

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS (FCAV)
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**Diversidade genética de *Bartonella* spp. em moscas
streblidae associadas a morcegos no Brasil**

Gabrielly de Oliveira Lopes

Médica Veterinária

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
(FCAV) CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Bartonella* spp. EM
MOSCAS STREBLIDAE ASSOCIADAS A MORCEGOS NO
BRASIL**

Gabrielly de Oliveira Lopes

Orientador: Prof. Dr. Marcos Rogério André

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

L864d

Lopes, Gabrielly de Oliveira

Diversidade genética de Bartonella spp. em moscas streblidae associadas a morcegos no Brasil / Gabrielly de Oliveira Lopes. -- Jaboticabal, 2025
62 p. : tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Marcos Rogério André

1. Bartonella. 2. Streblidae. 3. PCR. I. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Bartonella* spp. EM MOSCAS STREBLIDAE ASSOCIADAS A MORCEGOS NO BRASIL

AUTORA: GABRIELLY DE OLIVEIRA LOPES

ORIENTADOR: MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências Veterinárias, área: Saúde Única pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ
Data: 08/07/2025 16:20:44-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
DARCI MORAES BARROS-BATTESTI
Data: 10/07/2025 09:04:20-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. DARCI MORAES BARROS-BATTESTI (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV UNESP Câmpus de Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
JAQUELINE BIANQUE DE OLIVEIRA
Data: 08/07/2025 18:19:06-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Profa. Dra. JAQUELINE BIANQUE DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Departamento de Biologia / Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) - Recife/PE

Jaboticabal, 08 de julho de 2025

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Gabrielly de Oliveira Lopes - Filha de Raquel de Oliveira Lopes e Fabio Luiz Lopes, nasceu em 16 de abril de 2000, na cidade de São Carlos/SP. Em 2018 ingressou no Centro Universitário Central Paulista (UNICEP), onde em 2023 se formou em Medicina Veterinária. No período de 2020 a 2022, realizou iniciação científica, intitulada, Otimização de PCR para estudo da diversidade genética de *Babesia bigemina* em amostras de sangue de bezerros da raça Canchim naturalmente infectados, pela orientação de Marcia Cristina de Oliveira, com bolsa PIBIC. Em agosto de 2023 ingressou no Mestrado de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus Jaboticabal, como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) sob orientação do Prof. Dr. Marcos Rogério André.

EPÍGRAFE

"Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para
todo o propósito debaixo do céu" Eclesiastes 3:1

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me sustentar em cada obstáculo e me manter firme mesmo em meio a adversidade, por me ajudar em cada etapa e me guardar todos os dias.

Aos meus pais, que sempre me incentivaram e me guiaram pelo bom caminho.

À minha família, por serem meu lar e imenso apoio.

Aos meus amigos André, Juliana e Nayara, que mesmo longe sempre estiveram comigo nos bons e maus momentos, me confortaram e incentivaram sempre.

Às minhas vizinhas de quarto, Samara e Clara, que sempre me alegraram e ouviram.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Unesp, (Universidade Estadual Paulista, Campus Jaboticabal).

Agradeço imensamente ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Rogério André, por ter acreditado no meu potencial desde a entrevista do Mestrado, toda a paciência, dedicação e ensinamentos nesse processo.

À Profa. Dra. Rosangela Zacarias Machado, pelos ensinamentos dispensados. À Profa. Dra. Darci Moraes Barros-Battesti, pelos conhecimentos compartilhados.

À Dra. Jaqueline Bianque de Oliveira, Allyson dos Santos da Silva, Wallace Rodrigues Telino Júnior e Luiz Augustinho Menezes da Silva, do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, Laboratório de Parasitologia (LAPAR), Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, por gentilmente coletarem e cederem os espécimes de moscas Streblidae de morcegos do estado de Pernambuco.

Ao Dr. Eder Silva Babier por gentilmente ceder os espécimes de moscas Streblidae coletadas de morcegos no estado do Pará. Agradecemos também Narjara Pimentel e Jennifer Barros pelo auxílio durante as atividades de campo realizadas nas cavernas do Pará.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pelo suporte oferecido para o desenvolvimento do trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo Auxílio Regular à Pesquisa (Processo n. 2022/08543-2) concedido ao Prof. Marcos R. André, sem o qual não seria possível o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço, imensamente, as minhas amigas Lorena Neves, Clara Dias, Lizeth Micolta e Michelli Funiccelli, por terem me acolhido em Jaboticabal, por sempre aceitarem um Brookes e por terem tornado esse período mais leve e divertido. Aos colegas do *Vector-Borne Bioagents Laboratory* (VBBL): Anna Cláudia, Ana Carolina, Amir, Daniel, Eder, Eliz, Francelly, João Vitor, Jovêncio, Natália, Leticia pela boa vivência do dia a dia. Em especial a Ana Calchi e Victória, por toda ajuda dispensada nessa reta final.

Aos funcionários do departamento de Patologia Veterinária, Mabel Custodio, Cris e Rafaela Beraldo e pós-graduação da Unesp-Jaboticabal.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

Certificado I de Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)- ectoparasitos associados aos estados Pernambuco e Pará.....	ii
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
CAPÍTULO 1 - Considerações gerais	8
1. Introdução.....	8
2. Revisão de Literatura	9
2.1 Ordem Chiroptera	9
2.2 Moscas Streblidae.....	10
2.3 Gênero <i>Bartonella</i>	11
2.4 <i>Bartonella</i> spp. em morcegos	12
2.5 <i>Bartonella</i> spp. em moscas de morcego	15
2.5.1 <i>Bartonella</i> spp. em moscas associadas a morcegos no mundo.....	16
2.5.2 <i>Bartonella</i> spp. em moscas associadas a morcegos no Brasil.....	18
3. Objetivos.....	23
3.1 Geral.....	23
3.2 Específicos.....	23
4. Referências.....	23
CAPITULO 2. Diversidade de <i>Bartonella</i> spp. em moscas Streblidae associadas a morcegos no Brasil	32
1. Introdução.....	33
2. Material e Métodos	34
2.1 Áreas de estudo, captura de morcegos e coleta de moscas Streblidae	34
2.2 Extração de DNA	39
2.3 PCR para o gene endogeno cox-1 de invertebrados	39
2.4 Ensaios de PCR para detecção e caracterização molecular de	

<i>Bartonella</i> spp	40
2.5 Purificação de amplicons, sequenciamento e análises filogenéticas	41
2.6 Análise da diversidade genotípica de <i>Bartonella</i> spp.....	41
3. Resultados.....	42
3.1 Ectoparasitos Amostrados	42
3.2 Análise de diversidade genotípica de <i>Bartonella</i> spp. pelo DNASP.....	47
3.3 Análise Filogenética	48
3.4 Rede de genótipos	53
4. Discussão	55
5. Conclusão.....	56
6. Referências.....	58

**Certificado I de Comissão de Ética no Uso de Animais
(CEUA)- ectoparasitos associados aos estados
Pernambuco e Pará**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

DECLARAÇÃO

Declaramos que o trabalho de pesquisa intitulado "Detecção e caracterização molecular de *Bartonella* spp. em moscas streblidae parasitas de morcegos no Estado de Pernambuco", sob orientação do Prof. Dr. Marcos Rogério André e Certificado CEUA protocolo nº 2272/2024, aprovado em reunião ordinária em 17 de abril de 2024, teve o título alterado para: "Detecção e caracterização molecular de *Bartonella* spp. em moscas streblidae parasitas de morcegos nos estados de Pernambuco e Pará" e também inclusão de novas amostras de ectoparasitas dípteros de morcegos selvagens da região do estado do Pará, com aprovação "Ad Referendum" das alterações em 05 de novembro de 2024.

Jaboticabal, 05 de novembro de 2024.

Dra. Helena Cristina Delgado Brito
Coordenadora – CEUA / FCAV

Documento assinado digitalmente
gov.br HELENA CRISTINA DELGADO BRITO
Data: 07/11/2024 11:31:38 -0300
Verifique em <https://validador.gov.br>

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal - SP - Brasil
Tel. 16 3209-7100 - www.fcav.unesp.br



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

A COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária no dia 27 de novembro de 2024, referendou o Protocolo nº 2272/2024, do projeto intitulado: **"Detecção e caracterização molecular de *Bartonella* spp. em moscas streblidae parasitas de morcegos nos estados de Pernambuco e Pará"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ, manifestando-se favoravelmente, de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Jaboticabal, 27 de novembro de 2024.

Dra. Helena Cristina Delgado Brito

Coordenadora – CEUA



Documento assinado digitalmente
HELENA CRISTINA DELGADO BRITO
Data: 03/12/2024 12:07:05-0300
Verifique em <https://validar.id.gov.br>

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Bartonella* spp. EM MOSCAS STREBLIDAE ASSOCIADAS A MORCEGOS NO BRASIL

RESUMO

As moscas da família Streblidae são ectoparasitos com distribuição mundial e especializados em parasitar exclusivamente morcegos, os quais atuam como importantes hospedeiros de *Bartonella* spp. Essas moscas são potenciais vetores dessas bactérias emergentes com relevância zoonótica. Apesar da alta riqueza de espécies de morcegos e moscas Streblidae no Brasil, pouco se conhece a respeito da ocorrência e diversidade de *Bartonella* spp. nestes hospedeiros, principalmente em ambientes cavernícolas. Este estudo investigou a ocorrência e diversidade genética de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae associadas a morcegos em remanescentes de florestas úmidas no estado de Pernambuco (558 moscas de sete diferentes espécies coletadas de 299 morcegos) e cavernas no estado do Pará (658 moscas de 11 diferentes espécies coletadas de 174 morcegos). Amostras de DNA extraídas de moscas e positivas na PCR para gene endógeno *cox-1* foram submetidas à qPCR para *Bartonella* spp. (região intergênica 16-23S rRNA) e ensaios de caracterização molecular baseados em cinco marcadores moleculares (*gltA*, *rpoB*, *ribC*, *pap-31* e *ftsZ*). Taxas de positividade para *Bartonella* spp. de 37,5% (Pernambuco) e 25,4% (Pará) foram encontradas. Apesar da detecção molecular, a caracterização genética só foi possível nas amostras de moscas de morcegos cavernícolas da Amazônia brasileira, que revelou grande diversidade genética de *Bartonella* spp., com a identificação de onze genótipos do gene *gltA*, seis para o gene *ftsZ* e quatro do gene *rpoB*. Inferências filogenéticas baseadas nestes três marcadores moleculares revelaram relações próximas entre as sequências detectadas e genótipos encontrados previamente em morcegos e moscas associadas em outros países. Trata-se da primeira evidência molecular de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae parasitas de morcegos cavernícolas no Brasil, abrindo fronteiras para estudos interespecíficos (*Bartonella*-mosca-morcego) nesses ecossistemas ainda pouco explorados. Adicionalmente, o presente trabalho traz a primeira detecção molecular de *Bartonella* spp. No estado do Pará em *Nycterophilus parnelli*, *Trichobius galei*, *Mastoptera minuta* e *T. johnsonae*.

Palavras-Chave: bartonellose; Chiroptera; Hippoboscoideae; morcegos cavernícolas

GENETIC DIVERSITY OF *Bartonella* spp. IN BAT-ASSOCIATED STREBLIDAE FLIES FROM BRAZIL

ABSTRACT

Streblidae flies are ectoparasites with worldwide distribution, highly specialized in parasitizing bats exclusively. Bats are considered important reservoirs of *Bartonella* spp., emerging bacteria with zoonotic relevance. These flies are potential vectors of *Bartonella* spp. Despite the high species richness of bats and Streblidae flies in Brazil, little is known about the occurrence and genetic diversity of *Bartonella* spp. in these hosts, especially in cave environments. This study investigated the occurrence and genetic diversity of *Bartonella* spp. in bat-associated Streblidae flies in remnants of humid forests in the state of Pernambuco (558 flies from seven different species collected from 299 bats) and caves in the state of Pará (658 flies from 11 different species collected from 174 bats). DNA samples extracted from flies and positive for the endogenous *cox-1* gene by PCR were subjected to a qPCR targeting *Bartonella* spp. (16–23S rRNA intergenic region) and molecular characterization assays based on five genetic markers (*gltA*, *rpoB*, *ribC*, *pap-31*, and *ftsZ*). Positivity rates for *Bartonella* spp. were 37.5% in Pernambuco and 25.4% in Pará. This study revealed a high genetic diversity of *Bartonella* spp. in cave-dwelling bats-associated Streblidae flies in the Brazilian Amazon, with the identification of eleven *gltA* genotypes, four *rpoB* genotypes, and six *ftsZ* genotypes. Phylogenetic inferences based on these three markers revealed close relationships between the detected sequences and genotypes previously identified in bats and associated flies from other countries. This is the first molecular evidence of *Bartonella* spp. in Streblidae flies parasitizing cave-dwelling bats in Brazil, opening new frontiers for interspecific studies (*Bartonella*-fly-bat) in these still poorly explored ecosystems. Additionally, this study reports the first molecular detection of *Bartonella* spp. in *Nycterophilina parnelli*, *Trichobius galei*, *Mastoptera minuta*, and *Trichobius johnsonae*.

Keywords: bartonellosis; Chiroptera; Hippoboscoidea; cave-dwelling bats

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

O Brasil é detentor de grande diversidade de quirópteros, com 186 espécies de morcegos distribuídas em nove famílias, compreendendo 12,5% do total mundial (n=1487) de espécies de morcegos. Tais mamíferos têm papel fundamental na manutenção dos ecossistemas, por atuarem na dispersão de sementes, polinização e controle de insetos. Por outro lado, devido à alta complexidade biológica, como capacidade de voo, alta longevidade, formação de colônias populacionais, vasta disseminação e ampla diversidade de espécies, os quirópteros são reconhecidos como importantes reservatórios naturais para diversos agentes patogênicos.

O gênero *Bartonella* engloba alfa-proteobactérias Gram-negativas intracelulares facultativas, agentes etiológicos de zoonoses emergentes. Tais agentes são transmitidos por vetores artrópodes e têm mamíferos como principais hospedeiros. Os quirópteros representam o segundo principal hospedeiros de *Bartonella* spp. entre os mamíferos, ficando atrás apenas dos roedores. Até o momento, quatro espécies de *Bartonella* detectadas em morcegos (*B. tamiae*, *B. rochalimae*, ‘*Candidatus Bartonella mayotimonensis*’ e ‘*Candidatus Bartonella roussetti*’) foram incriminadas como agentes zoonóticos.

As moscas da família Streblidae (Diptera: Hippoboscoidea) constituem um grupo de dípteros hematófagos obrigatórios, especializados em parasitar exclusivamente morcegos e com distribuição mundial. Esses insetos demonstram notável adaptação ao parasitismo, tais como olhos compostos reduzidos, presença de ctenídeo em várias espécies, redução ou mesmo ausência de asas, além de viviparidade adenotrófica como estratégia reprodutiva. A associação com morcegos é tão estreita que moscas Streblidae figuram entre os ectoparasitos mais comuns e numerosos sobre nesses mamíferos, especialmente em espécies que ocupam abrigos estáveis, como cavernas. Moscas desta família vêm sendo incriminadas como potenciais vetores de *Bartonella* spp. entre morcegos.

Considerando o papel dos morcegos na disseminação de patógenos e a diversidade de vetores a eles associados, torna-se essencial aprofundar o conhecimento acerca da distribuição geográfica e diversidade de espécies de *Bartonella* spp. associadas a moscas Streblidae parasitas de quirópteros. Na perspectiva de Saúde Única, o aprofundamento do entendimento das interações ecológicas entre patógenos, vetores e hospedeiros silvestres contribui para a compreensão dos riscos de emergência de zoonoses, especialmente em regiões de

alta biodiversidade e crescente impacto antrópico, como o Brasil. O presente estudo teve como objetivo investigar a ocorrência e diversidade genética de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae associadas a morcegos coletadas em remanescentes de florestas úmidas no estado de Pernambuco e em cavernas no estado do Pará, no nordeste e norte do Brasil, respectivamente.

2. Revisão de Literatura

2.1 Ordem Chiroptera

Chiroptera, derivado das palavras gregas “Cheir” (mão) e “pteron” (asas), é a única ordem que alberga mamíferos com capacidade de voo, distinguida por membros anteriores modificados e patágio. Subdivide-se em Megachiroptera, restrita ao Velho Mundo e representada pela família Pteropodidae, como *Pteropus vampyrus*, e Microchiroptera, presentes no Novo Mundo, incluindo Vespertilionidae, Molossidae e Phyllostomidae, sendo *Vampyrum spectrum* o maior representante (Simmons, 2001; Peracchi et al., 2011).

A ecolocalização, capacidade de emitir e perceber sons de alta frequência, é exclusiva dos microquirópteros, exceto no gênero *Rousettus* dos Megachiroptera (Simmons & Conway, 2003). Filogeneticamente, Chiroptera é dividida em Yangochiroptera (Emballonuroidae, Noctilionoidae e Vespertilionoidae) e Yinpterochiroptera (Rhinolophidae, incluindo Pteropodidae) (Hutcheon & Kirsch, 2006).

A morfologia das asas varia com o hábito alimentar: frugívoros possuem asas largas para carregar frutos, enquanto insetívoros possuem asas estreitas e ágeis para caça (Vaughan et al., 2000). Os morcegos desempenham funções ecológicas essenciais, como polinização (quiropterofilia), dispersão de sementes (quiropterocoria) e controle de insetos (Fenton e Simmons, 2014), além de exibirem ampla diversidade alimentar (Peracchi et al., 2006).

A reprodução varia de monoestria sazonal (um pico anual) a poliestria (até três picos), com filhotes geralmente únicos, embora algumas espécies possam gerar múltiplos (Fleming et al., 1972). Os morcegos são hospedeiros de patógenos, incluindo protozoários, vírus e bactérias, devido à sua alta diversidade, distribuição ampla e hábitos sociais (Concannon et al., 2005; Wallau et al., 2023).

No Brasil, foram registradas 186 espécies até o presente momento, distribuídas em 68 gêneros e 9 famílias, com maior diversidade na Amazônia, e o estado do Pará destacando-se pelo maior número de espécies (Bernard et al., 2011;

Garbino et al., 2024). A rica biodiversidade reforça a importância do estudo de patógenos com e sem potencial zoonótico em quirópteros e seus ectoparasitos.

2.2 Moscas Streblidae

As moscas da família Streblidae (Diptera: Hippoboscoidea) constituem um grupo altamente especializado de dípteros hematófagos obrigatórios, que apresentam alta especificidade parasitária, associando-se frequentemente a apenas uma espécie ou gênero de morcego. Entretanto, algumas espécies, por exemplo as aladas, podem parasitar mais de uma espécie de morcego devido a sua capacidade limitada de voo. Possuem distribuição pantropical, com maior diversidade nas regiões neotropicais (Dick & Patterson, 2006; Dick, 2007; Dick & Patterson, 2007; Graciolli et al., 2022). No contexto neotropical, o Brasil se destaca como um importante *hotspot* de diversidade para Streblidae, abrigando mais de 100 espécies, compreendendo cerca de 42% da riqueza global conhecida (Graciolli & Dick, 2018; Graciolli, 2025). Esta família compreende dípteros hematófagos, com cerca de 250 espécies conhecidas (Dick e Patterson 2006), sendo que pelo menos 101 delas são descritas no Brasil (Barbier et al., 2018; Graciolli, 2025). Interessantemente, a partir de registros fósseis, acredita-se que moscas desta família parasitam morcegos há mais de 20 milhões de anos (Barbier e Graciolli, 2016), sendo responsáveis pela maior carga parasitária em morcegos que usam abrigos permanentes (Barbier e Bernard, 2017). Apesar do Brasil deter mais de 101 espécies destes dípteros, a grande maioria dos estudos estão concentrados na Europa e América do Norte (Szentiványi et al., 2019).

Juntamente com moscas da família Nycteribiidae, dípteros da família Streblidae formam os principais grupos de ectoparasitas hematófagos de morcegos, apresentando adaptações morfológicas e biológicas extremas ao parasitismo. Entre essas adaptações estão a redução ou ausência de olhos compostos, a presença de ctenídeos, o polimorfismo alar (variando de asas completas até sua ausência) e o achatamento corporal dorsoventral (Dick & Patterson, 2007; Barbier et al., 2018). Evidências moleculares sugerem que moscas de ambas as famílias surgiram durante a radiação adaptativa dos morcegos, entre 50 e 30 milhões de anos atrás (Dick & Patterson, 2006).

Além dessas adaptações, as moscas Streblidae apresentam uma estratégia reprodutiva singular: a viviparidade adenotrófica. Nesse processo, as fêmeas retêm os ovos em uma bolsa uterina e nutrem as larvas por meio de glândulas

especializadas, até o terceiro ínstar (Marshall, 1982). Quando completamente desenvolvidas, as larvas são depositadas no estágio pré-pupal nos abrigos dos morcegos, como cavernas, folhagens ou construções humanas, onde completam seu desenvolvimento em 3 a 4 semanas, até emergirem como adultos, prontos para colonizar novos hospedeiros (Bequaert, 1942; Dick & Patterson, 2007). Esse ciclo, compartilhado com outros dípteros Hippoboscoidea, reflete uma coevolução profunda com seus hospedeiros.

Apesar de raramente observadas em humanos (Wenzel et al., 1966; Dick, 2007), as moscas da família Streblidae aparentemente não transmitem patógenos zoonóticos por meio de sua picada para seres humanos. Ainda assim, sua habilidade de infestar hospedeiros diferentes dos habituais, levanta preocupações quanto à possível contribuição desses dípteros na emergência de doenças infecciosas (Dick & Dittmar, 2014; Dittmar et al., 2015).

2.3 Gênero *Bartonella*

O gênero *Bartonella* (ordem Hyphomicrobiales, família Bartonellaceae) compreende bactérias Gram-negativas de caráter intracelular facultativo que apresentam tropismo para eritrócitos e células endoteliais de mamíferos, embora também possam se replicar em células do sistema imune, tais como macrófagos, monócitos e células dendríticas (Eicher e Dehio, 2012). A família Bartonellaceae inclui cerca de 42 espécies (Parte et al., 2020), que foram isoladas ou detectadas tanto em humanos quanto em animais domésticos e selvagens, sendo que pelo menos 13 espécies têm reconhecido potencial zoonótico (Okaro et al., 2017). Entre as espécies clinicamente relevantes destacam-se *Bartonella bacilliformis*, *B. quintana*, *B. henselae*, *B. elizabethae*, *B. clarridgeiae*, *B. koehlerae*, *B. grahamii*, *B. rochalimae*, *B. tamiae*, *B. ancashensis* e *B. washoensis*, capazes de causar desde quadros febris intermitentes até processos inflamatórios teciduais mais graves (Mogollon-Pasapera et al., 2009; Rao et al., 2021).

Uma característica epidemiológica importante dessas bactérias é a capacidade de estabelecerem bacteremias prolongadas nos eritrócitos dos hospedeiros mamíferos, o que os tornam reservatórios naturais, facilitando a transmissão por meio de vetores artrópodes (Deng et al., 2012; Pitassi et al., 2015). Entre as espécies de maior relevância médica, três merecem destaque: *B. henselae*, *B. quintana* e *B. bacilliformis*. A primeira é o agente etiológico da Doença da Arranhadura do Gato (DAG), com implicações graves para indivíduos

imunossuprimidos. A transmissão ocorre principalmente através da arranhadura e mordedura de gatos infectados com *B. henselae* e infestados por pulgas *Ctenocephalides felis felis*. Tais mamíferos carregam as bactérias no leito gengival e unhas. Durante o *grooming*, gatos contaminam as unhas e gengivas com fezes de pulgas contendo *B. henselae*. A DAG pode se manifestar tanto na forma típica (caracterizada por lesões cutâneas e linfadenopatia regional autolimitantes) quanto na forma atípica (com manifestações sistêmicas graves, como encefalite, osteomielite e hepatosplenomegalia) (Guptill et al., 1997; Velho, 2001). Tanto *B. henselae* quanto *B. quintana* podem induzir lesões proliferativas vasculares na pele e no fígado, especialmente em pacientes HIV positivos (Velho, 2001). *Bartonella quintana*, por sua vez, é o agente causal da Febre das Trincheiras, doença historicamente associada a condições de precariedade sanitária e que afeta principalmente populações vulneráveis, como pessoas em situação de rua e usuários de drogas, infestados pelo piolho vetor *Pediculus humanus corporis* (Dehio, 2004). Já *B. bacilliformis*, transmitida por flebotomíneos, é responsável pela Doença de Carrión, endêmica em alguns países andinos, que se apresenta em duas fases distintas: a fase aguda (Febre de Oroya), marcada por anemia hemolítica grave, e a fase crônica (Verruga Peruana), caracterizada por lesões cutâneas vasculares (Maco et al., 2004; Lamas et al., 2008; Pitassi, 2015).

As espécies de *Bartonella* apresentam notável especificidade por seus hospedeiros mamíferos. Por exemplo, *B. elizabethae*, *B. grahamii*, *B. washoensis* e *B. vinsonii* subsp. *arupensis* estão frequentemente associadas a roedores, enquanto *B. henselae* tem como principal hospedeiro os felinos domésticos e *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* é comumente encontrada em canídeos (Dehio, 2004). Embora a transmissão vetorial esteja bem caracterizada para algumas espécies de *Bartonella*, como *B. henselae*, para outras espécies ainda são necessários estudos para identificar com precisão seus vetores naturais (Mosbacher et al., 2011; Cheslock & Embers, 2019), revelando lacunas importantes no entendimento de sua ecologia de transmissão.

2.4 *Bartonella* spp. em morcegos

Os morcegos representam o segundo principal hospedeiro de *Bartonella* spp. entre os mamíferos, superados apenas pelos roedores (Lin et al., 2012). Nesses hospedeiros, duas espécies com reconhecido potencial zoonótico merecem destaque: '*Candidatus Bartonella mayotimonensis*' e '*Candidatus Bartonella rousetti*'.

A primeira foi inicialmente identificada em um paciente com endocardite nos Estados Unidos (Lin et al., 2010) e, posteriormente, detectada em morcegos *Myotis lucifugus*, com sequências genéticas idênticas às do caso humano (Lilley et al., 2017). Sua presença foi confirmada também na Finlândia, tanto em morcegos (*Eptesicus nilssonii*, *Myotis brandtii*) quanto em seus ectoparasitos (moscas *Nycteribia kolenatii*, *Penicillidia monoceros* e pulgas) (Veikkolainen et al., 2014), além de ter sido detectada em morcegos na França e Espanha (Stuckey et al., 2017).

Por sua vez, '*Candidatus Bartonella rousetti*' foi identificada em morcegos frugívoros (*Rousettus aegyptiacus*) e em moscas associadas (*Eucampsipoda africana*) na Nigéria (Bai et al., 2018). Um estudo realizado durante um festival tradicional de caça a morcegos na Nigéria revelou que 3,92% dos participantes apresentavam anticorpos específicos contra esta bactéria (Bai et al., 2018), sendo posteriormente confirmada sua presença na Zâmbia (Qiu et al., 2020). Outra espécie de interesse, *B. tamiae*, originalmente isolada de pacientes tailandeses, foi detectada em carrapatos (*Ixodes vespertilionis*), moscas (*Nycteribiidae* spp.) e morcegos na Argélia (Leulmi et al., 2016), reforçando seu potencial de transmissão entre animais e humanos.

Bartonella rochalimae foi primeiramente isolada em sangue humano de uma paciente norte-americana que retornava do Peru com quadro de febre persistente, esplenomegalia e anemia (Eremeeva et al., 2007). Recentemente, DNA desta espécie foi detectado DNA em morcegos *Tadarida brasiliensis* nos Estados Unidos (Becker et al., 2025).

Estudos conduzidos em diversas regiões do mundo demonstram ampla distribuição e diversidade genética de *Bartonella* spp. em morcegos.

No Quênia, a presença de *Bartonella* spp. foi investigada em amostras de sangue de 331 morcegos pertencentes a 13 espécies, por meio de cultivo em placas de ágar suplementadas com sangue de coelho, seguido de confirmação molecular por PCR direcionada ao gene *gltA* e sequenciamento. *Bartonella* spp. foi isolada e confirmada molecularmente a partir do sangue de 30,2% (106/331) dos morcegos testados. Colônias de *Bartonella* spp. foram isoladas das seguintes espécies de morcegos: 23/88 (26,1%) *Eidolon helvum*; 22/105 (21,0%) *Rousettus aegyptiacus*; 4/9 (44,4%) *Coleura afra*; 7/8 (87,5%) *Triaenops persicus*; 1/4 (25,0%) *Hipposideros commersoni* e 49/87 (56,3%) *Miniopterus* spp. (Kosoy et al., 2010).

Em um estudo realizado no sul da Guatemala, amostras de sangue de 118 morcegos de 15 espécies, foram submetidas à cultura para isolamento de *Bartonella* spp. Dos 118 morcegos analisados, 39 (33,1%) apresentaram resultados positivos,

gerando 41 isolados. A prevalência variou significativamente entre as espécies: 88,8% (9/8) em *Phyllostomus discolor*; 70% (7/10) *P. davyi*; 48,4% (15/31) *Desmodus rotundus*; 8,3% (1/12) *Sturnira lilium* e 13,3% (2/15) *Glossophaga soricina*. A confirmação da identidade molecular dos isolados foi realizada por PCR (Reação de cadeia de polimerase) direcionado ao gene *gltA*, seguida de sequenciamento. As análises filogenéticas revelaram que os genótipos identificados eram geneticamente distintos quando comparados àqueles previamente detectados em morcegos do Reino Unido e do Quênia, sugerindo a circulação de linhagens únicas na região amostrada (Bai et al., 2011).

No continente africano, 384 amostras de sangue de 29 espécies de morcegos capturados na África do Sul e Essuatín foram submetidas à PCR convencional, direcionado ao gene *gltA* de *Bartonella* spp. Como resultado, *Bartonella* sp. foi detectada em 3,4% das amostras (13/384), principalmente em *Miniopterus natalensis*, *Nycteris thebaica*, *Epomophorus wahlbergi* e *Rousettus aegyptiacus*. Análises filogenéticas revelaram dois grupos principais de *Bartonella*, o primeiro grupo incluiu amostras provenientes de *N. thebaica* e *M. natalensis*, as quais se agruparam com *B. grahamii*. O segundo grupo demonstrou que as sequências *Rousettus aegyptiacus*, formaram um clado geneticamente distinto, sem relação próxima com qualquer espécie previamente descrita (Dietrich et al., 2016).

Na Guiana Francesa, duas possíveis novas espécies de *Bartonella* foram identificadas em morcegos (Davoust et al., 2016), enquanto na China os genótipos detectados mostraram similaridade com aqueles previamente detectados em moscas de morcegos da Coreia do Sul (Han et al., 2017).

Na Europa, uma investigação conduzida em quatro países (Áustria, República Tcheca, Hungria e Romênia) encontrou baixa prevalência (1,38%), mas com sequências próximas a '*Ca. B. mayotimonensis*' (Corduneanu et al., 2018). Análises filogenéticas sugerem que os morcegos podem representar os hospedeiros ancestrais de *Bartonella* spp., tendo desempenhado papel crucial em sua dispersão geográfica (McKee et al., 2021).

No Brasil, pesquisas têm revelado significativa diversidade de *Bartonella* spp. em morcegos. Estudo abrangendo vários estados (Paraná, Pará, São Paulo, Mato Grosso e Tocantins) encontrou 5,28% de positividade, por meio de PCR em tempo real quantitativa (qPCR), em morcegos não-hematófagos (Ikeda et al., 2017). Na Mata Atlântica (RJ, BA, SC), a prevalência molecular encontrada foi de 18,5%, com evidências de novos genótipos (Ferreira et al., 2018). André et al. (2019) investigaram a ocorrência molecular de *Bartonella* spp. em amostras de fígado de

208 morcegos hematófagos de três espécies. Como resultado, 51 (24,5%) apresentaram-se positivos na PCR em tempo real para *Bartonella* spp., coistribuição variável entre as espécies: *Desmodus rotundus* 40 (78,4%) e *Diaemus ecaudata* 11 (21,6%). Ikeda et al. (2020) investigaram a ocorrência e diversidade genética de *Bartonella* spp. em morcegos e seus ectoparasitos na região periurbana de Campo Grande (MS). Foram analisadas 418 amostras (133 de sangue, 135 de baço e 150 moscas hematófagas) coletadas de 135 indivíduos de 12 espécies de morcegos. A PCR em tempo real para *Bartonella* spp., baseada no gene *nuoG*, revelou positividade em 9,6% dos morcegos (13/135) e em 8% das moscas (12/150). As taxas de infecção por espécie de morcego foram: *Platyrrhinus lineatus* 52,2% (12/23), *Carollia perspicillata* 20% (1/5), *Artibeus planirostris* 9,1% (3/33) e *A. lituratus* 5,4% (2/37). Treze genótipos distintos para o gene *gltA* de *Bartonella* spp. foram identificados (Ikeda et al., 2020). No estado do Rio de Janeiro, 3,6% dos morcegos amostrados mostraram-se positivos em ensaios moleculares para *Bartonella* spp. (Gonçalves-Oliveira et al., 2020). Já no estado do Mato Grosso, Pacheco et al. (2024) encontraram positividade para *Bartonella* spp. em 16,5% dos morcegos amostrados, com genótipos similares aos encontrados em outros países da América Latina (Pacheco et al., 2024). Por outro lado, positividade de 10,1% (21/208) para *Bartonella* spp. foi encontrada em morcegos amostrados no estado do Acre. Por meio de qPCR baseada no gene *nuoG*, a taxa de positividade variou de acordo com a espécie de morcego: *C. perspicillata* apresentou a maior prevalência (20,3%; 14/69), seguida por *A. planirostris* (5,6%; 3/54), *P. elongatus* (11,2%; 1/9) e *Lophostoma silvicolium* (33,3%; 1/3) (Franco et al., 2024). Mais recentemente, Franco et al. (2025) encontraram, por meio de qPCR baseada no gene *nuoG*, positividade de 31,9% para *Bartonella* spp. em morcegos *D. rotundus* amostrados nos estados de Amapá, Pará e Roraima (Franco et al., 2025).

2.5 *Bartonella* spp. em moscas de morcegos

2.5.1 *Bartonella* spp. em moscas associadas a morcegos no mundo

O primeiro relato de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae ocorreu na Flórida (Reeves et al., 2005). Os referidos autores coletaram exemplares de *Basilia boardmani* (1 espécime) e *Trichobius major* (4 espécimes), no qual apenas um espécime de *T. major* foi positivo para *Bartonella* spp. A partir de sequências do gene *groEL*, houve positividade com 91% de identidade com *Bartonella* spp. previamente descritas em roedores (*Sciurus carolinensis*) no Reino Unido.

Moscas Hippoboscoidea (*Trichobius parasiticus* (n=533), *Strebba wiedemanni* (n=176), *Megistopoda aranea* (11), *Trichobius* spp. (n=4), *Aspidoptera* spp. (n=6), *Paratrichobius longicrus* (n=4) e *Trichobius caecus* (n=25)) foram coletadas no México de cinco espécies de morcegos (*Artibeus jamaicensis* (n=10), *Artibeus lituratus* (n=4), *Desmodus rotundus* (n=202), *Sturnira ludovici* (n=1), *Sturnira lilium* (n=1), e *Pteronotus parnellii* (n=15)) (Moskaluk et al., 2018). A presença de DNA de *Bartonella* spp. foi maior em *T. parasiticus* (18,15%) em comparação a moscas *S. wiedemanni* (6%). A análise filogenética baseada no gene *gltA* agrupou as sequências obtidas em morcegos e suas moscas, em três subclados, sendo o primeiro com sequências de *Bartonella clarridgeiae* e *Bartonella rochalimae*, o segundo com *Bartonella bacilliformis* e o terceiro com as sequências 'Candidatus *Bartonella mayotimonensis*' e *Bartonella washoensis*. Algumas sequências de morcegos formaram um clado com sequência de *B. doshiae* (Moskaluk et al., 2018).

Nabeshima et al. (2020) realizaram a detecção e inferências filogenéticas de genótipos de *Bartonella* spp. em moscas associadas a *Miniopterus fuliginosus* no Japão. Foram coletadas 281 moscas de 114 morcegos. A prevalência de DNA de *Bartonella* foi de 47,1% (74/157) em *Nycteribia allotopa*, 15,2% (12/79) em *Nycteribia* spp. e 6,7% (3/45) em *Penicillidia jenynsii*. A análise filogenética revelou que as sequências *gltA* obtidas mostraram-se próximas de genótipos de *Bartonella* spp. previamente detectados em moscas *Nycteribia* e morcegos *Miniopterus*.

Mitchell et al. (2022) investigaram a diversidade genética de *Bartonella* spp. em 252 amostras de sangue de morcegos (18 espécies) e 62 *pools* de moscas associadas a morcegos, provenientes de 48 quirópteros capturados em cavernas na Costa Rica. A prevalência de *Bartonella* spp. foi de 10,7% (27/252) para morcegos e 29% (18/62) para *pools* de ectoparasitos. Os genótipos *gltA* de *Bartonella* spp. detectados foram compartilhados entre morcegos e moscas associadas a quirópteros em diferentes partes do país, além de mostrarem proximidade filogenética com sequências de *Bartonella* spp. previamente detectadas em morcegos e moscas da Guatemala e México.

Han et al. (2022) investigaram a diversidade genética de *Bartonella* spp. em morcegos (*Myotis adversus*, *Myotis davidii*, *Miniopterus schreibersii*, *Rhinolophus pusillus*) e moscas (*Penicillidia monoceros*, *Nycteribia* spp. e *Phthiridium* spp.), e em ácaros (*Spinturnix* sp. e *Eyndhovenia* sp.) associados na China. (em morcegos, a prevalência foi de 20,0% (2/10) em 2018, 18,8% (3/16) em 2019 e 10,3% (21/203) em 2020. Entre os ectoparasitos, taxas de positividade de 66,7% (10/15) em 2018 e

50,4% (60/119) em 2020 foram detectadas em moscas *P. monoceros*. Além disso, a espécie com potencial zoonótico '*Ca. B. mayotimonensis*' foi identificada tanto em morcegos quanto em ectoparasitos.

No Japão, Nabeshima et al. (2023) investigaram a prevalência de *Bartonella* spp. em 123 morcegos (*Eptesicus nilssonii*) e ectoparasitos associados (174 pulgas *Ischnopsyllus needhami* e dois percevejos *Cimex japonicus*). Foi detectado DNA de *Bartonella* spp. em 32 (26%) dos morcegos e em 79 (45,4%) das pulgas. A análise filogenética baseada no gene *gltA* revelou que dois genótipos obtidos agruparam-se com sequências de *Bartonella* spp. previamente detectadas em morcegos *Eptesicus* da República da Geórgia e Finlândia, morcegos *Myotis* da Romênia e Reino Unido, e uma pulga *Ischnopsyllus needhami*, coletada de morcego *Eptesicus* da Finlândia. Já o terceiro genótipo formou um clado com *B. florencae*, *B. acomydis* e *B. birtlesii*. Esse estudo sugere que pelo menos duas espécies de *Bartonella* spp. circulam em morcegos no norte do Japão.

Fagre et al. (2023) avaliaram a infecção por *Bartonella* spp. em morcegos frugívoros e moscas associadas em Bangladesh. Foi detectada alta prevalência de DNA de *Bartonella* spp. no sangue de morcegos (*Pteropus medius* - 35/55 [64%]) e moscas associadas (*Cyclopodia sykesii* - 59/60 [98%]). As sequências *gltA* de *Bartonella* spp. de morcegos e moscas agruparam-se em três clados: A (intimamente relacionadas com sequências previamente detectadas em *Pteropus hypomelanus* e *Cyclopodia horsfieldi* da Malásia), B (dezessete genótipos com identidade de 96,93–99,72% entre si. Esse grupo está mais próximo de outra sequência de *Bartonella* identificada em *C. horsfieldi* coletada de *P. hypomelanus* na Malásia e distantes de sequências detectadas em *Eidolon* spp. e *Cyclopodia* spp. e sequências detectadas em outros nictéridos) e C (Elas não possuíam correspondências próximas no GenBank, mas apresentavam relação distante < 90% de identidade, em relação a *Bartonella* spp. detectadas em morcegos vespertilionídeos e miniopterídeos e em moscas e pulgas associadas). Interessantemente, foi evidenciado que as moscas se alimentavam de sangue de múltiplos morcegos hospedeiros.

2.5.2 *Bartonella* spp. em moscas associadas a morcegos no Brasil

A relação biológica de morcegos com diversos grupos de ectoparasitos, como carrapatos, pulgas, ácaros, percevejos e dípteros, vem cada vez mais sendo estudada, principalmente no que diz respeito ao papel desses artrópodes na dinâmica de transmissão de *Bartonella* spp. e outros bioagentes patogênicos. Neste sentido, dípteros da família Streblidae são os ectoparasitos mais frequentemente registrados em morcegos (Frank et al., 2014; Barbier e Bernard, 2017).

Moscas da família Nycteribiidae também vêm sendo incriminadas como vetores na transmissão de *Bartonella* spp. entre morcegos. Estas moscas são encontradas principalmente no Velho Mundo (Europa, África e Ásia). No continente americano, existem apenas dois gêneros, *Basilia* e *Herskovitzia* (Graciolli e Dick 2009; Graciolli 2010). No Brasil foram registradas 24 espécies de *Basilia* e cinco de *Herskovitzia* (Graciolli e Hrycyna, 2024).

Do Amaral et al. (2018) investigaram a presença de DNA de *Bartonella* spp. em 404 moscas (*Paratrachobius longicrus* (n=49), *Megistopoda aranea* (n=4), *Aspidoptera phyllostomatis* (n=9), *Trichobius joblingi* (n=109), *Trichobius anducei* (n=10), *Strebla guajiro* (n=29), *Megistopoda proxima* (n=77), *Aspidoptera falcata* (n=108), *Trichobius furmani* (n=4) e *Strebla wiedemanni* (n=5)) coletadas de oito espécies de morcegos (*Artibeus lituratus* (n=16), *Sturnira lillium* (n=72), *Carollia perspicillata* (n=57), *Artibeus fimbriatus* (n=8), *Artibeus obscurus* (n=2), *Artibeus planirostris* (n=3), *Desmodus rotundus* (n=5) e *Diphyla ecaudata* (n=1)) no estado do Rio de Janeiro. Positividade de 19,8% (40/202) para *Bartonella* spp., via qPCR baseada no gene *nuoG*, foi encontrada entre as moscas Streblidae testadas. As sequências obtidas do gene *gltA* de *Bartonella* spp. agruparam-se em diversos clados, a saber: (i) sequência detectada em *S. guajiro* coletada de *C. perspicillata* foi filogeneticamente associada a *Bartonella* spp. previamente detectadas em *S. lillium* do Paraná e outros morcegos da Guatemala, México e Costa Rica; (ii) sequências detectadas em *S. guajiro* coletada de *C. perspicillata* posicionaram-se filogeneticamente próximas a genótipos de *Bartonella* spp. detectadas em roedores amostrados no Brasil e EUA, juntamente com *Bartonella* spp. detectada em pulga *Polygenis gwyni* dos EUA. Uma sequência *rpoB* detectada em um espécime de *M. aranea* coletado de *C. perspicillata* mostrou-se filogeneticamente relacionado ao genótipo previamente detectado em morcego (*S. lillium*) no estado do Paraná. Já uma sequência *ribC* detectada em *M. aranea* coletada de *C. perspicillata* foi posicionada sozinha em um ramo, ainda que relacionado a *B. tribocorum*, *B. elizabethae*, *B.*

grahamii, *B. fuyuanensis* e *B. rattimassiliensis*.

Em São Luís, estado do Maranhão, Braga et al. (2020) investigaram a presença de DNA de *Bartonella* spp. em 29 amostras de sangue de morcegos (*Glossophaga soricina* (n=9), *Pteronotus parnellii* (n=2), *Carollia perspicillata* (n=16), *Diaemus youngi* (n=1), *Pteronotus personatus* (n=1)) e em 15 moscas *Trichobius* sp. (Diptera: Streblidae). Embora nenhuma amostra de sangue de morcegos tenha se mostrado positiva para *Bartonella*, DNA de *Bartonella* foi detectado em 3/15 espécimes de *Trichobius* sp., por meio de PCR em tempo real quantitativa (qPCR) baseada no gene *nuoG*. A análise filogenética baseada no gene *rpoB* agrupou as sequências obtidas com sequências previamente detectadas em *D. rotundus* do Brasil (André et al., 2019). Já sequências *gltA* agruparam-se com aquelas previamente detectadas em *C. perspicillata*, *Speiseria ambigua* e *G. soricina* na Costa Rica (Frank et al., 2018) e *D. rotundus* do Brasil (André et al., 2019).

André et al. (2023) caracterizaram o microbioma bacteriano de morcegos não-hematófagos e moscas Streblidae e ácaros Macronyssidae e Spinturnicidae no estado de Mato Grosso do Sul, centro-oeste do Brasil. Foram analisados swabs orais e retais de 30 morcegos (*Artibeus lituratus* [n=13], *Artibeus planirostris* (n=9), *Eptesicus furinalis* (n=5), *Carollia perspicillata* (n=2) e *Platyrrhinus lineatus* (n=1), juntamente com 58 ácaros (15 Macronyssidae e 43 Spinturnicidae) e 48 moscas Streblidae. *Spiroplasma* spp., *Wolbachia* spp. e *Bartonella* spp. representaram os gêneros mais abundantes em moscas Streblidae.

Franco et al. (2025) detectaram DNA de *Bartonella* spp. em 45/142 (31,7%) moscas Streblidae (1/1 *Trichobius diaemi*, 8/23 *Strebla wiedemanni* e 36/48 *Trichobius parasiticus*) coletadas de *D. rotundus* na Amazônia brasileira, por meio de qPCR baseada no gene *nuoG*. As análises filogenéticas baseadas nos genes *gltA* e *rpoB* posicionaram os genótipos detectados juntamente com aqueles previamente detectados em morcegos hematófagos e moscas associadas na América do Sul, revelando alta diversidade genética (seis genótipos para *gltA* e onze para *rpoB*).

A **Tabela 1** apresenta um sumário a respeito da ocorrência de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae e Nycterebiidae no mundo.

Tabela 1. Estudos a respeito da ocorrência de *Bartonella* spp. em moscas associadas a morcegos ao redor do mundo.

Continente	País	Número de morcegos (número de espécies)	Família de Moscas	Número de moscas (número de espécies)	Moscas Positivas (%)	Espécies de moscas positivas	Genes sequenciados e posicionamento filogenético	Referência
América do Norte	Estados Unidos	1 espécie	Streblidae	----	1	<i>Trichobius major</i>	ITS e <i>groEL</i> (91% similar a <i>Bartonella</i> spp. detectada em <i>Sciurus carolinensis</i>)	Reeves et al. (2005)
África	Gana, Nigéria	1 espécie	Nycteribiidae	137 (1 espécie)	91 (66,4%)	<i>Cyclopodia greeffi</i>	<i>gltA</i> (98% similar a <i>Bartonella</i> spp. detectada em <i>E. helvum</i>)	Billeter et al. (2012)
África	Nigéria	20 (4 espécies)	Nycteribiidae	34 (1 espécie)	10/24 (41,7%)	<i>C. greeffi</i>	<i>gltA</i> (próximas a <i>Bartonella</i> spp. de moscas de morcegos da África)	Kamani et al. (2014)
América do Sul	Brasil (Rio de Janeiro)	78 (7 espécies)	Streblidae	202 (8 espécies)	40 (19,8%)	<i>Megistopoda aranea</i> , <i>Paratrachobius longicrus</i>	<i>gltA</i> , <i>rpoB</i> , <i>ribC</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em morcegos na América Latina)	do Amaral et al. (2018)
Europa	Romênia	305 (14 espécies)	Nycteribiidae	544 (10 espécies)	158 (29,1%)	<i>Basilia nana</i> , <i>B.nattereri</i> , <i>Nycteribia kolenatii</i> , <i>N. pedicularia</i> , <i>N. schmidlii</i> , <i>N. vexata</i> , <i>Penicillidia conspicua</i> , <i>P. dufouri</i> , <i>Phthiridium biarticulatum</i>	<i>gltA</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em moscas e morcegos na Europa)	Sándor et al. (2018)

América do Sul	Brasil (Maranhão)	29 (5 espécies)	Streblidae	15 (1 espécie)	3 (20%)	<i>Trichobius</i> spp.	<i>gltA</i> , <i>rpoB</i> <i>gltA</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em morcegos no Brasil e Costa Rica)	Braga et al. (2020)
América do Sul	Brasil (Mato Grosso do Sul)	135 (11 espécies)	Streblidae	64 (10 espécies)	6 (3,2%)	<i>Trichobius costalimai</i> , <i>T. joblingi</i> , <i>Megistopoda aranea</i>	<i>gltA</i> , <i>rpoB</i> , <i>ftsZ</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em morcegos na América do Sul)	Ikeda et al. (2020)
África	Zâmbia	36 (2 espécies)	Nycteribiidae	19 (1 espécie)	9 (47,3%)	<i>Eucampsipoda africana</i>	<i>gltA</i> , <i>rpoB</i> (isolamento de 'Candidatus B. rousetti')	Qiu et al. (2020)
Ásia	Coreia do Sul	198 (11 espécies)	Nycteribiidae e Streblidae	74 (6 espécies)	20/74 27,0%	<i>Nycteribia allotopa</i> , <i>N. parvula</i> , <i>Penicillidia jennynsii</i> , <i>Phthiridium hindlei</i> , <i>Brachytarsina</i> sp.	<i>gltA</i> e <i>ftsZ</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em moscas e morcegos da Ásia)	Lee et al. (2021)
América Central	Costa Rica	48 (8 espécies)	Streblidae e Nycteribiidae	114 (23 espécies)	(29%)	<i>Exastinion clovisi</i> , <i>Megistopoda aranea</i> , <i>Strebla galindoi</i> , <i>S. hertigi</i> , <i>S. vespertilionis</i> , <i>Trichobius johnsonae</i> , <i>T. pallidus</i> , <i>T. sparsus</i> , <i>T. uniformis</i> .	<i>gltA</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em morcegos na América Central)	Mitchell et al. (2022)
Ásia	Malásia	23 (1 espécie)	Nycteribiidae	45 (1 espécie)	14 (31,11%)	<i>Leptocyclopodia ferrari</i>	<i>gltA</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em moscas e morcegos de Gana)	Low et al. (2022)

África	África do Sul	56 (<i>Rousettus aegyptiacus</i>)	Nycteribiidae	107 (1 espécie)	47/107 (43,9%)	<i>Eucampsipoda africana</i>	<i>gltA</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em moscas e morcegos da Nigéria, Gana e Madagascar)	Szentiványi et al. (2023)
Ásia	Bangladesh	154 (<i>Pteropus medius</i>)	Nycteribiidae	119 (1 espécie)	59/60 (98%)	<i>Cyclopodia sykesii</i>	<i>gltA</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em moscas e morcegos de Malásia)	Fagre et al. (2023)
Ásia	Malásia	186 (15 espécies)	Nycteribiidae e Streblidae	98 (7 espécies)	66,7% (26/39 pools positivos)	<i>Eucampsipoda cf. sundaica</i> , <i>Phthiridium fraterum</i> , <i>Brachytarsina cf. modesta</i> , <i>Phthiridium spp.</i> , <i>Raymondia spp.</i> , <i>Leptocyclopodia spp.</i>	ITS (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em morcegos da Nigéria, Geórgia e Tailândia)	Peng et al. (2024)
África	Oriente Medio	68 (<i>Rousettus aegyptiacus</i>)	Nycteribiidae	176 (1 espécie)	65/176 36,9%	<i>Eucampsipoda aegyptia</i>	ITS e <i>gltA</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em morcegos no Egito, Irã e Geórgia)	Špitalská et al. (2024)
Europa	Portugal	47 (1 espécie)	Nycteribiidae	122 (2 espécies)	46 (37,7%)	<i>Penicillidia conspicua</i> , <i>Nycteribia schmidlii</i>	<i>gltA</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em morcegos da Europa e moscas da Europa e Ásia)	Sanches et al. (2025)
América do Sul	Brasil (Amazônia)	55 (2 espécies)	Streblidae	142 (3 espécies)	45 (31,7%)	<i>Trichobius parasiticus</i> , <i>T. diaemi</i> , <i>S. wiedemanni</i>	<i>gltA</i> , <i>rpoB</i> (genótipos próximos a <i>Bartonella</i> spp. detectadas em morcegos e moscas nos continentes americano e asiático)	Franco et al. (2025)

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Investigar a ocorrência e a diversidade genética de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae associadas a morcegos em fragmentos de floresta úmida e na Amazônia, nos estados de Pernambuco e Pará.

3.2 Objetivos Específicos

- Quantificar a presença e quantificar o DNA de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae parasitas de quirópteros, por meio PCR em tempo real quantitativa (qPCR) baseada na região intergênica do 16-23S rRNA (ITS);
- Caracterizar molecularmente as amostras de DNA de *Bartonella* spp. obtidas por meio de ensaios de PCR baseados em cinco marcadores moleculares (*rpoB*, *gltA*, *pap-31*, *ftsZ* e *nuoG*);
- Posicionar as sequências detectadas em um contexto de parentesco evolutivo dentro das linhagens de *Bartonella* spp., por meio da construção de árvores filogenéticas e rede de genótipos.

4. Referências

- ANDRÉ, M. R.; GUTIERREZ, R.; IKEDA, P.; DO AMARAL, R. B.; DE SOUSA, K. C.; NACHUM-BIALA, Y.; LIMA, L.; TEIXEIRA, M. M.; MACHADO, R. Z.; HARRUS, S. Genetic diversity of *Bartonella* spp. in vampire bats from Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 66, n. 6, p. 2329-41, 2019. Disponível em: <https://doi:10.1111/tbed.13290>
- ANDRÉ, M. R.; IKEDA, P.; LEE, D. A. B.; DO AMARAL, R. B.; CARVALHO, L. A. L.; PINHEIRO, D. G.; TORRES, J. M.; DE MELLO, V. V. C.; RICE, G. K.; CER, R. Z.; LOURENÇO, E. C.; OLIVEIRA, C. E.; HERRERA, H. M.; BARROS-BATTESTI, D. M.; MACHADO, R. Z.; BISHOP-LILLY, K. A.; DALGARD, C. L.; DUMLER, J. S. Characterization of the bacterial microbiome of non-hematophagous bats and associated ectoparasites from Brazil. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1261156, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1261156>
- BAI, Y.; OSINUBI, M. O. V.; OSIKOWICZ, L.; MCKEE, C.; VORA, N. M.; RIZZO, M. R.; RECUENCO, S.; DAVIS, L.; NIEZGODA, M.; EHIMIYEIN, A. M.; KIA, G. S. N.; OYEMAKINDE, A.; ADENIYI, O. S.; GBADEGESIN, Y. H.; SALIMAN, O. A.; OGUNNIYI, A.; OGUNKOYA, A. B.; KOSOY, M. Y.; Idanre Bat Festival Investigation Team. Human exposure to novel *Bartonella* species from contact with fruit bats. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 12, p. 2317–2323, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2412.181204>
- 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**, v. 17, n. 7, p. 1269-1272, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1707.101867>
- BARBIER, E.; BERNARD, E. 2017. From the Atlantic Forest to the borders of Amazônia: species richness, distribution, and host association of ectoparasitic flies (Diptera: Nycteribiidae and Streblidae) in northeastern Brazil. **Parasitology Research**, v.116, n. 11, p. 3043-3055, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5615-7>
- BARBIER, E.; GRACIOLLI, G. Community of bat flies (Streblidae and Nycteribiidae) on bats in the Cerrado of Central-West Brazil: hosts, aggregation, prevalence, infestation intensity, and infracommunities. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, n. 51, p. 176-187, 2016 Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01650521.2016.1215042>
- BARBIER, E.; HINTZE, F.; JARDELINO, A. C.; BERNARD, E. First record of the bat ectoparasitic fly *Strebla proxima* Wenzel, 1976 (Diptera: Streblidae) from Brazil. **Entomological News**, v. 127, p. 369-374, 2018. <https://doi.org/10.3157/021.127.0409>
- BERNAL, M. K. M.; DE SOUZA, A. J. S.; MORI, E.; SCHEFFER, K. C.; DE SÁ, L. R. M.; MALHEIROS, A. P.; NUNES, H. M.; PEREIRA, W. L. A. Molecular analysis of *Bartonella* spp. in liver tissue of bats from the Atlantic Forest biome, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, p. 2471-2482, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2022v43n6p2471>.
- BERNARD, E.; AGUIAR, L. M. S.; MACHADO, R. B. Discovering the Brazilian bat fauna: a task for two centuries? **Mammal Review**, v. 41, p. 23-39, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2010.00164.x>
- BILLETER, A. S; HAYMAN, D. T., PEEL, A. J., BAKER, K., WOOD, J. L., CUNNINGHAM, A., SUU-IRE, R., DITTMAR, K., & KOSOY, M. Y. *Bartonella* species in bat flies (Diptera: Nycteribiidae) from western Africa. **Parasitology** , v. 139, n. 3, p. 324–329, 2012.
- BRAGA, M.; GONÇALVES, L. R.; SILVA, T.; COSTA, F. B.; PEREIRA, J. G.; SANTOS, L.; CARVALHO NETA, A. V.; ARRUDA, R.; MESQUITA, E.; CHAVES, P.; MELO, F. A.; LOPES, J. L.; MARTINS, R.; LIMA, M. S.; DO AMARAL, R.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. (2020). Occurrence of *Bartonella* genotypes in bats and associated Streblidae flies from Maranhão state, northeastern Brazil. **Brazilian journal of veterinary parasitology**, v. 29, n. 4, p. 1-7, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020088>
- BREITSCHWERDT, E. B.; KORDICK, D. L. *Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 3, p. 428–438, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/cmr.13.3.428-438.2000>
- 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**, v. 9, n. 2, p. e0003532, 2015Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003532>
- CONCANNON, R.; WYNN-OWEN, K.; SIMPSON, V. R.; BIRTLES, R. J.

Molecular characterization of haemoparasites infecting bats (Microchiroptera) in Cornwall, UK. **Parasitology**, v. 131, p. 489-496, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0031182005008097>

CORDUNEANU, A.; SÁNDOR, A. D.; IONICĂ, A. M.; HORNOK, S.; LEITNER, N.; BAGÓ, Z.; STEFKE, K.; FUEHRER, H. P.; MIHALCA, A. D. *Bartonella* DNA in heart tissues of bats in central and eastern Europe and a review of phylogenetic relations of bat-associated bartonellae. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 489, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3070-7>

CORDUNEANU, A.; ZAJĄC, Z.; KULISZ, J.; WOZNIAK, A.; FOUCAULT-SIMONIN, A.; MOUTAILLER, S.; WU-CHUANG, A.; PETER, Á.; SÁNDOR, A. D.; CABEZAS-CRUZ, A. Detection of bacterial and protozoan pathogens in individual bats and their ectoparasites using high-throughput microfluidic real-time PCR. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 5, p. e0153123, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/spectrum.01531-23>

DAVOUST, B.; MARIÉ, J. L.; DAHMANI, M.; BERENGER, J. M.; BOMPAR, J. M.; BLANCHET, D.; CHEURET, M.; RAOULT, D.; MEDIANNIKOV, O. Evidence of *Bartonella* spp. in blood and ticks (*Ornithodoros hasei*) of Bats, in French Guiana. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 16, n. 8, p. 516–519, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/vbz.2015.1918>

DAVOUST, B.; MARIÉ, J.L.; DAHMANI, M.; BERENGER, J.M.; BOMPAR, J.M.; DEHIO, C. Molecular and cellular basis of *Bartonella* pathogenesis. **Annual Review of Microbiology**, v.58, p.365–390, 2004.

DENG, H.; LE RHUN, D.; BUFFET, J. P.; COTTÉ, V.; READ, A.; BIRTLES, R. J.; VAYSSIER-TAUSSAT, M. Strategies of exploitation of mammalian reservoirs by *Bartonella* species. **Veterinary Research**, v. 43, n. 1, p. 15, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-15>

DICK, C. W.; PATTERSON, B. D. Bat flies: obligate ectoparasites of bats. In: MORAND, S.; KRASNOV, B.R.; POULIN R. **Micromammals and macroparasites: from evolutionary ecology to management**. p. 179-194, 2006.

DICK, C. W, PATTERSON, B. D. Against all odds: explaining high host specificity in dispersal-prone parasites. **Parasitol**, v. 37, n. 8, p. 871-876, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.02.004>

DICK, C. W, DITTMAR, K. Parasitic bat flies (Diptera: Streblidae and Nycteribiidae): host specificity and potential as vectors. In: Klimpel S, Mehlhorn H. Bats (Chiroptera) as Vectors of Diseases and Parasites. **Springer**, p. 131-155, 2014. DIETRICH, M.; TJALE, M. A.; WEYER, J.; KEARNEY, T.; SEAMARK, E. C.; NEL, L. H.; MONADJEM, A.; MARKOTTER, W. Diversity of *Bartonella* and *Rickettsia* spp. in bats and their blood-feeding ectoparasites from South Africa and Swaziland. **PLoS One**, v. 11, n. 3, p. e0152077, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152077>

DITTMAR, K, MORSE, S. F, DICK, C. W, PATTERSON, B. D. Bat fly evolution from the Eocene to the Present (Hippoboscoidea, Streblidae and Nycteribiidae). In: Morand S, Krasnov B, Littlewood T (eds). Parasite diversity and diversification: evolutionary ecology meets phylogenetics. **Cambridge University Press**, p. 246-264, 2015. <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9781139794749.015>

EICHER, S. C.; DEHIO, C. *Bartonella* entry mechanisms into mammalian host cells. **Cellular Microbiology**, v. 14, n. 8, p. 1166–1173, 2012. Disponível em:

<https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2012.01806.x>

EREMEEVA, M. E., GERNS, H. L., LYDY, S. L., GOO, J. S., RYAN, E. T., MATHEW, S. C., MARY JANE FERRARO, HOLDEN, J. M., NICHOLSON, W. J., DASCH, G. A., & KOEHLER, J. E. Bacteremia, Fever, and Splenomegaly Caused by a Newly Recognized *Bartonella* Species. **The New England Journal of Medicine** v. 356, n. 23, p. 2381–2387, 2007. <https://doi.org/10.1056/nejmoa065987>

FAGRE, A. C.; ISLAM, A.; REEVES, W. K.; KADING, R. C.; PLOWRIGHT, R. K.; GURLEY, E. S.; MCKEE, C. D. *Bartonella* infection in fruit bats and bat flies, Bangladesh. **Microbial Ecology**, v. 86, n. 4, p. 2910-2922, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02293-9>

FENTON, M. B.; SIMMONS, N. Bats: a world of science and mystery. **University Chicago Press**, Chicago and London, v. 7, 2014.

FLEMING, T. H.; HOOPER, E. T.; WILSON, D.E. Three central American bats communities: structure, reproductive cycles, and movement patterns. **Ecology**, v. 53, n. 4, p. 556-569, 1972. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/1934771>

FRANCO, E. O., DOS SANTOS, F. C. B., DE SOUSA VERDE, R., CALCHI, A. C., DE MELLO, V. V. C., LEE, D. B., DIAS, C. M., MACHADO, R. Z., CARVALHO, A. A. B., ROQUE, A. L. R., & ANDRÉ, M. R. *Bartonella* spp. in bats from the Brazilian Amazon Forest. **Veterinary Research Communications**, v. 48, n. 6, p. 4159–4168, 2024.

FRANCO, E. O., DE OLIVEIRA, L. B., CALCHI, A. C., MELLO, V. V. C., LEE, D. A. B., ARANTES, P. V. C., GRACIOLLI, G., MACHADO, R. Z., COELHO, T. F. S. B., & ANDRÉ, M. R. Genetic diversity of *Bartonella* spp. in vampire bats and associated Streblidae bat flies in the Brazilian Amazon. **Parasitology International**, v. 106, p. 103019, 2025.

FRANK, R.; MU"NSTER, J.; SCHULZE, J.; LISTON, A.; KLIMPEL, S. Macroparasites of microchiroptera: bat ectoparasites of Central and South America. In: KLIMPEL, S.; MEHLHORN, H. **Bats (Chiroptera) as vectors of diseases and parasites**. Springer, Heidelberg, p. 87-130, 2014.

FRANK, T.; GABBERT, W. C.; CHAVES-CAMPOS, J.; LAVAL, R. Impact of artificial lights on foraging of insectivorous bats in a Costa Rican cloud forest. **Journal of Tropical Ecology**, v. 35, n. 1, p. 8-17, 2019.

GARBINO, G. S. T.; GREGORIN, R.; LIMA, I. P.; LOUREIRO, L.; MORAS, L. M.; MORATELLI, R.; NOGUEIRA, M. R.; PAVAN, A. C.; TAVARES, V. C.; DO NASCIMENTO, M. C.; PERACCHI, A. L. Sociedade Brasileira para o Estudo de Quirópteros. **Updated checklist of Brazilian bats: Comitê da Lista de Morcegos do Brasil—CLMB**, 2020. Disponível em: <https://www.sbeq.net/lista-de-especies>.

GRACIOLLI, G, SANTOS, C. L. C, REBÊLO J. M. M. Postgenal ctenidium in bat flies (Diptera, Streblidae): new genus, with description of two species, and delimitation of Streblinae. **Syst Parasitol**; v. 99, n. 6, p. 727-739, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11230-022-10062-4>

GRACIOLLI, G.; HRYCYNA, G. Nycteribiidae in **Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil**. PNUD. 2024. Disponível em: <http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/2992>.

GRACIOLLI G. Streblidae in **Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil**. PNUD.

2023. Disponível em: <<http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/2624>>

GRACIOLLI, G.; DICK, C.W. A new species of *Basilia* Miranda-Ribeiro (Diptera: Nycteribiidae) from Honduras, parasite of *Bauerus dubiaquercus* (Van Gelder) (Chiroptera: Vespertilionidae: Antrozoinae). **Zootaxa**, v.1972, n. 1, p. 59-64, 2009.

GRACIOLLI, G. Nycteribiidae (Bat flies, Spider bat flies). In: BROWN, B.V.; BORKENT, A.; CUMMING K. M.; WOOD, D. M.; WOODLEY, N. E.; ZUMBADO, M. A. Manual of Central American Diptera. Ottawa, v.2, p.1261-1266, 2010.

GUPTIL, L.; SLATER L.; WU C. C.; LIN T. L.; GLICKMAN L. T.; WELCH D. F.; ESCH, H. H. Experimental infection of young specific pathogen-free cats with *Bartonella henselae*. **Journal of Infectious Diseases**, v. 176, n. 1, p. 206-216, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/514026>

HAN, H. J.; LI, Z. M.; LI, X.; LIU, J. X.; PENG, Q. M.; WANG, R.; GU, X. L.; JIANG, Y.; ZHOU, C. M.; LI, D.; XIAO, X.; YU, X. J. Bats and their ectoparasites (Nycteribiidae and Spinturnicidae) carry diverse novel *Bartonella* genotypes, China. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 69, n. 4, p. e845-e858, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tbed.14357>

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**, v. 12, n. 1, p. e0167915, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167915>

HUTCHEON, J. M.; KIRSCH, J. A. A moveable face: deconstructing the Microchiroptera and a new classification of extant bats. **Acta Chiropterologica**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2006.\

GONÇALVES-OLIVEIRA, J.; ROZENTAL, T.; GUTERRES, A.; TEIXEIRA, B. R.; ANDRADE-SILVA, B. E.; COSTA-NETO, S.; FURTADO, M. C.; MORATELLI, R.; D'ANDREA, P. S.; LEMOS, E. Investigation of *Bartonella* spp. in Brazilian mammals with emphasis on rodents and bats from the Atlantic Forest. **International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife**, v.13, p. 80-89, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2020.07.004>

KAMANI, J. et al. *Bartonella* species in bats (Chiroptera) and bat flies (Nycteribiidae) from Nigeria, West Africa. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 14, n. 9, p. 625–632, 2014. <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1541>

KOOPMAN, K. F. A synopsis of the families of bats. In: BHATNAGAR K. P.; HORST R. G. **Bat Research News**. Louisville, V. 25, p. 15–17, 1984.

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**, v.16, n.12, p.1875-1881, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1612.100601>

LAMAS, C.; CURI, A.; BÓIA, M. N.; LEMOS, E. R. S. Human Bartonellosis: seroepidemiological and clinical features with an emphasis on data from Brazil – A Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.103, n.3, p.221-235, 2008.

LEE, H., SEO, M. G., LEE, S. H., OEM, J. K., KIM, S. H., JEONG, H., KIM, Y., JHEONG, W. H., KWON, O. D., & KWAK, D. Relationship among bats, parasitic bat flies, and associated pathogens in Korea. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 503, 2021.

LEULMI, H.; AOUADI, A.; BITAM, I.; BESSAS, A.; BENAKHLA, A.; RAOULT,

D.; PAROLA, P. Detection of *Bartonella tamiae*, *Coxiella burnetii* and rickettsiae in arthropods and tissues from wild and domestic animals in northeastern Algeria. **Parasites & vectors**, v. 9, p. 27, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1316-9>

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 *Candidatus Bartonella mayotimonensis* in North American Bats. **Vector-Borne Zoonotic Diseases**, v.17, n.4, p. 243-246, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.2080>

LIN, E. Y.; TSIGRELIS, C.; BADDOUR, L. M.; LEPIDI, H.; ROLAIN, J. M.; PATEL, R.; RAOULT D. *Candidatus Bartonella mayotimonensis* and endocarditis. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, p. 500-503, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1603.081673>

LIN, J. W.; HSU, Y. M.; CHOMEL, B. B.; LIN, L. K.; PEI, J. C.; WU, S. H.; CHANG, C. C. Identification of novel *Bartonella* spp. in bats and evidence of Asian gray shrew as a new potential reservoir of *Bartonella*. **Veterinary Microbiology**, v.156, p. 119–126, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.09.031>

LOW, V. L., TAN, T. K., TOHIRAN, K. A., LIM, Y. A. L., ABUBAKAR, S., & NASIR, D. M., A novel clade of bat-associated *Bartonella* detected in the bat fly *Leptocyclopodia ferrari* (Diptera: Nycteribiidae) parasitizing *Cynopterus brachyotis* (Chiroptera: Pteropodidae). **Veterinary Microbiology**, v. 264, n. 109284, p. 109284, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109284>.

FERREIRA, M. S.; GUTERRES, A.; ROZENTAL, T.; NOVAES, R. L. M.; VILAR, E. M.; OLIVEIRA, R. C.; FERNANDES, J., FORNEAS, D.; JUNIOR, A. A.; BRANDÃO, M. L.; CORDEIRO, J. L. P.; DEL VALLE, M. R.; ALVAREZ, S.L.; ALTHOFF S. L.; MORATELLI, R.; CORDEIRO-ESTRELA, P.; SILVA R. C. D.; LEMOS E. R. S. *Coxiella* and *Bartonella* spp. in bats (Chiroptera) captured in the Brazilian Atlantic Forest biome. **BMC Veterinary Research**, v. 14, p. 279, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1603-0>

MCKEE, C. D.; BAI, Y.; WEBB, C. T.; KOSOY, M. Y. Bats are key hosts in the radiation of mammal-associated *Bartonella* bacteria. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 89, p. 104719, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104719>

MITCHELL, M.M.; VICENTE-SANTOS, A.; RODRÍGUEZ-HERRERA, B.; CORRALES-AGUILAR, E.; GILLESPIE, T. R. Genetic diversity of *Bartonella* spp. in cave-dwelling bats and bat Flies, Costa Rica, **Emerging Infectious Diseases**, v. 28, n. 2, p. 488–491, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2802.211686>

MOGOLLON-PASAPER, E.; OTVOS, L. JR.; GIORDANO, A.; CASSONE, M. *Bartonella*: emerging pathogen or emerging awareness? **International journal of infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 3–8, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2008.04.002>

MOSKALUK, A. E.; STUCKEY, M. J.; JAFFE, D. A.; KASTEN, R. W.; AGUILAR-SETIÉN, A.; OLAVE-LEYVA, J. I.; GALVEZ-ROMERO, G.; OBREGÓN-MORALES, C.; SALAS-ROJAS, M.; GARCÍA-FLORES, M. M.; ARÉCHIGA-CEBALLOS, N.; GARCÍA-BALTAZAR, A.; CHOMEL, B. B. Molecular detection of *Bartonella*

species in blood-feeding bat flies from Mexico. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 18, n. 5, p. 258-265, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2213>

NABESHIMA, K.; SATO, S.; BRINKERHOFF, R. J.; AMANO, M.; KABEYA, H.; ITOU, T.; MARUYAMA, S. Prevalence and genetic diversity of *Bartonella* spp. in Northern Bats (*Eptesicus nilssonii*) and their blood-sucking ectoparasites in Hokkaido, Japan. **Microbial Ecology**, v. 85, n. 1, p. 298-306, 2023.

OKARO, U.; ADDISU, A.; CASANAS, B.; ANDERSON, B. 2017. *Bartonella* species, an emerging cause of blood-culture-negative endocarditis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, p. 709–746, 2017.

IKEDA, P.; MARINHO TORRES, J.; PERLES, L.; LOURENÇO, E.C.; HERRERA, H. M.; DE OLIVEIRA, C. E.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Intra-and inter-host assessment of *Bartonella* diversity with focus on non-hematophagous bats and associated ectoparasites from Brazil. **Microorganisms**, v. 8, n. 11, p. 1822, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111822>

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 & Infection**, v.145, p. 2038-2052, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/s0950268817000966>

PARTE, A.C., SARDÀ CARBASSE, J., MEIER-KOLTHOFF, J.P., REIMER, L.C. AND GÖKER, M. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, p. 5607-5612, 2020.

PERACCHI, A. L.; REIS I. P.; REIS, N.R.; NOGUEIRA, M.R.; ORTENCIO FILHO, H. Ordem Chiroptera. In: DOS REIS N. R. **Mamíferos do Brasil**. v. 2, p.155-234, 2011.

PERACCHI, A. L.; REIS I. P.; REIS, N.R.; NOGUEIRA, M.R.; ORTENCIO FILHO, H. Ordem Chiroptera. In: DOS REIS N. R. **Mamíferos do Brasil**. v. 2, p.153-230, 2006.

PENG T. L, KAMAR A. H, MOHAMED M, GILBERT B, MOHD SANI N. I, C W ZALATI C. W. S, HAMDAN R. H, SAMOH A, LOONG S. K. Molecular prevalence of *Bartonella* spp. in bat flies in east coast Malaysia. **Heliyon**, v. 10, n. 9, p. e29785, 2024.

PITASSI, L. H.; DE PAIVA DINIZ, P. P.; SCORPIO, D. G.; DRUMMOND, M. R.; LANIA, B. G.; BARJAS-CASTRO, M. L.; GILIOLI, R.; COLOMBO, S.; SOWY, S.; BREITSCHWERDT, E. B.; NICHOLSON, W. L.; VELHO, P. E. *Bartonella* spp. bacteremia in blood donors from Campinas, Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 1, p. e0003467, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003467>

QIU, Y.; KAJIHARA, M.; NAKAO, R.; MULENGA, E.; HARIMA, H.; HANG'OMBE, B. M.; ETO, Y.; CHANGULA, K.; MWIZABI, D.; SAWA, H.; HIGASHI, H.; MWEENE, A.; TAKADA, A.; SIMUUNZA, M.; SUGIMOTO, C. Isolation of *Candidatus Bartonella rousetti* and other bat-associated bartonellae from bats and their flies in Zambia.

Pathogens, v. 9, n. 6, p. 469, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens9060469>

DO AMARAL, R. B.; LOURENÇO, E. C.; FAMADAS, K. M.; GARCIA, A. B.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Molecular detection of *Bartonella* spp. and *Rickettsia* spp. in bat ectoparasites in Brazil. **PLoS One**, v. 13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198629>

RAO, H.; LI, S.; LU, L.; WANG, R.; SONG, X.; SUN, K.; SHI, Y.; LI, D.; YU, J. Genetic diversity of *Bartonella* species in small mammals in the Qaidam Basin, western China. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1735, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81508-w>

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 the Society for Vector Ecology**, v. 30, n. 2, p. 339–341, 2005.

SANCHES, G. S., RODRIGUES, L., TORREJÓN, E., BASSINI-SILVA, R., CALCHI, A. C., LEE, D. A. B., ARANTES, P. V. C., BARBIER, E., BARROS-BATTESTI, D. M., GRACIOLLI, G., MACHADO, R. Z., ANTUNES, S., DOMINGOS, A., & ANDRÉ, M. R., Molecular survey of Anaplasmatidae agents, *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp., and Piroplasmids in ectoparasites from cave-dwelling bats in Mainland Portugal, **Pathogens** v. 14, n. 3, 2025. <https://doi.org/10.3390/pathogens14030273>.

SÁNDOR, A. D., FÖLDVÁRI, M., KRAWCZYK, A. I., SPRONG, H., CORDUNEANU, A., BARTI, L., GÖRFÖL, T., ESTÓK, P., KOVÁTS, D., SZEKERES, S., LÁSZLÓ, Z., HORNOK, S., & FÖLDVÁRI, G. Eco-epidemiology of novel *Bartonella* genotypes from parasitic flies of insectivorous bats. **Microbial Ecology**, v. 76, n. 4, p. 1076–1088, 2018.

SZENTIVÁNYI T, HEINTZ AC, MARKOTTER W, WASSEF J, CHRISTE P, GLAIZOT O. Vector-borne protozoan and bacterial pathogen occurrence and diversity in ectoparasites of the Egyptian Rousette bat. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 37, n. 2, p. 189–194, 2023.

SIMMONS, N. B.; CONWAY, T. M. Phylogenetic relationships of mormoopid bats (Chiroptera: Mormoopidae) based on morphological data. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 2001, n. 258, p. 1-100, 2001.

SIMMONS, N. B.; CONWAY T. M. Evolution of ecological diversity in bats. **Ecology of Bats**, p. 493–535, 2003.

SPRINGER, M. S.; TEELING, E. C.; MADSEN, O.; STANHOPE, M.; DE JONG, W. W. Integrated fossil and molecular data reconstruct bat echolocation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.98, n. 11, p. 6241–6246, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.111551998>

ŠPITALSKÁ E, ŠEVČÍK M, PERESH Y. Y, BENDA P. *Bartonella* in bat flies from the Egyptian fruit bat in the Middle East. **Parasitology Research**, v. 123, n. 2, 2024.

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**, v. 97, n. 2, p. 413-422, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0680>

SZENTIVÁNYI, T.; CHRISTE, P.; GLAIZOT, O. Bat flies and their microparasites: current knowledge and distribution. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 115, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00115>

PACHECO T. D. A.; AMARAL, R. B. D.; IKEDA, P.; MAIA, M. O.; LEE, D. A. B.; SEMEDO, T. B. F.; DE MENDONÇA, R. F. B.; PEDRONI, F.; HORTA, M.C.; ROSSI, R. V.; ANDRÉ, M. R.; PACHECO, R. C. Molecular detection and characterization of *Bartonella* spp. in small mammals in the Amazônia and Cerrado biomes, midwestern Brazil. **Acta Tropica**, v. 215, p. 107129, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2024.107129>

MACO, V.; MAGUIÑA, C.; TIRADO, A.; MACO, C. V.; Vidal, J. E. Carrion's disease (*Bartonellosis bacilliformis*) confirmed by histopathology in the High Forest of Peru. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 46, n. 3, p. 171-174, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0036-46652004000300010>

VAUGHAN, T. A.; RYAN, J. M.; CZAPLEWSKI, N. J. **Mammalogy**. USA: Thompson Learning, Inc, v. 4, p. 565, 2000.

VEIKKOLAINEN, V.; VESTERINEN, E. J.; LILLEY, T. M.; PULLIAINEN, A. T. Bats as reservoir hosts of human bacterial pathogen, *Bartonella mayotimonensis*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n.6, p.960-967, 2014.

VELHO, P. E. N. F. Study of *Bartonella* in humans and *Bartonella henselae*: experimental infection, microbiology, light and transmission electron microscopy. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) — Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, p. 197, 2001.

WALLAU, G. L.; BARBIER, E.; TOMAZATOS, A.; SCHMIDT-CHANASIT, J.; BERNARD, E. The virome of bats inhabiting Brazilian biomes: knowledge gaps and biases towards zoonotic viruses. **Microbiology Spectrum**, v. 11, n. 1, p. e0407722, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/spectrum.04077-22>

WRAY, A. K.; OLIVAL, K. J.; MORÁN, D.; LOPEZ, M. R.; ALVAREZ, D.; NAVARRETE- MACIAS, I.; LIANG, E.; SIMMONS, N. B.; LIPKIN, W. I.; DASZAK, P.; ANTHONY, S. J. Viral diversity, prey preference, and *Bartonella* prevalence in *Desmodus rotundus* in Guatemala. **Ecohealth**, v. 13, n. 4, p. 761-774, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1183-z>

YANG, J.; WANG, Y.; YANG, H.; ZHANG, X.; ZHENG, X.; HUANG, X. Infection status and molecular detection of pathogens carried by ectoparasites of *Miniopterus fuliginosus* bats in Yunnan, China. **Parasitology international**, v. 98, p. 102823, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2023.102823>

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

CAPITULO 2. Diversidade de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae associadas a morcegos no Brasil

RESUMO

As moscas da família Streblidae são ectoparasitos com distribuição mundial, especializadas em parasitar exclusivamente morcegos, os quais atuam como hospedeiros de *Bartonella* spp. Essas moscas são potenciais vetores dessas bactérias emergentes, algumas com relevância zoonótica. Apesar da alta riqueza de espécies de morcegos e moscas Streblidae no Brasil, pouco se conhece sobre a ocorrência e diversidade de *Bartonella* spp. nestes hospedeiros, principalmente em ambientes cavernícolas. Este estudo investigou a ocorrência e diversidade genética de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae associadas a morcegos em brejos de Altitude no estado de Pernambuco (558 moscas de sete espécies coletadas de 299 morcegos) e cavernas no estado do Pará (677 moscas de 11 espécies coletadas de 174 morcegos). Amostras de DNA extraídas de moscas e positivas na PCR para gene endógeno *cox-1* foram submetidas à qPCR para *Bartonella* spp. (região intergênica 16-23S rRNA) e ensaios de caracterização molecular baseados em cinco marcadores moleculares (*gltA*, *rpoB*, *ribC*, *pap-31* e *ftsZ*). Taxas de positividade para *Bartonella* spp. de 37,5% (Pernambuco) e 25,4% (Pará) foram encontradas. A caracterização genética só foi possível nas amostras de moscas de morcegos cavernícolas da Amazônia brasileira, que revelou grande diversidade genética de *Bartonella* spp., que revelou grande diversidade genética de *Bartonella* spp. com a identificação de onze genótipos do gene *gltA*, e seis para o gene *ftsZ* e quatro do gene *rpoB*. As análises filogenéticas baseadas nestes três marcadores moleculares revelaram relações próximas entre as sequências detectadas e linhagens encontradas em morcegos e moscas associadas no Brasil e em outros países. Trata-se da primeira evidência molecular de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae parasitas de morcegos cavernícolas no Brasil, abrindo fronteiras para estudos interespecíficos (*Bartonella*-mosca-morcego) nestes ecossistemas ainda pouco explorados. Adicionalmente, o presente trabalho traz a primeira detecção molecular de *Bartonella* spp. em espécimes de *Mastoptera minuta*, *Nycterophilus parnelli*, *Trichobius galei* e *T. johnsonae*.

Palavras-Chave: Bartonelose; Chiroptera; Hippoboscoidea; morcegos cavernícolas.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Bartonella* (Hyphomicrobiales: Bartonellaceae) compreende alfa-proteobactérias Gram-negativas intracelulares facultativas, com predileção por eritrócitos e células endoteliais, onde estabelecem infecções persistentes por meio de mecanismos de evasão da resposta imune do hospedeiro [1, 2, 3].

Os morcegos são o segundo grupo de mamíferos mais frequentemente associados a *Bartonella* spp. [4] Suas características biológicas únicas, como longos períodos de vida e capacidade de voo, que permitem ampla dispersão geográfica e complexas interações sociais, favorecem a manutenção e a disseminação de patógenos, incluindo *Bartonella* spp. [5, 6].

No que diz respeito ao potencial zoonótico de tais agentes associados a morcegos, '*Candidatus Bartonella mayotimonensis*' foi inicialmente descrita em um caso de endocardite humana nos Estados Unidos e, posteriormente, detectada em morcegos nos Estados Unidos e Europa [7, 8, 9, 10]. *Bartonella rochalimae*, que foi detectada em um paciente dos Estados Unidos, ao retornar do Peru com febre e esplenomegalia [11], foi recentemente detectada em morcegos na América do Norte [12]. '*Candidatus Bartonella rousetti*' foi detectada em humanos na Nigéria [13] e em morcegos e ectoparasitos associados na Nigéria e Zâmbia [13, 14].

Bartonella spp. são potencialmente transmitidas entre morcegos por moscas da família Streblidae [15]. Tal papel pode ser ainda mais relevante em ambientes cavernícolas, onde ocorrem as maiores concentrações populacionais e a mais alta diversidade de morcegos [16]. As moscas da família Streblidae constituem um grupo de dípteros hematófagos obrigatórios, especializados em parasitar exclusivamente morcegos e com distribuição mundial [17]. Esses insetos demonstram notável adaptação ao parasitismo, tais como olhos compostos reduzidos, presença de ctenídeo em várias espécies, redução ou mesmo ausência de asas e viviparidade adenotrófica como estratégia reprodutiva [18, 19]. A associação com morcegos é tão estreita que moscas Streblidae figuram entre os ectoparasitos mais comuns e numerosos nesses mamíferos, especialmente em espécies que ocupam abrigos estáveis [20]. No Brasil, já foram registradas mais de 100 espécies de moscas Streblidae, representando aproximadamente 42% da diversidade global conhecida [21, 22, 23, 24, 25].

A ocorrência de *Bartonella* em moscas de morcegos foi registrada em diferentes regiões do mundo, tais como Japão [26], China [27, 28, 29], Malásia [30, 31], Bangladesh [32], Gana [33], Madagascar [34], Zâmbia [14], África do Sul [35],

Egito [36], Ucrânia [37], Romênia [38, 39], Portugal [40], Hungria [38], Estados Unidos, [41] México, [42] e Costa Rica [43]. No Brasil, apesar da grande diversidade de espécies morcegos (186 espécies) [44] e de moscas Streblidae, *Bartonella* spp. foi relatada nestas moscas apenas nos estados do Rio de Janeiro (Mata Atlântica) [45], Mato Grosso do Sul (Cerrado) [46], Maranhão (Amazônia) [47] e Pará (Amazônia) [15].

Ainda que no estado de Pernambuco, nordeste do Brasil, tenham sido registradas 73 espécies de morcegos, constituindo 56% da fauna desses animais do Nordeste e 40,3% do Brasil [48, 49], inexistentes são os estudos acerca da ocorrência e diversidade molecular de *Bartonella* spp. em ectoparasitos associados a estes mamíferos neste estado. Adicionalmente, inexistentes são os estudos acerca da ocorrência e diversidade de genótipos de *Bartonella* spp. em morcegos cavernícolas no Brasil.

Considerando o papel dos morcegos na disseminação de patógenos e a diversidade de vetores a eles associados, torna-se essencial aprofundar o conhecimento acerca da distribuição geográfica e diversidade de espécies de *Bartonella* spp. associadas aos ectoparasitos que parasitam esses mamíferos [9]. O presente estudo teve como objetivo investigar a ocorrência e diversidade genética de *Bartonella* spp. em moscas de morcegos coletadas em remanescentes de florestas úmidas no estado de Pernambuco e em cavernas no estado do Pará, no nordeste e norte do Brasil, respectivamente.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Áreas de estudo, captura de morcegos e coleta de moscas Streblidae

Durante o período de julho/2018 a fevereiro/2019, os morcegos foram capturados na Fazenda Fojos, Garanhuns, estado de Pernambuco, em áreas circunvizinhas de remanescentes de enclave de floresta úmida, caracterizadas como brejos de altitude: Mata do Camapuã (8°54'19.95"S, 36°33'53.82"W), Mata do Macaco (8°53'26.28"S, 36°32'51.78"W) e Mata do S (8°52'52.56"S, 36°32'34.20"W) (**Figura 1 e 2**). Os morcegos foram capturados com o auxílio de rede de neblina (12 x 3 m com malha de 20 mm) e inspecionados visualmente para a coleta de moscas ectoparasitas, as quais foram acondicionadas individualmente em microtubos contendo etanol absoluto. Após o procedimento, todos os morcegos foram devolvidos ao local de captura [50]. Foram coletadas 558 moscas pertencentes a 12 espécies, provenientes de 299 morcegos de 12 espécies (**Tabelas 1 e 2**). Todas as atividades de campo em Pernambuco foram autorizadas pelo Instituto

Chico Mendes de Conservação da Natureza (licença ICMBio–SISBIO #62321–1) e pelo Comitê de Ética de Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA/UFRPE protocolo #67/2028) e CEUA da FCAV/UNESP Jaboticabal (protocolo #2272/2024).

Em maio de 2024, foram realizadas capturas de morcegos na região Amazônica, no estado do Pará. As amostragens ocorreram em diferentes localidades e cavernas: Caverna das Mãos, em Rurópolis (4°9'24"S, 55°4'19"W); Caverna Chico Preta (3°43'40"S, 53°43'59"W) e Caverna Coração da Amazônia I (3°46'23"S, 53°35'26"W), ambas em Uruará; Caverna Limoeiro, em Medicilândia (3°30'45"S, 52°47'50"W); Caverna Planaltina, em Brasil Novo (3°22'40"S, 52°34'30"W); e Caverna Pedra da Cachoeira, em Altamira (3°19'16"S, 52°19'55"W) (**Figura 1 e 2**). No total, 677 moscas de 17 espécies foram coletadas de 174 morcegos pertencentes a 11 espécies (**Tabelas 1 e 2**). Todas as atividades de campo no estado do Pará foram autorizadas sob licença SISBIO (#93114-2) e CEUA da FCAV/UNESP Jaboticabal (protocolo #2272/2024).

Os morcegos capturados foram identificados segundo as chaves de Gardner [51] e Dias e Peracchi [52]. As moscas foram identificadas com auxílio de esteromicroscópio, usando chaves dicotômicas previamente descritas [53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60].

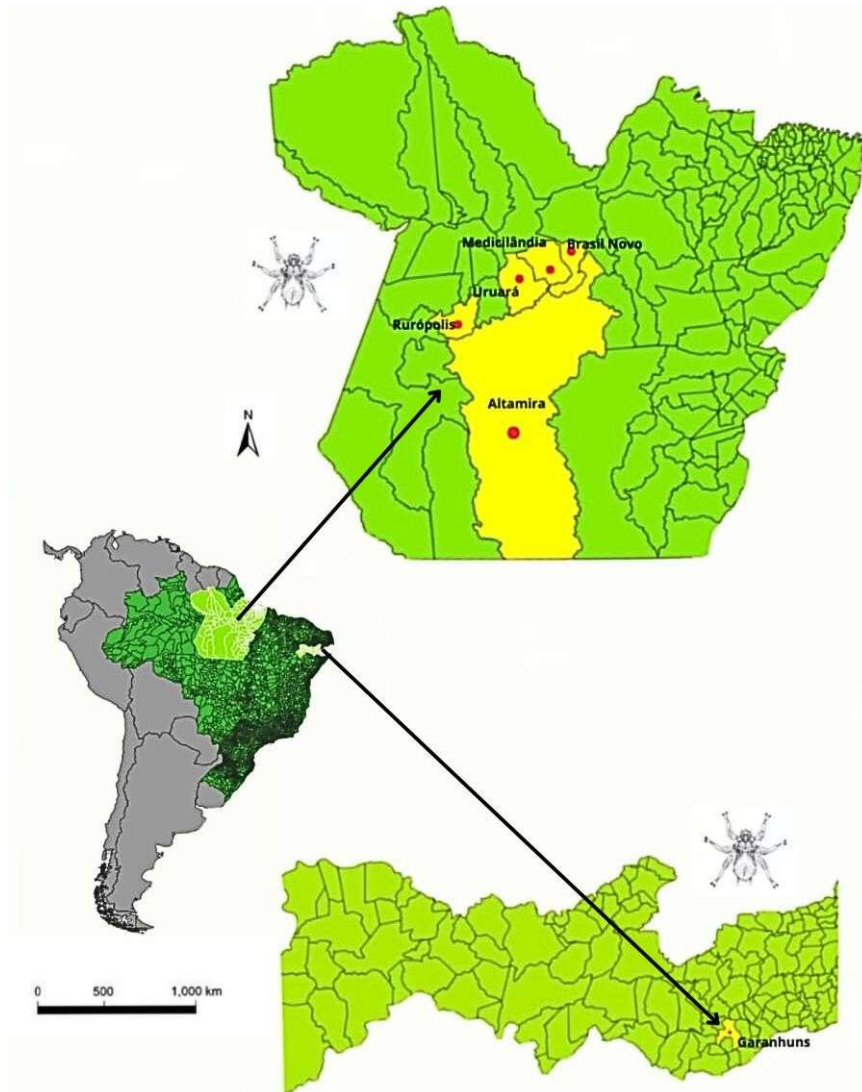


Figura 1. Mapa da América do Sul, com destaque no Brasil, mostrando ampliado os estados e de Pernambuco (verde claro) com foco no Brejo de Altitude na cidade de Garanhuns e região Amazônica, no Pará (verde escuro), com foco nas cidades de Altamira, Rurópolis, Uruará Medicilândia e Brasil Novo.

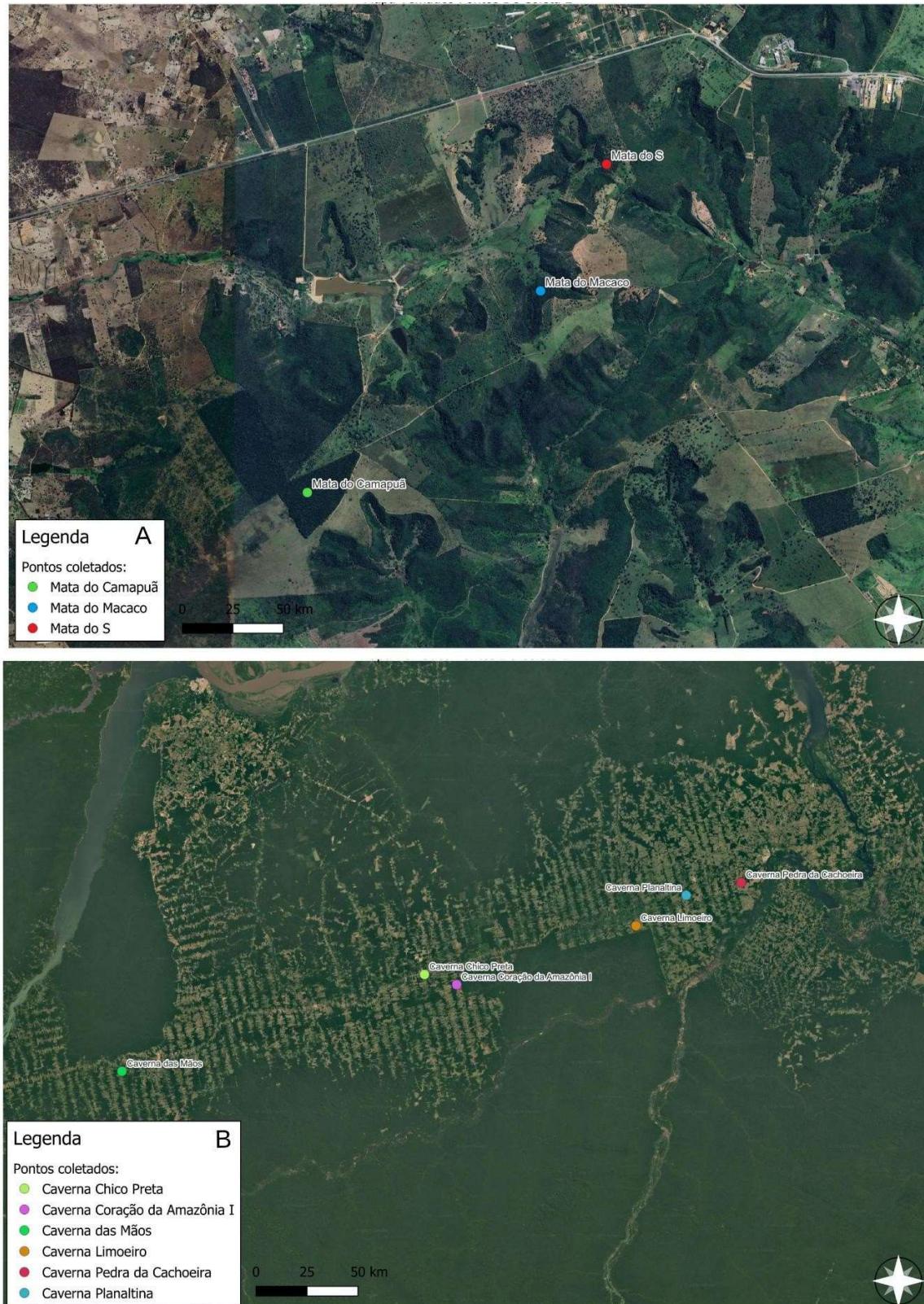


Figura 2. Mapa dos locais da captura de morcegos e coleta de moscas Streblidae, nos estados de Pernambuco (A) e Pará (B).

Tabela 1. Espécies e número de morcegos capturados em remanescentes florestais no período de 2018 e 2024, no estado de Pernambuco e em cavernas no estado do Pará, no nordeste e norte do Brasil, respectivamente, dos quais foram coletadas moscas Streblidae.

Espécies morcegos	Pernambuco	Pará
<i>Anoura geoffroyi</i> (Gray, 1838)	0	8
<i>Artibeus fimbriatus</i> (Gray, 1838)	8	0
<i>Artibeus lituratus</i> (Olfers, 1818)	28	0
<i>Artibeus planirostris</i> (Spix, 1823)	14	0
<i>Carollia perspicillata</i> (Linnaeus, 1758)	99	20
<i>Chiroderma</i> sp. (Peters, 1860)	1	0
<i>Dermanura cinerea</i> (Gervais, 1856)	2	0
<i>Desmodus rotundus</i> (É. Geoffroy, 1810)	0	1
<i>Glossophaga soricina</i> (Pallas, 1766)	1	2
<i>Lonchorhina aurita</i> (Tomes, 1863)	0	4
<i>Lophostoma silviculum</i> (d'Orbigny, 1836)	2	0
<i>Myotis lavalii</i> (Moratelli et al., 2011)	4	0
<i>Natalus macrourus</i> (Gervais, 1856)	0	47
<i>Phyllostomus discolor</i> (Wagner, 1843)	1	0
<i>Phyllostomus hastatus</i> (Pallas, 1767)	0	2
<i>Platyrrhinus lineatus</i> (É. Geoffroy, 1810)	13	0
<i>Pteronotus</i> sp. (Gray, 1838)	0	84
<i>Pteronotus gymnotus</i> (Wagner, 1843)	0	3
<i>Pteronotus personatus</i> (Wagner, 1843)	0	1
<i>Sturnira lillium</i> (É. Geoffroy, 1810)	126	0
<i>Trachops cirrhosus</i> (Spix, 1823)	0	2
Total	299	174

Tabela 2. Espécies e número de moscas Streblidae coletados de morcegos, no período de 2018 e 2024, nos estados de Pernambuco e Pará, no nordeste e norte do Brasil, respectivamente.

Espécies de moscas	Pernambuco	Pará
<i>Aspidoptera falcata</i> (Wenzel, 1976)	73	0
<i>Aspidoptera phyllostomatis</i> (Perty, 1833)	5	0
<i>Exastinion clovisi</i> (Pessôa & Guimarães, 1937)	0	17
<i>Mastoptera minuta</i> (Costa Lima, 1921)	9	2
<i>Megistopoda aranea</i> (Coquillett, 1899)	36	0
<i>Megistopoda proxima</i> (Séguy, 1926)	141	0

<i>Nycterophilia fairchildi</i> (Wenzel, 1966)	0	3
<i>Nycterophilia parnelli</i> (Wenzel, 1966)	0	223
<i>Paratrachobius longicrus</i> (Miranda Ribeiro, 1907)	61	0
<i>Speiseria ambigua</i> (Kessel, 1925)	1	6
<i>Speiseria magniocolus</i> (Wenzel, 1976)	0	1
<i>Strebla altmani</i> (Wenzel, 1966)	0	1
<i>Strebla guajiro</i> (García & Casal, 1965)	5	1
<i>Trichobius caecus</i> (Edwards, 1918)	0	170
<i>Trichobius dugesii</i> (Townsend, 1891)	0	2
<i>Trichobius flagellatus</i> (Wenzel, 1976)	0	10
<i>Trichobius galei</i> (Wenzel, 1966)	0	180
<i>Trichobius joblingi</i> (Wenzel, 1966)	195	25
<i>Trichobius johnsonae</i> (Wenzel, 1966)	0	30
<i>Trichobius longipes</i> (Rudow, 1871)	14	1
<i>Trichobius parasiticus</i> (Gervais, 1844)	1	1
<i>Trichobius propinquus</i> (Wenzel, 1976)	0	4
<i>Trichobius tiptoni</i> (Wenzel, 1976)	17	0
Total	558	677

2.2. Extração de DNA

A extração de DNA de moscas Streblidae foi realizada utilizando o reagente Invitrogen™ TRIzol™ (Thermo Fisher Scientific®), seguindo as recomendações do fabricante. As concentrações de DNA e as relações de pureza 260/280 e 260/230 foram mensuradas em espectrofotômetro (Nanodrop, Thermo Scientific®). As amostras de DNA foram armazenadas a -20°C para análises moleculares subsequentes.

2.3. PCR para o gene endógeno *cox-1* de invertebrados

Para verificar a presença de inibidores nas amostras de DNA, foi realizada uma PCR convencional (cPCR) visando amplificar fragmento de 710 pb do gene codificador da subunidade 1 da citocromo-c oxidase (*cox-1*) de invertebrados. 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') [61]. A reação foi preparada com 5 µL de DNA da amostra, 0,2 mM de cada deoxinucleotídeo, 0,4 µM de cada primer, 3,0 mM de MgCl₂, 1,25 U de Taq Platinum

DNA Polimerase (Life Technologies®, Carlsbad, EUA), tampão PCR 10X e água ultrapura esterilizada q.s.p. 25 µL. O protocolo de amplificação consistiu em: desnaturação inicial a 95°C por 1 minuto, seguida por 35 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 segundos, anelamento a 55°C por 15 segundos, extensão a 72°C por 10 segundos, e uma extensão final a 72°C por 5 minutos. Amostra de DNA de *Trichobius parasiticus* [15] foi utilizada como controle positivo e água destilada livre de DNase/RNase UltraPure™ (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) foi utilizado como controle negativo.

2.4. Ensaios de PCR para detecção e caracterização molecular de *Bartonella* spp.

As amostras positivas para o gene *cox-1* foram submetidas à PCR em tempo-real quantitativa (qPCR) para região intergênica 16-23S rRNA (ITS) de *Bartonella* spp., utilizando os primers BspplRS325s (5'-CTTCAGATGATGATCCCAAGCCTTCTGGCG-3') e BspplITS543as (5'-CTTCAGATGATGATCCCAAGCCTTCTGGCG-3') e a sonda de hidrólise BspplITS500 (5'-FAM-GTTAGAGCGCGCGCTTGATAAG-IABkFQ) [62, 63]. A reação foi preparada com 1,2 µM de cada primer, 1,2 µM de sonda de hidrólise, 2X Master Mix Buffer (GoTaq™ Probe qPCR Master Mix, Promega Corporation, EUA), 1 µL de DNA da amostra, e 10µL de água ultrapura esterilizada q.s.p.. As reações foram conduzidas em duplicata no termociclador CFX96 Thermal Cycler (BioRad®, EUA), com o seguinte protocolo: 95°C por 3 minutos, seguido de 45 ciclos de 94°C por 10 segundos, 68°C por 10 segundos e 72°C por 10 segundos, com extensão final a 72°C por 30 segundos.

As amostras de DNA foram avaliadas em duplicatas e, quando a diferença entre os valores de Cq foi superior a 0,5, foram reavaliadas em triplicatas. A quantificação média do número de cópias de um fragmento da região ITS de *Bartonella henselae* foi realizada apenas quando a diferença entre os valores de Cq das replicatas era menor ou igual a 0,5. O número de cópias do fragmento-alvo foi determinado pela fórmula $(XG/\mu L \text{ de DNA}/[\text{tamanho do fragmento, pb} \times 660]) \times 6,22 \times 10^{23} = \text{cópias ITS}/\mu L$. A eficiência de amplificação (E) foi calculada com base na inclinação da curva padrão, utilizando a fórmula $E = 10^{(-1/\text{slope})}$ [64]. Para a construção da curva padrão de cada reação, foram realizadas diluições seriadas (10^7 - 10^1 cópias) de um fragmento sintético gBlock (Integrated DNA Technologies®, Coralville, Iowa, EUA), correspondente a um fragmento de 243 pb da região ITS de *B. henselae* (GenBank accession L35101). Água destilada livre de DNase/RNase UltraPure™ (Thermo

Scientific, Waltham, MA, EUA) foi utilizada como controle negativo. gBlocks foram utilizados como controles positivos.

As amostras positivas na qPCR foram submetidas a ensaios de PCR convencional para amplificação dos genes *gltA* (380-400 pb) [65], (767 pb) [66], *ftsZ* (600 pb) [67], *ribC* (420 pb) [68], *rpoB* (585 pb) [69], Pap-31 [70], *nuoG* (346) [71] e região intergênica 16S-23S rRNA (453-717 pb) [72] (**Material Suplementar 1**). As reações de PCR foram realizadas com volume total de 25 µL, contendo 5 µL de DNA da amostra, 0,3 mM de cada deoxinucleotídeo, 0,25 µM de cada primer (Integrated DNA Technologies®, EUA), 3,0 mM de MgCl₂, 1,25 U de Taq Platinum DNA Polimerase (Thermo Fisher Scientific®, EUA), tampão PCR 10X e água ultrapura esterilizada. Amostra de DNA de *B. henselae* [73] foi utilizada como controle positivo e água destilada livre de DNase/RNase UltraPure™ (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) como controle negativo.

2.5. Purificação de amplicons, sequenciamento e análises filogenéticas

Os produtos amplificados por PCR foram purificados utilizando o kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega®). O sequenciamento foi realizado por técnica automatizada baseada no método de terminação da cadeia por dideoxinucleotídeos [74], no Centro de Estudos do Genoma Humano e Células-Tronco (Stem Institute of Biosciences (USP)).

As sequências obtidas foram analisadas pelo programa Phred-Phrap versão 23 [75] para construção de sequências-consenso a partir das leituras "forward" e "reverse", considerando qualidade mínima de 20 por nucleotídeo. As sequências foram comparadas àquelas depositadas no banco de dados GenBank utilizando o programa BLASTn [76]. Os arquivos em formato FASTA foram alinhados com sequências homólogas utilizando o software Clustal/W [77] via BioEdit v.7.0.5.3 [78]. Os alinhamentos foram convertidos para os formatos Nexus, Phylip e Mega através da plataforma Alignment Transformation Environment [79].

As análises filogenéticas foram conduzidas com base no método de Máxima Verossimilhança utilizando o software IQ-TREE [80]. O modelo evolutivo mais adequado foi selecionado pelo software ModelFinder [81]. Os suportes dos clados foram avaliados por bootstrap com 1000 repetições [82]. A edição e o enraizamento das árvores filogenéticas foram realizados no software FigTree v.1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

2.6. Análise da diversidade genotípica de *Bartonella* spp.

As sequências alinhadas de cada *locus* gênico foram analisadas no software DnaSP v5 [83], com o objetivo de estimar o número de genótipos (h), a diversidade nucleotídica (π), o nível de polimorfismo (diversidade genotípica - dh) e a diferença média de nucleotídeos entre as sequências (k). Posteriormente, as sequências foram utilizadas para a construção de redes de genótipos por meio do software TCS v1.21 [84]. As representações gráficas dessas redes foram geradas com o programa Population Analysis with Reticulate Trees (PopART), [85].

3. RESULTADOS

3.1. Ectoparasitos amostrados

Das 558 moscas de morcegos da família Streblidae coletadas de morcegos em áreas de mata remanescentes no estado de Pernambuco, 120 (21,5%) mostraram-se positivas na PCR convencional baseado no gene *cox-1*. Destas, 45 (37,5%) foram positivas na qPCR baseada na região ITS de *Bartonella* spp.: 25/56 de *T. joblingi*, 11/22 de *M. proxima*, 5/8 de *A. falcata*, 2/10 de *T. longipes*, 1/10 de *T. tiptoni* e 1/11 de *P. longicrus*. Embora 4/45 amostras positivas na triagem molecular por qPCR tenham sido positivas na PCR baseada no gene *gltA*, nenhuma sequência de qualidade foi obtida.

Das 677 moscas da família Streblidae coletadas em morcegos cavernícolas no estado do Pará, 565 (83,4%) apresentaram-se positivas na PCR baseadas no gene *cox-1*. Destas, 144 (25,4%) foram positivas na qPCR baseada na região ITS de *Bartonella* spp.: 3/10 *E. clovisi*, 2/2 *M. minuta*, 1/3 *N. fairchildi*, 47/173 *N. parnelli*, 2/5 *S. ambigua*, 1/1 *S. guajiro*, 39/157 *T. caecus*, 1/2 *T. dugesii*, 3/9 *T. flagellatus*, 36/151 *T. galei*, 6/19 *T. joblingi* e 3/27 *T. johnsonae*. Os parâmetros de eficiência dos ensaios de qPCR realizados no presente estudo apresentaram variações de 95,9% a 103,3%, com valores de Slope entre 3,246 e 3,448, coeficientes de determinação (R^2) variando de 0,955 a 0,997 e interceptos y entre 35,005 e 38,311.

Nos ensaios de caracterização molecular, 19 sequências de qualidade foram obtidas para o gene *gltA*, 15 para o gene *nuoG*, 10 para o gene *pap-31* e 10 para a região intergênica 16-23S rRNA (ITS), nove para o gene *rpoB* e nove para o gene *ftsZ*. Os resultados da análise BLASTn das sequências de *Bartonella* spp., obtidas a partir de espécimes de moscas Streblidae coletadas de morcegos cavernícolas no estado do Pará, estão apresentados na **Tabela 3**.

Tabela 3. Resultados da análise pelo BLASTn de sequências de *Bartonella* spp.,

correspondentes a três diferentes marcadores moleculares, detectadas em moscas Streblidae coletadas de morcegos cavernícolas no estado do Pará, norte do Brasil.

Sequence Identification	Streblidae fly species	Bat host/ State	Target gene	Sequence size (bp)	Query coverage	E-Value	GenBank Closest Match	Host/Country
PV584218	<i>Nycterophyllia parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/ rubiginosus/</i> Uruará PA	<i>gltA</i>	684	100%	0.0	100% <i>Bartonella</i> sp. (KP715477)	<i>Pteronotus parnelli/</i> Guiana Francesa
PV584220	<i>Nycterophyllia parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/ rubiginosus/</i> Uruará PA	<i>gltA</i>	367	100%	3,00 E-137	91.28% <i>Bartonella</i> sp. (MN529421)	<i>Trichobius keenani/</i> Costa Rica
PV584221	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus /</i> Brasil Novo PA	<i>gltA</i>	373	99%	9,00 E-172	98.87% <i>Bartonella</i> sp. (KP715477)	<i>Pteronotus parnelli/</i> Guiana Francesa
PV584222	<i>Mastoptera minuta</i>	<i>Phyllostomus hastatus /</i> Uruará PA	<i>gltA</i>	364	100%	0.0	98.87% <i>Bartonella</i> sp. (JQ071380)	<i>Artibeus obscurus /</i> Peru
PV584223	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus /rubiginosus /</i> Altamira PA	<i>gltA</i>	354	99%	0.0	98.56% <i>Bartonella</i> sp. (KY629856)	<i>Pteronotus parnelli /</i> Mexico
PV584224	<i>Trichobius joblingi</i>	<i>Carollia perspicillata /</i> Altamira PA	<i>gltA</i>	356	100%	0.0	99.72% <i>Bartonella</i> sp. (MN270077)	<i>Carollia perspicillata /</i> Colorado
PV584225	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus /</i> Altamira PA	<i>gltA</i>	367	97%	3,00 E-171	97.75% <i>Bartonella</i> sp. (KP715477)	<i>Pteronotus parnelli/</i> Guiana Francesa
PV584226	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus /</i> Brasil Novo PA	<i>gltA</i>	294	98%	5,00 E-144	91% <i>Bartonella</i> sp. (KY629883)	<i>Pteronotus parnelli /</i> Mexico
PV584228	<i>Nycterophyllia parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/ rubiginosus/</i> Brasil Novo PA	<i>gltA</i>	294	98%	1,00 E-144	99.65% <i>Bartonella</i> sp. (KP715477)	<i>Pteronotus parnelli/</i> Guiana Francesa
PV584229	<i>Trichobius dugesii</i>	<i>Glossophaga soricina /</i> Medicilândia PA	<i>gltA</i>	345	100%	2,00 E-163	97.39% <i>Bartonella</i> sp. (MH234342)	<i>Carollia perspicillata /</i> Costa Rica
PV584219	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus /</i> Brasil Novo PA	<i>gltA</i>	709	100%	0.0	90.97% <i>Bartonella</i> sp. (KJ816681)	<i>Trichobius keenani /</i> Costa Rica
PV599849	<i>Nycterophyllia parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus/</i> Uruará PA	<i>gltA</i>	376	94%	4,00 E-180	99.44% <i>Bartonella</i> sp. (KP715477)	<i>Pteronotus parnelli/</i> Guiana Francesa
PV599850	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus/</i> Uruará PA	<i>gltA</i>	365	94%	2,00 E-138	93.27% <i>Bartonella</i> sp. (JQ071380)	<i>Artibeus obscurus/</i> Peru
PV599851	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus/</i>	<i>gltA</i>	356	100%	1,00 E-	90.99% <i>Bartonella</i> sp.	<i>Carollia perspicillata/</i>

		Uruará PA				130	(PQ369617)	Peru
PV599852	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus/</i> Medicilândia PA	<i>gltA</i>	543	100%	2,00 E- 134	91.57% <i>Bartonella</i> sp. (KJ816681)	<i>Trichobius keenani</i> / Costa Rica
PV599853	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus/</i> Medicilândia PA	<i>gltA</i>	364	100%	6,00 E- 139	91.76% <i>Bartonella</i> sp. (KJ816681)	<i>Trichobius keenani</i> / Costa Rica
PV599854	<i>Nycterophila parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubi</i> <i>ginosus/</i> Brasil Novo PA	<i>gltA</i>	354	98%	3,00 E- 177	99.71% <i>Bartonella</i> sp. (KP715477)	<i>Pteronotus parnellii/</i> Guiana Francesa
PV599856	<i>Nycterophila parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubi</i> <i>ginosus/</i> Brasil Novo PA	<i>gltA</i>	367	98%	0.0	99.72% <i>Bartonella</i> sp. (KP715477)	<i>Pteronotus parnellii/</i> Guiana Francesa
PV599857	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus/</i> Brasil Novo PA	<i>gltA</i>	367	100%	6,00 E- 139	91.55% <i>Bartonella</i> sp. (KJ816681)	<i>Trichobius keenani</i> / Costa Rica
PV584236	<i>Trichobius johnsonae</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubi</i> <i>ginosus/</i> Uruará PA	<i>rpoB</i>	598	100%	0.0	91.47% <i>Bartonella</i> sp. (MN270141)	<i>Monophyllus redmani/</i> Porto Rico
PV584237	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus/</i> Uruará PA	<i>rpoB</i>	597	100%	0.0	92.63% <i>Bartonella</i> sp. (MN270141)	<i>Monophyllus redmani/</i> Porto Rico
PV584238	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus/</i> Brasil Novo PA	<i>rpoB</i>	686	100%	0.0	90.22% <i>Bartonella</i> sp. strain Mr-60 (MN270145)	<i>Monophyllus redmani/</i> Porto Rico
PV584240	<i>Trichobius dugesii</i>	<i>Glossophaga soricina</i> / Medicilândia PA	<i>rpoB</i>	675	100%	0.0	97.03% <i>Bartonella</i> sp. (MN529441)	<i>Artibeus lituratus</i> / Guatemala
PV599859	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubi</i> <i>ginosus/</i> Rurópolis	<i>rpoB</i>	352	99%	2,00 E- 129	91.14% <i>Bartonella</i> sp. (MN270141)	<i>Monophyllus redmani/</i> Porto Rico
PV599860	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus/</i> Medicilândia PA	<i>rpoB</i>	567	100%	0.0	92.42% <i>Bartonella</i> sp. (MN270141)	<i>Monophyllus redmani/</i> Porto Rico
PV599861	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus/</i> Medicilândia PA	<i>rpoB</i>	631	100%	0.0	92.54% <i>Bartonella</i> sp. (MN270141)	<i>Monophyllus redmani/</i> Porto Rico
PV599862	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus/</i> Medicilândia PA	<i>rpoB</i>	598	100%	0.0	92.45% <i>Bartonella</i> sp. (MN270141)	<i>Monophyllus redmani/</i> Porto Rico
PV599863	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus/</i> Brasil Novo PA	<i>rpoB</i>	684	100%	0.0	92.39% <i>Bartonella</i> sp. (MN270141)	<i>Monophyllus redmani/</i> Porto Rico
PV584230	<i>Nycterophila parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubi</i> <i>ginosus</i> /Brasil Novo PA	<i>ftsZ</i>	539	100%	0.0	99.07% <i>Bartonella</i> sp. (MN529349)	<i>Pteronotus parnellii/</i> Guatemala
PV584231	<i>Trichobius johnsonae</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubi</i> <i>ginosus/</i> Uruará PA	<i>ftsZ</i>	558	100%	0.0	98.92% <i>Bartonella</i> sp. (MN529349)	<i>Pteronotus parnellii/</i> Guatemala
PV584232	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubi</i> <i>ginosus</i> / Rurópolis PA	<i>ftsZ</i>	537	100%	0.0	99.44% <i>Bartonella</i> sp. (MN529349)	<i>Pteronotus parnellii/</i> Guatemala

PV584233	<i>Trichobius johnsonae</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Uruará PA	<i>ftsZ</i>	561	100%	0.0	99.29% <i>Bartonella</i> sp. (MN529349)	<i>Pteronotus pamealii</i> / Guatemala
PV584234	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> /Brasil Novo PA	<i>ftsZ</i>	439	100%	0.0	99.54% <i>Bartonella</i> sp. (MN529349)	<i>Pteronotus pamealii</i> / Guatemala
PV584235	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i> /Brasil Novo PA	<i>ftsZ</i>	535	100%	0.0	93.83% <i>Bartonella</i> sp. (MN270057)	<i>Platyrrhinus helleri</i> / Peru
PV599864	<i>Nycterophila a pamealii</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Uruará PA	<i>ftsZ</i>	438	100%	0.0	99.32% <i>Bartonella</i> sp. (MN529349)	<i>Pteronotus pamealii</i> / Guatemala
PV599865	<i>Nycterophila a pamealii</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Rurópolis PA	<i>ftsZ</i>	536	100%	0.0	99.25% <i>Bartonella</i> sp. (MN529349)	<i>Pteronotus pamealii</i> / Guatemala
PV599866	<i>Nycterophila a pamealii</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Rurópolis PA	<i>ftsZ</i>	661	100%	0.0	99.21% <i>Bartonella</i> sp. (MN529349)	<i>Pteronotus pamealii</i> / Guatemala
#10	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i> / Uruará PA	<i>nuoG</i>	356	94%	3,00 E-171	99.71% <i>Bartonella</i> sp. (MN529376)	<i>Pteronotus pamealii</i> /Guatemala
#22	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i> / Medicilândia PA	<i>nuoG</i>	543	96%	1,00 E-130	95.93% <i>Bartonella</i> sp. (MN529397)	<i>Pteronotus pamealii</i> / Guatemala
#64	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i> / Medicilândia PA	<i>nuoG</i>	364	96%	4,00 E-169	98.02% <i>Bartonella</i> sp. (MN270105)	<i>Artibeus obscurus</i> / Peru
#95	<i>Nycterophila a pamealii</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Brasil Novo PA	<i>nuoG</i>	354	100%	4,00 E-84	92.34% <i>Bartonella</i> sp. (EF659944)	Thailand
#103	<i>Nycterophila a pamealii</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Brasil Novo PA	<i>nuoG</i>	317	99%	2,00 E-167	98.83% <i>Bartonella</i> sp. (MN270096)	<i>Phyllostomus discolor</i> / Guatemala
#168	<i>Nycterophila a pamealii</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Brasil Novo PA	<i>nuoG</i>	367	96%	1,00 E-141	92.94% <i>Bartonella</i> sp. (MN270109)	<i>Monophyllus redmani</i> / Porto Rico
#176	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i> / Brasil Novo PA	<i>nuoG</i>	367	94%	6,00 E-166	96.79% <i>Bartonella</i> sp. (MN529397)	<i>Pteronotus pamealii</i> /Guatemala
#207	<i>Trichobius johnsonae</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Uruará PA	<i>nuoG</i>	598	97%	1,00 E-156	94.35% <i>Bartonella</i> sp. (MN270109)	<i>Monophyllus redmani</i> / Porto Rico
#209	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i> / Uruará PA	<i>nuoG</i>	597	97%	0.0	99.42% <i>Bartonella</i> sp. (MN529398)	<i>Pteronotus pamealii</i> / Guatemala
#424	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i> / Brasil Novo PA	<i>nuoG</i>	686	94%	4,00 E-178	98.83% <i>Bartonella</i> sp. (MN529376)	<i>Pteronotus pamealii</i> /Guatemala
#430	<i>Trichobius dugesi</i>	<i>Glossophaga soricina</i> / Medicilândia	<i>nuoG</i>	675	93%	3,00 E-164	96.50% <i>Bartonella</i> sp. (MN529397)	<i>Pteronotus pamealii</i> /Guatemala

PA								
#516	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i> / Brasil Novo PA	nuoG	352	100%	3,00 E-150	92.58% <i>Bartonella</i> sp. (MK314978)	<i>Desmodus rotundus</i> / Brazil
#547	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> /Brasil Novo PA	nuoG	567	99%	3,00 E-146	93.57% <i>Bartonella</i> sp. (MN270109)	<i>Monophyllus redmani</i> / Porto Rico
#612	<i>Nycterophilia parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Brasil Novo PA	nuoG	598	94%	0.0	99.42% <i>Bartonella</i> sp. (MN529376)	<i>Pteronotus parnellii</i> / Guatemala
#613	<i>Nycterophilia parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Brasil Novo PA	nuoG	684	95%	2,00 E-105	99.52% <i>Bartonella</i> sp. (MN529376)	<i>Pteronotus parnellii</i> / Guatemala
#10	<i>Nycterophilia parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Uruará PA	pap-31	684	43%	5,00 E-17	75.44% <i>Bartonella</i> sp. (CP093046)	Flea / Israel
#57	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i> / Brasil Novo PA	pap-31	373	40%	1,00 E-12	73.29% <i>Bartonella</i> sp. (CP123961)	<i>Glis glis</i> / Tchéquia
#64	<i>Mastoptera minuta</i>	<i>Phyllostomus hastatus</i> / Uruará PA	pap-31	364	15%	7,00 E-15	91.30% <i>Bartonella quintana</i> (CP003784)	<i>Rhesus macaque</i> / China
#98	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> /Altamira PA	pap-31	354	98%	0.0	100% <i>Bartonella</i> sp. (PP327292)	<i>Carollia perspicillata</i> / Brazil
#135	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Altamira PA	pap-31	367	42%	5,00 E-17	75.44% <i>Bartonella</i> sp. (CP093046)	flea / Israel
#232	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> /Brasil Novo PA	pap-31	367	100%	0.0	100% <i>Bartonella</i> sp. (PP327292)	<i>Carollia perspicillata</i> /Brazil
#302	<i>Nycterophilia parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Brasil Novo PA	pap-31	294	43%	5,00 E-17	75.44% <i>Bartonella</i> sp. (CP093046)	Flea / Israel
#303	<i>Trichobius dugesii</i>	<i>Glossophaga soricina</i> / Medicilândia PA	pap-31	345	100%	0.0	100% <i>Bartonella</i> sp. (PP327291)	<i>Carollia perspicillata</i> / Brazil
#424	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i> /Brasil Novo PA	pap-31	709	16%	8,00 E-05	80.00% <i>Bartonella machadoae</i> (CP087114)	<i>Thrichomys fosteri</i> / Brazil
#549	<i>Nycterophilia parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubiginosus</i> / Uruará PA	pap-31	376	59%	2,00 E-26	78.26% <i>Bartonella</i> sp. (PP327294)	<i>Carollia perspicillata</i> /Brazil
#153	<i>Trichobius johnsonae</i>	<i>Pteronotus alitonus</i> / Uruará PA	ITS (16-23S rRNA)	539	6,00 E-125	89%	87,53% <i>Bartonella</i> sp. (MN258134)	<i>Monophyllus redmani</i> / Porto Rico
#170	<i>Trichobius</i>	<i>Pteronotus</i>	ITS	558	89%	4,00	87.91%	<i>Monophyllus</i>

	<i>caecus</i>	<i>alitonus/ Uruará PA</i>	(16- 23S rRNA)			E- 132	<i>Bartonella</i> sp. (MN258134)	<i>redmani</i> /Porto Rico
#515	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i>	ITS (16- 23S rRNA)	537	93%	2,00 E- 120	85.68% <i>Bartonella</i> sp. (MN258134)	<i>Monophyllus redmani</i> / Porto Rico
#516	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i>	ITS (16- 23S rRNA)	561	89%	5,00 E-91	82.35% <i>Bartonella</i> sp. (MN258138)	<i>Monophyllus redmani</i> / Porto Rico
#547	<i>Trichobius caecus</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubi ginosus</i>	ITS (16- 23S rRNA)	439	90%	8,00 E- 134	88.00% <i>Bartonella</i> sp. (MN258134)	<i>Monophyllus redmani</i> / Porto rico
#581	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i>	ITS (16- 23S rRNA)	535	88%	8,00 E- 124	86.14 % <i>Bartonella</i> sp. (MN258134)	<i>Monophyllus redmani</i> / Porto rico
#612	<i>Nycterophili a parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubi ginosus</i>	ITS (16- 23S rRNA)	547	100%	0.0	99.69 % <i>Bartonella</i> sp. (KP715478)	<i>Pteronotus parnellii</i> / Guian a Francesa
#620	<i>Nycterophili a parnelli</i>	<i>Pteronotus alitonus/rubi ginosus</i>	ITS (16- 23S rRNA)	540	100%	0.0	100 % <i>Bartonella</i> sp. (KP715478)	<i>Pteronotus parnellii</i> Guiana Francesa
#633	<i>Trichobius dugesii</i>	<i>Glossophaga soricina</i>	ITS (16- 23S rRNA)	578	88%	0.0	96.22% <i>Bartonella</i> sp. (MN504729)	<i>Sturnira lilium</i> / Guatemala
#661	<i>Trichobius galei</i>	<i>Natalus macrourus</i>	ITS (16- 23S rRNA)	470	90%	2,00 E- 115	85.65 % <i>Bartonella</i> sp. (MN258134)	<i>Monophyllus redmani</i> Porto Rico

3.2. Análise de diversidade genotípica de *Bartonella* spp. pelo software DNASP

Dentre as 19 sequências do gene *gltA* detectadas em moscas Streblidae de morcegos cavernícolas, 11 genótipos distintos e uma diversidade genotípica (Hd) de 0,9123 foram encontrados (Tabela 4 e 5). Dentre as nove sequências do gene *rpoB*, quatro genótipos distintos e uma diversidade genotípica de 0,6944 foram encontrados (Tabela 4 e 5). Dentre as nove sequências do gene *ftsZ*, seis genótipos distintos e uma diversidade genotípica de 0,8333 foram encontrados (Tabela 4 e 5).

Tabela 4. Polimorfismos detectados nas sequências de *Bartonella* spp. para os genes *gltA* e *rpoB*, obtidos no presente estudo em amostras de moscas Streblidae no estado do Pará.

Gene	bp	N	VS	GC%	g	gd (mean ± SD)	π (mean ± SD)	K
<i>gltA</i>	208	19	148	35.1	11	0.912±0.046	0.16741±0.04518	34,988
<i>rpoB</i>	416	9	66	41.5	5	0,694±0,147	0,06479±0,02196	22,80556
<i>ftsZ</i>	405	9	48	43.9	6	0.833 ± 0.127	0.02990±0.01735	12.11111

N = Número de sequências analisadas; **VS** = Número de sítios variáveis; **GC%** = Conteúdo de G+C; **g** = Número de genótipos; **gd** = Diversidade genotípica; **SD** =

Desvio padrão; π = Diversidade nucleotídica (por sítio); K = Número de diferenças nucleotídicas.

Tabela 5. Resultados da análise de diversidade genotípica, mostrando os diferentes genótipos de sequências correspondentes a três marcadores moleculares detectadas em moscas Streblidae de morcegos cavernícolas no estado do Pará, norte do Brasil.

Genótipo	Gene	Número de Sequências	Sequências do presente estudo relacionadas
Genótipo 1	<i>gltA</i>	2	PV584218 e PV599856
Genótipo 2	<i>gltA</i>	2	PV584220, PV599850
Genótipo 3	<i>gltA</i>	3	PV599849, PV584228 e PV599854
Genótipo 4	<i>gltA</i>	1	PV584221
Genótipo 5	<i>gltA</i>	1	PV584222
Genótipo 6	<i>gltA</i>	5	PV584219, PV599851, PV599852, PV599853 e PV599857
Genótipo 7	<i>gltA</i>	1	PV584223,
Genótipo 8	<i>gltA</i>	1	PV584224
Genótipo 9	<i>gltA</i>	1	PV584225
Genótipo 10	<i>gltA</i>	1	PV584226
Genótipo 11	<i>gltA</i>	1	PV584229
Genótipo 1	<i>rpoB</i>	2	PV584236 e PV599859
Genótipo 2	<i>rpoB</i>	1	PV584237
Genótipo 3	<i>rpoB</i>	5	PV584238, PV599860, PV599861, PV599862 e PV599863
Genótipo 4	<i>rpoB</i>	1	PV584240
Genótipo 1	<i>ftsZ</i>	4	PV584230, PV599864, PV599865 e PV599866
Genótipo 2	<i>ftsZ</i>	1	PV584231
Genótipo 3	<i>ftsZ</i>	1	PV584232
Genótipo 4	<i>ftsZ</i>	1	PV584233
Genótipo 5	<i>ftsZ</i>	1	PV584234
Genótipo 6	<i>ftsZ</i>	1	PV584235

3.3. Análise Filogenética

Na análise filogenética, baseada em um alinhamento de 500 pb do gene *gltA*, inferida pelo método de Máxima Verossimilhança e GRT + I + G como modelo evolutivo, as sequências obtidas distribuíram-se em dois grandes clados principais. As sequências PV584218 e PV584228 agruparam-se com uma sequência de *Bartonella* detectada em *Pteronotus parnellii* da Guiana Francesa, enquanto as sequências PV584225 e PV584229 agruparam-se com sequências de *Bartonella* spp. detectadas em morcegos *P. rubiginosus* e espécies moscas do gênero *Trichobius* associadas a *P. parnellii* do México, Guiana Francesa e República Dominicana. As sequências PV584226, PV584219, PV584222 e PV584224 formaram um clado próximo a

linhagens de *Bartonella* spp. associadas a *C. perspicillata* do Colorado e *P. parnellii* do México, enquanto a sequência PV584220 se agrupou com uma sequência detectada em *Eucampsipoda aegyptia*, uma mosca de morcego do Oriente Médio. As sequências PV584221 e PV584223 agruparam-se com *Bartonella* spp. previamente detectadas em *P. parnellii* do México e Costa Rica (**Figura 3**).

Na análise filogenética, baseada em um alinhamento de 650 pb do gene *rpoB*, inferida pelo método de Máxima Verossimilhança e usando TN + I + G como modelo evolutivo, as sequências PV584236, PV584237 e PV584238 agruparam-se com *Bartonella* spp. previamente detectadas em morcegos *Monophyllus* spp. de Porto Rico. Já a sequência PV584240 agrupou-se próxima a sequências de *Bartonella* detectadas em *T. dugesii* do Brasil (**Figura 4**).

Na análise filogenética, baseada em um alinhamento de 650 pb do gene *ftsZ*, inferida pelo método de Máxima Verossimilhança e usando SYM + I + G como modelo evolutivo, as sequências PV584230, PV584232, PV584231, PV584234, PV584233 e PV584235 agruparam-se próximas a uma sequência de *Bartonella* sp. previamente detectada em *P. parnellii* na Guatemala, *P. helleri* no Peru e *M. aranea* no Brasil (**Figura 5**).

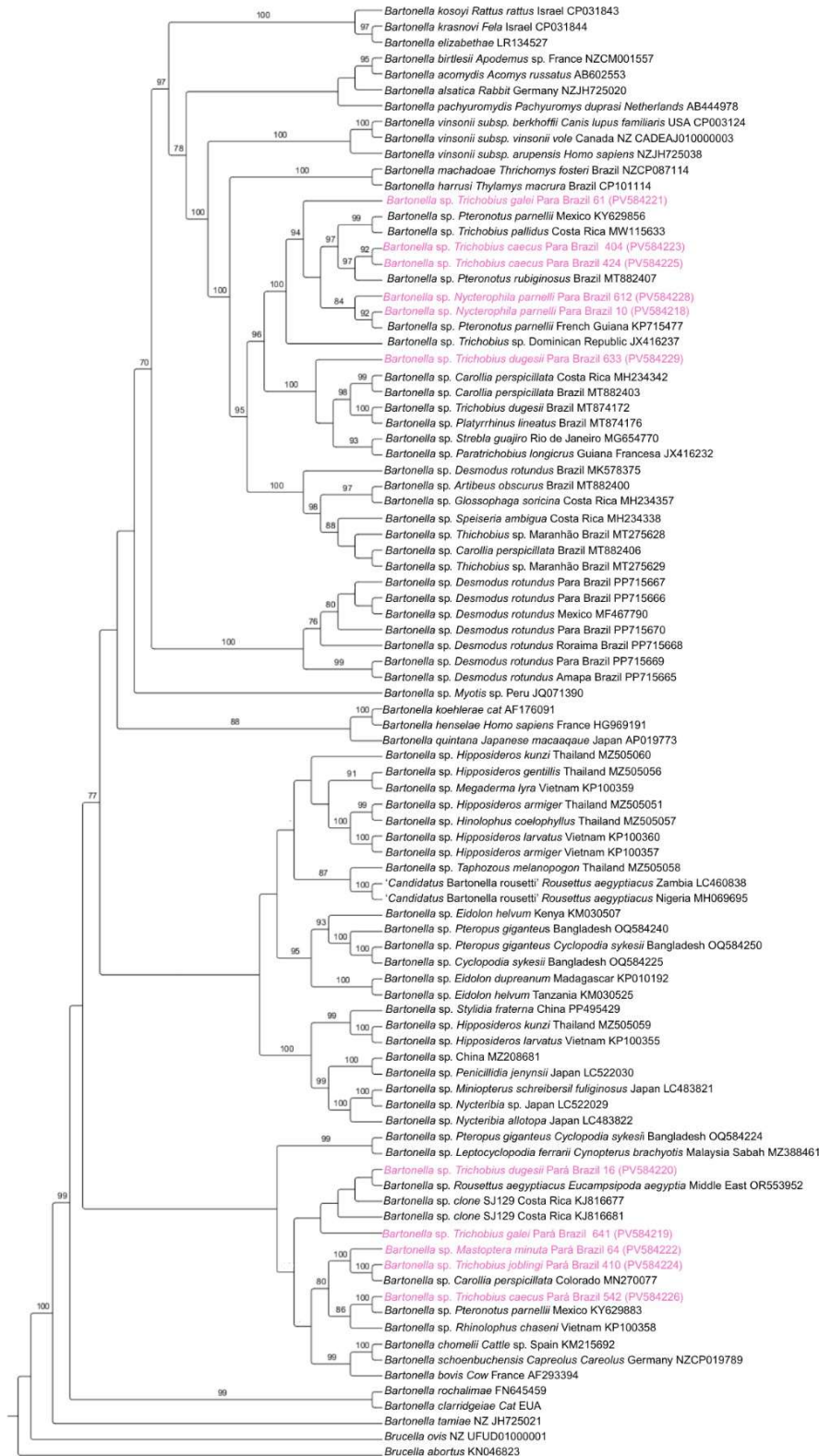


Figura 3. Análise filogenética baseada em um alinhamento de 500 pb do gene *gltA*, inferida pelo método de Máxima Verossimilhança e modelo evolutivo GRT + I + G. As sequências obtidas no presente estudo a partir de amostras de moscas Streblidae de morcegos cavernícolas no estado do Pará foram destacadas em rosa. Os números nos nós correspondem aos valores de suporte

(bootstrap) obtidos com 1000 réplicas. *Brucella abortus* e *Brucella ovis* foram utilizados como grupos externos.

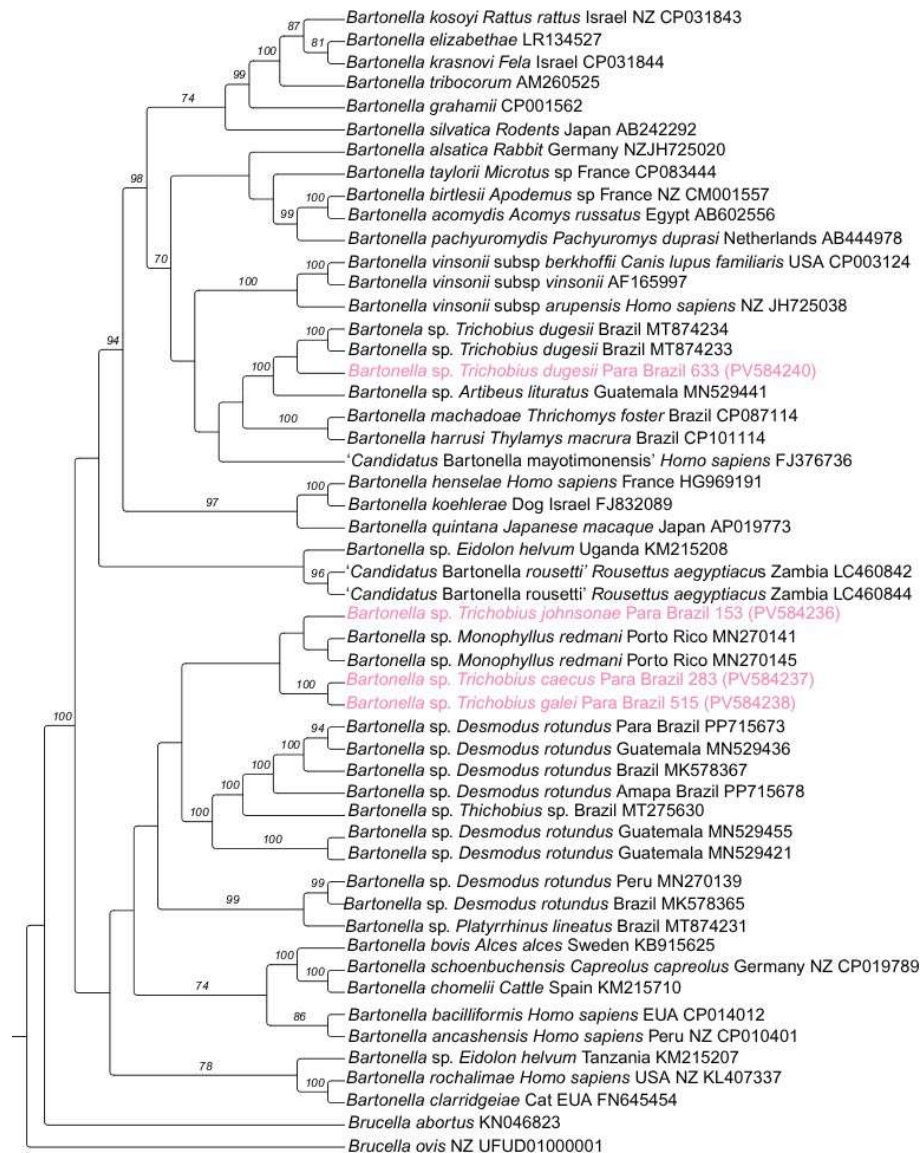


Figura 4. Análise filogenética baseada em um alinhamento de 650 pb do gene *rpoB*, inferida pelo método de Máxima Verossimilhança e modelo evolutivo TN + I + G. As sequências obtidas no presente estudo a partir de amostras de moscas Streblidae de morcegos cavernícolas no estado do Pará foram destacadas em rosa. Os números nos nós correspondem aos valores de suporte (bootstrap) obtidos com 1000 réplicas. *Brucella abortus* e *Brucella ovis* foram utilizados como grupos externos.

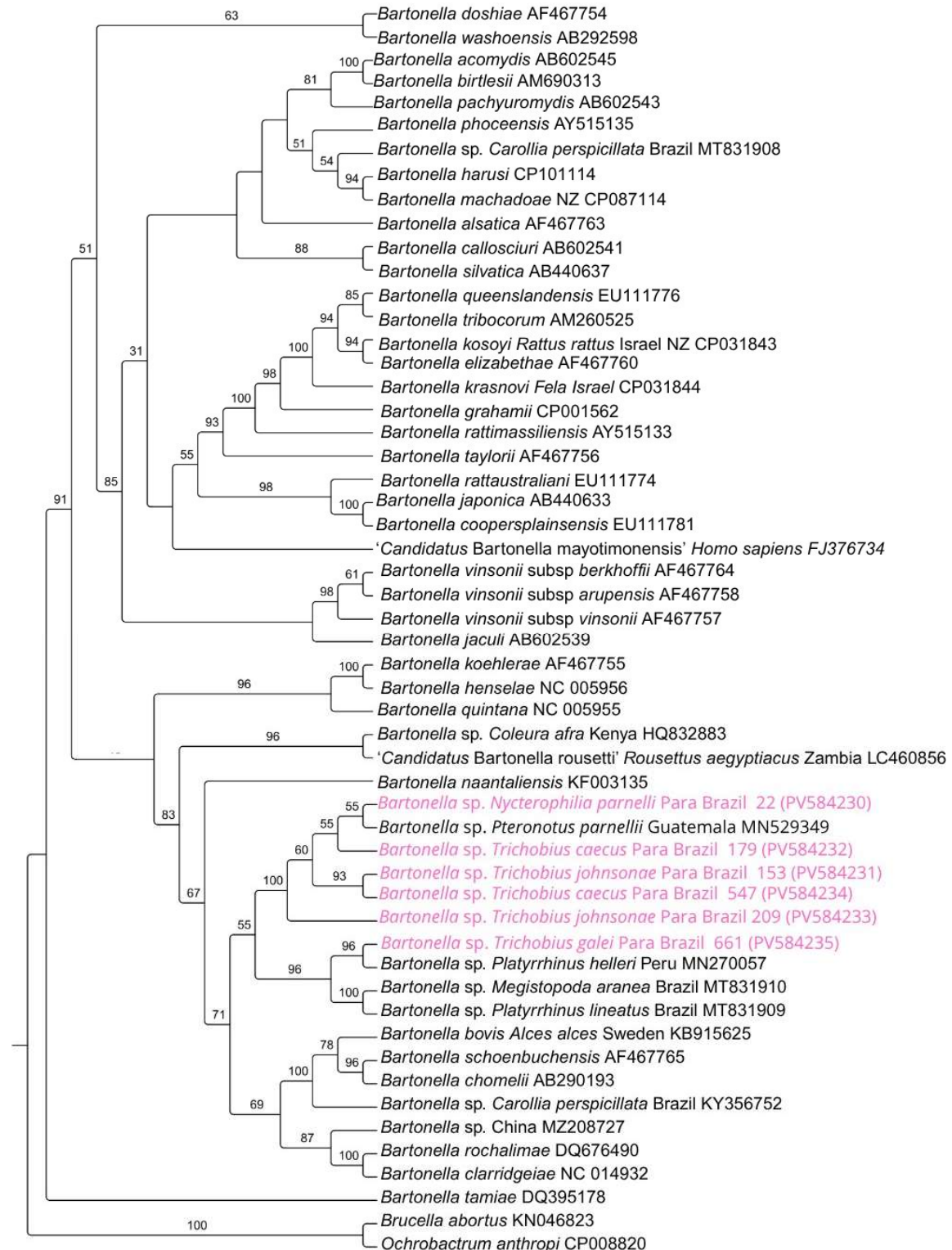


Figura 5. Análise filogenética baseada em um alinhamento de 650 pb do gene *ftsZ*, inferida pelo método de Máxima Verossimilhança e utilizando o modelo evolutivo TN + I + G. As sequências obtidas no presente estudo a partir de amostras de moscas Streblidae de morcegos cavernícolas no estado do Pará foram destacadas em rosa. Os números nos nós correspondem aos valores de suporte (bootstrap) obtidos com 1000 réplicas. *Brucella abortus* e *Brucella ovis* foram utilizados como grupos externos.

3.4. Rede de genótipos

Na rede de genótipos, 42 sequências *gltA* de *Bartonella* spp., detectadas em moscas de morcegos de 14 países e retiradas do Genbank, corresponderam a 38 genótipos distintos. As 19 sequências detectadas no presente estudo corresponderam a 11 genótipos distintos e genótipos únicos (**Tabela de Material Suplementar SM2; Figura 6**).

Vinte e seis sequências *rpoB* de *Bartonella* spp., detectadas em moscas de morcegos de oito países e retiradas do Genbank, corresponderam a 26 genótipos. Das nove sequências detectadas no presente estudo, quatro formaram genótipos únicos (**Tabela de Material Suplementar SM2; Figura 7**).

Para os demais genes, não foi possível realizar tal análise devido ao número reduzido de sequências disponíveis no Genbank.

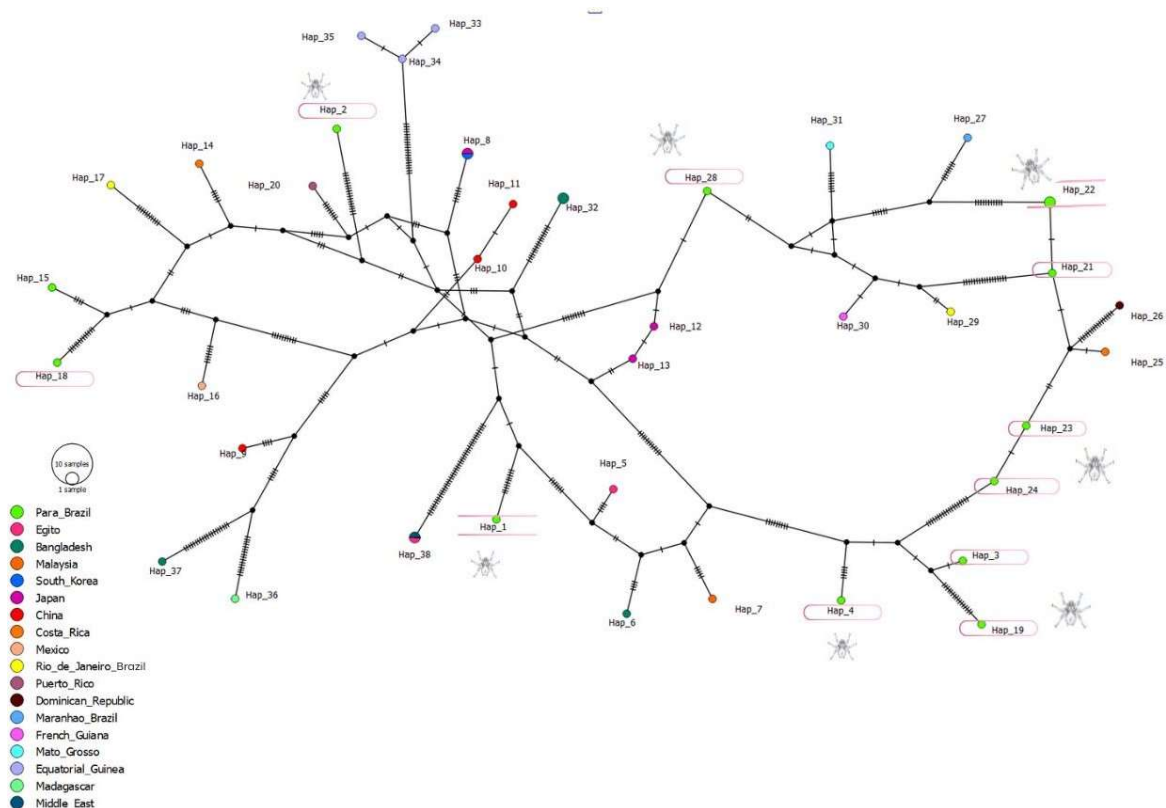


Figura 6. Rede de genótipos formada entre as sequências de *gltA*, detectadas em amostras de moscas Streblidae no Pará, em outras regiões do Brasil e em outros países. O tamanho dos círculos varia de acordo com o número de sequências pertencentes a cada genótipo. Cada cor representa um local onde cada sequência foi coletada. Pontos pretos representam vetores medianos e linhas verticais pretas representam eventos mutacionais ocorridos entre cada genótipo. Os genótipos representando sequências de *gltA* detectadas em moscas Streblidae neste estudo foram circuladas em rosa.

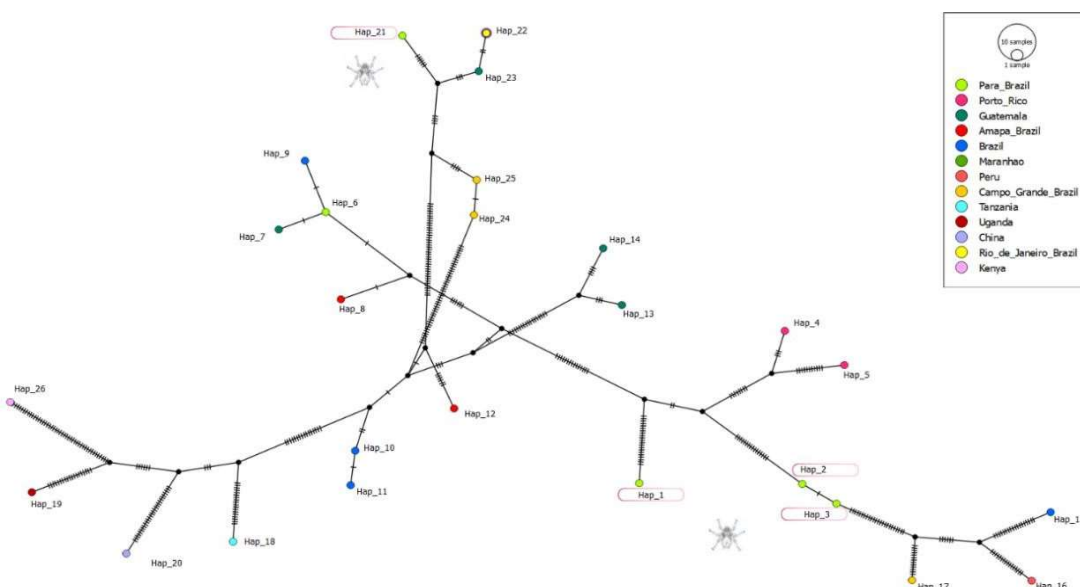


Figura 7. Rede de genótipos formada entre as sequências de *rpoB* detectadas em amostras de moscas Streblidae no Pará, em outras regiões do Brasil e em outros países. O tamanho dos círculos varia de acordo com o número de sequências pertencentes a cada genótipo. Cada cor representa um local onde cada sequência foi coletada. Pontos pretos representam vetores medianos e linhas verticais pretas representam eventos mutacionais ocorridos entre cada genótipo. Os genótipos representando sequências de *rpoB* detectadas em moscas Streblidae neste estudo foram circuladas em rosa.

4. Discussão

O presente estudo detectou *Bartonella* spp. moscas Streblidae parasitas de morcegos em remanescentes de floresta úmida no estado de Pernambuco e em morcegos cavernícolas no estado do Pará. Trata-se da primeira evidência molecular de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae parasitas de morcegos cavernícolas no Brasil. Adicionalmente, o presente trabalho traz a primeira detecção molecular de *Bartonella* spp. em *M. minuta*, *N. parnelli*, *T. galei* e *T. johnsonae* no estado do Pará, ampliando o universo de vetores envolvidos na transmissão dessas bactérias entre morcegos.

As ocorrências moleculares aqui demonstradas estão em concordância com estudos prévios conduzidos no Brasil, os quais relataram taxas de ocorrência de ~20% no Rio de Janeiro (Mata Atlântica) [45], ~17% no Mato Grosso do Sul (Cerrado) [46] e ~32% no Pará (Amazônia) [15]. As espécies de moscas da família Streblidae, geralmente, parasitam uma única espécie de morcego ou algumas espécies estreitamente relacionadas [6, 14]. Portanto, as variações de ocorrência observadas em cada estudo podem refletir diferenças entre espécies de morcegos hospedeiros e

ectoparasitos associados, analisadas nos distintos locais amostrados, assim como na sensibilidade dos métodos moleculares empregados e armazenamento de amostras após coleta.

A alta frequência de positividade detectada no presente estudo em determinadas espécies de moscas, tais como *T. joblingi* e *N. Parnelli*, levanta a hipótese de que essas espécies poderiam atuar como vetores de *Bartonella* spp. entre morcegos, como previamente sugerido para *T. parasiticus* no México [42]. Entretanto, estudos de competência vetorial são necessários para comprovar essa hipótese futuramente.

As análises filogenéticas baseadas nos genes *gltA*, *rpoB* e *ftsZ* posicionaram as sequências de *Bartonella* spp. detectadas em moscas Streblidae do presente estudo em clados distintos, ainda que relacionados filogeneticamente a genótipos previamente detectados em morcegos e ectoparasitos associados do Brasil e outros países. Essa diversidade sugere um cenário complexo de coevolução entre *Bartonella* spp., morcegos e seus ectoparasitos, como outrora observado [15, 46, 11]. As inferências filogenéticas aqui conduzidas e baseadas em três marcadores genéticos reforçam a robustez da abordagem multi-locus para estudos de diversidade de *Bartonella* spp. [8, 87] em hospedeiros vertebrados e ectoparasitos associados, como é o caso de morcegos e moscas Streblidae nos quais grande diversidade genotípica é esperada [17, 88].

Redes de genótipos permitem visualizar tanto relações entre sequências filogeneticamente próximas quanto a diversidade intraespecífica de *Bartonella* spp. [89]. As análises das redes de genótipos baseadas nos referidos genes revelaram a ocorrência de onze genótipos *gltA*, quatro de *rpoB* e seis de *ftsZ* quando comparadas a genótipos de *Bartonella* spp. previamente detectados em moscas Streblidae no Brasil e diversas regiões do mundo. Essa elevada variabilidade genética pode ser atribuída à amostragem realizada em ambientes cavernícolas, nos quais são encontrados grande densidade populacional e diversidade de morcegos [16], além de mecanismos de especificidade na associação bactéria-vetor, conforme demonstrado em estudos com *Eucampsipoda aegyptia* no Oriente Médio [33]. A alta diversidade de genótipos de *Bartonella* spp. em moscas associadas a morcegos cavernícolas no bioma Amazônico abre fronteiras para expandir o universo deste grupo de bactérias e das relações entre espécies de morcegos e de moscas Streblidae neste ecossistema ainda pouco explorado no Brasil. No Brasil, ~39% das espécies conhecidas de morcegos utilizam cavernas como refúgios, oportunamente ou regularmente [90]. Além do caráter bioindicador, ecossistemas que concentram

grandes agregações animais, tais como cavernas, têm elevada importância conservacionista, por pelo menos três razões: i) apresentam valor desproporcional para a sobrevivência das espécies em questão; ii) tais espécies de morcegos podem ser particularmente vulneráveis quando presentes em tais agregações; iii) os morcegos presentes nestas agregações participam de um amplo número de distintas interações ecológicas [91].

Os espécimes de moscas coletadas em Pernambuco apresentaram desafios técnicos devido ao longo tempo de armazenamento e às condições de preservação, as quais podem ter comprometido a integridade do DNA [92], limitando potencialmente a obtenção de sequências de qualidade nessas amostras. Protocolos alternativos de preservação, como etanol absoluto ou tampões específicos [93], são recomendados para estudos futuros.

Os resultados destacam a importância de estudos contínuos para monitorar a circulação e investigar a diversidade de *Bartonella spp.* em morcegos e seus ectoparasitos, especialmente em regiões de alta biodiversidade como a Amazônia e Mata Atlântica. Análises filogenéticas sugerem que os morcegos podem representar os hospedeiros ancestrais de *Bartonella spp.*, tendo desempenhado papel crucial em sua dispersão geográfica [94], o que reforça sua relevância na compreensão da origem e evolução dessas bactérias. Futuras pesquisas devem ser conduzidas objetivando investigar a dinâmica de transmissão, a especificidade vetor-bactéria e o potencial zoonótico dos genótipos detectados, fornecendo subsídios para estratégias futuras de vigilância em saúde pública e conservação. Este trabalho reforça a necessidade de abordagens integradas, sob a perspectiva de Saúde Única, unindo ecologia, medicina veterinária e saúde humana para compreender e mitigar os riscos associados a este grupo de bactérias emergentes.

5. Conclusão

Este estudo revelou grande diversidade genética de *Bartonella spp.* em moscas da família Streblidae associadas a morcegos cavernícolas na Amazônia brasileira, no estado do Pará, região norte do Brasil. As análises filogenéticas baseadas em três marcadores moleculares revelaram relações próximas entre as sequências detectadas e linhagens encontradas em morcegos e moscas associadas no Brasil em outros países, indicando um fluxo gênico amplo e adaptações específicas a hospedeiros e vetores. Trata-se da primeira evidência molecular de *Bartonella spp.* em moscas Streblidae parasitas de morcegos cavernícolas no Brasil, abrindo

fronteiras para estudos interespecíficos (*Bartonella*-mosca-morcego) em ecossistemas ainda pouco explorados no país. Adicionalmente, o presente trabalho traz a primeira detecção molecular de *Bartonella* spp. em *N. parnelli*, *T. galei*, *M. minuta* e *T. johnsonae*, ampliando a diversidade de prováveis vetores dessas bactérias.

Funding

This research was financed by FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Process #2022/08543-2; #2023/01606-1), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – code 001), and CNPq (National Council for Scientific and Technological Development; Productivity Grant to MRA - Process #303701/2021-8).

Material suplementar

Tabela SM1. Protocolos de cPCR utilizados na caracterização molecular das amostras positivas na qPCR para *Bartonella* spp. no presente estudo, com descrição dos genes-alvo, identificação e sequência dos primers, tamanho do fragmento amplificado, condições térmicas e referências.

Molecular Marker	Primers/Probe	Thermal conditions	Amplicon size (bp)	Reference
<i>gltA</i>	BhCS.781p (gltA F) (5' GGGGACCAGCTCATGGTGG- 3')	95°C for 10min; 35 cycles of 95°C for 20s, 51°C for 30s and 72°C for 2min; 72°C for 3min	380-400	(Norman et al., 1995)
	BhCS.1137n (gltA R) (5' AATGCAAAAAGAACAGTAAACA- 3')			
	CS443f (5' -GCTATGTCTGCATTCTATCA- 3')	94°C for 2min; 45 cycles of 94°C for 30s, 48°C for 1min and 72°C for 1min; 72°C for 7min	767	(Billeter et al., 2011)
	CS1210r (5' -GATCYTCAATCATTTCTTTCCA- 3')			
<i>ftsZ</i>	ftsZ F (5' -CATATGGTTTTCTACTGCGYGGTATGG- 3')	94°C for 2min; 40 cycles of 94°C for 2min, 61°C for 45s and 72°C for 45s; 72°C for 7min	515	(Paziewska et al., 2011)
	ftsZ R (5' -TTCTTCGCGAATACGATTAGCAGCTTC- 3')			
<i>groEL</i>	GroEL F (5' -GGAAAAAGTGGGCAATGAAG- 3')	94°C for 2min; 40 cycles of 94°C for 2min, 47°C for 45s and 72°C for 45s; 72°C for 7min	752	(Paziewska et al., 2011)
	GroEL R (5' -TCCTTTAACGGTCAACGCATT- 3')			
<i>nuoG</i>	nuoG F (5' -GGCGTGATTGTTCTCGTTA- 3')	94°C for 5min; 35 cycles of 94°C for 30s, 53°C for 30s and 72°C for 5min; 72°C for 5min	346	(Colborn et al., 2010)
	nuoG R (5' -CACGACCACGGCTATCAAT- 3')			
<i>pap31</i>	165s	95°C for 5min; 45	564	(Maggi &

	(5' -GACTTCTGTTATCGCTTTGATTT- 3') 688as (5' -CACCAACCAGCAAMATAAGGCAT- 3')	cycles of 94°C for 30s, 56°C for 30s and 72°C for 45s; 72°C for 5min		Breitschwerdt, 2005 ^a)
rpoB	1400F (5' -CGCATTGGCTTACTTCGTATG- 3') 2300R (5' -GTAGACTGATTAGAACGCTG- 3')	94°C for 2min; 35 cycles of 94°C for 30s, 53°C for 30s and 72°C for 1min; 72°C for 2min	825	(Renesto et al., 2001)
ribC	Barton-1 (5' -TAACCGATATTGGTTGTGTTGAAG- 3') Barton-2 (5' -TAAAGCTAGAAAGTCTGGCAACATAACG- 3')	95°C for 10min; 37 cycles of 95°C for 1min, 51°C for 1min and 72°C for 1min; 72°C for 3min	585-588	(Johnson et al., 2003)
16S-23S ITS	321s (5' -AGATGATGATCCCAAGCCTTCTGGCG- 3') 938as (5' -TGTTCTYACAACAATGATGATG- 3')	95°C for 5min; 45 cycles of 94°C for 30s, 54°C for 30s and 72°C for 45s; 72°C for 5min	453-717	(Maggi & Breitschwerdt, 2005 ^b)

REFERÊNCIAS

- [1] R.J. Birtles, T.G. Harrison, N.A. Saunders, D.H. Molyneux, Proposals to unify the genera *Grahamella* and *Bartonella*, with descriptions of *Bartonella talpae* comb. nov., *Bartonella peromysci* comb. nov., and three new species, *Bartonella grahamii* sp. nov., *Bartonella taylorii* sp. nov., and *Bartonella doshiae* sp. nov., Int. J. Syst. Bacteriol. 45 (1995) 1-8. <https://doi.org/10.1099/00207713-45-1-1>.
- [2] L.D. Kuykendall, Order VI. Rhizobiales ord. nov, in: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 2, Springer, 2006, pp. 324-400.
- [3] U. Okaro et al., Bartonella species, an emerging cause of blood-culture-negative endocarditis, Clin. Microbiol. Rev. 30 (2017) 709-746. <https://doi.org/10.1128/CMR.00013-17>.
- [4] J.W. Lin et al., Identification of novel *Bartonella* spp. in bats and evidence of Asian gray shrew as a new potential reservoir of *Bartonella*, Vet. Microbiol. 156 (2012) 119-126. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.09.031>.
- [5] N.B. Simmons, A.L. Cirranello, Bat Species of the World: A taxonomic and geographic database, 2020. [Dataset] Available: <https://batnames.org>.
- [6] G.S.T. Garbino et al., Updated checklist of Brazilian bats, 2020. [Dataset] Brazilian Society for the Study of Chiropterans.
- [7] E.Y. Lin et al., *Candidatus Bartonella mayotimonensis* and endocarditis, Emerg. Infect. Dis. 16 (2010) 500-503. <https://doi.org/10.3201/eid1603.081673>.
- [8] V. Veikkolainen et al., Bats as reservoir hosts of human bacterial pathogen, *Bartonella mayotimonensis*, Emerg. Infect. Dis. 20 (2014) 960-967. <https://doi.org/10.3201/eid2006.130956>.
- [9] T.M. Lilley et al., Molecular detection of *Candidatus Bartonella mayotimonensis* in North American bats, Vector Borne Zoonotic Dis. 17 (2017) 243-246. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.2059>.
- [10] J.M. Colborn et al., Improved detection of *Bartonella* DNA in mammalian hosts and arthropod vectors by real-time PCR using the nuoG gene, J. Microbiol. Methods 80 (2010) 155-160. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.12.005>.
- [11] M.J. Stuckey et al., *Bartonella* infection in hematophagous, insectivorous, and phytophagous bat populations of central Mexico and the Yucatan Peninsula, Am. J. Trop. Med. Hyg. 97 (2017) 413-422. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0743>.
- [12] D.J. Becker et al., Geographically widespread and novel hemotropic mycoplasmas and bartonellae in Mexican free-tailed bats and sympatric North American bat species, mSphere 10 (2025) e00116-24. <https://doi.org/10.1128/msphere.00116-24>.
- [13] Y. Bai, M.O.V. Osinubi, L. Osikowicz, C. McKee, N.M. Vora, M.R. Rizzo, S. Recuenco, L. Davis, M. Niezgoda, A.M. Ehimiyen, G.S.N. Kia, A. Oyemakinde, O.S. Adeniyi, Y.H. Gbadegesin, O.A. Saliman, A. Ogunniyi, A.B. Ogunkoya, M.Y. Kosoy, Human exposure to novel *Bartonella* species from contact with fruit bats, Emerg. Infect. Dis. 24 (2018) 2317-2323.

<https://doi.org/10.3201/eid2412.181204>.

- [14] Y. Qiu et al., Isolation of "*Candidatus* Bartonella rousetti" and other bat-associated bartonellae from bats and their flies in Zambia, *Pathogens* 9 (2020) 423. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060423>.
- [15] E.O. Franco et al., Genetic diversity of *Bartonella* spp. in vampire bats and associated Streblidae bat flies in the Brazilian Amazon, *Parasitol. Int.* 106 (2025) 103019. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2024.103019>.
- [16] T.H. Kunz, *Ecology of bats*, Plenum Press, New York, 1982.
- [17] C.W. Dick, B.D. Patterson, Bat flies: Obligate ectoparasites of bats, in: *Micromammals and Macroparasites*, Springer, 2006, pp. 179-194.
- [18] A.G. Marshall, Ecology of insects ectoparasitic on bats, in: *Ecology of Bats*, Springer, 1982, pp. 369-401.
- [19] G.N. Fritz, Comparative morphology of the bat flies Trichobius and Strebla (Diptera: Streblidae) on bats in the genus Carollia, *J. Med. Entomol.* 20 (1983) 275-282. <https://doi.org/10.1093/jmedent/20.3.275>.
- [20] E. Barbier, E. Bernard, From the Atlantic Forest to the borders of Amazônia: species richness, distribution, and host association of ectoparasitic flies (Diptera: Nycteribiidae and Streblidae) in northeastern Brazil, *Parasitol. Res.* 116 (2017) 3043-3055. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5615-7>.
- [21] E. Barbier et al., First record of the bat ectoparasitic fly Strebla proxima Wenzel, 1976 (Diptera: Streblidae) from Brazil, *Entomol. News* 127 (2018) 369-374. <https://doi.org/10.3157/021.127.0409>.
- [22] C.W. Dick, G. Gracioli, Checklist of world Streblidae (Diptera: Hippoboscoidea), 2013. [Dataset] National Science Foundation.
- [23] G. Gracioli, C.W. Dick, Checklist of World Nycteribiidae (Diptera: Hippoboscoidea), 2018. [Dataset] National Science Foundation.
- [24] G. Gracioli, Streblidae in Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil, 2022. Available: <http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/2624>.
- [25] G. Gracioli, G. Hrycyna, Nycteribiidae in Catálogo Taxonômico da Fauna do Brasil, 2022. Available: <http://fauna.jbrj.gov.br/fauna/faunadobrasil/1145>.
- [26] K. Nabeshima et al., Detection and phylogenetic analysis of *Bartonella* species from bat flies on eastern bent-wing bats (*Miniopterus fuliginosus*) in Japan, *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 73 (2020) 101570. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2020.101570>.
- [27] H.J. Han et al., Bats and their ectoparasites (Nycteribiidae and Spinturnicidae) carry diverse novel *Bartonella* genotypes, China, *Transbound. Emerg. Dis.* 69 (2022) e845-e858. <https://doi.org/10.1111/tbed.14357>.
- [28] G. Kuang et al., Molecular detection and phylogenetic analyses of diverse *Bartonella* species in bat ectoparasites collected from Yunnan Province, China, *Pathogens* 11 (2022) 1283. <https://doi.org/10.3390/pathogens11111283>.
- [29] J. Yang et al., Infection status and molecular detection of pathogens carried by ectoparasites of *Miniopterus fuliginosus* bats in Yunnan, China, *Parasitol. Int.* 98 (2024) 102823. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2023.102823>.
- [30] T.L. Peng et al., Molecular prevalence of *Bartonella* spp. in bat flies in east coast Malaysia, *Heliyon* 10 (2024) e29785. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29785>.
- [31] V.L. Low et al., A novel clade of bat-associated Bartonella detected in the bat fly Leptocyclopodia ferrari (Diptera: Nycteribiidae) parasitizing *Cynopterus brachyotis* (Chiroptera: Pteropodidae), *Vet. Microbiol.* 264 (2022) 109284. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2021.109284>.
- [32] A.C. Fagre et al., *Bartonella* infection in fruit bats and bat flies, Bangladesh, *Microb. Ecol.* 86 (2023) 2910-2922. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02273-1>.
- [33] S.A. Billeter, D.T.S. Hayman, A.J. Peel, K. Baker, J.L.N. Wood, A. Cunningham, R. Suu-Ire, K. Dittmar, M.Y. Kosoy, *Bartonella* species in bat flies (Diptera: Nycteribiidae) from western Africa, *Parasitology* 139 (2012) 324-329. <https://doi.org/10.1017/S0031182012000132>.
- [34] D.A. Wilkinson et al., The bacteriome of bat flies (Nycteribiidae) from the Malagasy region: a community shaped by host ecology, bacterial transmission mode, and host-vector specificity, *Appl. Environ. Microbiol.* 82 (2016) 1778-1788. <https://doi.org/10.1128/AEM.03505-15>.
- [35] T. Szentiványi et al., Vector-borne protozoan and bacterial pathogen occurrence and diversity in ectoparasites of the Egyptian Rousette bat, *Med. Vet. Entomol.* 37 (2023) 189-194.

<https://doi.org/10.1111/mve.12639>.

- [36] E. Špitalská et al., *Bartonella* in bat flies from the Egyptian fruit bat in the Middle East, *Parasitol. Res.* 123 (2024) 144. <https://doi.org/10.1007/s00436-024-08165-6>.
- [37] A. Vlaschenko et al., First data on bacteria associated with bat ectoparasites collected in Kharkiv oblast, Northeastern Ukraine, *Parasit. Vectors* 15 (2022) 443. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05582-3>.
- [38] A.D. Sándor et al., Eco-epidemiology of novel *Bartonella* genotypes from parasitic flies of insectivorous bats, *Microb. Ecol.* 76 (2018) 1076-1088. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1195-z>.
- [39] A. Corduneanu et al., Detection of bacterial and protozoan pathogens in individual bats and their ectoparasites using high-throughput microfluidic real-time PCR, *Microbiol. Spectr.* 11 (2023) e01531-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01531-23>.
- [40] G.S. Sanches et al., Molecular survey of Anaplasmataceae agents, *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp., and *Piroplasmids* in ectoparasites from cave-dwelling bats in Mainland Portugal, *Pathogens* 14 (2025) 273. <https://doi.org/10.3390/pathogens14030273>.
- [41] W.K. Reeves et al., Molecular evidence for novel *Bartonella* species in *Trichobius* major (Diptera: Streblidae) and *Cimex adjunctus* (Hemiptera: Cimicidae) from two southeastern bat caves, U.S.A., *J. Vector Ecol.* 30 (2005) 339-341.
- [42] A.E. Moskaluk et al., Molecular detection of *Bartonella* species in blood-feeding bat flies from Mexico, *Vector Borne Zoonotic Dis.* 18 (2018) 258-265. <https://doi.org/10.1089/vbz.2017.2213>.
- [43] M.M. Mitchell et al., Genetic diversity of *Bartonella* spp. in cave-dwelling bats and bat flies, Costa Rica, 2018, *Emerg. Infect. Dis.* 28 (2022) 488-491. <https://doi.org/10.3201/eid2802.211686>.
- [44] G.S.T. Garbino, R. Gregorin, I.P. Lima, L. Loureiro, L. Moras, R. Moratelli, M.R. Nogueira, A.C. Pavan, V.C. Tavares, M.C. Nascimento, R.L.M. Novaes, A.L. Peracchi, Updated checklist of Brazilian bats: version 2024, Comitê da Lista de Morcegos do Brasil – CLMB, Sociedade Brasileira para o Estudo de Quirópteros (SBEQ) (2024). <https://sbeq.org.br/lista-especies>.
- [45] R.B. Amaral, E.C. Lourenço, K.M. Famadas, A.B. Garcia, R.Z. Machado, M.R. André, Molecular detection of *Bartonella* spp. and *Rickettsia* spp. in bat ectoparasites in Brazil, *PLOS ONE* 13 (2018) e0198629. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198629>.
- [46] P. Ikeda et al., Intra-and inter-host assessment of *Bartonella* diversity with focus on non-hematophagous bats and associated ectoparasites from Brazil, *Microorganisms* 8 (2020) e01120. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111721>.
- [47] M. Braga et al., Occurrence of *Bartonella* genotypes in bats and associated Streblidae flies from Maranhão state, northeastern Brazil, *Braz. J. Vet. Parasitol.* 29 (2020) e015620. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020079>.
- [48] D.Q. Guerra, *Chiroptera de Pernambuco: Distribuição e aspectos biológicos*, Master's thesis, Universidade Federal de Pernambuco, 2007.
- [49] A.C.L. Garcia et al., The bats of northeastern Brazil: a panorama, *Anim. Biol.* 64 (2014) 141-150. <https://doi.org/10.1163/15707563-00002437>.
- [50] A.S. da Silva et al., Parasitism on bats by bat flies in remnants of a humid forest enclave area in Northeastern Brazil, *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 37 (2023) 100826. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2022.100826>.
- [51] A.L. Gardner, Order Chiroptera Blumenbach, 1779, in: *Mammals of South America*, vol. 1, University of Chicago Press, 2007, pp. 187-484.
- [52] D. Dias, A.L. Peracchi, Bats from Tinguá Biological Reserve, Rio de Janeiro state, southeastern Brazil (Mammalia: Chiroptera), *Rev. Bras. Zool.* 25 (2008) 333-369. <https://doi.org/10.1590/S0101-81752008000200022>.
- [53] R.L. Wenzel, V.J. Tipton, A. Kiewlicz, The streblid batflies of Panama (Diptera: Calyptera: Streblidae), in: *Ectoparasites of Panama*, Field Museum of Natural History, 1966, pp. 405-675.
- [54] R.L. Wenzel, The Streblidae bat flies of Venezuela (Diptera: Streblidae), *Brigham Young Univ. Sci. Bull. Biol. Ser.* 20 (1976) 1-177.
- [55] R. Guerrero, Catálogo de los Streblidae (Diptera: Pupipara) parasitos de murciélagos (Mammalia: Chiroptera) del nuevo mundo II, *Acta Biol. Venezuelica* 15 (1994) 1-18.
- [56] R. Guerrero, Catálogo de los Streblidae (Diptera: Pupipara) parasitos de murciélagos (Mammalia: Chiroptera) del Nuevo Mundo. III, *Acta Biol. Venezuelica* 15 (1995) 1-27.
- [57] R. Guerrero, Catálogo de los Streblidae (Diptera: Pupipara) parasitos de murciélagos

- (Mammalia: Chiroptera) del nuevo mundo VI, Acta Biol. Venezuelica 16 (1996) 1-25.
- [58] R. Guerrero, Notas sobre batflies (Diptera, Streblidae). I, Acta Parasitol. 43 (1998) 86-93.
- [59] G. Graciolli, C.J.B. Carvalho, Moscas ectoparasitas (Diptera: Hippoboscoidea) de morcegos (Mammalia: Chiroptera) do estado do Paraná, Rev. Bras. Zool. 18 (2001) 907-960. <https://doi.org/10.1590/S0101-81752001000300028>.
- [60] J. Miller, M. Tschapka, The bat flies of La Selva (Diptera: Nycteribiidae, Streblidae), Syst. Entomol. 26 (2001) 219-235. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113.2001.00148.x>.
- [61] O. Folmer et al., DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 3 (1994) 294-299.
- [62] E.B. Breitschwerdt, R.G. Maggi, C. Quach, J.M. Bradley, *Bartonella* spp. bloodstream infection in a Canadian family, Vector Borne Zoonotic Dis. 19 (2019) 234-241. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2394>.
- [63] J.A. Oteo et al., Prevalence of *Bartonella* spp. by culture, PCR and serology, in veterinary personnel from Spain, Parasit. Vectors 10 (2017) 553. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2483-z>.
- [64] S.A. Bustin, V. Benes, J.A. Garson, J. Hellemans, J. Huggett, M. Kubista, R. Mueller, T. Nolan, M.W. Pfaffl, G.L. Shipley, J. Vandesompele, C.T. Wittwer, The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments, Clin. Chem. 55 (2009) 611-622.
- [65] A.F. Norman, R. Regnery, P. Jameson, C. Greene, D.C. Krause, Differentiation of *Bartonella*-like isolates at the species level by PCR-restriction fragment length polymorphism in the citrate synthase gene, J. Clin. Microbiol. 33 (1995) 1797-1803. <https://doi.org/10.1128/jcm.33.7.1797-1803.1995>.
- [66] S.A. Billeter et al., Molecular detection and identification of *Bartonella* species in *Xenopsylla cheopis* fleas (Siphonaptera: Pulicidae) collected from *Rattus norvegicus* rats in Los Angeles, California, Appl. Environ. Microbiol. 77 (2011) 7850-7852. <https://doi.org/10.1128/AEM.05512-11>. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>.
- [67] A. Paziewska et al., Recombination within and between species of the alpha proteobacterium *Bartonella* infecting rodents, Microb. Ecol. 61 (2011) 134-145. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9735-1>.
- [68] G. Johnson et al., Detection and identification of *Bartonella* species pathogenic for humans by PCR amplification targeting the riboflavin synthase gene (ribC), J. Clin. Microbiol. 41 (2003) 1069-1072. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.3.1069-1072.2003>.
- [69] P. Renesto et al., Use of rpoB gene analysis for detection and identification of *Bartonella* species, J. Clin. Microbiol. 39 (2001) 430-437. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.2.430-437.2001>.
- [70] R.G. Maggi, E.B. Breitschwerdt, Potential limitations of the 16S-23S rRNA intergenic region for molecular detection of *Bartonella* species, J. Clin. Microbiol. 43 (2005) 1171-1176. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.3.1171-1176.2005>.
- [71] J.M. Colborn et al., Improved detection of *Bartonella* DNA in mammalian hosts and arthropod vectors by real-time PCR using the *nuoG* gene, J. Microbiol. Methods 80 (2010) 155-160. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.12.005>.
- [72] R.G. Maggi, E.B. Breitschwerdt, Optimization of the 16S-23S rRNA intergenic region for molecular detection of *Bartonella* species, J. Clin. Microbiol. 43 (2005) 1177-1182. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.3.1177-1182.2005>.
- [73] C.M. Dias et al., Multi-locus sequencing typing of *Bartonella henselae* isolates reveals coinfection with different variants in domestic cats from Midwestern Brazil, Acta Trop. 237 (2023) 106742. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106742>.
- [74] F. Sanger, S. Nicklen, A.R. Coulson, DNA sequencing with chain-terminating inhibitors, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (1977) 5463-5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>.
- [75] B. Ewing, L. Hillier, M.C. Wendl, P. Green, Base-calling of automated sequencer traces using Phred. I. Accuracy assessment, Genome Res. 8 (1998) 175-185. <https://doi.org/10.1101/gr.8.3.175>.
- [76] S.F. Altschul, W. Gish, W. Miller, E.W. Myers, Basic local alignment search tool, J. Mol. Biol. 215 (1990) 403-410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).
- [77] J.D. Thompson, D.G. Higgins, T.J. Gibson, CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap

penalties and weight matrix choice, *Nucleic Acids Res.* 22 (1994) 4673-4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>.

[78] T.A. Hall, BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT, *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41 (1999) 95-98.

[79] D. Glez-Peña et al., ALTER: program-oriented conversion of DNA and protein alignments, *Nucleic Acids Res.* 38 (2010) W14-W18. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq321>.

[80] J. Trifinopoulos et al., W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis, *Nucleic Acids Res.* 44 (2016) W232-W235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>.

[81] S. Kalyaanamoorthy et al., ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates, *Nat. Methods* 14 (2017) 587-589. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4285>.

[82] J. Felsenstein, Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap, *Evolution* 39 (1985) 783-791. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x>.

[83] P. Librado, J. Rozas, DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data, *Bioinformatics* 25 (2009) 1451-1452. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>.

[84] M. Clement, D. Posada, K.A. Crandall, TCS: a computer program to estimate gene genealogies, *Mol. Ecol.* 9 (2000) 1657-1659. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2000.01020.x>.

[85] J.W. Leigh, D. Bryant, PopART: full-feature software for haplotype network construction, *Methods Ecol. Evol.* 6 (2015) 1110-1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>.

[86] M. Kosoy et al., Genotyping of *Bartonella* bacteria and their animal hosts: current status and perspectives, *Parasitology* 145 (2018) 543-562. <https://doi.org/10.1017/S0031182017001263>.

[87] K.E. Mullins et al., Molecular analysis of *Bartonella* species in rodents and shrews from Nigeria, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 89 (2013) 954-959. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0102>.

[88] S.F. Morse, K.J. Olival, M. Kosoy, S. Billeter, B.D. Patterson, C.W. Dick, K. Dittmar, Global distribution and genetic diversity of *Bartonella* in bat flies (Hippoboscoidea, Streblidae, Nycteribiidae), *Infect. Genet. Evol.* 12 (2012) 1717-1723. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.06.009>.

[89] H.J. Bandelt, P. Forster, A. Röhl, Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies, *Mol. Biol. Evol.* 16 (1999) 37-48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>.

[90] H. Oliveira, M. Oprea, R. Dias, Distributional patterns and ecological determinants of bat occurrence inside caves: A broad scale meta-analysis, *Diversity* 10 (2018) 49. <https://doi.org/10.3390/d10030049>.

[91] C.G. Mittermeier et al., Wilderness and biodiversity conservation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100 (2003) 10309-10313. <https://doi.org/10.1073/pnas.1732458100>.

[92] D.A. Koch et al., Effects of preservation methods, parasites, and gut contents of black flies (Diptera: Simuliidae) on polymerase chain reaction products, *J. Med. Entomol.* 35 (1998) 314-318. <https://doi.org/10.1093/jmedent/35.3.314>.

[93] C.J. Vink et al., The effects of preservatives and temperatures on arachnid DNA, *Invertebr. Syst.* 19 (2005) 99-104.

<https://doi.org/10.1071/IS04039>.

[94] MCKEE, C. D.; BAI, Y.; WEBB, C. T.; KOSOY, M. Y. Bats are key hosts in the radiation of mammal-associated *Bartonella* bacteria. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 89, p. 104719, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104719>