RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 19/12/2025.

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

DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE AGENTES TRANSMITIDOS POR VETORES EM AVES SILVESTRES NO PANTANAL BRASILEIRO

Amir Salvador Alabí Córdova
Médico Veterinario e Zootecnista

2024

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

DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE AGENTES TRANSMITIDOS POR VETORES EM AVES SILVESTRES NO PANTANAL BRASILEIRO

Amir Salvador Alabí Córdova

Orientador: Marcos Rogerio André

Tese apresentada a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, área: Patologia Animal.

2024

A316d

Alabí Córdova, Amir Salvador

Detecção e caracterização molecular de agentes transmitidos por vetores em aves silvestres no pantanal brasileiro / Amir Salvador Alabí Córdova. -- Jaboticabal, 2024

209 p. : il., tabs., fotos, mapas

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Marcos Rogerio André

1. Aves selvagens. 2. Diagnóstico molecular. 3. Filogenia. 4. Biologia molecular. 5. Parasitologia veterinaria. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE AGENTES TRANSMITIDOS POR VETORES EM AVES SILVESTRES NO PANTANAL BRASILEIRO

AUTOR: AMIR SALVADOR ALABÍ CORDOVA
ORIENTADOR: MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Medicina Veterinária, área: Patologia Animal pela Comissão Examinadora:

gov.br Documento assinado digitalmente
MARCOS ROGERIO ANDRE
Data: 19/12/2024 16:24:07-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ (Participaçao Virtual)
Departamento de Patologia Reproducao e Saude Unica / FCAV UNESP Jaboticabal

gov.br Documento assinado digitalmente
CRISTIANE DIVAN BALDANI
Data: 07/01/2025 15:07:48-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. CRISTIANE DIVAN BALDANI (Participaçao Virtual)
Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária / Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) - Rio de Janeiro/RJ

gov.br Documento assinado digitalmente
DARCI MORAES BARROS BATTESTI
Data: 08/01/2025 05:52:33-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

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

gov.br Documento assinado digitalmente
FELIPE DA SILVA KRAWCZAK
Data: 24/12/2024 11:15:35-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. FELIPE DA SILVA KRAWCZAK (Participaçao Virtual)
Departamento de Medicina Veterinária / Universidade FEderal de Goiás (UFG) - Goiânia/GO

Profa. Dra. ANA CLÁUDIA ALEXANDRE DE ALBUQUERQUE (Participaçao Virtual)
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
gov.br
ANA CLAUDIA ALEXANDRE DE ALBUQUERQUE
Data: 08/01/2025 09:36:37-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Jaboticabal, 19 de dezembro de 2024

DADOS CURRICULARES

Amir Salvador Alabí Córdova – Filho de Amir Salvador Alabí Mendoza e Marlene Guadalupe Córdova Coto, nasceu em 29 de julho de 1990, na cidade de Nueva São Salvador, departamento de La Libertad, El Salvador. No ano de 2008 ingressou no curso de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM), San Salvador, El Salvador. Durante a graduação, realizou dois estágios, o primeiro no Laboratorio clínico de medicina veterinária e Zootecnia sob a supervisão da Tecnóloga Veronica Maria Avelar e o segundo estágio voltado para a reabilitação de aves rapinantes de El Salvador, sob a supervisão da Médica veterinária Paola Tinetti e Orlando Jimenez. Em 2017 ingressou no Mestrado em Ciências na área de Saúde Animal pela Faculdade de Ciências Veterinárias da Universidade Austral de Chile, sob orientação da profa. Dra. Ananda Muller, com bolsa AGCID-Chile e defendendo sua dissertação em maio de 2019. Também durante o Mestrado realizou um estágio no Departamento de Patologia Veterinária sob a orientação do Prof. Dr. Marcos Rogerio André. Em agosto de 2020 ingressou no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária na área de Patologia Veterinária, sob orientação do Prof. Dr. Marcos Rogerio André, na Universidade Estadual Paulista-campus Jaboticabal, inicialmente com bolsa CAPES-PROEX e posteriormente com bolsa FAPESP (#2020/14948-0). Entre dezembro de 2023 a maio 2024, realizou um estágio de pesquisa no exterior com bolsa BEPE-FAPESP (# 2023/08967-0), no UMR-BIPAR, Agência Nacional de Segurança Alimentar, Ambiental e de Saúde Ocupacional (ANSES) em Maison-Alfort, França, sob a supervisão de Dra. Sara Moutailler. Durante esse período teve contato com técnicas de pré-amplificação de DNA e a técnica de PCR em tempo real microfluídica de alto rendimento.

EPÍGRAFE

DUC IN ALTUM

Lc. 5,4

DEDICATORIA

Dedico a quem nunca desistiu, pensou inúmeras vezes em deixar tudo para trás e ainda continuou. Dedico àquele garotinho que sonhava em voar falcões e se perder na natureza

AGRADECIMIENTOS

“Insha'Allah”, “Masha'Allah” e “piolet”, três palavras que merecem ser mencionadas porque marcaram todo esse caminho e vou explicar ao longo deste texto. Insha'Allah que vem do árabe e significa "esperançosamente" porque alguém pode ter a vontade de fazer algo novo, mas para que isso aconteça depende de Deus e Masha'Allah como gratidão pelo que aconteceu porque Ele permitiu que acontecesse. O primeiro que devo agradecer é a Deus por tudo isso.

Não me esqueço de explicar a terceira palavra, “Piolet”, uma ferramenta que é usada no montanhismo ao subir e é assim que começo meus agradecimentos, mencionando meus "machados de gelo" que tornaram o doutorado mais leve.

Agradeço aos meus pais, Amir e Marlene, por estarem sempre atentos, por oferecerem ajuda e apoio da maneira que cada um deles conhece e aprendeu.

Agradeço ao Dr. Jaime Soundy Call e à sua família, porque os seus conselhos, o seu tempo e a sua amizade foram um farol nesta jornada.

Agradeço ao mestre Alex Maeda, por estar sempre atento ao aprimoramento do jiu jitsu dentro e fora do tatame, por sempre buscar fortalecer a mente, ensinar jiu jiu jitsu com tanta paixão e trazer o a disciplina do jiu jitsu para o dia a dia, me ensinando que as batalhas são pessoais, mas sempre haverá pessoas apoiando.

Agradeço ao Prof. Dr. Marcos Rogério André, por ter aceitado me orientar e me integrar à sua equipe de trabalho; agradeço sua paciência, tempo, “puxadas de orelha” e principalmente essa paixão por ensinar e manter essa curiosidade pelo novo e querer transmitir isso aos seus orientados.

Agradeço às Professoras Rosangela Zacarias Machado e Darci Moraes Barros-Battesti pela dedicação ao desenvolvimento da parasitologia no Brasil e paixão por seu trabalho, qualidades que são muito admiradas.

Agradeço a Melissa Sanchez e Alejandro Torres, por sua amizade inestimável e verdadeira, por seus conselhos e tempo compartilhado.

Agradeço aos meus colegas do *Vector-Borne Bioagents Laboratory*, em especial à Ana Calchi, Anna Mongruel, Ana Carolina Santiago, Amanda Garcia, Clara Morato, Ricardo Bassini, Livia Perles e Lizeth Micolta, pelas vezes que me ajudaram nas PCRs, emprestando materiais, pelos cafés preparados e tornando o doutorado mais leve.

Gostaria também de agradecer à Dra. Sara Moutailler e a toda a equipe MiTick, por me receberem em seu grupo de trabalho, permitindo-me aprender novas técnicas, expandindo meus conhecimentos e, especialmente, agradecer a Clemence Galon por sua infinita paciência.

Agradeço a Alan Fecchio, João Pinho e Tiago Ferreira pelas amostras concedidas e disponibilidade para colaborar com a coleta de amostras de aves.

Agradeço à CAPES-PROEX (código 001) pelo benefício da bolsa no início do doutorado, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelas bolsas concedidas para o doutorado no Brasil (Processo #2020/14948-0) e o estágio doutoral na França (BEPE-FAPESP # 2023/08967-0).

Agradeço à FAPESP pelos Auxílios à Pesquisa concedidos ao Prof. Marcos R. André que permitiram a realização do presente trabalho (Processos # 2020/12037-0 e 2022/08543-2).

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

Index

Comissão de ética no uso de animais. ..... **v**

Sistema de autorização e informação em biodiversidade ..... **vii**

Sistema nacional de gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional asociado ..... **xii**

Detecção e caracterização molecular de agentes transmitidos por vetores em aves silvestres no pantanal brasileiro ..... **xviii**

Molecular detection and characterization of vector-borne agents in wild birds in the brazilian pantanal ..... **xix**

Chapter 1 – General Considerations **1**

1 Birds **1**

2 Vector-borne agents in birds **2**

2.1 Anaplasmataceae agents **2**

2.2 *Bartonella* spp. **6**

2.3 *Borrelia* spp. **9**

2.4 *Hepatozoon* spp. **13**

2.5 Hemosporidians **15**

2.6 Filariids **17**

3 Avian related ticks in Brazil **21**

4 Vector-borne pathogens and Public Health **22**

5 Objectives **23**

6 References **24**

Chapter 2. Molecular evidence of *Bartonella* spp. in tropical wild birds from the Brazilian Pantanal, the largest wetland in South America **42**

1 Introduction **44**

2 Material and methods **45**

3 Results **52**

4 Discussion **57**

5 Conclusion **60**

6 References **62**

Chapter 3. Novel tick-borne Anaplasmataceae genotypes in tropical birds from the Brazilian Pantanal wetland. **72**

1 Introduction **74**

2 Materials and Methods **75**

3 Results **80**

4 Discussion **88**

5 Conclusions **90**

6 References **92**

Chapter 4. Molecular survey of vector-borne agents in wild birds from the Brazilian Pantanal **105**

1 Introduction **108**

2 Material and methods **111**

3 Results **115**

4 Discussion **116**

5 Conclusion **118**

References **120**

Chapter 5. Validation and standardization of a High-Throughput Microfluidic Real-Time PCR for the detection of vector-borne agents in wild birds from the Brazilian Pantanal **137**

1 Introduction **140**

2 Material and methods **142**

2.1 Sampling **142**

2.2 Molecular assays **142**

3 Results **149**

4 Phylogenetic analyses **152**

5 Discussion **156**

6 Conclusion **158**

Chapter 6. Final considerations **173**

Appendices **175**

Appendices Chapter 3. Novel tick-borne Anaplasmataceae genotypes in tropical birds from the Brazilian Pantanal wetland. **175**

Table S2. Conventional, nested and quantitative real-time PCR assays used in screening and molecular characterization for Anaplasmataceae agents targeting the 16S RNA, *gro*EL, *dsb*, *glt*A, *sod*B, *omp*-1, *rpo*B, *fts*Z, and *suc*A genes and intergenic region 23S-5S (ITS). **179**

Table S3. Avian DNA samples positive in the multiplex quantitative (q) real-time qPCR for *Anaplasma* spp. and *Ehrlichia* spp. based on the *gro*EL gene. **183**

Table S4. BLAST analyses results obtained for 16S rRNA, *dsb*, and ITS sequences obtained in PCR protocols for Anaplasmataceae agents from avian blood samples from the Brazilian Pantanal. **185**

Appendices Chapter 4. Molecular survey of vector-borne agents in wild birds from the Brazilian Pantanal **188**

Appendices Chapter 5. Validation and standardization of a High-Throughput Microfluidic Real-Time PCR for the detection of vector-borne agents in wild birds from the Brazilian Pantanal 191

Supplementary Table 2. Description of primers (F= forward; R=reverse), probes (P) and target genes used in the microfluidic real-time PCR assays for the selected vector-borne agents in avian blood samples from the Brazilian Pantanal..... 191

Supplementary Table 2. Results of High-Throughput Microfluidic Real-Time PCR assay with positive controls obtained from neotropical birds sampled in Pantanal wetland, Mato Grosso state, central-western Brazil (Alabí-Córdova et al., 2024 a,b). 193

Table SM3. Results of High-Throughput Microfluidic real-time PCR showing co-positivity for selected vector-borne agents in neotropical birds sampled in Pantanal wetland, Mato Grosso state, central-western Brazil..... 194

Comissão de ética no uso de animais.

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

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Detecção e caracterização molecular de agentes Anaplasmataceae, Bartonellaceae e Hepatozoidae em passeriformes no Pantanal Brasileiro"**, protocolo nº 268/21, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcos Rogério André, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 11 de fevereiro de 2021.

Vigência do Projeto	01/03/2021 a 10/12/2024
Espécie / Linhagem	Aves passeriformes
Nº de animais	500
Peso / Idade	5-25 g
Sexo	Macho e fêmea
Origem	Fazenda localizada no Pantanal (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul)

Jaboticabal, 16 de fevereiro de 2021.

Fabiana Pilarski

Profa. Dra. Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

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.fcavunesp.br

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

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

C E R T I F I C A D O

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Detecção e caracterização molecular de filarídeos em aves no Pantanal Brasileiro"**, protocolo nº 3241/22, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcos Rogério André, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 15 de junho de 2022.

Vigência do Projeto	26/06/2022 a 10/12/2024
Espécie / Linhagem	Aves Selvagens
Nº de animais	Aproximadamente 300
Peso / Idade	Variável
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Poconé, Pantanal do estado do Mato Grosso

Jaboticabal, 15 de junho de 2022.

Fabiana Pilarski

Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

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

Sistema de autorização e informação em biodiversidade

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

Registro de Expedição

Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 72548	Data da emissão: 02/04/2019 15:51:39
Número da solicitação: 10698	Data da expedição: 20/04/2019 à 30/04/2019

Dados do titular

Nº de Registro: 266492	Nome: JOAO BATISTA DE PINHO	CPF: 177.363.231-00

Equipe

#	Nome	CPF	Doc. Identificação	Tipo Doc.	Nacionalidade	*Resp.
1	Alan Fecchio	033.149.189-33	2632240 SSP-DF	Identidade	Brasileiro	Sim
2	RAPHAEL IGOR DA SILVA CORRÊA DIAS	000.449.091-60	2632240 SSP-DF	Identidade	Brasileiro	Não

* O titular será o responsável pela equipe caso não designe alguém para exercer tal função.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Localidade	UF	Município	Bioma	Caverna
1	diversas	MS	Corumbá	Pantanal	-

Este documento foi expedido pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO de acordo com a Instrução Normativa Ibama número 154/07. Qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.sisbio.sisicmbio.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 945161

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

Registro de Expedição

Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 72790	Data da emissão: 12/09/2019 09:15:49
Número da solicitação: 10698	Data da expedição: 19/09/2019 à 30/01/2020

Dados do titular

Nº de Registro: 266492	Nome: JOAO BATISTA DE PINHO	CPF: 177.363.231-00

Anexo para registrar Coletas Imprevistas de Material Biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007
Art. 19. 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.
§ 1° O transporte do material biológico ou do substrato a que se refere o caput deste artigo deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação.
§ 2° A coleta a que se refere o caput deste artigo deverá ser comunicada no relatório de atividades.
§ 3° O material biológico coletado conforme previsto no caput deverá ser destinado à instituição científica, preferencialmente depositado em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO)

Táxon*	Qtde.	Tipo de Amostra	Qtde.	Data

Este documento foi expedido pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO de acordo com a Instrução Normativa Ibama número 154/07. Qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.sisbio.sisicmbio.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 2079390

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: 83622-1	Data da Emissão: 14/06/2022 08:50:27	Data da Revalidação*: 14/06/2023

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

SISBIO

Nome: Marcos Rogério André	CPF: 302.435.148-59
Título do Projeto: Detecção e caracterização molecular de filarídeos em aves no Pantanal brasileiro	
Nome da Instituição: UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de material	06/2022	07/2022
2	processamento laboratorial	07/2022	12/2023

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Alan Fecchio	coleta de amostra	033.149.189-33	Brasileira
2	JOAO BATISTA DE PINHO	coleta de amostra	177.363.231-00	Brasileira
3	AMANDA GARCIA PEREIRA	coleta de amostra	424.136.898-00	Brasileira
4	Tiago Valadares Ferreira	coleta de amostra	017.487.741-23	Brasileira
5	AMIR SALVADOR ALABI CORDOVA	coleta de amostra	244.676.538-64	Estrangeira

Este documento 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: 0836220120220614

X

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: 83622-1	Data da Emissão: 14/06/2022 08:50:27	Data da Revalidação*: 14/06/2023

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

SISBIO

Nome: Marcos Rogério André	CPF: 302.435.148-59
Título do Projeto: Detecção e caracterização molecular de filarídeos em aves no Pantanal brasileiro	
Nome da Instituição: UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87

Outras ressalvas

1	A proporção máxima de redes de neblina é dez redes por pesquisador com experiência no método. O intervalo máximo de revisão de redes deve ser de 20 minutos se a captura ocorrer em local ensolarado e de 45 minutos se ocorrer em local sombreado. O volume de sangue coletado não deve exceder o correspondente a 1% da massa corporal da ave. Em coletas consecutivas, não deve ultrapassar 2% a cada 14 dias.	CEMAVE Cabedelo-PB
2	O pesquisador estrangeiro AMIR SALVADOR ALABI CORDOVA possui vínculo junto a Programa de bolsas ou auxílio à pesquisa patrocinado pela FAPESP. Portanto, está dispensado de autorização do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação conforme definido no ?item? 56, da Portaria MCT nº 826/2008, e no inciso II, art. 5º da Resolução Normativa nº 20/2017, do Conselho Nacional de Imigração - CNig.	COINF

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Mato grosso	Santo Antônio do Leverger-MT	Pantanal	Não	Fora de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal
2	Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Captura de animais silvestres in situ	Coraciiformes	-
2	Captura de animais silvestres in situ	Anseriformes	-
3	Captura de animais silvestres in situ	Apodiformes	-
4	Captura de animais silvestres in situ	Piciformes	-
5	Captura de animais silvestres in situ	Passeriformes	-
6	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Passeriformes	-
7	Captura de animais silvestres in situ	Falconiformes	-
8	Captura de animais silvestres in situ	Gruiformes	-
9	Captura de animais silvestres in situ	Galliformes	-
10	Captura de animais silvestres in situ	Cuculiformes	-
11	Captura de animais silvestres in situ	Columbiformes	-
12	Captura de animais silvestres in situ	Charadriiformes	-

A quantidade prevista só é obrigatória para atividades do tipo "Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ". Essa quantidade abrange uma porção

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: 83622-1	Data da Emissão: 14/06/2022 08:50:27	Data da Revalidação*: 14/06/2023

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

SISBIO

Nome: Marcos Rogério André	CPF: 302.435.148-59
Título do Projeto: Detecção e caracterização molecular de filarídeos em aves no Pantanal brasileiro	
Nome da Instituição: UNESP JABOTICABAL	CNPJ: 48.031.918/0012-87

territorial mínima, que pode ser uma Unidade de Conservação Federal ou um Município.

A quantidade significa: por espécie X localidade X ano.

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Aves)	Sangue, Fragmento de tecido/órgão, Ectoparasita
2	Método de captura/coleta (Aves)	Rede de neblina

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNESP JABOTICABAL	Laboratório

Este documento 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).

Sistema nacional de gestão do patrimônio genético e do conhecimento tradicional associado

Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº AF30FD1

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro:	**AF30FD1**
Usuário:	**Marcos Rogério André**
CPF/CNPJ:	**302.435.148-59**
Objeto do Acesso:	**Patrimônio Genético**
Finalidade do Acesso:	**Pesquisa**

Espécie
Agelaioides badius
Agelasticus cyanopus
Antilophia galeata
Ramphocelus carbo
Saltator coerulescens
Pseudoseisura unirufa
Cercomacra melanaria
Turdus leucomelas
Leptotila verreauxi
Basileuterus flaveolus
Aramides cajanea
Arremon flavirostris
Arundinicola leucocephala

Basileuterus hypoleucus
Brotogeris chiriri
Busarellus nigricollis
Butorides striata
Cacicus cela
Cacicus solitarius
Campylorhynchus turdinus
Cantorchilus leucotis
Certhiaxis cinnamomeus
Chloroceryle aenea
Chloroceryle amazona
Chloroceryle americana
Cnemotriccus fuscatus
Coccycua minuta
Coccyzus melacoryphus
Columbina talpacoti
Coereba flaveola
Coryphospingus cucullatus
Cranioleuca vulpina
Crax fasciolata
Crotophaga ani
Crypturellus undulatus
Cyclarhis gujanensis
Cyanocorax chrysops
Cyanocorax cyanomelas
Dendroplex picus
Donacobius atricapilla
Elaenia albiceps
Elaenia spectabilis
Eucometis penicillata
Formicivora rufa
Fluvicola albiventer

Fluvicola albiventer
Furnarius leucopus
Furnarius rufus
Glaucis hirsutus
Gnorimopsar chopi
Guira guira
Hemitriccus margaritaceiventer
Hemitriccus striaticollis
Herpsilochmus longirostris
Hylocharis chrysura
Hylophilus pectoralis
Hypocnemoides maculicauda
Icterus cayanensis
Icterus croconotus
Jacana jacana
Legatus leucophaius
Lepidocolaptes angustirostris
Machetornis rixosa
Megaceryle torquata
Monasa nigrifrons
Myiarchus ferox
Myiophobus fasciatus
Myiozetetes cayanensis
Paroaria capitata
Phaethornis nattereri
Phaethornis subochraceus
Picumnus albosquamatus
Pipra fasciicauda
Pitangus sulphuratus
Poecilotriccus latirostris
Progne tapera
Pteroglossus castanotis

Sicalis flaveola
Sporophila angolensis
Sporophila caerulescens
Sporophila collaris
Stelgidopteryx ruficollis
Synallaxis albilora
Taraba major
Thamnophilus doliatus
Thraupis palmarum
Thraupis sayaca
Thryothorus genibarbis
Tigrisoma lineatum
Turdus amaurochalinus
Turdus hauxwelli
Turdus rufiventris
Tyrannus melancholicus
Vireo olivaceus
Volatinia jacarina

Título da Atividade:	**Detecção e caracterização molecular de Piroplasmídeos, agentes Anaplasmatacea, Bartonella spp., Hepatozoon spp., Trypanosoma spp. e hemosporídeos em aves de vida livre no Pantanal do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul.**

Equipe

Marcos Rogério André	**Campus de Jaboticabal**
Ana Cláudia Calchi	**UNESP-FCAV**
Amir Salvador Alabí Córdova	**UNESP-FCAV**
Rosangela Zacarias Machado	**UNESP-FCAV**
Alan Fecchio	**CIEMEP**

Data do Cadastro:	**24/03/2023 17:27:18**
Situação do Cadastro:	**Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **18:00** de **30/10/2024**.

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO - **SISGEN**

Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Certidão
Cadastro nº AD5EDDB

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro:	**AD5EDDB**
Usuário:	**Marcos Rogério André**
CPF/CNPJ:	**302.435.148-59**
Objeto do Acesso:	**Patrimônio Genético**
Finalidade do Acesso:	**Pesquisa**

Espécie
Arremon flavirostris
Camptostoma obsoletum
Campyloramphus trocholirostris
Campylorhynchus turdinus
Casiornis rufus
Cercomacra melanaria
Certhiaxis cinnamomeus
Cnemotriccus fuscatus
Coccycua minuta
Columbina squammata
Columbina talpacoti
Coryphospingus cucullatus
Cranioleuca vulpina
Crotophaga ani
Dendroplex picus
Elaenia cristata
Eucometis penicillata
Euscarthmus meloryphus
Fluvicola albiventer
Furnarius leucopus
Furnarius rufus
Galbula ruficauda
Hemitriccus margaritaceiventer

Hypocnemoides maculicauda
Icterus pyrrhopterus
Inezia inornata
Leptotila verreauxi
Machetornis rixosa
Momotus momota
Monasa nigrifrons
Myiarchus ferox
Myiopagis gaimardii
Myiophobus fasciatus
Myiothlypis flaveola
Paroaria capitata
Pheugopedius genibarbis
Picumnus albosquamatus
Pipra fasciicauda
Pitangus sulphuratus
Poecilotriccus latirostris
Pseudoseisura unirufa
Ramphocelus carbo
Rupornis magnirostris
Saltator coerulescens
Sicalis flaveola
Sporophila angolensis
Sporophila caerulescens
Sporophila leucoptera
Synallaxis albescens
Synallaxis albilora
Taraba major
Thamnophilus pelzelni
Thraupis palmarum
Tolmomyias sulphurescens
Turdus amaurochalinus
Veniliornis passerinus
Volatinia jacarina

Título da Atividade:	**Detecção e caracterização molecular de Piroplasmídeos, agentes Anaplasmatacea, Bartonella spp., Hepatozoon spp., Trypanosoma spp. e hemosporídeos em aves de vida livre no Pantanal do Mato Grosso.**

Equipe

Marcos Rogério André	**Campus de Jaboticabal**
Amir Salvador Alabí Córdova	**UNESP FCAV**

Data do Cadastro:	**15/04/2023 13:20:36**
Situação do Cadastro:	**Concluído**

DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE AGENTES TRANSMITIDOS POR VETORES EM AVES SILVESTRES NO PANTANAL BRASILEIRO

Resumo - O presente estudo avaliou, por meio de técnicas moleculares, a ocorrência e a diversidade genética dos agentes Anaplasmataceae, *Bartonella* spp., *Hepatozoon* spp. e *Borrelia* spp. em aves silvestres no Pantanal dos estados de Mato Grosso (MT) e Mato Grosso do Sul (MS). Para tanto, 500 amostras de sangue de aves silvestres capturadas no Pantanal de MT e MS, durante o mês de abril e entre os meses de agosto e novembro de 2019, foram submetidas à extração de DNA e ensaios de PCR em tempo real e convencional baseados nos genes *gro*EL, *glt*A, *dsb*, região intergênica 23S-5S, *omp-1* e *sodB* para agentes Anaplasmataceae, *nuo*G, *glt*A, *rpo*B*, ftsZ*, *pap*31 e *ribC* para *Bartonella* spp., 16S rRNA e *flaB* para *Borrelia* spp., 18S rRNA para *Hepatozoon* spp. e *cox*-1, 12S rRNA e 28S rRNA para filarídeos. Análises filogenéticas foram construídas para posicionar filogeneticamente as sequências obtidas. Como resultado, 37/500 (7,4%) aves foram positivas para *Anaplasma* spp. e 4 (0,8%) para *Ehrlichia* spp. no ensaio qPCR (*gro*EL); além disso, 13 (2,6%) foram positivos na PCR para agentes Anaplasmataceae com base no gene 16S rRNA. As sequências de 16S rRNA de *Ehrlichia* spp. detectadas foram posicionadas próximas a *Ehrlichia* sp. Magellanica. As sequências *dsb* de *Ehrlichia* detectadas agruparam-se com *Ehrlichia minasensis*. Os genótipos 16S rRNA de *Anaplasma* spp. detectados foram agrupados com *'Candidatus* Allocryptoplasma spp.'. Os genótipos 23S-5S detectados foram relacionados a *Anaplasma phagocytophilum*. Dezenove (3,8%) das 500 amostras de sangue de aves foram positivas em ensaio de qPCR para *Bartonella* spp. com base no gene *nuo*G. Com base nos resultados do BLASTn, enquanto 1 sequência *nuoG*, 2 *rib*C e 2 ITS (16S-23S rRNA) apresentaram alta identidade com *Bartonella henselae*, uma 16S rRNA e 2 ITS apresentaram alta identidade com *Bartonella machadoae*. Três amostras (0,6%) foram positivas na PCR para filarídeos. Enquanto uma das sequências de *cox*-1 detectadas agrupou-se com *Cardiofilaria* sp., a outra posicionou-se basal a *Splendidofilaria* spp. Além disso, protocolos previamente estabelecidos de qPCR microfluídica em tempo real foram padronizados para a detecção de agentes transmitidos por vetores em 282 amostras de sangue de aves coletadas no Pantanal do estado de Mato Grosso em 2022, visando amplificar os genes 16S rRNA para *Anaplasma* spp., *ssr*A para *Bartonella* spp., *cyt*B para hemosporídeos, e LSU rRNA para filariídeos. Os resultados foram validados por ensaios de PCR baseados no gene 16S rRNA e região intergênica 23S-5S para *Anaplasma* spp., espaçador intergênico 16-23S rRNA, e genes *nuo*G, *gltA*, *pap*31, *rib*C, *fts*Z, *gro*EL e *rpo*B para *Bartonella* spp., *cox-1,* 12S rRNA e 18S rRNA para filarídeos e gene *cyt*B para hemosporídeos. As seguintes taxas de positividade foram encontradas na qPCR microfluídica de alto rendimento: 18.2% para *Anaplasma* spp., 6.5% para Onchocercidae, 6.2% para *Plasmodium* spp., 5.09% para *Haemoproteus* spp. e 0.36% para *Bartonella* spp. DNA de *Bartonella machadoae*, *Cardiofilaria* spp., *Aproctella* spp. e filarídeo posicionado basalmente ao clado de *Eufilaria* spp. foi detectado por esta técnica de qPCR. Em conclusão, novos genótipos de *Anaplasma* foram detectados em aves do Pantanal. *Bartonella* spp. relacionadas a *B. machadoae* e *B. henselae* foram detectadas, pela primeira vez, em aves silvestres do Pantanal brasileiro. Este é o primeiro relato molecular de filariídeos Onchocercidae (*Aproctella* spp., *Cardiofilaria* spp., e filarídeos basais a *Eufilaria* spp. e *Splendidofilaria* spp.) em aves do Pantanal brasileiro. A qPCR microfluídica em tempo real de alto rendimento mostrou-se eficiente na triagem de agentes transmitidos por vetores em aves silvestres no Brasil, desde que sejam desenhados primers específicos para variantes genotípicas circulantes no território nacional.

Palavras-chave: Anaplasmataceae, *Bartonella* spp., *Hepatozoon* spp., *Borrelia* spp., Haemosporida, Onchocercidae, aves tropicais

MOLECULAR DETECTION AND CHARACTERIZATION OF VECTOR-BORNE AGENTS IN WILD BIRDS IN THE BRAZILIAN PANTANAL

Abstract - The present study evaluated, by means of molecular techniques, the occurrence and genetic diversity of agents Anaplasmataceae, *Bartonella* spp., *Hepatozoon* spp., and *Borrelia* spp. in wild birds in the Pantanal of the states of Mato Grosso (MT) and Mato Grosso do Sul (MS). To this end, 500 blood samples from wild birds captured in the Pantanal of MT and MS, during the month of April and between the months of August and November 2019, were subjected to DNA extraction and real-time and conventional PCR assays based on the *gro*EL, *glt*A, *dsb*, intergenic region 23S-5S, *omp*-1 and *sod*B genes for *Anaplasmataceae* agents, *nuoG*, *gltA*, *rpoB*, *fts*Z, *pap*31 and *rib*-C for *Bartonella* spp., 16S rRNA and *flaB* for *Borrelia* spp., 18S rRNA for *Hepatozoon* spp., and *cox*-1, 12S rRNA and 28S rRNA genes for filariids. Phylogenetic analyses were constructed to phylogenetically position the sequences obtained. As a result, 37/500 (7.4%) birds were positive for *Anaplasma* spp. and 4 (0.8%) for *Ehrlichia* spp. in the qPCR assay (*groEL*); in addition, 13 (2.6%) were positive in the PCR for *Anaplasmataceae* agents based on the 16S rRNA gene. The *Ehrlichia* 16S rRNA sequences detected were positioned near *Ehrlichia* sp. Magellanica. The *Ehrlichia dsb* sequences detected clustered with *Ehrlichia minasensis*. The *Anaplasma* spp. 16S rRNA genotypes detected clustered with *'Candidatus* Allocryptoplasma spp.'. The 23S-5S genotypes detected in were related to *Anaplasma phagocytophilum*. Nineteen (3.8%) out of the 500 blood samples from birds were positive in a qPCR assay for *Bartonella* spp. based on the *nuo*G gene. Based on the BLASTn results, while 1 *nuo*G, 2 *rib*C and 2 ITS (16S-23S rRNA) sequences showed high identity with *Bartonella henselae*, one 16S rRNA and 2 ITS showed high identity with *Bartonella machadoae*. Three samples (0.6%) were positive in the PCR for filarids. While one *cox*-1 sequence detected clustered with *Cardiofilaria* sp., another one sequence was positioned basal to *Splendidofilaria* spp. In addition, previously established protocols of new microfluidic real-time PCR assays were standardized for the detection of vector-borne agents in 282 bird blood samples collected in the Pantanal of the state of Mato Grosso in 2022, aiming to amplify the 16S rRNA genes for *Anaplasmataceae*, *ssr*A gene for *Bartonella* spp., *cyt*B for hemosporidians, and LSU rRNA for filariids. The results were validated by PCR assays based on the 16S rRNA gene and 23S-5S intergenic region for *Anaplasma* spp., 16-23S rRNA intergenic spacer, *nuo*G, *glt*A, *pap*31, *rib*C, *fts*Z, *gro*EL and *rpo*B genes for *Bartonella* spp., *cox*-1 for filariids and *cytB* gene for haemosporidians. The following positivity rates were found in high-throughput microfluidic qPCR: 18.2% for *Anaplasma* spp., 6.5% for Onchocercidae, 6.2% for *Plasmodium* spp., 5.09% for *Haemoproteus* spp. and 0.36% for *Bartonella* spp.. DNA from *Bartonella machadoae*, *Cardiofilaria* spp., *Aproctella* spp., and a filariid ancestral to *Eufilaria* spp. clade was detected by this new qPCR technique. In conclusion, novel genotypes of *Anaplasma*, *Ehrlichia*, and *'Candidatus* Allocryptoplasma' were detected in birds from the Pantanal wetland. *Bartonella* spp. related to *B. henselae* and *B. machadoae* were detected, for the first time, in wild birds from the Brazilian Pantanal. This is the first molecular report of *Borrelia* spp. and onchocercid filariids (*Aproctella* spp., *Cardiofilaria* spp., and onchocercid filariids basal to *Eufilaria* spp. and *Splendidofilaria* spp. clade) in birds from the Brazilian Pantanal. High-throughput real-time microfluidic qPCR proved to be efficient in the screening of vector-borne agents in wild birds in Brazil as long as specific primers are designed for genotypic variants circulating in the national territory.

Key-words: Anaplasmataceae, Bartonellaceae, Hepatozoideae, Borreliaceae, Haemosporida, Onchocercidae, Tropical birds

Chapter 1 – General Considerations

1 Birds

Birds comprehend the most diverse lineage, representing more than 10,000 living species and presenting the most diverse morphologic, ecologic and behavior features (Gill & Prum, 2019; Prum et al., 2015). The diversification of modern birds (Neornithes) was influenced by considerable factors, including mass extinctions (Feduccia, 1995; Prum et al., 2015), geologic events (Claramunt & Cracraft, 2015; Moyle et al., 2016), and climate change (Claramunt & Cracraft, 2015; Jetz et al., 2012). Previously, molecular analyses of genomes resulted in a new phylogenetic resolution to the initial branching in the Neoaves, describing five major clades (Prum et al., 2015).

Birds show a considerable capability to adapt to different ecological niches (Schmitt & Edwards, 2022), favoring the dispersion of vector-borne agents, viruses and parasites through migratory movements (Fecchio et al., 2020a; Reed et al., 2003). These features make birds of great interest to Public Health (Reed et al., 2003).

In the bird migration season, it is estimated that 200 species of birds migrate from North America during autumn to Central and South America, as well as from Eastern Europe to Africa (Gill & Prum, 2019). In South America, the Pantanal is used by several migratory routes throughout the year (Batista et al., 2017). During these movements, birds can transport and spread infected ticks with vector-borne and zoonotic pathogens (Comstedt et al., 2006; Elfving et al., 2010; S. A. Hamer et al., 2012; Waldenström et al., 2007).

6 Conclusion

High-Throughput microfluidic real-time PCR assay based on previous designed primers for Europe and the Caribbean regions was able to detect several positive samples to vector-borne agents from present study samples, suggesting the field samples from different regions should be tested first with the primers designed for the European and Caribbean regions and in case of variability due to different genotypes new primers and probes should be designed. High-Throughput microfluidic real-time PCR assay can be used to screen *Anaplasma* spp., *Bartonella* spp., *Plasmodium* spp., *Haemoproteus* spp., and Onchocercidae filariids associated with avian hosts from South America.

Ethics Statement

The sampling was accredited by the Ethical commission for the use of animal (CEUA 3241/122) of the São Paulo State University (UNESP) and The "*Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade* (ICMBIO)" for the birds collection and sampling (SISBIO# 83622-1).

Financing

This study was financed, in part, by the São Paulo Research Foundation (FAPESP), Brazil (Process Numbers #2020/14948–0; #2022/08543-2; #2023/08967-0); *the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brazil (CAPES) – Finance Code 001";* and CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; Productivity Fellowship conceived to Dr. Marcos Rogério André [Process CNPq nº 303701/2021–8]). Sara Moutailler and Clemence Galon were supported by the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES), the French National Institute for Agricultural Research (INRAE), and the Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (EnvA).

Data linking

The sequences generated and analysed during the present study were submitted in the NCBI Genbank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Sequences can be accessed by the following accession numbers: PQ450485, PQ450488, PQ450487, PQ452771, PQ452776, PQ452777, PQ452778, PQ452774, PQ452775, PQ452772, FR823331, PQ452773 and PV083549

Authors contributions

ASAC: Methodology, Validation, Investigation, Data curation, Writing-Original Draft, Visualization, Writing- original draft, Writing -review and editing; **JBP:** Methodology, Resources, Writing -review and editing; **AGP:** Methodology; Writing – review & editing; **CG:** Methodology, Writing – review & editing; **TVF:** Methodology; Writing – review & editing; **LFN:** Methodology, Writing – review & editing; **RZM:** Resources, Writing – review & editing; **SM:** Conceptualization, Funding acquisition, Resourcers, Supervision, Writing - review and editing; **MRA:** Conceptualization, Resources, Funding acquisition, Supervision, Writing – review & editing.

Declaration of competing interests

The authors declare there is no conflict of interest that could have influenced the results obtained and reported in this research.

Acknowledgments

This research was supported by “Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo” (FAPESP) (BEPE-FAPESP Process Number #2023/08967-0;) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; Productivity Fellowship conceived to MRA [Process CNPq #303701/2021-8]). Amir Alabi received Ph.D. Scholarship from FAPESP (Process #2020/14948-0 and BEPE-FAPESP Process Number #2023/08967-0 respectively) and CAPES-PROEX (code 001). Authors would like to thank ANSES, INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire d’Alfort, for kindly collaborating with resources and equipment.

References

[1] C.R.F. Chagas, L. de O. Guimarães, E.F. Monteiro, G. Valkiūnas, M.V. Katayama, S.V. Santos, F.J.V. Guida, R.F. Simões, K. Kirchgatter, (2016) Hemosporidian parasites of free-living birds in the São Paulo Zoo, Brazil, **Parasitology Research** 115 1443–1452. https://doi.org/10.1007/s00436-015-4878-0.

[2] L.M. De Aguiar, O.M. Júnior, (2021) Haemoparasites in captive birds at Uberlândia zoo, state of Minas Gerais, Brazil, **Bioscience Journal** 37 1–6. https://doi.org/10.14393/BJ-v37n0a2021-47818.

[3] P.V.A. Ribeiro, C.Q. Baesse, V.C. de M. Tolentino, M.M. de Oliveira, M.J.R. da Cunha, C. Melo, M.C. Cury, (2020) Haemosporidian parasites prevalence associated with physical conditioning of avian species from the Brazilian Cerrado, **Ciência e Natura** 42 e50. https://doi.org/10.5902/2179460X40002.

[4] N.O. Belo, R.T. Pinheiro, E.S. Reis, R.E. Ricklefs, É.M. Braga, (2011) Prevalence and Lineage Diversity of Avian Haemosporidians from Three Distinct Cerrado Habitats in Brazil, **PLoS One** 6 e17654. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017654.

[5] A. Fecchio, R.I. Dias, T. V. Ferreira, A.O. Reyes, J.H. Dispoto, J.D. Weckstein, J.A. Bell, V. V. Tkach, J.B. Pinho, (2022) Host foraging behavior and nest type influence prevalence of avian haemosporidian parasites in the Pantanal, **Parasitology Research** 121 1407–1417. https://doi.org/10.1007/s00436-022-07453-3.

[6] G.A. Lacorte, G.M.F. Félix, R.R.B. Pinheiro, A. V. Chaves, G. Almeida-Neto, F.S. Neves, L.O. Leite, F.R. Santos, É.M. Braga, (2013) Exploring the Diversity and Distribution of Neotropical Avian Malaria Parasites – A Molecular Survey from Southeast Brazil, **PLoS One** 8 e57770. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057770.

[7] A.M. Carvalho, F.C. Ferreira, A.C. Araújo, L.Q.L. Hirano, G.R. Paludo, É.M. Braga, (2022) Molecular detection of *Leucocytozoon* in red-legged seriemas (*Cariama cristata*), a non-migratory bird species in the Brazilian Cerrado., **Veterinary Parasitology Regional Studies Reports** 31 100652. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100652.

[8] A. Fecchio, P. Silveira, J.D. Weckstein, J.H. Dispoto, M. Anciães, M. Bosholn, V. V. Tkach, J.A. Bell, (2018) First Record of *Leucocytozoon* (Haemosporida: Leucocytozoidae) in Amazonia: Evidence for Rarity in Neotropical Lowlands or Lack of Sampling for This Parasite Genus?, **Journal of Parasitology** 104168–172. https://doi.org/10.1645/17-182.

[9] S.J. Cutler, A.R. Fooks, W.H.M. van der Poel, (2010) Public Health Threat of New, Reemerging, and Neglected Zoonoses in the Industrialized World, Emerg **Infectious Diseases** 16 1–7. https://doi.org/10.3201/eid1601.081467.

[10] W.L. Nicholson, 2018 Family Anaplasmataceae (Anaplasmosis, Ehrlichiosis, Neorickettsiosis, and Neoehrlichiosis), Fifth Edit, Elsevier Inc.,. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40181-4.00170-5.

[11] Y. Rikihisa, C. Zhang, B.M. Christensen, Molecular Characterization of *Aegyptianella pullorum* (Rickettsiales, Anaplasmataceae), **Journal of Clinical Microbiology** 41 (2003) 5294–5297. https://doi.org/10.1128/JCM.41.11.5294-5297.2003.

[12] N.H. Ogden, L.R. Lindsay, K. Hanincová, I.K. Barker, M. Bigras-Poulin, D.F. Charron, A. Heagy, C.M. Francis, C.J. O'Callaghan, I. Schwartz, R.A. Thompson, (2008) Role of migratory birds in introduction and range expansion of *Ixodes scapularis* ticks and of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in Canada, **Applied and Environmental Microbiology** 74 1780–1790. https://doi.org/10.1128/AEM.01982-07.

[13] M.R. Oh, K.H. Moon, S.Y. Kim, Y.G. Kim, C.Y. Choi, C.W. Kang, H.J. Kim, K.K. Lee, Y.M. Yun, (2014) Prevalence of *Anaplasma* sp. in thrushes (Family Turdidae) in Jeju island, Republic of Korea, **Journal of Veterinary Clinics** 31 206–211. https://doi.org/10.17555/ksvc.2014.06.31.3.206.

[14] A.D. Sándor, Z. Kalmár, A.D. Mihalca, (2015) *Anaplasma phagocytophilum* in ticks and tissues collected from wild birds in Romania, **Scientia Parasitologica** 16 103–111.

[15] S. Muñoz-Leal, Y.S. Clemes, M.G. Lopes, I.C.L. Acosta, M.C.A. Serpa, L.F.S.P. Mayorga, S.M. Gennari, D. González-Acuña, M.B. Labruna, (2019) Novel *Ehrlichia* sp. detected in Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) and in the seabird tick *Ixodes uriae* from Magdalena Island, southern Chile, **Ticks and Tick Borne Diseases** 10 101256. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.06.015.

[16] S. Hornok, S.A. Boldogh, N. Takács, A. Juhász, J. Kontschán, D. Földi, B. Koleszár, P. Morandini, M. Gyuranecz, S. Szekeres, (2020) Anaplasmataceae closely related to *Ehrlichia chaffeensis* and *Neorickettsia helminthoeca* from birds in Central Europe, Hungary, Antonie van Leeuwenhoek, **International Journal of General and Molecular Microbiology** 113 1067–1073. https://doi.org/10.1007/s10482-020-01415-4.

[17] R.Z. Machado, M.R. André, K. Werther, E. De Sousa, F.A. Gavioli, J.R.F. (2012) Alves, Migratory and carnivorous birds in Brazil: Reservoirs for *Anaplasma* and *Ehrlichia* species?, **Vector-Borne and Zoonotic Diseases** 12 705–708. https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0803.

[18] K. Werther, M. de C. Luzzi, L.R. Gonçalves, J.P. de Oliveira, J.R.F. Alves Junior, R.Z. Machado, M.R. André, (2017) Arthropod-borne agents in wild Orinoco geese (*Neochen jubata*) in Brazil, **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases** 55 30–41. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.09.003.

[19] A.C.B. Mongruel, J.L. Benevenute, P. Ikeda, M.R. André, R.Z. Machado, A. de O.T. Carrasco, M.C. Seki, (2017) Detection of *Anaplasma* sp. Phylogenetically related to *A. phagocytophilum* in a free-living bird in Brazil, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria** 26 505–510. https://doi.org/10.1590/S1984-29612017042.

[20] A.B.V. Sacchi, M.R. André, A.C. Calchi, M. de Santi, A. Guimarães, J.R. Pires, C.D. Baldani, K. Werther, R.Z. Machado, (2021). Molecular and serological detection of arthropod-borne pathogens in carnivorous birds from Brazil, **Veterinary Parasitology Regional Studies Reports** 23 https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100539.

[21] A.S. Alabí Córdova, A. Fecchio, A.C. Calchi, C.M. Dias, A.C.B. Mongruel, L.F. das Neves, D.A.B. Lee, R.Z. Machado, M.R. André, (2024) Novel Tick-Borne Anaplasmataceae Genotypes in Tropical Birds from the Brazilian Pantanal Wetland, **Microorganisms** 12 962. https://doi.org/10.3390/microorganisms12050962.

[22] R.J. Birtles, D. Raoult, (1996) Comparison of partial citrate synthase gene (gltA) sequences for phylogenetic analysis of *Bartonella* species**, International Journal of Systematic Bacteriology** 46 891–897. https://doi.org/10.1099/00207713-46-4-891.

[23] E.B. Breitschwerdt, R.G. Maggi, B.B. Chomel, M.R. Lappin, (2010) Bartonellosis: An emerging infectious disease of zoonotic importance to animals and human beings, **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care** 20 8–30. https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00496.x.

[24] S.A. Billeter, V.A.K.B. Gundi, M.P. Rood, M.Y. Kosoy, (2011) Molecular detection and identification of *Bartonella* species in *Xenopsylla cheopis* fleas (Siphonaptera: Pulicidae) collected from *Rattus norvegicus* rats in Los Angeles, California, **Applied and Environmental Microbiology** 77 7850–7852. https://doi.org/10.1128/AEM.06012-11.

[25] K. Klangthong, S. Promsthaporn, S. Leepitakrat, A.L. Schuster, P.W. McCardle, M. Kosoy, R. Takhampunya, (2015) The Distribution and Diversity of Bartonella Species in Rodents and Their Ectoparasites across Thailand**, PLoS One** 10 e0140856. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140856.

[26] A. Müller, E. Rodríguez, R. Walker, P. Bittencourt, S. Pérez-Macchi, L.R. Gonçalves, R.Z. Machado, M.R. André, (2018) Occurrence and genetic diversity of *Bartonella* spp. (Rhizobiales: Bartonellaceae) and *Rickettsia* spp. (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in Cat Fleas (Siphonaptera: Pulicidae) From Chile, **Journal of Medical Entomology** 55 1627–1632. https://doi.org/10.1093/jme/tjy124.

[27] A. Nasereddin, A. Risheq, S. Harrus, K. Azmi, S. Ereqat, G. Baneth, H. Salant, K.Y. Mumcuoglu, Z. Abdeen, (2014) *Bartonella* species in fleas from Palestinian territories: Prevalence and genetic diversity, **Journal of Vector Ecology** 39 261–270. https://doi.org/10.1111/jvec.12100.

[28] L.M. Salas, M. Espinoza-Carniglia, N.L. Schmeisser, L.G. Torres, M.C. Silva-De La Fuente, M. Lareschi, D. González-Acuña, (2019) Fleas of black rats (*Rattus rattus*) as reservoir host of *Bartonella* spp. In Chile, **PeerJ** e7371. https://doi.org/10.7717/peerj.7371.

[29] G.M. Anstead, (2016) The centenary of the discovery of trench fever, an emerging infectious disease of World War 1, **Lancet Infectious Diseases** 16e164–e172. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30003-2.

[30] Á.A. Faccini-Martínez, A.C. Márquez, D.M. Bravo-Estupiñan, O.-J. Calixto, C.A. López-Castillo, C.A. Botero-García, M. Hidalgo, C. Cuervo, (2017) *Bartonella quintana* and Typhus Group Rickettsiae Exposure among Homeless Persons, Bogotá, Colombia, **Emerging Infectious Diseases** 23 1876–1879. https://doi.org/10.3201/eid2311.170341.

[31] M. Louni, N. Mana, I. Bitam, M. Dahmani, P. Parola, F. Fenollar, D. Raoult, O. Mediannikov,(2018) Body lice of homeless people reveal the presence of several emerging bacterial pathogens in northern Algeria, **PLoS Neglected Tropical Diseases** 12. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006397.

[32] S.A. Billeter, P.P.V.P. Diniz, J.M. Battisti, U.G. Munderloh, E.B. Breitschwerdt, M.G. Levy, (2009) Infection and replication of *Bartonella* species within a tick cell line, **Experimental Applied Acarology** 49 193–208. https://doi.org/10.1007/s10493-009-9255-1.

[33] J.-G. Kang, H.-C. Kim, C.-Y. Choi, H.-Y. Nam, H.-Y. Chae, S.-T. Chong, T.A. Klein, S. Ko, J.-S. Chae, (2013) Molecular Detection of *Anaplasma* , *Bartonella* , and *Borrelia* Species in Ticks Collected from Migratory Birds from Hong-do Island, Republic of Korea, **Vector-Borne and Zoonotic Diseases** 13 215–225. https://doi.org/10.1089/vbz.2012.1149.

[34] E.B. Breitschwerdt, D.L. Kordick, N. Carolina, (2000) Bartonella Infection in Animals : Carriership , Reservoir Potential , Pathogenicity , and Zoonotic Potential for Human Infection, **Clinical Microbiology Reviews**. 13 428–438.

[35] P.E. Mascarelli, M. McQuillan, C.A. Harms, R. V. Harms, E.B. Breitschwerdt, (2014) *Bartonella henselae* and *B. koehlerae* DNA in Birds, **Emerging Infectious Diseases** 20 490–492. https://doi.org/10.3201/eid2003.130563.

[36] H.M. Williams, K. Dittmar, (2020) Expanding our view of *Bartonella* and its hosts: *Bartonella* in nest ectoparasites and their migratory avian hosts, **Parasites and Vectors** 13 13. https://doi.org/10.1186/s13071-020-3896-7.

[37] A.S. Alabí Córdova, A. Fecchio, A.C. Calchi, C.M. Dias, R.Z. Machado, M.R. André, (2024) Molecular evidence of *Bartonella* spp. in tropical wild birds from the Brazilian Pantanal, the largest wetland in South America, **Veterinary Research Communications** 48 1631–1640. https://doi.org/10.1007/s11259-024-10341-z.

[38] G. Valkiunas, (2004). Avian Malaria Parasites and other Haemosporidia, **CRC Press**, https://doi.org/10.1201/9780203643792.

[39] C.T. Atkinson, T. Nancy J, D.B. Hunter, Parasitic diseases of wild birds, in: C.T. Atkinson, N.J. Thomas, D.B. Hunter (Eds.), In Parasitic Diseases of Wild Birds, **Wiley-Blackwell,** Oxford, UK, 2009. https://doi.org/10.1002/9780813804620.ch5.

[40] M. Friend, J.C. Franson, (1999). Field Manual of General Field Procedures and Diseases of Birds Field Manual of, **National Wildlife Health Center, Madison,**

[41] M.L. Adamson, R.C. Anderson, (1993) Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission, **Journal of Parasitology** 79 634. https://doi.org/10.2307/3283397.

[42] C.M. Bartlett, (1992) New, known and unidentified species of *Eulimdana* (Nematoda): additional information on biologically unusual filarioids of charadriiform birds, **Systematic Parasitology** 23 209–230. https://doi.org/10.1007/BF00010874.

[43] M. Haas, V. Baruš, V. Benedikt, I. Literák, (2011) Microfilariae in birds in the Czech Republic, including a note on adult nematodes *Eufilaria delicata* in a song thrush *Turdus philomelos*, **Parasitology Research** 109 645–655. https://doi.org/10.1007/s00436-011-2297-4.

[44] J.A. Vaughan, J. Hinson, E.S. Andrews, M.J. Turell, (2021) Pre-existing Microfilarial Infections of American Robins (Passeriformes: Turdidae) and Common Grackles (Passeriformes: Icteridae) Have Limited Impact on Enhancing Dissemination of West Nile Virus in *Culex pipiens* Mosquitoes (Diptera: Culicidae), **Journal of Medical Entomology** 58 1389–1397. https://doi.org/10.1093/jme/tjaa261.

[45] O.A. Rodríguez, N.E. Matta, (2001) Blood parasites in some birds from eastern plains of Colombia, **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 96 1173–1176. https://doi.org/10.1590/S0074-02762001000800026.

[46] V. Benedikt, V. Barus, M. Capek, M. Havlicek, I. Literak (2009), Blood parasites (*Haemoproteus* and microfilariae) in birds from the Caribbean slope of Costa Rica, **Acta Parasitologica** 54 197–204. https://doi.org/10.2478/s11686-009-0043-1.

[47] O. Bain, D. Otranto, D.G. Diniz, J.N. dos Santos, N.P. de Oliveira, I.N.F. de Almeida, R.N.F. de Almeida, L.N.F. de Almeida, F. Dantas-Torres, E.F. de Almeida Sobrinho, (2011) Human Intraocular Filariasis caused by *Pelecitus* sp. Nematode, Brazil, **Emerging Infectious Diseases** 17 867–869. https://doi.org/10.3201/eid1705.101309.

[48] P. Mitchell, Mitchell_(2001) NatBiotech_, 19 717–721.

[49] L. Michelet, S. Delannoy, E. Devillers, G. Umhang, A. Aspan, M. Juremalm, J. Chirico, F.J. van der Wal, H. Sprong, T.P. Boye Pihl, K. Klitgaard, R. Bødker, P. Fach, S. Moutailler, (2014) High-throughput screening of tick-borne pathogens in Europe, **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** 4 1–13. https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00103.

[50] G. Boularias, N. Azzag, C. Galon, L. Šimo, H.J. Boulouis, S. Moutailler, (2021). High-throughput microfluidic real-time pcr for the detection of multiple microorganisms in ixodid cattle ticks in Northeast Algeria, **Pathogens** 10 https://doi.org/10.3390/pathogens10030362.

[51] B. Defaye, S. Moutailler, B. Vollot, C. Galon, G. Gonzalez, R.A. Moraes, A.S. Leoncini, A. Rataud, G. Le Guillou, V. Pasqualini, Y. Quilichini, (2023) Detection of Pathogens and Ticks on Sedentary and Migratory Birds in Two Corsican Wetlands (France, Mediterranean Area), **Microorganisms** 11 1–15. https://doi.org/10.3390/microorganisms11040869.

[52] A. Rataud, C. Galon, L. Bournez, P. Henry, M. Marsot, S. Moutailler, (2022) Diversity of Tick-Borne Pathogens in Tick Larvae Feeding on Breeding Birds in France,**Pathogens** 1–16.

[53] E.R. Hill, C.L. Chun, K. Hamilton, S. Ishii, (2023) High-Throughput Microfluidic Quantitative PCR Platform for the Simultaneous Quantification of Pathogens, Fecal Indicator Bacteria, and Microbial Source Tracking Markers, **ACS ES&T Water** 3 2647–2658. https://doi.org/10.1021/acsestwater.3c00169.

[54] M. Dreier, H. Berthoud, N. Shani, D. Wechsler, P. Junier, (2021) Development of a High-Throughput Microfluidic qPCR System for the Quantitative Determination of Quality-Relevant Bacteria in Cheese, **Frontiers Microbiology** 11 619166. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.619166.

[55] S.L. Crane, J. van Dorst, G.C. Hose, C.K. King, B.C. Ferrari, (2018) Microfluidic qPCR Enables High Throughput Quantification of Microbial Functional Genes but Requires Strict Curation of Primers, **Frontiers in Environmental Science** 6 414831. https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00145.

[56] J. Liu, C. Hansen, S.R. Quake, (2003) Solving the “world-to-chip” interface problem with a microfluidic matrix, **Analytical Chemistry Journal** 75 4718–4723. https://doi.org/10.1021/ac0346407.

[57] M.C. de Sena Oliveira, P.C. Silva, C. Hiromi OkinO, C.C. Basetto, R. Giglioti, (2018).Extração de DNA por FTA,

[58] H. Hatai, K. Ochiai, M. Murakami, S. Imanishi, Y. Tomioka, T. Toyoda, K. Ohashi, T. Umemura, (2008) Prevalence of Fowl Glioma-Inducing Virus in Chickens of Zoological Gardens in Japan and Nucleotide Variation in the env Gene, **Journal of Veterinary Medical Science** 70 469–474. https://doi.org/10.1292/JVMS.70.469.

[59] M. Gondard, S. Delannoy, V. Pinarello, R. Aprelon, E. Devillers, C. Galon, J. Pradel, M. Vayssier-Taussat, E. Albina, S. Moutailler, (2020) Upscaling the Surveillance of Tick-Borne Pathogens in the French Caribbean Islands, **Pathogens** 9 176. https://doi.org/10.3390/pathogens9030176.

[61] T.A. Hall, (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT, **Nucleic Acids Symposium** Ser 41 95–98. https://doi.org/citeulike-article-id:691774.

[62] S. Altschul, (1990) Basic Local Alignment Search Tool, **Journal of Molecular Biology** 215 403–410. https://doi.org/10.1006/jmbi.1990.9999.

[63] V.A. Rar, N. V. Fomenko, A.K. Dobrotvorsky, N.H. Livanova, S.A. Rudakova, E.G. Fedorov, V.B. Astanin, O. V. Morozova, (2005) Tickborne Pathogen Detection, Western Siberia, Russia, **Emerging Infectious Diseases** 11 1708. https://doi.org/10.3201/EID1111.041195.

[64] A.T. Eberhardt, D.E. Manzoli, C. Fernandez, D. Zurvera, L.D. Monje, (2023) *Anaplasma* species infecting questing ticks in the Iberá wetlands ecoregion, Argentina, **Experimental and Applied Acarology** 89 485–496. https://doi.org/10.1007/S10493-023-00788-1/FIGURES/3.

[65] L.D. Monje, C. Fernandez, A. Percara, (2018) Ticks and Tick-borne Diseases Detection of *Ehrlichia* sp strain San Luis and *Candidatus* Rickettsia andeanae in *Amblyomma parvum* ticks, **Ticks and Tick Borne Diseases** 0–1. https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.09.008.

[66] P. Parola, V. Roux, J.-L. Camicas, I. Baradji, P. Brouqui, D. Raoult, (2000) Detection of ehrlichiae in African ticks by polymerase chain reaction, **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** 94 707–708. https://doi.org/10.1016/S0035-9203(00)90243-8.

[67] D. Rejmanek, G. Bradburd, J. Foley, (2012) Molecular characterization reveals distinct genospecies of *Anaplasma phagocytophilum* from diverse North American hosts, **Journal of Medical Microbiology** 61 204–212. https://doi.org/10.1099/jmm.0.034702-0.

[68] J.N. Rampersad, J.D. Watkins, M.S. Samlal, R. Deonanan, S. Ramsubeik, D.R. Ammons, (2005) A nested-PCR with an Internal Amplification Control for the detection and differentiation of *Bartonella henselae* and *B. clarridgeiae*: An examination of cats in Trinidad, **BMC Infectious Diseases** 5 1–6. https://doi.org/10.1186/1471-2334-5-63.

[69] A.F. Norman, R. Regnery, P. Jameson, C. Greene, D.C. Krause, (1995) Differentiation of *Bartonella*-like isolates at the species level by PCR- restriction fragment length polymorphism in the citrate synthase gene, **Journal** of **Clinical Microbiology** 33 1797–1803. https://doi.org/10.1128/jcm.33.7.1797-1803.1995.

[70] S.A. Billeter, V.A.K.B. Gundi, M.P. Rood, M.Y. Kosoy, A.K.B. Gundi, S.A. Billeter, M. Rood, M.Y. Kosoy, (2011) Molecular Detection and Identification of *Bartonella* Species in *Xenopsylla cheopis* Fleas (Siphonaptera: Pulicidae) Collected from *Rattus norvegicus* Rats in Los Angeles, California, **Applied and Environmental Microbiology Journal** 77 7850–7852. https://doi.org/10.1128/AEM.06012-11.

[71] A. Paziewska, P.D. Harris, L. Zwolińska, A. Bajer, E. Siński, (2011) Recombination Within and Between Species of the Alpha Proteobacterium *Bartonella* Infecting Rodents, **Microbial Ecology** 61 134–145. https://doi.org/10.1007/s00248-010-9735-1.

[72] J.M. Colborn, M.Y. Kosoy, V.L. Motin, M. V. Telepnev, G. Valbuena, K.S. Myint, Y. Fofanov, C. Putonti, C. Feng, L. Peruski, (2010) Improved detection of Bartonella DNA in mammalian hosts and arthropod vectors by real-time PCR using the NADH dehydrogenase gamma subunit (*nuo*G), **Journal** of **Clinical Microbiology** 48 4630–4633. https://doi.org/10.1128/JCM.00470-10.

[73] R.G. Maggi, E.B. Breitschwerdt, *(2005)*Isolation of bacteriophages from *Bartonella vinsonii* subsp. *berkhoffii* and the characterization of *Pap*31 gene sequences from bacterial and phage DNA, **The Journal of Microbiology and Biotechnology** 9 44–51. https://doi.org/10.1159/000088145.

[74] P. Renesto, J. Gouvernet, M. Drancourt, V. Roux, D. Raoult, (2001) Use of rpoB gene analysis for detection and identification of *Bartonella* species, **Journal** of **Clinical Microbiology** 39 430–437. https://doi.org/10.1128/JCM.39.2.430-437.2001/ASSET/87B0627F-3778-4156-8E4B-CC0B89618F3A/ASSETS/GRAPHIC/JM0210281004.JPEG.

[75] G. Johnson, M. Ayers, S.C.C. Mcclure, S.E. Richardson, R. Tellier, (2003) Detection and Identification of *Bartonella* Species Pathogenic for Humans by PCR Amplification Targeting the Riboflavin Synthase Gene (*rib*C), **Journal** of **Clinical Microbiology** 41 1069–1072. https://doi.org/10.1128/JCM.41.3.1069-1072.2003.

[76] R.G. Maggi, E.B. Breitschwerdt, *(2005)* Potential Limitations of the 16S-23S rRNA Intergenic Region for Molecular Detection of *Bartonella* Species**Journal** of **Clinical Microbiology** 43 1171–1176. https://doi.org/10.1128/JCM.43.3.1171.

[77] O. Hellgren, J. Waldenström, S. Bensch, (2004) A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood, **Journal of Parasitology** 90 797–802. https://doi.org/10.1645/GE-184R1.

[78] M. Casiraghi, T.J.C. Anderson, C. Bandi, C. Bazzocchi, C. Genchi, (2001) A phylogenetic analysis of filarial nematodes: Comparison with the phylogeny of *Wolbachia* endosymbionts, **Parasitology** 122 93–103. https://doi.org/10.1017/S0031182000007149.

[79] N. Hayashi, K. Hosokawa, Y. Yamamoto, S. Kodama, A. Kurokawa, R. Nakao, N. Nonaka, (2024) A filarial parasite potentially associated with the health burden on domestic chickens in Japan, **Scientific Reports** 14 1–13. https://doi.org/10.1038/s41598-024-55284-2.

[80] K. Katoh, J. Rozewicki, K.D. Yamada, (2019) MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization, **Oxford Academic** 20 1160–1166. https://doi.org/10.1093/bib/bbx108.

[81] J. Trifinopoulos, L.-T. Nguyen, A. von Haeseler, B.Q. Minh, (2016) W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis, **Nucleic Acids Research** 44 W232–W235. https://doi.org/10.1093/nar/gkw256.

[82] A. Rambaut, (2010) FigTree v1.3.1. A graphical viewer of phylogenetic trees.,.

[83] V. Palinauskas, R. Žiegytė, T.A. Iezhova, M. Ilgūnas, R. Bernotienė, G. Valkiūnas, (2016) Description, molecular characterizations, diagnostics and life cycle of *Plasmodium elongatum* (lineage pERIRUB01), the virulent avian malaria parasite, **International Journal for Parasitology** 46 697–707. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2016.05.005.

[84] A.Z. Sgarioni, P. Serafini, A. Pereira, T. Emmerich, T.P. de Pontes, D.C. Machado, P.R. Ribeiro, D.B. de Amorim, G. Klafke, J. Reck, (2024) Molecular Survey of Haemosporidian Parasites in Procellariiformes Sampled in Southern Brazil, 2013–22, **Journal of Wildlife Diseases** 60 413–420. https://doi.org/10.7589/JWD-D-23-00087.

[85] R. Vanstreels, C.K.M. Kolesnikovas, S. Sandri, P. Silveira, N.O. Belo, (2014) Outbreak of Avian Malaria Associated to Multiple Species of *Plasmodium* in Magellanic Penguins Undergoing Rehabilitation in Southern Brazil, **PLoS One** 9 94994. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094994.

[86] R. Binkienė, C.R.F. Chagas, R. Bernotienė, G. Valkiūnas, (2021) Molecular and morphological characterization of three new species of avian Onchocercidae (Nematoda) with emphasis on circulating microfilariae, **Parasite and Vectors** 14 137. https://doi.org/10.1186/s13071-021-04614-8.