | 1.60 | 0.73 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.9 | 0.75 | 0.07 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.4 | 0.45 | 0.26 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.5 | 1.60 | 0.26 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.4 | 0.61 | 0.51 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.2 | -0.24 | 0.45 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 1.0 | 0.6 | 0.19 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.6 | 0.84 | 0.91 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 1.4 | 0.73 | 0.72 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.2 | 1.60 | 0.42 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.7 | 0.99 | 0.48 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------|-----------------|------|-------|------|
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.0 | 0.87 | 0.15 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 1.4 | 1.60 | 0.17 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.1 | 1.2 | 0.71 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.4 | 0.64 | 0.48 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.6 | 1.60 | 0.11 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 1.4 | 1.60 | 0.52 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.2 | 0.56 | 0.71 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.6 | 0.42 | 0.71 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.2 | -0.67 | 0.73 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.9 | 0.44 | 0.13 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.3 | 0.98 | 0.51 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -1.8 | 0.34 | 0.34 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -2.4 | 0.65 | 0.41 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.7 | 1.75 | 0.34 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.4 | 1.36 | 0.41 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.1 | 0.64 | 0.18 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 2.1 | 1.2 | 0.48 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>falcata</i> | -0.9 | 0.0 | 0.26 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>falcata</i> | 0.4 | 0.75 | 0.51 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>falcata</i> | 0.5 | 0.45 | 0.45 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.9 | 0.63 | 0.19 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -2.4 | 0.73 | 0.37 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.6 | 0.67 | 1.2 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 0.6 | 1.11 | 0.93 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | -0.5 | 1.08 | 0.43 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -0.5 | 1.60 | 0.80 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 1.3 | 0.75 | 0.17 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.5 | 0.45 | 0.22 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 2.2 | 1.56 | 0.11 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | -2.1 | 1.7 | 0.29 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 1.3 | 1.23 | 0.77 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 0.5 | 0.15 | 0.30 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>falcata</i> | 1.0 | 0.85 | 0.45 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Megistopoda</i> | <i>proxima</i> | 3.4 | 0.75 | 0.75 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.6 | 0.45 | 0.49 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|-------------------------------|--------------------|-----------------------|------|------|------|
| <i>Artibeus fimbriatus</i> | <i>Aspidoptera</i> | <i>phyllostomatis</i> | 0.2 | 0.63 | 0.64 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.6 | 0.73 | 0.47 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 2.2 | 0.67 | 0.05 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.0 | 1.64 | 0.17 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.4 | 1.11 | 0.49 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 0.7 | 0.67 | 0.52 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.5 | 0.67 | 0.54 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.1 | 0.99 | 0.52 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.1 | 1.09 | 0.44 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 1.9 | 0.20 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.3 | 1.94 | 0.9 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.0 | 1.94 | -1,2 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.8 | 0.92 | 0.14 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -2.7 | 0.37 | 0.54 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.6 | 2.09 | 0.66 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -2.0 | 2.67 | 0.27 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | 3.3 | 1.18 | 0.03 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -1.3 | 0.33 | 0.66 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.5 | 0.32 | 0.67 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.7 | 1.12 | 0.32 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.1 | 0.04 | 0.35 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.5 | 0.67 | 0.54 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.1 | 0.99 | 0.52 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>anducei</i> | -1.5 | 0.56 | 0.35 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -2.3 | 0.78 | 0.02 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.0 | 0.53 | 0.15 |

Continua...

Continuação...

| | | | | | |
|-------------------------------|-------------------|-----------------|------|------|-------|
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Strebla</i> | <i>guajiro</i> | -0.8 | 0.12 | 0.16 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.6 | 0.38 | 0.29 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -2.7 | 0.0 | 0.0 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.5 | 0.14 | 0.30 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 0.48 | 0.83 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.5 | 1.43 | 0.83 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -1.6 | 0.99 | 0.03 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.9 | 0.33 | 0.27 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.5 | 1.39 | 0.54 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.1 | 0.69 | 0.9 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.1 | 0.38 | 0.15 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 4.0 | 0.08 | 0.53 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 1.59 | 0.19 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 1.39 | -0.56 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 1.3 | 1.69 | 0.02 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 1.7 | 0.45 | 0.17 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 0.51 | 0.68 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.4 | 1.32 | 2.5 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>anducei</i> | 0.1 | 0.25 | 0.8 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | -0.2 | 0.63 | 0.68 |
| <i>Carollia perspicillata</i> | <i>Trichobius</i> | <i>joblingi</i> | 0.0 | 0.25 | 0.48 |

Apêndice 2

Concentração de DNA ($\eta\text{G}/\mu\text{L}$) e relações 260/280 e 260/230 dos “pools” de ácaros, sendo as 10 primeiras amostras da família Spinturnicidae e as 10 últimas da família Macronyssidae.

| Hospedeiro | Gênero | Espécie | Quantificação ($\eta\text{G}/\mu\text{L}$) | 260/208 | 260/230 |
|---------------------------|-----------------------|----------------------|--|---------|---------|
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Periglischrus</i> | <i>iheringi</i> | 0,7 | 0,38 | 0.49 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Periglischrus</i> | <i>iheringi</i> | 0 | 0,02 | 1.2 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Periglischrus</i> | <i>iheringi</i> | 1,3 | 4,16 | 0.16 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Periglischrus</i> | <i>iheringi</i> | 4,16 | -0,35 | 0.20 |
| <i>Artibeus lituratus</i> | <i>Periglischrus</i> | <i>iheringi</i> | 0.2 | 0.14 | 0.28 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Periglischrus</i> | <i>ojasti</i> | 0.3 | 0.09 | 0.36 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Periglischrus</i> | <i>ojasti</i> | -0,2 | 0,39 | 0.30 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Periglischrus</i> | <i>ojasti</i> | -0,1 | 0,49 | 0.13 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Periglischrus</i> | <i>ojasti</i> | -0,3 | -0,75 | 0.11 |
| <i>Sturnira lilium</i> | <i>Periglischrus</i> | <i>ojasti</i> | 0,2 | -0,9 | 0.13 |
| <i>Molossus rufus</i> | <i>Chiroptonyssus</i> | <i>haematophagus</i> | -0,5 | 0,59 | 0.65 |
| <i>Molossus rufus</i> | <i>Chiroptonyssus</i> | <i>haematophagus</i> | 0,7 | 0,54 | 0.23 |
| <i>Molossus rufus</i> | <i>Chiroptonyssus</i> | <i>haematophagus</i> | 0,6 | -0.29 | 0.41 |
| <i>Molossus rufus</i> | <i>Chiroptonyssus</i> | <i>haematophagus</i> | 0,1 | 0.75 | 0.46 |
| <i>Molossus rufus</i> | <i>Chiroptonyssus</i> | <i>haematophagus</i> | 0,7 | 0.61 | 0.63 |
| <i>Molossus molossus</i> | <i>Chiroptonyssus</i> | <i>haematophagus</i> | -0,4 | 0.78 | 0.09 |
| <i>Molossus molossus</i> | <i>Chiroptonyssus</i> | <i>haematophagus</i> | -0,3 | 1.07 | 0.35 |
| <i>Molossus molossus</i> | <i>Chiroptonyssus</i> | <i>haematophagus</i> | -0,5 | 0.82 | 0.49 |
| <i>Molossus molossus</i> | <i>Chiroptonyssus</i> | <i>haematophagus</i> | -0,7 | 0.90 | 1.2 |
| <i>Molossus molossus</i> | <i>Chiroptonyssus</i> | <i>haematophagus</i> | -1,7 | 8,59 | 0.23 |