

## Informe final\* del Proyecto ME008

### Síndrome de nariz blanca: Una zoonosis emergente que amenaza los quirópteros de México\*

<b>Responsable:</b>	Dr. Víctor Sánchez Cordero Dávila
<b>Institución:</b>	Universidad Nacional Autónoma de México
<b>Correo electrónico:</b>	victor@ib.unam.mx
<b>Teléfono/Fax:</b>	55-5622-9147
<b>Fecha de inicio:</b>	29-Enero-2016
<b>Fecha de término:</b>	1-Noviembre-2021
<b>Principales resultados:</b>	Base de datos, informe final, Fichas.
<b>Forma de citar** el informe final y otros resultados:</b>	Sánchez-Cordero, V. Rodríguez-Moreno, A., Gutiérrez- Granados, G. y Castellanos Moguel, J. 2021. <b>Conformación del Cepario.</b> en: Síndrome de nariz blanca: Una zoonosis emergente que amenaza los quirópteros de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biología. Informe final SNIB-CONABIO. <b>Proyecto No. ME008.</b> Ciudad de México.

#### Resumen:

El síndrome de la nariz blanca (SNB) provocado por el hongo (*Pseudogymnoascus destructans* antes en género *Geomyces*) es una enfermedad con altas mortalidades que afecta murciélagos insectívoros que hibernan. Es llamado así por su manifestación física alrededor, principalmente, de la nariz de diversas especies de murciélagos. El contagio del SNB es por contacto directo entre murciélagos, aunque el hombre es un vector potencial ya que transporta las esporas del hongo de cueva en cueva. En México no existe ninguna información sobre este síndrome. Sin embargo, es altamente probable que ingrese al país dado que existen las condiciones ambientales para que se dé la infección. El presente proyecto plantea la creación de modelos de nicho ecológico para determinar los sitios donde potencialmente existan en México las condiciones ambientales para el desarrollo del hongo. Además, propone una caracterización de las cuevas seleccionadas a través del modelado de nicho ecológico y de la comunidad de murciélagos que habitan estas. Adicionalmente se modelarán las especies *M. albescens* y *M. carteri* incluidas en la NOM-059-SEMARNAT-2010.

- 
- \* El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en [www.conabio.gob.mx](http://www.conabio.gob.mx)
  - \*\* El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.

Síndrome de Nariz blanca: Una zoonosis emergente que amenaza los quirópteros de México.

Conformación de cepario para la integración de una colección de cultivos de *G. destructans* como unidad técnica de referencia, diagnóstico o investigación

## Introducción

El síndrome de la Nariz Blanca es una zoonosis emergente causada por *Pseudogymnoascus* (= *Geomyces*) *destructans* Blehert et Gargas, que ha tenido un fuerte impacto en las poblaciones de murciélagos de zonas frías en el Continente Americano. Este hongo ha sido reportado como psicrófilo, lo que le permite vivir en sitios donde el agua es escasa, como por ejemplo el interior de cuevas; sin embargo, especies relacionadas han sido

encontradas en suelos templados y ambientes marinos, además de ser queratinofílico y halotolerante, se ha aislado a partir de materia vegetal en descomposición, principalmente celulosa, así como de guano de pingüino, gaviota y petrel así como de zonas donde hay actividad animal, sin embargo esto no es exclusivo, ya que también ha sido detectado en sitios donde la actividad de mamíferos o aves es baja (Hayes, 2012).

El género *Geomyces* es dispersado por aire, agua, y se ha obtenido de plumas, pelo, artrópodos, y diversos fomites, entre los que se encuentran los equipos de excursionismo.

En México no hay un reporte oficial de síndrome de nariz blanca, sin embargo, es necesario caracterizar la microbiota fúngica presente en los murciélagos de los géneros que pueden ser susceptibles de ser parasitados por *Geomyces destructans*, para establecer antecedentes en caso de que llegase a producirse un brote de dicho agente infeccioso.

Dentro de dicha caracterización, existe un aspecto muy importante, que es la integración de una colección de cultivos con los aislamientos de los hongos provenientes de los murciélagos que se encuentran en México. Estas colecciones de cultivos son fundamentales ya que pueden fungir como referencia para estudios posteriores, investigación, docencia y conservación de la diversidad (Pinzón-Gutiérrez et al., 2009).

Dentro de las características que debe cumplir una colección de cultivos o cepario, es que los ejemplares ahí depositados estén en cultivo axénico, conserven la morfología colonial y microscópica típica de los géneros y especies, por lo que es necesaria una minuciosa selección de los medios de cultivo a utilizar así como el método de conservación, ya que de estos dependerá la estabilidad morfológica y por lo tanto genética de los aislados.

En el presente proyecto se está integrando el cepario de referencia de la microbiota fúngica cultivable de murciélagos capturados en diversos puntos de México, con el fin de contar con cultivos puros para su posterior caracterización.

Objetivo: Creación de un cepario de referencia de los hongos presentes en la superficie corporal de los quirópteros de México

### Materiales y métodos

De manera original se había propuesto integrar un cepario de hongos de cuevas, sin embargo, por el tipo de muestras recibidas, está en proceso la integración de una colección de hongos provenientes directamente del cuerpo de murciélagos capturados en diversos puntos de la República Mexicana. A continuación se detallará lo que se ha realizado hasta el momento y posteriormente la metodología para la siguiente fase de integración del cepario.

Las muestras de los organismos se tomaron en diversas áreas corporales de los murciélagos (abdomen y alas) partir de las muestras obtenidas de diversos organismos, se identificaron con base en la morfología, tanto colonial como microscópica. Para la identificación, se tomó en cuenta la macro y micromorfología y se comparó con claves taxonómicas, también se prepararon microcultivos de Ridell para la observación al microscopio de las estructuras reproductivas de los hongos.

Paralelamente, se resembraron los hongos con morfología diferente para obtener cultivos axénicos en cajas de Petri con medio PDA.

Una vez obtenidos los cultivos axénicos, y determinado el tipo de hongos que se tenían se pasaron a tubos de polipropileno con agar de dextrosa y papa inclinado para su conservación en aceite mineral, ya que es el idóneo para el tipo de hongos predominantemente aislados. Dichos tubos se han mantenido en cajas a temperatura ambiente. Todos los aislados están depositados en el Cepario del Laboratorio de Micología del Departamento El Hombre y su Ambiente de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Se están realizando actualmente controles de viabilidad para este método de conservación a los 6 y 12 meses para verificar que sea el más adecuado.

Los datos para cada cepa de hongo identificado están sistematizados en una base de datos de Excel, e incluyen los siguientes datos:

1. Fecha de recolección
2. Organismo/sustrato a partir del cual fue aislado
3. Localidad
4. Colector (cuando está disponible)
5. Georreferencia (cuando está disponible)
6. Fecha de aislamiento
7. Morfología colonial (indicando el medio de aislamiento)
8. Nombre de quien lo identificó

Dicha base está en actualización constante para tener el listado completo una vez que se dejen de procesar muestras. También se están realizando las fichas técnicas

de cada género que integra el cepario. Esto aún está en proceso, ya que se siguen identificando algunos géneros.

## Resultados y discusión

Hasta el momento se han revisado 4315 colonias, provenientes de Puebla, Jalisco y Chiapas, de las cuales se han identificado 24 géneros diferentes, además de gran cantidad de micelio estéril. A pesar de que este estudio se está llevando a cabo solo con hongo filamentosos y se ha tenido el cuidado de utilizar medios de aislamiento que favorezcan su crecimiento, se ha encontrado gran cantidad de levadura, sin embargo, éstas no se han identificado. En la tabla 1 se muestran los géneros que se han encontrado, así como la cantidad de unidades formadoras de colonias, así como el criterio de Yadav y Madelin (Esquivel et al., 2003) para determinar su frecuencia de aparición. Debido a que no se cuenta con un estudio previo para referenciar si estos hongos son comunes o no en los murciélagos de México, dicho criterio se utilizó para contrastar y encontrar los géneros más comunes en todos los sitios de muestreo. *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Aspergillus* y *Bispora* son los géneros que aparecieron más frecuentemente. Este análisis se llevó a cabo para determinar qué tipo de hongos eran los que se encontraban presentes en los organismos y así poder definir el medio de conservación idóneo de acuerdo con el hábitat y los requerimientos nutrimentales de los hongos.

UFC	Género	Frecuencia de aparición (%)
1051	<i>Penicillium</i>	100
1049	<i>Scopulariopsis</i>	99.80970504
658	<i>Aspergillus</i>	62.60704091
487	<i>Bispora</i>	46.33682207
151	Estéril	14.36726927
117	<i>Alternaria</i>	11.132255
61	<i>Acremonium</i>	5.803996194
61	<i>Cladosporium</i>	5.803996194
29	<i>Eurotium</i>	2.759276879
56	<i>Rhizopus</i>	5.328258801
15	<i>Fusarium</i>	1.427212179
13	<i>Verticillium</i>	1.236917222
12	<i>Trichoderma</i>	1.141769743
3	<i>Isaria</i>	0.285442436
4	<i>Paecilomyces</i>	0.380589914
3	<i>Beauveria</i>	0.285442436
2	<i>Stachybotrys</i>	0.190294957
1	<i>Chromelosporium</i>	0.095147479
1	<i>Torpedospora</i>	0.095147479
1	<i>Mucor</i>	0.095147479

1	<i>Pesudobeltrania</i>	0.095147479
1	<i>Auerobasidium</i>	0.095147479
1	<i>Hyalodendron</i>	0.095147479
1	<i>Bipolaris</i>	0.095147479

Tabla 1. Frecuencia de aparición de los géneros fúngicos en el total de los sitios muestreados.

80-100	Muy común
79-61	Común
60-41	Frecuente
40-21	Ocasional
20-0.1	Raro
0	No encontrado

Tabla 2. Criterio de Yadav y Madelin para determinar la frecuencia de aparición de los hongos encontrados.

Cada género nuevo se está colocando en un formato como el mostrado en la figura 1, ya que esta información estará disponible en el Laboratorio de Micología como referencia y para posterior consulta.

Proyecto síndrome de nariz blanca	
Ficha de identificación	
Género	<i>Scopulariopsis</i>
Sitio de aislamiento	Jalisco
Condiciones de crecimiento	Medio Rosa Bengala, 28°C
Macromorfología	Colonias de aspecto granular, aterciopelada o pulverulenta, de color blanco al principio, que se torna café o gris oscuro con el tiempo.
Producción de enzimas extracelulares	No determinado (ND)
Proteasas	ND
Queratinasas	ND
Nivel de bioseguridad	Dos
Nivel de contención	Dos
Observaciones	Manipular con guantes y cubrebocas, hongo no dematiáceo reportado como causante de onicomycosis, tineas o micosis

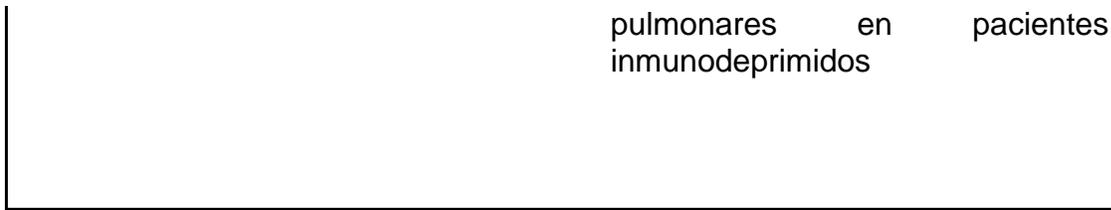


Figura 1. Ejemplo de ficha de cada uno de los géneros identificados y depositados en el cepario del laboratorio de Micología, de la UAM-X.

Hasta este momento, solamente se han aislado hongos que corresponden al grupo de riesgo 1 (individual y poblacional escaso o nulo) y 2 (riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo).

De acuerdo con la OMS (2005), los que corresponden al grupo 1, son aquellos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en humanos o animales, ya que son ubicuos y hasta este momento no han sido reportados como causantes de alguna enfermedad.

En cuanto a los microorganismos de riesgo 2, son aquellos que pueden provocar enfermedades humanas o animales con pocas probabilidades de constituir un riesgo grave para el personal de laboratorio, la población, ganado o ambiente. La exposición en el laboratorio puede provocar infecciones graves, pero existen medidas profilácticas y de tratamiento eficaces y el riesgo de propagación es limitado si se manejan de la manera adecuada. Si bien pueden no ser equivalentes, estos microorganismos pueden colocarse dentro de los niveles de bioseguridad definidos también por la OMS. Como se mencionó previamente, en este proyecto, solamente se han aislado hongos de nivel de bioseguridad básico tanto 1 como 2. Por lo que pueden manejarse en un laboratorio de investigación con técnicas microbiológicas adecuadas, con ropa protectora, campana de seguridad biológica y haciendo énfasis que pueden constituir un riesgo biológico bajo, y a la vez verificando que todo el personal que tiene contacto con ellos siga las medidas de protección y contención para evitar la salida del laboratorio, dispersión o propagación de dichos agentes biológicos.

Una vez hecho el análisis de los géneros presentes en los murciélagos, se determinó que el medio mas adecuado para conservar los aislados era el agar de papa-dextrosa, ya que es un medio que tiene gran cantidad de azúcares y permite una buena esporulación en corto tiempo. En la experiencia de uso en el laboratorio de Micología de la UAM-X, se ha observado que este medio minimiza el riesgo de pérdida del material biológico al ser muy rico, además de que al producir gran cantidad de esporas, permite su fácil manejo y reactivación de las cepas.

Es importante tomar en cuenta que se probó el medio de papa de BD Bioxón (México) y el medio de papa natural (preparado al utilizar infusión de papa y dextrosa, adicionado con agar al 16%), siendo este último el que favoreció en mayor medida las características macro morfológicas de las colonias. Estas pruebas primero se realizaron en cajas de Petri, para verificar velocidad de crecimiento y tamaño de las colonias.



## Conclusiones

Se han logrado aislar hongos del pelaje y las alas de los murciélagos, colectados en diferentes localidades de la República Mexicana. Dichos hongos son en su mayoría géneros asociados a la vegetación.

El medio de cultivo más adecuado para los hongos aislados hasta el momento, es el agar de papa dextrosa, preparado con infusión de papa natural, ya que se han conservado las características macro y micromorfológicas de los aislados.

El método de conservación elegido es el de aceite mineral, ya que permite disminuir la tasa de crecimiento de los hongos al evitar el intercambio de gases en el interior del tubo de cultivo.

## Bibliografía

Barnett H. L y B. B. Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi 4 ed. Mc Millan, New York, pp. 218.

Barron G. L. 1968. The genera of Hyphomycetes from soil. Robert Krieger Publish. Co. Florida, pp. 364.

Esquivel P. Mangiaterra M. Giusiano G, Sosa M. (2003). Microhongos anemófilos en ambientes abiertos de dos ciudades del nordeste Argentino. Boletín Micológico. 18:21-28.

Hayes, M. A. (2012). The Geomyces fungi: ecology and distribution. BioScience, 62(9), 819-823.

Mier, T., Toriello C. Ulloa M. (2002). Hongos microscópicos saprobios y parásitos: Métodos de laboratorio. Universidad Autónoma Metropolitana, México D.F. 90 p.

Pinzón-Gutiérrez, Y.A. Bustamante, S.L, Buitrago G. (2009). Evaluación de métodos para la conservación de hongos fitopatógenos del ñame (*Dioscorea* sp). Rev. Colomb. Biotecnol. 2: 8-18.