

PERFIL ZONÓTICO DE MORCEGOS DA CIDADE DE SÃO PAULO, BRASIL

Almeida, M.F.¹; Savani, E.S.M.M.¹ Martorelli, L.F.A.¹; D'auria S.R.N.¹; Dias, M.A.G.¹; Kataoka, A.P.A.G.¹; Trezza Netto, J.¹; Camargo, M.C.G.O.¹; Silva, M.M.S.¹; Sacramento, D.R.V.³

Resumo

Existem 1.198 espécies de morcegos no mundo, sendo que 167 delas são encontradas no Brasil. É um animal de relevante papel ecológico como agente controlador da população de insetos noturnos (morcegos insetívoros) e excelente polinizador (morcegos fitófagos), embora seja, também, reservatório de algumas zoonoses, sendo a raiva e a histoplasmose as mais conhecidas. Com a identificação de um número cada vez maior de morcegos com raiva e histoplasmose no município de São Paulo, a polêmica sobre o risco do convívio dos morcegos com humanos, cresce e surge a necessidade de estudos que esclareçam o papel desses animais no ciclo epidemiológico das zoonoses mais comuns em área urbana. Esse projeto se propõe a estudar o potencial zoonótico dos morcegos do Município de São Paulo, recebidos ou capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura de São Paulo, no período de abril a dezembro de 2007. Foram realizados diagnósticos de raiva, histoplasmose, leptospirose, criptococose e rickettsioses em 340 morcegos. Paralelamente, foi feita a identificação da espécie e registrados dados morfológicos e biológicos tais como sexo, faixa etária, estágio reprodutivo, entre outros. Dos 340 morcegos, 160 pertenciam à Família Molossidae, morcegos insetívoros, 147 à Família Phyllostomidae, morcegos nectarívoros ou frugívoros e 33 à Família Vespertilionidae, morcegos insetívoros. Catorze se apresentaram positivos para *H. capsulatum*, todos insetívoros da família Molossidae, nenhum para *C. neoformans*, dois para raiva, ambos insetívoros (um *Nyctinomops macrotis* e um *Tadarida brasiliensis*), um morcego frugívoro *Artibeus lituratus* para leptospirose e 37 soros reagentes para rickettsioses. Somente com estudos que esclareçam o potencial zoonótico desses animais em área urbana é que se pode estabelecer medidas preventivas e/ou de controle de zoonoses, bem como transmitir informações que orientem a população a conviver de maneira harmoniosa com as populações destes animais.

INTRODUÇÃO

Os morcegos pertencem à Ordem Chiroptera (cheiros=mão e pteron=asa) e representam cerca de um quarto de toda a fauna de mamíferos do mundo; constituem o segundo maior grupo de mamíferos, superado apenas pela ordem Rodentia. Estão distribuídos por todo o mundo com exceção de regiões polares e de ilhas afastadas dos continentes. Cento e sessenta e sete dessas espécies são encontradas no Brasil, um dos países com maior diversidade e com representantes de todos os hábitos alimentares (insetívoros, nectarívoros, frugívoros, hematófagos, onívoro, piscívoro e carnívoros). Sua importância ecológica está estabelecida, tanto como participante na cadeia alimentar dos mais diversos ecossistemas (entre eles o de cavernas), mas também como dispersor de sementes (frugívoros), polinização de flores (nectarívoros) ou na predação de algumas populações de insetos noturnos (insetívoros). Os morcegos insetívoros ocorrem em quase todo mundo e compreendem cerca de 70% das espécies. Os morcegos fitófagos (frugívoros e nectarívoros) ocorrem em áreas urbanas e rurais, explorando frutas nos pomares e flores de arborização urbana em ruas e praças.

Vinte e nove das 144 espécies brasileiras já foram observadas explorando abrigos em habitações humanas (sótão, porão, juntas de dilatação de construções, ocos de árvores em quintais de residências, entre outros. Essa proximidade aumenta a probabilidade de contato desses animais com humanos e/ou com seus animais de estimação e, conseqüentemente, o risco de transmissão dos agentes patogênicos que esses animais podem carregar como reservatório

OBJETIVOS

Estudar o potencial zoonótico dos morcegos do Município de São Paulo, recebidos ou capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura de São Paulo no período de abril a dezembro de 2007.

MATERIAL E MÉTODO

Foram submetidos à diagnóstico animais vivos ou mortos, de todas as espécies e de ambos os sexos no período de 02 de abril a 31 de dezembro de 2007. O animal era

pesado e anestesiado com quantidade adequada (peso/volume) de Cloridrato de Cetamina, via intramuscular, para coleta de sangue por punção cardíaca com seringa de 1ml e agulha 13x4. Após a coleta do sangue, o animal era sacrificado em câmara de CO₂ e transferido para capela de fluxo laminar na qual era feita a retirada asséptica das vísceras.

Raiva

Os encéfalos dos morcegos foram submetidos às técnicas de Imunofluorescência Direta (IFD) e Inoculação em Camundongos (IC), as técnicas referenciadas pela Organização Mundial da Saúde.

Micologia

O baço e fígado dos morcegos foram macerados, em condições estéreis, com solução salina com cloranfenicol (200mg/l) e inoculados em 2 tubos de ágar BHI com L-cisteína e cloranfenicol e 2 tubos de ágar Saboraud com cloranfenicol. Um tubo com meio de cultura BHI e um tubo com meio Saboraud foram incubados a 25°C e os outros dois tubos foram incubados a 37°C por 45 dias e observados diariamente.

As colônias suspeitas de *C. neoformans* foram triadas com base na presença de cápsula, identificada por microscopia em preparação com tinta nankim e produção de melanina em meio DOPA. Após a triagem, a identificação foi feita com base na prova de assimilação de açúcares e bases nitrogenadas (auxanograma), bem como de fermentação de açúcares (zimograma).

Riquetisioses

A reação sorológica utilizada foi a imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpos anti-*Rickettsia* spp.

Leptospirose

1-Sorologia: A dosagem de anticorpos anti-leptospiras nos soros dos 166 morcegos, frente a 20 sorovares foi realizada por meio da MAT-Micro Agglutination Test, técnica de referência para pesquisa de anticorpos em amostras de soro.

2-PCR - Reação em Cadeia da Polimerase: Para pesquisa de leptospiros no rim dos morcegos. Os primers para detecção de fragmento de 331 pb de *Leptospira* spp foram LEP1: 5' GGC GGC GCG TCT TAA ACA TG 3' e LEP2: 5' TTC CCC CCA TTG AGC AAG ATT 3'.

RESULTADOS

População amostral

Dos 340 morcegos (média de 37,8 animais/mês), 160 pertenciam à Família Molossidae, morcegos de hábito alimentar insetívoro, 147 à Família Phyllostomidae, morcegos que se alimentam de pólen ou néctar (nectarívoros) ou flores e frutas (frugívoros) e 33 à Família Vespertilionidae, morcegos que se alimentam de insetos, portanto a maioria da amostra foi constituída de morcegos insetívoros (56,8%). Os morcegos nectarívoros e frugívoros representaram 43,2%. Durante o período foram identificadas 19 espécies. Considerando o sexo, 64,4% dos animais eram fêmeas e 11 delas estavam prenhes. Os machos representaram 35,6% da amostra. A maioria dos espécimes foi classificada como adulto (85,3%). Os indivíduos considerados jovens, subadultos ou filhotes representaram a 9,7%, 4,7% e 0,3%, respectivamente.

Raiva

Dois espécimes se apresentaram positivos em ambas as técnicas (0,6%). Um espécime identificado como *Nyctinomops macrotis*, fêmea adulta, encontrada morta, no chão do condomínio situado no bairro Casa Verde Alta – Zona Norte do Município e um *Tadarida brasiliensis* fêmea adulta, caída no chão, viva, no quarto de um apartamento no 18º andar na Zona Oeste do Município, ambos de hábito alimentar insetívoro.

Os isolados do vírus da raiva terão seus cinco genes e regiões intergênicas seqüenciados no segundo ano do projeto. Já foram desenhados 14 “primers”, que possibilitarão tanto as reações de amplificação do genoma viral, como as reações de sequenciamento de parte deste genoma (Laeder, Nucleoprotéina, Fosfoproteína, Matrix e Glicoproteína).

Micologia

Quatro espécimes foram considerados impróprios para diagnóstico. Dos 336 morcegos analisados, 11 se apresentaram positivos para *H. capsulatum* (3,3%) e nenhum para *C. neoformans*. As amostras positivas eram todas de morcegos insetívoros da família Molossidae, 5 machos e 6 fêmeas, todos adultos, recebidos de diversas regiões da cidade.

Riquetisioses

Dos 340 morcegos, foi possível obter soro de 244 animais, em nove o material foi insuficiente para realização do teste e em 87 morcegos não foi possível coletar sangue. Entre as 244 amostras processadas, 206 foram não reagentes e 37 reagentes (15,2%), sendo seis soros reagentes 1:4, 13 soros reagentes 1:8, sete reagentes 1:16, seis reagentes 1:32, quatro reagentes 1:64 e um reagente 1:128.

Leptospirose

Dentre os 340 morcegos a dosagem de anticorpos anti-leptospiras foi realizada nos soros de 166 morcegos, todos não reagentes. Em 174 amostras o material foi insuficiente ou não foi possível coletar sangue do animal.

Na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), a presença da leptospira foi comprovada em tecido renal de uma fêmea adulta de morcego da família Phyllostomidae, capturada na cozinha de uma casa na região oeste da cidade. A positividade observada foi de 0,29%.

DISCUSSÃO

A baixa positividade observada para leptospirose sugere que esses animais não tenham um papel relevante no ciclo epidemiológico em área urbana em contraste com o que vem sendo observado em estudos realizados em área silvestre, porém outros estudos de avaliação sorológica e detecção direta de leptospiras no rim devem ser realizados para esclarecer o papel do morcego como reservatório e na transmissão da leptospirose.

Quanto a histoplasmose, chama a atenção que morcegos da espécie *Molossus molossus*, positivos para *H. capsulatum*, foram encontrados no forro de residências ou

caídos no chão próximos a abrigos em forro de prédios, evidenciando a sinantropia desta espécie em habitações humanas. Este fato é relevante, pois, morcegos com histoplasmoze sistêmica eliminam o fungo viável nas fezes e podem constituir focos de contaminação em habitações humanas na área urbana da cidade.

A positividade de 0,6% observada para raiva em morcegos vem se mantendo próxima a esses níveis há vários anos no LabZoo-CCZ. O seqüenciamento total do vírus da raiva, isolado de morcegos naturalmente infectados, é inédito no Brasil e pode contribuir para elucidar questões relacionadas à relação vírus-hospedeiro, aos sítios antigênicos e à resposta imune à vacina. Outros Lyssavirus serão rastreados após a implantação do melhor protocolo.

Quanto a riquetisioses, cinco amostras apresentaram títulos 1:64 ou 1:128 que são consideradas reagentes, se considerarmos o ponto de corte utilizado para outras espécies animais em sorologia.

A análise dos resultados poderá ser melhor elaborada após a consolidação dos dados do segundo ano do projeto permitindo uma melhor visão do papel desses animais nessas zoonoses em área urbana.

Projeto financiado pela Fapesp-Fundação para Pesquisa do Estado de São Paulo nº 06/58210-7.

¹ Centro de Controle de Zoonoses-COVISA-SMS-PMSP - Rua Santa Eulália, 86 – Santana – CEP 02031-020 – telefone: 55 (11) 2224.5571 / fax: 55 (11) 2251.2249. Laboratório de Zoonoses e Doenças Transmitidas por Vetores e Setor de Quirópteros da Subgerência de Vigilância e Controle de Roedores e Animais Sinantrópicos autor para correspondência:marilene@prefeitura.sp.gov.br

² Seção de Micologia - Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo.

³ Genomic- Genomic Engenharia Molecular – Rua Itapeva, 500 cj 5AB SP- SP, Brasil