

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 15/02/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

OCORRÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE
***Bartonella* spp. E *Mycoplasma* spp. EM QUIRÓPTEROS**
AMOSTRADOS NO BRASIL

Priscila Ikeda
Médica Veterinária

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

OCORRÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE
***Bartonella* spp. E *Mycoplasma* spp. EM QUIRÓPTEROS**
AMOSTRADOS NO BRASIL

Priscila Ikeda

Orientador: Prof. Dr. Marcos Rogério André

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, área: Medicina Veterinária Preventiva.

2017

I26o Ikeda, Priscila
Ocorrência e caracterização molecular de *Bartonella* spp. e
Mycoplasma spp. em quirópteros amostrados no Brasil / Priscila Ikeda.
-- Jaboticabal, 2017
xxvi, 90 p. : il. ; 29 cm

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

1. Análise filogenética. 2. *Bartonella*. 3. *Mycoplasma*. 4. Quirópteros.
I. Título II. Jaboticabal -- Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias

CDU 619:616.993:599.4

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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: OCORRÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Bartonella* spp. E
Mycoplasma spp. EM QUIRÓPTEROS AMOSTRADOS NO BRASIL

AUTORA: PRISCILA IKEDA

ORIENTADOR: MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA
VETERINÁRIA, área: MEDICINA VETERINARIA PREVENTIVA pela Comissão Examinadora:

Marcos R. André

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

Rosângela Zacarias Machado

Profa. Dra. ROSÂNGELA ZACARIAS MACHADO
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho
Prof. Dr. PAULO EDUARDO NEVES FERREIRA VELHO
Departamento de Clínica Médica / UNICAMP - Campinas, SP

Jaboticabal, 15 de fevereiro de 2017.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Priscila Ikeda, nascida em 21 de fevereiro de 1992 na cidade de Guarapuava, Paraná. Formada em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro), Guarapuava, Paraná (2013). Possui Aprimoramento na área de Medicina e Manejo de Animais Selvagens pela mesma universidade (2015). Ingressou no Mestrado em Medicina Veterinária (área de concentração de Medicina Veterinária Preventiva) na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho, Campus Jaboticabal, no ano de 2015, como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por quatro meses e, posteriormente, bolsista FAPESP (2015/04773-0) por 20 meses, sob orientação do Prof. Dr. Marcos Rogério André.

EPÍGRAFE

“I may not change the world, but I’m gonna leave a scar”
Blackberry Smoke – Leave a Scar (The Whippoorwill Album)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Oscar Kunio Ikeda e Silvana Aparecida Ikeda, e às minhas irmãs Angela Cristina Ikeda e Mônica Ikeda por me trazerem até aqui.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida (Processo n. 2015/04773-0) e pelo Projeto auxílio pesquisa concedido (Processo n. 2015/14896-1) sem os quais não seria possível desenvolver tal trabalho.

À Deus por me guiar em meu caminho e me proporcionar tantas conquistas.

Aos meus pais, Silvana Aparecida Ikeda e Oscar Kunio Ikeda, pelo apoio e por nunca desistirem de dar às suas filhas o melhor para seguirmos nossos sonhos. Às minhas irmãs, Mônica Ikeda e Angela Cristina Ikeda que sempre estão dispostas a me auxiliar. E ao meu namorado Emanuel Vicente Chimanski por sempre me lembrar de que eu consigo ser cada vez melhor e sempre estar comigo apesar da distância.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Rogério André. Primeiramente por ter acreditado no meu potencial e também por toda a paciência e dedicação nesse processo.

Aos componentes da banca de qualificação de mestrado, Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte e Profa. Dra. Rosangela Zacarias Machado pelas considerações e auxílio no desenvolvimento final do trabalho.

Aos participantes da banca de defesa de mestrado, Prof. Dr. Paulo Eduardo Neves Ferreira Velho e Profa. Dra. Rosangela Zacarias Machado pela disponibilidade e por compartilhar seus conhecimentos conosco.

Aos professores da Universidade Estadual do Centro Oeste (Unicentro): Prof. Dra. Meire Christina Seki, Prof. Dr. Adriano de Oliveira Torres Carrasco, Prof. Dr. João Marcelo Deliberador Miranda e seus orientados Sabrina Maria Marchioro Gonçalves, Lucinéia Vitchemech, Samara de Oliveira Freitas, Elisa Dobrowolski, Gilson Pedro Amaral Filho, Renan Vailati, Yohhane Hofmann, Guilherme Mulinari, João Gustavo Simão, Marcos Moraes, Andressa Hiromi Sagae, Jaqueline Camargo e Maria Eduarda Galvan por todo o auxílio nos trabalhos de campo realizados no estado do Paraná. Agradeço aos demais estagiários dos laboratórios de Doenças Infecciosas e Parasitárias e de Biodiversidade de Mamíferos do Sul do Brasil por estarem sempre dispostos a emprestar e ajudar a separar todo o material necessário para as capturas.

À Profa. Dra. Marta Maria Geraldês Teixeira, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (USP-SP) por ceder as amostras colhidas nos estados de Mato Grosso e Tocantins.

Ao Prof. Dr. Estevam Guilherme Lux Hoppe e sua orientada Ana Cláudia Alexandre de Albuquerque (FCAV-UNESP) por cederem as amostras colhidas no estado do Pará.

À Profa. Dra Karin Werther e suas orientadas Juliana Oliveira de Paula e Mariele de Santi (FCAV-UNESP) por cederem as amostras colhidas no estado de São Paulo e pelo auxílio e disponibilidade sempre que precisávamos.

À todos meus colegas do Laboratório de Imunoparasitologia: Keyla Carstens de Sousa, Jyan Lucas Benevenuto, Renan Bressianini do Amaral, Priscila Preve Pereira, Marcia Mariza Gomes Jusi, Carla Freschi, Pamela Rodrigues Reina Moreira, Paulo Henrique Leal Bertolo, Otávio Luiz Fidelis Junior, Paulo Henrique Sampaio, Carlos Matos, Luiz Ricardo Gonçalves, Inalda Ramos, Simone Fernandes e Kayo Castilho Neto pelo apoio e pelos ensinamentos técnicos. À todos estagiários tanto curriculares como extracurriculares que passaram ou continuaram no laboratório por todo o auxílio necessário para manter tudo em ordem. Aos alunos de iniciação científica pelo completo comprometimento ao seu trabalho e por toda ajuda fornecida nesses dois anos.

À Rafaela Beraldo principalmente pela amizade, mas também por sempre estar disposta a nos ajudar e nunca deixar o café faltar. À Mabel Mastro Custódio por toda ajuda administrativa. Ao Arvelino no auxílio da limpeza do laboratório e dos serviços do dia-a-dia.

Finalmente, minha imensa gratidão a todos meus amigos, colegas e conhecidos por terem cruzado meu caminho e que me auxiliaram e me ajudam a crescer cada vez mais tanto espiritualmente como profissionalmente.

SUMÁRIO	Página
Certificado de Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).....	xii
Autorização para atividades com finalidade científica (Ministério do Meio Ambiente – ICMBio/SISBIO).....	xiii
RESUMO.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
LISTA DE QUADROS.....	xx
LISTA DE TABELAS.....	xxi
LISTA DE FIGURAS.....	xxii
LISTA DE ANEXOS.....	xxvi
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	02
2.1 Quirópteros Brasileiros.....	02
2.2 <i>Bartonella</i> spp.	05
2.2.1 Agente etiológico.....	05
2.2.2 <i>Bartonella</i> spp. em quirópteros.....	06
2.2.3 Bartoneloses em humanos.....	11
2.2.4 Transmissão de <i>Bartonella</i> spp.	14
2.2.5 Diagnóstico de <i>Bartonella</i> spp.	16
2.3 <i>Mycoplasmas hemotróficos</i> (hemoplasmas).....	18
2.3.1 Agente etiológico.....	18
2.3.2 Hemoplasmas em quirópteros.....	19
2.3.3 Hemoplasmoses em humanos.....	19
2.3.4 Transmissão de hemoplasmas.....	21
2.3.5 Diagnóstico de hemoplasmas.....	21
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 Objetivo Geral.....	22
3.2. Objetivos específicos.....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 Capturas e colheitas de amostras.....	24
4.1.1 Estado do Paraná.....	24
4.1.2 Estado do Pará.....	29

4.1.3 Estado de São Paulo.....	29
4.1.4 Estados de Mato Grosso e Tocantins.....	30
4.2 Extração de DNA.....	30
4.3 PCR convencional (cPCR) para o gene endógeno gliceraldeído-3- fosfato desidrogenase (GAPDH).....	30
4.4 Eletroforese em gel de agarose.....	31
4.5 PCR em tempo real quantitativa (qPCR) para <i>Bartonella</i> spp. baseada no gene <i>nuoG</i>	31
4.6 PCR convencional (cPCR) para <i>Bartonella</i> spp.	32
4.7 PCR convencional (cPCR) para <i>Mycoplasma</i> spp.	34
4.8 Sequenciamento.....	35
4.9 Análise Filogenética.....	35
5. RESULTADOS.....	36
5.1 Capturas de quirópteros e colheitas de amostras.....	36
5.2 Extrações de DNA.....	41
5.3 PCR convencional (cPCR) para o gene endógeno GAPDH.....	41
5.4 PCR em tempo real (qPCR) para <i>Bartonella</i> spp. baseada no gene <i>nuoG</i>	42
5.5 cPCR para <i>Bartonella</i> spp.	45
5.6 cPCR para <i>Mycoplasma</i> spp.	46
5.7 Copositividade por <i>Bartonella</i> spp. e hemoplasmas.....	47
5.8 Análise Filogenética.....	48
5.8.1 Análise pelo BLASTn.....	48
5.8.2 Árvores filogenéticas.....	50
6. DISCUSSÃO.....	63
7. CONCLUSÃO.....	67
8. REFERENCIAS.....	68
ANEXOS.....	82



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



CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 8189/15 do trabalho de pesquisa intitulado "**Detecção e caracterização molecular de *Bartonella spp.* em Quirópteros amostrados nos Estados do Pará e Paraná, Brasil**", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcos Rogério André está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 11 de maio de 2015.

Jaboticabal, 11 de maio de 2015.

Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 48306-1	Data da Emissão: 24/04/2015 16:33	Data para Revalidação*: 23/05/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcos Rogério André	CPF: 302.435.148-59
Título do Projeto: DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE Bartonella spp. EM QUIRÓPTEROS AMOSTRADOS NOS ESTADOS DO PARÁ E PARANÁ, BRASIL	
Nome da Instituição : UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Extração de DNA das amostras de baço e fígado de quirópteros	07/2015	07/2016
2	Captura e colheita de amostras biológicas de quirópteros	07/2015	07/2016
3	qPCR para o gene nuoG para Bartonella spp.	07/2015	07/2016
4	Caracterização molecular por PCR convencional	01/2016	07/2016
5	Sequenciamento	01/2016	07/2016
6	Análise Filogenética	08/2016	12/2016
7	Relatório e discussão dos resultados obtidos	12/2016	02/2017

Observações e ressalvas

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

Outras ressalvas

1	As redes de neblinas deverão ser verificadas no mínimo de 30 em 30 minutos. Não está autorizada a coleta, transporte de fêmeas grávidas ou em processo de amamentação. Somente está autorizada a captura e coleta de amostras da espécie <i>Eptesicus tadeii</i> .
2	1 - A regularização fundiária da UC é incipiente, sendo sua área ainda constituída por propriedades particulares. Orientamos o contato prévio com os proprietários de áreas de interesse para coleta, visando evitar conflitos no acesso em algumas áreas.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. identidade	Nacionalidade
---	------	--------	-----	-----------------	---------------

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

Código de autenticação: 83594295



Página 1/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 48306-1	Data da Emissão: 24/04/2015 16:33	Data para Revalidação*: 23/05/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcos Rogério André	CPF: 302.435.148-59
Título do Projeto: DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE Bartonella spp. EM QUIRÓPTEROS AMOSTRADOS NOS ESTADOS DO PARÁ E PARANÁ, BRASIL	
Nome da Instituição : UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87

1	Meire Christina Seki	Captura de quirópteros	218.740.398-01	25188501x SSP-SP	Brasileira
2	Priscila Ikeda	Captura de quirópteros, colheita e processamento das amostras	078.839.189-58	80538928 SSP-PR	Brasileira
3	João Marcelo Deliberador Miranda	Captura e identificação de quirópteros	025.857.259-01	61613366 SESP-PR	Brasileira
4	Adriano de Oliveira Torres Carrasco	Captura de quirópteros	020.075.229-42	2/C 3359606 SSP-SC	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	GUARAPUAVA	PR	Guarapuava	Fora de UC Federal
2		PR	RESERVA BIOLÓGICA DAS ARAUCÁRIAS	UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Artibeus cinereus, Glossophaga soricina, Promops nasutus, Myotis riparius, Glyphonycteris sylvestris, Chiroderma villosum, Myotis albescens, Noctilio albiventris, Mimon bennettii, Pygoderma bilabiatum, Lasiurus blossevillii, Eumops bonariensis, Trachops cirrhosus, Phyllostomus discolor, Anoura geoffroyi, Eumops glaucinus, Phyllostomus hastatus, Nyctinomops laticaudatus, Platyrhinus lineatus, Molossops neglectus, Artibeus fimbriatus, Eumops auripendulus, Lasiurus ega, Rhogeessa hussoni, Desmodus rotundus, Eumops perotis, Uroderma bilobatum, Macrophyllum macrophyllum, Myotis nigricans, Anoura caudifera, Tonatia bidens, Eptesicus brasiliensis, Thyroptera tricolor, Tadarida brasiliensis, Chiroderma doriae, Histiotus montanus, Eptesicus taddei, Artibeus lituratus, Cynomops planirostris, Vampyressa pusilla, Platyrhinus recifinus, Peropteryx macrotis, Myotis ruber, Carollia perspicillata, Artibeus obscurus, Molossops temminckii, Histiotus velatus, Cynomops abrasus, Sturnira lilium, Diphylla ecaudata, Eptesicus furinalis, Diaemus youngi, Noctilio leporinus, Molossus molossus, Eumops hansae, Micronycteris megalotis, Nyctinomops macrotis, Artibeus planirostris, Molossus rufus, Chiropterus auritus, Sturnira tildae, Eptesicus diminutus, Lasiurus cinereus, Myotis levis
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Eptesicus brasiliensis, Chiroderma doriae, Myotis levis, Macrophyllum macrophyllum, Artibeus obscurus, Sturnira lilium, Eptesicus diminutus, Rhogeessa hussoni, Histiotus montanus, Molossops temminckii, Thyroptera tricolor, Artibeus fimbriatus, Myotis riparius, Noctilio albiventris, Tonatia bidens, Pygoderma bilabiatum, Vampyressa pusilla, Eptesicus taddei, Nyctinomops laticaudatus, Eumops glaucinus, Nyctinomops macrotis, Eumops hansae, Glossophaga soricina, Diaemus youngi, Histiotus velatus, Micronycteris megalotis, Myotis nigricans, Molossops neglectus, Cynomops planirostris, Myotis albescens, Eumops bonariensis, Anoura geoffroyi, Trachops cirrhosus, Lasiurus cinereus, Uroderma bilobatum, Phyllostomus hastatus, Noctilio leporinus, Artibeus lituratus, Platyrhinus lineatus, Promops nasutus, Eumops perotis, Carollia perspicillata, Artibeus planirostris, Desmodus rotundus, Myotis ruber, Molossus rufus, Sturnira tildae, Chiroderma villosum, Cynomops abrasus, Artibeus cinereus, Eumops auripendulus, Mimon bennettii, Phyllostomus discolor, Lasiurus ega, Platyrhinus recifinus, Lasiurus blossevillii, Diphylla ecaudata, Eptesicus furinalis, Peropteryx macrotis, Molossus molossus, Glyphonycteris sylvestris, Chiropterus auritus, Anoura caudifera, Tadarida brasiliensis

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

Código de autenticação: 83594295



Página 2/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 48306-1	Data da Emissão: 24/04/2015 16:33	Data para Revalidação*: 23/05/2016
------------------------	--	---

* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: Marcos Rogério André		CPF: 302.435.148-59
Título do Projeto: DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE <i>Bartonella</i> spp. EM QUIRÓPTEROS AMOSTRADOS NOS ESTADOS DO PARÁ E PARANÁ, BRASIL		
Nome da Instituição : UNESP JABOTICABAL		CNPJ: 48.031.918/0012-87

3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Phyllostomus hastatus (*Qtde: 10), Eumops perotis (*Qtde: 10), Myotis riparius (*Qtde: 10), Eumops hansae (*Qtde: 10), Lasiurus ega (*Qtde: 10), Artibeus lituratus (*Qtde: 10), Nyctinomops laticaudatus (*Qtde: 10), Sturnira lilium (*Qtde: 10), Molossus molossus (*Qtde: 10), Phyllostomus discolor (*Qtde: 10), Anoura caudifera (*Qtde: 10), Lasiurus blotsevilli (*Qtde: 10), Tadarida brasiliensis (*Qtde: 10), Molossops neglectus (*Qtde: 10), Glyphonycteris sylvestris (*Qtde: 10), Artibeus obscurus (*Qtde: 10), Mimon bennettii (*Qtde: 10), Eptesicus brasiliensis (*Qtde: 10), Eumops bonariensis (*Qtde: 10), Artibeus cinereus (*Qtde: 10), Macrophyllum macrophyllum (*Qtde: 10), Micronycteris megalotis (*Qtde: 10), Anoura geoffroyi (*Qtde: 10), Cynomops planirostris (*Qtde: 10), Eumops glaucinus (*Qtde: 10), Artibeus planirostris (*Qtde: 10), Sturnira lilae (*Qtde: 10), Desmodus rotundus (*Qtde: 10), Pygoderma bilabiatum (*Qtde: 10), Myotis albescens (*Qtde: 10), Nyctilio albigentris (*Qtde: 10), Nyctilio leporinus (*Qtde: 10), Molossops temminckii (*Qtde: 10), Diaemus youngi (*Qtde: 10), Trachops cirrhosus (*Qtde: 10), Chrotopterus auritus (*Qtde: 10), Peropteryx macrotis (*Qtde: 10), Histiotus montanus (*Qtde: 10), Promops nasutus (*Qtde: 10), Myotis nigricans (*Qtde: 10), Glossophaga soricina (*Qtde: 10), Platyrhinus lineatus (*Qtde: 10), Myotis levis (*Qtde: 10), Molossus rufus (*Qtde: 10), Artibeus fimbriatus (*Qtde: 10), Eptesicus furinalis (*Qtde: 10), Tonatia bidens (*Qtde: 10), Lasiurus cinereus (*Qtde: 10), Eptesicus diminutus (*Qtde: 10), Rhogeessa hussoni (*Qtde: 10), Carollia perspicillata (*Qtde: 10), Nyctinomops macrotis (*Qtde: 10), Diphylla ecaudata (*Qtde: 10), Platyrhinus recifinus (*Qtde: 10), Histiotus velatus (*Qtde: 10), Chiroderma villosum (*Qtde: 10), Chiroderma doriae (*Qtde: 10), Uroderma bilobatum (*Qtde: 10), Cynomops abrasus (*Qtde: 10), Thyroptera tricolor (*Qtde: 10), Vampyressa pusilla (*Qtde: 10), Eumops auripendulus (*Qtde: 10)
---	---	--

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

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Sangue, Fragmento de tecido/órgão, Ectoparasita
2	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Rede de neblina

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	INESP JABOTICABAL	

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

Código de autenticação: 83594295



Página 3/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 48306-1	Data da Emissão: 24/04/2015 16:33	Data para Revalidação*: 23/05/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcos Rogério André	CPF: 302.435.148-59
Título do Projeto: DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE Bartonella spp. EM QUIRÓPTEROS AMOSTRADOS NOS ESTADOS DO PARÁ E PARANÁ, BRASIL	
Nome da Instituição : UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87

Registro de coleta imprevista de material biológico

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

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

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

Código de autenticação: 83594295



Página 4/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 48306-1	Data da Emissão: 24/04/2015 16:33	Data para Revalidação*: 23/05/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Marcos Rogério André	CPF: 302.435.148-59
Título do Projeto: DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE Bartonella spp. EM QUIRÓPTEROS AMOSTRADOS NOS ESTADOS DO PARÁ E PARANÁ, BRASIL	
Nome da Instituição : UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

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

Código de autenticação: 83594295



Página 5/5

OCORRÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Bartonella* spp. E *Mycoplasma* spp. EM QUIRÓPTEROS AMOSTRADOS NO BRASIL

RESUMO – Doenças transmitidas por vetores artrópodes tem se tornado cada vez mais importantes para a saúde humana e animal. Neste sentido, o papel dos animais selvagens como reservatórios na transmissão destas enfermidades vem sendo investigado. A ordem Chiroptera é considerada o segundo maior grupo de mamíferos no mundo, hospedando importantes patógenos zoonóticos, tais como vírus e bactérias. *Bartonella* spp. e *Mycoplasma* spp. são bactérias que parasitam eritrócitos de diferentes espécies de mamíferos, incluindo humanos, podendo causar manifestações clínicas diversas. O presente estudo objetivou pesquisar a ocorrência e analisar filogeneticamente *Bartonella* spp. e *Mycoplasma* spp. em quirópteros amostrados no Brasil. Para tal, foram colhidas 325 amostras de sangue e/ou tecidos (fígado, coração e baço) de 162 quirópteros pertencentes a 19 espécies distribuídas em quatro famílias distintas de cinco estados: Mato Grosso, Pará, Paraná, São Paulo e Tocantins. Destas, três amostras mostraram-se negativas para o gene endógeno de referência (GAPDH), sendo excluídas das análises. Portanto, do total de 322 amostras, 17 (5,28%) mostraram-se positivas para *Bartonella* spp. por meio da PCR em tempo real baseada no gene *nuoG*. A quantificação de um fragmento do gene *nuoG* de *Bartonella* spp. por microlitro variou de $4,4 \times 10^0$ a $6,95 \times 10^3$ cópias/ μ L nas amostras de sangue e teciduais dos quirópteros. Ainda, 45 amostras (13,97%) mostraram-se positivas para hemoplasmas por meio da PCR convencional baseada no gene 16S rRNA. Destas amostras foram obtidas sete sequências para *Bartonella* (*nuoG* [n=3], *gltA* [n=2], *rpoB* [n=1], *ftsZ* [n=1]), e cinco sequências de um fragmento do gene 16S rRNA de *Mycoplasma* spp. Nas análises filogenéticas, as sequências de *Bartonella* spp. posicionaram-se proximamente a genótipos de *Bartonella* spp. detectados em quirópteros amostrados em países da América Latina. Todas as cinco sequências de hemoplasmas formaram um grupo monofilético, tanto pela análise de Máxima Verossimilhança quanto pela Inferência Bayesiana, mostrando-se filogeneticamente relacionadas a *Mycoplasma coccoides*. As amostras positivas para *Bartonella* spp. foram provenientes das espécies *Phyllostomus hastatus*, *Carollia perspicillata*, *Sturnira lilium*, *Glossophaga soricina* e *Natalus espirosantensis*. Trata-se da primeira descrição de *Bartonella* spp. na última espécie de quiróptero elencada. Os quirópteros positivos para hemoplasmas pertenciam às espécies *Artibeus planirostris*, *Eptesicus* sp., *Eumops auripendulus*, *Glossophaga soricina*, *Molossus molossus*, *Molossus rufus*, *Myotis nigricans* e *Sturnira lilium*, sendo a primeira evidência da circulação deste patógeno nestas espécies. Os genótipos de *Bartonella* spp. obtidos mostraram-se filogeneticamente próximos a genótipos detectados em quirópteros amostrados em outras regiões do mundo. Ainda, evidenciou-se a presença de genótipos filogeneticamente díspares entre si em diferentes regiões do Brasil. Já os genótipos de *Mycoplasma* spp. obtidos mostraram-se próximos entre si como um grupo monofilético, mas distantes dos previamente detectados em quirópteros dos Estados Unidos da América e Espanha. Portanto, o presente trabalho evidenciou, pela primeira vez, a circulação de *Bartonella* spp. e hemoplasmas entre quirópteros amostrados no Brasil e identificou novas espécies de quirópteros como hospedeiros das bactérias estudadas.

Palavras-chave: Análise filogenética, *Bartonella*, *Mycoplasma*, Quirópteros

OCURRENCE AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Bartonella* spp. AND *Mycoplasma* spp. IN BATS SAMPLED IN BRAZIL

ABSTRACT – Vector-borne diseases have become increasingly important to human and animal health. The role of wild animals as reservoirs in the transmission of these diseases has been investigated. The Chiroptera Order is considered the second largest group of mammals in the world, hosting important zoonotic virus and bacteria. *Bartonella* spp. and *Mycoplasma* spp. are bacteria that parasites different mammals species' erythrocytes, including humans, causing different clinic manifestations. The present work aimed at investigating the occurrence and assessing the phylogenetic positioning of *Bartonella* spp. and *Mycoplasma* spp. in bats sampled in Brazil. A total of 325 blood and/or tissue (liver, spleen and heart) samples were collected from 162 bats belonging to 19 species distributed in four different families from five states: Mato Grosso, Pará, Paraná, São Paulo and Tocantins. Three samples showed negative results in the conventional PCR based on GAPDH gene and excluded from analysis. Seventeen (5,28%) out of 322 bats' samples were positive to qPCR for *Bartonella* spp. based on *nuoG* gene. The quantification of a *Bartonella* spp. *nuoG* gene fragment per microlitro in bats' blood and tissues ranged from $4,4 \times 10^0$ a $6,95 \times 10^3$ copies/ μ L. On the other hand, 45 (13,97%) samples were positive to cPCR assays for hemoplasmas based on 16S rRNA gene. Seven sequences were obtained for *Bartonella* spp. (*nuoG* [n=3], *gltA* [n=2], *rpoB* [n=1], *ftsZ* [n=1]), and five 16S rRNA sequences were obtained for *Mycoplasma* spp. In the phylogenetic analysis, the found *Bartonella* spp. sequences clustered with *Bartonella* spp. genotypes previously detected in bats sampled in Latin America countries. All five hemoplasmas sequences clustered together as a monophyletic group and closely related to *Mycoplasma coccoides*, by Maximum Likelihood and Bayesian Inference analyses. The biological samples positive for *Bartonella* spp. were collected from *Phyllostomus hastatus*, *Carollia perspicillata*, *Sturnira lilium*, *Glossophaga soricina* and *Natalus espirosantensis* bats species. This is the first report of occurrence of *Bartonella* spp. in *Natalus espirosantensis*. The positive biological samples for hemoplasmas were collected from animals belonging to the species *Artibeus planirostris*, *Eptesicus* sp., *Eumops auripendulus*, *Glossophaga soricina*, *Molossus molossus*, *Molossus rufus*, *Myotis nigricans* and *Sturnira lilium*, which represented the first evidence of the circulation of this pathogen in these species. The *Bartonella* spp. genotypes showed a phylogenetic relation with genotypes detected in bats sampled in other regions in the world; additionally, genotypes detected in bats from different regions of Brazil were phylogenetic distant from each other. However, *Mycoplasma* spp. genotypes obtained from bats' biological samples from Brazil showed a closely relation among each other, comprising a monophyletic group, but distant from genotypes obtained in bats from the United States of America and Spain. Therefore, this is the first record of circulation of *Bartonella* spp. and *Mycoplasma* spp. among bats from Brazil, describing new species of bats as hosts of the studied bacteria.

Keywords: Phylogenetic analysis, *Bartonella*, hemotropic micoplasmas, Chiroptera.

LISTA DE QUADROS

Página

Quadro 1. Classificação taxonômica de organismos do gênero
Bartonella..... 05

Quadro 2. Classificação taxonômica de organismos do gênero
Mycoplasma..... 18

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Principais espécies de <i>Bartonella</i> associadas a enfermidades em seres humanos.....	12
Tabela 2. Protocolos de cPCR utilizados para detecção e caracterização molecular de <i>Bartonella</i> spp. em amostras positivas previamente pela qPCR (gene <i>nuoG</i>).....	33
Tabela 3. Modelos evolutivos utilizados para análise filogenética seguindo o “Akaike Information Criterion” (AIC) e “Bayesian Information Criterion” (BIC).....	36
Tabela 4. Relação das espécies de quirópteros amostradas e locais de captura no estado do Paraná.....	37
Tabela 5. Relação de amostras teciduais (fígado e baço) de espécies de quirópteros provenientes do estado do Pará.....	38
Tabela 6. Relação dos exemplares de quirópteros encaminhados ao Setor de Animais Selvagens do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV-UNESP, Jaboticabal, SP.....	40
Tabela 7. Relação das amostras de sangue de quirópteros gentilmente cedidas pela Profa. Dra. Marta Maria Geraldete Teixeira (Instituto de Ciências Biomédicas, ICB, da Universidade de São Paulo [USP-SP]).....	40
Tabela 8. Amostras positivas na qPCR para <i>Bartonella</i> spp. com suas respectivas quantificações e parâmetros das reações de qPCR.....	43
Tabela 9. Resultado dos ensaios de PCR convencional para <i>Bartonella</i> spp. com indicação das amostras positivas (+), negativas (-) e sequenciadas (+*) para cada gene.....	45
Tabela 10. Relação de animais positivos para <i>Mycoplasma</i> spp. com base em três diferentes protocolos de cPCR.....	47
Tabela 11. Máxima identidade e cobertura de sequências de <i>Bartonella</i> spp. amplificadas a partir de amostras de sangue ou teciduais de quirópteros amostrados no presente estudo comparativamente a sequências nucleotídicas previamente depositadas no GenBank.....	50

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Representação dos países (áreas preenchidas) cuja detecção de <i>Bartonella</i> spp. em quirópteros já foi demonstrada.....	06
Figura 2. Localidades de amostragem de quirópteros do presente trabalho. Cada estado está destacado e o número de animais amostrados está representado por símbolo de losango.....	23
Figura 3. Organograma representativo das principais etapas experimentais realizadas no estudo.....	23
Figura 4. Rede de neblina armada e fechada em trilha no Parque Municipal das Araucárias, Guarapuava-PR.....	22
Figura 5. Exemplar de <i>Sturnira lilium</i> sendo retirado da rede de neblina com auxílio de luvas de raspa de couro.....	26
Figura 6. Contenção física de exemplar de <i>Molossus molossus</i> após retirada da rede de neblina.....	27
Figura 7. Medição de antebraço com animal contido fisicamente.....	27
Figura 8. Aplicação de anestésico por via intramuscular em exemplar de <i>Sturnira lilium</i>	28
Figura 9. Colheita de sangue por meio de punção cardíaca de exemplar de <i>Sturnira lilium</i>	28
Figura 10. Necropsia para retirada de fragmentos de fígado, baço e coração (A) e armazenamento em microtubos livres de DNase e RNase (B)	29
Figura 11. Eletroforese em gel de agarose 1,0% corado com brometo de etídeo para protocolo de PCR convencional baseada no gene endógeno GAPDH. As bandas correspondem à amplificação de 400 pb do referido gene de amostras de DNA extraídas de fragmentos de baço, fígado e coração de quirópteros amostrados no estado do Paraná. Observou-se positividade de todas as amostras testadas referentes a essa imagem e negatividade no último poço do gel (canaleta 29), o qual correspondeu ao controle-negativo (água esterilizada ultra-pura).....	42

Figura 12. Curvas de amplificação **(A)** e padrão **(B)** referentes à qPCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *nuoG* de amostras de fígado, baço e coração de quirópteros amostrados no estado do Paraná e recebidos pelo Setor de Animais Selvagens do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV-UNESP. Em **A**, enquanto as curvas em azul representam a amplificação de plasmídeos (10^0 a 10^7) contendo um fragmento de 83 pb do gene *nuoG* de *Bartonella* sp., as curvas ou linhas em vermelho representam a amplificação de amostras de DNA de tecidos de quirópteros..... 43

Figura 13. Curvas de amplificação **(A)** e padrão **(B)** referentes à qPCR para *Bartonella* spp. baseada no gene *nuoG* de amostras em triplicata que mostraram diferença de Cq maior que 0,5 nos ensaios anteriores. Em **A**, enquanto as curvas em azul representam a amplificação de plasmídeos (10^0 a 10^7) contendo um fragmento de 83 pb do gene *nuoG* de *Bartonella* sp., as curvas ou linhas em vermelho representam a amplificação de amostras de DNA de tecidos de quirópteros..... 43

Figura 14. Eletroforese em gel de agarose 1,0% corado com brometo de etídeo para protocolo de PCR convencional baseado no gene *ribC*. As bandas correspondem à reamplificação de amostras positivas de aproximadamente 400 pb do referido gene. Observou-se positividade com banda forte na amostra em canaleta 01, mas positividade com banda fraca da amostra em canaletas 2 e 3. As três amostras foram excluídas das análises filogenéticas devido à baixa qualidade de picos no eletroferograma de uma delas após sequenciamento, e à baixa intensidade de banda de duas delas, as quais não foram enviadas para o sequenciamento..... 46

Figura 15. Distribuição geográfica de animais positivos para *Bartonella* spp. e/ou *Mycoplasma* spp. representados por cores diferentes em cada município. Os estados onde foram realizadas as amostragens estão destacados..... 48

Figura 16. Análise filogenética concatenada dos genes *nuoG* e *gltA* para *Bartonella* spp. (3370bp após alinhamento), utilizando o método de máxima verossimilhança (MV) com modelo evolutivo de transição (TIM) com sítios invariáveis e distribuição gamma. As sequências do presente estudo estão destacadas em vermelho. Sequências em azul foram obtidas a partir de amostras provenientes de roedores pelo mesmo grupo de pesquisa. Observa-se formação de dois clados que englobam as sequências do presente estudo. Foi utilizado *bootstrap* de 1000 replicatas, cujos valores acima de 50% estão demonstrados em cada clado. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupos externos..... 52

Figura 17. Análise filogenética concatenada dos genes *nuoG* e *gltA* para *Bartonella* spp. (3370bp após alinhamento) utilizando o método de inferência bayesiana (BI) com modelo evolutivo tempo reversível generalizado (GTR) com sítios invariáveis e distribuição gamma. As sequências do presente estudo estão destacadas em vermelho. Sequências em azul foram obtidas a partir de amostras provenientes de roedores pelo mesmo grupo de pesquisa. Observa-se formação de dois clados que englobam as sequências do presente estudo. Foi utilizada simulação de Cadeias de Markov Monte Carlo (MCMC) com 10^6 gerações para definição da probabilidade posterior, cujos valores acima de 50% estão demonstrados em cada clado. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupos externos..... 53

Figura 18. Análise filogenética de um fragmento de 1500pb do gene *rpoB* para *Bartonella* spp. utilizando o método de máxima verossimilhança (MV) com modelo evolutivo Tamura e Nei (TrN) com sítios invariáveis e distribuição gamma. A sequência do presente estudo está destacada em vermelho. Foi utilizado *bootstrap* de 1000 replicatas, cujos valores acima de 50% estão demonstrados em cada clado. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupos externos..... 55

Figura 19. Análise filogenética de um fragmento de 1500pb do gene *rpoB* para *Bartonella* spp. utilizando o método de inferência bayesiana (BI) com modelo evolutivo Hasegawa, Kishino e Yano (HKY) com sítios invariáveis e distribuição gamma. A sequência do presente estudo está destacada em vermelho. Foi utilizada simulação de Cadeias de Markov Monte Carlo (MCMC) com 10^6 gerações para definição da probabilidade posterior, cujos valores acima de 50% estão demonstrados em cada clado. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupos externos..... 56

Figura 20. Análise filogenética de um fragmento de 790pb do gene *ftsZ* para *Bartonella* spp. utilizando o método de máxima verossimilhança (MV) com modelo evolutivo de transição (TIM1) com sítios invariáveis e distribuição gamma. A sequência do presente estudo está destacada em vermelho. Sequências em azul foram obtidas a partir de amostras provenientes de roedores pelo mesmo grupo de pesquisa. Foi utilizado *bootstrap* de 1000 replicatas, cujos valores acima de 50% estão mostrados em cada clado. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupos externos..... 58

Figura 21. Análise filogenética de um fragmento de 790pb do gene *ftsZ* para *Bartonella* spp. utilizando o método de inferência bayesiana (BI) com modelo evolutivo de transição (TIM1) com sítios invariáveis e distribuição gamma . A sequência do presente estudo está destacada em vermelho. Sequências em azul foram obtidas a partir de amostras provenientes de roedores pelo mesmo grupo de pesquisa. Foi utilizada simulação de Cadeias de Markov Monte Carlo (MCMC) com 10^6 gerações para definição da probabilidade posterior, cujos valores acima de 50% estão demonstrados em cada clado. *Brucella abortus* e *Ochrobactrum anthropi* foram utilizados como grupos externos..... 59

Figura 22. Análise filogenética de um fragmento de 1770pb do gene *16SrRNA* para *Mycoplasma* spp. utilizando o método de máxima verossimilhança com modelo evolutivo tempo reversível generalizado (GTR) com sítios invariáveis e distribuição gamma As sequências do presente estudo estão destacadas em vermelho formando um grupo monofilético. Foi utilizado *bootstrap* de 1000 replicatas, cujos valores acima de 50% estão mostrados em cada clado. *Mycoplasma pneumoniae* foi utilizado como grupo externo..... 61

Figura 23. Análise filogenética de um fragmento de 1770pb do gene *16SrRNA* para *Mycoplasma* spp. utilizando o método de inferência bayesiana (BI) com modelo evolutivo de transição (TIM1) com sítios invariáveis e distribuição gamma de um fragmento de 1770pb do gene *16SrRNA* para hemoplasmas. As sequências do presente estudo estão destacadas em vermelho formando um grupo monofilético. Foi utilizada simulação de Cadeias de Markov Monte Carlo (MCMC) com 10^6 gerações para definição da probabilidade posterior, cujos valores acima de 50% estão demonstrados em cada clado. *Mycoplasma pneumoniae* foi utilizado como grupo externo..... 62

LISTA DE ANEXOS

	Página
Anexo I. Resultados de quantificação (ng/μL) e relações 260/280 e 260/230 obtidos por meio do aparelho Nanodrop (Thermo Scientific®) das amostras de DNA extraídas de Baço (B) e Fígado (F) dos quirópteros amostrados no estado do Pará.....	82
Anexo II. Resultados de quantificação (ng/μL) e relações 260/280 e 260/230 obtidos por meio do aparelho Nanodrop (Thermo Scientific®) das amostras de DNA extraídas de Baço (B), Fígado (F) e Coração (C) dos quirópteros amostrados no estado do Paraná.....	85
Anexo III. Resultados de quantificação (ng/μL) e relações 260/280 e 260/230 obtidas por meio do aparelho Nanodrop (Thermo Scientific®) das amostras de DNA extraídas de Baço (B), Fígado (F) e Coração (C) de quirópteros recebidos pelo Setor de Animais Selvagens do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV-UNESP.....	89
Anexo IV. Resultado de quantificação (ng/μL) e relações 260/280 e 260/230 obtidas por meio do aparelho Nanodrop (Thermo Scientific®) das amostras de DNA cedidas pela Profa. Dra. Marta Maria Gerales Teixeira, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (USP-SP).....	90

1. INTRODUÇÃO

No início do século 21, indicou-se a necessidade de colaboração interdisciplinar para prevenir e controlar zoonoses. Foi criado, portanto, o termo “One Health”, o qual compreende a saúde humana, animal e ambiental, levando em consideração aspectos de segurança alimentar, resistência antimicrobiana, mudanças climáticas e ligação humano-animal com a finalidade de identificação, controle e prevenção de enfermidades (GIBBS, 2014).

Estima-se que 75% das doenças emergentes sejam compostas por zoonoses, cuja maioria é originada de animais selvagens (TAYLOR et al., 2001; JONES et al., 2008). Jones et al. (2008) indicam que, dentre as doenças emergentes, aquelas veiculadas por vetores artrópodes compreendem cerca de 22,8%. Na última década, a riqueza de espécies hospedeiras da fauna selvagem se tornou um preditor importante para a ocorrência de doenças emergentes zoonóticas com origem na vida selvagem, sem levar em consideração o crescimento populacional, latitude ou interferências climáticas (JONES et al., 2008). Neste contexto, animais selvagens podem atuar como importantes fontes de infecção para animais domésticos e humanos (HARRUS e BANETH, 2005) e o monitoramento da presença de patógenos naqueles se torna um importante método preventivo de infecções zoonóticas (GALAN et al., 2016).

Aproximadamente 20% dos mamíferos conhecidos são constituídos por indivíduos da Ordem Chiroptera, a qual compreende o segundo maior grupo de mamíferos no mundo, com mais de 1200 espécies distribuídos em todos os continentes, exceto Antártida (SCHIPPER et al., 2008). Estes animais podem atuar como reservatórios, hospedeiros e fontes de infecção para diversos agentes com potencial zoonótico, tais como lyssavirus, hantavírus, *Leptospira* spp., *Pasteurella* spp., entre outros (MÜHLDORFER, 2013). Tal fato se deve à alta mobilidade, ampla distribuição, comportamento social e longevidade deste grupo de mamíferos (BAI et al., 2011).

Com o avanço da biologia molecular nos últimos anos, a detecção e caracterização de novos microorganismos vêm sendo empregadas a fim de se obter

maior conhecimento sobre a circulação de possíveis patógenos em animais selvagens (HARRUS e BANETH, 2005).

Embora *Bartonella* spp. e *Mycoplasma* spp. já tenham sido descritos em quirópteros de diversos países, os relatos no Brasil são inexistentes até o presente momento. Há grande riqueza de espécies pertencentes a esta ordem de mamíferos ocorre no Brasil, com aproximadamente 167 espécies abrangendo todo o território nacional em áreas urbanas e em regiões da Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal, no árido nordeste e pampas gaúchos (REIS et al., 2007). Levando em consideração que diversas espécies de quirópteros estão presentes em áreas urbanas e que o turismo ecológico vem crescendo cada vez mais, é importante ressaltar a importância de estudos epidemiológicos para prevenção de possíveis doenças emergentes. Portanto, o presente estudo objetivou investigar a ocorrência de *Bartonella* spp. e *Mycoplasma* spp. em quirópteros amostrados em cinco estados do Brasil.

7. CONCLUSÕES

- ❖ *Bartonella* spp. e hemoplasmas circulam em quirópteros no Brasil;
- ❖ Detectou-se molecularmente pela primeira vez a infecção por *Bartonella* spp. em quiróptero da espécie *Natalus espirosantensis* e por hemoplasmas em oito espécies de quirópteros (*Artibeus planirostris*, *Eptesicus* sp., *Eumops auripendulus*, *Glossophaga soricina*, *Molossus molossus*, *Molossus rufus*, *Myotis nigricans* e *Sturnira lilium*);
- ❖ Os genótipos de *Bartonella* spp. detectados em morcegos amostrados no presente estudo mostraram-se filogeneticamente associados a genótipos de *Bartonella* spp. previamente detectados em outros quirópteros em outras regiões do mundo;
- ❖ Diferentes genótipos de *Bartonella* spp. ocorrem em quirópteros de diferentes regiões do Brasil,
- ❖ Os genótipos de hemoplasmas detectados em quirópteros formaram um grupo monofilético e distintos daqueles previamente descritos em morcegos amostrados nos Estados Unidos e Espanha.

8. REFERÊNCIAS

ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, pp. 403-410, 1990. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).

ANDRÉ, M. R.; DUMLER, J. S.; HERRERA, H. M.; GONCALVES, L. R.; DE SOUSA, K. C.; SCORPIO, D. G.; DE SANTIS, A. C. G. A.; DOMINGOS, I. H.; DE MACEDO, G. C.; Machado, R. Z. Assessment of a quantitative 5' nuclease real-time polymerase chain reaction using the nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase gamma subunit (*nuoG*) for *Bartonella* species in domiciled and stray cats in Brazil. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.8, n.10, pp. 783-90. 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/1098612X15593787>.

ANDRÉ, M.R.; ADANIA, C.H.; ALLEGRETTI, S.M.; MACHADO, R.Z. Hemoplasmas in wild canids and felids in Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v.42, n.2, pp.42:342–347, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1638/2010-0198.1>.

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, pp. 1269-1272, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1707.101867>

BAI, Y.; RECUENCO, S.; GILBERT, A. T.; OSIKOWICZ, L. M.; GO, J.; RUPPRECHT, C.; KOSOY, M. Y. Prevalence and diversity of *Bartonella* spp. in bats in Peru. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 3, pp. 518–523, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0097>.

BERNARD, E. Diet, activity and reproduction of bat species (Mammalia, Chiroptera) in Central Amazonia, Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v.19, n. 1, pp. 173-188, 2002.

BERNARD, E.; AGUIAR, L. M. S.; MACHADO, R. B. Discovering the Brazilian bat fauna: a task for two centuries? **Mammal Review**, v. 41, n. 1, pp. 23-39, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2907.2010.00164.x>.

BERNARD, E.; TAVARES, V. C.; SAMPAIO, E. Updated compilation of bat species (Chiroptera) for the Brazilian Amazonia. **Biota Neotropical**, v. 11, n. 1, pp. 35-46, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1676-06032011000100003>.

BERNARDI, I. P. **Morcegos Neotropicais: Padrões de Riqueza, Coocorrência e Aninhamento**. 2015. Tese (Doutorado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2015.

BILLETER, S. A.; LEVY, M. G.; CHOMEL, B. B.; BREITSCHWERDT, E. B. Vector transmission of *Bartonella* species on the potential for tick transmission. **Medical and Veterinary Entomology**, v.22, n.1, pp.1-15, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2915.2008.00713.x>.

BIONDO, A.W.; DOS SANTOS, A.P.; GUIMARÃES, A.M.; VIEIRA, R.F.; VIDOTTO, O.; MACIEIRA, D.DEB.; ALMOSNY, N.R.; MOLENTO, M.B.; TIMENETSKY, J.; DE MORAIS, H.A.; GONZÁLEZ, F.H.; MESSICK, J.B. A review of the occurrence of hemoplasmas (hemotrophic mycoplasmas) in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** (Online), v.18, n.3, pp.1-7, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4322/rbpv.01803001>.

BIRKENHEUER, A. J.; LEVY, M. G.; BREITSCHWERDT, E. B. Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 9, pp. 4172-4177, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.9.4172-4177.2003>.

BONATO, L.; FIGUEIREDO, M.A.; GONÇALVES, L.R.; MACHADO, R.Z.; ANDRÉ, M.R. Occurrence and molecular characterization of *Bartonella* spp. and hemoplasmas in neotropical primates from Brazilian Amazon. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.42, pp. 15-20, 2015, 42:15–20. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2015.09.001>

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, pp. 428–438, 2000.

BREITSCHWERDT, E. B.; MAGGI, R. G.; CHOMEL, B. B.; LAPPIN, M. R. Bartonellosis: an emerging infectious disease of zoonotic importance to animals and human beings. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 20, n. 1, pp. 8–30, 2010a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00496.x>.

BREITSCHWERDT, E.B. Did *Bartonella henselae* contribute to the deaths of two veterinarians? **Parasites and Vectors**, v.8, p.317, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-015-0920-4>.

BREITSCHWERDT, E.B.; MAGGI, R.G.; FARMER, P.; MASCARELLI, P.E. Molecular evidence of perinatal transmission of *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* and *Bartonella henselae* to a child. **Journal of Clinical Microbiology**, v.48, n.6, pp.2289-2293, 2010b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00326-10>.

BREVIGLIERI, C. P. B. Influência do dossel na atividade de morcegos (Chiroptera: Phyllostomidae) em três fragmentos no estado de São Paulo. **Chiroptera Neotropical**, v. 17, n. 1, 2011. Disponível em: <http://189.126.110.61/chiroptera/article/view/12104/12822>.

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, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003532>.

BUSTIN, S.A., BENES, V., GARSON, J.A., HELLEMANS, J., HUGGETT, J., KUBISTA, M., MUELLER, R., NOLAN, T., PFAFFL, M.W., SHIPLEY, G.L., VANDESOMPELE, J., WITTEW, C.T. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. **American Association of Clinical Chemists**, v. 55, n. 4, pp. 611-622, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>.

CADENAS, M.B.; MAGGI, R.G.; DINIZ, P.P.; BREITSCHWERDT, K.T.; SONTAKKE, S.; BREITHSCHWERDT, E.B. Identification of bacteria from clinical samples using *Bartonella* alpha-Proteobacteria growth medium. **Journal of Microbiological Methods**, v.71, n.2, pp.147-155, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2007.08.006>.

CHOMEL, B. B.; KASTEN, R. W.; HAWKINS, F.; CHI, B.; YAMAMOTO, K.; ROBERTS-WILSON, J.; GURFIELD, A. N.; ABBOTT, R. C.; PEDERSEN, N. C.; KOEHLER, J. E. Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea. **Journal Clinical Microbiology**, Washington, v. 34, n. 8, p. 1952-1956, 1996.

CHOMEL, B.B.; BOULOUIS, H.J.; MARUYAMA, S.; BREITSCHWERDT, E.B. *Bartonella* spp. in pets and effect on human health. **Emerging Infectious Diseases**, v.12, n.3, pp.389-394, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1205.050931>.

COLBORN, J.M., KOSOY, M.Y., MOTIN, V.L., TELEPNEV, M.V., VALBUENA, G., MYINT, K.S., FOFANOV, Y., PUTONTI, C., FENG, C., PERUSKI L. Improved detection of *Bartonella* DNA in mammalian hosts and arthropod vectors by real-time PCR using the NADH dehydrogenase gamma subunit (*nuoG*). **American Society for Microbiology**, v. 48, n.12, pp. 4630- 4633, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00470-10>.

CONCANNON, R.; WYNN-OWEN, K.; SIMPSON, V. R.; BIRTLES, R. J. Molecular characterization of haemoparasites infecting bats (Microchiroptera) in Cornwall, UK. **Parasitology**, v. 131, pp. 489–496, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1017/S0031182005008097>.

DARRIBA, D.; TABOADA, G. L.; DOALLO, R.; POSADA, D. ModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods**, v. 9, n. 8, pp. 772, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.2109>.

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, pp. 516-519, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2015>.

DIETRICH, M.; TJALE, M. A.; WEYER, J.; KEARNEY, T.; SEAMARK, E. C. J.; 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, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0152077>.

DOS SANTOS, A.P.; DOS SANTOS, R.P.; BIONDO, A.W.; DORA, J.M.; GOLDANI, L.Z.; DE OLIVEIRA, S.T.; DE SÁ GUIMARÃES, A.M.; TIMENETSKY, J.; DE MORAIS, H.A.; GONZÁLEZ, F.H.; MESSICK, J.B. Hemoplasma infection in HIV-positive patient, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.14, n.12, pp.1922-1924, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1412.080964>.

DUNCAN, A.W.; MAGGI, R.G.; BREITSCHWERDT, E.B. A combined approach for the enhanced detection and isolation of *Bartonella* species in dog blood samples: pre-enrichment liquid culture followed by PCR and subculture onto agar plates. **Journal of Microbiological Methods**, v.62, n.2, pp. 273-281, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2007.01.010>.

EUZÉBY, J.P. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. <http://www.bacterio.net>). **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.47, pp. 590-592, 1997. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-47-2-590>

EWING, B.; GREEN, P. Basecalling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. **Genome Research**, v. 8, pp.186-194, 1998. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1101/gr.8.3.186>.

EWING, B.; HILLIER, L.; WENDL, M.; GREEN, P. Basecalling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment. **Genome Research**, v. 8, pp. 175-185, 1998. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1101/gr.8.3.175>.

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

GALAN, M.; RAZZAUTI, M.; BARD, E.; BERNARD, M.; BROUAT, C.; CHARBONNEL, N.; DEHNE-GARCIA, A.; LOISEAU, A.; TATARD, C.; TAMISIER, L.; VAYSSIER-TAUSSAT, M.; VIGNES, H.; COSSON, J.F. 16S rRNA Amplicon Sequencing for Epidemiological Surveys of Bacteria in Wildlife. **mSystems**, v.1, n.4., 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/mSystems.00032-16>.

GIBBS, E. P. The evolution of One Health: a decade of progress and challenges for the future. **Veterinary Record**, n. 174, pp. 85-91, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/vr.g143>.

GLEZ-PEÑA, D.; GÓMEZ-BLANCO, D.; REBOIRO-JATO, M.; FDEZ-RIVEROLA, F.; POSADA D. ALTER: program-oriented conversion of DNA and protein alignments. **Nucleic Acids Research**, v. 38 (Web Server issue): pp.14-18, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkq321>.

GONÇALVES, L. R.; FAVACHO, A. R. M.; ROQUE, A. L.; MENDES, N. S.; JUNIOR, O. L. F.; BENEVENUTE, J. L.; HERRERA, H. M.; D'ANDREA, P. S.; LEMOS, E. R. S.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Association of *Bartonella* Species with Wild and Synanthropic Rodents in Different Brazilian Biomes. **Applied Environmental and Microbiology**, v. 82, pp.7154–7164, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02447-16>.

GONÇALVES, L.R.; ROQUE, A.L.; MATOS, C.A.; FERNANDES, S.DEJ.; OLMOS, I.D.; MACHADO, R.Z.; ANDRÉ, M.R. Diversity and molecular characterization of novel hemoplasmas infecting wild rodents from different Brazilian biomes. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.43, pp.50–56, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2015.10.006>.

GRAZZIOTIN, A.L.; DUARTE, J.M.; SZABÓ, M.P.; SANTOS, A.P.; GUIMARÃES, A.M.; MOHAMED, A.; VIEIRA, R.F.; DE BARROS FILHO, I.R.; BIONDO, A.W.; MESSICK, J.B. Prevalence and molecular characterization of *Mycoplasma ovis* in selected free-ranging brazilian deer populations. **Journal of Wildlife Diseases**, v.47, n.4, pp.1005–1011, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-47.4.1005>.

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

GUTIÉRREZ, R.; VAYSSIER-TAUSSAT, M.; BUFFET, J.P.; HARRUS, S. Guidelines for the Isolation, Molecular Detection, and Characterization of *Bartonella* Species. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, v.17, n.1, pp.42-50, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2016.1956>.

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

HAN, H.J.; WEN, H.L.; ZHAO, L.; LIU, J.W.; LUO, L.M.; ZHOU, C.M.; QIN, X.R.; ZHU, Y.L.; ZHENG, X.X.; YU, X.J. Novel *Bartonella* Species in Insectivorous Bats, Northern China. **PLoS One**, v.12, n.1, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0167915>.

HARRUS, S.; BANETH, G. Drivers for the emergence and re-emergence of vector-borne protozoal and bacterial diseases. **International Journal for Parasitology**, v.35, pp.1309–1318, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.06.005>

HASEGAWA, M.; KISHINO, H.; YANO, T. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. **Journal of Molecular Evolution**, v. 22, n. 2, pp. 160-174, 1985.

JOHNSON, G.; AYERS, M.; MCCLURE, S. C. C.; RICHARDSON, S. E.; TELLIER, R. Detection and identification of *Bartonella* Species pathogenic for humans by PCR amplification targeting the riboflavin synthase gene (*ribC*). **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.41, n.3, pp.1069-1072, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.41.3.1069-1072.2003>.

JONES, K. E.; PATEL, N. G.; LEVY, M. A., STOREYGARD, A.; BALK, D.; GITTLEMAN, J. L.; DASZAK, P. Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, pp. 990-993, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nature06536>

JONES, K. E.; PURVIS, A.; MacLARNON, A.; BININDA-EMONDS, O. R. P.; SIMMONS, N. B. A phylogenetic supertree of the bats (Mammalia: Chiroptera). **Biological Reviews**, v. 77, pp. 223-259, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1017/S1464793101005899>.

JUDSON, S.D.; FRANK, H.K.; HADLY, E.A. Bartonellae are Prevalent and Diverse in Costa Rican Bats and Bat Flies. **Zoonoses Public Health**, v. 62, n. 8, pp. 609-617, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/zph.12188>.

KAMANI, J.; BANETH, G.; MITCHELL, M.; MUMCUOGLU, K.Y.; GUTIÉRREZ, R.; HARRUS, S. *Bartonella* species in bats (Chiroptera) and bat flies (Nycteribiidae) from Nigeria, West Africa. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 14, n. 1, pp. 625-632, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2013.1541>.

KAWASATO, K. H. **Padronização de sistemas de dupla amplificação para detecção de DNA de *Bartonella henselae* em casos suspeitos de bartonelose humana**. 2009. (Mestrado em Medicina) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2009.

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, pp. 1875-1881, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1612.100601>.

KUNZ, T. H.; KURTA, A. Capture Methods and holding devices. In: Kunz, T. H. (eds.) **Ecological and behavioural methods for the study of bats**. Washington/London: Smithsonian Institution Press, 1988, p. 1-29.

LAMAS, C.; CURTI, 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, pp.221-235, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762008000300001>.

LEI, B.R.; OLIVAL, K.J. Contrasting Patterns in Mammal–Bacteria Coevolution: *Bartonella* and *Leptospira* in Bats and Rodents. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.8, n.3, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002738>.

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, n.27, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-016-1316-9>.

LILLEY, T. M.; VEIKKOLAINEN, V.; PULLIAINEN, A. T. Molecular Detection of *Candidatus Bartonella hemsundetiensis* in Bats. **Vector-borne and Zoonotic Disease**, v. 15, n. 11, pp. 706-708, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2015.1783>.

LIN, J. W.; CHEN, C. M.; CHANG, C. C. Unknown Fever and Back Pain Caused by *Bartonella henselae* in a Veterinarian After a Needle Puncture: A Case Report and Literature Review. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, n. 5, pp. 589-591, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2009.0217>.

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, pp. 119–126, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.09.031>.

LIU, J.; ZHOU, D.; CHENG, Z.; WANG, Z.; WANG, L.; WANG, S.; YANG, D.; CHAI, T. Development and evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant inorganic pyrophosphatase gene antigen for the detection of *Mycoplasma suis* antibodies. **Research in Veterinary Science**, v.93, n.1, pp.48-50, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.08.016>.

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, pp.171-174, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/S0036-46652004000300010>

MAGGI, R.G.; BREITSCHWERDT, E.B. Isolation of bacteriophages from *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* and the characterization of *pap-31* gene sequences from bacterial and phage DNA. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, v.9, n.1, pp.44–51, 2005b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1159/000088145>

MAGGI, R.G.; BREITSCHWERDT, E.B. Potential limitations of the 16S-23S rRNA intergenic region for molecular detection of *Bartonella* species. **Journal of clinical microbiology**, v. 43, n.3, pp.1171-1176, 2005a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.43.3.1171-1176.2005>.

MAGGI, R.G.; CHITWOOD, M.C.; KENNEDY-STOSKOPF, S.; DEPERNO, C.S. Novel hemotropic Mycoplasma species in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v.36, pp.607-611, 2013b. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2013.08.001>.

MAGGI, R.G.; COMPTON, S.M.; TRULL, C.L.; MASCARELLI, P.E.; MOZAYENI, B.R.; BREITSCHWERDT, E.B. Infection with Hemotropic Mycoplasma Species in Patients with or without Extensive Arthropod or Animal Contact. *Journal of Clinical Microbiology*, v.51, n.10, pp. 3237–2324, 2013a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01125-13>.

MAGGI, R.G.; DUNCAN, A.W.; BREITSCHWERDT, E.B. Novel chemically modified liquid medium that will support the growth of seven *bartonella* species. **Journal of Clinical Microbiology**, v.43, n.6, pp. 2651-2655, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.43.6.2651-2655.2005>.

MANNERINGS, A. O.; OSIKOWICZ, L. M.; RESTIF, O.; NYARKO, E.; SUUIRE, R.; CUNNINGHAM, A. A.; WOOD, J. L. N.; KOSOY, M. Y. Exposure to Bat-Associated *Bartonella* spp. among Humans and Other Animals, Ghana. **Emerging Infectious Diseases**, v.22, n.5, p. 922-924, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2205.151908>.

MASCARELLI, P.E.; KEEL, M.K.; YABSLEY, M.; LAST, L.A.; BREITSCHWERDT, E.B.; MAGGI, R.G. Hemotropic mycoplasmas in little brown bats (*Myotis lucifugus*). **Parasites & Vectors**, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1756-3305-7-117>.

MCKEE, C.D.; HAYMAN, D.T.S.; KOSOY, M.Y.; WEBB, C.T. Phylogenetic and geographic patterns of *bartonella* host shifts among bat species. **Infection, Genetics and Evolution**, v.44, pp.382–394, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2016.07.033>

MESSICK, J.B. Hemotropic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. **Veterinary Clinical Pathology**, v.33, n.1, pp.2-13, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-165X.2004.tb00342.x>.

MESSICK, J.B.; SANTOS, A.P. Identification, bioinformatics analyses, and expression of immunoreactive antigens of *Mycoplasma haemofelis*. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.18, n.8, pp.1275-1281, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/CVI.05060-11>.

MILLÁN, J.; LÓPEZ-ROIG, M.; DELICADO, V.; SERRA-COBO, J.; ESPERÓN, F. Widespread infection with hemotropic mycoplasmas in bats in Spain, including a hemoplasma closely related to “*Candidatus* Mycoplasma hemohominis”. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.39, pp.9-12, 2015, 39:9-12. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2015.01.002>.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees In **Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)**, pp. 01-08, 2010

MOREIRA, N. S. ***Bartonella, Ehrlichia e Rickettsias do Grupo da Febre Maculosa em Cães e em Artrópodes: Um Estudo na Região do Médio Paraíba, Estado do Rio de Janeiro***. 2011. 82 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, 2011.

MORSE, S. F.; OLIVAL, K. J.; KOSOY, M.; BILLETER, S.; PATTERSON, B. D.; DICK, C. W.; DITTMAR, K. Global distribution and genetic diversity of *Bartonella* in bat flies (Hippoboscoidea, Streblidae, Nycteribiidae). **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, pp. 1717–1723, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2012.06.009>.

MÜHLDORFER K. Bats and Bacterial Pathogens: A Review. **Zoonoses and Public Health**, v. 60, n.1, pp. 93–103, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1863-2378.2012.01536.x>.

MURPHY, W. J.; EIZIRIK, E.; O'BRIEN, S. J.; MADSEN, O.; SCALLY, M.; DOUADY, C. J.; TEELING, E.; RYDER, O. A.; STANHOPE, M. J.; JONG, W. W.; SPRINGER, M. S. Resolution of the Early Placental Mammal Radiation Using Bayesian Phylogenetics. **Science**, v. 294, pp. 2348-2350, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1067179>.

NEIMARK, H.; JOHANSSON, K.E.; RIKIHISA, Y.; TULLY, J.G. Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of '*Candidatus Mycoplasma haemofelis*', '*Candidatus Mycoplasma haemomuris*', '*Candidatus Mycoplasma haemosuis*' and '*Candidatus Mycoplasma wenyonii*'. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, pp.891-899, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-51-3-891>.

NGUYEN, L. T.; SCHMIDT, H. A.; VON HAESELER, A.; MINH, B. Q. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, n. 32, pp. 268-274, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msu300>.

NORMAN, A.F.; REGNERY, R.; JAMENSON, P.; GREENE, C.; KRAUSE, D.C. Differentiation of *Bartonella*-like isolates at the species level by PCR restriction fragment length polymorphism in the citrate synthase gene. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.33, n.7, pp.1797-1803, 1995.

NOVACCO, M.; MELI, M.L.; GENTILINI, F.; MARSILIO, F.; CECI, C.; PENNISI, M.G.; LOMBARDO, G.; LLORET, A.; SANTOS, L.; CARRAPIÇO, T.; WILLI, B.; WOLF, G.; LUTZ, H.; HOFMANN-LEHMANN, R. Prevalence and geographical distribution of canine hemotropic mycoplasma infections in Mediterranean countries and analysis of risk factors for infection. **Veterinary Microbiology**, v.142, pp.276–284, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.09.069>.

OLIVAL K. J.; DITTMAR, K.; BAI, Y.; ROSTAL, M. K.; LEI, B. R.; DASZAK, P.; KOSOY, M. *Bartonella* spp. in a Puerto Rican Bat Community. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 51, n. 1, pp. 274-278, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.7589/2014-04-113>.

OLIVEIRA, A.M.; MAGGI, R.G.; WOODS, C.W.; BREITSCHWERDT, E.B. Suspected needle stick transmission of *Bartonella vinsonii* subspecies *berkhoffii* to a veterinarian. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.24, n.5, pp.1229-1232, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0563.x>.

PACHECO, S. M.; SODRÉ, M.; GAMA, A.R; BREDT, A.; SANCHES, E. M. C.; ROSANE V. MARQUES, R. V.; GUIMARÃES, M. M.; BIANCONI, G. Morcegos Urbanos: Status do Conhecimento e Plano de Ação para a Conservação no Brasil. **Chiroptera Neotropical**, v. 16, n. 1, 2010. Disponível em: <http://chiropteraneotropical.net/index.php/cn/article/view/248>.

PASSOS, F. C.; MIRANDA, J. M. D.; BERNARDI, I. P.; OLIVEIRA, N. Y. K.; MUNSTER, L. C. Morcegos da Região Sul do Brasil: análise comparativa da riqueza de espécies, novos registros e atualizações nomenclaturais (Mammalia, Chiroptera) **Iheringia. Série Zoologia**, v. 100, n. 1, pp. 25-34, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0073-47212010000100004>.

PAZIEWSKA, A., HARRIS, P.D., ZWOLIŃSKA, L., BAJER, A., SIŃSKI, E. Recombination within and between species of the alpha proteobacterium *Bartonella* infecting rodents. **International Society for Microbial Ecology**, v.61, n.1, pp.134-145, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00248-010-9735-1>.

PERACCHI, A. L.; LIMA, I. P.; REIS, N. R.; NOGUEIRA, M. R.; FILHO, H. O. Capítulo 07: Ordem Chiroptera. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (eds) Mamíferos do Brasil. Londrina: UEL, 2006. Cap. 07, p.153-155.

PERACCHI, A. L.; NOGUEIRA, M. R. Lista anotada dos morcegos do Estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. **Chiroptera Neotropical**, v. 16, n. 1, p. 508-519, 2010.

PITASSI, L. H. U. ***Bartonella* spp. and the Potencial Risk of Transmission by Blood Transfusion**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2013.

PITASSI, L. H.; DINIZ, P. P. V. P.; SCORPIO, D. G.; DRUMMOND, M. R.; LANIA, B. G.; CASTRO, M. L. B.; GILIOLI, R.; COLOMBO, S.; SOWY, S.; BREITSCHWERDT, E. B.; NICHOLSON, W. L.; VELHO, P. E. N. F. *Bartonella* spp. bacteremia in blood donors from Campinas, Brazil. **Neglected Tropical Disease**, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003467>.

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

POSADA, D.; BUCKLEY, T.R. Model Selection and Model Averaging in Phylogenetics: Advantages of Akaike Information Criterion and Bayesian Approaches Over Likelihood Ratio Tests. **Systematic Biology**, v. 53, pp. 793–808, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/10635150490522304>.

REAGAN, K.L.; CLARKE, L.L.; HAWLEY, J.R.; LIN, P.; LAPPIN, M.R. Assessment of the ability of *Aedes* species mosquitoes to transmit feline *Mycoplasma haemofelis* and 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*'. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/1098612X16658317>.

REIS, N.R.; SHIBATTA, O.A.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P. Capítulo 01: Sobre os Morcegos Brasileiros. In: _____ (Eds) **Morcegos do Brasil**. Londrina: UEL, 2007. Cap. 01, p.17-24.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, n. 12, pp. 1572-1574, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>.

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

SANTOS, L.C.; CUBILLA, M.P.; DE MORAES, W.; CUBAS, Z.S.; OLIVEIRA, M.J.; ESTRADA, M.; LEUTENEGGER, C.M.; SYKES, J.E.; LINDSAY, L.L.; MARCONDES, M.; BARROS FILHO, I.R.; BIONDO, A.W. Hemotropic mycoplasma in a free-ranging black howler monkey (*Alouatta caraya*) in Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, v.49, n.3, pp. 728-731, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.7589/2012-06-159>.

SCHIPPER, J.; CHANSON, J.S.; CHIOZZA, F.; *et al.* The Status of the World's Land and Marine Mammals: Diversity, Threat, and Knowledge. **Science**, v. 322, n. 5899, pp. 225-230, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1165115>.

SILVA, M.N.; VIEIRA-DAMIANI, G.; ERICSON, M.E.; GUPTA, K.; GILIOLI, R.; DE ALMEIDA, A.R.; DRUMMOND, M.R.; LANIA, B.G.; DE ALMEIDA LINS K.; SOARES, T.C.; VELHO, P.E. *Bartonella henselae* transmission by blood transfusion in mice. **Transfusion**, v.56, n.6 pt 2, pp.1556-1559, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/trf.13545>.

SONG, S.; LIU, L.; EDWARDS, S. V.; WU, S. Resolving conflict in eutherian mammal phylogeny using phylogenomics and the multispecies coalescent model. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 37, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/doi/10.1073/pnas.1211733109>.

STEER, J.A.; TASKER, S.; BARKER, E.N.; JENSEN, J.; MITCHELL, J.; STOCKI, T.; CHALKER, V.J.; HAMON, M. A novel hemotropic *Mycoplasma* (hemoplasma) in a patient with hemolytic anemia and pyrexia. **Clinical Infectious Diseases**, v.53, n.11, pp. 147-151, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cir666>.

STOVER, B. C.; MULLER, K. F. TreeGraph 2: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. **BMC Bioinformatics**, v. 11, n. 7, pp. 01-09, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2105-11-7>

SYKES, J.E.; LINDSAY, L.L.; MAGGI, R.G.; BREITSCHWERDT, E.B. Human Coinfection with *Bartonella henselae* and Two Hemotropic Mycoplasma Variants Resembling *Mycoplasma ovis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.48, n.10, pp. 3782-3785, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01029-10>.

TAMURA, K.; NEI, M. Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees. **Molecular Biology and Evolution**, v. 10, n. 3, pp. 12-526, 1993.

TASKER S. Clinical Review: Haemotropic Mycoplasmas What's their real significance in cats? **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.12, pp.369-381, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfms.2010.03.011>.

TASKER, S.; LAPPIN, M.R. *Haemobartonella felis*: recent developments in diagnosis and treatment. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.4, pp.3-11, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1053/jfms.2001.0155>.

TAVARÉ, S. Some Probabilistic and Statistical Problems in the Analysis of DNA Sequences. **Lectures on Mathematics in the Life Sciences**, v. 17, 1986.

TAYLOR, L.H.; LATHAM, S.M.; WOOLHOUSE, M.E. Risk factors for human disease emergence. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v.356, n.1411, pp.983-989, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2001.0888>.

TELFORD III, S.R.; WORMSER, G.P. *Bartonella* spp. transmission by ticks not established. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n.3, pp.379-384, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1603.090443>.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 22 pp. 1673-4680, 1994.

TRIFINOPOULOS, J.; NGUYEN, L.T.; VON HAESELER, A.; MINH, B.Q. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. **Nucleic Acids Research**, n. 44, pp. 232-235, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkw256>.

VEIKKOLAINEN, V.; VESTERINEN, V. J.; LELLEY, T. M.; PULLIAINEN, A. T. Bats as reservoir hosts of human bacterial pathogen, *Bartonella mayotimonensis*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 6, pp. 960-967, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2006.130956>

VELHO, P. E. N. F. **Estudo das bartoneloses humanas e da *Bartonella henselae*: infecção experimental, microbiologia, microscopia de luz e eletrônica de transmissão**. 2001. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2001.

VELHO, P. E. N. F.; MARIOTTO, A.; SOUZA, E. M.; MORAES, A. M.; CINTRA, M. L. Angiomatose bacilar: revisão da literatura e documentação iconográfica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 5, pp. 601-609, 2003.

VIEIRA, R.F.; MOLENTO, M.B.; DOS SANTOS, L.C.; MORAES, W.; CUBAS, Z.S.; SANTOS, A.P.; GUIMARAES, A.M.; MOHAMED, A.; BARROS FILHO, I.R.; BIONDO, A.W.; MESSICK, J.B. Detection of a novel hemoplasma based on 16S rRNA gene DNA in captive and free-ranging capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*). **Veterinary Microbiology**, v.139, n.3-4, pp.410-413, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.06.018>.

VIEIRA, R.F.C.; VIDOTTO, O.; VIEIRA, T.S.W.J.; GUIMARAES, A.M.S.; SANTOS A.P.; NASCIMENTO, N.C.; SANTOS N.J.; MARTINS T.F.; LABRUNA M.B.; MARCONDES M.; BIONDO, A.W.; MESSICK, J.B. Molecular Investigation of Hemotropic Mycoplasmas in Human Beings, Dogs and Horses in a Rural Settlement in Southern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v.57, n.4, pp.353–357, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652015000400014>.

VIEIRA-DAMIANI, G. V.; DINIZ, P. P. V. P.; PITASSI, L. H. U.; SOWY, S. SCORPIO, D.G.; LANIA, B. G.; DRUMMOND, M. R.; SOARES, T. C. B.; CASTRO, M. L. B.; BREITSCHWERDT, E. B.; NICHOLSON, W. L.; VELHO, P. E. N. F. *Bartonella clarridgeiae* bacteremia detected in an asymptomatic blood donor. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n.1, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00934-14>.

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, pp. 761-774, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10393-016-1183-z>.

ZEATER, Z.; FOURNIER, P-E.; OGATA, H.; RAOULT, D. Phylogenetic classification of *Bartonella* species by comparing *groEL* sequences. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n., pp.165-171, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/00207713-52-1-165>.