

BIOLOGÍA MOLECULAR

# Un equipo de investigadores detectó coronavirus en murciélagos

Un estudio liderado por el Instituto de Virología del INTA demostró la circulación del virus en dos especies de murciélagos insectívoros de la Argentina. Es el primer reporte del virus en estos mamíferos en el país. La determinación requirió poner a punto una técnica RT-PCR, que detecta múltiples coronavirus de diferentes especies animales silvestres y domésticas.

POR DANIELA NOVELLI  
FOTOS GENTILEZA INVESTIGADORAS

Los murciélagos son los únicos mamíferos capaces de volar y uno de los grupos más importantes en diversidad de especies y presencia en los ecosistemas: se los puede encontrar en desiertos, montañas, selvas, bosques y praderas, mientras que solo están ausentes en las regiones polares. En todo el mundo existen unas 1.400 especies –algunas se mueven en colonias y otras no–, más de 300 están en Sudamérica y 67 en la Argentina.

Hay murciélagos blancos, negros, marrones, amarillos y rojizos y sus fuentes de alimentación son variadas y abarcan todos los gremios tróficos. En términos ambientales, cumplen funciones de controladores biológicos, ya que, según las especies, colaboran en los procesos de polinización, control de insectos plaga y hasta en la diseminación de semillas que ayudan restaurar zonas boscosas o selváticas degradadas.

Además de la caracterización de las especies cuyo estudio se ha profundizado en los últimos años –sumados a los esfuerzos para su conservación–, el sistema inmunológico de los murciélagos resulta un interrogante para la ciencia, principalmente porque son hospedadores de múltiples virus que pueden contagiar a otros animales y a los seres humanos, pero no desarrollan síntomas

de enfermedad. La única excepción conocida hasta el momento es el virus de la rabia, que sí los afecta y puede causarles la muerte.

En esta línea, la bibliografía científica publicada indica que los murciélagos constituyen una de las mayores fuentes o reservorios de virus zoonóticos en el mundo. Se han reportado más de 60 virus que pueden ser transmitidos al ser humano por diferentes especies de estos mamíferos, entre los que se destacan la rabia, el ébola, y los coronavirus SARS y MERS –causantes de las pandemias en 2003 y 2013 originadas en Asia–.

Recientemente se identificaron nuevos virus de Influenza A (Bat-FLUAVs) en murciélagos de especies frugívoras de Guatemala y Perú. Este antecedente captó la atención de los investigadores del Instituto de Virología del INTA, quienes llevan adelante un programa de vigilancia activa del Virus de Influenza Aviar (AIV) en aves silvestres para hacer un seguimiento del virus en el hospedador natural en la Argentina.

La inquietud los llevó a formar un equipo junto con investigadores del Conicet, de la Universidad de Georgia (Estados Unidos), de la Universidad de Rosario, del Instituto de Recursos Biológicos del INTA y del Museo Provincial de Ciencias Naturales “Dr. Ángel Gallardo” (Rosario, Santa

Fe), con los objetivos de realizar una vigilancia activa sobre diferentes especies de murciélagos que habitan en el país y evaluar la presencia de Bat-FLUAVs y coronavirus, ambos agentes infecciosos de rápida dispersión en seres humanos que causan severas infecciones respiratorias.

Basado en más de 200 muestras, el estudio no arrojó positivos para Bat-FLUAVs, pero sí demostró la circulación de coronavirus en dos especies de murciélagos insectívoros –*Tadarida brasiliensis* y *Molossus molossus*– provenientes de las provincias de Santa Fe y Córdoba respectivamente. Los primeros estudios de secuenciación de estos virus confirmaron la circulación de alpha-coronavirus diferentes en los murciélagos estudiados y que tienen poca similitud con alpha-coronavirus de otras partes del mundo.

Los murciélagos son hospedadores de múltiples virus que pueden contagiar a otros animales y a los seres humanos, pero no desarrollan síntomas de enfermedad.

“Esto indicaría que son únicos, que no han sido descriptos previamente y que, por lo tanto, son candidatos a más estudios”, observó Agustina Rimondi, responsable del Laboratorio Influenza del Instituto de Virología del INTA.

El hecho adquiere relevancia científica, debido a que se trata del primer reporte del virus en murciélagos en la Argentina. La determinación requirió la puesta a punto de una técnica RT-PCR que, a su vez, sirve para la detección de múltiples grupos de coronavirus (alpha, beta, gamma y delta, según su clasificación) en diferentes animales productivos (cerdos, bovinos y aves). Por su alcance, se la conoce como “RT-PCR Pancoronavirus”.

Rimondi destacó que “los hallazgos obtenidos demuestran la importancia de realizar vigilancia de enfermedades zoonóticas en los murciélagos que circulan en la Argentina, sobre todo para generar datos epidemiológicos en este reservorio animal, poco estudiado en nuestro país, que permitan anticipar una posible infección en los seres humanos”.

Con el apoyo de la Universidad de Georgia, los investigadores del INTA realizaron una búsqueda bibliográfica e identificaron un protocolo para el desarrollo de una técnica RT-PCR Pancoronavirus que detecta diferentes grupos de coronavirus en distintas especies (animales silvestres y de producción e, incluso, humanos). El protocolo, cuyos autores son Leen Vijgen, Elie Moës, Els Keyaerts, Sandra Li

y Marc Van Ranst, fue publicado en 2008 en el libro “SARS- and Other Coronaviruses. Laboratory Protocols”.

“El hallazgo nos pareció interesante porque era una técnica que podíamos reconstruir con los recursos que disponíamos en el INTA y que sabíamos que funcionaba para la detección de coronavirus en murciélagos”, explicó Rimondi.

Para comprobar la eficacia de la técnica reconstruida a partir de la bibliografía en el INTA, los investigadores recurrieron a muestras de casos positivos de coronavirus (ya confirmados) en aves, cerdos y bovinos. “Las pruebas corroboraron la presencia del virus y, por ende, permitieron validar que el sistema funcionaba y que iba a permitir la detección de coronavirus en murciélagos que los tuvieran”, destacó Rimondi.

Junto con Rimondi, el equipo de investigación está integrado por: Lucas Ferreri y Daniel Perez (*Poultry Diagnostic and Research Center*, Universidad de Georgia); Elisa Bolatti, Diego Chouhy y Adriana Giri (Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario e Instituto de Biología Molecular y Celular del Conicet); Valeria Olivera (Instituto de Virología del INTA); Julieta Decarre (Instituto de Recursos Biológicos del INTA); Germán Saigo y Eugenia Montani (Museo Provincial de Ciencias Naturales “Dr. Ángel Gallardo” de Rosario y Programa de Conservación de los Murciélagos de

Argentina) y Violeta Di Domenica (Programa de Conservación de los Murciélagos de Argentina).

### Cómo se realizó el estudio

El trabajo de campo se desarrolló entre enero y abril de 2017 a partir de la captura de murciélagos (directa y con red de niebla). Se tomaron muestras de heces y se efectuaron hisopados bucales y anales en murciélagos provenientes de Córdoba y Santa Fe. También se consiguieron otros datos como especie, sexo, edad relativa y condición reproductiva. Los materiales colectados en Córdoba fueron enviados por la investigadora Marcela Uhart, quien colabora en el programa de vigilancia de aves silvestres.

Las muestras se identificaron según especie, lugar y día y organizadas en pooles, que permitieron agilizar el análisis de laboratorio y disminuir los costos de procesamiento. En este caso, cada pool estuvo formado por cinco muestras de un mismo material de diferentes animales. “En el caso de los pooles con detección positiva del virus, se vuelve a la muestra original y se la analiza de manera individual”, apuntó Rimondi.

El material genético fue analizado mediante la técnica RT-PCR convencional específica para cada familia viral (Bat-FLUAVs y Pancoronavirus, respectivamente).

Como resultado del trabajo de campo, se lograron capturar 107 murciélagos



Los investigadores se propusieron realizar una vigilancia activa sobre diferentes especies de murciélagos que habitan en el país y evaluar la presencia de virus de Influenza A y coronavirus.

## Vivir en colonia



El estudio no arrojó positivos para virus Influenza A, pero sí demostró la circulación de coronavirus en dos especies de murciélagos insectívoros de Santa Fe y Córdoba.

insectívoros de nueve especies; 58 en Santa Fe (especies *Tadarida brasiliensis*, *Eptesicus diminutus*, *Eptesicus furinalis*, *Eumops bonariensis*, *Eumops patagonicus*, *Molossus molossus* y *Molossus* sp.) y 49 en Córdoba (especies *Tadarida brasiliensis*, *Myotis dinellii* y *Myotis* sp.).

Se procesaron un total de 237 muestras: ninguna presentó Bat-FLUAVs. Por su parte, se detectó coronavirus en ocho pooles de heces, cuatro pooles de hisopado bucal y tres de hisopado anal, conformados por las especies *Tadarida brasiliensis*, *Eumops bonariensis*, *Molossus molossus*, *Molossus* sp., y *Myotis* sp.

“Las muestras positivas de *Tadarida brasiliensis* capturados en Rosario (Santa Fe) resultaron ser alpha-coronavirus, con poca similitud genética respecto de los alpha-coronavirus presentes en murciélagos asiáticos entre 2005 y 2010”, señaló Rimondi. Para lograr esta identificación, se realizó la secuenciación del amplicón obtenido y, gracias a la utilización de bases de datos de secuencias genéticas, se halló que era un

*Tadarida brasiliensis* es una especie insectívora de murciélagos, que se caracteriza por vivir en colonias formadas por miles de animales. En la Argentina, hay tres colonias de esta especie declaradas “Sitios Importantes para la Conservación de los Murciélagos (SICOM)” reconocidos por la Red Latinoamericana y del Caribe para la Conservación de los Murciélagos: “Escaba” en Tucumán, “La Cueva de los Murciélagos” en La Calera –Córdoba– y “Facultad de Derecho” en Rosario –Santa Fe–. “Esta última es la única emplazada en una ciudad y se trata de una colonia de hembras que vienen en el último período de la preñez o directamente a parir, pasan la lactancia de las crías y se van cuando las crías vuelan y consiguen alimento”, describió Montani. Según los registros históricos, esta colonia tiene más de 100 años en el lugar: el actual ático de la Facultad de Derecho de la Universidad Nacional de Rosario (originalmente, el Palacio de Justicia).

Entre 2013 y 2014, se calculó la cantidad de individuos que integraba la colonia a partir de la metodología utilizada en un estudio anterior (1989-1990). La estimación señaló que, al final de la temporada, la colonia tiene alrededor de 30.000 animales, mientras que en el estudio previo el registro era de 64.000. “Esta disminución es concordante con la modificación del edificio, ya que en 2003 sufrió un incendio y se acotó en el espacio destinado al ático donde se ubica la colonia”, explicó Montani.

En Estados Unidos, hay estudios que indican que esta especie puede emigrar unos 1800 kilómetros. De acuerdo con esta estimación, podría pensarse que las colonias que habitan en la Argentina provienen de países limítrofes como Brasil, Paraguay, Uruguay y Bolivia.

Cuando la colonia está en el ático, las crías se ubican en los ladrillos a la vista –quizás porque es una superficie de la que se pueden agarrar– y las hembras, en las cabriadas. “Además, esta especie tiene un sistema de maternidad en el que cada madre se ocupa de alimentar y acicalar a su cría, pero, cuando no están bajo su atención, hay hembras que ofician de cuidadoras de las crías”, especificó Montani.

Desde el punto de vista virológico, Bolatti afirmó que “pese al estrecho contacto que los murciélagos mantienen con los seres humanos en la ciudad, no se ha incrementado la aparición de enfermedades zoonóticas a gran escala”.

“Solo se reportaron algunos casos de rabia en humanos, en general por contagio de murciélago a un animal intermediario como gatos o perros”, detalló la investigadora, al tiempo que recomendó la vacunación de animales domésticos. Por su parte, “los casos que fueron provocados por la acción directa de murciélago a humano ocurrieron, principalmente, en chicos que quisieron tocar o agarrar animales que yacían tirados en el piso (síntomatología característica de cuando están enfermos de rabia)”.

alpha-coronavirus, con una baja identidad nucleotídica (83 %) con otras secuencias de alpha-coronavirus asiáticos.

De acuerdo con las observaciones de laboratorio, la investigadora detalló que “en los pooles compuestos por heces, se pudo identificar con mayor facilidad la presencia de coronavirus, más que en las muestras provenientes de hisopados anales y bucales”. Se cree que el principal motivo es que las heces constituyen un volumen mayor de material con carga viral para analizar en detrimento del que puede obtenerse a través de un hisopado.

Respecto del trabajo a futuro, la investigación apunta a avanzar en la caracterización genética de los virus hallados con el objetivo de profundizar el conocimiento de los coronavirus circulantes en murciélagos de la Argentina.

### Murciélagos: controladores biológicos

Según la “Nueva guía de los murciélagos de Argentina”, publicada en febrero de 2020 por la Fundación Programa de Conservación de los Murciélagos de Argentina (PCMA), en la Argentina el

La determinación requirió la puesta a punto de una técnica RT-PCR que detecta múltiples grupos de coronavirus en especies animales silvestres y domésticas.

El hecho adquiere relevancia científica, debido a que se trata del primer reporte del virus en murciélagos en la Argentina.

número de especies sigue creciendo a medida que se extienden los estudios sobre el grupo de mamíferos. De las 61 especies citadas en 2009, en la actualidad se identifican 67 especies, pertenecientes a 29 géneros y cinco familias. Recientemente se incorporó una familia, los embalonúridos (Emballonuridae).

En el país, al igual que en el mundo, hay especies de todos los gremios tróficos: frugívoras (frutas), nectarívoras (néctar), insectívoras o artropodófagas –predominantes en cantidad–, pescadoras, carnívoras y hematófagas. En cuanto a su comportamiento, hay algunas que se organizan en colonias, otras que forman refugios y otras más solitarias. Algunas son más comunes de las zonas rurales y otras, de las zonas urbanas.

En esta línea, Eugenia Montani –investigadora del Museo Provincial de Ciencias Naturales “Dr. Ángel Gallardo” de Rosario– destacó que “las especies insectívoras regulan las poblaciones de insectos perjudiciales para la agricultura, acción que evita que algunas especies se conviertan en plagas de cultivos, y de otros que son vectores de enfermedades como malaria y fiebre amarilla, que afectan a humanos y animales”.

Entre los ejemplos de balance ambiental, Montani –quien también forma parte del Programa de Conservación de los Murciélagos de Argentina (PCMA)– explicó que “las especies frugívoras contribuyen como reguladores de comple-

jos procesos ecológicos en los bosques tropicales y son fundamentales para la diseminación de semillas que ayudan a propagar plantas y restaurar zonas boscosas o selváticas degradadas”.

Asimismo, la investigadora se refirió al rol que cumplen algunas especies de murciélagos en México, debido a que se encargan de la polinización de las plantaciones de agaves utilizadas para la producción de aguardientes como mezcal y tequila.

De acuerdo con la “Nueva guía de los murciélagos de Argentina”, los murciélagos “tienen un gran potencial como indicadores de niveles de intervención en el hábitat, y pueden ofrecer una buena visión del estado de conservación de un ecosistema, debido a que explotan diferentes recursos tróficos”.

Además, la publicación afirma que los animales “viven mucho tiempo y tienen bajas tasas de reproducción y ciclos poblacionales”. Y agrega: “Estas características los hacen vulnerables en hábitats modificados y, como consecuencia, la alteración del hábitat ha llevado a la declinación de muchas de sus poblaciones naturales, algunas en peligro o amenazadas”.

La PCMA forma parte de la Red Latinoamericana y del Caribe para la Conservación de los Murciélagos (RELCOM), que tiene líneas de trabajo en 22 países.

### Murciélagos: reservorios virales

Para Elisa Bolatti, investigadora de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario, los murciélagos son los únicos mamíferos capaces de volar, tienen un metabolismo muy bajo –porque lo necesitan para el vuelo– y su sistema inmune está adaptado a esa capacidad.

“Se ha visto que son portadores de microorganismos, entre los que se destacan una diversidad de virus, para los que no desarrollan ningún tipo de enfermedad, es decir, los llevan, pero no manifiestan sintomatología”, señaló Bolatti, quien también trabaja en el Instituto de Biología Molecular y Celular del Conicet en Rosario –Santa Fe–. Y añadió: “La excepción son los virus del género *Lyssavirus*, más conocido como virus de la rabia, que les provoca un cuadro de desmejoramiento que los conduce a la muerte”.

Estas características hacen que los murciélagos tengan infecciones persis-

tentes y sean capaces de llevar una gran cantidad de virus. A su vez, “hay otros factores asociados con la biología de la especie que promueven la dispersión geográfica de los virus y la posibilidad de que muchos virus lleguen a colonizar nichos u otras especies con más facilidad respecto de la capacidad de otros animales hospedadores”, explicó Bolatti.

Entre los factores biológicos asociados, se destacan la capacidad de los murciélagos para volar y trasladarse de un lugar a otro, la tendencia a movilizarse agrupados en colonias (según la especie), su amplia distribución en el mundo y la existencia de diferentes especies (más de 1.200 en el planeta).

A este orden, debe sumarse que muchos de los virus que contraen, como el coronavirus, tienen la capacidad por sí mismos de mutar y de adaptarse a diferentes especies. “Esta compleja conjunción de factores hace que muchas de las enfermedades zoonóticas tengan su hospedador natural en el murciélago”, resumió Bolatti.

Los coronavirus pertenecen a una gran familia de virus llamada *Coronaviridae*, que se divide en dos subfamilias: *Torovirinae* y *Coronavirinae*. Los miembros de la subfamilia *Coronavirinae* se clasifican en cuatro grupos o géneros: alpha-, beta-, gamma- y delta-coronavirus según sus propiedades antigénicas y relación filogenética. Casi todos los alpha- y beta-coronavirus tienen hospedadores mamíferos, los gammacoronavirus –en general– infectan aves y los delta-coronavirus recientemente han sido hallados en aves y cerdos.

En el caso de los murciélagos, registran alpha- y beta-coronavirus específicos. “El salto del virus del animal al ser humano es consecuencia directa de la acción humana en su avance hacia el ecosistema”, afirmó Bolatti, quien agregó: “Si bien hay ciertos factores asociados con la biología de los murciélagos que facilitan la dispersión del virus e, incluso, la existencia de especies ‘urbanas’ que tienen su hábitat en la ciudad, en términos generales no debería suceder ese salto, ya que son animales que evaden cualquier tipo de contacto”.

**Más información:** Agustina Rimondi [rimondi.agustina@inta.gob.ar](mailto:rimondi.agustina@inta.gob.ar); Eugenia Montani [euge.montani@gmail.com](mailto:euge.montani@gmail.com); Elisa Bolatti [elisabolatti@gmail.com](mailto:elisabolatti@gmail.com)