

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 08/07/2026.

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

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

Gabrielly de Oliveira Lopes

Médica Veterinária

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

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

Gabrielly de Oliveira Lopes

Orientador: Prof. Dr. Marcos Rogério André

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

L864d

Lopes, Gabrielly de Oliveira

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

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

Orientador: Marcos Rogério André

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



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

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

AUTORA: GABRIELLY DE OLIVEIRA LOPES

ORIENTADOR: MARCOS ROGÉRIO ANDRÉ

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

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

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

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

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

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

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

Jaboticabal, 08 de julho de 2025

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

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

EPÍGRAFE

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

AGRADECIMENTOS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

SUMÁRIO

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

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

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



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



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

DECLARAÇÃO

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

Jaboticabal, 05 de novembro de 2024.

Dra. Helena Cristina Delgado Brito
Coordenadora – CEUA / FCAV

Documento assinado digitalmente
gov.br HELENA CRISTINA DELGADO BRITO
Data: 07/11/2024 11:31:38 -0500
Verifique em <https://validador.gov.br>

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



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



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

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

Jaboticabal, 27 de novembro de 2024.

Dra. Helena Cristina Delgado Brito

Coordenadora – CEUA



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

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

RESUMO

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

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

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

ABSTRACT

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

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

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

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

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

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

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

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

5. Conclusão

Este estudo revelou grande diversidade genética de *Bartonella* spp. em moscas da família Streblidae associadas a morcegos cavernícolas na Amazônia brasileira, no estado do Pará, região norte do Brasil. As análises filogenéticas baseadas em três marcadores moleculares revelaram relações próximas entre as sequências detectadas e linhagens encontradas em morcegos e moscas associadas no Brasil em outros países, indicando um fluxo gênico amplo e adaptações específicas a hospedeiros e vetores. Trata-se da primeira evidência molecular de *Bartonella* spp. em moscas Streblidae parasitas de morcegos cavernícolas no Brasil, abrindo fronteiras para estudos interespecíficos (*Bartonella*-mosca-morcego) em ecossistemas ainda pouco explorados no país. Adicionalmente, o presente trabalho traz a primeira detecção molecular de *Bartonella* spp. em *N. parnelli*, *T. galei*, *M. minuta* e *T. johnsonae*, ampliando a diversidade de prováveis vetores dessas bactérias.

Funding

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

REFERÊNCIAS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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