

# RICKETTSIAS *LATO SENSU* EM QUIRÓPTEROS NO RIO DE JANEIRO: UM ESTUDO PILOTO

---

*Data de aceite: 13/03/2023*

### **Michelle Ferreira**

Laboratório de Hantavíroses e Rickettsioses, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil  
Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

### **Jorlan Fernandes**

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

### **Alexandro Guterres**

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

### **Tatiana Rozental**

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

### **Marcos Alexandre Nunes da Silva**

Laboratório de Morfologia e Morfogênese Viral, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

### **Debora Ferreira Barreto-Vieira**

Laboratório de Morfologia e Morfogênese Viral, 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:** O contínuo processo de urbanização e o avanço humano sobre os ecossistemas naturais têm provocado mudanças nos habitats, possibilitando, conseqüentemente, o maior contato de populações humanas e de animais silvestres. Fatores epidemiológicos, ecológicos e imunológicos permitem que os morcegos transmitam um espectro cada vez mais reconhecido de agentes zoonóticos e as proteobactérias estão entre os patógenos emergentes recentemente identificados nesses animais. Embora o número de publicações sobre proteobactérias dos gêneros *Rickettsia*, *Bartonella*, *Coxiella*, *Ehrlichia* e *Anaplasma* (*rickettsias lato sensu*) em animais vertebrados e invertebrados venha

aumentando nos últimos anos, no Brasil, o papel dos quirópteros no ciclo natural desses agentes é desconhecido. Com o objetivo de analisar a participação dos quirópteros na epidemiologia das doenças causadas por proteobactérias, um estudo piloto foi desenvolvido na Estação Biológica Fiocruz Mata Atlântica (EFMA) no município do Rio de Janeiro, Brasil. Análises moleculares foram realizadas em amostras de tecido de morcegos capturados no período de 2014–2015 na EFMA, macrorregião de Jacarepaguá, localizada na vertente leste da Floresta da Pedra Branca. Um total de 44 animais foi capturado e submetido à reação de PCR utilizando oligonucleotídeos para genes específicos de cada agente estudado. O DNA de *Rickettsia* spp., *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp. não foi amplificado em nenhuma das amostras testadas. Três amostras (6,8%) das espécies *Artibeus lituratus* e *Artibeus fimbriatus* foram positivas para o gene *htpAB* de *Coxiella burnetii*. Dez amostras (22,7%) pertencentes às espécies *Desmodus rotundus*, *Sturnira lilium*, *A. fimbriatus* e *Artibeus obscurus* foram positivas para *Bartonella* spp. O presente estudo piloto possibilitou o relato da infecção por *C. burnetii* e *Bartonella* spp. em quirópteros no Rio de Janeiro. Estudos futuros são necessários para determinar o papel dos morcegos e seus ectoparasitas na ecologia destes patógenos, bem como a influência desta relação patógeno/hospedeiro na saúde humana e animal.

**PALAVRAS-CHAVE:** Quirópteros, Zoonoses, *Bartonella* spp., *Coxiella burnetii*, Mata Atlântica.

## INTRODUÇÃO

### Quirópteros e a transmissão de agentes infecciosos

Atualmente existem pouco mais de 6400 espécies de mamíferos e, dentre estes, destacam-se os morcegos, animais que fazem parte de um dos grupos mais diversos globalmente, padrão que se repete na região Neotropical, a mais rica em espécies de mamíferos do planeta. Os quirópteros possuem diversas funções nos ecossistemas, com destaque para a dispersão de sementes, a polinização e o controle de insetos, alguns deles pragas agrícolas (KUNZ *et al.*, 2011; BURGIN *et al.*, 2018).

Os morcegos, pertencentes à ordem Chiroptera, estão amplamente distribuídos geograficamente e encontrados em todos os continentes, exceto na Antártica (SCHIPPER *et al.*, 2008). Entre os mamíferos, eles são os únicos que apresentam capacidade de realizar o voo ativo e, conseqüentemente, são capazes de se deslocar por grandes distâncias para o forrageio (HAYMAN *et al.*, 2013; IRVING *et al.*, 2021). Assim, são muitas as características pelas quais se atribui a capacidade dos quirópteros em albergar patógenos, em especial a capacidade de voo, um processo evolutivo determinante para a longevidade e adequação do funcionamento imunológico desses animais. Estas características permitem, desta forma, entre outros aspectos, a mediação do estresse oxidativo mitocondrial, que é considerado um dos principais fatores relacionados à alta resistência a patógenos intracelulares e à supressão de fatores tumorais nestes vertebrados (WANG *et al.*, 2011; O'SHEA *et al.*, 2014; BROOK & DOBSON, 2015). Em contraste, em relação às infecções extracelulares, os morcegos permanecem vulneráveis como observado na doença emergente causada pelo

fungo da espécie *Geomyces destructans*, agente da síndrome do nariz branco (do inglês *white-nose syndrome*) que tem afetado populações de diversas espécies norte americanas (HOYT *et al.*, 2021).

As características descritas acima associadas com a capacidade de habitar uma infinidade de nichos ecológicos, a sua diversidade alimentar, incluindo frutos, néctar, insetos, pequenos vertebrados ou uma combinação desses (onívoros), tornam os morcegos um dos grupos de mamíferos mais bem-sucedidos na Terra, aumentando, assim, o interesse global nesses mamíferos como hospedeiros/reservatórios potenciais de patógenos zoonóticos (KUNZ *et al.*, 2011; MÜHLDORFER, 2013; BROOK & DOBSON, 2015; IRVING *et al.*, 2021).

Embora não seja a ordem de mamíferos mais rica em espécies entre os hospedeiros de agentes zoonóticos, os morcegos hospedam mais patógenos por espécie do que as demais ordens e a maioria dos eventos de *spillover* desses agentes para os seres humanos resulta em infecções com alta probabilidade de disseminação (LUIS *et al.*, 2013; JOFFRIN *et al.*, 2018). Diante deste contexto, os morcegos têm chamado a atenção da comunidade científica nas últimas décadas por se apresentarem como hospedeiros importantes para muitos microrganismos relacionados a doenças humanas emergentes. Reconhecidos por albergarem e transmitirem diversos agentes infecciosos de importância para saúde pública como os vírus da raiva e coronavírus, além do histoplasma, entre outros, estudos têm apontado os quirópteros também como potenciais hospedeiros de proteobactérias pertencentes aos gêneros *Rickettsia*, *Bartonella* e *Coxiella* com a participação de diferentes espécies de artrópodes em ciclos zoonóticos complexos (MÜHLDORFER, 2013; TOZER *et al.*, 2014; STUCKEY *et al.*, 2017; MATEI *et al.*, 2021).

As evidências atuais sugerem que as mudanças ambientais e as interações entre animais silvestres, animais de produção e os humanos contribuem para a disseminação de agentes infecciosos de morcegos para outros hospedeiros (HAYMAN *et al.*, 2013; WHITE; RAZGOUR, 2020). Um número crescente de estudos investigando a diversidade e a dinâmica da infecção de patógenos de morcegos vem sendo publicado, no entanto, como esses agentes infecciosos são transmitidos tanto entre espécies de morcegos quanto para outros hospedeiros, incluindo humanos, essas informações geralmente permanecem desconhecidas (JOFFRIN *et al.*, 2018; WHITE; RAZGOUR, 2020).

Adicionalmente, uma grande diversidade de artrópodes, como mosquitos, ácaros, moscas, pulgas e carrapatos, pode ser encontrada em habitats ocupados por morcegos, particularmente em cavernas (DURON *et al.*, 2014; STUCKEY *et al.*, 2017). Até o momento, o papel dos artrópodes hematófagos de morcegos na disseminação de patógenos para os humanos permanece, portanto, especulativo, mesmo que alguns desses ectoparasitas, como pulgas e carrapatos, possam acidentalmente parasitar humanos (STUCKEY *et al.*, 2017). No entanto, existem relatos quanto à detecção da protobactéria *Bartonella mayotimonensis*, agente etiológico de endocardite em humanos, tanto no sangue de morcegos quanto nas pulgas coletadas desses animais, sugerindo que a possibilidade

de transmissão desse agente para humanos por picadas de pulgas ou pelo contato com suas fezes deva ser considerada (VEIKKOLAINEN *et al.*, 2014). Mais recentemente, com a metagenômica, uma grande diversidade de agentes potencialmente zoonóticos tem sido descrita em ectoparasitas de morcegos, incluindo diversas espécies de rickettsias *lato sensu*, mas essas investigações em diversas partes do mundo permanecem escassas (SOCOLOVSCHI *et al.*, 2012; REEVES *et al.*, 2016; CICUTTIN *et al.*, 2017; CORDUNEANU *et al.*, 2021; MATEI *et al.*, 2021).

### Rickettsias *lato sensu*

A definição “rickettsia” foi muito utilizada como um termo genérico para muitas bactérias pequenas intracelulares que, transmitidas por ectoparasitas, não podiam ser cultivadas em meio axênico até a década de 1980, quando o progresso taxonômico alterou profundamente esta definição, com a introdução de técnicas moleculares (BRENNER *et al.*, 1993). Desde então, foi possível realizar novas abordagens para inferências filogenéticas e taxonômicas a partir do estudo da genética e da evolução no conhecimento do genoma (OGRZEWALSKA *et al.*, 2017).

Rickettsias *lato sensu*, então, pode ser definida como um grupo cosmopolita de bactérias Gram-negativas, intracelulares obrigatórias, reconhecidas como proteobactérias dos subgrupos  $\alpha$ -1 (gêneros *Rickettsia*, *Ehrlichia* e *Anaplasma*),  $\alpha$ -2 (gênero *Bartonella*) e  $\gamma$ -proteobactérias (gênero *Coxiella*), historicamente pertencentes à ordem Rickettsiales, família Rickettsiaceae, e que atualmente se encontram reorganizadas e consideradas como famílias distintas de bactérias (BRENNER *et al.*, 1993; DRANCOURT & RAOULT, 1994). A família Bartonellaceae (ordem Rhizobiales) assim como a bactéria *Coxiella burnetii* (Legionellales: Coxiellaceae) foram retiradas da ordem Rickettsiales, que agora inclui duas famílias, Anaplasmataceae e Rickettsiaceae (BRENNER *et al.*, 1993; VITORINO *et al.*, 2007). No entanto, esses agentes ainda são comumente estudados dentro do campo da rickettsiologia e para os fins deste capítulo iremos considerá-los um conjunto, principalmente pelas inúmeras características comuns que apresentam, incluindo a capacidade de infectar uma ampla gama de espécies de artrópodes e vertebrados domésticos e silvestres.

Muitas doenças humanas têm como agentes etiológicos as rickettsias *lato sensu*, incluindo a febre maculosa brasileira, tifo epidêmico, ehrlichiose, febre Q / coxielose, doença da arranhadura do gato (DAG) / bartonelose, anaplasmose granulocítica e endocardites, entre outras, transmitidas em sua maioria por artrópodes, como ácaros, carrapatos, piolhos e pulgas, ou por contato direto com animais e suas excretas (LEMOS, 2013), e que serão apresentadas de forma resumida a seguir.

*Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp. têm os carrapatos como principais vetores, especialmente os gêneros *Ixodes*, *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Amblyomma*, que contribuem para a circulação bacteriana no ambiente. Essas bactérias são capazes de

causar uma infecção persistente no hospedeiro vertebrado (RAR; GOLOVLJOVA, 2011). A gama de potenciais hospedeiros vertebrados de espécies pertencentes a esses dois gêneros não está completamente definida devido à falta de sinais clínicos em muitos hospedeiros reservatórios ou pela escassez de estudos sobre o tema em alguns grupos de vertebrados. Mamíferos como cães, ruminantes domésticos e silvestres, especialmente os cervídeos, são considerados os principais hospedeiros amplificadores para essas bactérias, mas pequenos mamíferos, como roedores também podem atuar como amplificadores para algumas espécies (RAR; GOLOVLJOVA, 2011; SANTOS *et al.*, 2013; FERREIRA *et al.*, 2014; ANDRÉ, 2018). Cinco membros da família Anaplasmataceae são conhecidos por causar doença em humanos, principalmente as espécies *Ehrlichia chaffeensis*, *Anaplasma phagocytophilum* e *Ehrlichia ewingii* (ISMAIL *et al.*, 2010). No Brasil, estudos sorológicos e moleculares têm avaliado a ocorrência dessas bactérias especialmente em cães e gatos e a ehrlichiose monocítica canina causada pela espécie *E. canis* tem sido a doença mais amplamente relatada no Brasil (LEMONS, 2013; FERREIRA *et al.*, 2014). Em relação à infecção na população humana, apesar do agente etiológico ainda não ter sido identificado causando doença em humanos no Brasil, estudos mostraram evidência sorológica de ehrlichiose humana em Minas Gerais (COSTA *et al.*, 2006).

O gênero *Rickettsia* é composto por grupos complexos de bactérias intracelulares obrigatórias, agentes patogênicos e não patogênicos (SALJE, 2021). Atualmente os agentes pertencentes ao gênero *Rickettsia* têm sido divididos geneticamente em quatro grupos: Grupo Ancestral, Grupo do Tifo, Grupo Transicional e Grupo da Febre Maculosa (RGFM), que abriga mais de 25 espécies com 16 associadas com doenças humanas confirmadas, incluindo a espécie *Rickettsia rickettsii*, o protótipo do grupo da febre maculosa, considerada a espécie mais patogênica e importante do gênero no mundo, além de ser a espécie mais bem caracterizada no Brasil (LEMONS, 2013; VITORINO *et al.*, 2007; SALJE, 2021). O microrganismo é transmitido aos humanos pela picada de carrapatos, especialmente por *Amblyomma sculptum*, considerado o vetor primário no Brasil, e *Amblyomma aureolatum*, presente em áreas remanescentes de Mata Atlântica na região Sudeste, além de *Amblyomma ovale* (KATZ *et al.*, 2009; OGRZEWALSKA *et al.*, 2012). No carrapato, a bactéria pode ser transmitida pela via transovariana, transestadial e horizontal, durante o repasto sanguíneo em um hospedeiro pré-infectado com as rickettsias, aspectos biológicos que permitem ao carrapato permanecer infectado durante toda a vida e por muitas gerações após uma infecção primária, sendo assim caracterizado como reservatório (SOCOLOVSKI *et al.*, 2009; DE LA FUENTE *et al.*, 2017).

Desde os primeiros estudos de *Rickettsia* em mamíferos silvestres publicados na década de 1950, as publicações sobre as infecções causadas por essas proteobactérias, apesar de amplas, têm sido restritas a animais domésticos e artrópodes (MAGALHÃES, 1953; LEMONS *et al.*, 1996; OGRZEWALSKA *et al.*, 2012; COELHO *et al.*, 2016; ROZENTAL *et al.*, 2017; GRUHN *et al.*, 2019).

O gênero *Bartonella* é composto por um grupo de bactérias hemotrópicas transmitidas principalmente por picadas de pulgas para uma variedade de hospedeiros mamíferos, incluindo roedores, gatos, cães, humanos e morcegos (STUCKEY *et al.*, 2017; ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2018; KOSOY *et al.*, 2018). No Brasil poucas informações estão disponíveis sobre a diversidade de *Bartonella*. Até agora, *B. henselae*, *B. quintana*, *B. clarridgeiae*, *B. vinsonii* subsp. *berkhoffii* e *B. vinsonii* subsp. *arupensis* já foram identificadas infectando humanos e animais (LAMAS *et al.*, 2008; GONÇALVES *et al.*, 2016; FONTALVO *et al.*, 2017; ROZENTAL *et al.*, 2017; FERREIRA *et al.*, 2018; GONÇALVES-OLIVEIRA *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2021). Para informações mais detalhadas sobre as bartonelas, consultar o capítulo intitulado “Investigação da ocorrência e diversidade de *Bartonella* em morcegos, roedores, marsupiais e saguis” de autoria de Gonçalves *et al.* (2022).

*Coxiella burnetii*, o agente causador da febre Q, é transmitida a humanos e animais principalmente pela inalação de aerossóis ou excrementos contaminados como leite, fezes, urina, saliva e produtos de concepções (placenta, secreções vaginais, fluidos amnióticos) derivados de infecções animais. Esta forma de transmissão se deve ao fato de que esta bactéria possui uma capacidade de sobrevivência extracelular e uma resistência à ruptura física e química, devido à diferenciação esporogênica para produzir formas resistentes “*esporo-like*”, característica que possibilita a sua permanência por longos períodos no ambiente (LEMOS, 2013; MILLION & RAOULT, 2015; DAMASCENO & GUERRA, 2018).

Uma grande variedade de animais pode ser infectada com *C. burnetii*, incluindo mamíferos, pássaros e artrópodes, principalmente carrapatos, que são suspeitos de ter um papel na transmissão da bactéria entre vertebrados, especialmente roedores. Todos os mamíferos quando infectados excretam *C. burnetii* resistente à dessecação na urina, fezes, leite e, principalmente, nos produtos de nascimento (EPELBOIN *et al.*, 2016; GONZÁLEZ-BARRIO & RUIZ-FONS, 2019). No Brasil, apesar da existência de evidências sorológicas de febre Q desde os anos 1950, relatos dessa zoonose têm sido raros e associados a pequenos surtos em ambientes rurais e periurbanos (BRANDÃO *et al.*, 1953; LEMOS *et al.*, 2010; ROZENTAL *et al.*, 2012; LEMOS *et al.*, 2016; MARES-GUIA *et al.*, 2016; ROZENTAL *et al.*, 2020).

## **Rickettsias *lato sensu*, Mata Atlântica e quirópteros**

Nos últimos anos, estudos têm apontado os morcegos como hospedeiros dessas proteobactérias em todo o mundo. A crescente diversidade e a aparente associação de determinadas espécies de *Bartonella* spp. encorajam a realização de investigações e de vigilância, especialmente em ambientes silvestres para melhor compreender os ciclos naturais de transmissão desses patógenos em quirópteros, especialmente no Brasil, onde pouca atenção foi dada para essa temática até a ano de 2013.

No Brasil, a espécie de morcego vespertilionídeo *Histiotus velatus* e os filostomídeos

*Carollia perspicillata* e *Desmodus rotundus* foram considerados potenciais reservatórios de rickettsias em um estudo experimental na década de 1950 (MAGALHÃES, 1953). Após mais de 50 anos, um estudo realizado na cidade de São Paulo revelou que morcegos molossídeos, vespertilionídeos e filostomídeos foram sororreativos para RGFM (D'AURIA *et al.*, 2010). No entanto, considerando que se trata de uma evidência sorológica, o real papel dos morcegos como hospedeiros e mantenedores do ciclo natural dessas bactérias na natureza ainda permanece desconhecido em nosso país.

Neste contexto, obter conhecimento sobre epidemiologia de doenças e ecologia dos reservatórios é fundamental para avaliar de forma mais efetiva os desafios associados com saúde humana e conservação desses animais (BROOK; DOBSON, 2015). Assim, a implementação de abordagens de Saúde Única parece essencial, estratégica e benéfica para um desenvolvimento sustentável, particularmente para as populações que vivem em áreas com maior risco de surgimento de doenças transmitidas por animais silvestres (*hotspots* de zoonoses) (HAYMAN *et al.*, 2013; JOFFRIN *et al.*, 2018). Especialmente em áreas de grande biodiversidade, como a Mata Atlântica do Brasil, onde um estudo conduzido pelo nosso grupo no RJ, entre os anos de 2007 e 2012, identificou a presença infecção por *C. burnetii* (4,6% [6/131]) e *Bartonella* spp. (17,6% [23/131]) em 22,1% (29/131) dos roedores silvestres coletados em diferentes regiões fluminenses, inclusive com a detecção de coinfeção em 1,5% (2/131) dos roedores (ROZENTAL *et al.*, 2017). Há que se registrar que esse foi o primeiro relatado de infecções naturais por *C. burnetii*, *B. doshiae* e *B. vinsonii* em roedores silvestres da Mata Atlântica no Brasil, com destaque para a alta prevalência e a potencial diversidade de proteobactérias que podem ser detectadas em animais silvestres existentes nesse bioma (ROZENTAL *et al.*, 2017).

Com base nesse cenário, tendo em vista que os morcegos representam um dos grupos de mamíferos mais diversos e abundantes e que são os vertebrados silvestres que mais interagem com os humanos (MORATELLI; CALISHER, 2015), especialmente em áreas de transição entre o ambiente silvestre e urbano, foi proposto um estudo piloto na Estação da Fiocruz Mata Atlântica (EFMA) com o objetivo de diagnosticar a situação da presença de rickettsias *lato sensu* em quirópteros no município do Rio de Janeiro (2013-2015), para a ampliação no conhecimento sobre esse grupo de patógenos pouco estudado no ambiente silvestre brasileiro, de tal forma que sirva de parâmetros para fomentar estudos futuros em outras áreas do Brasil.

## MATERIAL & MÉTODOS

De dezembro de 2013 a maio de 2015, amostragens de morcegos foram realizadas, após concessão da licença para coleta de campo fornecida pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) sob o número de processo 19.037-1. Os quirópteros foram capturados usando 10 redes de neblina no nível do solo

(9 × 3 m) abertas por seis horas a cada noite em bordas de floresta ou ao longo de trilhas pré-existentes. Na base laboratorial de campo, os animais foram anestesiados, seguindo os procedimentos preconizados (LEMOS; D'ANDREA, 2014), para identificação, coleta dos dados bionômicos, sexagem e verificação de atividade reprodutiva. Após a eutanásia, por exsanguinação, amostras de órgãos e vísceras dos espécimes (rim, fígado, pulmão e coração) foram acondicionadas em nitrogênio líquido e, quando possível, armazenadas em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1M para análises por microscopia eletrônica de transmissão. Todos os procedimentos foram realizados seguindo os protocolos aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Fundação Oswaldo Cruz sob os processos CEUA P.62 /11–3 (LW-68/12) e P.42 /12 –1 (LW-81/12).

Os procedimentos de extração de DNA foram realizados em cabine de biossegurança de fluxo laminar em um laboratório de Biossegurança Nível 3. O DNA foi extraído de 10 mg de cada tecido de morcego usando o kit comercial *QIAamp DNA Mini Kit* (QIAGEN, Valencia, CA, EUA) de acordo com as instruções do fabricante. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi usada para detectar esses patógenos e o gene para o qual cada agente patogênico investigado no estudo foi testado se encontra listado com mais detalhes no Quadro 1: (i) *Bartonella* spp., para o gene *gltA* (ROZENTAL *et al.*, 2017); (ii) *C. burnetii*, oligonucleotídeos específicos para amplificar o gene *IS1111* (HOOVER *et al.*, 1992; MARES-GUIA *et al.*, 2017); (iii) *Rickettsia* spp., uma sequência parcial do gene *gltA* (ROZENTAL *et al.*, 2017); e (iv) *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp., para o gene *16S rRNA* (INOKUMA *et al.*, 2000).

Quadro 1. Conjunto de oligonucleotídeos utilizados para detecção de DNA rickettsia lato sensu.

Agente	Primers	Sequências (5' – 3')	Tamanho do fragmento
<i>Coxiella burnetii</i>	QBT-1	TATGTATCCACCGTAGCCAGC	687 pb
	QBT-2	CCCAACAACACCTCCTTATTC	
	QBT N3+ <sup>1</sup>	AAGCGTGTGGAGGAGCGAACC	440 pb
	QBT N4- <sup>1</sup>	CTCGTAATCACCAATCGCTTCGTC	
<i>Ehrlichia</i> spp. / <i>Anaplasma</i> spp.	EHR16SD	GGTACCYACAGAAGAAGTCC	344 pb
	EHR16SR	TGCACTCATCGTTTACAG	
<i>Bartonella</i> spp.	<i>gltA</i> F1	GCTATGTCTGCVTTCTATCAYGA	731 pb
	<i>gltA</i> R1	AGAACAGTAAACATTTTCN GTHGG	
	CS F1	CATCCTATGGCTATTATGCTTGC	885 pb
<i>Rickettsia</i> spp.	CS R1	TATACTCTCTATG(T/A)AC(A/G)T(A/G)ACC	
	CS F2	CTTACCGCTATTAGAATGATTGC	
	CS R2	GAGCGA(T/G)AGCTTCAAG(T/C)TCTAT	

Para confirmar a amplificação, os produtos foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com solução de GelRed™ (Biotium, Hayward, CA, USA). Foi usado como marcador de peso molecular 100 bp DNA ladder (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e os produtos amplificados foram visualizados em transiluminador sob luz ultravioleta e registrados em sistema digital para documentação de gel (Carestream GelLogic System).

Os produtos amplificados no tamanho de fragmento esperado foram purificados utilizando o kit *Illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification*® (GE Healthcare, USA), de acordo com as instruções do fabricante. Para a reação de sequenciamento foi utilizado o kit *BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction*® v3.1 e kit *BigDye*® *X-Terminator Purification* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) e a corrida foi realizada em um sequenciador ABI 3730xL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). As sequências de nucleotídeos e seus cromatogramas foram analisados utilizando programa MEGA 6.0 (megasoftware.net). Uma sequência consenso foi estabelecida e as divergências de nucleotídeos foram esclarecidas pela análise dos arquivos gerados pelo sequenciamento.

Amostras de tecido pulmonar ( $n = 2$ ) e de tecido renal ( $n = 4$ ) de animais positivos para *Bartonella* spp. e *C. burnetii*, fixadas em glutaraldeído durante as atividades de campo (Quadro 2), foram analisadas por microscopia eletrônica de transmissão para identificação de proteobactérias nesses tecidos. Uma vez fixadas, as amostras foram lavadas em tampão cacodilato de sódio 0,1M, pós-fixadas em tetróxido de ósmio 2%, desidratadas em banhos de acetona de concentrações crescentes, infiltradas com resina epon e levadas à estufa a 60° C por três dias para polimerização (SESSO, 2007; BARRETO-VIEIRA *et al.*, 2010). Os blocos contendo as amostras foram seccionados em ultramicrótomo e as secções ultrafinas de 30 a 70 µm foram contrastadas em acetato de uranila e citrato de chumbo (REYNOLDS, 1963). As análises foram realizadas no microscópio eletrônico de transmissão Hitachi HT 7800 do Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Quadro 2. Microscopia eletrônica de transmissão em amostras de tecido pulmonar e renal de animais positivos para *Bartonella* spp. e *C. burnetii*, capturados na Estação da Fiocruz Mata Atlântica no Rio de Janeiro.

ESPÉCIE	SEXO	TECIDO
<b>Animais positivos para <i>Bartonella</i> spp.</b>		
<i>Desmodus rotundus</i>	Macho	Pulmão
<i>Desmodus rotundus</i>	Fêmea	Rim
<i>Sturnira lilium</i>	Macho	Rim
<i>Desmodus rotundus</i>	Macho	Rim
<i>Desmodus rotundus</i>	Fêmea	Pulmão
<b>Animal positivo para <i>Coxiella burnetii</i></b>		
<i>Artibeus lituratus</i>	Macho	Rim

## RESULTADOS

Os resultados apresentados sucintamente a seguir fazem parte da dissertação de mestrado intitulada “*Estudo de rickettsias lato sensu em amostras de quirópteros de diferentes regiões do Brasil*”, de autoria de Michelle Ferreira e se encontram também publicados no periódico *BMC Veterinary Research* (FERREIRA *et al.*, 2018).

### Quirópteros

Do total de 44 morcegos capturados, foram identificados nove gêneros e 12 espécies. As espécies mais capturadas foram (Tabela 1): *Desmodus rotundus* ( $n = 15$ ), *Sturnira lilium* (6), *Carollia perspicillata* (4), *Artibeus lituratus* (4), *Artibeus fimbriatus* (3), *Glossophaga soricina* (2), *Myotis nigricans* (2), *Sturnira tildae* (2), *Vampyressa pusilla* (2), *Artibeus obscurus* (1), *Lonchophylla peracchii* (1), *Micronycteris minuta* (1) e *Micronycteris* sp. (1).

### Detecção de *Anaplasma*, *Bartonella*, *Coxiella burnetii*, *Ehrlichia* e *Rickettsia*

O DNA de *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp. e *Rickettsia* spp. não foi amplificado em nenhuma das amostras de morcegos testadas. O DNA de *C. burnetii* foi amplificado em três amostras (6,8%) dentre as 44 amostras de morcegos analisadas, sendo duas de *A. lituratus* e uma de *A. fimbriatus*. A detecção gênica de *Bartonella* spp. ocorreu em 10 espécimes (23%) das seguintes espécies: *D. rotundus* ( $n = 6$ ), *S. lilium* (2), *A. fimbriatus* (1) e *A. obscurus* (1). Coinfecção dos agentes *Bartonella* spp. e *C. burnetii* foi detectada em uma amostra de *A. fimbriatus*. Todas as amostras positivas foram sequenciadas para confirmação da identificação dos agentes patogênicos.

Tabela 1. Quirópteros capturados na Estação da Fiocruz Mata Atlântica no Rio de Janeiro, número total de espécimes e de animais infectados.

Táxon	Total de espécimes	Amostras positivas por PCR		
		<i>Bartonella</i>	<i>Coxiella</i>	<i>Bartonella</i> e <i>Coxiella</i>
Phyllostomidae				
<i>Carollia perspicillata</i>	04 (9,1%)	---	---	---
<i>Desmodus rotundus</i>	15 (24,1%)	06 (40%)	---	---
<i>Glossophaga soricina</i>	02 (4,5%)	---	---	---
<i>Lonchophylla peracchii</i>	01 (2,3%)	---	---	---

<i>Micronycteris minuta</i>	01 (2,3%)	---	---	---
<i>Micronycteris sp.</i>	01 (2,3%)	---	---	---
<i>Artibeus fimbriatus</i>	03 (6,9%)	01 (33,3%)	01 (33,3%)	01 (33,3%)
<i>Artibeus lituratus</i>	04 (9,1%)	---	02 (50%)	---
<i>Artibeus obscurus</i>	01 (2,3%)	01 (100%)	---	---
<i>Sturnira lilium</i>	06 (13,6%)	02 (33,3%)	---	---
<i>Sturnira tildae</i>	02 (4,5%)	---	---	---
<i>Vampyressa pusilla</i>	02 (4,5%)	---	---	---
Vespertilionidae				
<i>Myotis nigricans</i>	02 (4,5%)	---	---	---
Total	44 (100%)	10 (23,0%)	03 (6,8%)	01 (2,3%)

### **Análises por microscopia eletrônica de transmissão em amostras de órgãos de quirópteros positivos para *Bartonella* e *Coxiella burnetii***

Análises ultraestruturais preliminares do tecido pulmonar de duas amostras provenientes de *D. rotundus* positivos para *Bartonella* revelaram presença exacerbada de neutrófilos nos capilares (Figuras 1A, 1B e 1C), congestão vascular (Figuras 1B e 1C), edema nos capilares (Figura 1C), macrófagos alveolares (Figura 1C) e ativação de células endoteliais (Figura 1D). Em tecido renal de amostras provenientes *A. lituratus* positivo para *C. burnetii* (dado não apresentado) e de morcegos dos gêneros *Desmodus* e *Sturnira* positivos para *Bartonella* spp., a alteração morfológica detectada, assim como em tecido pulmonar, foi a presença aumentada de neutrófilos associada com congestão vascular (Figuras 1E e 1F). Nenhuma bactéria semelhante às proteobactérias estudadas foi detectada.

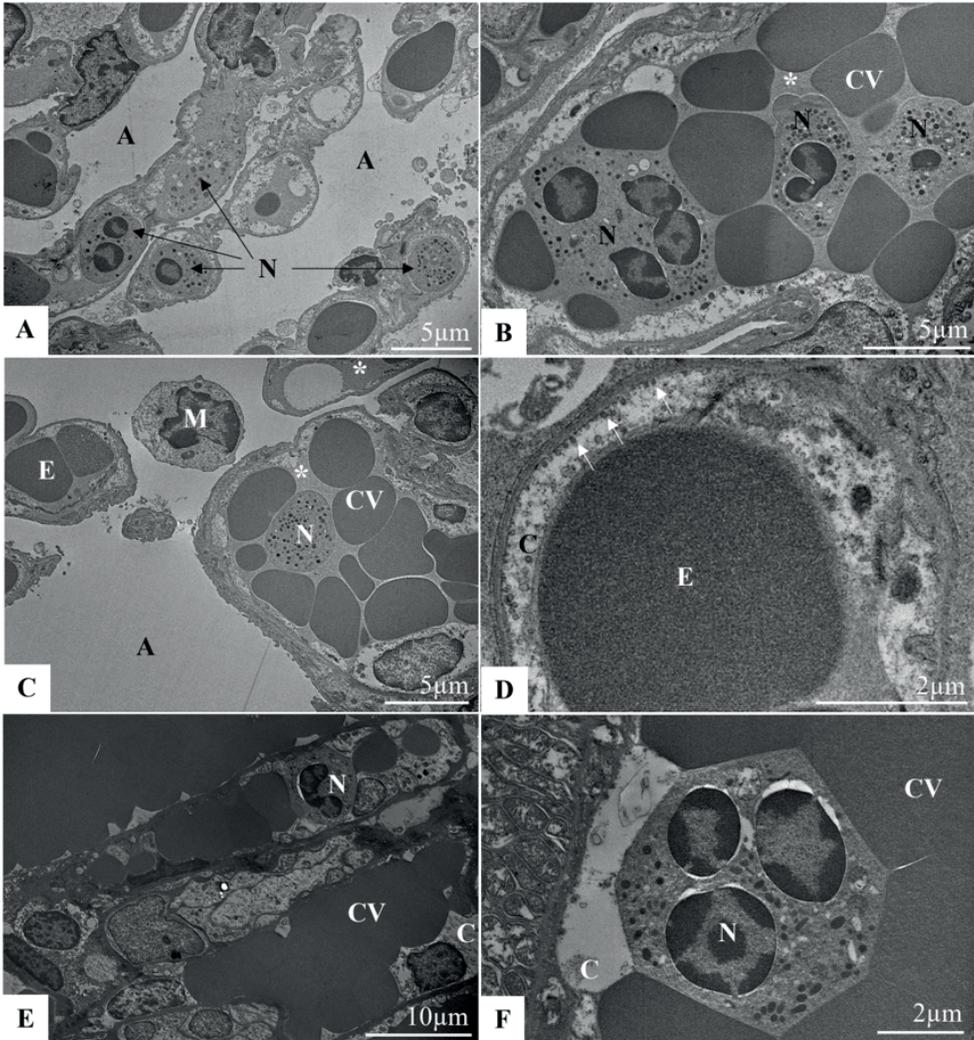


Figura 1. Secções ultrafinas de tecidos pulmonar e renal de morcegos dos gêneros *Desmodus* e *Sturnira* positivos para *Bartonella*. A-D: Tecido pulmonar apresentando neutrófilos (N) em capilares (C), congestão vascular (CV), com a presença de edema nos capilares (asterisco), ativação de célula endotelial (setas) e macrófagos (M) nos espaços alveolares (A); Eritrócitos (E). E- F: Tecido renal apresentando neutrófilos (N) em capilares (C) e congestão vascular (CV). Fonte: Laboratório de Morfologia e Morfogenese Viral IOC/Fiocruz, 2021.

## DISCUSSÃO

### Detecção de membros da família Rickettsiaceae

Na pesquisa do genoma de *Rickettsia* spp. nenhuma amostra analisada apresentou amplificação do fragmento parcial do gene *gltA*, corroborando estudos semelhantes realizados em morcegos na Argentina, Chile e Sudeste da Europa, que identificaram baixa prevalência ou ausência da presença de fragmentos de DNA de *Rickettsia* em amostra

de diferentes espécies de quirópteros (CICUTTIN *et al.*, 2017; SZUBERT-KRUSZYŃSKA *et al.*, 2019; MÜLLER *et al.*, 2020; ZHAO *et al.*, 2020; CORDUNEANU *et al.*, 2021). Adicionalmente, inquéritos sorológicos demonstraram a possibilidade, diante do contato com as rickettsias, dos morcegos atuarem como sentinelas da presença dessas bactérias na região estudada (REEVES *et al.*, 2006; D'AURIA *et al.*, 2010), reforçando a afirmação de Rozental *et al.* (2019) de que a falta de amplificação de DNA de rickettsias em amostras de animais silvestres é, de certa forma, um resultado esperado, uma vez que os vertebrados atuam como amplificadores e fonte alimentar para os carrapatos, que são de fato os verdadeiros reservatórios dessas proteobactérias na natureza.

De fato, um número crescente de rickettsias vem sendo detectado em carrapatos e outros ectoparasitas de morcegos (SOCOLOVSCHI *et al.*, 2012; DIETRICH *et al.*, 2016; AMARAL *et al.*, 2018; IZZARD *et al.*, 2018; SZUBERT-KRUSZYŃSKA *et al.*, 2020; ZHAO *et al.*, 2020). A identificação de carrapatos da espécie *Carios kelleyi* positivos para presença de DNA de *Rickettsia* spp., inclusive com observações laboratoriais que sugerem que o agente pode ser mantido tanto pela via transestadial quanto pela via transovariana nessa espécie de carrapato, confirmam a importância do tema (LOFTIS *et al.*, 2005; REEVES *et al.*, 2006). Desta forma, um número maior de investigações precisa ser conduzido para entender o real papel desses e outros ectoparasitas na transmissão e manutenção de *Rickettsia* spp. em ciclos enzoóticos envolvendo morcegos, uma vez que um estudo recente demonstrou altas prevalências de infecção por esta proteobactéria em quirópteros (MATEI *et al.*, 2021).

Um cenário semelhante ao descrito para *Rickettsia* spp. foi identificado na pesquisa por proteobactérias da família Anaplasmataceae, em que não houve amplificação de fragmentos parciais de DNA em nenhuma das amostras incluídas neste estudo, em consonância com literatura disponível sobre o tema, já que artigos científicos publicados por grupos em diferentes regiões do mundo demonstram baixa prevalência ou ausência da infecção por *Anaplasma/Ehrlichia* spp. em quirópteros e seus ectoparasitas (LOFTIS *et al.*, 2005; SOCOLOVSCHI *et al.*, 2012; REEVERS, *et al.*, 2016; CICUTRIUM *et al.*, 2017; HAN *et al.*, 2018; LV *et al.*, 2018; SZUBERT-KRUSZYŃSKA *et al.*, 2019).

Agentes pouco conhecidos em morcegos e seus ectoparasitas, *Ehrlichia* spp. já foi detectada em amostra de sangue de *Brachyphylla cavernarum* na Ásia e em carrapatos da espécie *Argas vespertilionis*, assim como na França e no Reino Unido (SOCOLOVSCHI *et al.*, 2012; LV *et al.*, 2018; REEVES *et al.*, 2019). Recentemente, *A. phagocytophilum* foi detectada em amostras de fezes de *Rhinolophus hipposideros*, com prevalências que variaram de 0 a 82% em 23 colônias investigadas na França, um resultado que permite sugerir que essa detecção é provavelmente um reflexo da presença de DNA bacteriano nas presas desses morcegos que incluem pequenos insetos, como mosquitos, moscas e besouros, ou é decorrente de uma infecção persistente nos morcegos de vida longa, semelhante ao que foi previamente proposto para *Bartonella* spp. em outras espécies de morcegos (AFONSO; GOYDADIN, 2018).

Apesar de não ter sido possível no presente estudo amplificar o DNA dessas bactérias nos quirópteros capturados na EFMA, as evidências da circulação em quirópteros e seus ectoparasitas, assim como a comprovação de animais domésticos e silvestres infectados no território brasileiro (LEMOS, 2013), reforçam a necessidade de mais estudos nesses animais.

### Detecção de *Coxiella burnetii*

A pesquisa de *C. burnetii* na vida silvestre foi negligenciada por muitos anos, mesmo com evidências robustas de que determinadas espécies de vertebrados selvagens se comportam como verdadeiros reservatórios dessa bactéria. Nos últimos anos, estudos vêm demonstrando uma série de animais silvestres infectados por *C. burnetii*, incluindo ursos, cervídeos, porcos selvagens, aves, roedores e marsupiais (GONZÁLEZ-BARRIO; RUIZ-FONS, 2019). No presente estudo foi possível detectar a presença de DNA de *C. burnetii* em três morcegos das espécies *A. lituratus* (2) e *A. fimbriatus* (1).

Os morcegos do gênero *Artibeus* pertencem à família Phyllostomidae, subfamília Stenodermatinae e possuem hábitos alimentares predominantemente frugívoros, mas que eventualmente podem apresentar uma dieta mais generalista, alimentando-se de insetos, pólen e néctar, com a formação de colônias que chegam a mais de 20 indivíduos em época reprodutiva (ESBERARD *et al.*, 1998; REIS *et al.*, 2013). As espécies *A. lituratus* e *A. fimbriatus* são capazes de percorrer longas distâncias em uma noite. Costa *et al.* (2006), relataram o deslocamento de um indivíduo de *A. fimbriatus* no RJ, que foi recapturado 20 dias após a primeira captura, 21,7 km distante do local de marcação. Enquanto Reis *et al.* (2012) relataram dois indivíduos de *A. lituratus* que foram recapturados a cerca de 20 km do local de marcação, após dois anos da primeira captura.

A literatura atual disponível apresenta um número restrito de relatos sobre o papel dos morcegos no ciclo natural de *C. burnetii*. Em estudos em áreas endêmicas na Guiana Francesa, nenhuma evidência de infecção foi observada nos animais testados (GARDON *et al.*, 2001; DAVOUST *et al.*, 2014). No Chile, Muller *et al.* (2020) demonstraram a presença de DNA de *C. burnetii* em cinco amostras de baço de *Tadarida brasiliensis*. Já na Austrália, fragmentos de DNA de *C. burnetii* foram amplificados a partir da urina de morcegos do gênero *Pteropus*, sugerindo o potencial desses animais como dispersores dessa bactéria no ambiente podendo, então, atuar como fonte de infecção para humanos e para outros animais por meio da inalação de aerossóis a partir de excretas desses animais (TOZER *et al.*, 2014).

Assim, somando este achado às características dos quirópteros do gênero *Artibeus*, pode-se especular que esses animais contribuam para a dispersão e transmissão de *C. burnetii* no ambiente, considerando que esta proteobactéria pode ser excretada em altas quantidades e que é altamente resistente às mais diversas condições ambientais, podendo

sobreviver durante várias semanas fora de um hospedeiro, além de ser facilmente carreada pelo ar (MAURIN; RAOULT, 1999). Este fato é de extrema importância, por caracterizar os morcegos como potenciais fontes de infecção e de disseminação das formas resistentes “*esporo-like*” de *C. burnetii* para humanos e outros mamíferos.

*Coxiella burnetii* é o agente etiológico da febre Q em humanos e da coxielose em animais. Como as demais doenças que afetam a fauna silvestre, a coxielose é difícil de ser detectada e os casos reportados na literatura constituem apenas uma fração dos casos reais (GORTÁZAR *et al.*, 2010; GONZÁLEZ-BARRIO; RUIZ-FONS, 2019). As manifestações clínicas de coxielose em animais estão relacionadas a distúrbios reprodutivos como abortos espontâneos, natimortos e malformações relatadas em uma ampla gama de mamíferos, constituindo, assim, um potencial risco para a manutenção de diversas espécies de animais, especialmente aquelas ameaçadas de extinção (DUNCAN *et al.*, 2012; CARON *et al.*, 2013; KREIZINGER *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2018). A detecção de *C. burnetii* apresentada no presente estudo deve servir como um alerta para aqueles profissionais que atuam nos programas de conservação de quirópteros, considerando a importância de incluir essa bactéria na investigação de distúrbios reprodutivos em animais de vida livre ou naqueles mantidos em coleções ou santuários destinados à criação desses vertebrados.

A febre Q é considerada uma zoonose de distribuição mundial, associada majoritariamente ao contato com animais de criação, especialmente ruminantes como gado, ovelhas e cabras. O maior risco de infecção humana está associado à inalação de aerossóis contendo *C. burnetii* proveniente de material de parto ou aborto desses animais (MARES-GUIA *et al.*, 2014; EPELBOIN *et al.*, 2017; OGRZEWALSKA *et al.*, 2017; DAMASCENO; GUERRA, 2018). No entanto, a exposição a animais silvestres vem sendo recorrentemente considerada também um fator de risco para infecção humana, tornando-se, assim, uma importante fonte de infecção (WHITNEY *et al.*, 2009; DAVOUST *et al.*, 2014; TOZER *et al.*, 2014; SCHLEENVOIGT *et al.*, 2015; FLINT *et al.*, 2016).

No Brasil, são poucos os relatos que auxiliam no entendimento da epidemiologia de *C. burnetii*. Merece destaque o estudo de soroprevalência realizado na região de Jacarepaguá, no município do Rio de Janeiro, em pacientes HIV-positivos atendidos em serviço de saúde na região administrativa de Jacarepaguá (onde se localiza a EFMA), em que nosso grupo de pesquisa identificou uma prevalência para *C. burnetii* de 3,2%, associada a uma infecção crônica (LAMAS *et al.*, 2009). Ainda no RJ, o primeiro caso confirmado no Brasil, por análise molecular, de febre Q foi no município de Itaboraí, região metropolitana, onde a infecção por *C. burnetii* foi identificada em humanos, cães, ovelhas e cabras (LE MOS *et al.*, 2011). A continuidade do inquérito epidemiológico nessa região identificou, após quatro anos do primeiro achado, novos focos de infecção por *C. burnetii* em animais domésticos e ectoparasitas nos arredores do primeiro local de estudo, revelando a presença, a propagação e a transmissão desse agente em território fluminense (LE MOS *et al.*, 2011; ROZENTAL *et al.*, 2012; LE MOS *et al.*, 2018; MARES-GUIA *et al.*,

2014). Posteriormente, em 2013, roedores silvestres foram capturados no município de Pirai/RJ e a análise laboratorial confirmou animais PCR positivos para a presença de *C. burnetii* (ROZENTAL *et al.*, 2017).

Embora a ocorrência de infecção de quirópteros observada na EFMA tenha sido baixa, pode-se inferir que os morcegos são uma fonte potencial de *C. burnetii* e que esses animais podem possuir um papel chave na transmissão e na propagação da bactéria do ciclo silvestre para o rural, na transmissão animais de criação e de companhia, em arredores de fazendas e na potencial transmissão direta para humanos. Apesar das rotas de transmissão de *C. burnetii* de morcegos não terem sido investigadas até o momento, a potencial transmissão envolvendo a inalação de bactérias aerossolizadas de solo contaminado por outros animais silvestres já foi sugerida (MEERBURG; REUSKEN, 2011).

Essas informações somadas aos achados obtidos no estudo em quirópteros realizados na EFMA sugerem a existência de um complexo ciclo de transmissão de *C. burnetii* que pode estar envolvendo um extenso número de animais silvestres, fato que aponta para a necessidade de estudos futuros nas áreas do território nacional onde casos de febre Q tenham sido confirmados.

### Detecção de *Bartonella*

Em relação ao estudo com *Bartonella* spp., após recentes relatos de infecção em morcegos em diferentes regiões do mundo, foi possível obter evidências adicionais de que as bartonelas também são prevalentes em populações de morcegos no Brasil. Em geral, as diversas espécies de *Bartonella* são consideradas agentes transmitidos por uma variedade de ectoparasitas vetores (BREITSCHWERDT *et al.*, 2000). Os quirópteros são parasitados por uma grande diversidade de ectoparasitas, incluindo dípteros, pulgas, carrapatos moles e ácaros, alguns dos quais altamente específicos para os morcegos (BERTOLA *et al.*, 2005). Somado a isto, a tendência à formação de colônias e até compartilhamento de abrigos como acontece com as espécies *C. perspicillata* e *Phyllostomus discolor* (e.g., REIS *et al.*, 2013) podem contribuir para a transmissão frequente de *Bartonella* spp. intraespécies e interespecíes. Em um estudo realizado por Ducan *et al.* (2007) foi possível detectar o DNA de *Bartonella* spp. na saliva de cães, sugerindo a possibilidade de transmissão dessas bactérias através de mordedura. Diante desse estudo, a inclusão da espécie *D. rotundus* como potencial hospedeira de bartonelas merece atenção, uma vez que esses animais mantêm uma dieta exclusivamente hematófaga (GREENHALL *et al.*, 1983). Pertinente reforçar que atualmente *D. rotundus* continua sendo considerado o mais importante reservatório e vetor do vírus da raiva (SCHNEIDER *et al.*, 2009; CORRÊA *et al.*, 2013).

Muitas lacunas ainda não foram preenchidas no que diz respeito ao papel dos morcegos como hospedeiros de *Bartonella* spp. na natureza. Diante do número crescente de espécies de *Bartonella* que vem sendo descrito, em especial às associadas à doença

humana, a inclusão dos quirópteros no contexto de hospedeiro dessas bactérias é de essencial importância para a compreensão do ciclo de perpetuação desses agentes na natureza. Não obstante os dados inéditos discutidos acima, no estudo foi identificada pela primeira vez um quiróptero, da espécie *A. fimbriatus*, coinfectado com *C. burnetii* e *Bartonella* spp., reforçando, assim, o potencial dos quirópteros para hospedar patógenos bacterianos.

Deve ser ressaltado que a importância deste estudo é realçada pela publicação de Luis *et al.* (2013), na qual os autores compararam os morcegos com os roedores como reservatórios de vírus zoonóticos. Neste estudo foi demonstrado que os morcegos abrigam um número muito maior de vírus zoonóticos quando comparados com os roedores e o nível de contato interespecífico frequentemente observado em abrigos formados por um conjunto diversificado de espécies de morcegos é uma das justificativas. Assim, é bem possível que esse modelo possa ser aplicado também para as bactérias zoonóticas, considerando mais uma vez que a sobreposição de diferentes espécies de animais de uma mesma ordem taxonômica em uma mesma distribuição espacial torna possível o compartilhamento de um maior número de agentes bacterianos, tal como observado com os vírus (LUIS *et al.*, 2013).

Membros da família Streblidae já foram encontrados infectados por *Bartonella* spp. em Gana, Costa Rica, Nigéria e EUA, como citado anteriormente (REEVES *et al.*, 2005; KAMANI *et al.*, 2014; JUDSON *et al.*, 2015; BILLETER *et al.*, 2019). Em um estudo realizado na Costa Rica, Judson *et al.* (2015) observaram uma associação entre as variantes gênicas de *Bartonella* spp. detectadas nos dípteros coletados com as variantes identificadas nos morcegos por eles parasitados, sugerindo um sistema de hospedeiro-vetor entre os dípteros e os morcegos. Entretanto, vale ressaltar que a presença do agente nos dípteros estudados não comprova sua competência vetorial.

## CONCLUSÃO

Considerando a complexidade dos ciclos das rickettsias *lato sensu* na natureza, os quirópteros não podem ser desconsiderados como importantes atores nos ciclos silvestres e como possíveis elos entre os ciclos silvestres e periurbanos. A realização desse estudo pioneiro no Brasil demonstra a importância e a necessidade de uma vigilância abrangente desses agentes. É importante reforçar, como informado previamente, que os resultados apresentados neste capítulo possibilitaram o primeiro registro da infecção por *C. burnetii* e *Bartonella* spp. em quirópteros no país (FERREIRA *et al.*, 2018).

A partir da experiência e dos resultados preliminares obtidos nesse projeto piloto, foi possível a realização de outros estudos com quirópteros em diferentes regiões da Mata Atlântica, um na área proteção ambiental (APA) do Pratigi no Sul da Bahia (13°50'43.3", S 39°16'17.0" W) e no Parque Estadual da Serra do Tabuleiro (PEST), em Santa Catarina (27°44'30.8" S, 48°48'26.7" W), além da continuação e expansão das atividades realizadas

na EFMA, com a inclusão da investigação de outras ordens de animais que culminaram no trabalho apresentado no capítulo de autoria de Gonçalves e colaboradores deste livro (FERREIRA *et al.*, 2018; GONÇALVES-OLIVEIRA *et al.*, 2020). Por fim, esperamos que este capítulo consiga incentivar mais pesquisas nesta temática para que se possa determinar o real papel dos quirópteros e seus ectoparasitas na ecoepidemiologia desses patógenos, bem como a influência que essa relação patógeno e hospedeiro pode ter sobre a saúde humana e animal.

## AGRADECIMENTOS

Às agências de fomento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 301639/2012-4) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ E-26/202.980/2016), à Pós-graduação em Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) e ao Programa de Desenvolvimento do Campus Fiocruz Mata Atlântica (PDCFMA/Fiocruz). Nós também gostaríamos de agradecer a Ana Luisa Teixeira de Almeida, do laboratório de Morfologia e Morfogênese Viral (IOC/Fiocruz), à equipe do PDCFMA, que auxiliou na execução deste trabalho e a todos os coautores do artigo gerado a partir deste estudo, parcialmente apresentado neste capítulo.

## REFERÊNCIAS

- AFONSO, E.; GOYDADIN, A. C. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* DNA in the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) guano. **Epidemiology & Infection**, 146(10):1253-1258, 2018.
- ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ, A.; BREITSCHWERDT, E. B.; SOLANO-GALLEGO, L. Bartonella infections in cats and dogs including zoonotic aspects. **Parasite & Vectors**, 11(1):624, 2018.
- AMARAL, R. B. do; LOURENÇO, E. C.; FAMADAS, K. M.; GARCIA, A. B.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Molecular detection of Bartonella spp. and Rickettsia spp. in bat ectoparasites in Brazil. **PLoS One**, 13(6):e0198629, 2018.
- ANDRÉ, M. R. Diversity of *Anaplasma* and *Ehrlichia/Neoehrlichia* Agents in Terrestrial Wild Carnivores Worldwide: Implications for Human and Domestic Animal Health and Wildlife Conservation. **Frontiers in Veterinary Science**, 23;5:293, 2018.
- BARRETO-VIEIRA, D. F.; BARTH-SCHATZMAYR, O. M.; SCHATZMAYR, H. G. Modelo animal experimental para o estudo da patogênese dos vírus dengue sorotipos 1 e 2. **Manual de técnicas**. Rio de Janeiro: Interciência; 2010.
- BERTOLA, P. B.; AIRES, C. C.; FAVORITO, S. E.; GRACIOLLI, G.; AMAKU, M.; PINTO-DA-ROCHA, R. Bat flies (Diptera: Streblidae, Nycteribiidae) parasitic on bats (Mammalia: Chiroptera) at Parque Estadual da Cantareira, Sao Paulo, Brazil: parasitism rates and host-parasite associations. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 100(1):25-32, 2015.

BILLETER, S. A.; HAYMAN, D. T.; PEEL, A. J.; BAKER, K.; WOOD, J. L.; CUNNINGHAM, A.; SUU-IRE, R.; DITTMAR, K.; KOSOY, M. Y. Bartonella species in bat flies (Diptera: Nycteribiidae) from western Africa. **Parasitology**, 139(3):324-329, 2019.

BRANDÃO, H.; RIBEIRO DO VALLE, L. A.; CHRISTÓVÃO, D. A. Investigações sobre a febre Q em São Paulo. 1. Estudo sorológico em operários de um frigorífico. **Arquivos da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo**, 7: 127-134, 1953.

BREITSCHWERDT, E. B.; KORDICK, D. L. Bartonella infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection. **Clinical Microbiology Review**, 13(3):428-438, 2000.

BRENNER, D. J.; O'CONNOR, S. P.; WINKLER, H. H.; STEIGERWALT, A. G. Proposals to unify the genera Bartonella and Rochalimaea, with descriptions of Bartonella quintana comb. nov., Bartonella vinsonii comb. nov., Bartonella henselae comb. nov., B. elizabethae comb. nov., and to remove the Family Bartonellaceae from to order Rickettsiales. **International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology**, 43:711-715, 1993.

BROOK, C. E.; DOBSON, A. P. Bats as 'special' reservoirs for emerging zoonotic pathogens. **Trends in Microbiology**, 23(3):172-180, 2015.

BURGIN, C. J.; COLELLA, J. P.; KAHAN, P. L.; UPHAM, N. S. How many species of mammals are there? **Journal of Mammalogy**, 99 (1): 1-14, 2018.

CARON, A.; MIGUEL, E.; GOMO, C.; MAKAYA, P.; PFUKENYI, D. M.; FOGGIN, C.; HOVE, T.; DE GARINE-WICHATITSKY, M. Relationship between burden of infection in ungulate populations and wildlife/livestock interfaces. **Epidemiology and Infection**, 141:1522–1535, 2013.

CICUTTIN, G. L.; DE SALVO M. N.; LA ROSA, I.; DOHMEN, F. E. G. Neorickettsia risticii, Rickettsia sp. and Bartonella sp. in Tadarida brasiliensis bats from Buenos Aires, Argentina. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, 52:1-5, 2017.

COELHO, M. G.; RAMOS, V. D. O. N.; LIMONGI, J. E.; LEMOS, E. R. de; GUTERRES, A.; COSTA NETO, S. F. da; ROZENTAL, T.; BONVICINO, C. R.; D'ANDREA, P. S.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. Serologic evidence of the exposure of small mammals to spotted-fever Rickettsia and Rickettsia bellii in Minas Gerais, Brazil. **Journal of Infection Development Countries**, 10(3):275-282, 2016.

CORDUNEANU, A.; MIHALCA, A. D.; SÁNDOR, A. D.; HORNOK, S.; MALMBERG, M.; VISO, N. P.; BONGCAM-RUDLOFF, E. The heart microbiome of insectivorous bats from Central and South Eastern Europe. **Comp Immunology Microbiology Infectious Diseases**, 7;75:101605, 2021.

CORRÊA, M. M. O.; LAZAR, A.; DIAS, D.; BONVICINO, C. R. Quirópteros hospedeiros de zoonoses no Brasil. **Boletim da Sociedade Brasileira de Mastozoologia**, 67:23-38, 2013.

COSTA, L. M.; PRATA, A. F. D.; MORAES, D.; CONDE, C. F. V.; JORDÃO-NOGUEIRA, T. ; ESBERARD, C. E. L. Deslocamentode Artibeus fimbriatus sobre o mar. **Chiroptera Neotropical**, 12(2):289-290, 2006.

COSTA, P. S.; VALLE, L. M.; BRIGATTE, M. E.; GRECO, D. B. More about human monocytotropic ehrlichiosis in Brazil: serological evidence of nine new cases. **Brazilian Journal of Infectious Disease**, 10(1):7-10, 2006.

DAMASCENO, I. A. M.; GUERRA, R. C. *Coxiella burnetii* e a febre Q no Brasil, uma questão de saúde pública. **Ciências & Saúde Coletiva**, 23(12):4231-4239, 2018.

D'AURIA, S. R.; CAMARGO, M. C.; PACHECO, R. C.; SAVANI, E. S.; DIAS, M. A.; DA ROSA, A. R.; ALMEIDA, M. F. de; LABRUNA, M. B. Serologic survey for rickettsiosis in bats from São Paulo city, Brazil. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, 10(5):459-463, 2010.

DAVOUST, B.; MARIE, J. L.; POMMIER DE SANTI, V.; BERENGER, J. M.; EDOUARD, S.; RAOULT, D. Three-toed sloth as putative reservoir of *Coxiella burnetii*, Cayenne, French Guiana. **Emerging Infectious Diseases**, 20(10):1760-1761, 2014.

DE LA FUENTE, J.; ANTUNES, S.; BONNET, S.; CABEZAS-CRUZ, A.; DOMINGOS, A. G.; ESTRADA-PEÑA, A.; JOHNSON, N.; KOCAN, K. M.; MANSFIELD, K. L.; NIJHOF, A. M.; PAPA, A.; RUDENKO, N.; VILLAR, M.; ALBERDI, P.; TORINA, A.; AYLLÓN, N.; VANCOVA, M.; GOLOVCHENKO, M.; GRUBHOFFER, L.; CARACAPPA, S.; FOOKS, A. R.; GORTAZAR, C.; REGO, R. O. M. Tick-Pathogen Interactions and Vector Competence: Identification of Molecular Drivers for Tick-Borne Diseases. **Frontiers Cellular Infection Microbiology**, 7:114, 2017.

DIETRICH, M.; TJALE, M. A.; WEYER, J.; KEARNEY, T.; SEAMARK, E. C.; NEL, L. H.; MONADJEM, A.; MARKOTTER, W. Diversity of *Bartonella* and *Rickettsia* spp. in Bats and Their Blood-Feeding Ectoparasites from South Africa and Swaziland. **PLoS One**, 11(3):e0152077, 2016.

DRANCOURT, M.; RAOULT, D. Taxonomic position of the rickettsiae: current knowledge. **FEMS Microbiology Reviews**, 13(1):13-24, 1994.

DUNCAN, A. W.; MAGGI, R. G.; BREITSCHWERDT, E. B. *Bartonella* DNA in dog saliva. **Emerging Infectious Diseases**, 13(12):1948-1950, 2007.

DUNCAN, C.; KERSH, G. J.; SPRAKER, T.; PATYK, K. A.; FITZPATRICK, K. A.; MASSUNG, R. F.; GELATT, T. *Coxiella burnetii* in northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) placentas from St. Paul Island, Alaska. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, 12:192-195, 2012.

DURON, O.; SCHNEPPAT, U. E.; BERTHOMIEU, A.; GOODMAN, S. M.; DROZ, B.; PAUPY, C.; NKOGHE, J. O.; RAHOLA, N.; TORTOSA, P. Origin, acquisition and diversification of heritable bacterial endosymbionts in louse flies and bat flies. **Molecular Ecology**, 23(8):2105-2117, 2014.

EPELBOIN, L.; NACHER, M.; MAHAMAT, A.; POMMIER DE SANTI, V.; BERLIOZ-ARTHAUD, A.; ELDIN, C.; ABOUD, P.; BRIOLANT, S.; MOSNIER, E.; MENDONÇA GOMES, M. D. O. S.; VREDEN, S. G.; PIERRE-DEMAR, M.; LACERDA, M.; RAOULT, D.; SAMPAIO DE LEMOS, E. R.; DJOSSOU, F. Q Fever in French Guiana: Tip of the Iceberg or Epidemiological Exception? **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 10(5):e0004598, 2016.

ESBERARD, C. E. L.; CHAGAS, A. S.; LUZ, E. M.; CARNEIRO, R. A.; MARTINS, L. S. F.; PERACCHI, A. L. On the biology of *Artibeus fimbriatus* Gray, 1838, from Rio de Janeiro state, Brasil (Chiroptera, Phyllostomidae). **Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción**, 69:109-114, 1998.

FERREIRA, M. S.; GUTERRES, A.; ROZENTAL, T.; NOVAES, R. L. M.; VILAR, E. M.; OLIVEIRA, R. C.; FERNANDES, J.; FORNEAS, D.; JUNIOR, A. A.; BRANDÃO, M. L.; CORDEIRO, J. L. P.; DEL VALLE ALVAREZ, M. R.; ALTHOFF, S. L.; MORATELLI, R.; CORDEIRO-ESTRELA, P.; SILVA, R. C.D.; LEMOS, E. R. S. Coxiella and Bartonella spp. in bats (Chiroptera) captured in the Brazilian Atlantic Forest biome. **BMC Veterinary Research**, 14(1):279, 2018.

FERREIRA, R. F.; CERQUEIRA, M.; CASTRO, T. X.; FERREIRA, E. D. E. O.; NEVES, F. P.; BARBOSA, A.V.; MACIEIRA, D. D. E. B., ALMOSNY, N. R. Genetic diversity of Ehrlichia canis strains from naturally infected dogs in Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. 23(3):301-308, 2014.

FLINT, J.; DALTON, C. B.; MERRITT, T. D.; GRAVES, S.; FERGUSON, J. K.; OSBOURN, M.; EASTWOOD, K.; DURRHEIM, D. N. Q fever and contact with kangaroos in New South Wales. **Communicable Diseases Intelligence Quarterly Report**, 40, E202–E203, 2016.

FONTALVO, M. C.; FAVACHO, A. R. M.; ARAUJO, A. C.; SANTOS, N. M. D.; OLIVEIRA, G. M. B.; AGUIAR, D. M.; LEMOS, E. R. S.; HORTA, M. C. 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, 2017.

GARDON, J.; HÉRAUD, J. M.; LAVENTURE, S.; LADAM, A.; CAPOT, P.; FOUQUET, E.; FAVRE, J.; WEBER, S.; HOMMEL, D.; HULIN, A.; COURATTE, Y.; TALARMIN, A. Suburban transmission of Q fever in French Guiana: evidence of a wild reservoir. **Journal of Infectious Diseases**, 184(3):278-84, 2001.

GONÇALVES, L. R.; FAVACHO, A. R.; ROQUE, A. L.; MENDES, N. S.; FIDELIS JUNIOR, O. L.; BENEVENUTE, J. L.; HERRERA, H. M.; D'ANDREA, P. S.; LEMOS, E. R. de; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Association of Bartonella Species with Wild and Synanthropic Rodents in Different Brazilian Biomes. **Applied Environmental Microbiology**, 82(24):7154-7164, 2016.

GONÇALVES-OLIVEIRA, J.; ROZENTAL, T.; GUTERRES, A.; TEIXEIRA, B. R.; ANDRADE-SILVA, B. E.; COSTA-NETO, S. F. D.; FURTADO, M. C.; MORATELLI, R.; D'ANDREA, P. S.; LEMOS, E. R. S. Investigation of Bartonella spp. in Brazilian mammals with emphasis on rodents and bats from the Atlantic Forest. **International Journal of Parasitology and Parasites Wildlife**, 13:80-89, 2020.

GONZÁLEZ-BARRIO, D.; RUIZ-FONS, F. Coxiella burnetii in wild mammals: A systematic review. **Transboundary Emerging Diseases**, 66(2):662-671, 2019.

GORTÁZAR, C.; FERROGLIO, E.; LUTTON, C. E.; ACEVEDO, P. Disease-related conflicts in mammal conservation. **Wildlife Research**, 37:668-675, 2010.

GREENHALL, A. M.; JOERMANN, G.; SCHIMIDT, U. Mammalian Species: Desmodus rotundus. **The American Society of Mammalogists**, 22:1-6, 1983.

GRUHN, K. D.; OGRZEWSKA, M.; ROZENTAL, T.; FARIKOSKI, I. O.; BLANCO, C.; FREITAS, L. de S.; LEMOS, E. R. S. de; RIBEIRO, V. M. F. Evaluation of rickettsial infection in free-range capybaras (Hydrochoerus hydrochaeris Linnaeus, 1766) (Rodentia: Caviidae) and ticks (Acari: Ixodidae) in the Western Amazon, Brazil. **Ticks Tick Borne Diseases**, 10(5):981-86, 2019.

HAN, H. J.; LIU, J. W.; WEN, H. L.; QIN, X. R.; ZHAO, M.; WANG, L. J.; ZHOU, C. M.; QI, R.; YU, H.; YU, X. J. Babesia vesperuginis in insectivorous bats from China. **Parasite & Vectors**, 11(1):317, 2018.

HAYMAN, D. T.; BOWEN, R. A.; CRYAN, P. M.; MCCRACKEN, G. F.; O'SHEA, T. J.; PEEL, A. J.; GILBERT, A.; WEBB, C. T.; WOOD, J. L. Ecology of zoonotic infectious diseases in bats: current knowledge and future directions. **Zoonoses and Public Health**, 60(1):2-21, 2013.

HOOVER, T. A.; VODKIN, M. H.; WILLIAMS, J.C. A *Coxiella burnetti* repeated DNA element resembling a bacterial insertion sequence. **Journal of Bacteriology**, 174(17):5540–5548, 1992.

HOYT, J. R.; KILPATRICK, A. M.; LANGWIG, K. E. Ecology and impacts of white-nose syndrome on bats. **Nature Reviews Microbiology**, 19(3):196-210, 2021.

INOKUMA, H.; RAOULT, D.; BROUQUI, P. Detection of *Ehrlichia platys* DNA in Brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) in Okinawa Island. **Japan Journal of Clinical Microbiology**, 8(11):4219–4221, 2000.

IRVING, A. T.; AHN, M.; GOH, G.; ANDERSON, D. E.; WANG, L.; F. Lessons from the host defences of bats, a unique viral reservoir. **Nature**, 589(7842):363-370. 2021.

ISMAIL, N.; BLOCH, K. C.; MCBRIDE, J. W. Human ehrlichiosis and anaplasmosis. **Clinics in Laboratory Medicine**. 30(1):261-292, 2010.

IZZARD, L.; CHUNG, M.; DUNNING HOTOPP, J.; VINCENT, G.; PARIS, D.; GRAVES, S.; STENOS, J. Isolation of a divergent strain of *Rickettsia japonica* from Dew's Australian bat Argasid ticks (*Argas (Carios) dewae*) in Victoria, Australia. **Ticks Tick Borne Diseases**, 9(6):1484-1488, 2018

JOFFRIN, L.; DIETRICH, M.; MAVINGUI, P.; LEBARBENCHON, C. Bat pathogens hit the road: But which one? **PLoS Pathogen**, 14(8):e1007134, 2018.

JUDSON, S. D.; FRANK, H. K.; HADLY, E. A. Bartonellae are Prevalent and Diverse in Costa Rican Bats and Bat Flies. **Zoonoses Public Health**, 62(8):609-617, 2015.

KAMANI, J.; BANETH, G.; MITCHELL, M.; MUMCUOGLU, K. Y.; GUTIERREZ, R.; HARRUS, S. Bartonella species in bats (Chiroptera) and bat flies (Nycteribiidae) from Nigeria, West Africa. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, 14(9):625-632, 2014.

KATZ, G.; NEVES, V. L. F. C.; ANGERAMI, R. N.; NASCIMENTO, E. M. M.; COLOMBO, S. Statistics and epidemiology of Brazilian spotted fever in São Paulo, Brazil. **Boletim Epidemiológico Paulista**, 6: 4-13, 2009.

KOSOY, M.; MCKEE, C.; ALBAYRAK, L.; FOFANOV, Y. Genotyping of Bartonella bacteria and their animal hosts: current status and perspectives. **Parasitology**, 145(5):543-562, 2018.

KREIZINGER, Z.; SZEREDI, L.; BACSADI, A.; NEMES, C.; SUGÁR, L.; VARGA, T.; SULYOK, K. M.; SZIGETI, A.; ÁCS, K.; TÓBIÁS, E.; BOREL, N.; GYURANECZ, M. Occurrence of *Coxiella burnetii* and Chlamydiales species in abortions of domestic ruminants and in wild ruminants in Hungary, Central Europe. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 27: 206–210, 2015.

KUNZ, T. H.; DE TORREZ, E. B.; BAUER, D.; LOBOVA, T.; FLEMING, T. H. Ecosystem services provided by bats. **Annals New York Academy of Science**. 1223:1–38, 2011.

LAMAS, C.; CURI, A.; BÓIA, M.; LEMOS, E. Human bartonellosis: seroepidemiological and clinical features with an emphasis on data from Brazil - a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 103(3):221-235, 2008.

LAMAS, C. C.; ROZENTAL, T.; BÓIA, M. N.; FAVACHO, A. R.; KIRSTEN, A. H.; SILVA, A. P. da; LEMOS, E. R. de. Seroprevalence of *Coxiella burnetii* antibodies in human immunodeficiency virus-positive patients in Jacarepaguá, Rio de Janeiro, Brazil. **Clinical Microbiology Infection**, 15, Suppl 2:140-141, 2009.

LEMOS, E. R. S.; ROZENTAL, T.; SIQUEIRA, B. N.; JÚNIOR, A. A. P.; JOAQUIM, T. E. SILVA, R. G. da; LEITE, C. A.; ARANTES, A. A.; CUNHA, M. F. da; BORGHI, D.P. Q Fever in Military Firefighters during Cadet Training in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine & Hygiene**. 99(2):303-305, 2018.

LEMOS, E. R.; ROZENTAL, T.; MARES-GUIA, M. A.; ALMEIDA, D. N.; MOREIRA, N.; SILVA, R. G.; BARREIRA, J. D.; LAMAS, C. C.; FAVACHO, A.R.; DAMASCO, P. V. Q fever as a cause of fever of unknown origin and thrombocytosis: first molecular evidence of *Coxiella burnetii* in Brazil. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, 11(1):85-87, 2011.

LEMOS, E. R. S.; D'ANDREA, P.S. **Trabalho de Campo com Animais: procedimentos, riscos e biossegurança**. 1ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014.

LEMOS, E. R. S. Rickettsioses. In: COURA, J.R. (Org.). **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 2ed. São Paulo: Guanabara Koogan S.A, 2013.

LEMOS, E. R. S.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, A. M. M.; SERRA-FREIRE, N. M., 1996. Infestation by ticks and detection of antibodies to spotted fever group rickettsiae in wild animals captured in the State of São Paulo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 91, 701-702.

LOFTIS, A. D.; GILL, J. S.; SCHRIEFER, M. E.; LEVIN, M. L.; EREMEEVA, M. E.; GILCHRIST, M. J.; DASCH, G. A. Detection of *Rickettsia*, *Borrelia*, and *Bartonella* in *Carios kelleyi* (Acari: Argasidae). **Journal of Medical Entomology**, 42(3):473-480, 2005.

LUIS, A. D.; HAYMAN, D. T.; O'SHEA, T. J.; CRYAN, P. M.; GILBERT, A.T.; PULLIAM, J. R.; MILLS, J. N.; TIMONIN, M. E.; WILLIS, C. K.; CUNNINGHAM, A. A.; FOOKS, A. R.; RUPPRECHT, C. E.; WOOD, J. L.; WEBB, C. T. A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special? **Proceedings Biological Sciences**, 280(1756):20122753, 2013.

LV, J.; FERNÁNDEZ DE MARCO, M. D. M.; GOHARRIZ, H.; PHIPPS, L. P.; MCELHINNEY, L. M.; HERNÁNDEZ-TRIANA, L. M.; WU, S.; LIN, X.; FOOKS, A. R.; JOHNSON, N. Detection of tick-borne bacteria and babesia with zoonotic potential in *Argas (Carios) vespertilionis* (Latreille, 1802) ticks from British bats. **Scientific Reports**, 30;8(1):1865, 2018.

MAGALHÃES, O. Contribuição ao conhecimento das doenças do grupo do tifo exantemático no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 6: 279-308, 1953.

MARES-GUIA, M.; GUTERRES, A.; ROZENTAL, T.; FERREIRA, M. D. S.; LEMOS, E. R. S. Clinical and epidemiological use of nested PCR targeting the repetitive element IS1111 associated with the transposase gene from *Coxiella burnetii*. **Brazilian Journal of Microbiology**, 49(1):138-143, 2017.

MARES-GUIA, M. A.; ROZENTAL, T.; GUTERRES, A.; FERREIRA, M. D. O. S. S.; BOTTICINI, R. D. E. G.; TERRA, A. K.; MARRASCHI, S.; BOCHNER, R.; LEMOS, E. R. Molecular Identification of Q Fever in Patients with a Suspected Diagnosis of Dengue in Brazil in 2013-2014. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, 94(5):1090-1094, 2016.

MARES-GUIA, M. A.; ROZENTAL, T.; GUTERRES, A.; GOMES, R.; ALMEIDA, D. N.; MOREIRA, N. S.; BARREIRA, J. D.; FAVACHO, A. R.; SANTANA, A. L.; LEMOS, E. R. Molecular identification of the agent of Q fever - *Coxiella burnetii* - in domestic animals in State of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 47(2):231-234, 2014.

MATEI, I. A.; CORDUNEANU, A.; SÁNDOR, A. D.; IONICĂ, A. M.; PANAIT, L.; KALMÁR, Z.; IVAN, T.; PAPUC, I.; BOUARI, C.; FIT, N.; MIHALCA, A. D. *Rickettsia* spp. in bats of Romania: high prevalence of *Rickettsia monacensis* in two insectivorous bat species. **Parasites & Vectors**, 14(1):107, 2021.

MAURIN, M.; RAOULT, D. Q fever. **Clinical Microbiology Reviews**, 12(4):518-553, 1999.

MEERBURG, B. G.; REUSKEN, C. B. E. M. The role of wild rodents in spread and transmission of *Coxiella burnetii* needs further elucidation, **Wildlife Research**, 38: 617–625, 2011.

MILLION, M.; RAOULT, D. Recent advances in the study of Q fever epidemiology, diagnosis and management. **Journal of Infection**, 71 Suppl 1:S2-9, 2015.

MORATELLI, R.; CALISHER, C. H. Bats and zoonotic viruses: can we confidently link bats with emerging deadly viruses? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 110(1):1–22, 2015.

MÜHLDORFER, K. Bats and bacterial pathogens: a review. **Zoonoses Public Health**. 60(1):93-103, 2013.

MÜLLER, A.; SEPÚLVEDA, P.; DI CATALDO, S.; CEVIDANES, A.; LISÓN, F.; MILLÁN, J. Molecular investigation of zoonotic intracellular bacteria in Chilean bats. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 73:101541, 2020.

OGRZEWALSKA, M.; ROZENTAL, T.; FAVACHO, A. R. M.; MELLO MARES-GUIA, M. A. M. de. *Rickettsial Infections, Bartonella Infections, and Coxiellosis*. In: MARCONDES, C. (Orgs). **Arthropod Borne Diseases**. Springer, Cham, 2017.

OGRZEWALSKA, M.; SARAIVA, D. G.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T. F.; COSTA, F. B.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. **Parasitology**, 139: 1283-1300, 2012.

OLIVEIRA, J. M. B. de; ROZENTAL, T.; LEMOS, E. R. S de; FORNEAS, D.; ORTEGA-MORA, L. M.; PORTO, W. J. N.; FONSECA OLIVEIRA, A. A. da; MOTA, R. A. *Coxiella burnetii* in dairy goats with a history of reproductive disorders in Brazil. **Acta Tropica**, 183:19-22, 2018.

O'SHEA, T. J.; CRYAN, P. M.; CUNNINGHAM, A. A.; FOOKS, A. R.; HAYMAN, D. T.; LUIS, A. D.; PEEL, A. J.; PLOWRIGHT, R. K.; WOOD, J. L. Bat flight and zoonotic viruses. **Emerging Infectious Diseases**, 20(5):741-745, 2014.

- RAR, V.; GOLOVLJOVA, I. Anaplasma, Ehrlichia, and “Candidatus Neoehrlichia” bacteria: pathogenicity, biodiversity, and molecular genetic characteristics, a review. **Infectious Genetic and Evolution**, 11(8):1842-1861, 2011.
- REEVES, W. K.; BECK, J.; ORLOVA, M. V.; DALY, J. L.; PIPPIN, K.; REVAN, F.; LOFTIS, A. D. Ecology of Bats, Their Ectoparasites, and Associated Pathogens on Saint Kitts Island. **Journal of Medical Entomology**, 53(5):1218-1225, 2016.
- REEVES, W. K.; LOFTIS, A. D.; GORE, J. A.; DASCH, G. A. Molecular evidence for novel bartonella species in Trichobius major (Diptera: Streblidae) and Cimex adjunctus (Hemiptera: Cimicidae) from two southeastern bat caves, U.S.A. **Journal of Vector Ecology**, 30(2):339-341, 2005.
- REEVES, W. K.; STREICKER, D. G.; LOFTIS, A. D.; DASCH, G. A. Serologic survey of Eptesicus fuscus from Georgia, U.S.A. for Rickettsia and Borrelia and laboratory transmission of a Rickettsia by bat ticks. **Journal of Vector Ecology**, 31(2):386-389, 2006.
- REIS, N. R.; FREGONEZI, M. N.; PERACCHI, A. D.; SHIBATTA, O. A. **Morcegos do Brasil: guia de campo**. Rio de Janeiro: Technical Books, 2013.
- REIS, N. R.; FREGONEZI, M. N.; PERACCHI, A. L.; ROSSANEIS, B. K. Metapopulation in bats of Southern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 72(3):605-609, 2012.
- REYNOLDS, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. **J Cell Biol**, 17: 208-212, 1963.
- ROZENTAL, T.; FARIA, L. S.; FORNEAS, D.; GUTERRES, A.; RIBEIRO, J. B.; ARAÚJO, F. R.; LEMOS, E. R. S.; SILVA, M. R. First molecular detection of Coxiella burnetii in Brazilian artisanal cheese: a neglected food safety hazard in ready-to-eat raw-milk product. **Braz J Infect Dis**, 24(3):208-212, 2020.
- 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. de. Zoonotic pathogens in Atlantic Forest wild rodents in Brazil: Bartonella and Coxiella infections. **Acta Tropica**, 168:64-73, 2017.
- ROZENTAL, T.; MASCARENHAS, L. F.; ROZENBAUM, R.; GOMES, R.; MATTOS, G. S.; MAGNO, C. C.; ALMEIDA, D. N.; ROSSI, M. I.; FAVACHO, A. R.; LEMOS, E. R. de. Coxiella burnetii, the agent of Q fever in Brazil: its hidden role in seronegative arthritis and the importance of molecular diagnosis based on the repetitive element IS1111 associated with the transposase gene. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, 107(5):695-697, 2012.
- SALJE, J. Cells within cells: Rickettsiales and the obligate intracellular bacterial lifestyle. **Nature Reviews in Microbiology**, 2021.
- SANTOS, H. A.; THOMÉ, S. M.; BALDANI, C. D.; SILVA, C. B.; PEIXOTO, M. P.; PIRES, M. S.; VITARI, G. L.; COSTA, R. L.; SANTOS, T. M.; ANGELO, I. C.; SANTOS, L. A.; FACCINI, J. L.; MASSARD, C. L. Molecular epidemiology of the emerging zoonosis agent Anaplasma phagocytophilum (Foggie, 1949) in dogs and ixodid ticks in Brazil. **Parasites & Vectors**, 6:348, 2013

SCHIPPER, J.; CHANSON, J.S.; CHIOZZA, F.; COX, N.A.; HOFFMANN, M.; KATARIYA, V.; LAMOREUX, J.; RODRIGUES, A. S.; STUART, S. N.; TEMPLE, H. J.; BAILLIE, J.; BOITANI, L.; LACHER, T. E. JR.; MITTERMEIER, R. A.; SMITH, A. T.; ABSOLON, D.; AGUIAR, J. M.; AMORI, G.; BAKKOUR, N.; BALDI, R.; BERRIDGE, R. J.; BIELBY, J.; BLACK, P. A.; BLANC, J. J.; BROOKS, T. M.; BURTON, J. A.; BUTYNSKI, T. M.; CATULLO, G.; CHAPMAN, R.; COKELISS, Z.; COLLEN, B.; CONROY, J.; COOKE, J. G.; FONSECA, G. A. da ; DEROCHER, A. E.; DUBLIN, H. T.; DUCKWORTH, J. W.; EMMONS, L.; EMSLIE, R. H.; FESTA-BIANCHET, M.; FOSTER, M.; FOSTER, S.; GARSHELIS, D.L.; GATES, C.; GIMENEZ-DIXON, M.; GONZALEZ, S.; GONZALEZ-MAYA, J.F.; GOOD, T.C.; HAMMERSON, G.; HAMMOND, P. S.; HAPPOLD, D.; HAPPOLD, M.; HARE, J.; HARRIS, R. B.; HAWKINS, C. E.; HAYWOOD, M.; HEANEY, L. R.; HEDGES, S.; HELGEN, K. M.; HILTON-TAYLOR, C.; HUSSAIN, S.A.; ISHII, N.; JEFFERSON, T. A.; JENKINS, R. K.; JOHNSTON, C. H.; KEITH, M.; KINGDON, J.; KNOX, D. H.; KOVACS, K. M.; LANGHAMMER, P.; LEUS, K.; LEWISON, R.; LICHTENSTEIN, G.; LOWRY, L. F.; MACAVOY, Z.; MACE, G. M.; MALLON, D. P.; MASI, M.; MCKNIGHT, M. W.; MEDELLÍN, R. A.; MEDICI, P.; MILLS, G.; MOEHLMAN, P. D.; MOLUR, S.; MORA, A.; NOWELL, K.; OATES, J. F.; OLECH, W.; OLIVER, W. R.; OPREA, M.; PATTERSON, B. D.; PERRIN, W. F.; POLIDORO, B. A.; POLLOCK, C.; POWEL, A.; PROTAS, Y.; RACEY, P.; RAGLE, J.; RAMANI, P.; RATHBUN, G.; REEVES, R. R.; REILLY, S. B.; REYNOLDS, J. E. 3<sup>RD</sup>; RONDININI, C.; ROSELL-AMBAL, R. G.; RULLI, M.; RYLANDS, A. B.; SAVINI, S.; SCHANK, C. J.; SECHREST, W.; SELF-SULLIVAN, C.; SHOEMAKER, A.; SILLERO-ZUBIRI, C.; SILVA, N. de; SMITH, D. E.; SRINIVASULU, C.; STEPHENSON, P. J.; VAN STRIEN, N.; TALUKDAR, B. K.; TAYLOR, B. L.; TIMMINS, R.; TIRIRA, D. G.; TOGNELLI, M. F.; TSYTSULINA, K.; VEIGA, L. M.; VIÉ, J. C.; WILLIAMSON, E. A.; WYATT, S. A.; XIE, Y.; YOUNG, B. E. The status of the world's land and marine mammals: diversity, threat, and knowledge. **Science**, 322(5899):225-30, 2008.

SCHLEENVOIGT, B. T.; SPRAGUE, L. D.; MERTENS, K.; MOOG, U.; SCHMOOCK, G.; WOLF, G.; NEUMANN, M.; PLETZ, M. W.; NEUBAUER, H. Acute Q fever infection in Thuringia, Germany, after burial of roe deer fawn cadavers (*Capreolus capreolus*): A case report. **New Microbes and New Infections**, 8:19-20, 2015.

SCHNEIDER, M. C.; ROMIJN, P. C.; UIEDA, W.; TAMAYO, H.; DA SILVA, D. F.; BELOTTO, A.; SILVA, J. B. da; LEANES, L. F. Rabies transmitted by vampire bats to humans: an emerging zoonotic disease in Latin America? **Pan American Journal of Public Health**, 25(3):260-269, 2009.

SESSO, A. Fixação de sistemas biológicos. In: SOUZA, W. de . **Manual Sobre Técnicas Básicas em Microscopia Eletrônica**. Vol. I. Técnicas Básicas. Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, Rio de Janeiro, 2007.

SOCOLOVSKI, C.; KERNIF, T.; RAOULT, D.; PAROLA, P. *Borrelia*, *Rickettsia*, and *Ehrlichia* species in bat ticks, France, 2010. **Emerging Infectious Diseases**, 18(12):1966-1975, 2012.

SOCOLOVSKI, C.; MEDIANNIKOV, O.; RAOULT, D.; PAROLA, P. The relationship between spotted fever group *Rickettsiae* and ixodid ticks. **Veterinary Research**, 40(2):34, 2009.

SOUZA, U. A.; WEBSTER, A.; DALL'AGNOL, B.; MOREL, A. P.; PETERS, F. B.; FAVARINI, M. O.; MAZIM, F. D.; SOARES, J. B. G.; TIRELLI, F. P.; TORTATO, M. A.; LEMOS, E. R. S. de; TRIGO, T. C.; SOARES, J. F.; RECK, J. Molecular and Serological Survey of the Cat-Scratch Disease Agent (*Bartonella henselae*) in Free-Ranging *Leopardus geoffroyi* and *Leopardus wiedii* (Carnivora: Felidae) From Pampa Biome, Brazil. **Microbiology & Ecology**, 81(2):483-492, 2021.

STUCKEY, M. J.; CHOMEL, B. B.; DE FLEURIEU, E. C.; AGUILAR-SETIÉN, A.; BOULOUIS, H. J.; CHANG, C. C. *Bartonella*, bats and bugs: A review. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, 55:20-29, 2017.

SZUBERT-KRUSZYŃSKA, A.; STAŃCZAK, J.; CIENIUCH, S.; PODSIADŁY, E.; POSTAWA, T.; MICHALIK, J. Bartonella and Rickettsia Infections in Haematophagous Spinturnix myoti Mites (Acari: Mesostigmata) and their Bat Host, Myotis myotis (Yangochiroptera: Vespertilionidae), from Poland. **Microbiology & Ecology**, 77(3):759-768, 2019.

TOZER, S. J.; LAMBERT, S. B.; STRONG, C. L.; FIELD, H. E.; SLOOTS, T. P.; NISSEN, M. D. Potential animal and environmental sources of Q fever infection for humans in Queensland. **Zoonoses Public Health**, 61(2):105–112, 2014.

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

VITORINO, L.; CHELO, I. M.; BACELLAR, F.; ZÉ-ZÉ, L. Rickettsiae phylogeny: a multigenic approach. **Microbiology**, 153(1):160-168, 2007.

WANG, L. F.; WALKER, P. J.; POON, L. L. Mass extinctions, biodiversity and mitochondrial function: are bats 'special' as reservoirs for emerging viruses? **Current Opinion in Virology**, 1(6):649-657, 2011.

WHITE, R. J.; RAZGOUR, O. Emerging zoonotic diseases originating in mammals: a systematic review of effects of anthropogenic land-use change. **Mammal Review**, 2: 10.1111/mam.12201, 2020.

WHITNEY, E. A. S.; MASSUNG, R. F.; CANDEE, A. J.; AILES, E. C.; MYERS, L. M.; PATTERSON, N. E.; BERKELMAN, R. L. Seroepidemiologic and occupational risk survey for Coxiella burnetii antibodies among US veterinarians. **Clinical Infectious Diseases**, 48:550–557, 2009.

ZHAO, S.; YANG, M.; LIU, G.; HORNOK, S.; ZHAO, S.; SANG, C.; TAN, W.; WANG, Y. Rickettsiae in the common pipistrelle Pipistrellus pipistrellus (Chiroptera: Vespertilionidae) and the bat soft tick Argas vespertilionis (Ixodida: Argasidae). **Parasite & Vectors**, 13(1):10, 2020.