



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXVII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2023

ELEVADA FREQUÊNCIA DE PARASITOS DA FAMÍLIA SARCOCLADIAE EM QUIRÓPTEROS DE DIFERENTES BIOMAS NA BAHIA

Matheus Oliveira de Melo¹; Aristeu Vieira da Silva²; Téo Veiga de Oliveira³ e Amanda Cedraz Araujo Mamede⁴

1. Bolsista FAPESB, Graduando em Bacharelado em Ciências Biológicas, Grupo de Pesquisa em Zoonoses e Saúde Pública, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: matheuso.demelo@gmail.com
2. Aristeu Vieira da Silva, Grupo de Pesquisa em Zoonoses e Saúde Pública, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, bolsista Produtividade em Pesquisa CNPq, e-mail: aristeuvsilva@uefs.br
3. Téo Veiga de Oliveira, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: teo.oliveira@uefs.br
4. Bolsista CNPq, Grupo de Pesquisa em Zoonoses e Saúde Pública, Graduando em Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: amandaacmamede@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Zoonoses, parasitologia, morcegos.

INTRODUÇÃO

Em ambientes naturais o comportamento dos parasitos em relação a seus hospedeiros é o resultado de uma interação complexa e duradoura, resultando no equilíbrio entre as partes, cientificamente conhecida como coevolução (SANGIONI et al., 2005). O desequilíbrio dessa interação ocorre como consequência das alterações ambientais naturais ou da degradação ambiental antrópica ou ambos (SANGIONI et al., 2005).

Com o avanço agrícola, urbanização e invasão do habitat natural pelos seres humanos, o contato entre animais selvagens e seus parasitos e o homem tem ficado cada vez mais próximo, possibilitando a circulação de zoonoses emergentes e reemergentes. A comunidade científica mundial relata a urgência em se pesquisar todos os aspectos relacionados às zoonoses associadas aos animais selvagens, já que os surtos dessas doenças são cada vez mais frequentes (JONES et al., 2008).

O estudo de agentes zoonóticos em morcegos vem apresentando elevado interesse por parte da comunidade científica, devido aos inúmeros nichos ecológicos ocupados por esses animais e pela oportunidade de adaptação de agentes infecciosos dos quirópteros a outras espécies animais e ao homem. Uma vez que os estudos sobre a presença de protozoários, notadamente da família Sarcocystidae são escassos na literatura sobre parasitos de quirópteros, que é proposto a detecção molecular de protozoários desta família em tecidos de quirópteros coletados no Estado da Bahia.

METODOLOGIA

Após apresentação e aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais, quirópteros foram capturados com puçá em ambientes fechados e pela instalação de redes de neblina em

locais abertos. Todas as coletas foram realizadas na Bahia no período de maio de 2019 a setembro de 2023. A eutanásia foi realizada por administração de quetamina e xilazina em dose anestésica seguida de aprofundamento do plano anestésico induzido por excesso de quetamina, de acordo com os procedimentos sugeridos pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, 2013).

Os indivíduos coletados foram tombados e depositados na Coleção de Mamíferos da Divisão de Mamíferos do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Feira de Santana UEFS. As amostras de tecidos (fígado e baço, musculatura peitoral e intestino) foram coletadas no Laboratório de Análises Clínicas e Parasitologia na UEFS, maceradas com cadinho e pistilo, As amostras foram extraídas com kit comercial para extração de DNA e RNA de tecido animal (*Loccus*®) conforme instruções do fabricante em extrator semi-automático *Extracta-32* e acondicionadas a -80°C até a fase de testes moleculares.

A pesquisa de DNA de protozoários da família Sarcocystidae foi realizada pela *nested*-PCR conforme descrita por Da Silva et al (2009). Em cada lote de 16 ampliações foi adicionado um controle negativo (água ultrapura) e um controle positivo (taquizoítos da cepa RH de *Toxoplasma gondii* fixados em formalina cedidos pelo Laboratório de Toxoplasmose do Instituto Evandro Chagas).

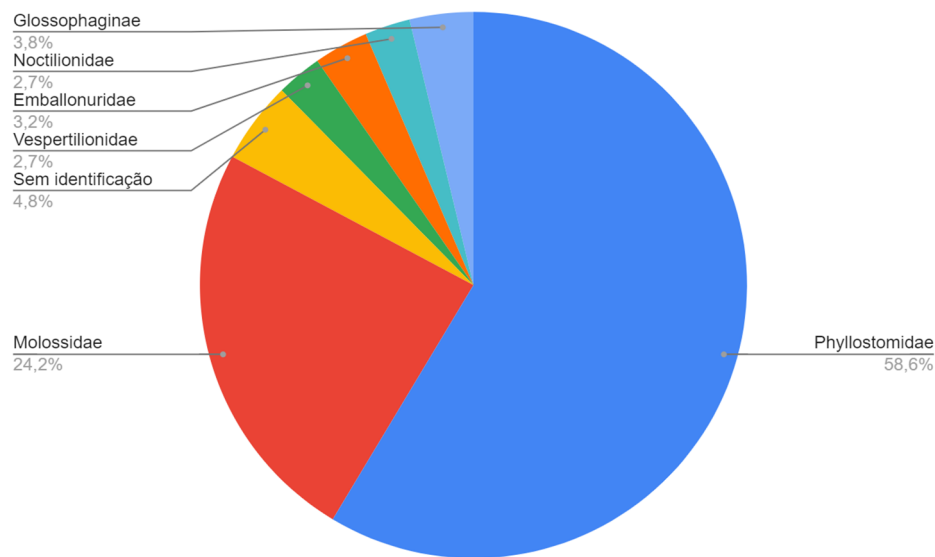
A eletroforese em gel de agarose foi realizada com 5µL dos produtos amplificados em gel 1,5%, corante (*GelRed*®), marcador de peso molecular de 100 pares de base (pb) e corrida de 80 volts por 80 minutos. A visualização foi feita com transiluminador e a imagem capturada com câmera acoplada. As amostras que apresentaram bandas fortes com peso molecular de aproximadamente 300 pares de base (pb) foram consideradas positivas e serão submetidas ao sequenciamento tipo Sanger para obtenção da sequência nucleotídica completa e confirmação dos resultados com comparação destas sequências com aquelas depositadas no *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

Os resultados da *nested* PCR foram tabulados com as variáveis sexo, família, guilda alimentar e local de coleta e analisadas em tabelas de contingência pelo teste de χ^2 de Pearson com correção de continuidade, considerando-se $\alpha=0,05$. Em todas essas análises foi utilizado o programa EpiInfo 7 (DEAN et al., 2011). Variáveis com valores de P menores que 0,20 foram reavaliadas pela regressão logística *backward stepwise*, computando a significância estatística da exclusão de cada variável pelos testes de razão de verossimilhança ajustado pelo teste de Hosmer-Lemeshow (Valor de P < 0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas 12 expedições para coletas de animais e capturados 186 morcegos, sendo 100 (53,8%; IC95%: 46,3 - 61,0) em Santo Amaro, 64 (34,4%; IC95%: 27,6 - 41,7) em Feira de Santana e 22 (11,8%; IC95%: 7,5 - 17,3) em Barra, todos no estado da Bahia. Os animais foram identificados sendo pertencentes a seis famílias: Phyllostomidae 109 (58,6%; IC95%: 51,1 - 65,7), Molossidae 45 (24,2%; IC95%: 18,2 - 31,0), Vespertilionidae cinco (2,7%; IC95%: 0,8 - 6,1), Glossophagine sete (3,8%; IC95%: 1,5 - 7,6), Emballonuridae seis (3,2%; IC95%: 1,1 - 6,9), Noctilionidae cinco (2,7%; IC95%: 0,9 - 6,1) e nove (4,8%; IC95%: 2,2 - 9,0) ainda não identificados (Figura 1) e pertencentes a 18 espécies. As espécies capturadas já possuem registros em cada município pela literatura.

Figura 1. Frequência relativa de quirópteros coletados na Bahia no período de maio de 2019 a setembro de 2023.



Foram coletadas 125 amostras de tecidos de 54 animais, sendo 54 *pools* de fígado e baço, 38 intestinos e 35 músculos, apresentando frequência de 31 (24,8%; IC95%: 17,5 - 33,3) de positivos para presença de fragmentos de DNA compatíveis com Sarcocystidae. A frequência da presença de fragmentos de ácidos nucleicos com tamanho esperado para protozoários da família Sarcocystidae foi de 21 (38,8%; IC95%: 25,9 - 53,1) em *pool* de fígado e baço, dois (5,5%; IC95%: 0,6 - 18,6) em intestinos, oito (22,8; IC95%: 10,4 - 40,1) em músculos de 11 espécies. Dos 54 animais examinados, 27 (50,0%; IC95: 0,4 - 0,6) foram positivos em ao menos um dos tecidos examinados.

A distribuição dos morcegos analisados está na zona rural de Santo Amaro e na zona urbana de Feira de Santana, sendo 28 (48,1%; IC95%: 37,8 - 65,6) em Santo Amaro e 26 (48,1; IC95%: 34,3 - 62,1) em Feira de Santana. Em Santo Amaro a frequência de morcegos positivos para presença de fragmentos de DNA compatível com Sarcocystidae em algum dos tecidos avaliado foi de 11 (39,3%; IC95: 21,5 - 59,4) positivos e em Feira 16 (61,5%; IC95%: 40,5 - 79,7), não sendo relacionada estatisticamente com o município ou com a zona de coleta.

Das variáveis estatísticas estudadas, guilda alimentar, sexo e zona apresentaram relação estatística significativa entre a variável independente e a detecção de DNA de Sarcocystidae na amostra fígado e baço. A análise multivariada (Tabela 1) revelou um melhor ajuste para a associação entre dieta e positividade para a nPCR, sendo que a infecção em morcegos hematófagos foi menos frequente que em outras guildas alimentares, quando considerado o resultado independente do tecido avaliado; desta forma a variável alimentar-se de sangue foi considerado um fator de proteção. A transmissão de protozoários da família Sarcocystidae por ingestão de cistos teciduais ou oocistos em morcegos hematófagos pode ser menor uma vez que se alimentam de sangue, com menor contato direto com o solo, ingestão de frutas e insetos, onde poderiam estar presentes oocistos infectantes.

Tabela 1. Teste de Wald, valor de P associado, risco relativo (RR) e limites inferior (LI) e superior (LS) do intervalo de confiança 95% do RR para as variáveis da guilda alimentar no modelo de regressão logística com melhor ajuste.

Variável	Wald	Valor de P	Risco relativo		
			RR	IC95%	
				LI	LS
Guilda alimentar	0,197	0,658	0,692	0,136	3,518
Carnívoro	0,351	0,553	2,077	0,185	23,298
Frugívoro	0,721	0,396	2,769	0,264	29,047
Hematófago	5,088	0,024	0,173	0,038	0,795
Constante	0,719	0,396	1,444	-	-

Estatísticas: r^2 Nagelkerke = 0,215; $\chi^2_{\text{Hosmer-Lemeshow}}=0,000$ (Valor de P = 1,000)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram detectados fragmentos de ácidos nucleicos compatíveis com os esperados para protozoários da família Sarcocystidae em tecido de quirópteros no estado da Bahia, com frequência de 50,0%, sendo uma frequência muito elevada. A análise multivariada mostrou que a infecção em morcegos hematófagos foi menos frequente, sendo a variável alimentar de sangue foi considerada um fator de proteção.

REFERÊNCIAS

- ALHO, C. J. R. Estudos Avançados, São Paulo, v. 26, n.74, 2012.
- AURICCHIO, P.; SALOMÃO, M.G. Técnicas de coleta e preparação de vertebrados para fins científicos e didáticos. São Paulo: Arujá: Instituto Pau Brasil de História Natural. 348 p. 2002.
- AYRES, J. M. et al. Os corredores ecológicos das florestas tropicais do Brasil. Belém, Sociedade Civil. Mamirauá, 256p. 2005.
- CABRAL, A. D. et al. Occurrence and diversity of Sarcocystidae protozoa in muscle and brain tissues of bats from São Paulo state, Brazil. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife p. 14 91–96. 2021.
- CFMV. Conselho Federal de Medicina Veterinária. Guia Brasileiro de Boas Práticas para Eutanásia em Animais. Brasília: Conselho Federal de Medicina Veterinária. 66p. 2013.
- DA SILVA, R.C.; SU, C. LANGONI, H. First identification of *Sarcocystis tenella* (Railliet, 1886) Moulé, 1886 (Protozoa: Apicomplexa) by PCR in naturally infected sheep from Brazil. Veterinary Parasitology, v. 165, n. 4, p. 332-336, 2009.
- DEAN, A. G. et al. Epi info™, a Data Base and Statistics Program for Public Health Professionals. CDC, Atlanta, GA, USA, 2011.
- Fundação SOS Mata Atlântica; INPE. Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica: período 2019/2020, relatório técnico. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 73p. 2021.
- JONES et al. Nature 451:990-3, 2008.
- SANGIONI, L.A. et al. Emerg. Infect. Dis.; v. 11, n.2, p. 265-270, 2005.
- THOMPSON, R.C. A. International Journal for Parasitology. v. 43, p. 10791088. 2013. Disponível em: <http://www.elsevier.com/locate/ijpara>>. Acesso em: 28 de março. 2021.