

OCORRÊNCIA E DIVERSIDADE DE *BARTONELLA* EM MORCEGOS, ROEDORES, MARSUPIAIS E SAGUIS

Data de aceite: 13/03/2023

Jonathan Gonçalves-Oliveira

Laboratório de Hantavíroses e Rickettsioses, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil
Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Paulo Sérgio D'Andrea

Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Elba Regina Sampaio de Lemos

Laboratório de Hantavíroses e Rickettsioses, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

RESUMO: As espécies de *Bartonella* são agentes zoonóticos que infectam mamíferos e são transmitidos por vetores artrópodes. Diversos genótipos de *Bartonella* foram identificados em várias espécies de mamíferos selvagens e, no presente estudo, analisamos amostras de baço e fígado de primatas não humanos

(saguis), marsupiais, roedores e morcegos capturados na Estação Biológica Fiocruz Mata Atlântica, Rio de Janeiro e os resultados obtidos foram comparados com os genótipos descritos em mamíferos de Brasil. Utilizamos a PCR convencional para detectar o DNA de *Bartonella* usando fragmentos parciais dos genes *gltA*, *ftsZ* e *groEL*. Geramos árvores de inferência bayesiana e de máxima verossimilhança para caracterizar as amostras de PCR positivas e inferir as relações filogenéticas dos genótipos. Um total de 161 animais foram capturados, incluindo 110 morcegos, 4 roedores, 10 marsupiais e 37 saguis. O DNA de *Bartonella* foi amplificado a partir de amostras de tecido coletadas de 5 (3,1%) dos animais, dentre os quais, as espécies de morcegos *Artibeus lituratus* (3/58), *Carollia perspicillata* (1/15) e *Myotis izecksohni* (1/5). Considerando a diversidade de genótipos de *Bartonella* em diferentes loci e hospedeiros identificados no presente estudo, mais pesquisas são necessárias para melhor compreender as relações entre os diferentes genótipos de *Bartonella* e seus vetores e espécies hospedeiras. A presença de *Bartonella* spp. em morcegos da área de estudo indica que as populações humanas locais podem estar em risco de infecção por

este agente zoonótico devido ao *spillover* dessas espécies/genótipos circulantes no ambiente silvestre para os ambientes domésticos e peridomésticos. Os dados deste estudo encontram-se disponíveis em artigo publicado em revista científica em julho de 2020.

INTRODUÇÃO

Breve histórico das bartoneloses

Na década de 1910, uma doença emergente nomeada como “febre nas trincheiras” atingiu um milhão de soldados durante a Primeira Guerra Mundial. Essa patologia, até então desconhecida, foi causada por uma bactéria que, devido ao seu difícil cultivo, foi descrita como *Rickettsia quintana* (MURRAY, 1918; VENNING, 1919). Na ocasião, foi identificado que essas bactérias eram transmitidas pelo piolho humano (*Pediculus humanus*) e que os soldados acometidos por essa enfermidade tinham um quadro febril e também poderiam evoluir, entre outras manifestações clínicas, para um grave comprometimento cardíaco, denominado na época de “ação desordenada do coração”, atualmente conhecido como endocardite (RUIZ, 2018; ANSTEAD, 2016).

A bactéria, então denominada *Rickettsia quintana*, após ter sido cultivada em meio axênico na década de 1960, foi reclassificada como *Rochalimaea quintana*, em homenagem ao notável pesquisador brasileiro Henrique da Rocha Lima, por sua essencial contribuição no campo da rickettsiologia (ITO & VINSON, 1965; VINSON, 1966). Na sequência, foi identificada uma segunda nova espécie, *Rochalimaea henselae*, que, assim como *R. quintana*, passou a ser também relacionada à angiomatose bacilar (AB), uma entidade clínica caracterizada por lesões angiogênicas semelhantes à verruga peruana que acometia frequentemente pacientes com a síndrome da deficiência imunológica adquirida (SIDA) (KOEHLER *et al.*, 1992; REGNER *et al.*, 1992; RELMAN *et al.*, 1990; SLATER *et al.*, 1990; WELCH *et al.*, 1992).

Ainda na década de 1990, além da AB em pacientes com SIDA, essas duas espécies do mesmo tipo de agente etiológico foram identificadas também em pacientes imunocompetentes, principalmente em populações vulneráveis, como pessoas em situação de rua (MINNICK; BATTISTI, 2009). Concomitantemente, a espécie *R. henselae* foi reconhecida como o principal agente etiológico da doença da arranhadura do gato (DAG), um agravo, até então, relacionado ao agente *Afipia felis* (ANDERSON *et al.*, 1993; REGNER *et al.*, 1992b). Assim, considerando o dinamismo da história das doenças infecciosas e a humanidade, fica evidente a emergência e reemergência dessas bactérias que não somente adoeceram os soldados da Primeira Guerra Mundial, mas que também fizeram ressurgir infecções oportunistas em pacientes com SIDA e populações de sem-teto em áreas urbanas no início dos anos 1990 (MINNICK; BATTISTI, 2009).

Com advento das técnicas moleculares foi possível comprovar, a partir dos estudos do DNA e da análise do gene 16S, que os membros do gênero *Rochalimaea* estavam

intimamente relacionados a outra espécie bacteriana, chamada *Bartonella bacilliformis*, descrita pela primeira vez no Peru no final do século XIX (HUARCAYA *et al.*, 2004; DEL VALLE-MENDOZA *et al.*, 2018). Reconhecida como a única espécie do gênero *Bartonella* até 1993 (BRENNER *et al.*, 1993), essa bactéria é o agente causador da doença de Carrión, uma doença infecciosa que se apresenta com duas fases: a fase de uma anemia hemolítica aguda, reconhecida como “febre de Oroya”, e a fase crônica, conhecida como “verruca peruana”, ambas restritas à região andina (MINNICK *et al.*, 2014). Na forma crônica, o paciente apresenta lesões cutâneas caracterizadas por nódulos angiogênicos altamente vascularizados (NOGUICH, 1926). Neste contexto de reclassificação taxonômica a partir de dados moleculares, o gênero *Rochalimaea* foi então removido da ordem Rickettsiales e sinonimizado com o gênero *Bartonella*, o qual permaneceu como gênero monotípico da família Bartonellaceae (BRENNER *et al.*, 1993).

Agente etiológico

O gênero *Bartonella* compreende microrganismos pertencentes ao subgrupo alfa-2 da classe Proteobacteria, apresenta-se como bactéria Gram-negativa, de formato bacilar, com espécies que apresentam cílios e flagelos (ANGELAKIS; RAOULT, 2014). Atualmente, o gênero é constituído por mais de 40 espécies, dentre elas, algumas reconhecidas como subespécies e, desta forma, caracterizadas como espécies “candidatas” (OKARO *et al.*, 2017). Esse número cresce exponencialmente visto que a diversidade de potenciais reservatórios desse agente zoonótico é ainda subestimada (BREITSCHWERDT & KORDICK 2000; CHOMEL *et al.*, 2003a; BREITSCHWERDT *et al.*, 2010; LEI & OLIVAL 2014; SEGERS *et al.*, 2017).

As espécies do gênero *Bartonella* geralmente são encontradas em dois ambientes específicos: no intestino de um vetor artrópode e na corrente sanguínea do hospedeiro mamífero, com tropismo para as células do endotélio e eritrócitos (MINNICK; BATTISTI, 2009). A capacidade dessas bactérias de serem transmitidas por vetores hematófagos artrópodes facilita a sobrevivência e a dispersão desse agente bacteriano. Os vetores de *Bartonella* são diversos, incluindo pulgas, piolhos, carrapatos e flebotomíneos, esse último vetor especificamente da espécie *B. bacilliformis* (SANGARÉ *et al.*, 2014; STUCKEY *et al.*, 2017; VALLE-MENDOZA *et al.*, 2018; MAZUREK *et al.*, 2018; MÜLLER *et al.*, 2018; ŠLAPETA *et al.*, 2018).

Estudos mostram que as espécies de *Bartonella* provavelmente diversificaram de uma linhagem simbiote de abelha que, ao perderem diversos genes (cerca de 500), formaram um grupo extremamente diversificado com várias linhagens descritas entre os mamíferos (Eubartonellae), dentre os quais, os roedores e morcegos, considerados os seus principais reservatórios (LEI & OLIVAL, 2014; SEGERS *et al.*, 2017). Embora, até a presente data, apenas 18 genótipos tenham sido implicados como agentes causadores de

doença humana, 45 espécies de *Bartonella* têm sido identificadas em diversos grupos de vertebrados reservatórios como os animais domésticos, animais de produção e diversas espécies de animais silvestres, além de humanos no caso da espécie *B. bacilliformis* (VU DANG *et al.*, 2004; DRANCOURT *et al.*, 2005; FOURNIER *et al.*, 2015). Nas últimas décadas, novos grupos de animais reservatórios têm sido identificados, como mamíferos marinhos (CARRASCO *et al.*, 2014), herbívoros terrestres (BERMOND *et al.*, 2002; EREQAT *et al.*, 2016) e carnívoros selvagens, incluindo leões, ursos e raposas (MOLIA *et al.*, 2004; HENN *et al.*, 2009a, 2009b; GERRIKAGOITIA *et al.*, 2012; CHOMEL *et al.*, 2016; JAFFE *et al.*, 2018; KRÓL *et al.*, 2019).

O ciclo de infecção por *Bartonella* spp. se inicia a partir da picada de um artrópode hematófago infectado com a penetração desse agente a partir de abrasões e lesões na pele de um hospedeiro mamífero. Após a penetração, as bartonelas permanecem inicialmente no seu nicho primário, no sistema monocítico fagocitário (células dendríticas e macrófagos), cujo comprometimento determina o surgimento de linfadenopatia localizada. Somente com o desenvolvimento da infecção, sem o controle do sistema imunológico, os eritrócitos passam a ser colonizados, resultando em uma bacteremia na qual ocorrem as etapas de adesão até a invasão, com persistência intracelular e conseqüente fechamento do ciclo com a transmissão do agente para o vetor.

Bartonelas e a Bartonelose no Brasil

No Brasil, a circulação de *Bartonella* spp. foi registrada primeiramente a partir de evidências sorológicas em pacientes. Amostras de 457 pacientes adultos foram coletadas entre o período de março e abril de 2001 no município de Piau, Minas Gerais, onde foi possível identificar que 13,7% (60/457) dos pacientes tinham anticorpos para *B. henselae* e 12,8% (56/457) para *B. quintana* (Costa *et al.*, 2005).

Em um estudo desenvolvido no Rio de Janeiro, em 2005, quando 125 amostras de pacientes HIV-positivos de Jacarepaguá foram testadas, os autores detectaram uma prevalência de 38,4% (48/125) de anticorpos da classe IgG anti-*B. henselae*. 20% tinham gatos como animais de estimação e 48% relataram ter contato direto ou indireto com gatos domésticos. O mesmo número de amostras de um banco de doadores de sangue foi utilizado como grupo controle da região estudada (Jacarepaguá, RJ) e a soroprevalência verificada de 34,4% foi semelhante à dos pacientes HIV-positivos (LAMAS *et al.*, 2008, 2010). Em 2014, ainda em paciente HIV-positivo, foi identificado no município do Rio de Janeiro um caso de infecção por *Bartonella* spp., em que as manifestações clínicas se caracterizam por ser um quadro febril associado a uma lesão cutânea e adenomegalia. Na história epidemiológica, o paciente relatava contato com animal doméstico e a suspeita de infecção por *Bartonella* spp. foi confirmada por análise molecular (FAVACHO *et al.*, 2014).

Quanto aos animais domésticos, um estudo foi realizado em três mesorregiões do

estado Rio de Janeiro, onde 204 amostras sanguíneas de gatos domésticos foram PCR-positivas. A prevalência de gatos PCR-positivos para *Bartonella* spp. variou de 4% a 70%, de acordo com as mesorregiões: (i) região metropolitana, composta por 24 localidades, com 70% (144/204) gatos PCR-positivos; ; (ii) municípios de Niterói e Duque de Caxias, com 6% (14/204) das amostras de gatos infectados; (iii) região serrana, em especial em Itaipava, com 4% (9/204) gatos PCR-positivos; e (iv) região centro sul-fluminense, onde 18% (37/204) das amostras foram positivas (SOUZA, 2009).

Posteriormente, em 2010, foram detectados roedores da espécie *Rattus norvegicus* naturalmente infectados em áreas urbanas de Salvador, onde 35% dos animais analisados foram positivos em análises sorológicas e moleculares (26/73); um dos roedores apresentou também coinfeção com *Seoul orthohantavirus* (SEOV), um vírus causador da febre hemorrágica (hantavirose) na Europa, Ásia e também no Brasil (LEDUC *et al.*, 1985; COSTA *et al.*, 2014).

A ocorrência de infecção em roedores silvestres no Brasil só foi registrada recentemente, quando 42 animais capturados no estado de Mato Grosso do Sul, nos municípios de Sidrolândia e Dois Irmãos do Buriti, foram submetidos à análise molecular e 18 deles mostraram-se infectados por bartonelas. Sete espécies de roedores sigmodontíneos foram positivas para *B. vinsonii* subsp. *arapuensis*: *Calomys callosus*, *Cerradomys maracajuensis*, *Hylaeamus megacephalus*, *Necomys lasiurus*, *Nectomys squamipes*, *Oecomys catherinae* e *Oxymycterus delator* (FAVACHO *et al.*, 2015).

Estudos mais recentes, em ecorregiões diferentes, vêm sendo realizados para compreender a participação de mamíferos silvestres no ciclo zoonótico das bartonelas (GONÇALVES *et al.*, 2016; FONTALVO *et al.*, 2017). Assim, no bioma da Caatinga, foram analisados os mamíferos domésticos, silvestres e seus ectoparasitas através de análises sorológicas e moleculares. Registrou-se que das 109 amostras de cães, 27 apresentaram anticorpos para *Bartonella* spp. (24,7%) e dos 40 gatos, seis também foram sororreativos (15%). Carrapatos e pulgas foram submetidos à análise molecular e duas espécies de pulgas foram positivas: (i) *Polyplax irritans*, coletada do canídeo silvestre *Cerdocyon thous*, infectada pela espécie *B. rochalimae*; (ii) *P. irritans* coletada de cães domésticos, infectada por *B. rochalimae* e *B. vinsonii berkhoffi*; e (iii) *Ctenocephalides felis felis* coletada de gatos domésticos, infectada por *B. clarridgeae* e *B. henselae* (FONTALVO *et al.*, 2017).

Quanto à presença de infecção em quirópteros e roedores no Brasil, é preciso ressaltar a publicação de dois estudos conduzidos nos últimos quatro anos no estado do Rio de Janeiro, onde amostras biológicas submetidas a análises moleculares mostraram-se infectadas por *Bartonella* spp. No primeiro estudo, Rozental *et al.* (2017) identificaram sete espécies de roedores silvestres infectados por *Bartonella* spp. em seis municípios do Rio de Janeiro. No segundo estudo desenvolvido por Ferreira *et al.* (2018), quirópteros foram capturados em áreas de proteção ambiental com o objetivo de investigar a infecção por bartonelas e outras rickettsias em três diferentes estados: (i) Rio de Janeiro, no Parque

Estadual da Pedra Branca; (ii) Bahia, na Área de Proteção Ambiental do Pratigi e (iii) Santa Cantarina, no Parque Estadual da Serra do Tabuleiro. *Desmodus rotundus*, *Artibeus fimbriatus*, *A. obscurus* e *Sturnira lilium* foram as espécies positivas para *Bartonella* spp.

No Brasil, apenas em 2014 a notificação da bartonelose tornou-se obrigatória no contexto do diagnóstico diferencial da febre maculosa, e a participação de animais domésticos, silvestres e humanos e a relação clínico-epidemiológica passaram a levantar uma série de questões ecológicas da interação entre esses grupos de hospedeiros. Neste contexto, a manutenção do ciclo zoonótico em áreas urbanas e de reservas florestais, assim como a participação de vetores potenciais, ainda é muito pouco conhecida no Rio de Janeiro, assim como em todo território nacional.

No ciclo silvestre desse agente, roedores e morcegos são os principais reservatórios de *Bartonella* spp., e em áreas florestais com intensa ação antrópica, cães ou gatos domésticos são reconhecidamente importantes predadores de roedores e morcegos, o que aumenta o risco de emergência de novos ciclos de diferentes espécies desse grupo de patógenos bacterianos. As unidades de conservação urbanas, como o Parque Estadual da Pedra Branca (PEPB), além de serem zonas de refúgio para animais silvestres, são rodeadas por casas nas quais, de forma recorrente, se observa o registro de animais domésticos explorando seu entorno, fato que aumenta a possibilidade de transmissão de espécies de *Bartonella* que estão associadas a mamíferos silvestres, aos animais domésticos e à população humana.

Com base neste cenário, de 2015 a 2019 foi realizado um estudo com o objetivo de investigar a presença e caracterizar filogeneticamente as espécies/genótipos de *Bartonella* spp. identificadas em mamíferos silvestres das ordens Rodentia, Didelphimorphia, Chiroptera e Primates capturados na Estação Biológica Fiocruz Mata Atlântica, a fim de conhecer os processos de diversificação desses microrganismos e seus potenciais hospedeiros vertebrados.

METODOLOGIA

Área de estudo

O estudo foi realizado na Estação Biológica Fiocruz Mata Atlântica (EFMA), parcialmente sobreposta ao Parque Estadual da Pedra Branca (PEPB) no município do Rio de Janeiro. As amostras foram coletadas de janeiro de 2015 a dezembro de 2018 na EFMA, em um gradiente de antropização que variou de regiões com maior grau de atividade antrópica (habitações e uso do espaço) a áreas mais preservadas (menor uso de espaço e sem habitações). Essa área possui 125 km² de vegetação secundária de Mata Atlântica, 26% de floresta com intensa atividade antrópica baseada na agricultura e pastagem, 17% de floresta secundária e 55% de floresta contínua preservada. O PEPB é

o maior remanescente florestal de floresta ombrófila densa contínua na cidade do Rio de Janeiro e considerado a maior cobertura vegetal nas áreas urbanas do Estado do Rio de Janeiro (INEA, 2013a, 2013b).

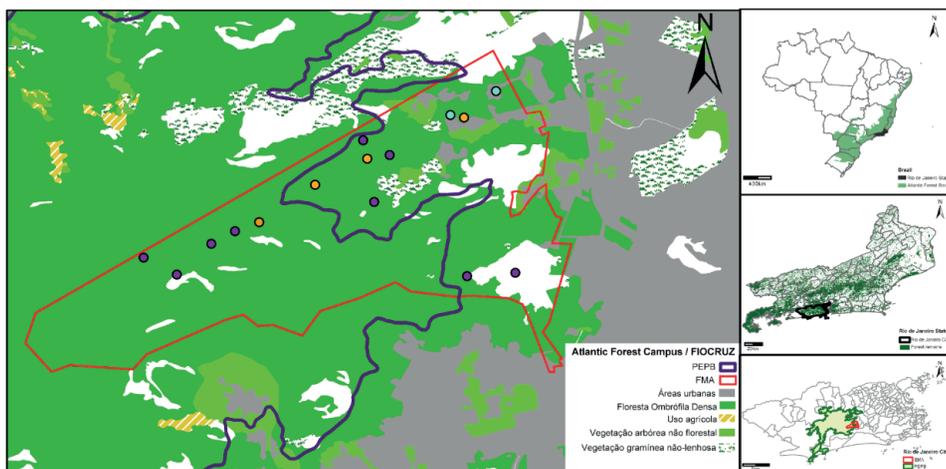


Figura 1. Áreas de amostragem de mamíferos silvestres na Estação Biológica Fiocruz Mata Atlântica (delimitada em vermelho), indicando os pontos de amostragem de primatas não-humanos (azul), roedores, marsupiais (roxo) e morcegos (amarelo).

Métodos de captura de primatas não humanos do gênero *Callithrix*

Os saguis foram capturados em dois pontos do peridomicílio da EFMA (Figura 1). As amostragens foram realizadas em janeiro de 2015, novembro de 2016 e setembro de 2018. Cada ponto de captura teve um período de adaptação à armadilha, foi iscado com bananas por 10 dias, e colocado para atrair os animais e aumentar a frequência de grupos de saguis nos pontos escolhidos. Após esse período, que depende da frequência de ocorrência dos animais em cada ponto, dez armadilhas Tomahawk™ (Modelo 201, 16 x 5 pol x 5 polegadas) foram colocadas para a captura dos animais. Os saguis capturados foram transportados dentro das armadilhas até o laboratório de campo da EFMA (a 500 m do local de captura), com o cuidado de mantê-los em bolsas escuras para reduzir o estresse e o risco de automutilação. As espécies *Callithrix jacchus* e *C. penicillata* são oriundas dos biomas da Caatinga e do Cerrado, respectivamente (CÉZAR *et al.*, 2017). Ambas foram introduzidas em áreas antropizadas do Rio de Janeiro, causando impacto na conservação das espécies nativas de saguis, como *C. geoffroyi* e *Leontopithecus rosalia*. Devido à hibridização natural entre *C. jacchus* e *C. penicillata* já relatada nessas áreas e à complexidade na diferenciação das características morfológicas e moleculares dos híbridos, a nomenclatura adotada foi *Callithrix* sp para classificar os espécimes encontrados na EFMA.

Métodos de captura dos roedores e marsupiais

As áreas de captura de roedores e marsupiais foram estabelecidas por nove transectos lineares e diferentes estados de conservação da paisagem. Três amostragens foram realizadas em julho, outubro e novembro de 2017. Cada transecto foi composto por 20 estações de captura distantes 20 metros uma da outra. Dentre esses transectos, dois foram estabelecidos no peridomicílio, três transectos nas áreas de transição e quatro transectos dentro dos limites do PEBP (Figura 1). Em cada estação de captura, duas armadilhas do tipo *live-trap* foram usadas, uma tipo Tomahawk™ (50 x 21,5 x 20) e uma do tipo Sherman™ (37,5 x 10 x 12 cm). Essas armadilhas são adequadas para capturar pequenos mamíferos vivos de até 3 kg.

Métodos de captura dos morcegos

As capturas de morcegos foram realizadas em quatro áreas com diferentes estágios de conservação durante os períodos de maior e menor pluviosidade (Figura 1). Cinco amostragens foram realizadas em outubro e novembro de 2017 e em fevereiro, julho e dezembro de 2018, com cada uma delas composta por quatro noites de capturas consecutivas. As áreas de amostragem foram estabelecidas ao longo de um gradiente antrópico, em que o ponto exterior se caracterizava por ser o mais degradado e com intensa pressão antrópica; o segundo ponto apresentava um grau intermediário de conservação e pressão; o terceiro ponto em área conservada e com baixa pressão antrópica; e o último ponto, localizado no interior do parque, caracterizava-se por ser uma área mais conservada e com baixa pressão antrópica. Foram utilizadas 10 redes de neblina (poliéster, malha de 20 mm, medindo 9 x 3 m) próximas a fontes de alimentos, corpos d'água e rotas de voo, como trilhas existentes na floresta, estradas e clareiras na vegetação. As redes de neblina foram abertas no crepúsculo com revisão em intervalos de 15 minutos e fechadas após quatro horas de exposição (ESBÉRARD; BERGALLO, 2008). Os animais colhidos foram embalados em sacos de algodão e posteriormente registrados para os espécimes como uma descrição geral.

Métodos laboratoriais para detecção de DNA de *Bartonella* spp.

As amostras de fígado e baço foram submetidas à extração de DNA usando um kit comercial (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen®) de acordo com as instruções do fabricante. Amostras do baço eram preferidas para testes moleculares (KOSOY *et al.*, 2018), mas quando indisponíveis, foram utilizadas as amostras de fígados. A qualidade do DNA extraído foi avaliada a partir de géis de agarose. O DNA de *Bartonella* detectado em roedores e morcegos silvestres em estudos anteriores (FERREIRA *et al.*, 2018; ROZENTAL *et al.*, 2017) foi usado como controle positivo para a PCR, e água *nuclease-free* (UltraPure™ DNase / RNase -Free - Invitrogen) foi utilizada como controle negativo.

As amostras de DNA foram submetidas à detecção molecular por PCR convencional para avaliar a presença de DNA de *Bartonella* spp., a partir de uma etapa de triagem pelo fragmento do gene *gltA* (GONÇALVES-OLIVEIRA *et al.*, 2020; ROZENTAL *et al.*, 2017). Posteriormente, a partir do resultado positivo, outros genes foram amplificados utilizando os primers descritos no Quadro 1. A reação de PCR foi conduzida em um volume final de 25 µl de acordo com as instruções do fabricante e usando os métodos de Rozental *et al.* (2017). As etapas da reação estão listadas no Quadro 1 para cada gene analisado. Para a reação de sequenciamento, os produtos amplificados foram purificados usando o kit Illustra GFX PCR DNA e Gel Band Purification (GE Healthcare ©) e foram sequenciados usando o kit BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction®v3.1 (Thermo Fisher Scientific™, Waltham, MA, EUA).

Quadro 1. Sequências de primers dos fragmentos dos genes alvo (*gltA*, *ftsZ* e *groEL*) e das ciclagens da PCR de *Bartonella* spp. em amostras biológicas de mamíferos capturados na Estação Biológica Fiocruz Mata Atlântica.

Primes (5'-3')	Gene (<i>Bartonella</i> spp)	Produto (pb)	Ciclagens	Referencias
<i>gltA</i> F1 (GCT ATG TCT GCV TTC TAT CAY GA) <i>gltA</i> OR1 (AGA ACA GTA AAC ATT TCN GTH GG)	<i>gltA</i>	731	95 °C for 10 min, 35 cycles of 95 °C for 30 s, 58 °C for 30 s, and 72 °C for 45s, and final extension of 72 °C for 8 min.	Rozental <i>et al.</i> (2017)
<i>gltA</i> F2 (ACD CTY GCY GCD ATG GCN ATA A) <i>gltA</i> R1 (AGA ACA GTA AAC ATT TCN GTH GG)	<i>gltA</i>	500	95 °C for 10 min, 35 cycles of 95 °C for 30 s, 60 °C for 30 s, and 72 °C for 45s, and final extension of 72 °C for 8 min.	Rozental <i>et al.</i> (2017)
<i>ftsZ</i> F1 (ATT AAT CTG CAY CCG CCA GAT AT) <i>ftsZ</i> R1 (TCA TCA TCA ATR GCV CCA AAR AT)	<i>ftsZ</i>	791	95 °C for 10 min, 35 cycles of 95 °C for 30 s, 54 °C for 30 s, and 72 °C for 45s, and final extension of 72 °C for 8 min.	Gonçalves-Oliveira <i>et al.</i> (2020)
<i>groEL</i> F1 (TTR GAA GTY GTK GAA GGD ATG CA) <i>groEL</i> R1 (GCN GCT TCT TCA CCG DCA TT)	<i>groEL</i>	798	95 °C for 10 min, 35 cycles of 95 °C for 30 s, 54 °C for 30 s, and 72 °C for 45s, and final extension of 72 °C for 8 min.	Gonçalves-Oliveira <i>et al.</i> (2020)

Bioinformática

As sequências de nucleotídeos, os cromatogramas e as sequência de consenso foram analisados no programa Geneious®11.1.5 (KEARSE *et al.*, 2012). As sequências nesse estudo e das bases de dados Genbank foram alinhadas com as espécies descritas por Okaro e colaboradores (2017). As sequências de *Brucella abortus* IVRI / 95 e *Ca. Tokpelaia hoelldoblerii* (SEGERS *et al.*, 2017) foram usados como grupos externos. Os alinhamentos finais de *gltA* (718 bps), *ftsZ* (788 bps) e *groEL* (798 bps) e os genótipos brasileiros de cada gene foram incluídos nas análises (GONÇALVES *et al.*, 2020; CALCHI *et al.*, 2020; ANDRÉ *et al.*, 2019a; ANDRÉ *et al.*, 2019b; PEDRASSANI *et al.*, 2019; SILVA

et al., 2019; AMARAL *et al.*, 2018; SOUSA *et al.*, 2018; FERREIRA *et al.*, 2018; ROZENTAL *et al.*, 2017; IKEDA *et al.*, 2017; GONÇALVES *et al.*, 2016a; DINIZ *et al.*, 2016; ANDRÉ *et al.*, 2014; MICELI *et al.*, 2013; FILONI *et al.*, 2012). Todas as sequências foram alinhadas usando o algoritmo MAFFT v7.388 para cada gene sequenciado (KATO; STANDLEY, 2013). Esses alinhamentos foram usados para calcular o número de haplótipos no programa DNAsp. software v5 (LIBRADO; ROZAS, 2009). O melhor modelo evolutivo para cada gene foi determinado pelo Critério de Inferência Bayesiano (BIC) usando o algoritmo *Smart model* da Plataforma de Bioinformática de Montpellier (LEFORT *et al.*, 2017). A análise filogenética de cada gene foi baseada em (a) Máxima Verossimilhança (MV), executada na Plataforma de Bioinformática de Montpellier, com suporte estatístico para os diferentes clados por uma pesquisa heurística com 1000 réplicas bootstrap (GUINDON; GASCUEL, 2003) e (b) Inferência Bayesiana (IB) executada em Mr.Bayes 3.1.2 (HUELSENBECK; RONQUIST, 2005) com relógio relaxado não correlacionado (DRUMMOND *et al.*, 2006) e tamanho populacional constante (KINGMAN, 1982). As simulações de Markov Chain Monte Carlo (MCMC) foram rodadas por 10^9 gerações e amostradas a cada 10^5 gerações, com um burn-in de 10%, no programa BEAST v.1.8.4 (DRUMMOND; RAMBAUT, 2007). O suporte nodal da topologia de cada gene foi calculado pelo *bootstrap* e a probabilidade posterior (PP) com um *cut-off* de 50%.

RESULTADOS

Um total de 161 animais foi capturado durante o estudo, incluindo 110 morcegos, quatro roedores, 10 marsupiais e 37 saguis (Tabela 1). A espécie mais abundante capturada foi o morcego *Artibeus lituratus*, seguido dos saguis, *Callithrix* sp. O DNA de *Bartonella* foi amplificado em amostras de tecido de cinco espécimes (3,1% do total), principalmente nas espécies de morcegos, dentre elas, três amostras de *Artibeus lituratus* (3/58) e uma amostra de *Carollia perspicillata* (1/15) e de *Myotis izechsohni* (1/5) (Tabela 1). Nenhuma amostra de roedor, marsupial ou sagui foi encontrada com DNA de *Bartonella* na área da EFMA/PEPB.

Tabela 1. Animais capturados na Estação Biológica Fiocruz Mata Atlântica, seguidos do número de PCR positivas para *Bartonella* spp. e taxa de infecção por espécie.

Espécies	Total de indivíduos	PCR positivo (<i>Bartonella</i> spp.)	Taxa de infecção por espécie
Ordem Primates			
<i>Callithrix</i> sp.	37	-	-
Ordem Didelphimorphia			
<i>Didelphis aurita</i>	7	-	-
<i>Monodelphis americana</i>	3	-	-
Ordem Rodentia			
<i>Oligoryzomys nigripes</i>	4	-	-
Ordem Chiroptera			
<i>Artibeus fimbriatus</i>	5	-	-
<i>Artibeus lituratus</i>	58	3	5,2%
<i>Artibeus obscurus</i>	1	-	-
<i>Carollia perspicillata</i>	15	1	6,7%
<i>Chiroderma villosum</i>	1	-	-
<i>Desmodus rotundus</i>	1	-	-
<i>Eptesicus brasiliensis</i>	1	-	-
<i>Glossophaga soricina</i>	2	-	-
<i>Lonchophylla peracchii</i>	1	-	-
<i>Micronycteris minuta</i>	1	-	-
<i>Molossus molossus</i>	2	-	-
<i>Myotis izecksohni</i>	5	1	2,0%
<i>Myotis nigricans</i>	6	-	-
<i>Philostomus hastatus</i>	3	-	-
<i>Platyrrhinus lineatus</i>	1	-	-
<i>Platyrrhinus recifinus</i>	1	-	-
<i>Sturnira lilium</i>	3	-	-
<i>Vampyressa pusilla</i>	3	-	-
Abundância total/ Taxa de infecção total	161	5	3,1%

Os testes das PCRs indicaram que o gene alvo *ftsZ* foi amplificado em todas as cinco amostras de morcegos, enquanto o gene *gltA* foi amplificado em quatro amostras e o gene *groEL* em duas amostras (Tabela 3.2). O gênero *Bartonella* formou um grupo monofilético e as linhagens principais foram reconstruídas com alto suporte nodal. As árvores MV e IB foram congruentes para a maioria das espécies e linhagens. O melhor modelo evolutivo identificado para os genes *gltA* e *ftsZ* foi o modelo GTR com sítios

invariáveis (I) e distribuição gama (G), enquanto o melhor modelo para o gene *groEL* foi o modelo HKY + I + G. Os tamanhos de amostra efetivos foram acima de 200 para todas as árvores bayesianas.

Tabela 2. Espécies de morcegos PCR positivos com DNA de *Bartonella* spp.

Nº de coleção	Espécie	Localidade	Amostras de tecido	<i>gltA</i> (720bp)	<i>ftsZ</i> (790bp)	<i>groEL</i> (798bp)
FMA9	<i>Artibeus lituratus</i>	Rio de Janeiro/RJ	Baço	X	X	X
RM1612	<i>Artibeus lituratus</i>	Rio de Janeiro/RJ	Baço	X	X	-
RM1618	<i>Artibeus lituratus</i>	Rio de Janeiro/RJ	Baço	X	X	-
FMA31	<i>Carollia perspicillata</i>	Rio de Janeiro/RJ	Baço	X	X	-
FMA122	<i>Myotis izecksohni</i>	Rio de Janeiro/RJ	Baço		X	X

Os genótipos encontrados neste estudo foram associados aos já previamente descritos para outros mamíferos e vetores brasileiros, confirmando a diversidade de hospedeiros do gênero *Bartonella* no Brasil (Figura 2). A árvore filogenética do gene *gltA* teve quatro genótipos dos morcegos dispostos em sete clados (B, C, D, F, I, J, e L), intimamente relacionados aos genótipos encontrados em outros roedores e morcegos (A, E, G,H, K), registrados no Brasil (Figura 3).

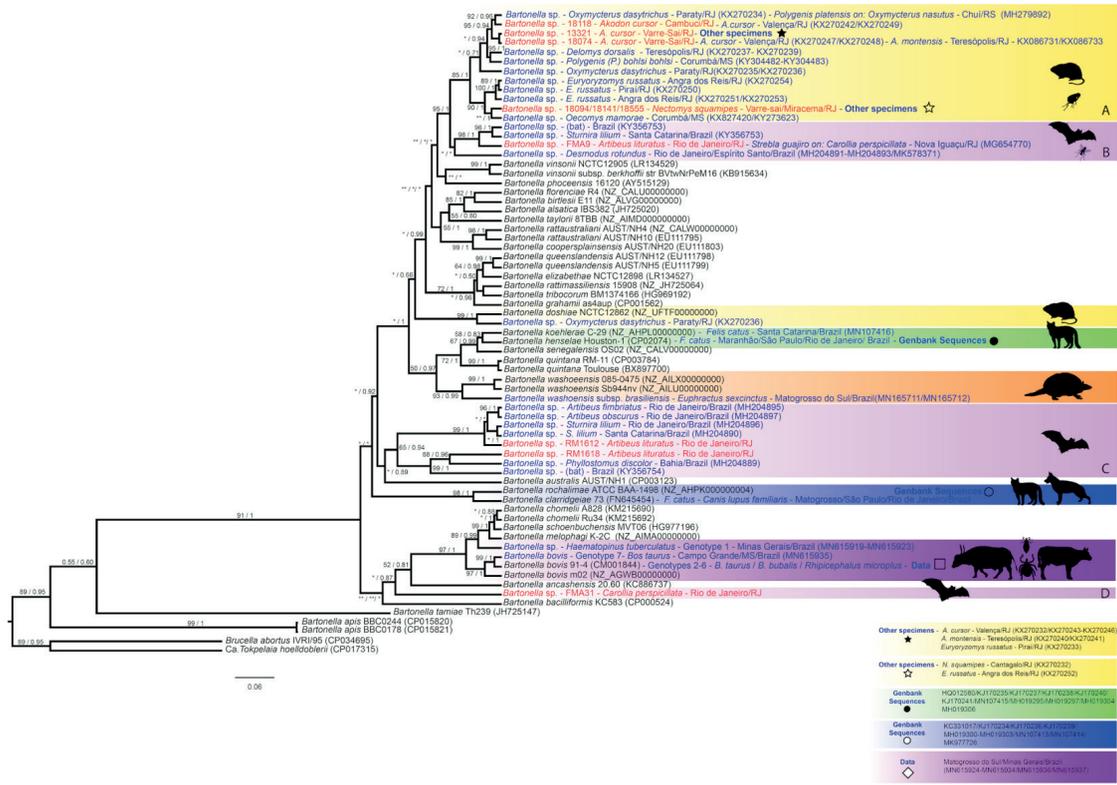


Figura 2. Relações filogenéticas do gênero *Bartonella* com base no gene *gltA*. A árvore foi inferida por meio da Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB) com o modelo GTR + I + G. O suporte nodal é descrito à esquerda por réplicas de bootstrap e à direita pela probabilidade posterior de cada nó representado. As sequências detectadas no presente estudo estão descritas em vermelho e as sequências de estudos anteriores de genótipos brasileiros em azul. Os clados destacados representam os genótipos descritos para o Brasil. Os clados A, B, C e D representam os genótipos obtidos neste estudo. *Brucella abortus* e *Candidatus Tokpelaia hoelldoblerii* foram usadas como um grupo externo. Retirado de Gonçalves-Oliveira et al. (2020).

Os genótipos de *Bartonella* do gene *gltA* foram descritos em muitos hospedeiros mamíferos silvestres, como roedores, morcegos e tatu, bem como em animais domésticos, incluindo cães, gatos e gado, do Brasil (Figura 3). Além desses hospedeiros vertebrados, alguns genótipos foram descritos em vetores hematófagos, como pulgas, moscas, piolhos e carrapatos (Figura 3). O clado B, composto por genótipos dos morcegos, não teve suporte nodal nas análises de MV ou IB, embora o genótipo de *A. lituratus* (FMA9) do Rio de Janeiro tenha se agrupado com os genótipos de *Sturnira lilium* e outro morcego não identificado, ambos descritos do Brasil, com alto suporte nodal nas análises MV e IB (98/1). Este genótipo foi semelhante ao encontrado no vetor díptero, *Strebila guajiro*, coletado de *C. perspicillata* no Rio de Janeiro. Os clados A e B foram agrupados com alto suporte nodal nas análises MV e IB (95/1), e com espécies do complexo *B. vinsonii*, embora de forma diferente nas análises MV e IB. O clado C, representado por genótipos de morcego, teve

alto suporte nodal nas análises MV e IB (65 / 0,94) e combinou dois clados. Um genótipo de *A. lituratus* (RM1612) agrupado com os genótipos de *S. liliium* e duas espécies de *Artibeus*, *A. fimbriatus* e *A. obscurus*. O segundo genótipo de *A. lituratus* agrupou-se com os genótipos de *Phyllostomus discolor* e outro morcego não identificado, ambos descritos no Brasil. No clado D, o último genótipo descrito na árvore (FMA31), que foi encontrado em *C. perspicillata*, não se agrupou com as demais espécies de *Bartonella*, porém foi próximo a *Bartonella ancashensis* e *Bartonella bacilliformis*.

Os genótipos de *Bartonella* do gene *groEL* foram descritos em roedores, morcegos e gatos domésticos do Brasil (E-G; Figura 4). No clado F, o genótipo encontrado em *A. lituratus* (FMA9) foi agrupado próximo às espécies *Bartonella rattaustraliani* e *Bartonella japonica*, com um suporte nodal de 0,97 na análise de IB.

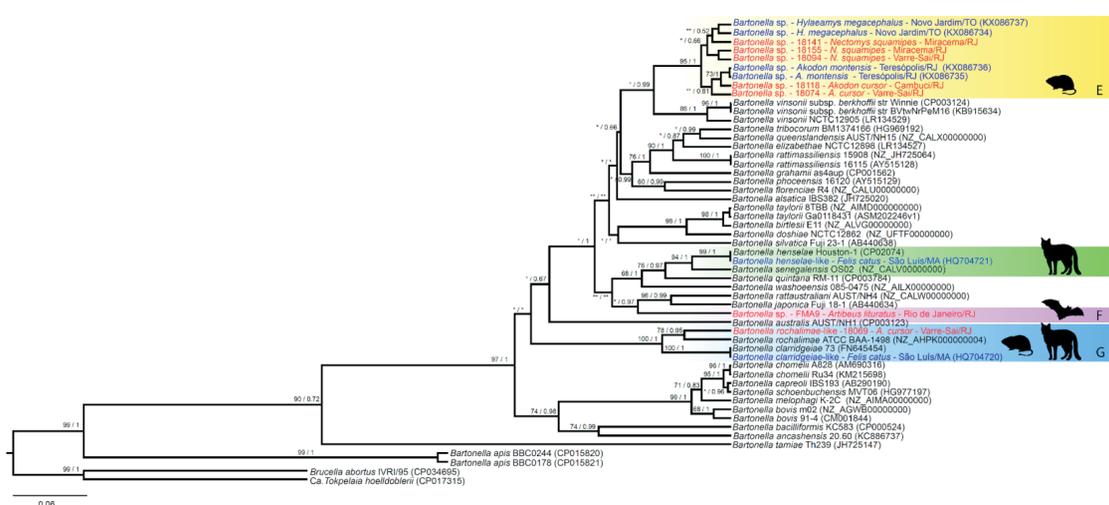


Figura 3. Relações filogenéticas do gênero *Bartonella* com base no gene *groEL*. A árvore foi inferida por meio da Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB) com o modelo HKY+I+G. O suporte nodal é descrito à esquerda por réplicas de bootstrap e à direita pela probabilidade posterior de cada nó representado. As sequências detectadas no presente estudo estão descritas em vermelho e as sequências de estudos anteriores de genótipos brasileiros em azul. Os clados destacados representaram os genótipos descritos para o Brasil. Os clados E, F e G representam os genótipos obtidos neste estudo. *Brucella abortus* e *Candidatus Tokpelaia hoelldoblerii* foram usadas como um grupo externo. Retirado de Gonçalves-Oliveira et al. (2020).

A árvore filogenética dos genótipos de *Bartonella* do gene *ftsZ* tinha nove genótipos agrupados em cinco clados (H-L; Figura 4). Os genótipos dispostos nos clados I, J e L foram encontrados nos morcegos deste estudo. No clado I, o genótipo *Bartonella*, encontrado em *A. lituratus* (FMA9) do Rio de Janeiro, agrupou-se intimamente com *Bartonella pachyuromydis*, embora não tenha tido suporte nodal na análise de MV, e o suporte foi limitado a 0,59 na análise de IB. No clado J, o genótipo de *Bartonella* encontrado em *C. perspicillata* formou

um clado distinto, próximo de *Bartonella chomelii*, *B. schoenbuchensis*, *B. melophagi*, *B. capreoli* e *B. bovis*, embora não tenha havido congruência ou suporte nodal nas análises de MV e IB. Os genótipos do clado L, em *A. lituratus* (RM1612 / RM1618), formaram um clado único, distinto de todas as outras espécies, mas sem suporte nodal nas análises de MV ou IB.

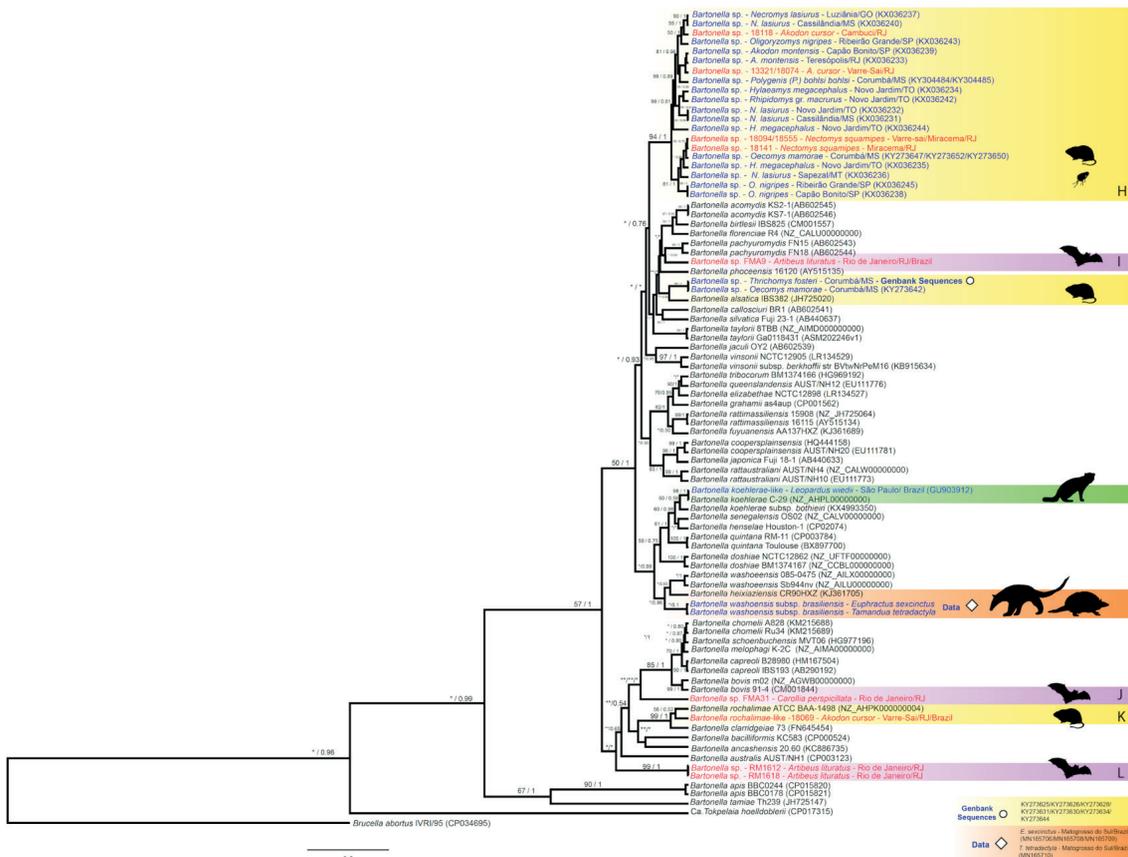


Figura 4. Relações filogenéticas do gênero *Bartonella* com base no gene *ftsZ*. A árvore foi inferida por meio da Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB) com o modelo GTR + I + G. O suporte nodal é descrito à esquerda por réplicas de bootstrap e à direita pela probabilidade posterior de cada nó representado. As sequências detectadas no presente estudo estão descritas em vermelho e as sequências de estudos anteriores de genótipos brasileiros em azul. Os clados destacados representaram os genótipos descritos para o Brasil. Os clados H, I, J, K, e L representam os genótipos obtidos neste estudo. *Brucella abortus* e *Candidatus Tokpelaia hoellboelieri* foram usadas como um grupo externo. Retirado de Gonçalves-Oliveira et al. (2020).

DISCUSSÃO

Considerando o aspecto generalista de infecção de *Bartonella* e que as áreas antropizadas poderiam favorecer a abundância de espécies de mamíferos com maior plasticidade a alterações ambientais, com consequente aumento na prevalência de

Bartonella, foram avaliadas as amostras de roedores, morcegos, marsupiais e primatas não humanos capturados na Estação Biológica Fiocruz Mata Atlântica.

As bartonelas não possuem uma preferência ou especificidade por um hospedeiro único, então a avaliação da sua presença em vertebrados e invertebrados dos diversos gêneros e espécies possibilita uma melhor compreensão do ciclo desses patógenos em diversas paisagens (VAYSSIER-TAUSSAT *et al.*, 2009). Os dados disponíveis sobre os genes *gltA*, *groEL* e *ftsZ* indicam que 26 espécies de mamíferos foram registradas como hospedeiras de diferentes espécies e genótipos de *Bartonella*. Entre essas espécies, observam-se 12 roedores (*Oxymycterus dasytrichus*, *A. cursor*, *A. montensis*, *Delomys dorsalis*, *Euryoryzomys russatus*, *N. squamipes*, *Oecomys mamorae*, *Hylaeamys megacephalus*, *N. lasiurus*, *O. nigripes*, *Rhipidomys gr. Macrurus* e *Thrichomys fosteri*), sete morcegos (*A. lituratus*, *A. fimbriatus*, *A. obscurus*, *C. perspicillata*, *Desmodus rotundus*, *Phyllostomus discolor*, *Sturnira lilium*), um felídeo (*Leopardus wiedii*), um tatu (*Euphractus sexcinctus*) e um tamanduá (*Tamandua tetradactyla*). Mamíferos domésticos e de criação, como cães (*Canis lupus familiaris*), gatos (*Felis catus*), gado (*Bos taurus*) e búfalos (*Bos bubalis*) também foram descritos como hospedeiros de *Bartonella* (BREITSCHWERDT, KORDICK, 2000; BREITSCHWERDT *et al.* 2010).

Embora os marsupiais capturados no estudo tenham sido PCR negativos para *Bartonella*, é preciso ressaltar que pela primeira vez esses animais foram pesquisados quanto à presença de infecção deste grupo de proteobactérias na EFMA. Em adição, por serem amostras coletadas de animais capturados de uma única localidade do estado do Rio de Janeiro, esses resultados obtidos devem ser considerados preliminares, pois não representam as diferentes populações e espécies de marsupiais sul-americanos. É preciso mais estudos nesse grupo de vertebrados, já que marsupiais australianos da espécie *Macropus giganteus*, apesar de apresentarem histórias evolutiva e natural diferentes, foram detectados com infecção por *B. australis*, sugerindo que marsupiais sul-americanos podem, potencialmente, abrigar esses microrganismos (FOURNIER *et al.*, 2007; SAISONKORH *et al.*, 2009).

Gonçalves *et al.* (2020) sugeriram que marsupiais brasileiros não são hospedeiros naturais de *Bartonella*, visto que, tanto em suas pesquisas quanto em estudos anteriores (SOUSA *et al.*, 2018; FONTALVO *et al.*, 2017), o DNA de *Bartonella* não foi detectado em qualquer um dos espécimes de marsupiais ou seus vetores analisados. Os marsupiais neotropicais são um grupo bastante diverso, tanto com espécies especialistas em ambientes mais preservados, quanto com espécies mais generalistas e com ampla distribuição, como as espécies do gênero *Didelphis*, que são animais relativamente abundantes e comuns em áreas residenciais e rurais.

Recentemente, Alcantara *et al.* (2020) encontraram evidências moleculares de DNA de *Bartonella* em gambás capturados de áreas periurbanas de Mata Atlântica do Rio de Janeiro, com uma taxa de infecção de 40-46%, um dado que ainda necessita da

caracterização da espécie de *Bartonella* encontrada. Diante do exposto, fica claro que é essencial continuar o monitoramento de possíveis infecções por *Bartonella* nesse grupo, a fim de determinar se esses mamíferos são resistentes à *Bartonella* ou se são, de fato, vulneráveis à infecção por essa bactéria.

Quanto aos primatas não humanos, existem poucos registros sobre ocorrência de infecção de *Bartonella* nesse grupo. No presente estudo, não foi possível detectar DNA de *Bartonella* nas amostras do gênero *Callithrix* spp., resultado semelhante ao observado por Bonato e colaboradores (2015), no município de São Luís, no estado do Maranhão, onde 87 indivíduos de primatas dos gêneros, *Sapajus* sp. e *Saimiri sciureus* (Cebidae) foram testados e PCR negativos para *Bartonella*.

O mesmo resultado negativo foi também observado no estudo de Melo *et al.* (2018), que analisaram, por detecção molecular, amostras de sangue de 50 indivíduos do gênero *Alouatta* mantidos em cativeiro, no estado de São Paulo. No entanto, nos primatas não humanos do Velho Mundo já existem registros de infecção natural por *B. quintana* na espécie *Macaca fascicularis*, no Sudeste da África, e na espécie *M. mulatta*, mantida em cativeiro na China. Em ambos os estudos, a detecção da infecção por *Bartonella* foi realizada com base em análise molecular (HUANG *et al.*, 2011; O'ROURKE *et al.*, 2005). Posteriormente, Bittar *et al.* (2014) detectaram *Bartonella* spp. em amostras fecais de *Gorilla gorilla gorilla* na África Ocidental, sugerindo que esses animais possam atuar como hospedeiros.

A diversidade de *Bartonella* encontrada em morcegos em estudos recentes revela a importância desse grupo de mamíferos como hospedeiros das diferentes espécies e genótipos de *Bartonella*, considerados, assim, o grupo de vertebrados chave na diversificação e da dispersão deste agente zoonótico a outros grupos de mamíferos (BAI *et al.*, 2012; CORDUNEANU *et al.*, 2018; AMARAL *et al.*, 2018; FERREIRA *et al.*, 2018; IKEDA *et al.*, 2017; MCKEE *et al.*, 2016, 2021; STUCKEY *et al.*, 2017).

Quanto aos morcegos, as espécies *Artibeus lituratus* e *Carollia perspicillata* foram encontradas abrigando genótipos de *Bartonella*. As relações filogenéticas dos genótipos de *Bartonella* encontrados em *A. lituratus* (FMA9) variaram em sua topologia (clado B, F e I). Com base na topologia do gene *gltA*, o clado B é composto exclusivamente por genótipos descritos em morcegos brasileiros, como *Sturnira lilium*, o morcego hematófago, *Desmodus rotundus*, e outra espécie não identificada (ANDRÉ *et al.*, 2019; AMARAL *et al.*, 2018; FERREIRA *et al.*, 2018; IKEDA *et al.*, 2017). O clado B pode, portanto, representar um grupo de espécies de *Bartonella* adaptado especificamente aos morcegos. Nas outras topologias, entretanto, há divergências nas relações filogenéticas, como observado na árvore do gene *groEL*, em que este genótipo se agrupou com *B. rattaustrialiani* e *B. japonica* (clado F), e na árvore do gene *ftsZ*, em que se agrupou com *B. pachyuromydis* (clado I). Considerando a escassez de dados sobre a ocorrência dos genótipos de *Bartonella* (de genes diferentes do *gltA*) em morcegos hospedeiros do Brasil, é possível que a variação no arranjo filogenético seja resultado da ocorrência de mais de uma espécie de *Bartonella*

nesses hospedeiros, mas possivelmente também pela amostragem incompleta da linhagem dos genótipos. O DNA de *Bartonella* foi registrado em *A. lituratus* da América Central e do Sul (BAI *et al.*, 2012, 2011; JUDSON *et al.*, 2015; OLIVAL *et al.*, 2015). Essa espécie de morcego é comum em áreas urbanas e fragmentos de floresta.

No Brasil, Ferreira *et al.* (2018), além de encontrarem DNA de *Bartonella* na espécie *A. fimbriatus*, nas mesmas áreas do nosso estudo no estado do Rio de Janeiro, detectaram uma outra espécie sintópica infectada, a espécie *A. lituratus*, no estado da Bahia, com linhagens similares ao complexo *vinsonii* e *B. australis*. É preciso ressaltar, no entanto, que no estudo de Ferreira *et al.* (2018) apenas o gene *gltA* foi avaliado, o que permite a confirmação da ocorrência de *Bartonella*, mas que impossibilita uma avaliação com alto suporte filogenético.

Os genótipos de *Bartonella* dos genes *gltA* e *ftsZ* (clados D e J), descritos de *C. perspicillata* no presente estudo, indicam a existência de uma variante genotípica que requer maior atenção, visto que as relações filogenéticas não são consistentes nas duas análises. Este é o primeiro relato de *Bartonella* em *C. perspicillata* no estado do Rio de Janeiro.

No clado D, estão os genótipos de *Bartonella* do gene *gltA* de *C. perspicillata* do Rio de Janeiro, agrupados entre duas espécies, *Bartonella anchashensis* e *B. bacilliformis*. André *et al* (2019) obtiveram resultados semelhantes com base em uma análise BLAST das sequências ITS de *Bartonella* encontradas em duas espécies de morcegos hematófagos. No clado J, os genótipos de *Bartonella* do gene *ftsZ* de *C. perspicillata* do Rio de Janeiro agruparam-se próximos ao clado da espécie *Bartonella*, encontrada principalmente em ruminantes. Esse genótipo já havia sido detectado em *C. perspicillata* do estado do Pará, em um arranjo filogenético semelhante (IKEDA *et al.*, 2017). Com base na topologia dos genótipos de *Bartonella* do gene *rpoB*, André *et al* (2019) encontraram DNA de *Bartonella* associada a três espécies de morcegos hematófagos próximos ao clado de ruminantes *Bartonella*. Isso reflete a importância do comportamento alimentar desses mamíferos para a transmissão do agente potencialmente zoonótico e que morcegos com diferentes adaptações alimentares podem hospedar uma diversidade genética de *Bartonella* ainda subestimada.

O presente estudo foi publicado na revista *International Journal of Parasitology and Wildlife*, sob o título “Investigation of *Bartonella* spp. in Brazilian mammals with emphasis on rodents and bats from the Atlantic Forest”. Neste trabalho registramos novos genótipos de *Bartonella* em roedores e morcegos de distintas paisagens do estado do Rio de Janeiro. Esses achados enfatizam a necessidade de novas e continuadas pesquisas, baseadas em abordagens alternativas, como cultura de isolados e estratégias de patogenicidade, a fim de compreender melhor as relações dos genótipos de *Bartonella* com seus vetores e espécies hospedeiras no Brasil. A diversidade de hospedeiros mamíferos e genótipos de *Bartonella* já encontrada no Brasil é consideravelmente alta, sugerindo que a diversidade

genética desses microrganismos tenha sido subestimada até agora, visto que muitos outros mamíferos ocorrem em simpatria com essas espécies hospedeiras e compartilham muitos de seus ectoparasitas, o que os colocaria em contato potencial com esse agente etiológico. Nossos achados são consistentes com os estudos anteriores que mostraram que genótipos de *Bartonella* associados a linhagens específicas de hospedeiros podem atuar como agentes zoonóticos. Dada a diversidade de genótipos de *Bartonella* identificados no presente estudo, o *spillover* de cepas de *Bartonella* de ambientes naturais para áreas urbanas e residenciais é altamente provável e pode representar um risco para muitas populações humanas. São necessárias mais pesquisas com abordagens no contexto da Saúde Única, para compreender as interações entre a vida silvestre, os animais domésticos e seus ectoparasitas, a fim de uma melhor compreensão da dinâmica dos padrões de infecção por *Bartonella*.

AGRADECIMENTOS

Às agências de fomento e projetos parceiros, por patrocinarem a execução deste estudo: CNPQ (projetos envolvidos: 309674/2012-3, 485074/2012-5, 311249/2015-9, 309131/2015, 40476/2016-6 e 303024/2019-4), PPBio Rede BioMA (457524/2012-0), FAPERJ (E-26/103.285/2011, E-26/111.296/2014, E-26/010.001.567/2014 e E-26/202.980/2016) e Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ). Aos autores do artigo que foi gerado a partir deste trabalho, aqui representado por um recorte do conteúdo publicado. À equipe do Programa de Desenvolvimento do Campus Fiocruz Mata Atlântica, que ajudou na execução deste trabalho, e ao Coordenador Gilson Antunes, por providenciar a infraestrutura necessária para execução deste estudo. Este capítulo de livro é parte do artigo publicado e da tese defendida no Programa de Pós-graduação em Genética pela Universidade Federal do Rio de Janeiro.

REFERÊNCIAS

- ALCANTARA, A.; THOMA, H.; CAMPOS, S.; TEIXEIRA, R.; LIMA, H.; PIRES, J.; MORAES, R.; SOUZA, A. (2020). Molecular evidence of *Bartonella* spp. in free-living opossums (*Didelphimorphia*: *Didelphidae*) from peri-urban Atlantic Forest fragments of Brazil. **Authorea Preprints**. Disponível em: <https://doi.org/10.22541/au.160029787.76756825>.
- AMARAL, R. B. do; LOURENÇO, E. C.; FAMADAS, K. M.; GARCIA, A. B.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. (2018). Molecular detection of *Bartonella* spp. and *Rickettsia* spp. in bat ectoparasites in Brazil. **PLoS ONE**, 13(6). Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198629>.
- ANDERSON, B.; KELLY, C.; THRELKEL, R.; EDWARDS, K.; ANDERSON, B.; KELLY, C.; THRELKEL, R.; EDWARDS, K.; ANDERSON, B.; KELLY, C.; THRELKEL, R.; EDWARDS, K.; KELLY, C. (1993). Detection of *Rochalimaea henselae* in Cat-Scratch Disease Skin Test Antigens. **Journal of Infectious Diseases**, 168(4), 1034–1036. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/infdis/168.4.1034>.

ANDRÉ, MARCOS R.; GUTIÉRREZ, R.; IKEDA, P.; AMARAL, R. B. do; SOUSA, K. C. M. de; NACHUM-BIALA, Y.; LIMA, L.; TEIXEIRA, M. M. G.; MACHADO, R. Z.; HARRUS, S. (2019). Genetic diversity of *Bartonella* spp. in vampire bats from Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, 66(6), 2329–2341. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tbed.13290>.

ANDRÉ, Marcos Rogério; BACCARIM DENARDI, N. C.; Marques de Sousa, K. C.; GONÇALVES, L. R.; HENRIQUE, P. C.; GROSSE ROSSI ONTIVERO, C. R.; LIMA GONZALEZ, I. H.; CABRAL NERY, C. V.; FERNANDES CHAGAS, C. R.; MONTICELLI, C.; ALEXANDRE DE SANTIS, A. C. G.; & MACHADO, R. Z. (2014). Arthropod-borne pathogens circulating in free-roaming domestic cats in a zoo environment in Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, 5(5), 545–551. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.03.011>.

ANDRÉ, M. R.; CANOLA, R. A. M.; BRAZ, J. B.; PEROSI, I. F. S.; CALCHI, A. C.; IKEDA, P.; MACHADO, R. Z.; VASCONCELOS, R. de O.; CAMACHO, A. A. (2019). Aortic valve endocarditis due to *Bartonella clarridgeiae* in a dog in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 28(4), 661–670. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1984-29612019078>.

ANGELAKIS, E.; RAOULT, D. (2014). Pathogenicity and treatment of *Bartonella* infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 44(1), 16–25. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.04.006>.

ANSTEAD, G. M. (2016). The centenary of the discovery of trench fever, an emerging infectious disease of World War 1. **The Lancet Infectious Diseases**, 16(8), e164–e172. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30003-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30003-2).

BAI, Y.; KOSOY, M.; RECUENCO, S.; ALVAREZ, D.; MORAN, D.; TURMELLE, A.; ELLISON, J.; GARCIA, D. L.; ESTEVEZ, A.; LINDBLADE, K.; RUPPRECHT, C. (2011). *Bartonella* spp. in bats, Guatemala. **Emerging Infectious Diseases**, 17(7), 1269–1272. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1707.101867>.

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

BERMOND, D.; BOULOUIS, H. J.; HELLER, R.; VAN LAERE, G.; MONTEIL, H.; CHOMEL, B. B.; SANDER, A.; DEHIO, C.; PIÉMONT, Y. (2002). *Bartonella bovis* Bermond *et al.* sp. nov. and *Bartonella capreoli* sp. nov., isolated from European ruminants. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 52(2), 383–390. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/00207713-52-2-383>.

BITTAR, F.; KEITA, M. B.; LAGIER, J. C.; PEETERS, M.; DELAPORTE, E.; RAOULT, D. (2014). Gorilla gorilla gorilla gut: A potential reservoir of pathogenic bacteria as revealed using culturomics and molecular tools. **Scientific Reports**, 4, 1–5. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/srep07174>.

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

BREITSCHWERDT, E. B.; KORDICK, D. L. (2000). *Bartonella* infection in animals: Carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. **Clinical Microbiology Reviews**, 13(3), 428–438. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/CMR.13.3.428-438.2000>.

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

BRENNER, D. J., O'Connor, S. P., Winkler, H. H., & Steigerwalt, A. G. (1993). Proposals to unify the genera *Bartonella* and *Rochalimaea*, with descriptions of *Bartonella quintana* comb. nov., *Bartonella vinsonii* comb. nov., *Bartonella henselae* comb. nov., and *Bartonella elizabethae* comb. nov., and to remove the family Bartonellaceae f. **International Journal of Systematic Bacteriology**, 43(4), 777–786. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/00207713-43-4-777>.

CALCHI, A. C.; VULTÃO, J. G.; ALVES, M. H.; YOGUI, D. R.; DESBIEZ, A. L. J.; AMARAL, R. B.; SANTI, M.; TEIXEIRA, M. M. G.; WERTHER, K.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. (2020). Multi-locus sequencing reveals a novel *Bartonella* in mammals from the Superorder Xenarthra. **Transboundary and Emerging Diseases**, 55(16), 0–2. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tbed.13545>.

CARRASCO, S. E.; CHOMEL, B. B.; GILL, V. A.; KASTEN, R. W.; MAGGI, R. G.; BREITSCHWERDT, E. B.; BYRNE, B. A.; BUREK-HUNTINGTON, K. A.; MILLER, M. A.; GOLDSTEIN, T.; MAZET, J. A. K. (2014). Novel *Bartonella* infection in northern and southern sea otters (*Enhydra lutris kenyoni* and *Enhydra lutris nereis*). **Veterinary Microbiology**, 170(3–4), 325–334. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.021>.

CHOMEL, B. B.; KASTEN, R. W.; SYKES, J. E.; BOULOUIS, H.-J.; BREITSCHWERDT, E. B. (2003). Clinical Impact of Persistent *Bartonella* Bacteremia in Humans and Animals. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 990(1), 267–278. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07376.x>.

CHOMEL, B. B.; MOLIA, S.; KASTEN, R. W.; BORGIO, G. M.; STUCKEY, M. J.; MARUYAMA, S.; CHANG, C. C.; HADDAD, N.; KOEHLER, J. E. (2016). Isolation of *Bartonella henselae* and Two New *Bartonella* Subspecies, *Bartonella koehlerae* Subspecies *boulouisii* subsp. Nov. And *Bartonella koehlerae* Subspecies *bothieri* subsp. Nov. And free-ranging Californian mountain lions and bobcats. **PLoS ONE**, 11(3), 1–21. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148299>.

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

COSTA, F.; PORTER, F. H.; RODRIGUES, G.; FARIAS, H.; DE FARIA, M. T.; WUNDER, E. A.; OSIKOWICZ, L. M.; KOSOY, M. Y.; REIS, M. G.; KO, A. I.; CHILDS, J. E. (2014). Infections by *Leptospira interrogans*, Seoul Virus, and *Bartonella* spp. Among Norway Rats (*Rattus norvegicus*) from the Urban Slum Environment in Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, 14(1), 33–40. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1378>.

COSTA, P. S. G. da; BRIGATTE, M. E.; GRECO, D. B. (2005). Antibodies to rickettsia rickettsii, rickettsia typhi, coxiella burnetii, bartonella henselae, bartonella quintana and ehrlichia chaffeensis among healthy population in Minas Gerais, Brazil. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, 100(8), 853–859. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0074-02762005000800006>.

DEL VALLE-MENDOZA, J.; ROJAS-JAIMES, J.; VÁSQUEZ-ACHAYA, F.; AGUILAR-LUIS, M. A.; CORREA-NUÑEZ, G.; SILVA-CASO, W.; LESCANO, A. G.; SONG, X.; LIU, Q.; LI, D. (2018). Molecular identification of *Bartonella bacilliformis* in ticks collected from two species of wild mammals in Madre de Dios: Peru. **BMC Research Notes**, 11(1), 1–5. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3518-z>.

- DINIZ, P. P. V. de P.; VELHO, P. E. N. F.; PITASSI, L. H. U.; DRUMMOND, M. R.; LANIA, B. G.; BARJAS-CASTRO, M. L.; SOWY, S.; BREITSCHWERDT, E. B.; SCORPIO, D. G. (2016). Risk Factors for Bartonella species Infection in Blood Donors from Southeast Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 10(3), 1–9. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004509>.
- DRANCOURT, M.; TRAN-HUNG, L.; COURTIN, J.; DE LUMLEY, H.; RAOULT, D. (2005). Bartonella quintana in a 4000-year-old human tooth. **Journal of Infectious Diseases**, 191(4), 607–611. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/427041>.
- DRUMMOND, A. J.; RAMBAUT, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. **BMC Evolutionary Biology**, 7(1), 214. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214>.
- DRUMMOND, A. J.; HO, S. Y. W.; PHILLIPS, M. J.; RAMBAUT, A. (2006). Relaxed phylogenetics and dating with confidence. **PLoS Biology**, 4(5), 699–710. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040088>.
- EREQAT, S.; NASEREDDIN, A.; VAYSSIER-TAUSSAT, M.; ABDELKADER, A.; AL-JAWABREH, A.; ZAID, T.; AZMI, K.; ABDEEN, Z. (2016). Molecular Evidence of Bartonella Species in Ixodid Ticks and Domestic Animals in Palestine. **Frontiers in Microbiology**, 7(AUG). Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01217>.
- ESBÉRARD, C. E. L.; BERGALLO, H. G. (2008). Influência do esforço amostral na riqueza de espécies de morcegos no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 25(1), 67–73. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-81752008000100010>.
- FAVACHO, A. R. de M.; ANDRADE, M. N.; OLIVEIRA, R. C. de; BONVICINO, C. R.; D'ANDREA, P. S.; LEMOS, E. R. S. de (2015). Zoonotic Bartonella species in wild rodents in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Microbes and Infection**, 17(11–12), 889–892. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.08.014>.
- FAVACHO, A. R. M.; ROGER, I.; AKEMI, A. K.; PESSOA, A. A.; VARON, A. G.; GOMES, R.; GODOY, D. T.; PEREIRA, S.; LEMOS, E. R. S. (2014). Identificação molecular de Bartonella henselae em paciente com SIDA soronegativo para doença da arranhadura do gato no Rio De Janeiro, Brasil. **Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, 56(4), 363–365. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000400017>.
- FERREIRA, M. S.; GUTERRES, A.; ROZENTAL, T.; NOVAES, R. L. M.; VILAR, E. M.; OLIVEIRA, R. C. de; FERNANDES, J.; FORNEAS, D.; JUNIOR, A. A.; BRANDÃO, M. L.; CORDEIRO, J. L. P.; DEL VALLE ALVAREZ, M. R.; ALTHOFF, S. L.; MORATELLI, R.; CORDEIRO-ESTRELA, P.; SILVA, R. C. da; LEMOS, E. R. S. de (2018). Coxiella and Bartonella spp. In bats (Chiroptera) captured in the Brazilian Atlantic Forest biome. **BMC Veterinary Research**, 14(1), 1–10. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1603-0>.
- FILONI, C.; CATÃO-DIAS, J. L.; CATTORI, V.; WILLI, B.; MELI, M. L.; CORRÊA, S. H. R.; MARQUES, M. C.; ADANIA, C. H.; SILVA, J. C. R.; MARVULO, M. F. V.; NETO, J. S. F.; DURIGON, E. L.; CARVALHO, V. M. de; COUTINHO, S. D. A.; LUTZ, H.; HOFMANN-LEHMANN, R. (2012). Surveillance using serological and molecular methods for the detection of infectious agents in captive Brazilian neotropic and exotic felids. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 24(1), 166–173. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1040638711407684>.

FONTALVO, M. C.; FAVACHO, A. R. de M.; ARAUJO, A. de C.; SANTOS, N. M. dos; OLIVEIRA, G. M. B. de; AGUIAR, D. M.; LEMOS, E. R. S. de; Horta, M. C. (2017). Bartonella species pathogenic for humans infect pets, free-ranging wild mammals and their ectoparasites in the Caatinga biome, Northeastern Brazil: a serological and molecular study. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 21(3), 290–296. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2017.02.002>.

FOURNIER, P. E.; DRANCOURT, M.; ABOUDHARAM, G.; RAOULT, D. (2015). Paleomicrobiology of Bartonella infections. **Microbes and Infection**, 17(11–12), 879–883. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.09.002>.

FOURNIER, P. E.; TAYLOR, C.; ROLAIN, J. M.; BARRASSI, L.; SMITH, G.; RAOULT, D. (2007). Bartonella australis sp. nov. from Kangaroos, Australia [6]. **Emerging Infectious Diseases**, 13(12), 1961–1963. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1312.060559>.

GERRIKAGOITIA, X.; GIL, H.; GARCÍA-ESTEBAN, C.; ANDA, P.; JUSTE, R. A.; BARRAL, M. (2012). Presence of Bartonella species in wild carnivores of Northern Spain. **Applied and Environmental Microbiology**, 78(3), 885–888. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.05938-11>.

GONÇALVES, L. R.; FAVACHO, A. R. de M.; ROQUE, A. L. R.; MENDES, N. S.; FIDELIS, O. L.; BENEVENUTE, J. L.; HERRERA, H. M.; D'ANDREA, P. S.; LEMOS, E. R. S. de; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. (2016). Association of Bartonella species with wild and synanthropic rodents in different Brazilian biomes. **Applied and Environmental Microbiology**, 82(24), 7154–7164. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.02447-16>.

GONÇALVES, L. R.; HARRUS, S.; GUTIÉRREZ, R.; HERRERA, H. M.; SOUZA RAMOS, I. A. de; PORFÍRIO, G. E. de O.; NACHUM-BIALA, Y.; SOUSA, K. C. M. de; SILVA, T. M. V. da; CAMPOS, J. B. V.; LEMOS, W.; MORAES BARROS-BATTESTI, D.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. (2020). Molecular detection and genetic diversity of Bartonella species in large ruminants and associated ectoparasites from the Brazilian Cerrado. **Transboundary and Emerging Diseases**, 0–2. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tbed.13517>.

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

GUINDON, S.; GASCUEL, O. (2003). A Simple, Fast, and Accurate Algorithm to Estimate Large Phylogenies by Maximum Likelihood. **Systematic Biology**, 52(5), 696–704. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>.

HENN, J. B.; CHOMEL, B. B.; BOULOUIS, H. J.; KASTEN, R. W.; MURRAY, W. J.; BAR-GAL, G. K.; KING, R.; COURREAU, J. F.; BANETH, G. (2009). Bartonella rochalimae in raccoons, coyotes, and red foxes. **Emerging Infectious Diseases**, 15(12), 1984–1987. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1512.081692>.

HUANG, R.; LIU, Q.; LI, G.; LI, D.; SONG, X.; BIRTLES, R. J.; ZHAO, F. (2011). Bartonella quintana infections in captive monkeys, China. **Emerging Infectious Diseases**, 17(9), 1707–1709. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1709.110133>.

HUARCAYA, E.; MAGUIÑA, C.; TORRES, R.; RUPAY, J.; FUENTES, L. (2004). Bartonellosis (Carrion's Disease) in the pediatric population of Peru: an overview and update. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**: An Official Publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases, 8(5), 331–339. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-86702004000500001>.

HUELSENBECK, J.; RONQUIST, F. (2005). Bayesian analysis of molecular evolution using MrBayes. **Statistical Methods in Molecular Evolution**, 183–226. Disponível em: https://doi.org/10.1007/0-387-27733-1_7.

IKEDA, P.; SEKI, M. C.; CARRASCO, A. O. T.; RUDIAK, L. V.; MIRANDA, J. M. D.; GONÇALVES, S. M. M.; HOPPE, E. G. L.; ALBUQUERQUE, A. C. A.; TEIXEIRA, M. M. G.; PASSOS, C. E.; WERTHER, K.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. (2017). Evidence and molecular characterization of Bartonella spp. and hemoplasmas in neotropical bats in Brazil. **Epidemiology and Infection**, 145(10), 2038–2052. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0950268817000966>.

INEA. (2013a). **Plano de Manejo** - Parque Estadual da Pedra Branca. 1–657.

INEA. (2013b). **Trilhas**: Parque Estadual da Pedra Branca.

ITO, S.; VINSON, J. W. (1965). Fine Structure of Rickettsia Quintana Cultivated in Vitro and in the. **Journal of Bacteriology**, 89(2), 481–495. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jb.89.2.481-495.1965>.

JAFFE, D. A.; CHOMEL, B. B.; KASTEN, R. W.; BREITSCHWERDT, E. B.; MAGGI, R. G.; MCLEISH, A.; ZIEGER, U. (2018). Bartonella henselae in small Indian mongooses (Herpestes auropunctatus) from Grenada, West Indies. **Veterinary Microbiology**, 216(February), 119–122. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.02.009>.

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

KATOH, K.; STANDLEY, D. M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. **Molecular Biology and Evolution**, 30(4), 772–780. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>.

KEARSE, M.; MOIR, R.; WILSON, A.; STONES-HAVAS, S.; CHEUNG, M.; STURROCK, S.; BUXTON, S.; COOPER, A.; MARKOWITZ, S.; DURAN, C.; THIERER, T.; ASHTON, B.; MEINTJES, P.; DRUMMOND, A. (2012). Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**, 28(12), 1647–1649. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>.

KINGMAN, J. F. C. (1982). The coalescent. **Stochastic Processes and Their Applications**, 13(3), 235–248. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0304-4149\(82\)90011-4](https://doi.org/10.1016/0304-4149(82)90011-4).

KOEHLER, J. E.; QUINN, F. D.; BERGER, T. G.; LEBIT, P. E.; TAPPERO, J. W. (1992). Isolation of Rochalimaea Species from Cutaneous and Osseous Lesions of Bacillary Angiomatosis. **New England Journal of Medicine**, 327(23), 1625–1631. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJM199212033272303>.

- KOSOY, M.; MCKEE, C.; ALBAYRAK, L.; FOFANOV, Y. (2018). Genotyping of Bartonella bacteria and their animal hosts: Current status and perspectives. **Parasitology**, 145(5), 543–562. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0031182017001263>.
- KRÓL, N.; OBIEGALA, A.; KRETSCHMAR, F. M.; HAMEL, D.; PFEFFER, M. (2019). Tick-borne pathogens in the European polecat, *Mustela putorius* and in attached Ixodes hexagonus ticks from Germany. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, 10(3), 594–597. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.02.004>.
- LAMAS, C. C.; MARES-GUIA, M. A.; ROZENTAL, T.; MOREIRA, N.; FAVACHO, A. R. M.; BARREIRA, J.; GUTERRES, A.; BÓIA, M. N.; LEMOS, E. R. S. de (2010). Bartonella spp. infection in HIV positive individuals, their pets and ectoparasites in Rio de Janeiro, Brazil: Serological and molecular study. **Acta Tropica**, 115(1–2), 137–141. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.02.015>.
- LAMAS, C.; CURI, A.; BÓIA, M. N.; LEMOS, E. R. S. (2008). Human bartonellosis: Seroepidemiological and clinical features with an emphasis on data from Brazil - A review. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, 103(3), 221–235. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762008000300001>.
- LEDUC, J. W.; SMITH, G. A.; PINHEIRO, F. P.; VASCONCELOS, P. F.; ROSA, E. S.; MAIZTEGUI, J. I. (1985). Isolation of a Hantaan-related virus from Brazilian rats and serologic evidence of its widespread distribution in South America. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 34(4), 810–815.
- LEFORT, V.; LONGUEVILLE, J. E.; GASCUEL, O. (2017). SMS: Smart Model Selection in PhyML. **Molecular Biology and Evolution**, 34(9), 2422–2424. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/molbev/msx149>.
- LEI, B. R.; OLIVAL, K. J. (2014). Contrasting Patterns in Mammal-Bacteria Coevolution: Bartonella and Leptospira in Bats and Rodents. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 8(3), 1–11. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002738>.
- LIBRADO, P.; ROZAS, J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, 25(11), 1451–1452. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>.
- MAZUREK, Ł.; WINIARCZYK, S.; ADASZEK, Ł. (2018). Feline bartonellosis key issues and possible vectors. **Annals of Parasitology**, 64(4), 309–315. Disponível em: <https://doi.org/10.17420/ap6404.165>.
- MCKEE, C. D.; BAI, Y.; WEBB, C. T.; KOSOY, M. Y. (2021). Bats are key hosts in the radiation of mammal-associated Bartonella bacteria. **Infection, Genetics and Evolution**, 89, 104719. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104719>.
- MCKEE, C. D.; HAYMAN, D. T. S.; KOSOY, M. Y.; WEBB, C. T. (2016). Phylogenetic and geographic patterns of bartonella host shifts among bat species. **Infection, Genetics and Evolution**, 44, 382–394. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.07.033>.
- MELO, C. M. F. de (2018). **Pesquisa de Bartonella spp. e mycoplasma spp. e avaliação hemostática, hematológica e bioquímica sanguínea de primatas do gênero Alouatta**. Universidade Estadual Paulista - Campus Jaboticabal.

- MICELI, N. G.; GAVIOLI, F. A.; GONÇALVES, L. R.; ANDRÉ, M. R.; SOUSA, V. R. F.; SOUSA, K. C. M. de; MACHADO, R. Z. (2013). Molecular detection of feline arthropod-borne pathogens in cats in Cuiabá, state of Mato Grosso, central-western region of Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 22(3), 385–390. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1984-29612013000300011>.
- MINNICK, M. F.; BATTISTI, J. M. (2009). Pestilence, persistence and pathogenicity: Infection strategies of Bartonella. **Future Microbiology**, 4(6), 743–758. Disponível em: <https://doi.org/10.2217/fmb.09.41>.
- MINNICK, M. F.; ANDERSON, B. E.; LIMA, A.; BATTISTI, J. M.; LAWYER, P. G.; BIRTLES, R. J. (2014). Oroya Fever and Verruga Peruana: Bartonellosis Unique to South America. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 8(7). Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002919>.
- MOLIA, S.; CHOMEL, B. B.; KASTEN, R. W.; LEUTENEGGER, C. M.; STEELE, B. R.; MARKER, L.; MARTENSON, J. S.; KEET, D. F.; BENGIS, R. G.; PETERSON, R. P.; MUNSON, L.; O'BRIEN, S. J. (2004). Prevalence of Bartonella infection in wild African lions (*Panthera leo*) and cheetahs (*Acinonyx jubatus*). **Veterinary Microbiology**, 100(1–2), 31–41. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.01.007>.
- MÜLLER, A.; RODRÍGUEZ, E.; WALKER, R.; BITTENCOURT, P.; PÉREZ-MACCHI, S.; GONÇALVES, L. R.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. (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(6), 1627–1632. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jme/tjy124>.
- MURRAY, L. M. (1918). The common factor in disordered action of the heart. **BMJ**, 2(3024), 650–652. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/bmj.2.3024.650>.
- NOGUCHI, H. (1926). Etiology of oroya fever. **Journal of Experimental Medicine**, 44(5), 715–728. Disponível em: <https://doi.org/10.1084/jem.44.5.715>.
- O'ROURKE, L. G.; PITULLE, C.; HEGARTY, B. C.; KRAYCIRIK, S.; KILLARY, K. A.; GROSENSTEIN, P.; BROWN, J. W.; BREITSCHWERDT, E. B. (2005). Bartonella quintana in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). **Emerging Infectious Diseases**, 11(12), 1931–1934. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1112.030045>.
- OKARO, U.; ADDISU, A.; CASANAS, B.; ANDERSON, B. (2017). Bartonella Species, an Emerging Cause of Blood-Culture-Negative Endocarditis. **Clinical Microbiology Reviews**, 30(3), 709–746. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/CMR.00013-17>.
- OLIVAL, K. J.; DITTMAR, K.; BAI, Y.; ROSTAL, M. K.; LEI, B. R.; DASZAK, P.; KOSOY, M. (2015). Bartonella spp. in a puerto rican bat community. **Journal of Wildlife Diseases**, 51(1), 274–278. Acesso em: <https://doi.org/10.7589/2014-04-113>.
- PEDRASSANI, D.; BIOLCHI, J.; GONÇALVES, L. R.; MENDES, N. S.; ZANATTO, D. C. de S.; CALCHI, A. C.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. (2019). Molecular detection of vector-borne agents in cats in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 28(4), 632–643. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1984-29612019077>.
- REGNERY, R.; OLSON, J.; PERKINS, B.; BIBB, W. (1992). Serological response to “Rochalimaea henselae” antigen in suspected cat-scratch disease. **The Lancet**, 339(8807), 1443–1445. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)92032-B](https://doi.org/10.1016/0140-6736(92)92032-B).

REGNERY, R. L.; ANDERSON, B. E.; CLARRIDGE, J. E.; RODRIGUEZ-BARRADAS, M. C.; JONES, D. C.; CARR, J. H. (1992). Characterization of a novel Rochalimaea species, *R. henselae* sp. nov., isolated from blood of a febrile, human immunodeficiency virus-positive patient. **Journal of Clinical Microbiology**, 30(2), 265–274. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.30.2.265-274.1992>.

RELMAN, D. A.; FALKOW, S.; TOMPKINS, L. S.; LOUITIT, J. S.; SCHMIDT, T. M. (1990). The agent of bacillary angiomatosis: An Approach to the Identification of Uncultured Pathogens. **New England Journal of Medicine**, 323(23), 1573–1580. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJM199012063232301>.

ROZENTAL, T.; FERREIRA, M. S.; GUTERRES, A.; MARES-GUIA, M. A.; TEIXEIRA, B. R.; GONÇALVES, J.; BONVICINO, C. R.; D'ANDREA, P. S.; LEMOS, E. R. S de. (2017). Zoonotic pathogens in Atlantic Forest wild rodents in Brazil: Bartonella and Coxiella infections. **Acta Tropica**, 168, 64–73. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.01.003>.

RUIZ, J. (2018). Bartonella quintana, past, present, and future of the scourge of World War I. **Apmis**, 126(11), 831–837. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/apm.12895>.

SAISONKORH, W.; ROLAIN, J. M.; SUPUTTAMONGKOL, Y.; RAOULT, D. (2009). Emerging Bartonella in humans and animals in Asia and Australia. **Journal of the Medical Association of Thailand**, 92(5), 707–731.

SANGARÉ, A. K.; BOUTELLIS, A.; DRALI, R.; SOCOLOVSKI, C.; BARKER, S. C.; DIATTA, G.; ROGIER, C.; OLIVE, M. M.; DOUMBO, O. K.; RAOULT, D. (2014). Detection of Bartonella quintana in African body and head lice. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 91(2), 294–301. Disponível em: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0707>.

SEGERS, F. H.; KEŠNEROVÁ, L.; KOSOY, M.; ENGEL, P. (2017). Genomic changes associated with the evolutionary transition of an insect gut symbiont into a blood-borne pathogen. **ISME Journal**, 11(5), 1232–1244. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.201>.

SILVA, B. T. G. da; SOUZA, A. M. de; CAMPOS, S. D. E.; MACIEIRA, D. de B.; LEMOS, E. R. S. de; FAVACHO, A. R. de M.; ALMOSNY, N. R. P. (2019). Bartonella henselae and Bartonella clarridgeiae infection, hematological changes and associated factors in domestic cats and dogs from an Atlantic rain forest area, Brazil. **Acta Tropica**, 193(February), 163–168. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.02.026>.

ŠLAPETA, J.; LAWRENCE, A.; REICHEL, M. P. (2018). Cat fleas (Ctenocephalides felis) carrying Rickettsia felis and Bartonella species in Hong Kong. **Parasitology International**, 67(2), 209–212. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2017.12.001>.

SLATER, L. N.; WELCH, D. F.; Coody, D. W.; Hensel, D. (1990). Isolation of Rochalimaea species from cutaneous and osseous lesions of bacillary angiomatosis. **New England Journal of Medicine**, 323(23), 1587–1593. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJM199012063232303>.

SOUZA, A. M. de (2009). **Frequência de infecção por Bartonella spp. e alterações sanguíneas em gatos domésticos no estado do Rio de Janeiro - Brasil**. Universidade Federal Fluminense.

SOUZA, K. C. M. de; AMARAL, R. B. do; HERRERA, H. M.; SANTOS, F. M.; MACEDO, G. C., ANDRADE PINTO, P. C. E. de; BARROS-BATTESTI, D. M.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. (2018). Genetic Diversity of Bartonella spp. in Wild Mammals and Ectoparasites in Brazilian Pantanal. **Microbial Ecology**, 76(2), 544–554. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00248-017-1138-0>.

STUCKEY, M. J.; CHOMEL, B. B.; DE FLEURIEU, E. C.; AGUILAR-SETIÉN, A.; BOULOUIS, H. J.; CHANG, C. CHIN. (2017). Bartonella, bats and bugs: A review. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, 55(September), 20–29. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.09.001>.

VAYSSIER-TAUSSAT, M.; LE RHUN, D.; BONNET, S.; COTTÉ, V. (2009). Insights in bartonella host specificity. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 1166(March 2014), 127–132. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04531.x>.

VENNING, J. A. (1919). The etiology of disordered action of the heart: a report on 7,803 CASES. **BMJ**, 2(3063), 337–339. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/bmj.2.3063.337>.

VINSON, J. W. (1966). In vitro cultivation of the rickettsial agent of trench fever. **Bulletin of the World Health Organization**, 35(2), 155–164. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/b978-1-4832-2913-3.50348-8>.

VU DANG, L.; CLAVEL, B.; LEPETZ, S.; ABOUDHARAM, G.; RAOULT, D.; DRANCOURT, M. (2004). Molecular Detection of Bartonella henselae DNA in the Dental Pulp of 800-Year-Old French Cats. **Clinical Infectious Diseases**, 39(9), 1391–1394. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/424884>.

WELCH, D. F.; PICKETT, D. A.; SLATER, L. N.; STEIGERWALT, A. G.; BRENNER, D. J. (1992). Rochalimaea henselae sp. nov., a cause of septicemia, bacillary angiomatosis, and parenchymal bacillary peliosis. **Journal of Clinical Microbiology**, 30(2), 275–280. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.30.2.275-280.1992>