

Estudo biométrico de morcegos insetívoros em Portugal Continental

Contributo para a monitorização epidemiológica da raiva em fauna selvagem

Isabela Gervásio Fernandes^{1*}, María Casero³, Tiago Luís⁴, Ana Duarte⁴, Lina Costa², Jacinto Gomes², Laura Hernández- Hurtado².

¹ *Bichomix Veterinary Hospital, Portugal.*

² *Elvas School of Biosciences, Polytechnic Institute of Portalegre, Portugal.*

³ *Wildlife Rehabilitation and Research Center of Ria Formosa (RIAS), Ria Formosa Natural Park, Olhão, Portugal*

⁴ *Laboratório de Virologia, Unidade de Saúde Animal, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Oeiras, Portugal*

* Email: isabelaalexandra25@gmail.com

Summary

Rabies is a viral zoonotic disease caused by *Lyssavirus*, with bats representing important natural reservoirs in Europe. Despite the absence of endemic rabies in Portugal, surveillance of wild bat populations remains epidemiologically relevant. This study aimed to characterize biometrically insectivorous bats admitted to wildlife rehabilitation centres in mainland Portugal and to contribute to passive rabies surveillance. A total of 103 bat carcasses from six species were collected between 2016 and 2023 from three rehabilitation centres. Body weight, body length and wing length were recorded and compared with reference values. Many individuals presented reduced body weight, suggesting compromised body condition, while body and wing measurements were generally within expected physiological ranges. Rabies screening by RT-PCR was performed on brain tissue from 20 individuals, with all samples testing negative. These findings contribute to the biometric characterization of bats in Portugal and highlight the importance of passive surveillance programmes for zoonotic diseases such as rabies.

Keywords: Rabies; passive surveillance; insectivorous bats; biometry;

Resumo

A raiva é uma doença viral zoonótica causada por vírus do género *Lyssavirus*, sendo os morcegos importantes reservatórios naturais na Europa. Apesar da ausência de raiva endémica em Portugal, a vigilância das populações de morcegos silvestres continua a ser epidemiologicamente relevante. O presente estudo teve como objetivo caracterizar biometricamente morcegos insetívoros admitidos em centros de recuperação de fauna selvagem em Portugal Continental e contribuir para a vigilância passiva da raiva. Foram analisados 103 cadáveres pertencentes a seis espécies de morcegos, recolhidos entre 2016 e 2023 em três centros de recuperação. Foram registados parâmetros biométricos, incluindo peso corporal, comprimento do corpo e comprimento das asas, posteriormente comparados com valores de referência. Muitos indivíduos apresentaram pesos inferiores aos valores fisiológicos esperados, sugerindo condição corporal comprometida, enquanto as restantes medições biométricas se encontravam geralmente dentro dos intervalos descritos para cada espécie. A pesquisa do vírus da raiva foi realizada por RT-PCR em tecido encefálico de 20 indivíduos no INIAV, tendo todas as amostras apresentado resultados negativos. Os resultados obtidos contribuem para a caracterização biométrica de morcegos em Portugal e reforçam a importância dos programas de vigilância passiva de doenças zoonóticas, como a raiva.

Palavras-chave: Raiva; vigilância passiva; morcegos insetívoros; biometri

Introdução

A raiva é uma doença viral zoonótica causada por vírus do género *Lyssavirus*, caracterizada por uma encefalite aguda progressiva que afeta o sistema nervoso central e que, após o aparecimento dos sinais clínicos, é quase invariavelmente fatal. (Maio, 2019) Apesar de se encontrar erradicada na maioria dos países da União Europeia, incluindo Portugal, continuam a ser reportados casos esporádicos,

frequentemente associados à exposição a animais silvestres, nomeadamente morcegos, considerados importantes reservatórios naturais do vírus (Banyard, 2020; DGAV, 2020).

Na Europa, várias espécies de morcegos têm sido identificadas como hospedeiros de diferentes variantes de *Lyssavirus*, desempenhando um papel relevante na epidemiologia da doença. A transmissão ocorre

principalmente por contacto direto, através de mordeduras ou arranhões, embora a exposição a aerossóis em colónias densas também tenha sido descrita. Apesar do reduzido número de casos reportados em humanos, o risco potencial associado à interação com morcegos justifica a manutenção de sistemas de vigilância ativa, particularmente em espécies com maior proximidade a ambientes antropizados (Maio, 2019).

Em Portugal, a vigilância da raiva em fauna selvagem é limitada, sendo a testagem maioritariamente realizada em animais mortos ou suspeitos. Neste contexto, os centros de recuperação de fauna selvagem assumem um papel fundamental, não só na reabilitação de animais, mas também como fonte de informação epidemiológica relevante. Para além da deteção do vírus, a análise de parâmetros biométricos e do estado geral dos indivíduos permite avaliar condições de saúde, fatores de risco e possíveis causas de mortalidade (DGAV, 2020).

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a presença do vírus da raiva em morcegos provenientes de centros de recuperação em Portugal Continental, recorrendo a técnicas de biologia molecular, bem como caracterizar biometricamente os indivíduos analisados. Este trabalho pretende contribuir para o conhecimento da situação epidemiológica da raiva em morcegos em Portugal e para a monitorização do estado de saúde destas populações.

Materiais e métodos

O estudo foi conduzido entre fevereiro e junho de 2023, tendo sido analisados 103 cadáveres de morcegos recolhidos em Portugal Continental entre 2016 e 2023, provenientes de centros de recuperação de fauna selvagem (CRASM - Centro de Recuperação de Animais Selvagens de Montejunto, CERAS - Centro de Estudos e Recuperação de Animais Selvagens e RIAS - Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens). Foram incluídos indivíduos de diferentes espécies, idades e sexos, sendo excluídos os cadáveres em avançado estado de decomposição ou com condições inadequadas para análise. As necropsias foram realizadas em ambiente controlado, numa câmara de fluxo laminar, garantindo condições de biossegurança. Foi utilizado equipamento de proteção individual (bata, luvas e máscara), sendo empregue um novo par de luvas e lâmina de bisturi para cada indivíduo, de modo a evitar contaminações cruzadas. Antes da necropsia, os cadáveres foram descongelados à temperatura ambiente durante aproximadamente 10–15 minutos. Para cada espécime, procedeu-se à recolha de dados biométricos, incluindo peso corporal (com balança de precisão), comprimento do corpo e comprimento da asa (com régua graduada) (Figura 1). Foi ainda realizada a identificação da espécie e sexagem com base em características morfológicas externas.

Paralelamente, foi avaliado o estado geral dos indivíduos, nomeadamente condição corporal, presença de lesões, fraturas ou alterações macroscópicas. Durante a necropsia, foram recolhidos órgãos como fígado, pulmões e intestinos, quando viáveis, para estudos complementares. A cabeça completa de cada indivíduo foi separada e acondicionada para análise virológica. Todas as amostras foram devidamente identificadas e armazenadas a -20 °C até processamento laboratorial. A deteção do vírus da raiva foi realizada no laboratório de virologia através de técnicas moleculares. Após secção sagital das cabeças, foi recolhido tecido encefálico, seguido de extração de ácidos nucleicos e realização de RT-PCR, de acordo com procedimentos recomendados.



Figura 1 Medição da asa de *P.pipistrellus*

Resultados

Identificação taxonómica e por sexo

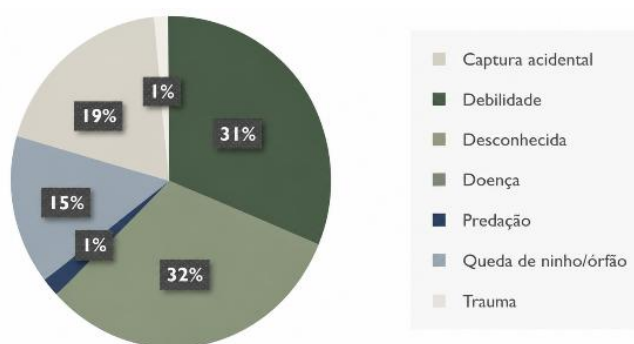
Foram analisados 103 indivíduos pertencentes a seis espécies de morcegos, provenientes de três centros de recuperação de fauna selvagem em Portugal (Tabela 1). A espécie mais representada foi *Pipistrellus pipistrellus* (Morcego-anão) seguida de *Eptesicus serotinus* (Morcego-hortelão-escuro) e *P. pygmaeus* (Morcego-pigmeu). A maioria dos indivíduos foi identificada quanto ao sexo, com predominância de machos, e distribuiu-se por diferentes classes etárias, incluindo crias, juvenis, sub-adultos e adultos.

Causas de admissão nos centros de recuperação

As causas de admissão dos morcegos nos centros de recuperação, registadas pelos respetivos centros de fauna selvagem, encontram-se apresentadas na Figura 2.

Tabela 1. Número de indivíduos por espécie e sexo

	Machos	Fêmeas	Ind. ¹	Total
Morcego-anão (<i>Pipistrellus pipistrellus</i>)	60	22	0	82
Morcego-hortelão-escuro (<i>Eptesicus serotinus</i>)	5	4	0	9
Morcego-pigmeu (<i>Pipistrellus pygmaeus</i>)	2	4	1	7
Morcego-de-peluiche (<i>Miniopterus schreibersii</i>)	2	1	0	3
Morcego-rabudo (<i>Tadarida teniotis</i>)	0	1	0	1
Morcego-de-ferradura-pequeno (<i>Rhinolophus hipposideros</i>)	0	1	0	1

¹ Sexo indeterminado**Figura 2.** Causas de admissão dos morcegos

Caracterização biométrica

No que respeita aos dados biométricos, foram registados o peso corporal, comprimento do corpo e comprimento das asas (Tabela 2). De forma geral, os valores de comprimento encontraram-se dentro dos intervalos descritos para cada espécie. No entanto, observou-se que muitos indivíduos apresentavam pesos inferiores aos valores fisiológicos de referência, particularmente em *P. pipistrellus*. As médias e desvios padrão foram calculados por espécie, sexo e classe etária, evidenciando variações consistentes com o desenvolvimento dos indivíduos.

Resultados das necropsias

A avaliação macroscópica durante as necropsias revelou que vários indivíduos apresentavam condição corporal reduzida, bem como lesões externas, incluindo fraturas e danos nas membranas alares. A nível interno, foram observadas alterações como hemorragias torácicas e abdominais, presença de líquido livre e, em alguns casos, rutura do diafragma.

Deteção molecular de Lyssavirus

No âmbito da análise molecular para deteção do vírus da raiva, foram testados 20 indivíduos através de RT-PCR em amostras de tecido encefálico. Todos os exemplares

analizados apresentaram resultados negativos, incluindo 19 indivíduos da espécie *P. pipistrellus* e um de *P. pygmaeus*. Estes resultados não evidenciam a presença do vírus da raiva nas amostras analisadas.

Tabela 2. Dados biométricos por espécie

Espécie		<i>n</i>	Peso (g) Média ± DP	Corpo ¹ (cm) Média ± DP	Asa ¹ (cm) Média ± DP
<i>P. pipistrellus</i>		82			
Sexo	♂	47	2,55 ± 1,17	5,6 ± 1,20	6,2 ± 2,31
	♀	35	2,58 ± 1,07	5,7 ± 1,13	6,1 ± 2,08
Idade	cria	22	1,83 ± 1,00	4,8 ± 1,03	4,2 ± 1,79
	juvenil	2	3,34 ± 0,10	6,4 ± 0,14	7,7 ± 0,99
	subadulto	1	2,18	6,5	8,2
	adulto	34	3,50 ± 0,70	6,6 ± 0,70	7,9 ± 1,30
<i>P. pygmaeus</i>		7			
Sexo	♂	2	4,80 ± 0,66	6,1	6,5
	♀	4	3,44 ± 1,13	7,2 ± 1,14	7,7 ± 0,40
Idade	subadulto	1	2,85	7,5	6,2
	adulto	5	4,10 ± 1,16	7,2 ± 1,17	7,5 ± 0,74
<i>E. serotinus</i>		9			
Sexo	♂	4	20,91 ± 4,58	13,0 ± 0,84	11,7 ± 1,86
	♀	5	20,83 ± 5,11	14,5 ± 0,46	11,8 ± 1,21
Idade	subadulto	3	20,81 ± 6,03	12,9 ± 0,71	11,3 ± 1,54
	adulto	6	20,91 ± 4,23	14,2 ± 0,57	12,0 ± 1,65
<i>M. schreibersii</i>		3			
Sexo	♂	2	10,80 ± 0,51	10,7 ± 0,21	12,5 ± 1,27
	♀	1	9,93	10,5	12,2
Idade	adulto	3	10,50 ± 0,51	10,6 ± 0,17	12,4 ± 0,92
<i>T. teniotis</i>		1			
Sexo	♀	1	22,98	12,5	13,8
<i>R. hipposideros</i>		1			
Sexo	♀	1	5,36	6,0	8,0

¹ Comprimento do corpo e da asa (membro anterior)

Discussão

Os resultados obtidos no presente estudo não evidenciaram a presença do vírus da raiva nos morcegos analisados, uma vez que todas as amostras testadas por RT-PCR apresentaram resultado negativo. Este achado está em consonância com o estatuto epidemiológico de Portugal como país indemne de raiva, onde não são registados casos autóctones desde 1961. No entanto, esta ausência de deteção não deve ser interpretada como ausência de risco, sobretudo considerando que, na Europa, os morcegos constituem reservatórios reconhecidos de diferentes variantes de *Lyssavirus*, nomeadamente o European Bat Lyssavirus (EBLV) (Banyard, 2020). Assim, a vigilância passiva, baseada na análise de indivíduos mortos ou debilitados, continua a ser fundamental para a deteção precoce de eventuais introduções ou circulação viral.

Importa salientar que apenas uma fração dos indivíduos recolhidos foi efetivamente testada para a presença do vírus, o que limita a robustez das conclusões epidemiológicas. A reduzida dimensão amostral ao nível da análise molecular, aliada ao caráter oportunista da recolha (centrada em animais admitidos em centros de recuperação), pode introduzir viés de seleção, não sendo representativa da população selvagem em geral. Adicionalmente, a degradação de algumas amostras devido ao tempo de armazenamento ou às condições de conservação pode influenciar a qualidade do material genético, afetando potencialmente a sensibilidade da técnica de deteção.

A distribuição das espécies analisadas revelou uma clara predominância de *Pipistrellus pipistrellus*, o que poderá refletir não só a sua elevada abundância e ampla distribuição geográfica em Portugal, mas também a sua maior proximidade a ambientes urbanos e periurbanos. Esta proximidade aumenta a probabilidade de deteção por parte da população e subsequente encaminhamento para centros de recuperação. Por outro lado, espécies como *Miniopterus schreibersii* ou *Rhinolophus hipposideros*, com estatutos de conservação mais sensíveis e hábitos ecológicos mais restritivos, encontram-se sub-representadas, o que pode limitar a compreensão global da dinâmica das populações de morcegos em Portugal (Rainho, 2013).

Relativamente às causas de ingresso nos centros de recuperação, a elevada proporção de casos classificados como “desconhecidos” constitui uma limitação importante, dificultando a identificação de fatores de risco específicos. Ainda assim, a debilidade e o trauma surgem como causas relevantes, sugerindo a influência de fatores ambientais e antrópicos (Razón, 2023). A debilidade, frequentemente associada a desidratação e desnutrição, poderá estar relacionada com alterações na disponibilidade de alimento, nomeadamente a diminuição de insetos (Delso, 2020), consequência do uso de pesticidas e das alterações climáticas. Por sua vez, os casos de trauma poderão resultar de colisões com infraestruturas humanas, como edifícios, veículos e parques eólicos, bem como de predação por animais domésticos, como gatos (Birdlife, 2021).

Os dados biométricos obtidos reforçam esta interpretação, evidenciando que muitos indivíduos apresentavam pesos inferiores aos valores fisiológicos de referência. Estes dados sugerem que uma proporção significativa dos morcegos admitidos nos centros de recuperação já se encontrava num estado comprometido antes da sua recolha. No entanto, é importante considerar que fatores como o tempo decorrido até à recolha, as condições de transporte e armazenamento, nomeadamente a congelação prolongada, podem também contribuir para a perda de massa corporal. Em contraste, os comprimentos corporais e das asas apresentaram-se, de forma geral, dentro dos intervalos esperados, indicando que não existem alterações estruturais significativas e que as

diferenças observadas ao nível do peso são mais indicativas de alterações fisiológicas do que morfológicas.

As observações macroscópicas realizadas durante as necropsias, incluindo a presença de lesões traumáticas, hemorragias internas e alterações nos órgãos, corroboram a existência de múltiplos fatores de stress e mortalidade nestas populações (ICNF, 2017). Estes dados evidenciam o papel crucial dos centros de recuperação não apenas na reabilitação de indivíduos, mas também como plataformas de recolha de informação científica relevante para a monitorização da saúde das populações selvagens (Birdlife, 2021).

De um ponto de vista epidemiológico, este estudo contribui para o reforço do conhecimento sobre a ausência aparente de circulação do vírus da raiva em morcegos em Portugal. No entanto, considerando a mobilidade destas espécies, incluindo movimentos migratórios e a proximidade com regiões onde foram reportados casos de *Lyssavirus*, como Espanha, é fundamental manter e reforçar os sistemas de vigilância. A implementação de programas de monitorização mais abrangentes, incluindo amostragem ativa e aumento do número de indivíduos testados, poderá melhorar significativamente a capacidade de deteção precoce.

Em conclusão, apesar de não ter sido detetada a presença do vírus da raiva, os resultados obtidos evidenciam a importância de uma abordagem integrada que combine vigilância virológica com avaliação do estado de saúde dos indivíduos. Esta abordagem é essencial para compreender melhor os fatores que afetam as populações de morcegos e para desenvolver estratégias eficazes de conservação e saúde pública.

Agradecimentos: Este estudo foi desenvolvido no âmbito do Trabalho Final de Licenciatura em Enfermagem Veterinária da Escola Superior de Biociências de Elvas, Instituto Politécnico de Portalegre.

Bibliografia

- Banyard, A. H. (2020). Bat rabies. In A. R. Fooks & A. C. Jackson (Eds.), *Rabies: Scientific basis of the disease and its management* (4th ed., pp. 215–267). Academic Press.
- BirdLife Spain. (2021, December). Recomendaciones para la protección de la biodiversidad que utiliza los edificios como lugar de refugio o de nidificación.
- Delso, D. (2020). El declive de los insectos en España: por qué desaparecen a un ritmo que “asusta”. *El Español*.
- Direção-Geral de Alimentação e Veterinária. (2020). Plano de contingência para a raiva em Portugal. DGAV.
- Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas. (2017). Diretrizes para a consideração de morcegos em programas de monitorização de parques eólicos de Portugal Continental. ICNF.
- Maio, M. (2019). Breve história da raiva em Portugal. Lisboa, Portugal.

Rainho, A., & Palmeirim, J. (2013). Atlas dos morcegos de Portugal Continental. Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas.

Razón, L. (2023). Los murciélagos amenazados por la desaparición de sus hábitats. La Razón.