

# BUSQUEDA DE VIRUS RABICO EN MURCIELAGOS DEL PARQUE NATURAL EL REFUGIO

SEARCH OF RABIES VIRUS IN THE NATURAL PARK EL REFUGIO

María Fanny Castiblanco de V (1)

Carlos Jaramillo T (2)

Javier Muñoz A (3)

## RESUMEN

En el período comprendido entre enero de 1984 y enero de 1985, se realizó en el parque natural El Refugio (departamento de Antioquia, Colombia), un programa de captura de murciélagos con el fin de clasificar las especies recolectadas y detectar la presencia o no del virus de la rabia (*Lyssa virus*) en el tejido cerebral y en la grasa parda interescapular de estos especímenes. Para la determinación taxonómica de los murciélagos, se tomaron las medidas pertinentes siguiendo la metodología descrita por Handley (1975). Para el análisis rábico se utilizó la técnica de Sellers, los Anticuerpos Fluorescentes (AF) y la Prueba Biológica (PB). Se analizaron 220 murciélagos pertenecientes a dos familias, seis subfamilias y 17 especies. Todas las pruebas de laboratorio para análisis rábico resultaron negativas.

## ABSTRACT

Between January 1984 and January 1985, bats were collected from the natural park El Refugio (Department of Antioquia, Colombia). Species were classified (Handley, 1975) and brains and brown fatty tissue were checked for rabies virus (*Lyssa virus*) by immunofluorescence, sellers and mouse inoculation techniques. A total of 220 individuals, corresponding to two families, six subfamilies and 17 species were examined. All of them gave negative results for the virus.

## INTRODUCCION

La rabia es una enfermedad viral de distribución mundial. En el hombre es una encefalitis aguda que se presenta en forma accidental cuando el virus es transmitido por contacto con varios animales de sangre caliente (Jaramillo, 1984). Esta infección puede transmitirse por mordedura del animal infectado, por contacto con saliva infectada sobre lesión dérmica o sobre mucosa conjuntival u oral. Recientemente se ha confirmado la transmisión por aerosoles a laboratoristas y por trasplante de córnea en humanos (Jaramillo, 1984).

El estudio moderno y científico de la rabia comenzó con Pasteur en 1880. Años más tarde, logró reproducir la enfermedad en perros. En 1885 fue el primero en inmunizar humanos y animales inyectándolos con médulas de conejo donde el virus había sido atenuado por desecación y tratamiento con hidróxido de sodio (Pasteur, 1885).

La rabia puede dividirse, según el ciclo de transmisión y el área donde se presenta, en urbana y silvestre. La forma urbana es transmitida y adquirida por contacto con animales domésticos, especialmente perros y gatos. Es la más frecuente en zonas desarrolladas. La rabia silvestre es adqui-

rida en áreas rurales y transmitida por mamíferos de sangre caliente como zorros, mofetas, lobos, chacales, coyotes y murciélagos. Este tipo de rabia predomina en las zonas desarrolladas del globo, pero también se presenta en áreas subdesarrolladas (Jaramillo, 1984).

Carini (1911) fue el primero en encontrar los "Cuerpos de Negri" en el tejido cerebral del ganado vacuno que moría de una enfermedad no conocida que mató a miles de animales en el estado de Santa Catarina, al sur del Brasil. Además, Carini (op. cit.) llamó la atención sobre los animales salvajes como posibles causantes de esta epizootia porque el área se encontraba libre de rabia canina. Haupt y Rehaag (1921), investigando en esa misma zona, esclarecieron la relación de las mordeduras de los murciélagos con la rabia parálitica en el ganado vacuno al demostrar la presencia de corpúsculos de Negri en el cerebro de los murciélagos (Baer, 1970).

En áreas tropicales como América Latina, los murciélagos vampiros y los carnívoros silvestres son buenos transmisores de la rabia. Esta enfermedad, transmitida por murciélagos hematófagos (*Desmodus rotundus*, *Diphylla ecaudata* y *Diaemus youngi*), es llamada "Rabia Paresiante", "Rabia Bovina", "Rabia de Trinidad" o "Derriengue" y afecta

(1) Profesora, Depto de Biología, Univ. de Antioquia, Medellín, Colombia.

(2) Jefe de Servicio de Virología, Laboratorio Departamental, S.S.S.A. Medellín, Colombia.

(3) Profesor, Depto de Biología, Univ. de Antioquia, Medellín, Colombia.

principalmente al ganado vacuno. Esta forma de rabia parece que sólo se presenta en la zona habitada por estas especies de murciélagos entre el río Bravo en México y el Matto Grosso en Brasil. La enfermedad posee un período de incubación entre 9 y 90 días y ocasionalmente más. Los síntomas iniciales son: pelo erizado, pupilas dilatadas y adormilamiento. Los animales "caen de atrás" por la parálisis de los cuartos posteriores y mueren lastimeramente, mientras las aves de rapiña se comen los genitales, ojos y trompa y mueren a más tardar en una semana.

No sólo los murciélagos hematófagos sino también de otras especies y regímenes alimenticios son transmisores de esta enfermedad. Este hallazgo se debe a Pawan (1936) en Trinidad, quien hizo el primer diagnóstico de rabia en el murciélago frugívoro *Artibeus planirostris*. Pawan (op. cit.) también demostró con infecciones experimentales que los murciélagos hematófagos, frugívoros e insectívoros podían transmitir la rabia por medio de mordeduras, recuperarse de la rabia furiosa y excretar el virus en la saliva por mucho tiempo.

En Sudáfrica se ha aislado el virus rábico en murciélagos insectívoros de la especie *Mimopterus schreibersii* y en murciélagos frugívoros megaquirópteros *Epomophorus wahlbergi*. El análisis con anticuerpos monoclonales ha demostrado que esos virus son análogos al *Virus mokola* el cual ha sido aislado del hombre y de musarañas. En la República Federal Alemana se han encontrado murciélagos pertenecientes a las especies *Nyctalus noctula*, *Eptesicus serotinus* y *Rhinolophus ferrumeginum* infectados con virus rábico (OMS, 1984).

En Colombia varias especies de murciélagos no vampiros se han encontrado positivos para rabia, a saber: *Carollia perspicillata*, *Myotis nigricans*, *Lasiurus ega*, *Phyllostomus hastatus* y *Uroderma bilobatum* (tabla 3) (Gallo, 1982). En nuestro país el primer informe sobre aislamiento de virus rábico a partir de murciélagos fue en 1963 cuando se encontró positivo un espécimen capturado en San Vicente de Chucurí, Santander, el cual fue identificado como *Carollia perspicillata* (Morales et al., 1968). En Antioquia se han informado los siguientes aislamientos de virus rábico a partir de murciélagos: en 1966 en un grupo de cerebros de las especies *Myotis nigricans* y *Lasiurus ega* (Morales et al., 1968); en 1982, en dos especímenes capturados en Cocorná de la especie *Carollia perspicillata*; y en un espécimen capturado en Tarazá de la especie *Uroderma bilobatum* y en dos especímenes capturados en Puerto Triunfo de la especie *Phyllostomus hastatus* (Gallo, 1982).

En el departamento de Antioquia, la rabia continúa siendo un problema de primer orden por los frecuentes brotes que afectan al ganado y a los humanos.

Este es el primer trabajo realizado sobre rabia en el parque natural El Refugio, el cual fue escogido por ser un refugio florístico y faunístico con características propias del Pleistoceno (Prance, 1982), visitado continuamente por científicos y turistas de todo el país. Además, las especies de murciélagos *C. perspicillata*, la más abundante del parque (Muñoz, 1986), y *Phyllostomus hastatus*, fueron encontradas positivas para rabia (Gallo, 1982) en la zona de Puerto Triunfo, situada a 34 km del área de estudio. Por las razones anteriores se consideró importante que al realizar un inventario de las especies de murciélagos recolectadas en campo abierto y otros hábitats, se determinara la presencia, o no, del virus rábico en las diferentes especies de quirópteros capturados.

#### Area de estudio

En el período comprendido entre enero de 1984 y enero de 1985, se realizó en el parque natural El Refugio un programa de captura de murciélagos con el fin de estudiarles diferentes aspectos biológicos, entre ellos la presencia, o no, del virus de la rabia (familia Rabdoviridae, género *Lysavirus*) en el tejido cerebral y en la grasa parda interescapular. Este parque está situado en el cañón del río Claro. La zona está localizada a los 5°53'56"N y a 74°39'50"O (fig.1), entre los municipios de San Luis, Puerto Triunfo y Sonsón. Esta área pertenece a la región colombiana denominada Magdalena Medio en el departamento de Antioquia. El área del parque natural El Refugio es de aproximadamen-

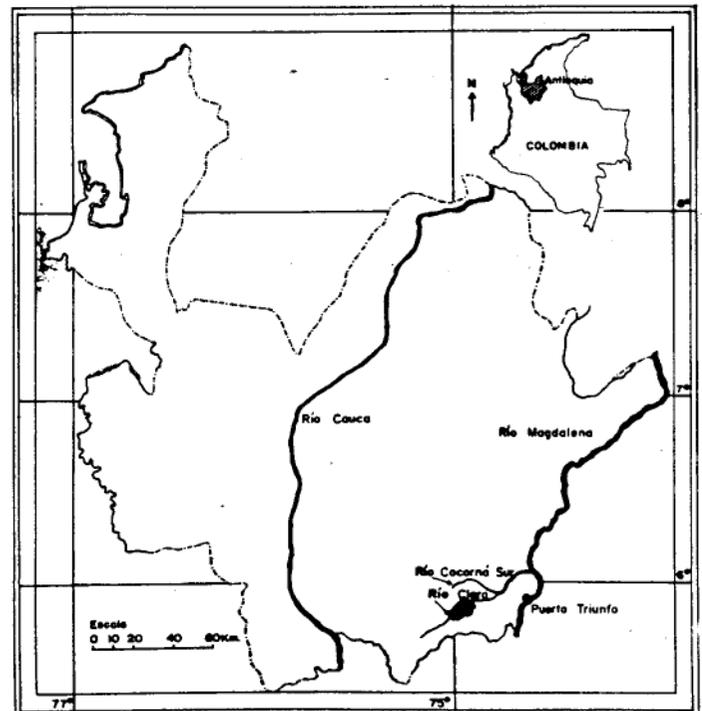


Fig.1 Mapa de Antioquia donde se muestra el área de captura de los murciélagos.

te 100 ha, y se encuentra a 34 km de Puerto Triunfo y a 160 km de la ciudad de Medellín, capital del departamento de Antioquia, en la margen derecha de la autopista Medellín-Bogotá. Su altura sobre el nivel del mar fluctúa entre 250 y 500 m y su temperatura oscila entre 20 y 36°C, con promedio de 27°C. Esta zona corresponde al bosque húmedo tropical (bh-T) y al bosque muy húmedo tropical (bmh-T), con una precipitación entre 2000 y 4000 mm (promedio de 3200 mm) y una humedad relativa del 80% (IGAC, 1980).

El área del río Claro es una de las zonas calizas más importantes del país formada en el Terciario Superior (Mioceno-Plioceno) de la era Cenozoica debido a la sedimentación de millones de conchas de moluscos que se fueron transformando por la presión y la temperatura durante miles de años (IGAC, 1969). Mucha parte de la región se conserva como bosque primario y secundario con gran explotación maderera. En la zona existen abundantes cuevas naturales de gran extensión y de formación marmórea las cuales sirven de hábitat a diferentes especies de murciélagos y a guácharos (*Streptopelia caripensis*).

Con la apertura de la autopista Medellín-Bogotá esta región ha tomado auge turístico y se ha convertido en un área con numerosos asentamientos humanos. Se observan en abundancia las especies de árboles *Cecropia arachnoidea* (yarrow) y *Psidium guajava* (guayaba) cuyos frutos sirven de alimentación a los murciélagos frugívoros durante todo el año.

## MATERIALES Y METODOS

### Trabajo de campo

El sitio para la captura de los especímenes se escogió después de haber observado el comportamiento de los murciélagos y las características topográficas y ecológicas del lugar. Se anotaron los datos correspondientes a la hora de captura, la humedad relativa, el estado del tiempo, la temperatura, la altura sobre el nivel del mar y la luminosidad nocturna de la estación de muestreo durante cada trabajo de campo. Se recolectaron y procesaron vegetales para su posterior identificación taxonómica en el Herbario de la Universidad de Antioquia.

Para la captura de los murciélagos se siguió el método utilizado por Muñoz et al. (1983). A las cinco de la tarde quedaban instaladas las redes. Cada hora se hacían revisiones seriadas hasta las 11 p.m. Después de atrapados se procedía a desenredar los murciélagos para colocarlos en las canastas de transporte y llevarlos al laboratorio. Las manos se protegían con guantes gruesos de cuero con el fin de evitar mordeduras y posible transmisión de enfermedades.

Cada ejemplar capturado se inscribía en una tarjeta preliminar en la cual se indicaba la localidad, la fecha, el sexo y el nombre científico (Gallo, 1982).

*Trabajo de laboratorio.* Los especímenes fueron llevados al laboratorio con el fin de determinarles los siguientes aspectos:

- a. Sexaje. Machos: Observación directa de testículos. Se consideraron activos reproductivamente cuando presentaron testículos escrotales, e inactivos en su reproducción, cuando presentaron testículos abdominales. Hembras: Observación directa de la vulva. Se consideraron activas, reproductivamente, cuando presentaron vulva húmeda; e inactivas, en su reproducción, cuando presentaron vulva seca (Wilson, 1979).
- b. Determinación taxonómica de los murciélagos. Para determinar la especie de los murciélagos se tomaron las siguientes medidas: largo total, longitud de la cola, largo del pie, largo de la oreja, medida del antebrazo y envergadura. Las medidas en milímetros fueron tomadas con un calibrador o Pie de Rey ( $\pm 1$  mm). El peso en gramos se determinó en una microbalanza portátil ( $\pm 1$  g). La determinación taxonómica se hizo con base en la clave de Handley (1975).
- c. Dieta alimenticia. Se analizaron los contenidos estomacales para tratar de determinar o confirmar la dieta alimenticia de las especies de murciélagos según el método utilizado por Muñoz et al. (1983).
- d. Muestra cerebral. Una vez clasificados los murciélagos se sacrificaron en una cámara de vidrio con algodón impregnado de éter etílico, dejándolos allí entre 3 y 5 minutos. Luego se llevaron al laboratorio de Virología del Servicio Seccional de Salud. El animal muerto se colocó dentro de un cubilete de seguridad; se tomaron las medidas previas de bioseguridad como vacunación, utilización de guantes quirúrgicos y el uso de mascarilla.

A cada animal se le realizó una incisión longitudinal en la piel del dorso en la zona interescapular (previamente desinfectada con alcohol yodado al 50%) con el fin de extraer la grasa parda interescapular. Esta muestra se dividió en dos partes: una se procesó y la otra se conservó en frascos estériles, tapados, sellados y debidamente rotulados a  $-20^{\circ}\text{C}$ . La incisión se prolongó hasta la base del cerebro y se procedió extraerlo. Luego se dividió en dos partes, una de las cuales se utilizó y la otra se conservó en congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

- e. Determinación del virus rábico. El diagnóstico específico para virus rábico en el laboratorio se acostumbra realizar por técnicas directas de microscopía de luz y aislamiento en ratones lactantes (*Mus musculus*) tipo albino de 1 a 3 días de nacidos, o en adultos. Estas pruebas directas incluyen coloración de Sellers, Anticuerpos Fluorescentes (AF) y Prueba Biológica (PB).

*Coloración de Sellers.* La tinción de Sellers es una técnica rápida que requiere azul de metileno, fucsina y metanol (apéndice 1). Con este colorante los Cuerpos de Negri se tiñen de color rojo magenta, debido a que retienen la fucsina.

Para que estos corpúsculos sean específicos de rabia, deben contener gránulos en su interior, los cuales toman coloración azul intenso. El citoplasma de las células nerviosas se tiñe de azul claro y el núcleo de azul más fuerte (Baer, 1970). Sobre las placas se hicieron impresiones cerebrales seriadas; inmediatamente se aplicó el colorante y enseguida se lavaron con abundante agua corriente. El secado de las placas se hizo a temperatura ambiente cubriéndolas con gasa para evitar contaminación. La identificación de los corpúsculos de Negri se hizo con objetivo de inmersión 100X en un microscopio Leitz HM.

*Anticuerpos Fluorescentes (AF).* La técnica de AF es una prueba serológica en la que para detectar la reacción antígeno-anticuerpo, se usa como sistema indicador una sustancia fluorescente unida al anticuerpo. Esta sustancia es visualizada en el microscopio cuando se excita por la luz ultravioleta (Larghi, 1975). En esta prueba se incluyeron placas con impresiones positivas y negativas para antígeno rábico con el fin de usarlas como controles. Se diseñaron dos anillos sobre la placa con lápiz de cera con el fin de retener el conjugado sobre la muestra cerebral y de grasa parda interescapular en las zonas previamente demarcadas, eliminando el exceso de muestra con papel de filtro. Las placas se dejaron secar a temperatura ambiente y se fijaron inmediatamente en acetona pura y fría por un mínimo de 10 minutos.

Se mezcló el conjugado liofilizado con agua bidestilada estéril de acuerdo con las especificaciones de la etiqueta. Se preparó una solución de trabajo 1:20 con el conjugado diluido más PBS de pH =  $\pm 2$ . Con la anterior solución de trabajo se preparó una dilución 1:5 con suspensión de cerebro de ratón normal (CRN), para usarla como solución A. Luego se mezcló la solución de trabajo con suspensión de cerebro de ratón infectado con virus standard de confrontación (CVS) en una proporción 1:5, para usarlo como antígeno de solución B (apéndice 1).

Se cubrió la impresión más cercana a la etiqueta de identificación de la placa con la solución A y la otra con solución B. Se incubaron los porta objetos 30 minutos a 37°C en cámara húmeda, se enjuagaron dos veces con PBS de pH = 7.6, se dejaron sumergidos en la misma solución durante 10 minutos y se enjuagaron con agua destilada para evitar formación de cristales. Una vez secos se montaron con glicerina tamponada de pH = 9.7.

La lectura de las placas para AF se hizo en un microscopio Leitz modelo monocular, equipado con los siguientes filtros: anticalórico KG<sub>1</sub> - 2 mm, excitador UG<sub>1</sub> - 1 mm de barrera K 430 y antirrojo BG 38-4 mm. Primero se analizaron los controles positivos y negativos para virus rábico; luego, las muestras con objetivo 10X y 100X. Esta prueba se interpreta positiva cuando aparece una coloración verde manzana, en forma de gránulos definidos de diferente tamaño o en forma de polvo fino. Se interpreta negativa cuando no se observa fluorescencia o cuando se ven manchas verdosas o azules inespecíficas.

*Prueba Biológica (PB).* Esta prueba se realizó inoculando intracerebralmente los ratones con macerado del tejido cerebral de los murciélagos. Por cada conjunto de seis cerebros pertenecientes a una determinada especie de murciélago, se inocularon 12 ratones. Lo mismo se hizo para la grasa parda interescapular. Los resultados se confirman por la prueba de AF en los cerebros de los animales enfermos.

Los inóculos se prepararon de la muestra cerebral o grasa parda interescapular que previamente había sido guardada en congelación a -20°C. Se maceraron las muestras, agregando como diluyente solución de trabajo (apéndice 1, No. 4) en proporción 1:4 por peso.

El macerado se dejó sedimentar por 24 horas en tubos taparoscas estériles, sellados y previamente tarados. Se separó el líquido sobrenadante y se le agregó solución de trabajo más solución de antibióticos 1:100 en una proporción de 0.2 ml de solución por cada 10 ml de decantado.

Para esterilizar las muestras se pasaron por un filtro Acrodisc con membrana esterilizante de 0.22  $\mu$ m. Una vez filtradas las muestras se envasaron en viales estériles. Una parte se usó en la inoculación de los ratones y el resto se congeló a -20°C. Para la inoculación se usaron jeringas de tuberculina estériles de 1 cc. con aguja No. 25 de 0.45 x 13 mm. La cantidad de inóculo vía intracerebral para cada ratón fue de 0.03 ml.

A partir del día de la inoculación los ratones se observaron diariamente para detectar los siguientes signos: pelo erizado, cola en bandera, incoordinación para el movimiento de las patas posteriores, convulsiones, parálisis, postración o muerte.

## RESULTADOS

En el período de capturas entre enero de 1984 y enero de 1985, se recolectaron 220 murciélagos pertenecientes a dos familias, seis subfamilias y 17 especies en el parque natural El Refugio. La tabla 1 detalla la clasificación de los murciélagos examinados para virus rábico. La tabla 2 muestra los resultados de las pruebas de laboratorio y los regímenes alimenticios de las especies analizadas. De los 220 murciélagos ninguno resultó positivo para virus rábico. La tabla 3 muestra las especies de murciélagos encontradas positivas para rabia en Colombia; de esas cinco especies, se analizaron tres en el presente trabajo: *Carollia perspicillata*, *Phyllostomus hastatus* y *Uroderma bilobatum*.

La tabla 2 detalla los regímenes alimenticios de las diversas especies de murciélagos recolectadas.

## DISCUSION

Al realizar un inventario de las especies de murciélagos en el parque natural El Refugio, se quiso también analizar para virus rábico la mayor parte de las especies recolectadas dando prioridad a las especies *Carollia perspicillata* y *Phyllostomus hastatus* encontradas positivas para rabia en Puerto Triunfo (situado a unos 34 km del parque) y la especie *Uroderma bilobatum* capturada en Tarazá (departamento de Antioquia) encontrada positiva para el virus en ese lugar.

Al hacer una evaluación de los resultados negativos para las pruebas de rabia en los especímenes analizados, se aprecia la urgencia de estudios sobre dinámica de población que expliquen cómo es el comportamiento de las distintas especies en las poblaciones de murciélagos. Por estudios hechos sobre dinámica de población en Cuba, se ha comprobado que

Tabla 1. Clasificación de los murciélagos capturados y examinados para virus rábico.

Familia	Subfamilia	Género	Especie	Total
Emballonuridae	Emballonurinae	<i>Saccopteryx</i>	<i>Saccopteryx bilineata</i>	1
		<i>Pteropteryx</i>	<i>Pteropteryx macrotis</i>	3
Phyllostomidae	Phyllostaminae	<i>Phyllostomus</i>	<i>Phyllostomus hastatus</i>	13
		<i>Tonatia</i>	<i>Tonatia sylvicola</i>	1
	<i>Anoura</i>	<i>Anoura caudifer</i>	1	
	Glossophaginae	<i>Glossophaga</i>	<i>Glossophaga soricina</i>	2
		<i>Lonchophylla</i>	<i>Lonchophylla robusta</i>	1
Carollinae	<i>Carollia</i>	<i>Carollia castanea</i>	16	
	<i>Carollia</i>	<i>Carollia perspicillata</i>	96	
Phyllostomidae	Stenoderminae	<i>Artibeus</i>	<i>Artibeus cinereus</i>	3
		<i>Artibeus</i>	<i>Artibeus jamaicensis</i>	35
		<i>Artibeus</i>	<i>Artibeus lituratus</i>	18
	<i>Uroderma</i>	<i>Uroderma bilobatum</i>	3	
	<i>Vampyressa</i>	<i>Vampyressa pusilla</i>	3	
	<i>Vampyrops</i>	<i>Vampyrops helleri</i>	1	
	<i>Vampyrops</i>	<i>Vampyrops dorsalis</i>	2	
	Sturnirinae	<i>Sturnira</i>	<i>Sturnira lilium</i>	21
			Total de especies: 17	220



TABLA 2. Régimen alimenticio de los murciélagos examinados para rabia.

Especie	Régimen alimenticio	Resultados de laboratorio		
		Sellers	A F	P B
<i>Saccopteryx bilineata</i>	Insectos	—	—	—
<i>Peropteryx macrotis</i>	Insectos	—	—	—
<i>Phyllostomus hastatus</i>	Frutos, insectos, partes florales, vertebrados	—	—	—
<i>Tonatia sylvicola</i>	Frutos, insectos	—	—	—
<i>Anoura caudifer</i>	Néctar, polen, insectos	—	—	—
<i>Glossophaga soricina</i>	Néctar, polen, insectos	—	—	—
<i>Lonchophylla robusta</i>	Polen, néctar	—	—	—
<i>Carollia castanea</i>	Frutos, insectos	—	—	—
<i>Carollia perspicillata</i>	Frutos, néctar, polen, partes florales, insectos	—	—	—
<i>Artibeus cinereus</i>	Frutos, insectos	—	—	—
<i>Artibeus jamaicensis</i>	Frutos, partes florales, insectos	—	—	—
<i>Artibeus lituratus</i>	Frutos, partes florales, insectos	—	—	—
<i>Uroderma bilobatum</i>	Frutos, insectos	—	—	—
<i>Vampyressa pusilla</i>	Frutos	—	—	—
<i>Vampyrops helleri</i>	Frutos	—	—	—
<i>Vampyrops dorsalis</i>	Frutos, insectos	—	—	—
<i>Sturnira lilium</i>	Frutos, polen, néctar, insectos	—	—	—

AF = Anticuerpos fluorescentes      PB = Prueba biológica      — = Resultado negativo

Tabla 3. Murciélagos encontrados positivos para rabia en Colombia.

Localidad	Especie	régimen alimenticio	Resultados de laboratorio		
			Sellers	A F	P B
San Vicente de Chucurí Depto de Santander	<i>Carollia perspicillata</i>	Frutos, néctar, polen, partes florales, insectos	+		
Pavarandocito Depto de Antioquia	<i>Myotis nigricans</i>	Insectos	+		
	<i>Lasiurus ega</i>	Insectos	+		
Cocorná Depto de Antioquia	<i>Carollia perspicillata</i>	Frutos, néctar, polen, partes flores, insectos	+	+	+
Pto Triunfo Depto de Antioquia	<i>Phyllostomus hastatus</i>	Frutos, insectos, partes florales, vertebrados	—	+	+
	<i>Carollia perspicillata</i>	Frutos, insectos, partes florales, vertebrados	—	+	+
Tarazá Depto De Antioquia	<i>Uroderma bilobatum</i>	Frutos, insectos	—	+	+

AF = Anticuerpos fluorescentes      PB = Prueba biológica      — = Resultado negativo      + + = Resultado positivo

Tabla 4. Distribución geográfica mundial de los murciélagos encontrados positivos para rabia.

Familias	Especies	Colombia	Argentina	Brasil	Venezuela	Guatemala	Honduras	México	Panamá	Trinidad Tobago	Canadá	Estados Unidos
Emballonuridae	<i>Diclidurus virgo</i>											+
	<i>Diclidurus albus</i>									+		
Phyllostomidae	<i>Uroderma bilobatum</i>	+							+			
	<i>Artibeus lituratus</i>									+		
	<i>Artibeus jamaicensis</i>									+		
	<i>Phyllostomus discolor</i>					+	+					
	<i>Phyllostomus hastatus</i>	+		+								
	<i>Glossophaga soricina</i>											
	<i>Carollia perspicillata</i>	+								+		
	<i>Chrotopterus auritus</i>			+								
Mormoopidae	<i>Mormoops megalophylla</i>											+
	<i>Chilonycteris personata</i>											+
	<i>Pteronotus davyi</i>									+		
Vespertilionidae	<i>Lasiurus cinereus</i>		+									+
	<i>Lasiurus borealis</i>											+
	<i>Eptesicus fuscus</i>							+				+
	<i>Myotis nigricans</i>	+							+			+
	<i>Histiotus velatus</i>			+								+
	<i>Rhogeessa tumida</i>											+
Molossidae	<i>Tadarida macrotis</i>											+
	<i>Tadarida brasiliensis</i>		+								+	
	<i>Molossus major</i>								+	+		
	<i>Molossus sinaloe</i>					+	+					
	<i>Molossus rufus</i>				+							
	<i>Molossus ater</i>											+

existen variaciones intraespecíficas en la utilización del tiempo y del espacio alimentario por algunas especies de murciélagos en ese país. Es el caso de los machos de algunas especies que regresan primero a su refugio que las hembras; o las púerparas de *Molossus* que poseen tiempo de alimentación más breve que las otras hembras.

Algunas especies de murciélagos son capaces de regresar en la noche a sus refugios desde una distancia de 30 km. *Artibeus jamaicensis*, especie reportada en nuestro país, regresa a su refugio desde una distancia de 23 km. Pero especies como *Natalus lepidus* en Cuba fue incapaz de regresar a su refugio desde una distancia de 2 km (Silva-Taboada, 1979). La utilización del refugio es otro punto importante porque los murciélagos necesitan refugios tibios y húmedos para poder realizar una buena termorregulación.

Es posible que las especies de murciélagos *C. perspicillata* y *Phyllostomus hastatus* encontradas positivas para rabia en Puerto Triunfo (Gallo, 1982) tengan en un radio cercano refugios óptimos y que su nicho alimentario sea diferente en el tiempo y/o en el espacio a las especies correspondientes del parque natural El Refugio. Esta situación haría que dichas especies permanecieran aisladas geográficamente, evitándose así una contaminación por aerosoles o mordeduras en sus hábitats con las especies donde hay una alta circulación del virus.

El presente trabajo no se realizó porque existiera un brote rábico comprobado en la zona de Puerto Triunfo. No obstante, Gallo (1982) encontró en esta región dos murciélagos correspondientes a las especies *C. perspicillata* y *P. hastatus* afectadas con el virus. Por tanto, se pretendió

observar si el virus se había dispersado a la zona del parque natural El Refugio. La dispersión de este virus podría ocasionar impactos negativos por la importancia actual de esta zona, por los asentamientos humanos, el auge turístico, el establecimiento de la fábrica de cementos Rioclaro, la apertura reciente de la autopista Medellín-Bogotá y por las numerosas investigaciones que se adelantan en esta región.

El virus rábico también se buscó en la grasa parda interescapular porque este tejido ha sido considerado como un reservorio del virus (Sulkin et al., 1957, 1959) donde permanece en forma latente durante la hibernación para luego activarse con los cambios de temperatura (Sadler y Enrigh, 1959; Sulkin et al., 1960). Con el presente estudio las muestras obtenidas de la grasa parda resultaron negativas. No obstante, Bell y Moore (1960) y Villa (1963), encontraron el virus en la grasa café de murciélagos insectívoros y frugívoros infectados naturalmente. Sin embargo, Villa (1963) ha reportado hasta el presente el único caso de hallazgo del virus en la grasa café sin haberlo aislado del cerebro y las glándulas salivales.

Dadas las circunstancias anteriores debería realizarse un monitoreo del virus haciendo capturas seriadas de los murciélagos evaluadas y/o colocando animales centinelas en las cuevas habitadas por murciélagos.

#### Apéndice 1:

##### Preparación de la suspensión CVS para usar como antígeno de solución B.

1. Se inocularon ratones sanos lactantes o jóvenes con virus rábico.
2. Se sacrificaron los ratones en los que se observaron algunos de los signos de encefalitis.
3. Se realizaron las pruebas confirmatorias de Sellers y AF.
4. Se preparó la solución de trabajo con PBS de pH =  $7 \pm 0.2$  (97 ml) PBS al 0.4o/o (2 ml) y antibióticos (1 ml).
5. Se taró un tubo taparrosca y se hizo una mezcla 1:4 con solución de trabajo y 3 g de cerebro de ratón.
6. Se maceró en mortero estéril y se dejó decantar por 24 horas a una temperatura de 4 a 8°C en una nevera. No se centrifugó por precaución.
7. Se envasó el sobrenadante en viales estériles para usarlo como antígeno de solución B.

#### LITERATURA CITADA

- Baer, G. 1970. Rabia. México.
- Bell, J.F. y G.J. Moore. 1960. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103:140-142.
- Carini, A. 1911. Sur une grande epizootie de Rage. Ann. Inst. Pasteur. 25: 843-846.
- Gallo, O. 1982. Rabia en murciélagos del departamento de Antioquia. Trabajo de grado para optar al título de Biólogo. departamento de Biología. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
- Handley, Ch.O. 1975. Clave de los órdenes de mamíferos vivientes en Colombia. Adaptación de E. Barriga, A. Cadena y J. Hernández. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Haupt, H. y H. Rehaag. 1921. Hyg Infektions Kr Haustiere 22: 76-88.
- Instituto Geográfico Agustín Codazzi 1969. Diccionario geográfico de Colombia. Bogotá.
- Instituto Geográfico Agustín Codazzi 1980. Diccionario geográfico de Colombia. Tomos I y II, 2 ed. Bogotá.
- Jaramillo, C. 1984. Enfermedades Virales Humanas pp. 285-297. En: Enfermedades Infecciosas (D. Botero y otros) Corporación para la Investigación Biológica (CIB), Medellín, Colombia.
- Larghi, O.P. 1975. Centro Panamericano de Zoonosis. Oficina Sanitaria Panamericana. Prueba de AF. Rabia. Notas Técnicas No. 8. Rev. 2 Argentina.
- Morales, A.A., M.E. Osorno, C.C. Bernal y P.A. Lleras. 1968. Aislamiento de virus rábico de murciélagos en Colombia, S.A. Caldasia, 10(47): 167-172.

- Muñoz, J., A. Lopera y O. Ramírez. 1983. Murciélagos en el Valle de Aburrá. *Actual. Biol.* 12(45): 63-67.
- Muñoz, J. 1986. Murciélagos del parque natural El Refugio. (Sin Publicar).
- O.M.S. 1984. (Organización Mundial de la Salud) Comité de Expertos de la OMS sobre rabia. Séptimo Informe. Serie de Informes Técnicos. 709. Ginebra.
- Pasteur, L. 1885. (Con la colaboración de Roux E. Chamberland C. Thuillier L.): *CR Acad. Sci.* 101: 7655.
- Pawan, J.L. 1936. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*
- Prance, G.T. 1982. *Biological diversification in the tropic.* Columbia University Press. N.Y.
- Rentería, E. 1985. Estudio Botánico de la región de San Luis. Informe final I etapa Colciencias (Sin publicar).
- Sadler, W.E., W.J.B. Enright. 1959. *J. infec. Dis* 105:267-273.
- Silva-Taboada, G. 1979. Los murciélagos de Cuba. Editora de la Academia de Ciencias de Cuba. La Habana, Cuba.
- Sulkin, S.E., P.H. Krustzcch, C. Wallis y R. Allen. 1957. *Proc. Spc. Exp. Biol. Med.* 96: 461-464.
- Sulkin, S.E., P.H. Krustzcch, R. Allen y C. Wallis. 1959. *J. Exp. Med.* 110:369-388.
- Sulkin, S.E., R. Allen, R. Sims, P.H. Krutssch y C. Kim. 1960. *J. Exp. Med.* 112:595-617.
- Villa, B. 1963. *Ciencia (Ciudad de México)* 22: 137-140.
- Wilson, D.E. 1979. Reproductive patters, pp. 380-386. *En: Biology of bats on the New World family Phyllostomidae. Part III* (R.J. Baker, J.K. Jones Jr. and D.C. Carter) *Spec. Public. Mus. Texas Tech, University*, 16:1-141.