

## ACHADO DE HEMOCITOZOÁRIOS EM MORCEGOS DE PORTUGAL

P. ABRANCHES (1) e C. MAGALHÃES (2)

### RESUMO

Examinando morcegos cavernícolas de Olhos de Água, Santarém, achámos, num *Miniopterus schreibersii*, um hemoproteídeo que identificámos como *Polychromophilus melanipherus*. Noutro espécime de *M. schreibersii* encontrámos *Polychromophilus murinus* e *Babesia vesperuginis*. Um *Rhinolophus ferrumequinum* albergava *Grahamella* sp.. Noutra localidade, Tapada de Mafra, encontrámos *Babesia vesperuginis* num *Pipistrellus pipistrellus*. Nenhum tripanosoma foi observado. Este é o primeiro relato da presença de parasitas endoeritrocitários em morcegos de Portugal.

### INTRODUÇÃO

A primeira referência à presença de hemoparasitas em morcegos de Portugal data de há mais de setenta anos, quando BETTENCOURT & FRANÇA, em 1905<sup>(1,2)</sup>, assinalaram o *Trypanosoma dionisii* no sangue de três espécies de quirópteros locais.

Desde então não nos consta que tenham sido reencontrados esse ou outros hemoparasitas em quirópteros deste país. Com a presente nota regista-se, pela primeira vez, o achado de parasitas endoeritrocitários em morcegos portugueses.

### MATERIAL E MÉTODOS

Efetuaram-se três colheitas, as duas primeiras nas grutas de Olhos de Água, Alcanena, a cerca de 120 km de Lisboa e a última num dos edifícios do Celebredo, Tapada Nacional de Mafra, a 40 km, aproximadamente, de Lisboa.

As grutas de Olhos de Água, bastante conhecidas do público, são formações calcáreas com numerosas cavernas e chaminés ao longo do rio Amiais. No passado, quando os acessos eram maus, as colónias de morcegos eram, provavelmente, de grandes dimensões a ponto

de os habitantes da localidade colherem os dejectos para adubarem os campos.

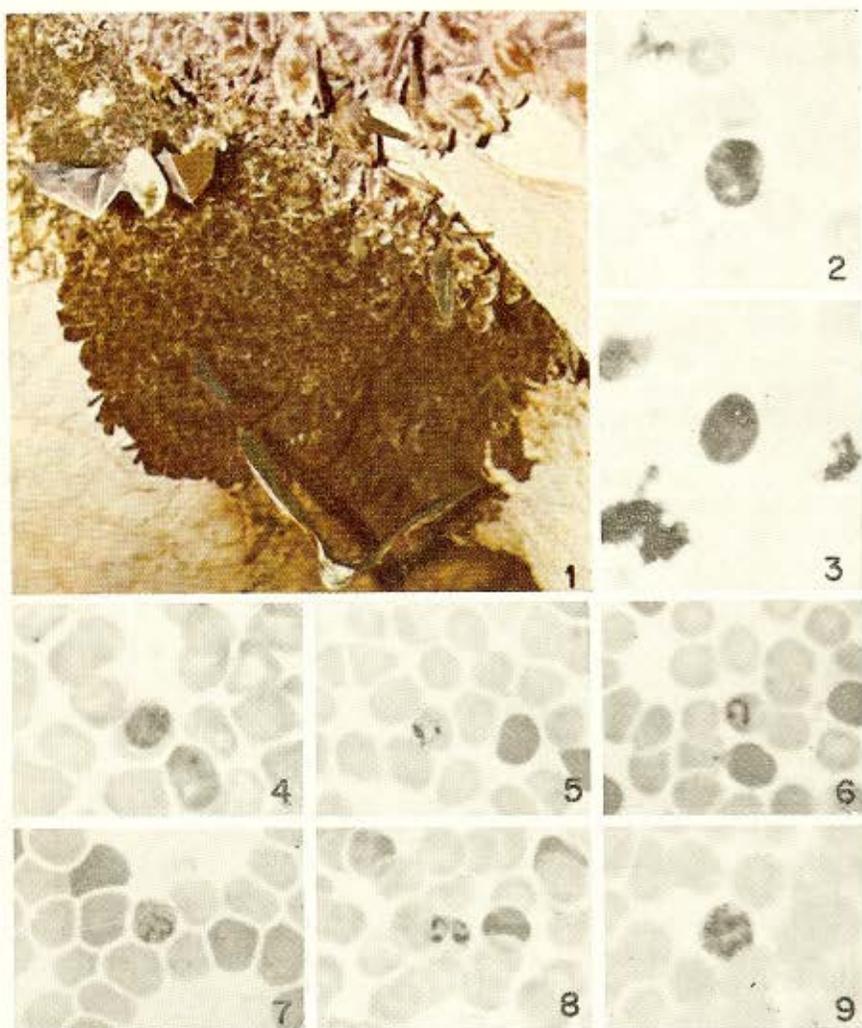
Na primavera de 1975, com um grupo de alunos da Cadeira de Ecologia da Faculdade de Ciências de Lisboa, um de nós detectou uma colónia de *Myotis myotis* numa das grutas, de acesso relativamente fácil por ser bastante perto da entrada.

Em 8 de maio de 1976 realizamos outra excursão, igualmente no âmbito do curso atrás mencionado sem todavia termos detectado a colónia do ano anterior. Percorrendo várias outras entradas, observando sempre escassos animais a voar, conseguimos capturar duas espécies do género *Rhinolophus* (dois animais). Encontrámos ainda um terceiro, mumificado, também do mesmo género. Esta colheita efectuou-se numa pequena gruta com altura média de 0,70 metros.

Posteriormente, em 22 de maio, detectamos na gruta do ano anterior, mas muito mais para o interior, a colónia grande. Capturamos os animais com um camaroeiro improvisado e ainda, ao anoitecer, tapando a entrada da gruta com uma rede de nylon de malha fina, com 5 x 5 m, aproximadamente, utilizada vulgarmente na pesca, onde os animais se emaranharam. Recolhemos exemplares de três gê-

(1) Disciplina de Protozoologia, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Rua da Junqueira 96, Lisboa, Portugal

(2) Museu Bocage, Faculdade de Ciências de Lisboa, Rua da Escola Politécnica, Lisboa, Portugal



- Fig. 1 — Colônia de morcegos, *Myotis myotis* e *Miniopterus schreibersii*, numa caverna do sítio Olhos de Água (Fot. J. Palmeirim).
- Figs. 2 e 3 — Hemoproteídeo identificado como *Polychromophilus melanipherus* no sangue de um morcego *Miniopterus schreibersii* de cavernas do sítio Olhos de Água.
- Fig. 4 — Parasita endoeritrocitário identificado como *Polychromophilus murinus* encontrado num morcego *Miniopterus schreibersii* capturado em Olhos de Água.
- Figs. 5, 6, 7, 8 — Diversas formas do parasita endoeritrocitário identificado como *Babesia vesperuginis* no sangue de um *Pipistrellus pipistrellus* capturado na Tapada Nacional de Mafra.
- Fig. 9 — *Grahamella* sp. no sangue de um *Rhinolophus ferrumequinum* de Olhos de Água.

neros: *Rhinolophus*, *Myotis* e *Miniopterus*. Uma parte dos morcegos assim capturados foi marcada com anilhas de passeriformes e libertada para estudos posteriores; os outros foram recolhidos numa pequena galola e transportados para o laboratório.

A colônia (Fig. 1) era constituída de indivíduos das espécies *Myotis myotis* e *Miniopterus schreibersii*. Verificamos a existência de fêmeas grávidas e de juvenis.

Em 12 de junho, numa deslocação à Tapada de Mafra, detectamos, no telhado dos

edifícios da Administração, uma pequena colônia de fêmeas e juvenis da espécie **Pipistrellus pipistrellus**. Os animais estavam alojados no intervalo das telhas que tiveram de ser deslocadas para os apanharmos. Obtiveram-se assim duas fêmeas que foram transportadas para o Laboratório. Dois dias depois, a 14 de junho, observamos dois juvenis recém-nascidos na jaula. Esta espécie, segundo TOSCHI<sup>7</sup>, apresenta com alguma frequência gêmeos, mas como não tivemos possibilidades de observar o útero de qualquer das fêmeas, nada podemos concluir deste caso.

Os dois primeiros morcegos capturados em Olhos de Água foram mortos e autopsiados **in loco** no próprio dia da captura, todos os outros foram sacrificados dois dias depois da captura

e autopsiados no Laboratório. De todos esses quirópteros colhemos sangue cardíaco com o qual se prepararam gotas espessas e esfregaços finos e retiramos o coração, o baço, o fígado e um fragmento do intestino delgado, preparando impressões dos três primeiros e conservando um fragmento de cada em formol a 10%, para cortes histológicos. As preparações de sangue (esfregaços) e das vísceras foram fixadas em álcool metílico e coradas juntamente com as gotas espessas, pelo soluto de Giemsa a 5% em água destilada com pH 7,2 - 7,4.

### RESULTADOS

Para a identificação dos morcegos utilizamos as chaves de M. M. GAMA<sup>4</sup>, encontrando as seguintes espécies:

Espécie	Olhos de Água	Tapada de Mafra
<b>Rhinolopus ferrumequinum obscurus</b> Cabrera	1	—
<b>Rhinolophus hipposiderus minimus</b> (Heuglin)	1	—
<b>Miniopterus schreibersii</b> (Natterer)	5	—
<b>Myotis myotis</b> (Borkhausen)	3	—
<b>Pipistrellus pipistrellus</b> (Schreber)	—	2

Não achámos tripanosomas em nenhuma das preparações.

Nos esfregaços de sangue de um **Miniopterus schreibersii** encontramos alguns eritrócitos muito aumentados, contendo parasitas (Figs. 2 e 3) que os ocupavam inteiramente ou quase, arredondados ou, mais frequentemente, elipsóides, de citoplasma corado de azul, muito intensamente em alguns exemplares, menos intensamente noutros, os primeiros tendo núcleo compacto e os outros frouxo, em todos se vendo abundante pigmento formado por grânulos ou curtos bastonetes grosseiros, de cor pardo escura ou negra. Não achamos formas pequenas ou em divisão. Interpretámos por isso os parasitas como gametócitos de um hemoproteídeo cuja identificação discutiremos adiante.

Nas preparações de sangue de outro morcego, também da espécie **Miniopterus schreibersii**, evidenciamos numerosos parasitas intraeritrocitários (Fig. 4), porém menores que

os precedentes, ocupando apenas entre um terço e dois terços das hemácias continentais, sendo estas de tamanho normal. Os parasitas eram arredondados ou levemente elipsóides, de citoplasma azul pálido e núcleo vermelho, periférico, alongado, fragmentado ou não; em nenhum caso discernimos pigmento bem definido, embora na maioria dos parasitas houvesse porções de citoplasma com tonalidade acastanhada muito pálida, parecendo ser devida a finos grânulos; outras formas, sem pigmento, mostravam grande vacúolo que ocupava quase todo o parasita. Adiante discutiremos a sua identificação.

No sangue de um terceiro morcego, um **Pipistrellus pipistrellus** vimos, no interior de eritrócitos de tamanho normal, parasitas pequenos, arredondados ou de contorno irregular, com um vacúolo bem definido, num caso dois no mesmo glóbulo (Figs. 5, 6, 7 e 8).

Finalmente, nos esfregaços finos de sangue de um outro morcego, um **Rhinolophus ferrumequinum** encontramos raros eritrócitos

contendo bastonetes escuros que identificámos como *Grahamella* sp. (Fig. 9).

Nenhum parasita foi observado nas preparações das vísceras de qualquer dos morcegos.

### DISCUSSÃO

Surpreendeu-nos o não termos encontrado tripanosomas nos quirópteros uma vez que sabemos que tais parasitas são achados com frequência nesses animais, em vários continentes, inclusive na Europa. Em Portugal já foram evidenciados, conforme referimos, por BETTENCOURT & FRANÇA (1,2), que os viram em 2 de 9 *Vesperugo pipistrellus*, 1 de 4 *V. serotinus* e 3 de 14 *Vespertilio nattereri*, ao todo em 6 de 36 morcegos (\*).

Quanto a hemocitozoários, quirópteros de outros países já foram encontrados parasitados por duas espécies de *Plasmodium* — *P. rousssetti* e *P. voltaicum*, ambas em África, e por hemoproteídeos que têm sido incluídos em três gêneros<sup>5</sup>, *Hepatocystis*, *Nycteria* e *Polychromophilus*. Os gametócitos, únicas formas presentes no sangue, são muito parecidos em quase todas as espécies, fazendo-se a distinção pelas formas esquizogónicas exoeritrocíticas: em *Hepatocystis* e *Nycteria* tais formas encontram-se nos hepatócitos e em *Polychromophilus* nos histiócitos de várias vísceras. Por outro lado, enquanto que nos *Hepatocystis* as formas exo-eritrocíticas são tão grandes que chegam a ser visíveis a olho nú, nos *Nycteria* são microscópicas. As duas espécies de *Hepatocystis* de morcegos — *H. epomophori* e *H. pteropi* — só foram assinaladas em África, o mesmo se dando com as duas de *Nycteria* — *N. congolensis* e *N. medusififormis*, esta última sendo facilmente diagnosticável porque as hemácias continentais têm expansões filiformes, responsáveis pelo nome da espécie. Das espécies de *Polychromophilus*, duas — *P. murinus* e *P. melanipherus* — são de quirópteros europeus e a terceira, *P. deanei*<sup>6</sup>, só foi assinalada em morcegos americanos.

No Quadro I apresentamos um resumo dos resultados do exame dos morcegos referidos nesta nota.

O hemocitozoário que encontramos no primeiro *Miniopterus schreibersii* é evidentemente um hemoproteídeo, pois que apenas se encontraram gametócitos nos eritrócitos; por ou-

### QUADRO I

Hemocitozoários encontrados em morcegos de Portugal

Espécie de morcego	Examinados	<i>Polychromophilus melanipherus</i>	<i>Polychromophilus murinus</i>	<i>Babesia vesperuginis</i>	<i>Grahamella</i> sp.
<i>Rhinolophus ferrumequinum</i>	1	—	—	—	1
<i>Rhinolophus hipposiderus minimus</i>	1	—	—	—	—
<i>Miniopterus schreibersii</i>	5	1	1	1	—
<i>Myotis myotis</i>	3	—	—	—	—
<i>Pipistrellus pipistrellus</i>	2	—	—	1	—
TOTAL	12	1	1	2	1

tro lado, não achamos no fígado os elementos macroscópicos correspondentes aos esquizontes de *Hepatocystis* dos morcegos africanos, enquanto que pelo aspecto das hemácias, excluimos o diagnóstico de *Nycteria medusififormis*, gênero também africano.

Supomos assim tratar-se de um *Polychromophilus*, gênero ao qual pertencem as espécies conhecidas de hemoproteídeos de morcegos europeus. Os parasitas que evidenciamos no primeiro *Miniopterus schreibersii*, tanto pelo seu grande tamanho, como pela hipertrofia das hemácias continentais, pela abundância e cor do seu pigmento, coincidem com as descrições do *Polychromophilus melanipherus* Dionisi, 1899 (3), espécie à qual são aqui provisoriamente identificados.

Quanto aos hemocitozoários encontrados no segundo *Miniopterus schreibersii*, temos dúvidas quanto ao seu diagnóstico. Pensamos tratar-se de uma infecção mista por *Polychromophilus murinus* e *Babesia vesperuginis*.

(\*) Segundo a sinonímia indicada por M. M. GAMA<sup>4</sup>, *Vespertilio nattereri* Kuhl é a espécie *Myotis nattereri* (Kuhl). Quanto às espécies *Vesperugo pipistrellus* K. & B. e *V. serotinus* K. & B., não nos foi possível conhecer a atual nomenclatura, até porque no trabalho de BETTENCOURT & FRANÇA não é mencionada a obra utilizada na determinação específica. Todavia admitimos que *Vesperugo pipistrellus* é a atual espécie *Pipistrellus pipistrellus*.

Quanto a esta última espécie, por poder confundir-se com formas imaturas da primeira, enviamos uma das preparações ao prof. P.C.C. Garnham que foi da opinião de que se tratava de um piroplasmídeo.

O aspecto do parasita evidenciado no *Pipistrellus pipistrellus* levou-nos a diagnosticá-lo como *Babesia vesperuginis*.

Finalmente, assinalamos, pela primeira vez, a presença de *Grahamella* em morcegos portugueses, com o achado deste parasita num espécime de *Rhinolophus ferrumequinum*.

### SUMMARY

#### Hemocytozoa in bats from Portugal

Examining cavernicolous bats from Olhos de Água, near Santarém, Portugal, we found one *Miniopterus schreibersii* infected with a hemoproteid tentatively identified as *Polychromophilus melanipherus*; another bat of the same species was parasitized by *Polychromophilus murinus* and a *Babesia vesperuginis*; one *Rhinolophus ferrumequinum* harboured *Grahamella* sp.. In another locality, Tapada de Mafra, a *Babesia vesperuginis* was detected in a *Pipistrellus pipistrellus*.

No trypanosomes were found on any of the bats.

This is the first record of the presence of endoerythrocytic parasites in bats from Portugal.

### AGRADECIMENTOS

Os Autores agradecem aos Professores P. C. C. Garnham e Leonidas M. Deane a sua ajuda na elaboração deste trabalho.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BETTENCOURT, A. & FRANÇA, C. — Sur un Trypanosome de la chauve-souris. *Compt. Rend. Séances Soc. Biol.* 59: 305-307, 1905.
2. BETTENCOURT, A. & FRANÇA, C. — Sur un Trypanosome de la chauve-souris. *Arch. R. Inst. Bact. Câmara Pestana* 1: 187-194, 1906.
3. DIONISI, A. — La malaria di alcune specie di pipistrelli. *Atti Società per gli Studi della Malaria* 1: 133-171, 1899. In GARNHAM (5).
4. GAMA, M. M. — *Mamíferos de Portugal* (chaves para a sua determinação). Portugal, Coimbra Ed. Ltda., 1957.
5. GARNHAM, P. C. C. — *Malaria Parasites and other Haemosporidia*. Oxford, Blackwell Sc. Pub., 1966.
6. GARNHAM, P. C. C.; LAINSON, R. & SHAW, J. J. — A contribution to the study of the haematozoan parasites of bats. A new mammalian haemoproteid, *Polychromophilus deanei* n. sp. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 69: 119-125, 1971.
7. TOSCHI, A. & LANZA, B. — *Fauna d'Italia — Mammalia generalita: Insectivora — Chiroptera*. Italia, Ed. Calderini Bologna, 1959.

Recebido para publicação em 9/3/1977.