

Relato de infecção natural de morcegos por flagelados tripanosomatídeos em diferentes municípios do Estado do Rio de Janeiro

Report on natural infection of bats by trypanosomatid flagellates in different municipalities in the State of Rio de Janeiro

Juliana Helena da Silva Barros¹, Phyllis Catharina Romijn², Cibele Baptista¹,
Andressa G. de Souza Pinto¹ e Maria de Fátima Madeira¹

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar a infecção natural de morcegos por tripanosomatídeos. Foram examinados, por hemocultura, 86 exemplares de diferentes gêneros, sendo 22 (25,58%) amostras isoladas de *Desmodus rotundus* e *Lonchorhina aurita*. Os resultados obtidos contribuem para o conhecimento da ocorrência de tripanosomatídeos em morcegos no Estado do Rio de Janeiro.

Palavras-chaves: Chiroptera. Hemocultura. Trypanosomatidae. Brasil.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate natural infection of bats by trypanosomatids. Using blood culturing, 86 specimens from different genera were examined, and 22 samples (25.58%) of *Desmodus rotundus* and *Lonchorhina aurita* were isolated. These results contribute towards knowledge of the occurrence of trypanosomatids in bats in the State of Rio de Janeiro.

Key-words: Chiroptera. Blood culture. Trypanosomatidae. Brazil.

Os morcegos são mamíferos que possuem hábitos alimentícios diversificados, importantes no equilíbrio ambiental, e na manutenção da diversidade biológica de espécies vegetais, apresentando espécies atuantes e na transmissão de doenças para seres humanos e animais⁶. Das inúmeras espécies de morcegos descritas, apenas três são hematófagas, *Desmodus rotundus*, *Diphylla ecaudata* e *Diaemus youngii*, de ocorrência exclusiva no continente americano. Entre essas, *Desmodus rotundus*, por ser o único que se alimenta de sangue de mamíferos, constitui maior interesse nas questões de saúde pública, principalmente pelo papel que representa na transmissão de vírus da raiva⁸.

Os morcegos atuam como hospedeiros de bactérias, fungos, protozoários e vírus e também podem atuar como vetores mecânicos de *Trypanosoma evansi*. Diferentes espécies de flagelados tripanosomatídeos são descritas nesses animais, sobretudo do gênero *Trypanosoma*^{1 3 6 7 10 13}. Nas Américas, sua

importância aumenta devido à infecção natural por *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, muito embora seja desconhecido como esses animais atuam no ciclo desse protozoário em ambiente silvestre¹².

No Estado do Rio de Janeiro, o estudo com morcegos vem sendo feito principalmente para o monitoramento desses animais no ciclo da raiva urbana, sendo tal trabalho realizado rotineiramente pelas Secretarias Estaduais de Saúde e Agricultura¹¹, mediante captura de exemplares em diferentes locais do estado, para avaliação da presença de vírus e anticorpos específicos nesses animais.

Este trabalho objetivou avaliar por hemocultura a infecção natural por protozoários tripanosomatídeos em morcegos capturados em diferentes municípios do Estado do Rio de Janeiro, em associação ao Programa de manutenção de morcegos realizados por pesquisadores da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO).

1. Laboratório de Vigilância em Leishmanioses, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ. 2. Laboratório de Biologia Animal, Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro, Niterói, RJ.

Apoio financeiro: Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ)

Endereço para correspondência: Dra. Juliana Helena da Silva Barros. Laboratório de Vigilância em Leishmaniose/ IPEC/FIOCRUZ. Av. Brasil 4365, Manguinhos, 21040-900 Rio de Janeiro, RJ.

Tel: 55 21 3865-9541

e-mail: juliana.helena@ipecc.fiocruz.br

Recebido para publicação em 02/05/2008

Aceito em 29/10/2008

Os espécimes foram capturados em áreas urbanas, peri-urbanas e em locais pré-estabelecidos como próximo a currais, forros de casas, manilhas de água, cavernas ou abrigos naturais de morcegos, empregando redes de neblina (*mist-nets*), puçã e luvas de raspa de couro. Após a captura os animais eram imediatamente anestesiados utilizando uma combinação de 1/1 de xilocaína e ketamina (0,1mg/100g peso corporal), por via intramuscular na pata posterior esquerda. Para a coleta de sangue o animal era colocado em decúbito dorsal sobre uma superfície rígida com as asas abertas para a realização da punção cardíaca, utilizando seringa de 1mL acoplada a agulha 25x7mm para *Desmodus rotundus* e espécies maiores, e seringa de tuberculina com agulha intradérmica para as espécies menores. De acordo com a massa corporal, foi coletado até 1mL de sangue. Após este procedimento o animal foi identificado com colar e liberado no mesmo local da captura.

O sangue coletado foi enviado ao Laboratório de Vigilância em Leishmanioses/Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas/Fundação Oswaldo Cruz (IPEC/FIOCRUZ) sob refrigeração (+/- 4°C), no prazo máximo de 24 horas. Após ser submetido à centrifugação durante 20 minutos a 3.500rpm a 4°C, o sedimento de hemácias foi ressuspenso em cerca de 6mL de meio de cultura Schneider's suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e antibióticos (penicilina e estreptomicina). A suspensão foi homogeneizada e distribuída para 4 tubos contendo meio sólido NNN (Novy, Nicolle e MacNeal). Os tubos semeados foram acondicionados em estufa biológica à temperatura de 28°C e examinados, por microscopia ótica, coletando-se amostras da fase líquida do meio e depositadas entre lâmina e lamínula para pesquisa de formas flageladas. Os exames foram realizados semanalmente durante dois meses, sendo que com 30 dias foi adicionado em cada tubo de cultura cerca de 1mL de meio de cultura Schneider com 10% de SFB.

No período de agosto de 2004 a fevereiro de 2007, foram examinados 86 morcegos, capturados nos Municípios de São Gonçalo, Miracema, Niterói, Maricá, Paraty, Itaperuna e Rio de Janeiro. Dos exemplares avaliados, 78 possuíam hábitos alimentares hematófagos, sendo 77 da espécie *Desmodus rotundus* e um da espécie *Diaemus youngii*; 4 possuíam hábitos frugívoros: 2 da espécie *Artibeus cinereus*, um da espécie *Carollia perspicillata* e outro da espécie *Glossophaga soricina* e 3 exemplares de espécie de hábitos insetívoros (*Lonchorbina aurita*).

Das 86 hemoculturas realizadas, foi possível o isolamento de flagelados tripanosomatídeos em 21 exemplares hematófagos (nº 78; 26,5%) e de um exemplar insetívoro (nº 3; 33,3%) (Tabela 1). Vinte e uma hemoculturas foram perdidas por contaminantes e as demais apresentaram resultados negativos. Das 22 (25,6%) amostras de protozoários flagelados isolados, 5 não evoluíram nos meios de cultura utilizados e as demais estão sendo mantidas por passagens semanais no mesmo meio de cultura descrito acima, apresentando intenso polimorfismo entre os isolados (Figura 1).

A investigação de parasitas hemoflagelados, em animais silvestres e domésticos, tem sido foco de estudo em diferentes

Tabela 1 - Resultado da avaliação, por hemocultura, de morcegos capturados em diferentes municípios do Estado do Rio de Janeiro.

Município	Espécie	Hemocultura	
		exemplares examinados (nº)	amostras positivas (nº)
São Gonçalo	<i>Desmodus rotundus</i> *	12	3
Niterói	<i>Desmodus rotundus</i> *	6	5
Maricá	<i>Desmodus rotundus</i> *	3	3
Itaperuna	<i>Desmodus rotundus</i> *	2	0
Rio de Janeiro	<i>Desmodus rotundus</i> *	17	0
Miracema	<i>Desmodus rotundus</i> *	37	9
	<i>Diaemus youngii</i> *	1	0
	<i>Lonchorbina aurita</i> **	3	1
Paraty	<i>Artibeus cinereus</i> ***	1	0
	<i>Desmodus rotundus</i> *	1	1
	<i>Glossophaga soricina</i> ***	1	0
	<i>Artibeus cinereus</i> ***	1	0
Total	<i>Carollia perspicillata</i> ***	1	0
		86	22

*hematófago, **insetívoro, ***frugívoro.

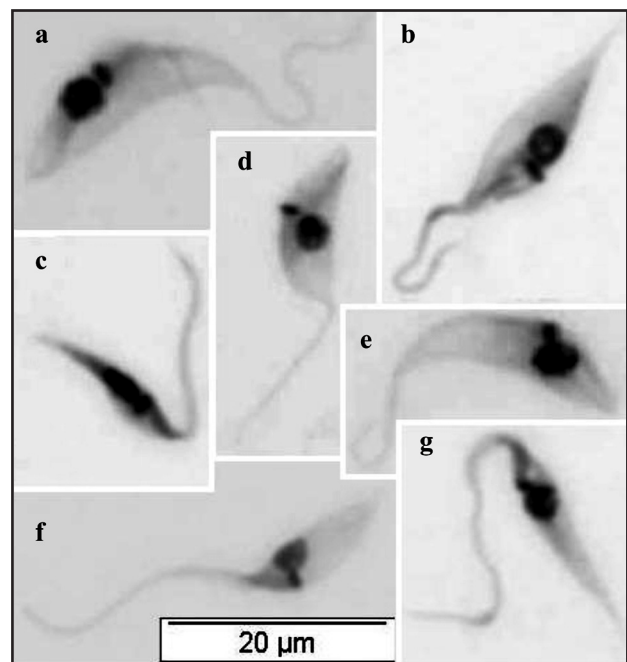


Figura 1 - Fotomicrografia de flagelados tripanosomatídeos isolados de morcegos capturados no município de Miracema: isolado R.1011 (a, d, e); isolado R.1013 (b, f, g); isolado R.069 (c). Coloração pelo Giemsa (x 1000).

áreas geográficas. Nesse contexto, os morcegos vêm recebendo atenção já que atuam como reservatórios e transmissores de agentes de importância em Saúde Pública^{4,9}. Este estudo demonstrou a infecção natural de morcegos por flagelados tripanosomatídeos em cinco Municípios do Estado do Rio de Janeiro.

A hemocultura embora altamente específica para protozoários sanguíneos, possui sensibilidade relativa, diretamente associada às condições de cultivo e ao volume de sangue semeado². Em todos os animais, não foi possível a coleta de volumes maiores que 1mL, o que pode ter sido um fator de influência para o sucesso de isolamento.

Com o crescimento das populações, muitas vezes ocorrendo de forma desordenada, mamíferos, como os morcegos, vêm encontrando espaço de desenvolvimento em áreas urbanas. Tais fatos favorecem a urbanização de agentes patogênicos ao homem¹⁴, como o vírus da raiva e possivelmente tripanosomatídeos, demonstrando a importância de estudos envolvendo a infecção natural desses animais.

Embora pouco se saiba sobre o papel que os morcegos assumem no ciclo epidemiológico de certas espécies de tripanosomas, o fato de albergarem parasitas como *Trypanosoma cruzi*⁵, *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma equiperdum*¹⁰ constitui elemento de grande preocupação para a saúde humana e animal. Por essa razão, *Desmodus rotundus* foi a espécie mais investigada neste estudo, uma vez que morcegos de hábitos hematófagos podem no ato de hematofagia adquirir e veicular agentes patogênicos, como é descrito no ciclo da raiva em ambiente rural¹¹.

No Estado do Rio de Janeiro, são poucos os relatos da infecção natural de morcegos por flagelados tripanosomatídeos e o encontro de 22 amostras demonstra claramente o envolvimento desses animais com esses protozoários. Tal achado torna-se relevante, já que muitas espécies de morcegos adaptam-se aos ambientes modificados e instalam-se em áreas domiciliares, representando um risco potencial para a disseminação no ambiente doméstico e peridoméstico. Deve-se levar em conta, também, que as colônias de morcegos eventualmente trocam de abrigo, aumentando assim a possível dispersão de algumas espécies de tripanosomatídeos que, por sua vez, podem ser agentes/vetores de importantes doenças. Os isolados obtidos estão sendo estudados para identificação etiológica.

Os resultados deste estudo podem contribuir para o conhecimento e mapeamento das espécies de tripanosomatídeos que estejam circulando entre morcegos no Estado do Rio de Janeiro.

AGRADECIMENTOS

Aos técnicos da Equipe de Vigilância Hospedeiros, Reservatórios e Animais Peçonhentos da Secretaria Estadual de Saúde e Defesa Civil do Rio de Janeiro (SESDEC-RJ), pela adesão e participação no trabalho de campo.

REFERÊNCIAS

1. Bower SM, Woo PTK. Two new species of trypanosomes (subgenus *Schizotrypanum*) in bats from southern Ontário. *Canadian Journal of Zoology* 59: 530-545, 1981.
2. Chiari E, Dias JCP, Lana M, Chiari CA. Hemoculture for the parasitological diagnosis of human chronic Chagas disease. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 22:19-23, 1989.
3. Deane L. Tripanosomatídeos de mamíferos da Região Amazônica I. Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do estado do Pará. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 3:15, 1961.
4. Field H, Mackenzie J, Daszak P. Novel viral encephalites associated with bats (Chiroptera) – host management strategies. *Archives of Virology* 18(suppl):113-121, 2004.
5. Funayama GK, Barreto MP. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. XXXVIII: Infecção natural do morcego *Desmodus rotundus rotundus* (Geofroy, 1810) pelo *T. cruzi*. *Revista Brasileira de Biologia* 30:13-19, 1970.
6. Hoare CA. The Trypanosomes of Mammals: A zoological monograph. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburg, UK, p. 327-400, 1972.
7. Marinkelle CJ. The biology of the trypanosomes of bats. In: Lumsden WHR, Evans DA (eds) *Biology of the Kinetoplastida*. Academic Press New York, p.175-216, 1976.
8. Mayen F. Haematophagus bats in Brazil, their role in rabies transmission, impact on public health, livestock industry and alternatives to an indiscriminate reduction of bat population. *Journal of Veterinary Medicine, Series B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 50:469-472, 2003.
9. Messenger SL, Rupprecht CE, Smith SJ. Chapter 14 - Bats, emerging virus infections and the rabies paradigm. In: Kunz TH, Fenton MB (eds) *Bat Ecology*. The University of Chicago Press, Chicago, p.622-679, 2003.
10. Molyneux DH. Trypanosomes of bats. In: Kreier JP, Baker JR (eds) *Parasitic protozoa*. Academic Press, San Diego, p. 195-224, 1991.
11. Romijn PC, Van Der Poel WHM, Van Der Heide R, Cattaneo CAM, Silva RCF. Study of Lyssaviruses of bat origin as a source of rabies for other animal species in the State of Rio de Janeiro – Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 69:81-86, 2003.
12. Saravia NG, Holguín AF, Gibulskis RE, D'Alessandro A. Divergent isoenzyme profiles of sylvatic and domiciliary *Trypanosoma cruzi* in the eastern plains, piedmont, and highlands of Colômbia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 36: 59-69, 1987.
13. Steindel M, Grisard EC, Pinto CJC, Cordeiro FD, Ribeiro-Rodrigues R, Romanha AJ. Characterization of trypanosomes from the subgenus *Schizotrypanum* isolated from bats, *Eptesicus* sp. (Chiroptera: Vespertilionidae), captured in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. *Journal of Parasitology* 84:601-607, 1998.
14. Taylor LH, Latham SM, Wollhouse MEJ. Risk factors for human disease emergente. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B* 356:983-989, 2001.