

## 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>Manual de manejo y prevención de SNB en México.</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. Proyecto No. ME008. 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 trasporta 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.



**PROTOCOLO PARA LA COLECTA DE MURCIELAGOS,  
ANALISIS Y RESGUARDO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS ASOCIADAS AL  
SÍNDROME DE NARIZ BLANCA (SNB).**

**Responsables**

**Dr. Víctor Sánchez Cordero**

**Dr. Angel Rodríguez Moreno**

**Dr. Gabriel Gutiérrez Granados**

**Dra. Judith Castellanos Moguel**

## TRABAJO DE CAMPO

### PREPARACIÓN DEL EQUIPO PREVIO SALIDA AL CAMPO

Inventario de equipo para trabajar con quirópteros

Trampeo de murciélagos

#### EQUIPO Y MATERIALES REQUERIDOS:

GPS	Libreta de campo
Redes de Niebla ® de 3, 6 y 12 metros	Tubos para la colocación de redes
Flagging o cinta marcadora	
Bolsas de Plástico, manta y tela (30 x 25 cm) para sacar los murciélagos de las redes	Guantes de carnaza Guantes de látex
Formatos para toma de datos (anexo 2)	
Hisopos estériles	Algodón
Cajas Petri con medios de cultivo	
Regla de 30 cm. Vernier y Flexómetro	Pezolas® 50, 100, 200, 300 gr
Cepillo de dientes para cepillar al animal en busca de ectoparásitos	Pincel delgado para colecta de ectoparásitos
Tubos Eppendorf o viales para colecta de ectoparásitos	Pizeta
Alcohol etílico 96°	Estuche de Disección
Charola de Disección	Papel aluminio
Cloro o Krit	Crioviales
Etiquetas de papel y con pegamento	Marcadores indelebles
Lápices	Cinta Adhesiva

Ropa desechable estéril	máscaras de respiración y filtros
Frascos 250 y 500 ml para guardar organismos	
Cordel o Bungges	Cinta adhesiva gris
Martillo	Clavos
Red entomológica	

Previo a la salida al campo el equipo antes mencionado será colocado en bolsas ziploc® independientes y todo el material será colocado en cajas de plástico con tapa.

### **PROTOCOLO DE TRABAJO DE CAMPO CON QUIRÓPTEROS *IN SITU***

Trabajo de campo

El responsable de la salida al campo deberá considerar la siguiente información.

1. Fecha de Salida y de Regreso: Día, Mes y Año.
2. Origen: Lugar del cual se partió al sitio de colecta.
3. Destino: Estado en el cual se realizó la colecta
4. Presupuesto: Monto económico utilizado para la salida.
5. Vehículo: Marca y Modelo así como la institución que lo proporcionó.
6. Integrantes: Nombre de cada uno de los integrantes a la salida.
7. Responsables: Nombres de responsables de la salida de Campo.
8. Observaciones: Observaciones pertinentes o destacadas de la salida al campo.

**UNA VEZ SELECCIONADO LA LOCALIDAD Y EL SITIO DE MUESTREO SE DEBERÁ DE RECOPIAR LA SIGUIENTE INFORMACIÓN:**

País:

Estado:

Municipio:

Persona de Contacto:

Longitud:

Latitud:

Altitud:

Precisión:

Sitio:

Descripción del sitio:

Hábitat:

Vegetación:

Microhábitat:

Nombre de la Actividad que se realizó:

Captura de Quirópteros (Redes de Niebla)

Muestreo en cuevas

Hora de Inicio y final de cada Actividad

Tipo de Muestreo, Número de trampas y el estrato en que fueron colocadas.

Humedad relativa inicio y final de la actividad

Precipitación:

Condiciones de viento:

Nombre del Colector:

## **COLECTA DE MURCIÉLAGOS**

La colecta de murciélagos se realizará mediante el uso de redes de niebla de 3, 6 y 12 metros de longitud por 3 metros de altura. Estas dimensiones permiten ser usadas tanto en sitios abiertos como en sitios de vegetación cerrada, entradas de cuevas, márgenes de arroyos o bien en sitios urbanos.

Estas redes serán colocadas desde la hora del crepúsculo y hasta cumplir 6 horas de muestreo. La colocación de las redes se realizará siguiendo indicaciones estándar con el fin de maximizar la captura de individuos que utilizan el sotobosque o cuerpos de agua.

Cada noche se utilizarán 3-5 redes con el fin de tener un esfuerzo de captura mínimo de 72m<sup>2</sup>/noche. Todos los individuos capturados serán colocados en bolsas de manta y tela y marcados con la hora de captura y la identificación de la red. Las redes deben ser colocadas selectivamente en senderos y cursos de agua en horas de actividad de los murciélagos (19:00 a las 02:00 hrs.). Las redes se revisaron cada 30 minutos aproximadamente. Los individuos capturados serán extraídos de la red y colocados en bolsas de manta para su posterior identificación, taxonómica, medición, disección y preservación de tejidos.

Adicionalmente y cuando sea posible, se utilizará una red entomológica o red de golpeo para atrapar murciélagos en cuevas, grietas rocosas, huecos de árboles, o construcciones abandonadas en donde se refugien murciélagos.

Es importante mencionar que los animales que se colecten será siguiendo las directrices internacionales para el manejo y la preservación de la fauna silvestre (Sikes y Gannon, 2011)\* y con los permisos de colecta expedidos por la Dirección general de Vida Silvestre SEMARNAT: SGPA/DGSV/04283/17, SGPA/DGSV/010680/18.

Todo el material reutilizable (guantes de carnaza, redes de niebla, lámparas de cabeza, bolsas de manta, máscaras de respiración y filtros etc), será desinfectado mediante un desinfectante y fungicida al termino diario de muestreo para evitar la contaminación a otros organismos en otra localidad de trabajo

mientras que todo el material desechable (ropa desechable, bolsas de plástico, viales etc) será colocado en bolsas para desechos peligrosos / Biológico infecciosos y posteriormente desechado mediante un incinerador.

### **TRABAJO EN CUEVAS.**

Una vez ubicada la cueva, se procederá a:

- a) Realizar una caracterización de la cueva y alrededores con la búsqueda de ejemplares muertos de murciélagos.
- b) La colecta de ejemplares muertos se realizará utilizando guantes desechables y colocando cada ejemplar en bolsas de plástico independientes.
- c) Para el ingreso a la cueva se utilizarán ropas desechables las cuales se desecharán una vez terminado el trabajo en esa localidad.
- d) La colecta de ejemplares dentro de la cueva se realizará con redes entomológicas o redes de golpeo.
- e) Todo el material reutilizable (guantes de carnaza, redes de niebla, lámparas de cabeza, bolsas de manta, máscaras de respiración y filtros etc), será desinfectado mediante un desinfectante y fungicida al término diario de muestreo para evitar la contaminación a otros organismos en otra localidad de trabajo.
- f) Todo el material desechable (ropa desechable, bolsas de plástico, viales etc) será colocado en bolsas para desechos peligrosos / Biológico infecciosos y posteriormente desechado mediante un incinerador.

## **Protocolo para el diagnóstico de la enfermedad. Síndrome de nariz blanca en murciélagos.**

En caso de encontrar ejemplares con las características del Síndrome de Nariz Blanca se seguirá el protocolo recomendado por Canadian Wildlife Health Cooperative (BWNS).

La evaluación diagnóstica es esencial. Si hay varios murciélagos a conservar por un incidente de mortalidad y se requiere un diagnóstico específico para cada murciélago, debe recogerse por separado en su propia bolsa de plástico.

Alternativamente, si el objetivo es diagnosticar SNB a nivel de especie, entonces todos los murciélagos de una especie dada pueden ser recogidos en una sola bolsa de plástico, como una muestra agrupada.

Sin embargo, en los casos de posible identificación de SNB en una nueva localidad o colonia de hibernación, o nueva especie no registrada con anterioridad, es preferible enviar murciélagos encontrados muertos. Como incidentes individuales en su propia bolsa de plástico. Por último, ocasionalmente cuando es necesario que los murciélagos muertos recolectados en el campo se envíen a una ubicación central para su procesamiento y recopilación de datos antes de enviar a un centro de CWHC para la evaluación de diagnóstico. En estos casos, es crítico evitar la contaminación cruzada de murciélagos no infectados con *Pseudogymnoascus destructans* de murciélagos infectados.

## **ANÁLISIS DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO DE MICOLOGÍA UAM-X Y MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD EN LABORATORIO DE MICOLOGÍA UAM-X**

Para garantizar las medidas de bioseguridad en todas las fases del proyecto que involucraron el trabajo del laboratorio, se siguieron Normas Oficiales Mexicanas y normatividad internacional. A continuación, se describen cada una de las fases del proyecto y las medidas de contención y custodia respectivas.

Preparación de material para llevarlo a campo

Todo el material que tendría contacto con los murciélagos se esterilizó previamente o bien se compró estéril.

Es importante mencionar que el personal que trabaja con la cepa de referencia de *Geomyces destructans* (ATCC MYA-4855), sigue las normas de bioseguridad para organismos de nivel II de la OMS, y al tener contacto con el hongo, no salen a campo tres semanas posteriores al trabajo con el mismo, de acuerdo con lo establecido para la contención del Síndrome de Nariz Blanca propuesto por el servicio de parques de EUA.

#### **CADENA DE TRANSPORTE:**

Una vez tomadas las muestras, se solicitó a los colectores que las transportaran de acuerdo con la NOM-051-SCT2/2003, *Especificaciones especiales y adicionales para los envases y embalajes de las sustancias peligrosas de la división 6.2 Agentes Infecciosos, como muestras para diagnóstico (no incluidos los animales vivos infectados) que contienen agentes pertenecientes al grupo II de riesgo establecido por la OMS (microorganismos que pueden provocar enfermedades en los animales con pocas probabilidades de propagación y contra las cuales suele disponerse medidas de profilaxis o tratamientos eficaces).*

Por cuestiones de contención, las muestras se trataron como pertenecientes al grupo I establecido por dicha NOM: *aquellos de los que se sabe que contienen sustancias infecciosas o se estima probable que las contengan.*

Para el transporte de las muestras en todos los casos, se utilizó un recipiente primario estanco (tubos de transporte estériles para muestras microbiológicas).

Un envase y embalaje secundario estanco (bolsas herméticas).

Material absorbente y refrigerante alrededor del embalaje secundario.

Un envase y embalaje exterior suficientemente resistente y sólido (una hielera desechable que se incineró al llegar al laboratorio).

Todo fue debidamente etiquetado y registrado en una bitácora.

## **PROCESAMIENTO DE MUESTRAS**

a) Medidas de bioseguridad general:

Todo el personal del laboratorio de Micología que trabaja con muestras que probablemente contengan *G. destructans* o con la cepa de referencia (ATCC MYA-4855), utiliza bata en todo momento, la cual no se utiliza en otras áreas. En caso de que sea necesario porta guantes de nitrilo o látex para manipular los cultivos. Dichos guantes se retiran de forma aséptica, se depositan en un contenedor apropiado para su posterior traslado al incinerador y de manera inmediata se lavan las manos. De la misma manera, el personal se lava las manos siempre antes y después de manipular el material, así como de utilizar cámaras fotográficas, microscopios y de abandonar el laboratorio. Existen áreas específicas para el guardado de objetos personales que no tienen contacto con ningún material de laboratorio, asimismo, está prohibido ingerir alimentos o bebidas o almacenar contenedores con los mismos en las zonas de trabajo del laboratorio (Borrel et al., 2007; OMS, 2005).

El laboratorio cuenta con un piso epóxico especial, así como con curvas sanitarias, lo que garantiza que no existen acumulaciones de polvo u otros materiales.

En caso de existir algún derrame accidental de material contaminado con *G. destructans*, se debió avisar al responsable del laboratorio y mantener un registro escrito de los incidentes. Afortunadamente, no se han presentado estas situaciones al momento de presentar el informe.

Todos los materiales se descontaminaron, esterilizaron o incineraron una vez que se terminó de trabajar con ellos.

Las superficies de mesas de trabajo, campana de seguridad biológica y en general todas aquellas donde se realice algún procedimiento relacionado con microorganismos, se descontaminan antes y después de utilizarlas.

Es importante mencionar que todas las muestras se trataron como posible material infeccioso.

## **B) TRATAMIENTO DE MUESTRAS**

Todo el material que tuvo contacto con las muestras se esterilizó previamente y se trabajó en campo estéril o en campana de seguridad biológica. Una vez que se utilizaron los tubos de transporte para obtener muestras de los hongos que contenían, se depositaron en bolsas rojas de acuerdo con la NOM-087-ECOL-SSA1-2002, las cuales posteriormente se llevaron a incinerar. Todo el material que tuvo contacto con las muestras, se incineró o bien se esterilizó cuando fuese reutilizable. En cuanto a las cajas de cultivo, se cerraron con parafilm y se depositaron en bolsas de polipapel debidamente etiquetadas y selladas. Para su almacenamiento, se colocaron en refrigeración en la parte de abajo del equipo, para evitar contaminaciones cruzadas.

## **IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS**

Para la observación al microscopio de las muestras, se utilizaron portaobjetos nuevos, posteriormente, éstos se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio al 10% durante una noche para inactivar a cualquier organismo presente. Posteriormente, se enjuagaron y esterilizaron en autoclave para su siguiente uso.

El microscopio se desinfectó con una solución de alcohol isopropílico al 70% después de cada uso.

## **CONFORMACIÓN DEL CEPARIO**

Para el cepario se utilizaron crioviales estériles, con tapón de rosca de seguridad y todo el material fue debidamente etiquetado, y almacenado en contenedores apropiados. Se tiene un registro escrito de cuántos crioviales corresponden a cada aislado y donde se encuentran físicamente en el laboratorio.

### **DESECHO DE MATERIAL USADO**

Todo aquel material que tuvo contacto con las muestras se incineró en las instalaciones del bioterio (UPEAL UAM-X) siguiendo los protocolos establecidos por la NOM -087-ECOL-SSA1-2002 para el desecho de los mismos y el establecimiento de la ruta de transporte hasta las instalaciones del incinerador.

## **Referencias:**

Borrell, N., X. Mesquida P. Alomar. 2007. Normas de Seguridad, en: Peman, J., E. Martín-Mazuelos, M.C. Rubio Calvo. Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. 2a. Ed. Revista Iberoamericana de Micología. Bilbao.

NOM-051-SCT2/2003, Especificaciones especiales y adicionales para los envases y embalajes de las sustancias peligrosas de la división 6.2 Agentes Infecciosos. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 1 de diciembre de 2005.

NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Residuos peligrosos biológico infecciosos - clasificación y especificaciones de manejo. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 17 de febrero de 2003

OMS. 2005. Manual de bioseguridad en el laboratorio. Tercera Edición, Ginebra, 223p.

Sikes, R. S., Gannon, W.L., AND THE ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE  
2011 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *Journal of Mammalogy*, 92(1):235–253, 2011.