



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DO AMBIENTE**

**WELLINGTON RODRIGUES FRAGA**

**MORCEGOS (QUIRÓPTEROS) E SUA PARTICIPAÇÃO NO  
PROCESSO EPIDEMIOLÓGICO DA HISTOPLASMOSE NO CENTRO  
DE PESQUISA CANGUÇU, PIUM-TO, BRASIL**

**PALMAS – TO  
2017**

**WELLINGTON RODRIGUES FRAGA**

**MORCEGOS (QUIRÓPTEROS) E SUA PARTICIPAÇÃO NO  
PROCESSO EPIDEMIOLÓGICO DA HISTOPLASMOSE NO CENTRO  
DE PESQUISA CANGUÇU, PIUM-TO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Mestrado Acadêmico em Ciências do  
Ambiente da Universidade Federal do  
Tocantins para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Aparecido Osdimir Bertolin

PALMAS – TO  
2017

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

F811m Fraga, Wellington Rodrigues .

Morcegos (quirópteros) e sua participação no processo epidemiológico da histoplasrose no Centro de Pesquisa Canguçu, Pium-TO, Brasil. / Wellington Rodrigues Fraga. – Palmas, TO, 2017.

62 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de PósGraduação (Mestrado) em Ciências do Ambiente, 2017.

Orientador: Aparecido Osdimir Bertolin

1. Biodiversidade. 2. Quirópteros. 3. Histoplasrose. 4. Centro de Pesquisa Canguçu. I. Título

**CDD 628**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

## Termo de Aprovação

Wellington Rodrigues Fraga

### **MORCEGOS (QUIRÓPTEROS) E SUA PARTICIPAÇÃO NO PROCESSO EPIDEMIOLÓGICO DA HISTOPLASMOSE NO CENTRO DE PESQUISA CANGUÇU, PIUM-TO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Aparecido Osdimir Bertolin

Aprovado em: 16/08/2017

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Orientador: Dr. Aparecido Osdimir Bertolin  
Universidade Federal do Tocantins

---

Prof.ª Dr.ª Elineide Eugênio Marques  
Examinador Interno  
Instituição: Universidade Federal do Tocantins

---

Prof. Dr. Luis Eduardo Bovolato  
Examinador Externo  
Instituição: Universidade Federal do Tocantins

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a meus queridos pais,  
Adelaídes e Mariana, pela luta, amor e carinho  
de uma vida toda”.*

## **Agradecimentos**

Primeiramente a Deus pelo dom da vida, conhecimento e sabedoria.

Ao Dr. Aparecido O. Bertolin por sua competência, paciência e amizade.

De forma especial ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências do Ambiente da Universidade Federal do Tocantins.

Ao Sr. Manoel Nivaldo dos Santos e a Sr.<sup>a</sup> Maria Alves da Silva pelo carinho e pelas palavras de incentivo.

À Sr.<sup>a</sup> Maria das Graças e o Sr. Angelino pelo acolhimento em tantos momentos e pelo carinho.

Às minhas tias Esmeralda, Sebastiana, Maria e Leila pelas incessantes palavras de incentivo em minha carreira acadêmica.

À mestrandia Maria de Lourdes Macedo pelo imenso carinho e incentivo.

À mestra Patrícia Siqueira de Melo Rodrigues pela dedicação e compromisso.

Aos técnicos e colaboradores Izabel, Alexandre, Lourrana e Iolanda.

Aos colegas do programa que trilharam comigo nesta jornada.

À minha família que de sempre me apoiou e em especial Eliane e Ione.

Ao apoio recebido nesta jornada a Rosaína Aparecida de Souza.

Aos amigos Cleiton, Raquel, Vânia, Silma, André, Marília, Vanessa, Tércio Fernandes, Mário, Rogério, Jeferson, Iolanda, Renato e Valdete.

De forma especial às raízes que se desenvolveram e frutificaram em amor Luisa e Vívien.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram na minha formação profissional e humana.

## EPÍGRAFE

*“Cada dia que amanhece assemelha-se a uma página em branco,  
na qual gravamos os nossos pensamentos, ações e atitudes.  
Na essência, cada dia é a preparação de nosso próprio amanhã”.*

**Francisco Cândido Xavier**

## RESUMO

FRAGA, W.R. (2017). **Morcegos (quirópteros) e sua participação no processo epidemiológico da histoplasmose no Centro de Pesquisa Canguçu, Pium-TO, Brasil.** Dissertação (Mestrado) Ciências do Ambiente, Universidade Federal do Tocantins.

A histoplasmose é uma micose sistêmica que pode se apresentar desde uma infecção assintomática até a forma disseminada, potencialmente fatal. Causada pelo fungo dimórfico *Histoplasma capsulatum*, é tratada de forma transdisciplinar, sua epidemiologia se alicerça em quatro pilares: biológico, social, econômico e cultural. Essa abordagem permite compreender o complexo sistema de irradiação da doença nos mais diversos ambientes, sendo mais comum em países tropicais e subtropicais. O Centro de Pesquisa Canguçu (CPC) localiza-se no estado do Tocantins, no município de Pium em uma região de transição dos biomas Cerrado/Amazônia. O presente trabalho objetivou analisar a participação dos morcegos frugívoros no processo epidemiológico de disseminação do fungo *Histoplasma capsulatum* no Centro de Pesquisa Canguçu, utilizando técnicas de captura com redes de neblina “*mist nets*” e coleta de material biológico do tipo guano seco e fresco e o cultivo em laboratório das amostras em Ágar *Sabouraud* a fim de se determinar a presença do agente etiológico e as condições ambientais envolvidas na sua disseminação e infecção. Outro ponto relevante como foco do estudo foi o perfil climático da região e sua relação com as amostras das culturas obtidas em laboratório. Na área do Centro foi verificada a presença de esporos do fungo, assim também como no sistema gastrointestinal dos morcegos da espécie *Carollia perspicillata*, sendo positivada quinze por cento das culturas das amostras do guano seco e fresco, demonstrando a necessidade de cuidado redobrado com os frequentadores do Centro, em especial às pessoas imunocomprometidas.

**Palavras-chave:** Fungos. Ecótono. Epidemiologia. Dimórfico.

## **ABSTRACT**

FRAGA, W.R. (2017). **Bats (chiroptera) and their participation in the epidemiological process of histoplasmosis at the Canguçu Research Center, Pium-TO, Brazil.** Dissertation (Master degree) Environmental Sciences, Federal University of Tocantins.

Histoplasmosis is a systemic mycosis that can range from an asymptomatic infection to the disseminated, potentially fatal form. Caused by the dimorphic fungus *Histoplasma capsulatum*, it is treated in a transdisciplinary way, its epidemiology is based on four pillars: biological, social, economic and cultural. This approach allows to understand the complex system of irradiation of the disease in the most diverse environments, being more common in tropical and subtropical countries. The Canguçu Research Center (CPC) is located in the state of Tocantins, in the municipality of Pium in a transition region of the Cerrado / Amazon biomes. The objective of this work was to analyze the participation of frugivore bats in the epidemiological process of dissemination of the fungus *Histoplasma capsulatum* at the Canguçu Research Center, using mist nets and collection of dry and fresh guano type biological material. laboratory culture of the samples in Sabouraud Agar in order to determine the presence of the etiologic agent and the environmental conditions involved in its dissemination and infection. Another relevant point as the focus of the study was the climatic profile of the region and its relation with the samples of the cultures obtained in the laboratory. In the area of the Center, the presence of spores of the fungus was verified, as well as in the gastrointestinal system of the bats of the *Carollia perspicillata* species. Fifteen percent of the cultures of the dry and fresh guano samples were positivized, demonstrating the need for redoubled care with regulars of the Center, in particular to immunocompromised persons.

**Key words:** Fungi. Ecotone. Epidemiology. Dimorphic.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01.</b> Representação esquemática das estruturas do morcego .....	26
<b>Figura 02.</b> Mapa da localização do Centro de Pesquisa Canguçu .....	30
<b>Figura 03.</b> Mostra o Centro de Pesquisa Canguçu envolto por área de densa vegetação, próximo ao rio Javaés.....	32
<b>Figura 04.</b> Morcego descansando próximo aos laboratórios .....	34
<b>Figura 05.</b> Local de descanso do bando (refúgio) abaixo do piso dos alojamentos .	35
<b>Figura 06.</b> Animal numerado e fotografado após biometria.....	37
<b>Figura 07.</b> Purificação em tubo de ensaio do <i>Histoplasma capsulatum</i> .....	39
<b>Figura 08.</b> Macromorfologia das culturas das amostras de fezes secas coletadas no Centro de Pesquisa Canguçu.....	44

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Dados sobre percentual de umidade relativa do ar, índice de luminosidade e temperatura do ambiente no momento da coleta das amostras.....	40
--	----

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico1.** Comparação da variação do percentual de umidade relativa do ar, nos meses de abril e setembro .....41
- Gráfico 2.** Comparação da variação da temperatura nos meses de abril e setembro durante a coleta das amostras das fezes frescas .....42

## SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO .....	13
1.1 Histórico da histoplasmose .....	13
1.2 Características do <i>Histoplasma capsulatum</i> .....	15
1.3 Epidemiologia .....	18
1.4 Patogenia .....	20
1.5 Diagnóstico laboratorial .....	22
1.5.1 Diagnóstico Micológico .....	23
1.5.2 Diagnóstico Histopatológico.....	23
1.5.3 Diagnóstico sorológico.....	24
1.5.4 Prevenção e controle .....	25
1.6 Aspectos gerais dos Morcegos.....	25
1.7 Patogenias dos fungos em Morcegos .....	27
1.8 Relações Ecológicas entre morcegos e fungos.....	28
1.9 Papel ecológico e ambiental dos morcegos insetívoro e frugívoros .....	28
1.10 Centro de Pesquisa Canguçu.....	30
2.0 OBJETIVOS.....	33
2.1 Objetivo Geral.....	33
2.2 Objetivos Específicos .....	33
3.0 MATERIAIS E MÉTODOS .....	34
3.1 Coletas de Material para Detecção do <i>Histoplasma capsulatum</i> no Centro de Pesquisa de Canguçu .....	34
3.2 Captura dos Morcegos.....	36
3.3 Preparo do Cultivo das Amostras.....	37
3.4 Purificação das Amostras .....	38
3.5 Identificação Morfológica dos Fungos.....	39
4.0 RESULTADOS.....	40
4.1 Caracterização Epidemiológica Ambiental do Local Amostrado .....	40
4.2 Análise dos Espécimes Capturados.....	42
4.3 Crescimento das Culturas.....	43
4.4 Análise Morfológica.....	43

5.0 DISCUSSÃO .....	45
6.0 PROPOSIÇÕES CONCLUSIVAS.....	52
REFERÊNCIAS .....	53

## 1.0 INTRODUÇÃO

### 1.1 Histórico da histoplasmose

A histoplasmose é uma doença que foi descrita pela primeira vez por Samuel Darling, no Panamá, ele necropsiou três casos da doença, entre 1905 e 1906, dois dos quais provenientes da Ilha de Martinica no Caribe, onde hoje esta micose é reconhecidamente endêmica. Os doentes apresentavam um quadro sintomático de febre, anemia, hepatoesplenomegalia e leucopenia. Na análise do material, Darling encontrou numerosos corpos ovais e arredondados no interior de macrófagos alveolares. A doença descrita por este patologista era similar à leishmaniose visceral e, portanto, foi erroneamente considerada por ele ser causada por um protozoário encapsulado. O nome de *Histoplasma capsulatum* foi dado devido à presença nos histiócitos e de uma aparente capa circundante (GOODWIN, 1978).

Em 1912, o médico infectologista e patologista brasileiro Henrique da Rocha Lima analisando as lâminas dos casos de Darling concluiu que a patogenicidade causada pelo microrganismo era de natureza fúngica e não protista como afirmara Darling (ROCHA LIMA, 1912). Somente 22 anos depois, em 1934 o Dr. William DeMonbreun na época professor assistente no Departamento de Patologia da Vanderbilt University, Tennessee-EUA, reconheceu dimorfismo térmico do fungo *Histoplasma capsulatum*, através do cultivo e da infecção experimental em animais de laboratório (FERREIRA e BORGES, 2009).

O micologista Emmons (1949) realizou o primeiro isolamento do histoplasma a partir de amostras coletadas de tocas de ratos. Esse trabalho permitiu a ele relacionar o habitat com o fungo. Além deste trabalho, ele também estudou famílias do meio rural cujas dependências das casas possuíam acúmulo de guano de morcegos, o que possivelmente era a fonte de contaminação da histoplasmose (EMMONS, 1949)

Várias epidemias de histoplasmose ocorreram a partir de 1947, mostrando que os excrementos de pássaros e morcegos era a principal fonte de contaminação (ZEIDBERG *et al.*, 1952; GOODWIN *et al.*, 1981)

A doença é de ampla distribuição geográfica, com casos registrados na Europa e na Ásia, mas com grande frequência na África e nas Américas, estando a América do Norte com a maior região endêmica. No Brasil, ela acomete principalmente as regiões sudeste e centro-oeste do país (MARTINS *et al.*, 2005).

Durante dois anos, pesquisadores capturaram 21 espécies de morcegos de forma periódica em diversos locais como edifícios, cavernas e sótão de residências, além de outros ambientes. Os pesquisadores perceberam diferentes taxas de infecção por histoplasmose, entre colônias da mesma espécie, diferentes taxas de infecção no mesmo abrigo, com espécies diferentes e diferentes taxas no mesmo abrigo em períodos diferentes (SHACKLETTE *et al.*, 1969).

A histoplasmose apresenta maior prevalência nas zonas tropicais e temperadas e isso demonstra a influência do clima sobre sua distribuição. Na América do Norte, particularmente nas regiões pertencentes às bacias hidrográficas dos rios Missouri, Ohio e Mississipi, foram realizados testes em larga escala com adultos jovens de reatividade cutânea à histoplasmina, onde a positividade dos ensaios chegou a 90% e nas áreas endêmicas mais de 80% das pessoas foram infectadas. Essa prova cutânea é um método simples e eficaz para reconhecer infecções passadas, assintomáticas e subclínicas, estabelecendo a endemicidade de uma região (KAUFMAN, 2007).

Na América Latina, as áreas mais prevalentes estão na Venezuela, Equador, Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina. No Brasil, as áreas endêmicas estão localizadas nas regiões centro-oeste e sudeste do país, onde a prevalência varia de 4,4 a 63,1% e de 3,0 a 93,2%, respectivamente. Geralmente, as condições ambientais presentes em áreas de alta endemicidade são clima moderado com umidade constante (ZANCOPE-OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Nos anos de 1980 a 1990, com o advento da AIDS, centenas de casos de histoplasmose, em particular na forma disseminada, foram observados entre os portadores desta síndrome, passando a ter esta micose um lugar de destaque entre as doenças fúngicas vistas em nosso meio. Epidemias de histoplasmose aguda têm ocorrido em áreas endêmicas e não endêmicas após a exposição a ambientes contaminados com o fungo, particularmente cavernas onde habitam morcegos, galinheiros, telhados de casas abandonadas, além de outros ambientes. Estes surtos já foram observados no Brasil nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Mato Grosso e Minas Gerais (FERREIRA e BORGES, 2009).

### **1.2 Características do *Histoplasma capsulatum***

O *Histoplasma capsulatum* é um fungo heterótrofo, eucarioto, aclorofilado, possui digestão extracorpórea e pertence ao reino fungi. Apresenta dimorfismo térmico e é encontrado em solos ácidos e úmidos, ricos em compostos nitrogenados. Pode apresentar três variações: *H. capsulatum* var. *capsulatum*, *H. capsulatum* var. *duboisii* e *H. capsulatum* var. *farciminosum*. Sendo as variedades *capsulatum* e *duboisii* patogênicas aos humanos (LACAZ *et al.*, 1998).

Na temperatura de 25 a 27°C ele se encontra na fase miceliana, sendo saprofítico nesta fase, possui forma filamentosa, com hifas produtoras de microconídios e macroconídios esféricos e tuberculados. A forma infectante ocorre quando o fungo é cultivado entre 35 e 37°C, nesta temperatura apresenta-se leveduriforme, arredondado e unibrotante, com 2 a 4 µm de diâmetro (AIDE, 2009).

O cultivo do fungo pode ser feito em ágar Sabouraud à temperatura ambiente, onde o micélio formará uma colônia branca aveludada, contendo microconídios e macroconídios tuberculados. O micélio é hialino, ramificado e septado com 2 a 4µ de diâmetro e os microconídios são piriformes e de parede lisa, medindo de 2 a 5µ. Outros meios de culturas também podem ser utilizados para as culturas como o ágar batata-glicosado, lactrimel de Borelli ou no ágar extrato de terra. Quando o fungo é cultivado à temperatura de 37°C, as leveduras são pequenas (3 a 5µ de diâmetro), ovaladas e frequentemente apresentam gemulação única (FERREIRA e BORGES, 2009).

O dimorfismo térmico constitui um dos principais mecanismos de virulência do *H. capsulatum*, o qual possui muitos outros mecanismos que permitem seu crescimento em condições adversas na relação com seu hospedeiro, facilitando seu desenvolvimento em condições parasitárias. Estes mecanismos permitem ao fungo uma adesão fúngica, colonização, disseminação para viver em ambientes hostis e driblar a resposta imunitária do organismo (KUROKAWA *et al.*, 1998).

A transição morfológica da fase miceliana para a forma leveduriforme só é possível graças à presença de genes que codificam essa transformação. Os genes não são responsáveis somente por essa transição, mas também por diversos outros fatores que permitem sua virulência e conseqüentemente sua sobrevivência (HOLBROOK e RAPPLEYE, 2008). Outro fator preponderante é a condição virulenta, pois células com baixa taxa de virulência necessitam de maior tempo de resposta às condições do ambiente. As que possuem uma alta taxa de virulência possuem resposta mais rápida e maior resistência a mudanças drásticas de temperatura (MEDOFF *et al.*, 1986).

O habitat deste patógeno é o solo contendo fezes de aves e morcegos que são ricos em compostos nitrogenados, e servem como um bom meio de crescimento para o organismo, podendo persistir no ambiente após a contaminação por longos períodos de tempo. As aves não albergam o fungo devido à alta temperatura corporal, mas os morcegos podem ser portadores crônicos, excretando formas viáveis em suas fezes (FERREIRA *et al.*, 2009).

Shacklette *et al.*(1962), relataram o primeiro isolamento do *H. capsulatum* a partir do fígado e baço dos morcegos insetívoros na região do Panamá. No estudo os autores sugeriram que a associação do *H. capsulatum* com as fezes dos morcegos poderia ser um indicativo que esses animais atuariam como reservatório. A produção de anticorpos específicos no sangue do paciente leva à cura da infecção primária e torna os indivíduos resistentes a novas infecções.

Os esporos do *Histoplasma capsulatum* são absorvidos para os pulmões, onde se desenvolvem gerando formas de leveduras, as quais

são fagocitadas por macrófagos e neutrófilos, no interior dos quais sobrevivem e se multiplicam. Na maioria das vezes, as infecções são assintomáticas e não causam problemas. Os sintomas da infecção pulmonar em humanos são os típicos de pneumonia, como febre, tosse com expectoração e tremores. Como acontece com todos os parasitas intracelulares, surgem granulomas que visam impedir a disseminação das leveduras, mas que também são destrutivos por si mesmos (WHEAT J.L e GUPTILL, 2011)

Nos indivíduos imunodeprimidos pode ocorrer aumento no tamanho dos linfonodos e infecções do fígado e do baço. Nestes casos, a doença pode tornar-se crônica, com febre, suores e mal-estar. Essa fungemia é assintomática e permite que o agente parasite todos os tecidos como pulmões, fígado, baço, linfonodos e estruturas linfáticas do tubo digestivo (PAYA *et al.*, 1987).

Klitter e Diercks (1965) constataram que morcegos da espécie *Carollia perspicillata* possuem comprimento intestinal em média de 20 cm, não apresentando intestino grosso, ceco e apêndice. Segundo McMurray e Greer (1979), o trato intestinal extremamente curto poderia eliminar o patógeno por esta via. A Histoplasmose não é transmitida de pessoa a pessoa, como também não existe contágio direto dos animais para o homem.

Segundo Kwon-Chung e Bennett (1992), locais onde existem elevadas concentrações de excretas desses animais podem dar origem a surtos epidêmicos ou microepidêmicos, que diferem em sua magnitude quando da exposição simultânea de pessoas ao agente infectante. Assim, áreas habitadas e/ou frequentadas pelos mesmos são consideradas fontes potenciais de infecção. Além disso, é importante considerar que a própria movimentação do solo por arraste de outros animais e correntes de ar formado pelo bater das asas dos morcegos ao alçarem vôo, deixam os esporos em suspensão no ar e proporcionam o transporte dos microconídios para locais distantes ou acabam por infectar indivíduos que estejam no local ou próximo a ele.

Segundo Julg *et al.* (2008), há a possibilidade de infecção por *Histoplasma capsulatum* na entrada de cavernas mesmo na ausência de morcegos. As aves não

apresentam infestação por histoplasmose devido sua alta temperatura corpórea, em torno de 41°C, porém podem carrear esporos em suas asas, bico e penas a locais distantes numa espécie de dispersão.

### **1.3 Epidemiologia**

A epidemiologia sempre adotou uma postura crítica frente às circunstâncias, agindo como hábil investigadora das situações problemas de saúde da sociedade, denominada de saúde coletiva (NÁJERA,1987). No trajeto de sua existência e busca de suas referências ela incorporou determinantes de diferentes ordens como a ambiental, social, biológica, econômica e cultural, oferecendo uma visão integrada do eixo saúde/doença, formando um complexo dinâmico e estratificado. Sobre essa ótica integradora ela acaba avançando no processo como de forma transdisciplinar.

Segundo Almeida Filho *et al.* (1997),os modelos teóricos da epidemiologia são meramente reducionistas, pois o objeto de conhecimento é reduzido a uma mera configuração de riscos, orientados por uma lógica de causalidade linear, sendo considerada a abordagem instrumental e mecanicista do processo de formação. A epidemiologia deve-se pautar na rica e complexa relação de matéria, forma e imaginário social da saúde-doença.

Segundo Adenis *et al.* (2014), as fontes epidêmicas da histoplasmose ocorrem por exposição a uma fonte comum com altas concentrações de conídios. Em geral essas concentrações estão ligadas às atividades laboral, recreativa e doméstica, como a limpeza de sótãos e forros de casas, pesquisa científica em cavernas, trabalhos em granjas, além de outras atividades. Estas epidemias ocorrem nos Estados Unidos, Venezuela, Brasil, Argentina e países da América Central e também em outros países e continentes.

Muitos casos de histoplasmose foram revelados ao longo do tempo desde a sua descoberta e a partir daí, foi traçado o perfil epidemiológico com base em dados da literatura de contaminação por histoplasmose e por reação sorológica à histoplasmina (MOCHI e EDWARDS, 1952; ALLEJO 1958). Apesar de sua abrangência em várias partes do mundo, os maiores números de contaminações

ocorreram nas Américas. O fato é que no pouco tempo transcorrido desde a descoberta do agente etiológico, patogênese, quadro clínico e até os testes de diagnósticos, se passaram cerca de 50 anos (SCHWARZ e BAUM, 1957).

Na Argentina, a área endêmica da histoplasmose abrange as províncias de Buenos Aires, Entre Rios, Córdoba, Santa Fé, La Pampa, Salta, Tucumán, Corrientes e centro de Chaco. Não há registro de casos nas cidades da região patagônica (CALANNI *et al.*, 2013).

Segundo Changet *al.*(2007), no Brasil existem várias áreas endêmicas de contaminação por *H. capsulatum*. Elas são relativamente comuns, podendo se constatar através da observação de casos clínicos autóctones, sejam em casos isolados ou sob a forma de microepidemias. Esta constatação é factível dado o acesso aos inquéritos epidemiológicos realizados através dos testes cutâneos que indicam apenas o contato cutâneo com o agente etiológico (FAVA NETTO *et al.*, 1976, ZANCOPE OLIVEIRA e WANKE, 1986).

No ano de 2007, na cidade de Areias no estado de São Paulo, um grupo de 35 pessoas visitou uma caverna habitada por morcegos, localizada a uma altitude de 580 metros acima do nível do mar e com temperatura ambiente de 25°C. Essa caverna já havia sido interditada pela vigilância epidemiológica após isolamento do *Histoplasma capsulatum*. Foram realizadas duas análises de infecção dos integrantes do grupo, a primeira 30 dias após a visita do grupo, onde 51% dos indivíduos apresentaram taxa de reação. No segundo exame, realizado após 60 dias, a taxa subiu para 100% de reatividade (VINCETINI-MOREIRA *et al.*, 2008).

O boletim eletrônico da Sociedade Brasileira de Espeleologia (SBE) ano 4 N° 143-21/12/2009, traz a notícia de contaminação por Histoplasmose da sócia do EGB (Espeleologia- Grupo de Brasília), Paula Ferraz, depois de participar de expedição a cavernas na região de Buritis-MG. O referido boletim ainda traz relato de outro membro que contraiu a doença em trabalho de estudo nas cavernas.

Segundo Peçanha Martins *et al.* (2000), no estado da Bahia houve um surto de histoplasmose envolvendo quatro membros de uma família, um adulto e três

crianças, após a exposição a fezes de morcegos relacionado à limpeza do forro da casa no qual os animais se abrigavam. O adulto foi a óbito.

Foi detectada a presença de microfocos no estado do Maranhão e Piauí (DEUS FILHO *et al.*, 2009). No estado do Ceará, um estudo realizado entre 1995 a 2004 com 378 pacientes soropositivo para o HIV, 44% dos pacientes apresentou infecção para a histoplasmose disseminada, além de uma alta taxa de mortalidade (DAHER *et al.*, 2007). Em estudo realizado por Brilhante *et al.* (2012), também no estado do Ceará entre 2006 a 2010 verificou-se 208 casos de histoplasmose em pacientes HIV soropositivo, caso preocupante visto que são pacientes imunocomprometidos.

Na zona rural de Brasília, foram avaliados 850 habitantes de idades que iam desde menos de um ano até pessoas com mais de cinquenta anos, aplicando-se o teste de reatividade à histoplasmina. Foram conferidos 826 testes, dos quais 184 foram positivos à reação, sendo 114 do sexo masculino e 70 do sexo feminino. No mesmo trabalho também foi realizado teste de contaminação nos morcegos. Foram analisadas suas vísceras e constatada a infecção (SCHIMITD *et al.*, 1967).

No Rio Grande do Sul um grupo de pesquisadores revisaram 212 prontuários clínicos de pacientes com histoplasmose dos arquivos do Laboratório de Micologia do Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre, num período de 25 anos (1977-2002). Foram identificados e incluídos no estudo, os casos de histoplasmose pulmonar aguda com cultivo positivo e/ou achado histopatológico compatível. Dezoito de um total de 212 pacientes (8,5%) foram incluídos no trabalho. A idade variou de 8 a 63 anos (média de 35,4; mediana de 34,5), e 67% eram do sexo masculino. A história epidemiológica foi sugestiva em 11 pacientes (61%). O tipo primário de histoplasmose pulmonar aguda foi o mais frequente (17; 95%), mas houve predomínio de casos isolados (UNIS G. *et al.*, 2005)

#### **1.4 Patogenia**

Uma série de fatores é preponderante no desenvolvimento da histoplasmose, dentre eles estão as condições de saúde do indivíduo ao ser

infectado, sua resposta imunitária, tempo de exposição e a quantidade de esporos inalados. Quando o indivíduo é submetido a uma infecção de baixa intensidade ela será assintomática ou pouco sintomática, em alguns casos pode até mesmo ser confundida com uma gripe. Mas em casos de infecção com alto grau de exposição, o indivíduo pode desenvolver lesões pulmonares que ocasionam a falência do sistema respiratório, levando o indivíduo à morte (AIDÉ, 2009).

O *Histoplasma capsulatum* é um microrganismo de alta capacidade de infecção, porém de baixa patogenicidade e virulência. A infecção ocorre pela inalação de microconídios pelo hospedeiro. Deposita-se em alvéolos e rapidamente se converte em uma forma de levedura parasitária nos tecidos devido à temperatura corpórea. Essa conversão ocorre no parênquima pulmonar onde uma série de mudanças genéticas, bioquímicas e físicas são sofridas pelo microrganismo ( DEEPE e SEDER, 1998).

A germinação e conversão podem ocorrer antes ou depois da ingestão por macrófagos pulmonares. Conídios e leveduras são ingeridos por macrófagos e células reticuloendoteliais onde o organismo pode sobreviver dentro de fagolisossomos (EISSENBURG *et al.*, 1988). Uma vez dentro do macrófago, a levedura se multiplica e viaja para os gânglios linfáticos hiliares e mediastinais onde obtêm acesso à circulação sanguínea para disseminação em vários órgãos (WOODS, 2002).

As condições adversas da relação com hospedeiro e seu mecanismo de virulência permite sua disseminação e a dependência da resposta imunitária permite sua infestação, indicando que fatores ambientais e genéticos controlam a manifestação da doença (ZANCOPE-OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Ao infectar os alvéolos pulmonares, o processo de fagocitose inicia-se através da ativação dos fagócitos e liberação de agentes químicos do tipo  $H_2O_2$  e  $NO^-$  que leva o fungo ao estresse oxidativo, esse stress pode danificar proteínas, DNA e lipídios causando a morte da célula invasora. Em processo de reprodução dentro dos macrófagos alveolares, o *H. capsulatum* libera catalases como mecanismo de escape (SCHNUR, 1990). As catalases desempenham papel importante contra os mecanismos oxidativos degradando  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ , atuando como fator de virulência e mecanismo de defesa contra os processos

oxidativos dos seus hospedeiros. Catalases produzidas de forma endógena podem proteger o fungo durante a fagocitose (HAMILTON *et al.*, 1990). Estima-se que o antígeno do *H. capsulatum* seja uma glicoproteína com atividade catalítica (JHONSON, 2002) que converteria compostos reativos intermediários do oxigênio em compostos inativos na célula (ZANCOPE-OLIVEIRA *et al.*, 1999).

Dias após a infecção as células produzem uma resposta imunológica como a produção de citocinas, que são produzidas durante a fase de ativação e fase efetora da imunidade para mediar e regular a resposta inflamatória e imunitária. As citocinas dependem da ligação com receptores específicos da membrana celular para desempenharem sua função. Normalmente, há a necessidade da ação de mais de uma citocina para uma resposta imune, por isso elas agem em conjunto, formando uma rede complexa, na qual a produção de uma citocina influenciará a produção ou resposta de outras (MACHADO *et al.*, 2004.)

As citocinas ativam os macrófagos que adquirem a capacidade de lisar as leveduras intracelulares. Esta resposta é responsável pela formação de granulomas epiteloïdes que isolam a inflamação e protegem o tecido contra o crescimento de patógenos, o que permite a cura primária e previne novas reinfecções (FERREIRA e BORGES, 2009).

O fungo *Histoplasma capsulatum* presente em animais silvestres e domésticos naturalmente infectados, tem sido utilizado como método complementar na determinação da distribuição geográfica da histoplasmose, indicando a existência de fontes comuns de infecção aos homens e animais em determinada região. Várias espécies de mamíferos pertencentes às ordens dos roedores, canídeos, felídeos, marsupiais e quirópteros são suscetíveis a esta infecção fúngica, mas somente os quirópteros parecem participar ativamente no ciclo epidemiológico desta micose sistêmica, porque são suscetíveis à infecção, podendo disseminar o fungo de um local a outro, além de adubarem os solos com suas fezes (HOFF e BIGLER, 1981).

### **1.5 Diagnóstico laboratorial**

A histoplasmose acomete inicialmente os pulmões e depois se alastra para os demais tecidos. Sua detecção é de difícil diagnóstico, pois apresenta sintomas

característicos de outras doenças, mas esse diagnóstico pode ser mais fácil em casos de microepidemias. Muitos sintomas acometem o indivíduo portador desta doença como: febre, tosse persistente, cefaléia, astenia, dor retroesternal e prostração intensa são freqüentes, sendo a palidez cutânea um sinal marcante. A percepção é difícil, pelo fato da doença passar despercebida por apresentar quadro clínico similar a outras doenças mais comuns. Para um diagnóstico mais preciso é necessário empregar dois exames micológicos concomitantemente o exame direto e o de cultura (SIDRIN e MOREIRA, 1999; SIDRIN e ROCHA, 2004).

### **1.5.1 Diagnóstico Micológico**

O diagnóstico micológico é um exame direto realizado com amostras biológicas coletadas diretamente do paciente como escarros, biópsias, líquor, medula óssea dentre outros. Neste exame são utilizadas técnicas de coloração como Giemsa e Grocott, onde o *H. capsulatum* é visualizado na forma de leveduras e como elementos arredondados e ovalados, dentro dos macrófagos. Nesta técnica o citoplasma adquire uma coloração azul claro e o núcleo fica com uma cor mais intensa (TRABULSI, 1998; UNIS G. *et al.*, 2004). O exame utilizando essa técnica é pouco preciso devido às pequenas dimensões o que torna muito difícil sua visualização (ROUSSINI e GOULART, 2006).

Os meios de cultura é o método mais eficaz no diagnóstico da histoplasmose. Para as culturas utiliza-se o Agar *Sabouraud* dextrose, ágar-batata, Mycosel contendo cloranfenicol ou cicloheximida, e ainda o BHI ágar infusão cérebro-coração. Quando cultivado a temperatura de 37°C, o fungo adquire a forma leveduriforme e a 25°C possui forma miceliar com aparência branca, algodonosa e desenvolvimento lento, com micélio aéreo que tendem a escurecer com o tempo (GUIMARÃES *et al.*, 2006)

### **1.5.2 Diagnóstico Histopatológico**

O diagnóstico histopatológico é realizado observando macrófagos parasitados com células leveduriformes. O corante utilizado nesse processo é o hematoxilina-eosina (HE), onde as leveduras aparecem como corpúsculos levemente basófilos, esféricos ou ovalados, circundados por um halo claro

delimitado por uma parede celular muito fina e hialina (ROUSSINI e GOULART, 2006). A prata metenaminagomori é considerada a melhor técnica de coloração, revelando um melhor contraste, facilitando a visualização do fungo e este corante cora células fúngicas refratárias (LEIMAN *et al.*, 2005)

### **1.5.3 Diagnóstico sorológico**

O diagnóstico sorológico consiste da aplicação de algumas técnicas de análise como a Reação de Fixação do Complemento (RFC), Imunodifusão Dupla (ID) e o Radioimunoensaio (RIA). A reação de fixação de complemento busca anticorpos contra o antígeno extraído da fase leveduriforme. Os resultados seguem o padrão das doenças micóticas, quanto mais infectado maior será o título da reação, sendo que instantes antes da morte o índice pode chegar à zero (CARVALHÃES, 1999). A imunodifusão dupla pesquisa anticorpos que resultam da reação com precipitinas específicas, sendo esta a técnica mais utilizada no mundo por ser de fácil e rápida execução e ainda mais específica que as outras provas (SIDRIN e ROCHA, 2004). O teste de Radioimunoensaio ou ELISA é o mais sensível para detecção de antígenos circulante do *H. capsulatum*, sendo detectado no soro ou na urina de pacientes com histoplasmose disseminada. Apesar de apresentar reações cruzadas com outras micoses, este teste é o mais recomendado para pacientes HIV soro positivo (BROOKS *et al.*, 2000)

Essas técnicas são importantes complementos no diagnóstico da histoplasmose, pois o exame histopatológico é demorado podendo levar até quatro semanas para conclusão. O emprego do exame histopatológico e sorológico confere maior credibilidade aos resultados em um espaço de tempo menor. Porém esses métodos possuem limitações ao se deparar com reações cruzadas com outros fungos causadores de micoses sistêmicas (KAUFFMAN, 2007; AIDÉ, 2009).

O teste cutâneo pode ser utilizado em investigações epidemiológicas ou para diagnósticos. Ele é realizado com aplicação de histoplasmina (filtrado de cultura de *Histoplasma capsulatum*) de forma intradérmica. Este teste é considerado rápido, sensível e confiável (GUIMARÃES *et al.*, 2006).

#### **1.5.4 Prevenção e controle**

A prevenção da doença é muito importante principalmente para os indivíduos imunossuprimidos que é mais susceptível a doença. Nos casos dos HIV soro positivo a doença apresenta um alto grau de comprometimento, sendo a terceira causa de óbito das micoses sistêmicas. Mesmo com o alto índice de infecção a grande maioria do infectados são capazes de combater a doença devido ao sistema imunológico não estar comprometido (KAUFMAN, 2007).

Os microconídios podem viajar a longas distâncias, carregados por correntes de ar e conseqüentemente infectar muitas pessoas através das vias respiratórias. Portanto, locais que albergam aves e morcegos precisam ser monitorados e limpos constantemente para não permitir o desenvolvimento dos esporos do fungo (DEUS FILHO *et al.*, 2009).

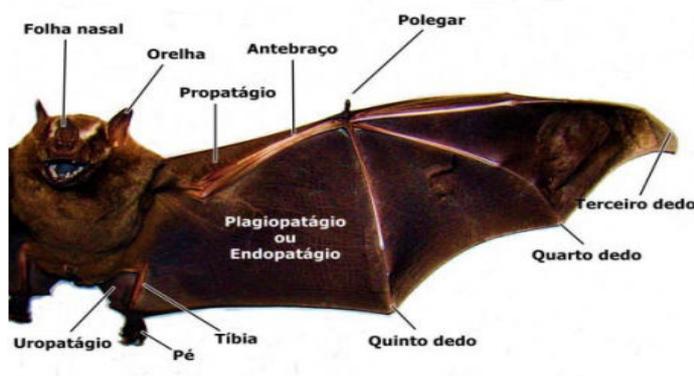
#### **1.6 Aspectos gerais dos Morcegos**

Os morcegos há tempos são alvos de lendas, por terem hábitos noturnos e possuir uma alimentação variada, assim como seu número de espécies. Segundo BIEDERMANN (1993), a simbologia associada a esses animais é variada, e as narrativas dos primeiros colonizadores, da existência de morcegos-vampiros sugadores de sangue na América do Sul, contribuíram para que os morcegos inofensivos também fossem vistos na Europa como seres assustadores. No Brasil não é diferente, a credence popular aumenta o mito do morcego como animal perigoso e rodeado de histórias fantasiosas.

Os morcegos são mamíferos pertencentes à ordem chiroptera (cher = mão; pteron = asa/ grego). Sua capacidade de voo autônomo e manobrável é característica única entre os mamíferos. Os morcegos apresentam membros anteriores adaptados com asas. O polegar é livre e os demais dedos e respectivos metacarpos dão sustentação à membrana que forma a superfície da asa. As membranas do voo incluem a propatágio entre o ombro e o antebraço, o dactilopatágio-conectando os metacarpos e as falanges, o plagiopatágio-membrana que conecta a asa com a lateral do corpo e o uropatágio ou membrana interfemural

entre as patas (SIMMONS, 2005). A (Fig.1) destaca a estrutura morfológica dos morcegos.

**Figura 1-** Representação esquemática das estruturas do morcego.



**Fonte:** Morcegos do Brasil, 2007.

São conhecidas no mundo pouco mais de 1000 espécies, sendo 174 registradas até o momento no Brasil. (REIS *et al.*, 2011; PAGLIA *et al.*, 2012). Tradicionalmente os Chiroptera são divididos em duas subordens, os Megachiroptera e os Microchiroptera. Duas hipóteses correntes de relacionamento filogenético podem ser destacadas, a primeira, que demonstra o polifiletismo da ordem, baseada em caracteres do sistema visual (PETTIGREW, 1986), relaciona os Megachiroptera aos Primatas, a segunda, baseada em dados morfológicos (SIMMONS, 1994; VAN DEN BUSSCHE *et al.*, 1998) e reforçada recentemente pelas informações genéticas (MURPHY *et al.*, 2001), demonstra o monofiletismo do grupo.

Algumas espécies de morcegos enxergam até dez vezes melhor que os seres humanos, no entanto, a imensa maioria vê o mundo em preto-e-branco. Os morcegos apresentam poucos cones na retina, o que não é exatamente um problema para um animal que tem hábitos noturnos. De fato, a visão dos morcegos é perfeitamente adaptada aos ambientes com pouca luminosidade. Além disso, eles contam com o mais sofisticado sistema para se orientar no escuro: a ecolocalização, um sistema que funciona como um biossonar. O morcego emite ondas sonoras em

frequências inaudíveis para o ser humano que, ao encontrar um obstáculo, retornam e são captadas por seu ouvido especial. Pelo sinal reverberado, o morcego consegue medir a que distância está o objeto, qual seu tamanho, velocidade e até detalhes de sua textura (REIS *et al.*, 2007).

Os morcegos habitam os mais diversos ambientes desde os selvagens até os urbanos, vivendo e convivendo com os humanos que invade seu habitat natural e o condiciona a esta situação, mas isso pode acarretar problemas à saúde humana devido à exposição a que são submetidos neste convívio. O guano dos morcegos é um composto rico em nitrogênio sendo utilizado por muitas comunidades como fertilizantes, mas também pode ser favorável ao crescimento e microrganismos como o fungo *Histoplasma capsulatum* (FERREIRA e MARTINS, 1999).

### **1.7 Patogenias dos fungos em Morcegos**

Em 2006, uma doença acometeu os morcegos do Estado de Nova York-Estados Unidos, quase dizimando sua população. A doença chamada de *white-nose syndrome* (síndrome do nariz branco) é causada pelo fungo *Geomyces destructans*. Segundo Frick *et al.* (2010. p.679), “os morcegos insetívoros foram os mais afetados pela síndrome, muitos deles alimentam-se de espécies que são pestes para a agricultura, jardins, florestas, e que algumas vezes incomodam e são um risco para a saúde humana”.

O fungo *Histoplasma capsulatum* presente em animais silvestres e domésticos naturalmente infectados, tem sido utilizado como método complementar na determinação da distribuição geográfica da histoplasmose, indicando a existência de fontes comuns de infecção aos homens e animais em determinada região. Várias espécies de mamíferos pertencentes às ordens dos roedores, canídeos, felídeos, marsupiais e quirópteros são suscetíveis a esta infecção fúngica, mas somente os quirópteros parecem participar ativamente no ciclo epidemiológico desta micose sistêmica, porque são suscetíveis à infecção, podendo disseminar o fungo de um local a outro, além de adubarem os solos com suas fezes (HOFF e BIGLER 1981).

A infecção, tanto para o ser humano quanto para os animais, se dá pela inalação do agente infeccioso, que, na natureza, existe principalmente em fezes de pombos. O simples contato com animais doentes não apresenta riscos, já que o microrganismo não forma aerossóis nos tecidos infectados. (ANGELO, 2000).

### **1.8 Relações Ecológicas entre morcegos e fungos**

Os processos ecológicos dependem direta ou indiretamente, dos seres vivos e de suas relações. A inter-relação dos seres vivos por meio da cadeia alimentar permite o fluxo de energia e matéria. A variabilidade de características genéticas permite a adaptação das formas de vida às mais diversas condições ambientais. As formações vegetais desempenham um papel essencial na manutenção do equilíbrio ecológico e climático do planeta, sendo que os benefícios da intensa atividade biológica que ocorre nas florestas permeiam as atividades em equilíbrio no ecossistema (KOESTLER, 1969).

Todas as interações entre populações provavelmente ocorrem em qualquer comunidade biótica de escala ampla, como uma grande extensão de floresta, área úmida ou campo. Algumas espécies dependem do seu tipo da interação, que pode mudar sob variantes ambientais em diversos aspectos ou durante sucessivos estágios desta relação (ODUM e BARRET, 2011).

O meio ambiente afeta os seres vivos não só pelo espaço necessário à sua sobrevivência e reprodução, mas também às suas funções e necessidades vitais, incluindo o seu comportamento, através do metabolismo. Por essa razão, o meio ambiente e a sua qualidade determinam o número de indivíduos e de espécies que podem viver no mesmo habitat. Por outro lado, a influência dos seres vivos também alteram permanentemente o meio ambiente em que vivem (BORDIGNON, 2006).

### **1.9 Papel ecológico e ambiental dos morcegos insetívoro e frugívoros**

Segundo Brosset *et al.* (1996), na Guiana Francesa, e Schulz *et al.* (2000), na Guatemala, os morcegos das regiões neotropicais perderam consideravelmente seu habitat, provocando uma reação de feedback que acaba interferindo no

ecossistema devido à diminuição no número de espécies e no tamanho de suas populações. Locais preservados ou praticamente sem nenhuma ação antrópica têm a capacidade de preservar o equilíbrio dinâmico das populações de morcegos e isso mantém um número de espécies de morcegos maior do que em áreas alteradas ou descaracterizadas (COSSON *et al.*, 1999; FENTON *et al.*, 1992; MEDELIN *et al.*, 2000; GORRESEN e WILLIG, 2004).

Segundo Bred *et al.* (1996), os morcegos frugívoros são cerca de 70% da população mundial de quirópteros, sendo assim o maior grupo de todos. Com alta capacidade de adaptação, habitam não somente áreas de matas e florestas como também urbanas devido ao fácil acesso a abrigos e à disponibilidade de insetos que encontram nestas áreas. É área farta de comida e com disponibilidade para procriação (RYDELL e RACEY, 1995).

Apesar da grande variedade de alimentos disponíveis, no Brasil mais de 50% das espécies são insetívoros. Já os frugívoros representam quase 30%. E os nectarívoros aproximadamente 15%. Os carnívoros, piscívoros e hematófagos juntos somam 5% das espécies restantes (TADDEI, 1996; ESBERARD *et al.*, 1999).

Os insetívoros e frugívoros utilizam o período noturno para sua atividade de forrageamento, visto que neste período a atividade dos insetos também é mais intensa. O pico pode ter variações entre as estações do ano, mas ocorre sempre no período noturno. Este fato também é observado em outras espécies de com dieta insetívora (KUNZ, 1973) ou frugívora (MARINHO-FILHO e SAZIMA, 1989).

Os morcegos insetívoros e frugívoros desempenham importante papel na agricultura de forma indireta. Os insetívoros auxiliam no controle populacional dos insetos alimentando-se de muitas espécies daninhas à agricultura. Estes morcegos necessitam de grande quantidade de energia para suprir seu metabolismo e para isso chegam a ingerir em uma noite o equivalente à quase duas vezes o peso do seu corpo (GODWIN e GREENHALL, 1961).

Os frugívoros atuam principalmente na dispersão de sementes. Estudos mostram que a capacidade de regeneração de uma área degradada está relacionada à

atividade alimentar destes morcegos. Em lugares de matas degradadas, os morcegos podem se alimentar de frutas destinadas ao comércio (WILSON, 1997). Alguns produtores alegam prejuízos com a atividade dos morcegos, mas pesquisadores afirmam que ele é mínimo ou quase nenhum (GREENHALL, 1956; 1966).

### 1.10 Centro de Pesquisa Canguçu

O Centro de Pesquisa Canguçu (CPC) está localizado no município de Pium, sudoeste do Estado do Tocantins, a 220 quilômetros de Palmas, entre duas importantes Unidades de Conservação: o Parque Nacional do Araguaia e o Parque Estadual do Cantão (**Fig. 2**). Foi criado e inaugurado em 05 de agosto de 1999 pelo Instituto Ecológica (ONG/Palmas). A construção da sede foi feita por meio do sistema de palafitas devido às enchentes sazonais, uma vez que se situa às margens do Rio Javaés, que circunda o lado leste da Ilha do Bananal.

**Figura 2** - Mapa da localização do Centro de Pesquisa Canguçu



Fonte: Google Earth, 2017

A área é caracterizada como região ecotonal por apresentar peculiaridades de cerrado e floresta amazônica. É uma região de elevado interesse científico, tecnológico, econômico e social (UFT, 1999).

O trabalho no Canguçu é conduzido em parceria com as instituições de pesquisa nacionais e internacionais que incluem o Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas da Universidade de São Paulo (IAG/USP), a Universidade Estadual do Tocantins (UNITINS), Universidade Luterana do Brasil (CEULP/ULBRA), Universidade Federal do Tocantins (UFT) e a Universidade de New Hampshire (UEA), entre outras (Fonte: [www.ecologica.org.br](http://www.ecologica.org.br)).

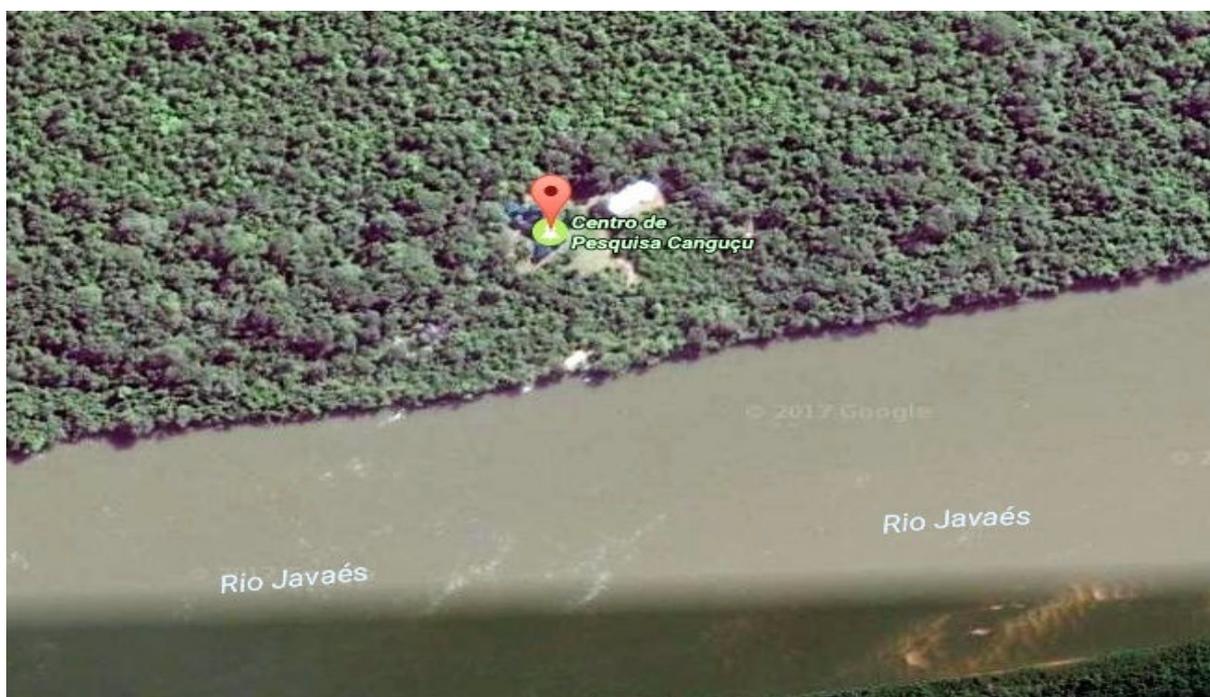
O centro de pesquisa Canguçu funciona como base logística para a pesquisa em diversas áreas, sendo a ambiental a mais procurada. Com aspectos ambientais relevantes propicia conhecimento, nesse espaço são desenvolvidos vários projetos, dentre eles o Sistema de Emissões Reduzidas do Desmatamento e da Degradação (REDD), também conhecido como “Sequestro de Carbono”. Este foi o primeiro projeto a ser desenvolvido, o qual foi financiado pela instituição britânica AES Barry Foundation e que visa reduzir o índice de desmatamento e reflorestar áreas degradadas, avaliando a quantidade de carbono retida em diversos tipos de vegetação (FINCO e DOPPLER, 2012).

A área de localização do centro de Pesquisa Canguçu é considerada um ambiente de área úmida (**Fig. 03**). Segundo DORNAS e PINHEIRO (2011), as áreas úmidas são importantes para biodiversidade por serem locais de abrigo de várias espécies endêmicas, especialmente de anfíbios, répteis e aves que utilizam este ambiente para reprodução e migração, e em especial as aves neárticas que se reproduzem na América do Norte e migram para região neotropical habitando-a no período não reprodutivo.

Segundo PIRES (2011), as áreas úmidas são ecossistemas formados por inundações periódicas ou permanentes e desempenham importante papel ecológico, social e econômico. Sua importância ecológica de reconhecimento internacional e relevante interesse para humanidade permitiu a estas áreas serem

patrimonializadas, ou seja, foram classificadas como patrimônio natural da humanidade.

**Figura 3** - Imagem do Centro de Pesquisa Canguçu envolto por área de densa vegetação, próximo ao rio Javaés.



**Fonte:** Google Earth, 2017

A dinâmica das áreas úmidas se baseia na sazonalidade da região, que possui duas estações anuais bem definidas: estação seca e chuvosa, formando os pulsos de inundação com grandes áreas alagadas durante o período chuvoso e chegando a secar completamente durante o período de estiagem. Estas variações criam uma dinâmica de mosaicos vegetais de grande variabilidade e fluxo gênico entre as espécies (JUNK *et al.*, 2012).

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Analisar os morcegos (quirópteros) e sua participação no processo epidemiológico da histoplasmose no Centro de Pesquisa Canguçu.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Identificar os locais de refúgio dos morcegos para coletar as amostras de fezes.
- Avaliar as amostras de fezes do entorno do Centro de Pesquisa.
- Identificar a presença e a frequência do *Histoplasma capsulatum* nas fezes coletadas dos morcegos.
- Avaliar as condições ambientais na proliferação do fungo *H. Capsulatum*.
- Caracterizar morfológicamente os fungos isolados a partir das amostras processadas.
- Avaliar a importância dos morcegos no processo epidemiológico.
- Avaliar os riscos locais à saúde da população humana.
- Gerar informações que sirvam de base para a prevenção da histoplasmose.

### 3.0 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Coletas de Material para Detecção do *Histoplasma capsulatum* no Centro de Pesquisa de Canguçu

O projeto de pesquisa foi desenvolvido no Centro de Pesquisa Canguçu (**Fig. 3**) com coordenadas geográficas LAT 09°58'42.8"S e LONG 50°01'39.7 W e 192m de elevação, localizado no município de Pium-TO a 220 km de Palmas. É mantido pelo Instituto Ecológica em parceria com a Universidade Federal do Tocantins (UFT).

Foi definida como área de estudo o entorno da sede do Centro de Pesquisa Canguçu, dando prioridade às áreas de trânsito e permanência das pessoas, como alojamentos e laboratórios. Durante o estudo verificou-se dados como a umidade relativa do ar, incidência luminosa e temperatura. Foram coletadas amostras de fezes secas de morcegos nos quartos, corredores, laboratórios (**Fig. 4**), na área dos cativeiros desativados e em áreas de mata próximas do alojamento identificadas como locais de abrigo dos morcegos (**Fig.5**). A coleta de amostras das fezes secas foi realizada logo abaixo do refúgio dos morcegos para que não houvesse risco de coleta de material de outros animais, como de aves por exemplo, pois o *Histoplasma capsulatum* se desenvolve em fezes de aves e morcegos.

**Figura 4** - Morcego descansando próximo aos laboratórios



Foto: Wellington Fraga

O procedimento de coleta das amostras de fezes secas foi realizado com o Swab, produzido em haste plástica, contendo tampa de vedação e meio de cultivo estéril (meio Stuart). O Swab foi colocado em contato com a superfície onde se encontrava as fezes a serem amostradas em um ângulo de 30°, esfregando-se lentamente em toda a área que continha o dejetos. Após a coleta da amostra, foi registrado no Swab o número de identificação e dados relevantes para análise do processo epidemiológico como a localização geográfica com o GPS (Garmim ETrex 10), umidade relativa do ar e temperatura ambiente com higrômetro e termômetro digital (Marca Incoterm), e a incidência de luz sobre as fezes com o auxílio de luxímetro digital (Marca Instrusul, modelo INS). Após a coleta das amostras e dos dados, as mesmas foram cadastradas em uma planilha de controle de campo. A seguir o material coletado foi levado ao laboratório de microbiologia para cultivo.

**Figura 05** - Local de descanso do bando (refúgio), abaixo do piso dos alojamentos.

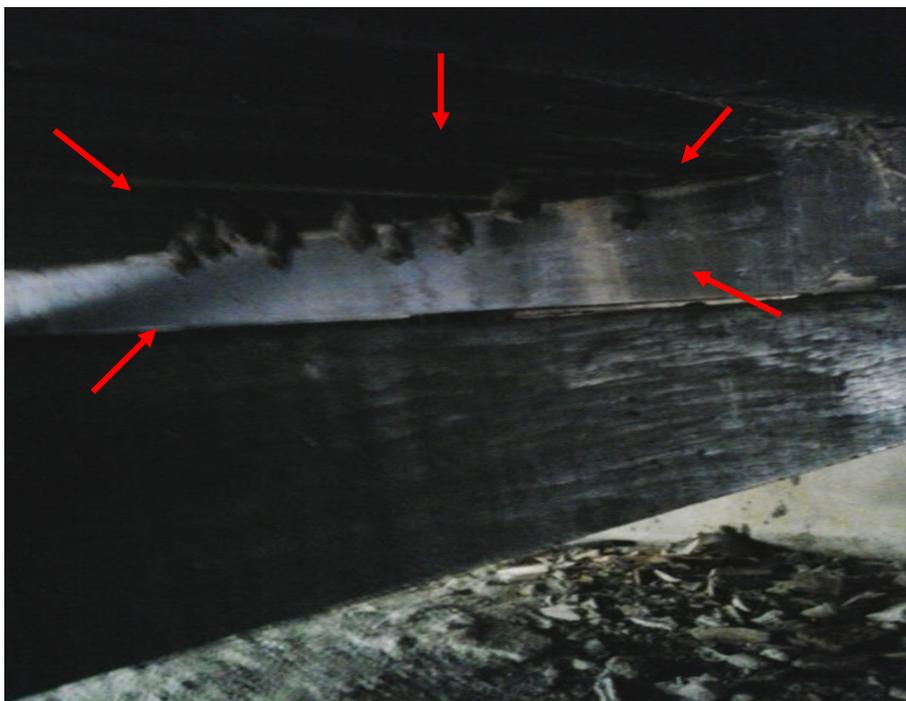


Foto: Wellington Fraga

### 3.2 Captura dos Morcegos

O método de captura de morcegos utilizado nesse trabalho foi o de rede de espera também chamado de “mist-net”. Esse método foi descrito e apresentado por diversos autores, merecendo destaque as contribuições de GREENHALL e PARADISO (1968), TUTTLE (1976), KUNZ e KURTA (1988) e KUNZ *et al.* (1996).

Obedecendo ao perímetro estabelecido, foi feito o levantamento dos corredores de deslocamento dos morcegos e os locais de refúgio destes na área do Centro de Pesquisa Canguçu por meio de monitoramento *in loco*. As redes de neblina com dimensões de 8m comprimento por 3m de altura, em malha de 1,5 x 1,5cm, com tirantes transversais em nylon preto neblina, foram instaladas em hastes confeccionadas em madeira e tubo PVC. Estas hastes foram fixadas ao solo por cordas e ganchos de metais, e abertas somente ao pôr do sol, a fim de, evitar que pássaros se entrelçassem na rede.

As redes de neblina foram posicionadas no corredor de deslocamento dos morcegos dentro da mata, próximo ao rio Javaés. A proximidade entre elas, visava facilitar o monitoramento das redes e a manipulação dos espécimes capturadas. O corredor utilizado para a fixação das redes foi registrado com as seguintes as seguintes coordenadas geográficas: 192m de elevação, posição S 09°58 770' e W 050° 02 140.

A abertura da rede para a captura dos morcegos foi logo após o pôr do sol. Os morcegos capturados foram retirados da rede com o auxílio de luvas de couro e lanterna de cabeça, e após a retirada, ele era colocado em saco de pano de algodão previamente autoclavado e deixado em repouso durante duas horas para possível coleta de fezes frescas. Próximo ao ponto de fixação da rede foi montado um ponto de apoio com todo material necessário para colher às excretas e realizar a avaliação biométrica do morcego.

Vencido o tempo, o morcego foi retirado do saco de pano e realizada a sua avaliação biométrica, análise visual do estado de saúde aparente e a identificação da espécie com o auxílio de chave de identificação, observando suas estruturas

morfológicas. Para medição da sua massa corpórea, ele foi imobilizado com uma liga de nylon e colocado sobre uma microbalança digital de precisão, para outras medidas quanto a tamanho, envergadura da asa, entre outras medidas biométricas utilizou-se um paquímetro.

Cada espécime foi fotografada com uma etiqueta de identificação e marcada no polegar com uma tinta à base de água e atóxica (**Fig. 06**). As amostras de fezes frescas foram coletadas dentro dos sacos de pano utilizando o Swab, que recebeu a mesma numeração da identificação, em seguida o animal foi posto em liberdade.

**Figura 06** – Animal numerado e fotografado após biometria.



Foto: Wellington Fraga

### 3.3 Preparo do Cultivo das Amostras

As amostras de fezes secas e frescas receberam o mesmo padrão de tratamento e cultivo. O meio de cultivo utilizado foi o ágar Sabouraud 2% e pH:  $5,6 \pm 0,1$ , por ser um meio seletivo que inibe o crescimento bacteriano, mas permite o livre crescimento do *Histoplasma capsulatum*, bem como de outros fungos que têm seu desenvolvimento neste mesmo meio de cultura.

O material fecal coletado com o Swab foi diluído em solução salina a 0,85%, esterilizada. Para a diluição foram colocados em cada tubo de ensaio 4 mL de solução salina. O processamento destas amostras foi realizado na câmara de fluxo laminar de exaustão externa, onde cada tubo de ensaio foi identificado com número correspondente ao da amostra.

Para o preparo do ágar Sabouraud seguiu-se as recomendações de preparo do fabricante. A solução foi homogeneizada no agitador magnético e aquecida a uma temperatura de 80°C, durante 5 minutos. A solução homogeneizada foi levada para autoclave para esterilização por 15 minutos a uma temperatura de 121°C.

A câmara de fluxo laminar foi esterilizada com álcool 70% e luz ultravioleta durante 15 minutos. A câmara de fluxo laminar possui bico de Bunsen interno para auxiliar no processo de assepsia da mesma e para esterilização da alça de Drigalski. Em placas de Petri contendo ágar Sabouraud devidamente esterilizado e solidificado, 100µl da solução salina contendo amostra de fezes diluídas foram com o auxílio de um pipetador automático, plaqueados por espalhamento com uma alça de Drigalski. O material foi espalhado em toda a superfície, de forma homogênea, cada placa recebeu a numeração correspondente. Após este procedimento as placas foram envolvidas com película plástica (filme plástico) para vedar completamente as placas, impedindo a contaminação por fungos do ambiente. As placas foram levadas para a estufa à temperatura de 25°C, permanecendo por um período de 10 dias para crescimento das colônias.

### **3.4 Purificação das Amostras**

Após a identificação macromorfológica, as placas passaram por um processo de purificação. O processo de purificação visou ter uma colônia que garantisse seu teor homogêneo. Os mesmos padrões e técnicas de cultivo foram utilizados nesse processo em que empregou-se tubos de ensaio com o mesmo meio de cultivo, o ágar Sabouraud 2% (**Fig. 07**). Os tubos foram incubados em estufa à temperatura de 25°C, e na ausência de luz por sete dias e analisados em seguida.



**Figura 07** - Purificação em tubo de ensaio do *Histoplasma capsulatum*

### **3.5 Identificação Morfológica dos Fungos**

As amostras foram cultivadas em meio ágar Sabouraud 2%, em estufa à temperatura de 25°C no escuro para se obter a forma miceliana. A identificação de fungos filamentosos tem como fundamento a observação da morfologia da colônia e seus aspectos microscópicos. A análise da colônia visa observar cor, textura, superfície, pigmento difusível no meio de cultura, entre outros, e pode ser feita no tubo de ensaio contendo a cultura primária do fungo. Porém, o mais adequado é a análise a partir da “colônia gigante”, ou seja, uma cultura feita no ponto central de uma camada de ágar distribuído em placa de Petri. A velocidade de crescimento, que pode ser rápida (< 7 dias), intermediária (8 a 14 dias) ou lenta (> 15 dias) é fundamental para identificação presuntiva do fungo.

O *Histoplasma capsulatum* possui características de elementos vegetativos (cotonosa, aveludada e membranosa). A observação das estruturas microscópicas tais como: hifa hialina ou demácia, septada ou cenocítica, forma, disposição e formação dos esporos, são suficientes, em geral, para a identificação de fungos filamentosos e para a identificação morfológica foi utilizado atlas de identificação de fungos de importância médica.

## 4.0 RESULTADOS

### 4.1 Caracterização Epidemiológica Ambiental do Local Amostrado

As condições ambientais são fatores imprescindíveis no processo de conquista e permanência de uma espécie no ambiente e de suma importância para o sucesso da perpetuação da espécie. A tabela 1 expressa às condições ambientais no momento da coleta das amostras de fezes secas.

**Tabela 1** – Dados sobre o percentual de umidade relativa do ar, índice de luminosidade e temperatura do ambiente, no momento da coleta das amostras de fezes secas nos meses de abril e setembro.

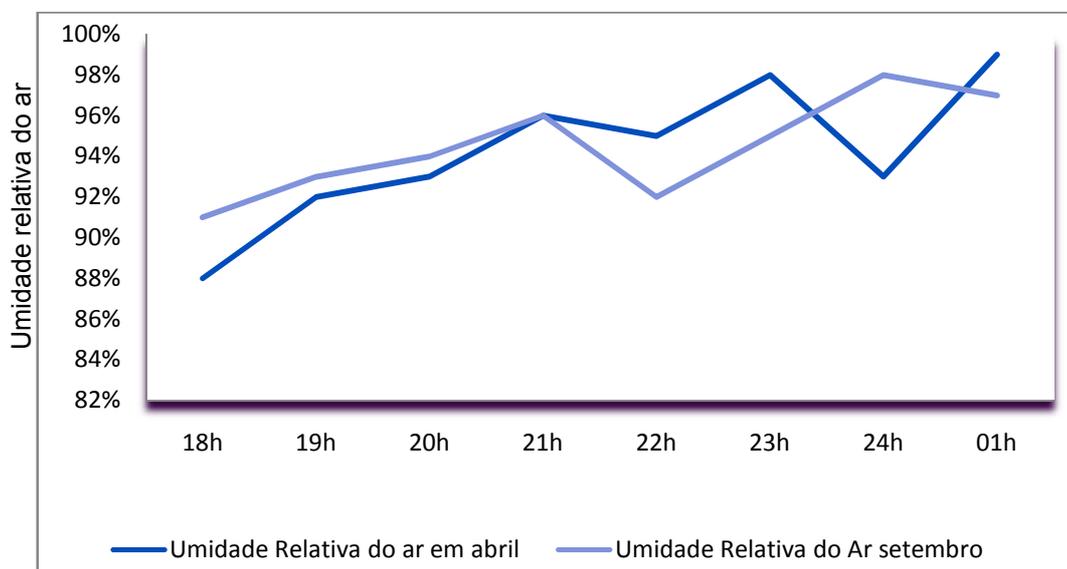
Abril			
Identificação das amostras	Umidade relativa do ar%	Luminância em LUX	Temperatura em °C
01	70%	11	29,3
02	99%	32	26,8
03	99%	25	27,8
04	99%	02	27,8
05	99%	64	30,4
06	93%	34	30,0
07	94%	04	27,0
08	96%	23	29,9
09	94%	656	29,1
10	94%	60	30,6
11	90%	310	29,3

Setembro			
Identificação das amostras	Umidade relativa do ar%	Luminância em LUX	Temperatura em °C
12	90%	310	29,3
13	83%	335	32,3
14	74%	170	31,8
15	74%	74	32,5
16	72%	475	36,6

17	72%	475	36,6
18	65%	311	34,6
19	74%	02	28,7
20	76%	23	31,2
21	75%	16	32,0

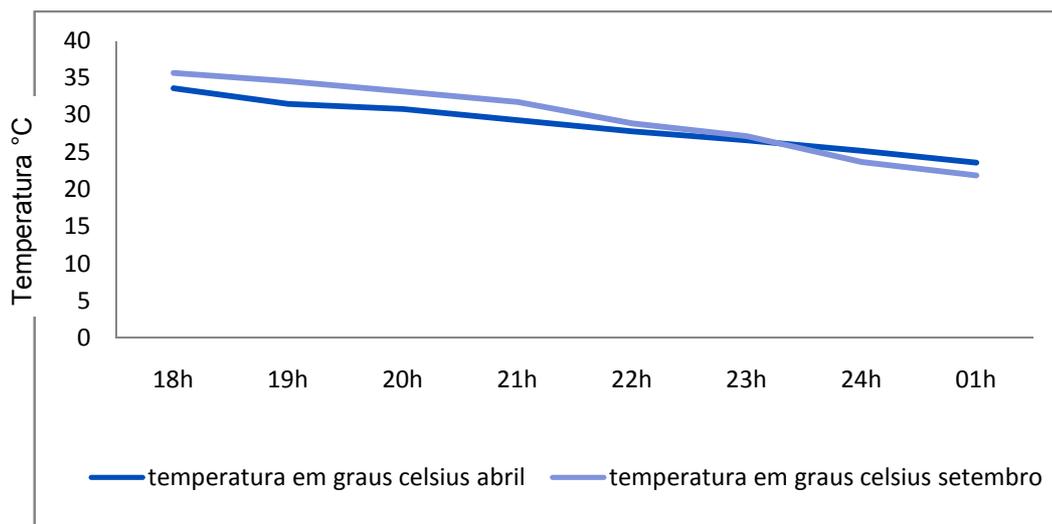
A coleta das amostras de fezes secas, foram realizadas no mês de abril devido à proximidade do fim do período chuvoso, e o ambiente estar com alta umidade favorecendo o crescimento dos fungos. E em setembro devido estar no fim do período de estiagem e baixa umidade podendo ser um fator limitante do crescimento dos fungos. Marcuzzo *et al.* (2010) identificaram que o período chuvoso no estado do Tocantins, tem duração de 9 meses, ocorrendo de setembro a maio; e o período seco de três meses, entre junho e agosto. Durante as coletas houve uma variação de temperatura ao longo das medições. Os dados foram medidos em intervalos de uma hora como mostra os gráficos 1 e 2.

**Gráfico1-** comparação da variação do percentual de umidade relativa do ar nos meses de abril e setembro.



Fonte: Elaborado pelo autor

**Gráfico 2** - Comparação da variação da temperatura nos meses de abril e setembro durante a coleta das amostras das fezes frescas.



**Fonte:** Elaborado pelo autor

Para qualquer microrganismo, as três temperaturas mais importantes são as temperaturas mínima, ótima e máxima de crescimento. Estas são conhecidas como temperaturas cardinais. As temperaturas cardinais são fatores de influência no crescimento e desenvolvimento dos fungos, atuando de forma mais abrangente sobre o *Histoplasma capsulatum*, pois além do crescimento, determina sua morfologia.

A coleta das amostras de fezes frescas foi realizada no período noturno, hora em que os quirópteros saem para forragear. Neste período o índice de luminância não sofreu variações consideráveis, tendo os valores medidos sempre próximos de 0 Lux.

#### 4.2 Análise dos Espécimes Capturados

Foram capturados 39 espécimes durante o período da pesquisa, todos indivíduos da espécie *Carollia perspicillata*. Esta espécie possui uma dieta frugívora podendo se alimentar também de insetos e néctar. Todos gozavam de boa saúde aparentemente, inclusive os positivados para histoplasmose detectados na cultura fúngica in vitro. Na análise biométrica, a média de massa corpórea foi 12g ficando dentro da média para a espécie.

### 4.3 Crescimento das Culturas

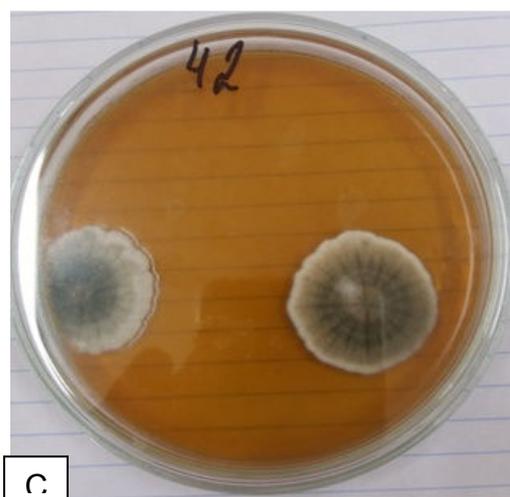
Foram coletadas um total de 60 amostras, sendo 21 de fezes secas e 39 de fezes frescas. Após serem incubadas em estufa à temperatura de 25-27°C, as culturas foram monitoradas diariamente, apresentando um crescimento radial substancial nos primeiros sete dias e um vertical perceptível após esse período. As placas cultivadas com amostras oriundas das fezes secas apresentaram maior variabilidade de espécies. Seis amostras de fezes secas apresentaram contaminação pelo fungo *Histoplasma capsulatum*, representando 10% do total e três amostras das fezes frescas estavam contaminadas pelo fungo, representando 5% do total de amostras coletadas.

### 4.4 Análise Morfológica

As placas incubadas com as amostras das fezes secas apresentaram maior variabilidade fúngica em relação às placas incubadas com as amostras de fezes frescas (**fig.4**). A característica morfológica bem peculiar do *Histoplasma capsulatum* é sua forma cotonosa, aveludada, membranosa e cor branca como mostra a figura 4B, foi o ponto primordial para a sua identificação, sendo pouco considerado o aspecto fisiológico, pois muitos fungos possuem características de crescimento semelhantes às condições a que foram submetidos o *Histoplasma capsulatum*.

As amostras coletadas das fezes secas demonstraram rápido crescimento. Em sete dias já havia se formado as colônias nas placas. As amostras coletadas das fezes frescas apresentaram um desenvolvimento mais tardio em torno de quatorze dias para formar a colônia (**Fig. 08**), sendo os meios de cultivos e as condições ambientais mantidas no mesmo padrão de cultivo.

**Figura 8** - Macromorfologia das culturas das amostras de fezes secas coletadas no Centro de Pesquisa Canguçu (A) fungo do gênero *Penicillium*; (B) fungo do gênero *Histoplasma*; (C) fungo do gênero *Veronaea*.



## 5.0 DISCUSSÃO

As matrizes de investigação epidemiológica do *Histoplasma capsulatum* permeiam áreas endêmicas ligadas aos habitats naturais dos morcegos, quase sempre refúgios cavernícolas, mas é factível a capacidade destes animais de habitarem os mais diversos ambientes, até mesmo lugares que estão sob forte presença e influência antrópica. Segundo o Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2000) o centro de Pesquisa Canguçu (CPC) se localiza na área de influência do Parque Nacional do Araguaia (PARNA), fonte de grande biodiversidade. Possui clima tropical com altas temperaturas e umidade. Estes dois fatores são extremamente importantes para o estabelecimento de espécies fúngicas no ambiente.

O Centro de Pesquisa Canguçu é um local singular, de amplas possibilidades de linhas de pesquisas, por estar inserido em um ambiente denominado ecótono (transição entre os biomas do cerrado e floresta amazônica). Dessa forma, presta importante papel social, educacional, científico e ambiental no desenvolvimento de pesquisas ambientais. Imerso em condições peculiares propicia a instalação e colonização de muitas espécies de microrganismos, dentre eles os fungos. Com temperatura ambiente e umidade relativa do ar alta e rica em matéria orgânica, possui condições ideais ao desenvolvimento de espécies fúngicas. As amostras pesquisadas e positivadas para a presença do *Histoplasma capsulatum* demonstram a presença constante de cepas contaminantes em toda área do Centro de Pesquisa.

Durante o período do estudo, a presença dos morcegos era notória em toda área do centro. Os padrões de habitação e deslocamento dos morcegos nessa área é alterado devido à própria estrutura da construção, passando ela a ser o novo habitat destas espécies. O comportamento dos morcegos emergem um plano variado em virtude da ocupação e da presença antrópica, podendo ainda ser afetado por outros fatores. Os abrigos fornecem proteção do tempo e de predadores, sendo, os forros do alojamento, laboratórios e demais dependências o local encontrado por eles para instalar seus refúgios. Esses fatos são de suma importância, visto que os morcegos com histoplasmoze sistêmica podem ser focos de contaminação.

Num ambiente tão singular, é necessário avaliar as complexas interfaces do modelo epidemiológico, avaliando cada perspectiva e estabelecendo seu ponto de intersecção. As condições ambientais do centro formam um complexo viável de sistemas casuísticos à manutenção do ciclo da histoplasmose.

O centro de pesquisa é frequentado por diversas pessoas que buscam o local periodicamente para o desenvolvimento de pesquisa, práticas ambientais ou educacionais e até mesmo lazer. Indubitavelmente a histoplasmose pode acometer os frequentadores que estão expostos à infecção e infestação da doença.

A intensa atividade antrópica sobre a vegetação causa a destruição do habitat natural dos morcegos que, por sua vez, acabam se refugiando em forros de casas e prédios (AIDÉ, 2009). No caso do centro de pesquisa, a opção por habitar o forro do prédio é exclusivamente para fugir da ação de predadores uma vez que o local possui vasta área preservada. Nestas áreas de florestas a presença de morcegos da espécie *Carollia perspicillata* é predominante devido ao fato de sua alimentação ser à base de frutas, ou seja, frugívoros, mas os morcegos possuem uma alimentação bem variada e nada impede uma espécie frugívora se alimentar de insetos ou néctar como no caso do *Carollia* (LOBOVA *et al.*, 2009).

O *Histoplasma capsulatum* é encontrado em solo ácido e rico em compostos nitrogenados. Como não pode crescer e se desenvolver sem esses substratos, aproveitam do guano do morcego que é muito rico em amoníaco, ácido úrico, ácido fosfórico e sais. Em forros de cobertura, áreas impermeabilizadas e construções, não há a disponibilidade destes nutrientes o que inviabilizaria o crescimento dos esporos. Como mecanismo de adaptação, esporos do fungo pousam sobre as fezes e a utilizam a fim de obter os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento (BARTLETT *et al.*, 1982).

O fungo se desenvolve nas fezes de aves ou morcegos, que liberam esporos microconídios ou macroconídios que podem ser carreados por correntes de ar e viajar por quilômetros. Mesmo que o ambiente em que o indivíduo esteja não tenha presença de aves ou morcegos, mas pelo fato de estar próximo aos locais de abrigo desses animais, ele pode ser contaminado por vias aéreas. Por estar mais distante

do foco de contaminação, a quantidade de esporos inalados é menor e à medida que o indivíduo está mais distante da fonte, o risco de infestação diminui proporcionalmente, uma vez que em indivíduos saudáveis, a infestação depende do número de esporos inalados. No caso do CPC, os focos contaminantes estão em toda área de acesso e convivência das pessoas que frequentam o lugar para o desenvolvimento de qualquer atividade. Para indivíduos imunocomprometidos, o risco se torna cada vez maior quando frequentam e/ou moram próximos às fontes de contaminação.

Mesmo as espécimes que não apresentaram positividade para a cultura fúngica do *Histoplasma capsulatum* podem estar contaminados, pois o agente etiológico pode não ter sido excretado nas fezes. A inoculação ocorre por via aérea, sendo o pulmão o primeiro órgão a ser afetado. A partir daí há a migração para os demais órgãos até chegar ao trato intestinal. No período inicial da infecção não haverá eliminação de fungos viáveis nas fezes dos morcegos (ALLTON *et al.*, 2010).

O ambiente funciona como condicionante às espécies. Cada qual necessita de um ambiente adequado à sua sobrevivência. Nas figuras 1 e 2 pode-se perceber dois destes condicionantes (alta umidade relativa do ar e alta temperatura) com papel relevante no crescimento e proliferação do *Histoplasma capsulatum*. A umidade durante os intervalos medidos sempre se manteve acima de 70%, mesmo em setembro, época considerada de clima muito seco no estado do Tocantins, apesar do início do período de precipitação pluviométrica e temperatura acima dos 25°C.

Morcegos que se abrigam no mesmo local, como ambientes de cavernas ou até mesmo forros de casas ou prédios, podem se contaminar por vias aéreas, mesmo que não desenvolvam a doença. Isso ocorre pelo fato do fungo estar presente nas fezes que se depositam abaixo do local de refúgio. Apesar de não estarem em contato direto, quando saem para forragear, o simples fato de baterem as asas cria uma movimentação do ar no local, os esporos ficam em suspensão e acabam sendo aspirados por eles durante a respiração. Os esporos que não são assimilados podem ser carregados através de correntes de ar para outros locais e

constituírem-se novas fontes de infecção. Como estes esporos são muito leves, podem viajar até mesmo por quilômetros e infectar pessoas que não estejam em contato direto com os abrigos (DEUS FILHO *et al.*, 2009).

Um morcego pode infectar uma colônia inteira, uma vez que ocorre multiplicação de leveduras no tecido extra lúmen e essas formas viáveis podem ser excretadas nas fezes. Segundo McMurray e Greer (1979), o intestino dos morcegos não absorve esporos, uma das hipóteses é que a atividade digestiva é relativamente rápida e o intestino dos morcegos relativamente pequeno por não possuir ceco e apêndice, o que justificaria a eliminação por um longo período. Este fato pode ser observado nas culturas das amostras positivadas das fezes dos morcegos, sendo estes capazes de eliminar esporos com capacidade de crescimento e desenvolvimento.

Segundo Almeida Filho *et al.* (1998), a quantificação das doenças ou cálculo das taxas, coeficientes de morbidade e morbimortalidade são tarefas essenciais no estudo epidemiológico. Estima-se que um período de morbidade prolongado dentro de uma colônia aumenta a possibilidade de disseminação entre seus membros.

O *Carollia perspicillata* é uma espécie que se estabelece naturalmente em locais do tipo cavernícola ou em troncos de árvores e lida bem no convívio com outras espécies, formando colônias mistas e estabelecendo uma relação interespecies, mas devido à morbidade, os animais que vivem nos troncos de árvores diminuem significativamente o risco de contaminação por dois motivos: primeiro neste tipo de ambiente, eles ficam mais distantes um do outro e segundo por ser um ambiente aberto, o risco de inalação de esporos do fungo é bem menor. Neste estudo, porém, não foi possível determinar a morbidade das colônias presentes no centro, sendo este um estudo mais detalhado e que requer uma avaliação minuciosa e mais aprofundada.

Em 1958, Emmons estabeleceu a associação entre o *Histoplasma capsulatum* e os morcegos. Inicialmente o isolamento do fungo ocorria em espécies insetívoras, mas isso não descartava a possibilidade de que outras espécies com hábitos alimentares diferentes também pudessem estar infectadas pelo fungo, já que

espécies diferentes podem coexistir no mesmo local, aumentando a taxa de infecção entre eles.

Os morcegos frugívoros, como o *Carollia perspicillata*, são os maiores dispersores de semente, contribuindo para a perpetuação de várias espécies de plantas. Mas também podem ser disseminadores das cepas da histoplasmose, uma vez que elas podem estar presentes nas fezes excretadas no ambiente.

Estudos realizados com morcegos insetívoros da espécie *Pteronotus rubiginosa* apresentavam uma alta taxa de infecção, e os morcegos frugívoros da espécie *Carollia perspicillata* apresentaram uma baixa taxa de infecção mesmo habitando o mesmo abrigo. Alguns autores sugerem que algumas espécies possam ser mais susceptíveis ou resistentes à infecção por *Histoplasma capsulatum*, ou o habitat pode influenciar esta taxa de infecção (SHACKLETTE *et al.*, 1969).

A histoplasmose é uma doença sistêmica, sendo a terceira causa de morte em pessoas imunocomprometidas. Há pouca divulgação dos riscos desta doença no sistema público de saúde, seja ele rural ou urbana. O fato é que os morcegos estão presentes em todos os meios, assim como os pássaros, constituindo potenciais focos de contaminação, fato preocupante visto que ela é a terceira causa de morte por micoses sistêmicas no Brasil (PRADO *et al.*, 2009).

A importância dessa pesquisa está em alertar os frequentadores do Centro de Pesquisa Canguçu dos riscos de contaminação da doença, uma vez que ela apresenta sintomas similares a outras doenças como a gripe, por exemplo, prejudicando o diagnóstico correto da patogenia que, para ser conclusivo, é necessário a realização de técnicas laboratoriais como micológicas, histopatológicas, sorológicas e moleculares (GUIMARÃES *et al.*, 2006). O diagnóstico precoce aumenta muito as chances de cura da doença, mesmo que ela não se manifeste em alguns indivíduos, por ser assintomática. O fato do indivíduo ter estado em um local endêmico, deve ser objeto de investigação da equipe médica, pois tal fato pode ser um indicador de contaminação e esta informação pode nortear o estudo patológico em caso de enfermidade.

Os estudos sobre o *Histoplasma capsulatum* limitaram-se às características morfológicas dos isolados e aos eventos miceliais, não sendo objeto de estudo a transição da fase micelial para a fase leveduriforme. Estudos morfológicos subsequentes refinaram as observações fenotípicas das culturas. Alguns fenômenos correspondentes a um nível de interação podem ser avaliados por sua frequência e intensidade, estes fatores são oriundos da gênese dos sistemas dinâmicos ligados aos padrões de análise das culturas em estudo.

Os desenhos ecológicos possuem diferentes **vieses** na construção e estudo de um cenário classista, mas as correlações no nível individual oferecem uma compreensão dos riscos individuais. As causas dos problemas de saúde correspondem a níveis agregados e não somente a indivíduos.

Koopmam e Longini (1994) afirmam que para doenças infecciosas não são relevantes somente os fatores ambientais, pois cada indivíduo não depende da ação causal sobre a interação dos indivíduos com o grupo e isso causa uma dinâmica linear nas populações. Os autores destacam que o efeito das causas sobre um indivíduo modifica a forma como ele interage com os outros, portanto, o efeito das causas age sobre eles. A infecção tem uma dinâmica não linear nas populações e conseqüentemente, estudos em nível individual têm grandes limitações para incorporar essa complexa dinâmica que só pode ser aprendida em estudos ecológicos que definam a realidade como um sistema complexo.

As variantes ambientais ocasionam problemas de articulação com o estudo de populações variáveis que correspondem em níveis de indivíduos ou de subpopulações. Essas variáveis podem corresponder a populações maiores das quais fazem parte.

As determinantes da pesquisa epidemiológica norteiam a pesquisa de forma linear, formando um complexo sistema de variáveis de ordem social, ambiental, genética e microbiológica. Essas variáveis podem ocasionar situações de exposição dos indivíduos a agentes tóxicos que ocasionam doenças, incapacidades intelectuais e físicas e até mesmo a morte. Estas variantes devem ser consideradas ponto a ponto, investigando os aspectos da doença, distribuição geográfica, desastres naturais, sua frequência na população e populações em situação de vulnerabilidade.

O convívio diário com os morcegos no Centro de Pesquisa Canguçu pode ser fator de preocupação para os frequentadores do centro, bem como dos caseiros que habitam o local periodicamente. A grande disponibilidade de alimento e os abrigos protegidos de predadores fazem do centro o local ideal para esses animais, mas aumentam os indicadores de risco à saúde individual e coletiva das pessoas que fazem uso do Centro de Pesquisa.

A partir desta análise, é possível tomar medidas que contribuam para a preservação ambiental, mas o risco de contaminação da histoplasmoze não pode ser o argumento para caça e extermínio dos morcegos tão discriminados pela literatura e crença popular. Estes animais são extremamente importantes para o equilíbrio dos ecossistemas. Por serem sensíveis a mudanças ambientais, os morcegos são ótimos **bioindicadores**, ou seja, são capazes de indicar se algo está afetando ou alterando o ambiente.

## 6.0 PROPOSIÇÕES CONCLUSIVAS

✓ O Centro de Pesquisa fornece condições ambientais adequadas como umidade, luz e temperatura para o crescimento e desenvolvimento do fungo *Histoplasma capsulatum*, servindo como interface no estudo epidemiológico deste patógeno;

✓ O Centro de Pesquisa possui fácil acesso para os morcegos às dependências, que as utilizam como abrigo protegido contra a ação de predadores naturais, ao passo que as fezes dos morcegos se depositam na superfície do refúgio, fornecendo substrato ricos em compostos nitrogenados para o crescimento e desenvolvimento do *H. capsulatum*.

✓ No trabalho foi verificada a predominância de morcegos frugívoros da espécie *Carollia perspicillata*, que além de contribuir na dispersão de sementes, também atua diretamente no processo epidemiológico da histoplasmose, fato verificado no cultivo das fezes secas e frescas;

✓ A administração do Centro de Pesquisa Canguçu, poderá incluir na atualização da circular CTAA-CPC Nº 003 de 2012 relativa às normas e uso das instalações do Centro de Pesquisa, um alerta sobre o risco de saúde ao qual, os frequentadores estarão expostos, com ênfase em pessoas que tenham o sistema imunológico comprometido.

## REFERÊNCIAS

- ABCMED, 2013. **Como é a histoplasmose?**. Disponível em: <[http://www.abc.med.br/p/sinais.-sintomas-e-doencas/350774/como e a histoplasmose.htm](http://www.abc.med.br/p/sinais.-sintomas-e-doencas/350774/como-e-a-histoplasmose.htm)>. Acesso em: 13 ago. 2017.
- ADENIS, A. A.; AZNAR, C.; COUPPIÉ, P. Histoplasmose em pacientes infectados com HIV: uma revisão de novos desenvolvimentos e lacunas remanescentes. **Relatórios de medicina tropical atual**, v. 1, n. 2, p. 119-128, 2014.
- AIDÉ, M. A. Histoplasmosis. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 11, p. 1145-1151, 2009.
- AJELLO, L. **Geographic Distribution of *Histoplasma capsulatum***. **Mycoses**, v. 1, n. 5, p. 147-155, 1958.
- ALMEIDA FILHO, N.; *et al.* orgs. **Teoria epidemiológica hoje: fundamentos, interfaces, tendências [online]**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1998. 256 p. Epidemiológica series, nº2. ISBN 85-85676-50-7. Disponível em: <<http://books.scielo.org>>. Acesso em: 16 de fev. 2017
- ALMEIDA FILHO, N. **A Clínica e a Epidemiologia**. 2ª Ed. Salvador: APCE/Abrasco, 1997.
- ALLTON, D. R.; RIVARD, R. G.; CONNOLLY, P. A.; Mc CALL, S.; DURKIN, M. M.; BOYD, T. M.; FLANAGAN, J. P.; WHEAT, L. J.; HOSPENTHAL, D. R. **Detection of Latin American Strains of *Histoplasma* in a Murine Model by Use of a Commercially Available Antigen Test**. **Clin.Vaccine Immunol**, v.17, n.5, p. 802-806, 2010.
- ANGELO, B. J.; MARCOS, M. **Doenças das Aves**. Campinas: Facta, 2000.
- BARTLETT, P. A., Spear, K. L. & Jacobsen, N. E. (1982) **Biochemistry** 21, 1608-1611.
- BIEDERMANN, H. **Dicionário Ilustrado de Símbolos**. Companhia Melhoramentos, São Paulo. 1993, 481 p. BOLETIM ELETRÔNICO DA SBE (Soc. Brasileira de Espeleologia) ano 4, Nº 143, 21 dez. 2009. Disponível em: <[http://www.sbe.com.br/sbenoticias/SBENoticias\\_143.pdf](http://www.sbe.com.br/sbenoticias/SBENoticias_143.pdf)>. Acesso em 22 de Set. 2015.
- BORDIGNON, M. O. **Padrão de atividade e comportamento de forrageamento do morcego-pescador *Noctilio leporinus* (Linnaeus) (Chiroptera, Noctilionidae) na Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil**. **Rev. Bras. Zool.** [online]. 2006, vol.23, n.1, pp. 50-57. ISSN 0101-8175. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752006000100003>>. Acesso em 28 jun. 2016

BRETT, A. *et al.* **Morcegos em áreas urbanas e rurais: manual de manejo e controle**. Brasília, DF: Fundação Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. 1996. 117 p.

BRILHANTE, R. S.; FECHINE, M. A.; MESQUITA, J. R. L.; CORDEIRO, R. D.; ROCHA, M. F.; MONTEIRO, A. J.; DE LIMA, R. A. CAETANO, E. P.; PEREIRA, J. F.; CASTELO-BRANCO, D.S. C. M.; DE CAMARGO, Z. P.; SIDRIM, J. J. Histoplasmosose em pacientes HIV-positivos no Ceará, Brasil: aspectos clínicos-laboratoriais e susceptibilidade antifúngica in vitro a isolados *Histoplasma capsulatum*. *Trans Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 106, n. 8, p. 484-488, 2012.

BROOKS, G. F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. **Microbiologia Médica**. 21ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

BROSSET, A.; P. CHARLES-DOMINIQUE; A. COCKLE; J. F. COSSON e D. MASSON. 1996. **Bat communities and deforestation in French Guiana**. *Canadian Journal of Zoology*, Ottawa, 74: 1974-1982.

BURT W.H. (1943). **Territoriality and home range concepts as applied to mammals**. *J. Mammal.* 24, 346–352.

CALANNI L. M.; PÉREZ R. A.; BRASILI S.; SCHMIDT N. G.; IOVANNITTI C. A.; ZUIANI M. F.; NEGRONI R.; FINQUELIEVICH J. CANTEROS C. E. **Brote de histoplasmosis em la provincia de Neuquén, Patagônia Argentina**. *Ver. Iberoam. Micol.* 2013;30:193-9.

CHANG, M. R.; TAIRA, C. L.; PANIAGO, A. M. M.; TAIRA, D. L.; CUNHA, R. V.; WANKE, B. **Study of 30 cases o histoplasmosis observed in Mato Grosso do Sul State, Brazil**. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v.49, n.1, p. 37-39, 2007.

CARVALHÃES, J. **Micologia Médica**. Control – Lab. Rio de Janeiro: 1999.

COSSON, J. J.; PONS e D. MASSON. 1999. **Effects of forest fragmentation on frugivorous and nectarivorous bats in French Guiana**. *Journal of Tropical Ecology*, Cambridge, 15: 515-534.

DAHER, E. F.; SILVA, G. B. Jr.; BARROS, F. A. S.; TAKEDA, C. F. V.; MOTA, R. M. S.; FERREIRA, M. T.; OLIVEIRA, S. A.; MARTINS, J. C.; ARAÚJO, S. M. H. A.; GUTIÉRREZ-ADRIANZZÉN, O. A. **Clinical and laboratory features of disseminated histoplasmosis in HIV patients from Brazil**. *Trop. Med. Int. Health.*, v. 12, n. 9, p. 1108-1115, 2007.

DEEPE, G. S. Jr.; SEDER, R. A., **Molecular and cellular determinants of immunity to *Histoplasma capsulatum***. *Res. Immunol.*, v. 149, n. 4, p. 397-406, 1998.

DEUS FILHO, A.; BODO, W.; CAVALCANTI, S.; AMPARO, M.; SOARES MARTINS, L. M.; CASTELO BRANCO, A. D. **Histoplasmose no Nordeste do Brasil. Relato de Três Casos**. Rev. Port. Pneumol., v. 15, n. 1, p. 109-114, 2009.

DORNAS T.; PINHEIRO R. T. Ilha do bananal e planície do cantão. In Renata Valente *et al.* **Conservação de Aves Migratórias Neárticas no Brasil** / organizadores. Belém: Conservação Internacional, 2011, 111-115.

EMMONS, C. W.; KLITE, P.D.; BAER, G. M.; HILL Jr, W. B. **Isolation of *Histoplasma capsulatum* from the Unites States**. *Am J. Epidemiol.*V.84, n. 1 p. 103-9, 1966.

EMMONS, C. W. **Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil**. *Public Health Rep.*, v. 6 p 892-896, 1949.

EISSENBERG, L. G.; SCHLESINGER, P. H.; GOLDMAN, W. E. **Phagosome Lysosome Fusion in P388D1 macrophages infected with *Histoplasma capsulatum***. *J. Leuk. Biol.* v.43, p.483-491, 1988.

ESBÉRARD, C. E. L.; CHAGAS, A. S.; LUZ, E. M. **Uso de residências por morcegos no Estado do Rio de Janeiro (*Mammaliachiroptera*)**. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 21, n. 1. Rio de Janeiro: 1999, p. 17-20.

FAVA-NETTO C.; ALMEIDA, N. J. M.; GUERRA, M.; COSTA, E. O. **Histoplasmose epidêmica. Novos surtos ocorridos no litoral norte do Estado de São Paulo. Inquérito epidemiológico com histoplasmina e paracoccidioidina**. Ver. Inst. Med. Trop. S. Paulo, v. 18, p. 108-112, 1976.

FENTON, M. B.; ACHARYA, L.; AUDET, D.; HICKEY, M. B. C.; MERRIMAN, C.; OBRIST, M. K. ESYME, D. M. (1992). **Phyllostomid bats (Chiroptera: Phyllostomidae) as indicators of habitat disruption in the Neotropics**. *Biotropica*, Washington, **24** (3): 440-446.

FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S. **Histoplasmose**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Uberaba ,v. 42, n. 2, p. 192-198, Apr. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822009000200020&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822009000200020&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 27 de Set. 2015.

FERREIRA, R. L.; MARTINS, R. P.; (1999). **Guano de morcegos: fonte de vida em cavernas**. *Ciência Hoje*, 25 (146):34-40.

FINCO, A. M. V.; DOPPLER, W., **Oil seed activity and climate change linkages: family farming cases from northern Brazil**. *Revista de Estudos Sociais – Ano 2012, Nº 27, Vol 14 Pag. 1*

FRICK, Winifrid F.; POLLOCK, Jacob F.; HICKS, Alan C.; LANGWUIG, Kate E.; REYNOLDS, Scott; TURNER, Gregory G.; BUTCHKOSKI, Calvin M.; KUNZ, Thomas H.; **An Emerging Disease Causes Regional Population Collapse of a Common**

**North American Bat Species.**, Science magazine, vol. 329, N° 5992, Agosto de 2010. Disponível em: <http://www.sciencemag.org/content/329/5992/679.full> Acesso em: 28 de Ago. 2016

GOODWIN Jr R. A.; DEZ PREZ R. W.; **Histoplasmosis.** The American Review of Respiratory Disease 117:929-956, 1978.

GOODWIN R. A.; LOYD J. E.; DES PREZ R. M. **Histoplasmosis in normal hosts.** Medicine 1981; 60: 231 – 66

GOODWIN, G. G.; e GREENHALL, A. M. (1961). **A review of the bats of Trinidad and Tobago: descriptions, rabies infection and ecology.** Bulletin of the American Museum of Natural History, New York, 122 (3): 187-302.

GREENHALL, G. G. **The food of some Trinidad fruit bats (Artibeus and Carollia).** Journal of agricultural Society of Trinidad e Tobago. V. 896 Trinidad e Tobago: 1956, p. 1-25.

GREENHALL, A. M.; PARADISO, J. L. **Bats and bat banding.** Washington: Bureau Sports Fisheries and Wildlife Research, Publication 72, 1968.

GORRENSEN, P.M. e WILLIG, M.R. 2004. **Landscape responses of bats to habitat fragmentation in Atlantic forest of Paraguay.** Journal of Mammalogy, 85(4): 688-697.

GUIMARÃES, A. J.; NOSANCHUK, J. D.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M. **Diagnostico da Histoplasmoze.** Brasil. J. Microbiol., v. 37, n. 1, p. 1-13, 2006.

HAMILTON A. J.; BARTHOLOMEW M. A.; FIGUEROA J.; FENELON LE.; HAY R. J. **Evidence that the M antigen of *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatumis* catalase wich exhibits cross-reactivity with other dimorphic fungi.** J. Med. Vet. Mycol. 28(6) 479-85.

HOFF, G.L.; BIGLER, W.J. **The role of bats in the propagation and spread of histoplasmosis: a review.** J. Wildl. Dis., 17:191-6, 1981.

HOLBROOK, E.D.; RAPPLEYE, C.A. ***Histoplasma capsulatum* pathogenesis: making a lifestyle switch.** Curr. Opin. Microbiol., v. 11, n.4, p. 318-324, 2008.

INSTITUTO ECOLÓGICA, Disponível em: <<http://www.ecologica.org.br/unidades/>> Acesso em: 18 de jun 2015.

JOHNSON, C. H.; KLOTZ, M. G.; YORK, J.L.; KRUF, V.; McEWEN, J. E. (2002). **Redundancy, phylogeny and differential expression of *Histoplasma capsulatum* catalases.** Microbiology 148: 1129-42.

JULG, B.; ELIAS, J.; ZAHN, A.; KÖPPEN, S.; BECKER-GAAB, C.; BOGNER, J. R. **Bat-associated histoplasmosis can be transmitted at entrances of bat caves and not only inside the caves.** J. Travel. Med., v. 15, n. 2, p. 133-136, 2008.

JUNK, W. J.; PIEDADE, M.T.F.; SCHONGART, J.; WITTMANN, F. **A classification of major natural habitats of Amazonian white-water river floodplains (várzeas).** Wetlands Ecology and Management, v. 20, p. 461-475, 2012.

KAUFFMAN, C.A. **Histoplasmosis: a clinical and laboratory update.** Clin. Microbiol. Rev., v. 20, n.1, p. 115-132, 2007.

KLITE, P. D.; DIERCKS, F. H. ***Histoplasma capsulatum* in fecal contents and organs of bats in the canal zone.** Am. J. trop. Med. Hyg., v. 14, p. 433-439, 1965.

KOESTLER, A.; SMYTHIES, J. R. **Beyond Atomism and Reductionism: the concept of Holon. IN: Beyond Reductionism.** Londres: Eds Hutchinson, 1969.

KOOPMAN, J.; LONGINI I. **The ecological effects of individual and non linear disease dynamics in populations.** American Journal of Public Health. 84:836-842, 1994.

KUNZ, T.H.; KURTA, A. (1988) **Capture Methods and Holding Devices.** In: Kunz, T.H. (Ed.), **Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats.** Smithsonian Institution Press, Washington, p.1-30.

KUNZ, T.H. 1973. **Resource utilization: temporal and spatial components of bat activity in Central Iowa.** Journal of Mammalogy, Lawrence, 54 (1): 15-32.

KUNZ, T.H.; RICHARDS, G.R.; TIDEMANN, C.R. **Capturing small volant mammals.** In: WILSON, D.E.; NICHOLS, J.; RUDRIN, R.; COLE, R.; FOSTER, M. (Eds.).

KUROKAWA, C.S.; SUGIYAKI, M. F.; PERAÇOLI, M.T.S. **Virulence factors in fungi of systemic mycoses.** Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, v. 40, n. 3, p. 124-135, 1998.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. **Histoplasmosis.** In: KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. **Medical mycology.** Philadelphia: Lea e Febiger, 1992. p. 248-279.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. **Guia para identificação: fungos actinomicetos e algas de interesse médico.** São Paulo: Sarvier, 1998.

LEIMANN B. C. Q.; PIZZINI C. V.; MAURO M. M.; ALBUQUERQUE P. C.; MONTEIRO P. C. F.; REIS R. S.; ALMEIDA-PAES R.; LAZÉRA M. S.; WANKE, B.; Pérez, M. A.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M. **Histoplasmosis in brazilian center: clinical form sand laboratory tests.** Revista Ibero-Americana de Micologia. 22: 141-146, 2005.

LOBOVA T. A., GEISELMAN C. K., MORI S.A. 2009. **Seed dispersal by bats in the Neotropics**. New York: New York Botanical Garden Press. 465 p.

MACHADO, Paulo R. L.; ARAUJO, M. I. A. S.; CARVALHO, L.; CARVALHO, E. M. **Mecanismos de resposta imune às infecções**. *An. Bras. Dermatol.* [online]. 2004, vol.79, n.6, pp.647-662. ISSN 0365-0596. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0365-05962004000600002>>. Acesso em: 24 de Set. 2016.

MALDONADO, E.; DEEPE, G. S. Jr.; WOODS, J. P.(2003).**Functional evidence that M antigen of *Histoplasma capsulatum* is a secret catalase and effect of secret catalase over expression on virulence of *Histoplasma capsulatum***. Washington: Smithsonian Institution Press, 1996,p.157-164.

MARINHO-FILHO, J. S.; SAZIMA, I.1989. **Activity patterns of six phyllostomid bat species in southeastern Brazil**. *Revista Brasileira de Biologia*, Rio de Janeiro, 49 (3): 777-782.

MARTINS R. C.; NIGRI D. H.; MONTEIRO A. S.; ADDOR G.; FRANCO C. A. B.; **Histoplasmose Pulmonar em Clínica Privada no Rio de Janeiro**. *Pulmão RJ* v.4 n.3 p. 197-201, 2005.

MCMURRAY, D. N.; GREER, D. L. **Immune responses in bats following intranasal infection with *Histoplasma capsulatum***. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, v. 8, p. 1036-1039, 1979.

MEDELLIN, R. A.; EQUIHUA, M.; AMIN, M. A.; 2000. **Bat diversity and abundance as indicators of disturbance in Neotropical rain forests**. *Conservation Biology*, 14: 1666-1675.

MEDOFF, G.; in MARESCA, B.; LAMBOWITZ, A.M.; KOBAYASHI, G.; PAINTER, A.; SACCO, M.; CARRATU, L. **Correlation between pathogenicity and temperature sensitivity in different strains of *Histoplasma capsulatum***. *J. clin. Invest.*, v.78, n. 6, p. 1638-1647, 1986.

Ministério do Meio Ambiente. **Parque Nacional do Araguaia - Plano de Manejo Fase 2**. (2000). Disponível em:<<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/unidades-de-conservacao/biomas-brasileiros/cerrado/unidades-de-conservacao-cerrado/2096-parna-do-araguaia>>. Acesso em: 15 de Out. 2016.

MOCHI A.; EDWARDS P. Q. **Geographical distribution of histoplasmosis and histoplasmin sensitivity**. *Bull World Hith Org.* 1952; 5: 259-91.

MURPHY W. J.; EIZERIK E.; O'BRIAN S. J.; SCALLY M. DOUADY C. J.; E RYDER.; STANHOPE M. J.; DE JONG W. W.; SPRINGER M. S.; **Resolution of the early placental mammal radiation using Bayesian Phylogenetics**. *Science*. v. 294, n. 5550. Washington 2001, p 2348-2351.

NÁJERA, E. **Investigación y desarrollo profesional** *In: La Formación em Epidemiologia para el Desarrollo de los servicios de salud Washington, D.C.:* OPAS, 1987. (Série Desarrollo de Recursos Humanos nº 88).

ODUM, P. E.; BARRETT, G. W. **Fundamentos de Ecologia**. Tradução da 5ª ed. norte americana, São Paulo: Cengage Learning, 2011.

PEÇANHA-MARTINS, A.C.; COSTA-NEVES, M. L.; LOPES, A. A. QUERINO-SANTOS, N. N.; ARAUJO, N. N.; MATOS-PEREIRA, K. Histoplasmosose apresentando como síndrome de dificuldade respiratória após exposição a fezes de morcego em um porão. *Bras. J. Infects Dis.* v. 4, n. 2, p. 103-106, 2000.

PETTIGREW, J.D. **Flying primates? Megabats have the advanced pathway from eye to mid brain**. *Science*, v.231, p.1304-1306, 1986.

PIRES G. A. **Áreas Úmidas e Patrimônio Natural: uma visão estratégica para a água em espaços transfronteiriços**. *Novos Cadernos NAEA*. v. 14, n. 1, p. 97-114, jun. 2011, ISSN 1516-6481Rio de janeiro.

PORTAL UFT. Disponível em: <<http://www.site.uft.edu.br/propesq/pesquisa/centro-de-pesquisa-cangucu.html>>. Acesso em: 18 de Set. 2015.

POWELL R. A. (2012). **Diverse perspectives on mammal home ranges or a home range is more than location densities**. *J. Mammal.* 93, 887-889.

PAGLIA, A. P., *et al.* 2012. **Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil**. 2ª ed. Occasional Papers in Conservation Biology, Nº 6. Conservation International, Arlington, VA. 76pp.

PAYA, C.V.; ROBERTS, G. D.; COCKERILL III, F. R. - Transient fungemia in **acute pulmonary histoplasmosis: detection by new blood-culturing techniques**. *J. infect. Dis.*, **156**: 313-315, 1987.

PRADO, M.; SILVA, M.B.; LAURENTI, R.; TRAVASSOS, L.R.; TABORDA, C.P. **Mortality due to systemic mycoses as a primary cause of death or in association with AIDS in Brazil: a review from 1996 to 2006**. *Mem Inst. Oswaldo Cruz*, v. 104, p. 513- 521. 2009.

REIS, N. R.; SHIBATTA, O. A.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA I. P. Sobre os morcegos brasileiros. *In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L. PEDRO, W. A. LIMA, I. P. Morcegos do Brasil*. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2007. p. 17-25.

REIS, N. R. dos *et al.* **Mamíferos do Brasil**. 2ª Ed. Londrina: Nelio R. dos Reis, 2011. 439 p. 153.

ROCHA H. L. H. (1912). **Histoplasmosis und epizootic lymphangitis**. *Arch. Schiffs. Tropenhyg.* 16: 79-85.

ROSSINI, T. F.; GOULART. L. S. **Histoplasmose Clássica: Revisão.** Revista Brasileira de Análises Clínicas. 38: 275-279, 2006.

RYDELL P.A.; RACEY(1995). **Streetlamps and the feeding ecology of insectivorous bats.** Symp. Zoo I. Soc. London 67: 291-308.

SAZIMA, M.; BUZATO, S.; SAZIMA, I. 1999.**Bat-pollinated flower assemblages and bat visitors at two Atlantic Forest Sites in Brazil.** Annal sof Botany 83:705-712.

SCHMIDT, S.; MACHADO, O. P.; GALVÃO, A. B. **Microepidemia de histoplasmose na zona rural de Brasília - DF - 1967:** II - Estudos Epidemiológicos e Parasitológicos da Fonte de Infecção. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [online]. 1973, vol.7, n.2, pp.107-115.ISSN 0037-8682.Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86821973000200006>.Acesso em: 24 de jun. 2015

SCHWARZ, J.; BAUM G. L. **The history of histoplasmosis, 1906 to 1956:** N Engl J Med 1957; 256: 253-8.

SCHULZE, M. D.; N.E. SEAVY e WHITACRE, D. F.; 2000. **A comparison of the phyllostomid bat assemblages in undisturbed Neotropical forest and in forest fragments of a Slash-and-Burn farming mosaic in Petén, Guatemala.** *Biotropica*, Washington, 32 (1): 174-184.

SIDRIM J. J. C.; MOREIRA J. L. B. **Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica.** Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999.

SIDRIM J. J. C.; ROCHA, M. F. G. **Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos.** Rio de Janeiro: Guanaba Koogan p. 135-161., 2004.

SIMMONS N. B.**The case for Chiropteran Monophily.** American Museum Noritates. Nº 3103. New York. 1994. 54p.

SIMMONS, N. B.; 2005. Order Chiroptera. Pp. 312-529 *In: Mammal species of the World: a taxonomic and geographic reference.* Third Edition, Volume 1 (D. E. Wilson and D. M Reeder, eds). Johns Hopkins University Press.

SHACKLETE, M.H.; DIERKS F.H.; GALE, N.B. ***Histoplasma capsulatum* recovered from bat tissues science.** V. 35, P.1135, 1962.

SHACKLETE, M.H.; HANSECLEVER H.F. **Variation of rates of natural infection with *Histoplasma capsulatum* in bats.** Am. j. Trop. Hyg.V.18 p. 53-57, 1969.

SHACKLETE, M.H.; DIERKS F.H.; GALE, N.B. ***Histoplasma capsulatum* recovered from bat tissues Science** v. 35, p.1135, 1962.

SILVA, F. **Guia para Determinação de Morcegos: Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: Martins Livreiro, 1985. 77p.

SODRÉ, M. M.; GAMA, A. R. da; ALMEIDA, M. DE. **Updated list of bat species positive for rabies in Brazil.** Rev. Inst. Med. Trop., São Paulo, v. 52, n.2, p. 75-81, 2010.

TADDEI, V. A. **Sistemática de quirópteros.** Boletim do Instituto Pasteur, São Paulo, v.1(2): 3-15. 1996.

TRABULSI, L. R. **Microbiologia.** 2ª Ed. Editora Atheneu. São Paulo: 1998. 25.

TUTTLE, M.D. Collecting techniques. In: BAKER, R.J.; JONES, J.K., JR.; AND CARTER, D.C. (Eds.). *Biology of bats of the New World family, Phyllostomatidae*, part I. **Special Publications The Museum, Texas Tech University**, v.10, p.71-88, 1976.

UNIS, G.; OLIVEIRA, F. de M.; SEVERO, L. C., **Histoplasmose Disseminada no Rio Grande do Sul.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v. 37, p. 463-468, 2004.

UNIS G.; ROESCH E. W.; SEVERO L. C. **Acute pulmonary histoplasmosis in the state of Rio Grande do Sul, Brazil.** J Bras Pneumol. 2005;31(1):52-9.

VAN DEN BUSSCHE R.A.; BAKER R.J.; HUELSENBECK J.P.; HILLIS D.M. **Base compositional bias and phylogenetic analyses: a test of the "flying DNA" hypothesis.** *Molecular. Phylogenetics and Evolution*. V.3 nº 3 New York, 1998, 408-16. Review. PMID: 10051393

VINCENTINI-MOREIRA, A. P.; KOHARA, V. S.; PASSOS, A. N.; FELICIANO, R. S.; BARRETO, L. C.; FREITAS, R. S.; SANTOS M. A. B. D. V.; GARCIA, M. C. A. **Microepidemia de histoplasmose no município de Arapeí, São Paulo.** Bepa, v. 5, n. 58, out. 2008.

WHEAT, J.L.; GUPTILL, L. (2011). PALMER, S.R.; SOULSBY, L.; TORGERSON, P.; BROWN, D.W.G. (eds.), ed. *Oxford Textbook of Zoonoses. Biology, Clinical Practice, and Public Health Control* 2ª ed. Oxford: Oxford University Press. p. 828-835.

WILSON, E. O. **A Situação atual da diversidade biológica em biodiversidade.** (Org.) Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 657 pp.

WOODS, J.P. ***Histoplasma capsulatum*: Molecular genetics, pathogenesis and responsive nesss to environment.** Fungal Genetic Biology, v.35, p.81-97, 2002.

ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M.; WANKE, B. **Isolamento do *Histoplasma capsulatum* de animais silvestres no município do Rio de Janeiro.** *Cad. Saúde Pública* [online]. 1986, vol.2, n.1, pp. 42-52. ISSN 1678-4464. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X1986000100004>.>Acesso em: 12 de mai. 2016.

ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M.; REISS, *et al.* (1999). **Molecular cloning, characterization, and expression of the M antigen of *Histoplasma capsulatum***. *Infect. Immun.* 67(4): 1947-53.

ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M.; MUNIZ, M. M.; PIZZINI, C. V.; GUIMARÃES, A. J. **Diagnóstico imunológico das micoses pulmonares**. Apostila Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2006.

ZEIDBERG L. D.; AJELLO L.; DILLON A.; RUNYON, L. C. **Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil**. *Am J. Publ Health* 1952; 42: 930-5