



**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**

### **Deteção de DNA de protozoários da família Sarcocystidae em amostras de fezes de quirópteros do Estado da Bahia**

**Vívian Samille Ferreira Firmo<sup>1</sup>; Aristeu Vieira da Silva<sup>2</sup>**

1. Bolsista PIBIC/Fapesb, Graduanda em Farmácia, Grupo de Pesquisa em Zoonoses e Saúde Pública, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: vivianffirmo@gmail.com
2. Orientador, Grupo de Pesquisa em Zoonoses e Saúde Pública, Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: aristeuvsilva@uefs.br

**PALAVRAS-CHAVE:** Endoparasitos; Deteção Molecular; Quirópteros.

### **INTRODUÇÃO**

Ao longo da história, o entendimento dos morcegos tem sido limitado e permeado por preconceitos. Os primeiros colonizadores na América do Sul espalharam histórias de morcegos-vampiros, alimentando a visão na Europa de que todos os morcegos eram assustadores (REIS, 2007). No entanto, julgar dessa forma é equivocado, pois os morcegos possuem uma diversidade impressionante de hábitos alimentares, sendo em sua maioria benéficos para os humanos.

É crucial destacar a importância ecológica dos morcegos, já que suas diferentes dietas desempenham papéis essenciais na natureza. Por exemplo, os filostomídeos são os melhores dispersores de sementes nas Américas, contribuindo significativamente para a regeneração das florestas neotropicais (BREDT et al., 1996). Outrossim, os morcegos têm um papel importante na epidemiologia, apesar de serem associados à transmissão da raiva em animais e em alguns casos em humanos, eles são fundamentais para estudos epidemiológicos, farmacológicos e na pesquisa de mecanismos de resistência a doenças, além de contribuir para o desenvolvimento de vacinas (YALDEN & MORRIS, 1975)

Por fim, os morcegos não estão livres dos parasitos, sendo observados os ectoparasitos, além de inúmeros parasitos internos (endoparasitos) em exemplares coletados em campo. Nesse aspecto, estudos apontam que de 54 amostras de fezes frescas coletadas, 96,29% das amostras foram positivas para pelo menos um parasito gastrointestinal e foram identificadas 11 famílias diferentes, sendo 63,6% helmintos e 36,4% protozoários (Lima et al, 2018). Isso mostra a importância dessa linha de pesquisa, que, ainda hoje, é um campo pouco explorado pelos pesquisadores, mas que traz descobertas necessárias.

Como o estudo dos parasitos, especialmente dos endoparasitos, de quirópteros, é restrito no Estado da Bahia, é que foi proposto o presente trabalho com o objetivo de detectar endoparasitos em morcegos no Estado da Bahia, avaliando a presença de DNA de protozoários da família Sarcocystidae em fezes de morcegos síncrono à associação das características epidemiológicas dos animais.

## METODOLOGIA

O estudo envolveu a captura de morcegos em áreas urbanas e rurais usando redes de neblina em locais de possível trânsito para áreas abertas e puçás em abrigos artificiais, como construções abandonadas ou residências. Em seguida, foi realizada a eutanásia com anestesia profunda, seguida pela coleta de tecidos, incluindo alças intestinais.

As alças intestinais foram imediatamente transferidas para um coletor universal contendo solução salina estéril a 0,18% ou solução tampão Tris-Ca e mantidas refrigeradas até a lavagem do conteúdo da alça com 1 ml de solução salina estéril a 0,18% ou solução tampão Tris-Ca. O líquido resultante da lavagem foi coletado com uma seringa estéril de 1 ml, transferido para um criotubo e armazenado a -80°C.

O processo de detecção molecular começou com a digestão das fezes por choque térmico, variando de -80°C a 70°C por 30 minutos (Almeida, 2014), seguida pela adição de 300µL de tampão DB1 e 20µL de proteinase K por 2 horas a 72°C (*Loccus*®). A extração de DNA foi realizada utilizando um extrator e purificador de DNA e RNA *EXTRACTA-32* (*Loccus*®) e, em seguida, o material foi armazenado a -80°C para as reações de *nested*-PCR.

O volume final das reações de *nested*-PCR foi de 25µL, organizados em lotes de 16 amostras somadas ao controle negativo (água ultrapura Nova Biotecnologia®). O *master mix* preparado em laboratório com reagentes limpos (Invitrogen®) possuía 2,5µL de tampão PCR, 0,75µL de cloreto de magnésio, 4,0µL de desoxirribonucleotídeos fosfatados (DNTPs), 0,15µL de taq polimerase, 2,5µL de cada oligonucleotídeo iniciador a 10 pmol, 5,6µL de água ultrapura, com acréscimo de 2,0µL de albumina a 0,4 mg/mL (SIGMA-ALDRICH®) e 5µL de amostra. Os iniciadores foram Tg18S48F/Tg18S359R para a PCR e Tg18S58F/Tg18S348R na *nested* (da Silva *et al*, 2009).

A automatização da amplificação ocorreu no termociclador *LifeECO* (*BIOER*®) com uma etapa de denaturação inicial a 95°C, seguida de 30 ciclos de 94°C por 30 segundos, 55°C por 60 segundos e 72°C por 120 segundos, com extensão final a 72°C por dois minutos na PCR e com diferente temperatura de anelamento (subida para 60°C) e o número total de ciclos (n=35) para a *nested*-PCR. A eletroforese dos produtos amplificados foi conduzida em gel de agarose a 1,5%, e as amostras positivas foram identificadas pela presença de bandas com aproximadamente 300 pares de base (pb).

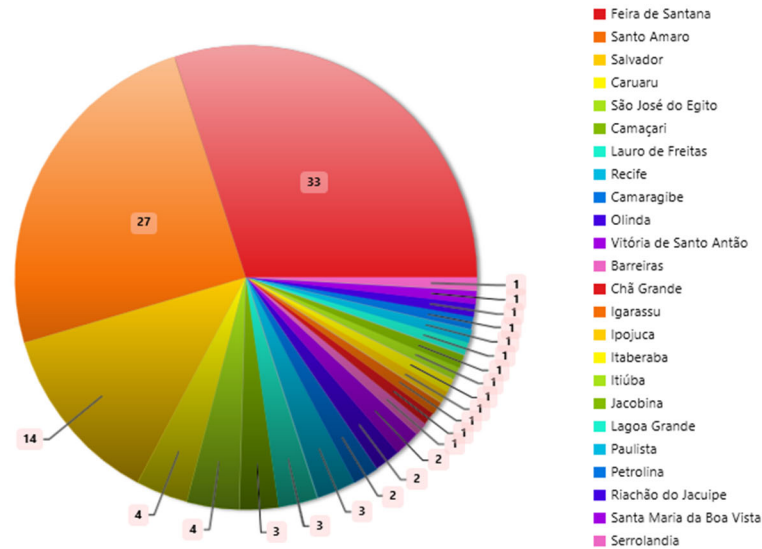
A associação entre variáveis epidemiológicas, como guilda alimentar, família, gênero ou espécie dos morcegos, local de coleta e sexo, foi avaliada em relação aos resultados da *nested*-PCR utilizando o teste de Qui-quadrado usando o programa EpiInfo 7,2 (Dean *et al*, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Esse estudo propôs detectar a presença de endoparasitos em espécies de morcegos coletadas em diferentes regiões do estado da Bahia durante os anos de 2019 a 2022 em 13 expedições, associados ao exame de quirópteros enviados pelo Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia (LACEN/BA), confirmados como livres do vírus da raiva, de localidades baianas e pernambucanas.

O número de amostras totalizou em 110 indivíduos, com maior frequência em Feira de Santana (n = 33; 30,0%; IC95%: 21,63-39,48), Santo Amaro (n = 27; 24,55%; IC95%: 16,84-

3367) e Salvador (n = 14; 12,73%; IC95%: 7,14-20,43). Capturas com regularidade limitada foram de São José do Egito (n = 4; 3,64%; IC95%: 1,00-9,05), Caruaru (n = 4; 3,64%; IC95%: 1,00-9,05), Camaçari (n = 3; 2,73%; IC95%: 0,57-7,76), Lauro de Freitas (n = 3; 2,73%; IC95%: 0,57-7,76), Recife (n = 3; 2,73%; IC95%: 0,57-7,76), Vitória de Santo Antão (n = 2; 1,82%; IC95%: 0,22-6,41), Olinda (n = 2; 1,82%; IC95%: 0,22-6,41), Camaragibe (n = 2; 1,82%; IC95%: 0,22-6,41), bem como as coletas pontuais (n = 1; 0,91%; IC95%: 0,02-4,96) em Barreira, Chã Grande, Igarassu, Ipojuca, Itaberaba, Itiúba, Jacobina, Lagoa Grande, Paulista, Petrolina, Riachão do Jacuípe, Santa Maria da Boa Vista e Serrolândia (Figura 1).

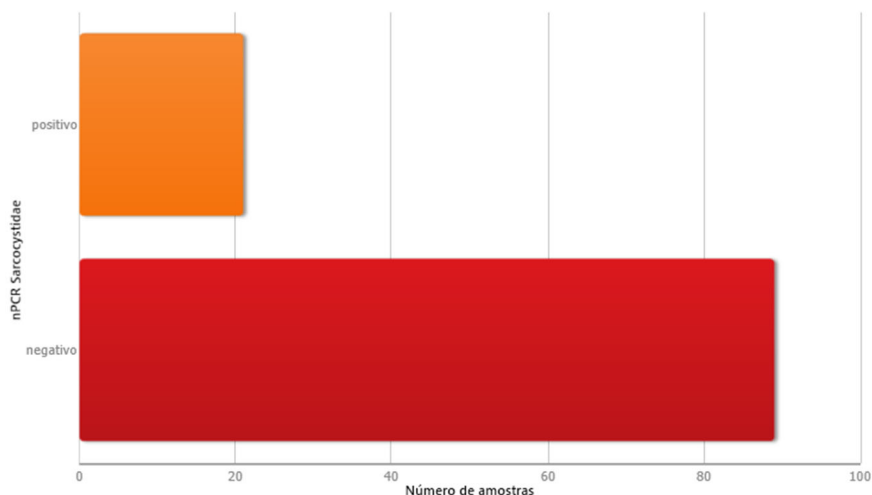


**Figura 1.** Frequência absoluta de quirópteros segundo o município de coleta dos estados da Bahia e Pernambuco. 2019-2022.

O grupo amostral foi representado por morcegos de quatro famílias e 16 espécies distintas, destacando-se *Molossus molossus* (n = 37; 33,64%; IC95%: 24,91-43,27), *Diphylla ecaudata* (n = 13; 11,82%; IC95%: 24,91-43,27), *Eumops glaucinus* (n = 8; 7,27%; IC95%: 3,19-13,83), *Glossophaga soricina* (n = 5; 4,55%; IC95%: 1,49-10,29), *Phyllostomus hastatus* (n = 4; 3,64%; IC95%: 1,00-9,05) e *Desmodus rotundus* (n = 3; 2,73%; IC95%: 0,57-7,76) (Figura 2). Desse montante, 21 (19,09%; IC95%: 12,22-27,69) foram positivos, apresentando a banda de aproximadamente 300 pb como esperado para a família Sarcocystidae (Figura 3).



**Figura 2.** Principais espécies de quirópteros capturados nos estados da Bahia e Pernambuco. 2019-2022. **A** - *Molossus molossus*; **B** - *Diphylla ecaudata*; **C** - *Eumops glaucinus*; **D** - *Glossophaga soricina*; **E** - *Phyllostomus hastatus*; **F** - *Desmodus rotundus*. (Direitos de imagem: © Roberto Leonan Morim Novaes e © José Gabriel Martínez)



**Figura 3.** Frequência de amostras positivas (em laranja) e negativas (em vermelho) para a detecção de ácidos nucleicos de protozoários da família Sarcocystidae em fezes de quirópteros. 2019-2022.

A associação entre as variáveis e a presença de DNA de protozoários da família Sarcocystidae não foi significativa.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

Houve a detecção de DNA de protozoários da família Sarcocystidae em amostras de fezes de quirópteros capturados em municípios dos estados da Bahia.

### REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, P.H.A. Avaliação da presença de *Achatina fulica* em Feira de Santana, Bahia, e estudo de parasitos associados. Dissertação (Mestrado em Zoologia, Universidade Estadual de Feira de Santana). 2014.111p.
- BRETT A Morcego em áreas urbanas e rurais: manual de manejo e controle. Brasília: Fundação Nacional de Saúde. 1996. 117p.
- 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 Database and Statistics Program for Public Health Professionals. CDC, Atlanta, GA, USA, 2011.
- LOCCUS. Guia rápido extração de tecido (MTTD-PU16-B/W). Cotia: Loccus do Brasil LTDA sd. 3p
- REIS NR et al. Morcegos do Brasil. Londrina. 2007. 253p.
- YALDEN DW, MORRIS PA. The lives of bats. London: Red Wood Burn. 1975. 247p.