

PESQUISA DE *Histoplasma capsulatum* EM MORCEGOS DO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL.

GALVÃO DIAS M.A.¹; ZANCOPE OLIVEIRA R.M.²; MONTENEGRO NETTO H.¹; TAVARES P.M.²; GIUDICE M.C.³; ROSA, A.R.¹; SODRÉ, M.M.¹; TABORDA, C.P.³.

Resumo

A histoplasmose é uma micose sistêmica causada pelo fungo dimórfico *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. O solo é seu habitat natural e o acúmulo de fezes de morcegos favorece o crescimento do fungo. A presença de morcegos em cavernas, sótãos, forros de telhado tem importância epidemiológica, são ambientes fechados e que aumentam a possibilidade de contaminação de pessoas que adentram esses locais. Em áreas urbanas tem se observado a domiciliação de diversas espécies de morcegos, especialmente insetívoros, atraídos pela ampla oferta de alimento e disponibilidade de abrigo. De agosto de 2003 a dezembro de 2007, foram encaminhados ao Centro de Controle de Zoonoses da Cidade de São Paulo, 2005 morcegos. O isolamento do fungo foi realizado a partir de fígado e baço destes animais, através do cultivo em meio Sabouraud e BHI incubados a 25°C e 37°C. Destes morcegos, 59 estavam infectados (2,95%), sendo 47 *Molossus molossus*, 9 *Nyctinomops macrotis*, 1 *Tadarida brasiliensis*, 1 *Molossus rufus* e 1 *Eumops glaucinus*, todos insetívoros. Para 3 espécies trata-se do primeiro relato. Dos 2005 morcegos, 1370 morcegos eram procedentes da Cidade de São Paulo (68,3%) e 635 morcegos eram originários de cidades do Estado de São Paulo (31,7%). Cinco cidades apresentaram espécimes positivos: 49 procedentes da cidade de São Paulo (83,1%) e 10 de outros municípios do Estado (16,9%): 4 de Jundiaí, 3 de Guarulhos, 2 de Osasco e 1 de Mogi Mirim. Um estudo molecular de tipificação das cepas de *H. capsulatum* isoladas nesse laboratório de 2003 a 2005, foi realizado pela Fundação Oswaldo Cruz, demonstrou alto polimorfismo genético. Os 15 isolados analisados, segregaram em dois grandes grupos com apenas 40% de similaridade no fragmento analisado (M13). Apenas duas amostras apresentaram 100% de similaridade. O alto polimorfismo observado sugere diferentes populações de *Histoplasma capsulatum* no estado de São Paulo. A vigilância da histoplasmose em morcegos e em fezes de abrigos em regiões urbanas é importante para desencadear ações que possam prevenir a transmissão da doença para humanos. A presença de morcegos próximos ao nosso convívio em função da facilidade de abrigo e oferta de alimentos associada a existência de morcegos contaminados com o *H. capsulatum*, torna real o risco de pessoas ou animais adquirirem a infecção. Mais estudos são necessários para elucidar a patologia desta doença em morcegos.

Palavras chaves: Histoplasmose, morcegos, *Histoplasma capsulatum*, área urbana

Introdução

A histoplasmose é uma micose sistêmica de distribuição mundial, ocorre com a inalação de propágulos do fungo dimórfico *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum*. O solo é seu habitat natural e a ocorrência da doença esta associada à exposição de solos contaminados e a presença de aves e morcegos nestes locais. O guano de morcegos tem se mostrado como uma fonte importante de infecção para humanos e animais, seu guano é rico em nutrientes que favorecem a manutenção do fungo na natureza.

Os acúmulos de fezes de morcegos nos abrigos contribuem para criar um ambiente favorável à proliferação do fungo, sob a forma miceliana. Os morcegos são susceptíveis a doença, e podem inalar grande quantidade de propágulos do fungo em seus abrigos e adquirir a micose na forma sistêmica, podendo eliminar o fungo nas suas fezes, ajudando na disseminação da doença. Já a infecção em aves nunca foi documentada, provavelmente devida à sua alta temperatura corpórea, entretanto suas fezes no solo e em ninhos de pássaros como estorninhos, pardais, bem-te-vis e galinheiros, entre outros contribuem para a proliferação do fungo.

A infecção pelo *H. capsulatum* é relativamente comum no Brasil e ocorre em várias regiões de forma endêmica, sendo comprovada através de inquéritos epidemiológicos através de testes cutâneos, indicando apenas contato prévio com o fungo. Há registros de microepidemias de histoplasmose, em pessoas que foram infectadas após visitarem grutas ou que estiveram em casas cujos forros possuíam contaminação maciça de fezes de morcegos ou aves.

A doença ocorre sob várias manifestações clínicas e a maioria das infecções não é reconhecida clinicamente. A infecção aguda causada pelo *H. capsulatum* é assintomática em 50% a 90% dos casos, evoluindo para a cura. Nos casos em que se desenvolvem as infecções sintomáticas, podem ocorrer desde um quadro semelhante à gripe até pneumopatias graves.

A presença de morcegos em áreas urbanas tem se tornado cada vez mais freqüente. Na cidade de São Paulo o Centro de Controle de Zoonoses no período de 2004 a 2005 foram recebidas 2.142 reclamações de munícipes, referindo diferentes tipos de problemas com morcegos que foram agrupados em: presentes em edificações utilizadas como abrigos (35,7%); adentramento em residências (20,1%); em busca de frutos em árvores plantadas próximas a residências (29,3%) e encontrados em locais e horários não habituais como: caído no chão, piscina, lareira, caixa de persiana, entre outros (14,9%).

O objetivo deste estudo é apresentar a positividade de *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum* em morcegos capturados no Estado de São Paulo no período de agosto de 2003 a dezembro de 2007, assim como as espécies mais freqüentes e as circunstâncias de captura destes animais. Este é o primeiro relato de morcegos infectados com *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum* e a primeira vez que se realiza a Vigilância da doença em morcegos na cidade de São Paulo.

Material Método

Isolamento do fungo. O isolamento foi realizado a partir do fígado e baço de morcegos. A retirada foi feita de forma asséptica em fluxo laminar. Os órgãos foram macerados e semeados em tubos contendo Ágar Sabouraud Dextrose com cloranfenicol e de Ágar infusão de cérebro-coração (BHI) com cloranfenicol, sendo ambos incubados a 25°C e a 37°C.

Análise Molecular: Foram enviadas 59 amostras para a Fundação Oswaldo Cruz para serem analisadas pelo método de PCR-DNA *fingerprinting* para microssatélite baseado no fago M13 para determinar o polimorfismo genético dos isolados de *H. capsulatum*.

Resultados

No período de agosto de 2003 a dezembro de 2007 foram processados 2005 morcegos. A positividade observada no período foi de 2,94%. Os 59 isolados de *Histoplasma capsulatum* eram todos de morcegos da família Molossidae, pertencentes a quatro gêneros e cinco espécies. As espécies envolvidas foram: *Molossus molossus*, seguida de *Nyctinomops macrotis*, *Molossus rufus*, *Tadarida brasiliensis* e *Eumops glaucinus*. Dos 2005 morcegos, 1370 morcegos eram procedentes da Cidade de São Paulo (68,3%) e 635 morcegos eram originários de cidades do Estado de São Paulo (31,7%). Cinco cidades apresentaram espécimes positivos: 49 procedentes da cidade de São Paulo (83,1%) e 10 de outros municípios do Estado (16,9%). Das 59 amostras enviadas para estudo molecular, foram analisadas 15 amostras até o momento. Os 15 isolados analisados segregaram em dois grandes grupos com apenas 40% de similaridade no fragmento analisado (M13). Apenas duas amostras apresentaram 100% de similaridade.

Discussão

Das cinco espécies envolvidas, duas já haviam sido relatadas como positivas para histoplasmose previamente, *Tadarida brasiliensis* (Ajello et al., 1967 e Tesh and Schneidau, 1967), e *Molossus molossus* (Canteros et al., 2005). No caso das outras três espécies detectadas como positivas neste trabalho *Nyctinomops macrotis*, *Eumops glaucinus* e *Molossus rufus* trata-se do primeiro relato.

Todos morcegos positivos pertenciam a Família Molossidae que neste estudo é o grupo com maior representatividade (57,1%) e é a única família que apresentou espécies positivas para histoplasmose (5,9%). Esse fato era esperado uma vez que essa é a família de maior representatividade na área urbana da cidade de São Paulo.

A predominância de espécimes de espécie *M.molossus* (34,5%) pode ser explicada no comportamento desse animal que tem como abrigos forros de residências e outros espaços construtivos. Dessa forma, devido a sua proximidade da população humana, o número de reclamações da população

quanto a sua presença é maior e em consequência o número de espécimes capturados.

Durante o período de 2003 a 2007, em dez ocasiões, quinze morcegos da espécie *Molossus molossus*, dois *Nyctinomops macrotis* e um *Eumops glaucinus* positivos para *H. capsulatum*, foram encontrados no forro de residências ou caídos no chão muito próximos a abrigos em forro de prédios, evidenciando a sinantropia destas espécies em habitações humanas.

Este fato é importante, pois, morcegos com histoplasmose sistêmica eliminam o fungo viável nas fezes e podem constituir focos de contaminação em habitações humanas na área urbana da cidade. A presença de morcegos próximos ao nosso convívio em função da facilidade de abrigo e oferta de alimentos com a agravante da existência de morcegos contaminados com o *H. capsulatum* torna real o risco de pessoas ou animais adquirirem a infecção micótica tanto a histoplasmose infecção como a histoplasmose doença, dependendo do grau de contaminação desses locais e do estado imunológico dessas pessoas.

As cinco cidades do Estado de São Paulo que apresentaram casos positivos têm em comum o fato de serem áreas urbanas, apresentou o maior número de casos positivos (49). As cidades de Guarulhos e Osasco são vizinhas à capital em área denominada Grande São Paulo. As cidades de Jundiaí e Mogi Mirim são cidades do interior do Estado, próximas a capital.

O estudo molecular preliminar demonstrou um alto polimorfismo genético, sugerindo a existência de diferentes populações de *H. capsulatum* no estado de São Paulo.

Projeto financiado pela FAPESP 06/58210-7

¹ Centro de Controle de Zoonoses – COVISA - PMSP – Rua Santa Eulália, nº 86 Santana – CEP-02031020 - São Paulo – SP. Fone: 55(11)2224-5546 - Fax: 55(11)22512249

² Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro - Av. Brasil, 4365 – Manguinhos - CEP 21040-900 - Rio de Janeiro, RJ

³ Departamento de Microbiologia – Instituto de Ciências Biomédicas II, Universidade de São Paulo

autor para correspondência: Maria Adelaide Galvão Dias
adelaide.mgd@usp.br

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M.F., MARTORELLI, L.F.A., AIRES, C.C., SALLUM, P.C., DURIGON, E.L. AND MASSAD, E. 2005^a. Experimental rabies infection in haematophagous bat *Desmodus rotundus*. **Epidemiology and Infection** 133: 523-527.

C.E. CANTEROS, R.H. ;IACHINI, M.C.; RIVAS, O.; VACCARO, J.; MADARIAGA, R.; GALARZA, L.; SNAIDERMAN, M.; MARTÍNEZ, M.; PALADINO, G.; CICUTTIN, E.; VARELA, E.; ALCOBA, F. ZUIANI¹, J.H. SAHAZA⁵, M.L. TAYLOR⁵, G. DAVEL¹. 2005. Primer aislamiento de *Histoplasma capsulatum* de murciélago urbano *Eumops bonariensis*. **Revista Argentina de Microbiología**, 37: 46-56.

FAVA NETTO C., ALMEIDA N.J.M., GUERRA M., COSTA E.O. 1976. Histoplasmose epidêmica. Novos surtos ocorridos no litoral norte do Estado de São Paulo. Inquérito epidemiológico com histoplasmina e paracoccidioidina. **Rev Inst Med Trop S Paulo**. 18: 108-12.

GOLDMAN M, JOHNSON P.C., SAROSI G.A. 1999. Fungal pneumonias. **Clin. Chest Med** 20:507-19.

HOHH, G.L., BIGLER, W.J. 1981. The role of bats in the propagation and spread of histoplasmosis: A review. **Journal of Wildlife Diseases**. (17):2.

LEVI, G.C., POZZI C.M., HIRSCHHEIMER S.M.D.S., CHAHADÉ W.H., GOMES H. G., GRANATO C. 2003. Histoplasmose do Sistema Nervoso Central como única manifestação da doença em pacientes imunocompetentes: apresentação de dois casos. **Arq. Neuro-Psiquiatr**. (61) 3B São Paulo Sept.

SÃO PAULO, Secretaria Municipal da Saúde. COVISA. Gerencia de Vigilância em Saúde Ambiental – **Revista de Vigilância em Saúde Ambiental**. p. 64:73, 2005.

TAVARES PM, GALVÃO-DIAS MA, MUNIZ MM, TABORDA CP, ZANCOPE-OLIVEIRA RM. Molecular typing of *Histoplasma Capsulatum* isolated from bats captured in São Paulo States, Brazil”, American Society for Microbiology, March 13 – 17, Denver – Colorado, 2006. -

WHEAT L.J, KAUFFMAN C.A. Histoplasmosis. 2003. **Infect. Dis. Clin. North Am.**17:1-19.

ZANCOPE-OLIVEIRA R.M., WANKE B. Isolamento do *Histoplasma capsulatum* de animais silvestres no município do Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**. R.J., 2:45-52, 1986.