





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

ASUNTO: **VOTO APROBATORIO**  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN



**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

**Identificación de levaduras en estómago e intestino de murciélago Artibeus sp. Capturados en Chamela Jalisco**

Que presenta la pasante: **Norma Edith Domínguez Torres**  
Con número de cuenta: **303168597** para obtener el Título de: **Química Farmacéutica Bióloga**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de julio de 2013.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dr. Tonatiuh Alejandro Cruz Sánchez	
<b>VOCAL</b>	Dr. Enrique Salas Téllez	
<b>SECRETARIO</b>	Dra. Alma Lucila Nuñez del Arco	
<b>1er. SUPLENTE</b>	QFB. Dulce Ma. Ruvalcaba Sil	
<b>2do. SUPLENTE</b>	QFB. Leticia Cubillo Carrillo	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

HHA/iac

---

---

## AGRADECIMIENTOS.

Quiero agradecer a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser parte de ella y a la Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán por acogerme y darme la formación necesaria para poder cumplir con mis proyectos y sueños.

De manera especial, agradezco a mis asesores de tesis la Dra. Alma L. Núñez del Arco y al Dr. Enrique Salas Téllez por la oportunidad, apoyo, la confianza y las enseñanzas necesarias que me brindaron en el transcurso de la realización de este trabajo. También le agradezco enormemente a la M.V.Z. Martha García por su confianza, compromiso, y apoyo brindado.

Con gran dedicación y de manera mucho muy especial agradezco a mis padres Laura y Juan por el gran apoyo que siempre me brindaron sin titubear y para ellos solo tengo una palabra que podría describir todo lo que siento por ellos: "los amo", gracias por todo lo que me han enseñado hasta este momento que a pesar de las situaciones difíciles nunca me dejan sola, gracias por toda esa confianza que han depositado en mí para dejarme tomar mis propias decisiones y sobre todo gracias por las veces que he tropezado y caigo porque siempre están a mi lado para ayudarme incondicionalmente. Así mismo con el mismo amor tengo que mencionar a otra persona muy importante en mi vida la cual quiero con todo mi corazón y que sin ella nada sería igual mi hermana Beatriz, que no tiene idea cuanto la adoro y que siento mucho cariño por ella.

También me gustaría agradecer a mi amiga Arlena que ya llevamos un largo tiempo de conocernos, de experiencias vividas que han hecho historia y que a pesar de la distancia y el tiempo que en ocasiones no nos permite que nos veamos siempre estamos al pendiente una de la otra alimentando nuestra amistad de alegría y teniendo presente sin hacer a un lado a dos mujercitas que llevo relativamente poco de conocerlas Fabiola y Verónica que también considero amigas gracias por el apoyo y consejos que me han dado.

Y como olvidar a mis grandes amigos ¿Que hubiese sido de mí en la facultad de no habérmelos encontrado?, pero afortunadamente es que solo una pregunta que me he hecho muchas gracias por estar ahí en esa gran etapa de mi vida gracias Aldo, Amancio, Carlos y Miguel; porque sin ustedes sin

---

---

---

---

sus ocurrencias ni sus locuras no tendría tantas buenas experiencias, recuerdos y consejos. Cabe resaltar que también debo de agradecer a una persona que de repente sin pensarlo llegó me dio ánimos, me apoyo, me ayudo en muchas ocasiones cuando más lo necesitaba, y si me refiero a Alonso gracias por todo lo que has hecho, por compartir tiempo contigo y brindarme un cariño especial.

No me gustaría dejar a nadie fuera de los agradecimientos, son muchas las personas que han formado parte de mi vida a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis pensamientos y en mi corazón, y sin importar en donde estén quiero darles las gracias por todo lo que me brindaron para ellos muchas gracias.

---

El presente trabajo se realizó en laboratorio 17 de Inmunodiagnostico microbiano de la Unidad de Investigación Multidisciplinario (UIM) que se encuentra en la FES- Cuautitlán campo 4; bajo la dirección de la Dra. Alma L. Núñez del Arco y en Dr. Enrique Salas Téllez, en colaboración con la con la M.V.Z Martha García de la Unidad de Investigación Médica en Inmunología (UMAE) en Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI IMSS.

---

---

---

INDICE.

RESUMEN	PAG.
1. INTRODUCCION	
1.1 CHAMELA	1
1.2 ANTECEDENTES CULTURALES DEL MURCIELAGO	2
1.3 GENERALIDADES DEL MURCIELAGO	4
1.4 ANATOMIA DEL MURCIELAGO	5
1.5 FAMILIA <i>PHYLLOMASTOIDE</i>	6
1.6 SUBFAMILIA <i>STENODERMATINAE</i>	7
1.7 <i>ARTIBEUS SP.</i>	7
1.8 MURCIELAGOS	8
1.9 MICROBIOTA	10
2. LEVADURAS	11
2.1 MORFOLOGIA	12
2.2 REPRODUCCION ASEXUAL	13
2.3 REPRODUCCION SEXUAL	14
2.4 REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES	15
3. ANTIMICOTICOS	16
3.1 CLASIFICACION DE ANTIMICOTICOS	17
3.2 KETOCONAZOL	18
3.3 NISTATINA	19
3.4 TERBINAFINA	20
4. JUSTIFICACION	21
5. OBJETIVOS	22
6. DISEÑO EXPERIMENTAL	23
7. MATERIAL Y METODOS	
7.1 CAPTURA Y SACRIFICIO DE MURCIELAGOS	24
7.2 PREPARACION DEL MEDIO SDA	24
7.3 LAVADO DE ORGANOS	24
7.4 AISLAMIENTO MICROBIOLOGICO	24
7.5 IDENTIFICACION DE CEPAS	24

---

---

---

7.5.1 TINCION DE GRAM	25
7.5.2 PRUEBA DE CATALASA	25
7.5.3 PRUEBA DE UREASA	25
7.5.4 TUBO GERMINATIVO	26
7.5.6 PRUEBA DE AUXONOGRAMA (ASIMILACION DE CARBOHIDRATOS)	26
7.6 RESISTENCIA A ANTIMICOTICOS	27
7.6.1 PREPARACION DE LOS ANTIMICOTICOS	27
7.6.2 PREPARACION DE LA MUESTRA	27
7.6.3 INOCULACION DE LA MUESTRA	27
8. RESULTADOS Y DISCUSION	28
8.1 TINCION DE GRAM	29
8.2 PBA. DE CATALASA	29
8.3 PBA. DE UREASA	30
8.4 TUBO GERMINATIVO	30
8.5 AUXONOGRAMA	31
8.6 RESISTENCIA A ANTIMICOTICOS	34
9. CONCLUSIONES	38
10. BIBLIOGRAFIA	39
11. CITAS DE INTERNET	42

---

---

---

## RESUMEN.

Los murciélagos son importantes no sólo por la función que cumplen en la naturaleza; sino además por los beneficios que aportan a la economía y a la salud del hombre y también por su extraordinaria adaptación. Hay especies de murciélagos insectívoros, que son depredadores de insectos existen murciélagos polívoros o nectarívoros que son importantes ya que sin su participación no habría polinización y por ende fecundación de las plantas de importancia alimenticia.

Ciertas especies de murciélagos frugívoros consumen y complementan su alimentación con insectos, hojas y polen, razón por la cual se les considera como omnívoros pero contribuyen con las aves como dispersadores de semillas de gran cantidad de árboles frutales y existen factores extrínsecos que influyen en la selección de alimentos en los murciélagos frugívoros entre los cuales se pueden mencionar las diversidades, estacionalidad, abundancia, el trayecto nutrimentales.

En gran parte la regeneración de plantas es debida a los animales que son dispersadores de semillas que en este caso sería los murciélagos frugívoros ya que cuentan con la capacidad de dispersar sus propágulos para colonizar o recolonizar algún sitio. La importancia de este mutualismo (murciélago-planta) ya ha sido analizada, pero en cuanto al estudio de la microbiota que se encuentra en los murciélagos han sido pocos los reportados.

Este trabajo versa en el estudio para la identificación de microorganismos micóticos que se pueden encontrar en el estómago e intestino del murciélago de la especie *Artibeus sp*, lo que se realizó en experimental fue el lavado con SSF del estómago e intestino para obtener el contenido de estos órganos y posteriormente realizar el aislamiento de levaduras en SDA con ácido tartárico aunque solo hubo crecimiento en el intestino, ya aisladas la microbiota obtenida de intestino se identificó las cepas mediante pruebas bioquímicas específicas para este tipo de microorganismo y el resultados obtenidos fueron cepas de *Cándida* entre las cuales se encuentran *C.albicans*, *C.guilliermondi*, *C.famata*, *C.catenulata* y *C.glabatra* y solo dos fueron *Rodhotorula rubra*. Ya aisladas e identificadas se procedió a realizar un enfrentamiento con tres antimicóticos para poder determinar su sensibilidad, los antimicóticos utilizados fueron Ketoconazol, Nistatina y Terbinafina de los cuales presento una mayor sensibilidad la Terbinafina y el Ketoconazol ante las levaduras presenta una resistencia al antimicótico.

---

---

# 1.- Introducción.

## 1.1.- CHAMELA.

México es uno de los países que cuenta con un gran número de especies nativas de mamíferos por debajo de Indonesia o Brasil, y los murciélagos no son la excepción de estar registrados en nuestro país y por lo tanto estos murciélagos que se encuentran en México incluyen una gran variedad en ecología y hábitos. Aunque se encuentran distribuidos en gran parte del país la mayoría se concentra en las zonas tropicales del país entre las cuales está la reserva ecológica de Chamela en el estado de Jalisco.

Cuando la estación Chamela del Instituto de Biología fue establecida en 1972 se forjó tres objetivos los cuales marcarían sus actividades y estrategias son:

- 1.- Realizar y promover la investigación científica de la flora, fauna y los ecosistemas de la región.
- 2.- Difundir el conocimiento generado.
- 3.- Contribuir a la conservación del bosque tropical caducifolio del occidente de México.(Noriega, 2002).

La reserva se ubica en la costa de Jalisco, en el municipio de la Huerta aproximadamente a 120 km al norte de Manzanillo, entre el margen norte del Río Cutzamala y el arroyo Chamela como se muestra en la Figura 1.



Figura 1." Reserva de Chamela" (Cita internet 1).

El área puede considerarse en términos prácticos dividida en secciones por la carretera Federal Melaque-Puerto Vallarta, y al este de la carretera predominan el bosque tropical caducifolio y al oeste básicamente el bosque tropical subcaducifolio y los humedales. La Reserva de Chamela-Cuixmala ha sido creada para proteger, fundamentalmente, el bosque tropical caducifolio y humedales de la costa de Jalisco. La región de Chamela-Cuixmala se caracteriza por su variada y abundante fauna y por mantener extensiones considerables de bosque tropical caducifolio y humedales con poca perturbación.

El Bosque tropical caducifolio y los humedales, se hallan escasamente representados en los sistemas de protección internacional, situación que, aunada a su alta tasa de destrucción, indica que es urgente

establecer reservas para preservar muestras representativas de estos ecosistemas (URL1). A más de tres décadas de haber fundado la estación de Chamela es uno de los ejemplos más exitosos de conservación de la biodiversidad en México. Esta estación cuenta con una superficie de 3,200 hectáreas que es parte integral de la Reserva de la Biosfera Chamela-Cuixmala, donde gracias al convenio establecido entre la UNAM y la Fundación Ecológica de Cuixmala A.C, se ha garantizado la protección a largo plazo de más de 13,000 hectáreas de selva y humedales.( Noriega, 2002).

## 1.2.- ANTECEDENTES CULTURALES DE MURCIELAGOS.

Los murciélagos en el tiempo prehispánico se conocieron como *tzinacan* o *quimichpapalotl* por los aztecas, *tlacatzinacantli* por los mixtecos y *zotz* por los mayas, a los murciélagos se les considero como dioses en varias culturas prehispánicas, donde representaban larga vida, fortuna y fertilidad. A la vez, también se les reconoció como mensajeros del cielo, la tierra e inframundo por ser habitantes de cuevas o del interior de la tierra. La importancia que tuvieron para los pobladores resulta evidente en la gran cantidad de representaciones que se dejaron de ellos en urnas, vasijas, máscaras, códices y templos, sobre todo en las culturas maya, zapoteca y mixteca. (Conaculta, 2003).

Una de las piezas de museo es la del dios murciélago hallada en el poblado de Miraflores, cerca de Amecameca, Estado de México (Figura 2) la cual mide más de dos metros a pesar de tener forma humana, cabeza, patas y garras presentan claramente a un murciélago. Otra importante representación se encuentra en los cilindros mayas, en cuya parte inferior se observa un rostro semidescarnado que representa al inframundo y que sin duda se relaciona con los murciélagos vampiros, como puede apreciarse por la forma de los dientes incisivos (que es exclusiva de los mamíferos).

Figura N.2 "Dios murciélago" (Cita internet 2).



---

---

En algunas comunidades nahuas del actual estado de Guerrero persiste una tradición oral sobre el origen de los murciélagos: “Un día estaba lavándose Quetzalcóatl cuando toco con sus manos su miembro viril, y hecho así la simiente que arrojó encima de una piedra y allí nació el murciélago, que fue convertido de inmediato en el mensajero de los dioses”

Durante la conquista no existen trabajos científicos que demuestren que los españoles tuvieron interés por conocer a los murciélagos que habitaban en México. Tal vez los asociaban más con perjuicios que con beneficios esto lo podemos leer en el relato de Fernández de Oviedo (1514) que se refiere al murciélago vampiro: “En tierra firme hay muchos de ellos, fueron muy peligrosos para los cristianos a los principios que aquella tierra con el adelantado Vasco Núñez de Balboa y con el bachiller Enciso, cuando se ganó el Darién; porque al no saberse el fácil y seguro remedio contra los murciélagos, algunos cristianos murieron entonces y otros estuvieron en peligro de morir, hasta que de los indios se supo la manera de como se había curar el que fuera picado por algunos de ellos. Estos murciélagos acostumbran a picar de noche y comúnmente por la mayor parte pican del pico de la nariz, o de las yemas de los dedos o de los pies y sacan tanta sangre de la mordedura que es cosa para no poder creerlo sin verlo. El remedio de esta mordedura es tomar un poco de rescoldo de la brasa, cuanto se pueda sufrir y ponerlo en el bocado, hay así mismo otro remedio el cual consiste tomar agua caliente y cuanto se pueda sufrir la calor de ella lavar la mordedura y luego cesa la sangre y el peligro”. Lo anterior ejemplifica el conocimiento que los nativos de América tenían sobre ellos, si bien la manera que tenían de curar la mordedura de murciélago es incorrecta podría haber sido eficaz sobre todo en una época en donde no se conocían los detergentes o desinfectantes. (Conaculta, 2003).

Hay que mencionar que los murciélagos son importantes no solo por la función que cumplen en la naturaleza, si no por los beneficios que trae a la economía y salud del hombre, y porque sus extraordinarias adaptaciones se han utilizado para desarrollar modelos para comunicación ultrasónica entre otros. Desde el punto de vista económico hay especies insectívoras, que son los depredadores más importantes de insectos nocturnos en el mundo y algunos se llegan a manifestar como plaga; existen murciélagos polinívoros o nectarívoros que son importantes ya que sin su participación no habría polinización y por ende fecundación de plantas de importancia alimenticia, económica y cultural. Existe una relación entre la coevolución entre planta y murciélago es tan fuerte que estos han sufrido

---

---

cambios morfológicos y fisiológicos para hacerlos más eficientes y así aprovechar el néctar y polen que ofrecen la flores y en consecuencia facilitar la fertilización. (Romero, 2006).

Ciertas especies de murciélagos frugívoros consumen y complementan su alimentación con insectos, hojas y polen, razón por la cual se les considera como omnívoros, pero actúan junto con las aves como dispersadores de semillas de gran cantidad de árboles frutales. Lo anterior favorece la germinación de semillas y después de que las plantas se han establecido, la reforestación por tales especies de plantas en diferentes áreas y aunando a esto es excremento o guano de algunas especies sirven como fertilizantes en la agricultura debido a su alto contenido de nitrógeno. También están tomando una gran importancia ya que algunas especies de microquirópteros y megaquirópteros potencialmente pueden transmitir enfermedades mortales al ser humano, también en investigaciones epidemiológicas en el desarrollo de vacunas y mecanismo de resistencia de enfermedades. Se ha dado parte que en la saliva de los vampiros se encuentra una proteína que funciona como anticoagulante, llamada desmoquinasa, la cual se utilizó como base para procesar el fármaco DSPA (Desmodus Salivary Plasminogen Activator), de utilidad para tratamiento de infartos, accidentes cerebrovasculares y otros tipos de trombosis. (Romero, 2006).

### 1.3.- GENERALIDADES DE MURCIELAGO.

Los murciélagos se agrupan dentro de la clase *Mammalia* principalmente porque tiene el cuerpo cubierto de pelo y alimentan a sus crías con leche, el nombre de murciélago proviene del latín *muris* (mus): *mur* o ratón, *caecus*: ciego, y ala: el ala que en resumen lo que quiere decir es ratón ciego alado lo que hace referencia a su capacidad para realizar un verdadero vuelo. Con una distribución casi cosmopolita ocupan diferentes habitas desde regiones a nivel del mar hasta altas montañas con excepción las islas oceánicas más alejadas o áreas con nieve también cubren todos los tipos de vegetación como bosques tropicales perennifolio, subcaducifolio y caducifolio, bosques espinoso, de coníferas y encinos, pastizal y matorral por ejemplo en México existen alrededor de 138 especies de murciélagos y en el quinto país con mayor diversidad. Por otra parte, acceder a la información básica y conocer gráficamente a los murciélagos más comunes favorecerá que cualquier persona pueda diferenciar fácilmente a los murciélagos benéficos (insectívoros, nectarívoros, frugívoros, carnívoros u

omnívoros) del vampiro común (*Desmodus rotundus*) con esto se tratara que haya una disminución de sacrificios injustificados de las especies que son benéficas para la naturaleza. (Romero, 2006).

#### 1.4.- ANATOMIA DEL MURCIELAGO.

Los murciélagos se encuentran entre los grupos de mamíferos más diversificados del mundo; su anatomía conserva rasgos primitivos, todos los murciélagos vuelan y la mayoría poseen un sistema de ecolocalización; su cuerpo presenta un plan estructural idéntico y ciertas similitudes en cuanto a piel y pelaje, alas y dientes, agudeza visual y sistema auditivo, así como de patrones y sistemas reproductivos (Wilson, 2002).

En las características más sobresalientes de los murciélagos frugívoros se encuentran las siguientes: tienen una poderosa dentadura con incisivos, caninos, premolares y molares con cúspide roma para así poder macerar su alimento. La hoja nasal y el trago están bien desarrollados como se observa en la Figura 3, para la orientación de vuelo que es la altura de los árboles frutales también se guían de la ecolocación y su membrana interfemoral es pequeña ver Figura 4. (Flores, 1998)

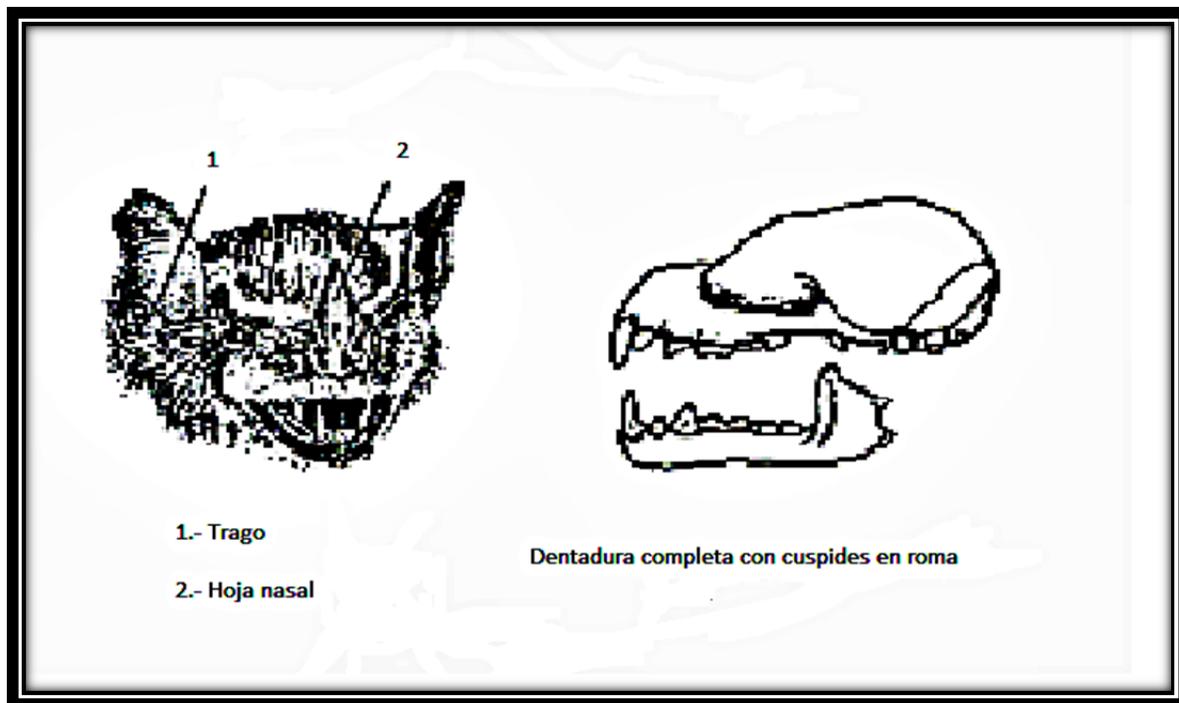


Figura 3 (Flores, 1998)

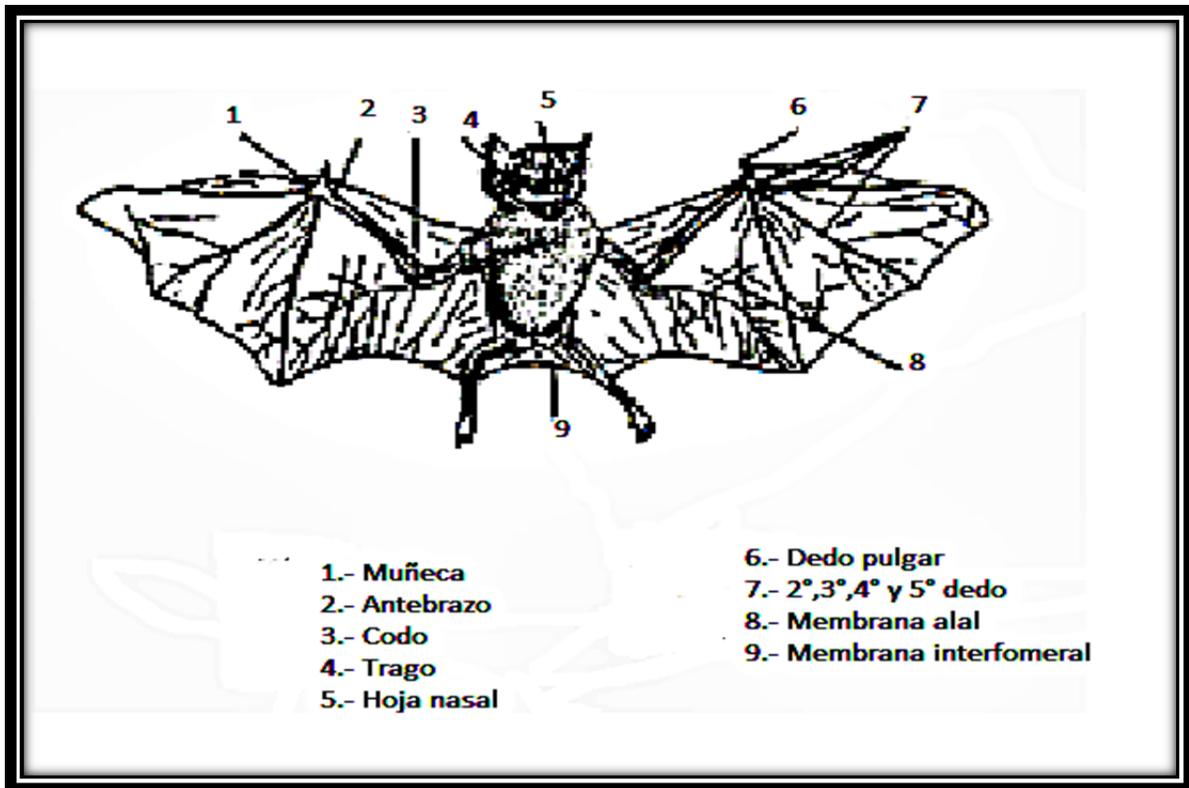


Figura 4 (Flores, 1998)

Estos murciélagos forman parte muy importante en el ecosistema y en la fauna tropical, siendo comedores de frutos, y su distribución está relacionada a las áreas donde existen los vegetales donde se producen estos. La importancia ecológica de los murciélagos frugívoros está dada con el hecho de que son diseminadores de semillas de los frutos que le sirven como alimento, llevándolas a distintos lugares por medio de su excremento. (Flores, 1998)

#### 1.5.- *FAMILIA PHYLLOSTOMIDAE.*

Los filostomidos se distinguen de los demás quirópteros del nuevo mundo por un apéndice cutáneo nasal de un aspecto muy variable lo cual hace parecer a una hoja y una forma más simple no parece más que como un pliegue cutáneo a lo largo de la punta de la nariz, esta estructura actúa como un megáfono para encontrar los sonidos que son emitidos a través de las narinas aunque también estos sonidos pueden ser emitidos por la boca. El segundo dedo de la mano posee falanges pequeñas y un metacarpiano que es algo desarrollado, el tercer dedo a diferencia de otras familias tiene las falanges completas.

---

---

En cuestión de las alas son anchas lo que permite el vuelo lento que es lo más adecuado para poder maniobrar entre la vegetación. (Mora, 2000)

#### 1.6.- SUBFAMILIA *STENODERMATINAE*. (Murciélago frugívoros)

Son muy variable en tamaño ya que los hay desde pequeños hasta grandes, también es muy variable su fórmula dentaria estos murciélagos se caracterizan por tener la cara redondeada, ojos grandes, ausencia de cola, y el uropatagio mucho más corto que las patas o ausente en algunos casos. Dos especies no tienen hoja nasal igual. Los *Stenodermatinae* son de hábitats muy variables y se alimentan principalmente de frutas por ejemplo algunos *Artibeus* y *Uroderma* consume muchos higos y al ser muy comunes juegan un papel ecológico importante al dispersar semillas y en general ellos son dispersadores de muchas especies de plantas por lo general toman su alimento y las llevan a un sitio particular de alimentación, ahí consumen la pulpa de los frutos pero se deshacen de las estopas y semillas grandes. (Mora, 2000)

Varios estenodermatinos aprovechan algunos tipos de hojas para construir sitios de descanso que son conocidos como "tiendas". Esta es la subfamilia más grande de *Phyllostomidae* formado por 62 especies distribuidas en 17 géneros.

#### 1.7.- *Artibeus sp.*

Tiene el dorso de color que va desde gris o pardo a casi negro, no tiene línea dorsal blanca, además de que cuenta de cabeza grande, redondeada y fuerte, normalmente tiene cuatro líneas faciales claras y ojos pequeños. La lengua de algunos *Artibeus* es negra.

Los murciélagos frugívoros se encuentran desde México a Paraguay, el norte de Argentina y la amazonia brasileña. La taxonomía del género es compleja y hay discusión sobre si en realidad sus especies forman más de un género es compleja y hay discusión. Los *Artibeus* pequeños (a veces referidos como *Dermanura spp*) son muy similares y a veces es casi imposible distinguirse e identificarlos en el campo.

Los *Artibeus* se alimentan de frutas, razón por la cual juegan un papel muy importante pues propaga las semillas y así ayudan a la dispersión de las especies vegetales. Además suele salir a forrajear a áreas abiertas o desforestadas, tienen un papel primordial en la restauración de los bosques ya que lleva semillas hasta estas áreas. También son importante en la polinización ya que principalmente durante la época seca visita flores para comer polen y néctar y en algunas ocasiones como hojas.

Los murciélagos frugívoros se reproducen durante todo el año y las hembras dan a luz una cría por parto, llegan a vivir unos siete años. Por lo regular evitan salir a comer cuando hay luna, posiblemente para evitar ser vistos por los enemigos como lechuzas o zarigüeyas. Por las noches suelen descansar en cuevas, follajes, huecos de árboles y perchas artificiales como puentes y casas. (Mora, 2000)



Figura N.5 "*Artibeus sp*" (Mora, 2000)

## MURCIELAGOS.

Los murciélagos constituyen uno de los grupos de mamíferos más grandes y de mayor distribución en el mundo. De las 4,600 especies de mamíferos que existen (Medellín y Gaona 2000), 1116 son murciélagos agrupados en 18 familias y 202 géneros (Simmons 2008), lo que representa casi el 25% de todos los mamíferos existentes (Laval y Rodríguez, 2002). El orden *Chiroptera* se ha clasificado en dos subórdenes: *Megachiroptera*, conocidos como zorros voladores o murciélagos del viejo mundo, representados por una sola familia (*Pteropodidae*) con 42 géneros y 186 especies (Simmons 2008). Los *Microchiroptera*, son el segundo suborden e incluye a pequeños murciélagos que habitan en todo el mundo (Neuweiler, 2000) (Kunz, 2003), representados en 17 familias vivientes 160 géneros y 930 especies (Simmons 2008).

En este caso es importante mencionar que el género de *Artibeus* se encuentra en el Orden: *Chiroptera*, Suborden: *Microchiroptera*, Familia: *Phyllostomidae*, Subfamilia: *Stenodermatinae*, el cual se encuentra integrado por 18 especies de murciélagos. (Wilson y Reeder, 2005).

Los murciélagos juegan un papel importante en los ecosistemas tropicales ya que son esenciales por su papel en la dispensación de semillas de muchas plantas y son especialmente importantes para la regeneración natural del bosque. Se encuentran aproximadamente 60 especies en el nuevo mundo de las cuales 22 se han registrado en México, y 12 de esas especies se han localizado en Jalisco como se muestra en el cuadro 1. (Noriega, 2002).

Especies en Jalisco	Conservación	Chamela	Abundancia
<b>Frugívoros.</b>			
<i>Artibeus azteca</i>			
<i>Artibeus hartii</i>	Rara	X	
<i>Artibeus hisrutus</i>	Vulnerable	X	Común
<i>Artibeus intermedius</i>		X	Abundante
<i>Artibeus Jamaicensis</i>		X	Común
<i>Artibeus Phaetosis</i>		X	Rara
<i>Artibeus Toltecus</i>		X	Rara
<i>Carollia subrufa</i>		X	Rara
<i>Centurio senex</i>		X	Rara
<i>Chiroderma salvini</i>		X	
<i>S. ludovici</i>		X	Común
<i>Sturnira lilium</i>			

Cuadro 1 "Especies de murciélagos frugívoros registradas." (Noriega, 2002).

Aunque solo en Chamela se encuentran 8 especies de murciélagos los cuales corresponden a la familia *Phillostomidae* como se muestra en el cuadro 2.

<i>Phillostomidae</i>	<i>Phillostomidae</i>
<i>Artibeus intermedius</i>	<i>Carollia subrufa</i>
<i>Artibeus phaeotis</i>	<i>Chiroderma salvini</i>
<i>Artibeus jamaicensis</i>	<i>Centurio senex</i>
<i>Artibeus toltecus</i>	<i>Sturnira lilium</i>

Cuadro 2.- "Especies de murciélagos en Chamela". (Cita internet 3).

Pero ninguno de las ocho especies que se encuentran en esta reserva se encuentran reportadas en amenaza, aunque si es importante mencionar que no se ha encontrado información de algunas especies. El género de *Artibeus* consiste en 19 especies que están distribuidas desde Sinaloa México hasta América central y América del sur. (Noriega, 2002).

### 1.9.- MICROBIOTA.

Existe una relación simbiótica muy estrecha entre los murciélagos y una gran cantidad de microorganismos, por ejemplo en el tracto digestivo del murciélago se encuentran bacterias que ayudan a degradar alimentos que estos ingieren, también sintetizan vitaminas y ayudan a proteger de otros microorganismos que pueden ser dañinos (Cheverria, 2006). Las bacterias no son solo exclusivas de los murciélagos y es muy probable que las mismas especies de bacterias se encuentren en algunos mamíferos, aunque hay que mencionar que se ha relacionado a los murciélagos como un gran portador de microorganismo patógenos y por este motivo se le catalogado como un mamífero perjudicial. (Hill y Stim, 1984). La mayoría de los estudios que se han realizado con murciélagos han sido relacionados con el aspecto que da referencia a su dispersión geográfica, hábitos alimenticios, reproducción mencionando aspectos generales hay pocos estudios que están relacionados con la microbiota del murciélago. Algunos estudios han mencionado que se han encontrado microorganismos ya sea en el guano del murciélago como en el intestino del mismo. Se determinó la microbiota como guano y contenido intestinal de murciélagos. Reportando lo siguiente:

1) De guano se encontró: los ascomicetes *Aphanoascus fulvescens*, *Gymnascella citrina*, *Gymnoascus dankaliensis*, y *Chaetomidium fi meti*; los hongos mitosporicos *Aspergillus flavo-furcatis*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus terreus* var. *aureus*, *Penicillium* spp., *Malbranchea aurantiaca*, y *Sporothrix* sp.; y las levaduras *Candida catenulata*, *Candida ciferrii*, *Candida famata* var. *flareri*, *Candida guilliermondii* var. *guilliermondii*, y *Rhodotorula* spp.

2) Del contenido intestinal de murciélagos insectívoros, hematófagos, nectarívoros, y frugívoros: *Aspergillus candidus*, *Aspergillus flavo-furcatis*, *Aspergillus sulphureus*, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus* sp., *M. aurantiaca*, *Gliomastix murorum*, *Scopulariopsis* sp.; y *Candida famata* var. *flareri*, *Candida lipolytica*, *Criptococcus albidus*, y *Trichosporon* spp. (Ulloa, 2006).

## 2.- LEVADURAS.

Las levaduras están agrupadas en unas 350 especies (clasificadas a su vez en 39 géneros), lo que nos demuestra que dentro de los hongos constituyen un grupo. Las levaduras se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza, localizadas en el suelo, en la superficie de las frutas, en el néctar de las flores y en ambientes acuáticos. La mayoría son saprófitas y llegan a proliferar en materia orgánica muerta; otras son parasitas, facultativas u obligadas, por lo que se desarrollan en otros seres. Algunas levaduras que son parasitas pueden causar enfermedades en el hombre, animales y plantas. Entre las saprófitas las fermentativas llevan a cabo la fermentación alcohólica de azúcares, características que ha sido aprovechada por el hombre, desde tiempos remotos. (García, 2004).

Las levaduras son definidas como hongos unicelulares microscópicos, que se reproducen por gemación, constituyendo un grupo taxonómico complejo y heterogéneo, que incluyen actinomicetos y basidiomicetos. La unidad más importante en la taxonomía de las levaduras es la especie, se define como un conjunto de cepas que comparten numerosas propiedades estables, pero que difieren de forma significativa de otro propio de cepas distintas. Durante el siglo XX se han sucedido diversas clasificaciones de levaduras, debidas a autores como Lodder y Kreger Von Rij (1952), Lodder (1970), Kreger y Von Rij (1984), Kurtzman y Fell (1998) en sus respectivas ediciones correspondientes a "The yeast. A taxonomic study" y a otros como Barnett y col. (1983, 1990,2000) y autores de la obra "Yeast: characteristics and identification", agruparon y separaron las distintas levadura como se muestra en el cuadro 3. (Hidalgo, 2010)

### Ascomicetos

Familia *Schizosaccharomycetaceae*:

Género *Schizosaccharomyces*.

Familia *Metschnikowiaceae*:

Género *Metschnikowia*.

Familia *Saccharomycetaceae*:

Géneros. *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Zygosaccharomyces* y *Torulaspóra*.

Familia *Saccharomycodaceae*:

Géneros *Hanseniaspora* y *Sacchoromycodes*.

Familia *Candidaceae*:

Géneros *Brettanomyces*, *Candida* y *Kloeckera*.

## Basidiomicetos

Familia *Sporobolomycetacea*:

Género *Rhodotorula*.

Familia *Cryptococcaceae*:

Género *Cryptococcus*.

Cuadro 3.(Hidalgo, 2010).

- 2.1.- Morfología.

Las células de las levaduras son relativamente grandes (si se comparan con las bacterias) oscilan entre 1 y 5  $\mu\text{m}$  de anchura. Cada levadura posee una característica específica como se observa en la Figura 6, pero aun en un cultivo puro, entre las células individuales, existen una considerable variación en el tamaño y la forma que puede ser redonda, elipsoide o casi cilíndrica. Estas características morfológicas se ven afectadas por la edad y el entorno. (García, 2004).



Figura 6 "Morfología de levaduras." (García, 2004).

La estructura de la levadura es la de una típica célula eucariota como se muestra en la Figura 7. Al microscopio pueden observar la pared celular, el citoplasma con vacuolas, glóbulos de grasa y gránulos metacromáticos. Las levaduras no poseen flagelos ni otros órganos de locomoción. Algunas pueden presentar un material viscoso, compuesto de polisacáridos, que rodea la célula y que es semejante a la capsula bacteriana. (Montoya, 2008)

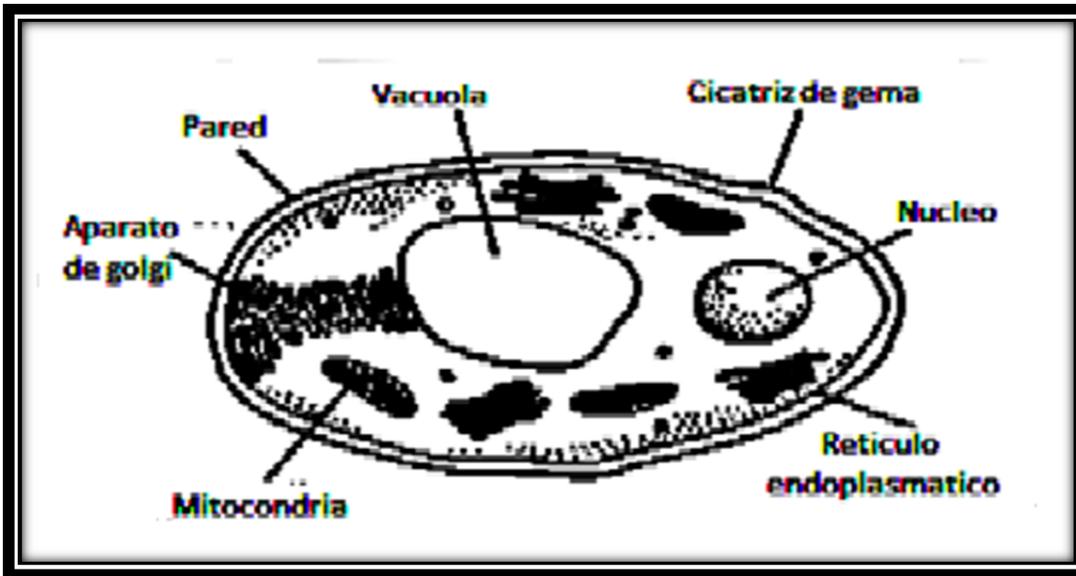


Figura 7" Estructura de levadura." (García, 2004).

## 2.2.- Reproducción.

Existen dos tipos de reproducción para las levaduras:

- ❖ Reproducción Asexual.
- ❖ Reproducción Sexual.

- 2.3.- Reproducción Asexual.

La mayoría de las levaduras se reproducen asexualmente (Figura 8) por germinación y unas pocas por fisión binaria. En el proceso de germinación se forma una pequeña protuberancia en la periferia de la célula, la cual se debe a un debilitamiento local de la pared. Esta pequeña protuberancia se agranda al irse llevando de material citoplasmático proveniente de la célula madre, hasta alcanzar casi el tamaño de esta. El material nuclear se replica por mitosis y una parte pasa a la célula hija. Luego se forma la pared que divide las dos células y la célula hija se desprende de la madre. (García, 2004).

La producción de las gemas puede ocurrir en un extremo o en ambos extremos de la célula, lo que se conoce como germinación polar, o pueden producirse en lugares diferentes de la superficie celular, en cuyo caso se trata de la germinación multilateral o multipolar. En lugar donde se formó una gema queda una cicatriz en la pared de la célula madre. En las levaduras polares, la producción de gemas se da siempre en el mismo lugar lo que contrasta con las levaduras multipolares en las cuales la germinación,

generalmente, no ocurre de nuevo en el mismo lugar. Por esta razón, se pueden considerar que en las levaduras polares, la germinación es infinita mientras que en las multipolares tienen un límite.

(García, 2004).

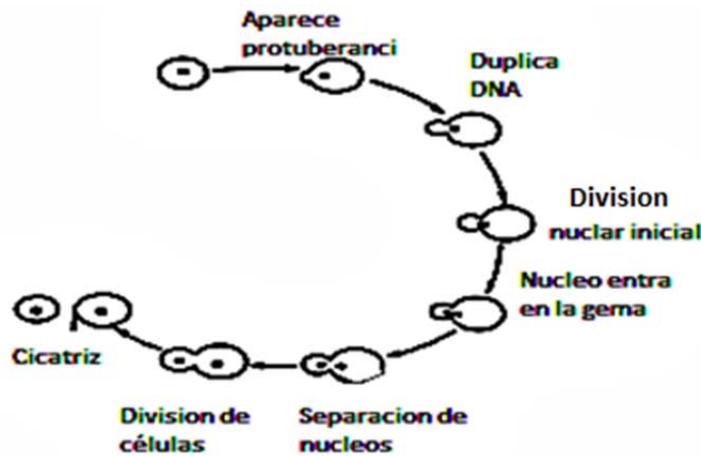


Figura 8 "Reproducción Asexual." (García, 2004).

- 2.4.- Reproducción Sexual.

La reproducción sexual de las levaduras se da por medio de la formación de esporas que pueden ser ascosporas o basidiosporas, dependiendo del tipo de célula especializada donde se formen (un asca o una basidia). Ambos tipos de esporas requieren que ocurra la unión de núcleos compatibles y una división micótica. La mayoría de las levaduras son ascosporas, se considera que el ciclo de reproducción de esta levadura es representativo de la mayoría.

La reproducción sexual (Figura 9) ocurre mediante la fusión de las dos células vegetativas compatibles. Las células que se van a aparear se ponen en contacto y se disuelven sus paredes en un punto correspondiente y se produce la plasmogamia o fusión de plasmas. Después de esto ocurre una cariogamia o unión de núcleos la cual da origen a una célula diploide la cual puede seguir reproduciéndose por germinación o asexualmente, pues de entrar en un proceso meiótico lo que da como resultado la formación de cuatro núcleos. A continuación los núcleos se cubren de citoplasma y de pared propia, esto origina las ascosporas que quedan contenidas en la vieja pared de la célula a la que se llama asca. Una vez liberadas las ascosporas, están germinan y se reproducen asexualmente produciendo el ciclo haploide. De acuerdo con las condiciones del medio podrían suceder que la mayor

parte de la población pase por algunos de los dos ciclos, pero en la mayoría de los casos de los dos ciclos se dan simultáneamente. (García, 2004).

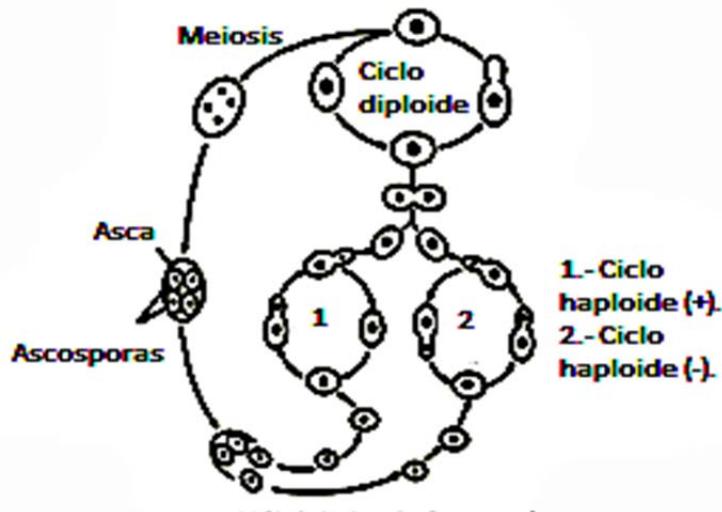
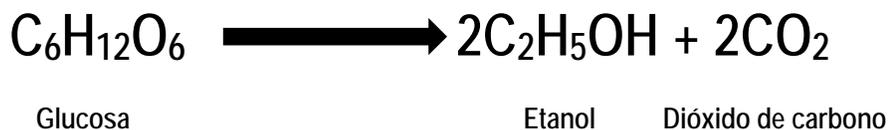


Figura 9 "Reproducción Sexual." (García, 2004).

- 2.5.- Requerimientos Nutricionales.

Las levaduras son organismos heterótrofos, y por lo tanto requiere de carbono orgánico para obtener la energía y el carbón para la síntesis de sus componentes celulares. Sin embargo los requerimientos de nutrimentos específicos para las levaduras pueden variar dependiendo de las diferentes especies.

Los azúcares constituyen el mejor alimento energético de las levaduras. Muchas pueden, por ejemplo, catalizar la glucosa, ya sea en forma aerobia (respiración) o anaerobia (fermentación). El proceso típico es la disimilación anaerobia, conocido comúnmente como fermentación alcohólica, el cual da como resultado etanol y dióxido de carbono:



Bajo condiciones aerobias las levaduras al utilizar el oxígeno del aire, pueden oxidar la glucosa totalmente hasta dióxido de carbono y agua, o parcialmente produciendo productos como ácidos orgánicos y otros intermediarios.

---

---

Las levaduras pueden obtener el nitrógeno que requiere para la síntesis de proteínas tanto de sustancias orgánicas como inorgánicas y muchas especies pueden utilizar el ion amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). La capacidad para utilizar diferentes compuestos nitrogenados es una de las características que se usa para distinguir entre las diferentes especies.

El azufre puede ser suplido por sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) presente en el medio, pero algunas crecen mejor si está presente una fuente de azufre orgánico (aminoácidos azufrados como cisteína). También las levaduras requieren de minerales para su crecimiento por ejemplo se ha determinado que el potasio, el magnesio, el sodio y el calcio se incluyen entre los necesarios. En cuestión para tener un mejor rendimiento para que tengan un mejor crecimiento en un medio sintético se requiere de boro, cobre, zinc, manganeso, hierro, iodo y molibdeno, también es importante mencionar que requieren de poca agua para su crecimiento y llegan a crecer en soluciones con concentración elevada de solutos (sal y azúcar) por lo que se puede decir que necesitan menos humedad que las bacterias sin estar en condiciones extremas de sequedad como lo hacen los mohos. (García, 2004).

### **3.- Antimicóticos.**

Existen muchos menos antimicóticos, antiparasitarios y antivirales que antibacterianos. En el caso de los dos primeros esto es consecuencia de que los hongos y los parásitos están constituidos por células eucariotas, lo mismo que los mamíferos y por lo tanto lo que afecte probablemente también afecte a las células humanas. (Negrori, 2009)

Ya que la incidencia de infecciones producidas por hongos ha aumentado, comienzan a existir modernos antifungicos que presentan una mayor selectividad de actuación y han aparecido nuevas formulaciones galénicas que reducen los efectos secundarios de los usados clásicamente. Como ya se había mencionado los hongos son seres eucariotas sin clorofila, en su mayoría con un comportamiento saprofito. De las 250 000 especies conocidas, aproximadamente unas 400 ocasionan enfermedades en el hombre. Al ser una célula eucariota, los antifungicos deben de actuar sin lesionar química o metabólicamente las células del hospedero, pero deben de ser capaces de destruir (fungicidas) o al

menos impedir el crecimiento (fungistático) tanto de las formas filamentosas como de las levaduriformes del hongo.

- **3.1.- Clasificación de los antimicóticos.**

Los antimicóticos se pueden clasificar de la siguiente manera:

- a) Por su indicación.
- b) Su estructura química.
- c) Tipo de micosis en la que se emplea.
- d) Producidos por microorganismos (antimicóticos antibióticos) y antimicóticos sintéticos. (Velazco, 2002)

El lugar de acción de los antimicóticos ver Figura 10 debe ser exclusivamente de la célula fúngica, por lo que se limita la posibilidad y motiva al desarrollo de nuevos compuestos por ejemplo la membrana celular o citoplasmática es muy parecida a la de las células de los mamíferos con la diferencia de la presencia de ergosterol en lugar de colesterol, esto motivo un objetivo de acción antifúngica con algunos fármacos como del grupo polienicos, azolicos, derivados de morfollinas, alilaminas y los tiocarbamatos. Otros antimicóticos actúan interfiriendo la síntesis de ácidos nucleicos como la flucitosina o interfiriendo el proceso de mitosis fijándose a una tubulina de los microtubulos del huso mitótico como hace la griseofulvina. (Cita internet 4)

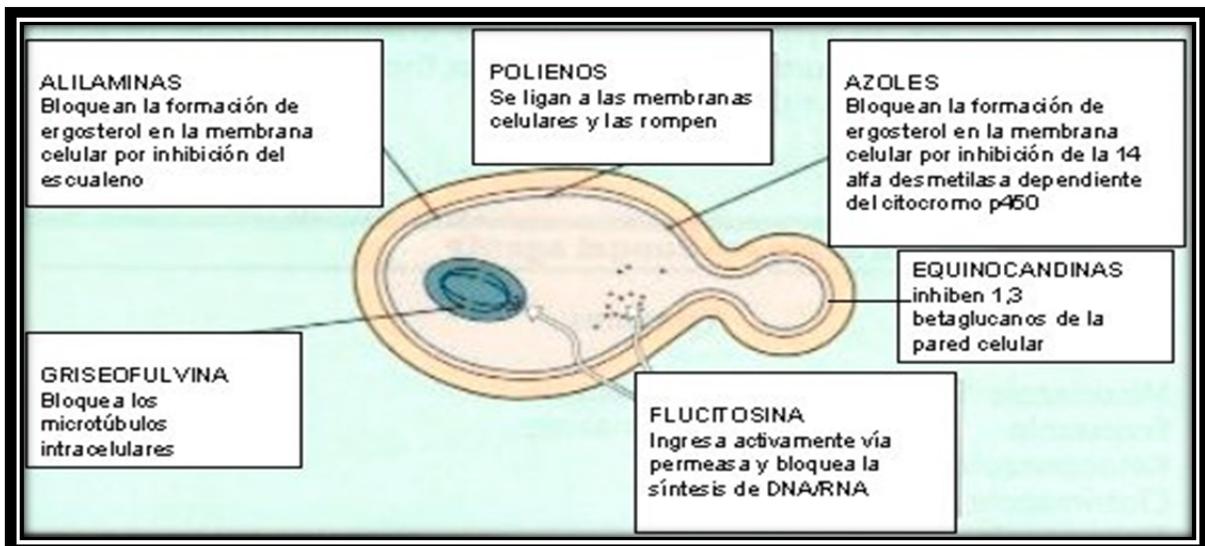


Figura 10 "Mecanismo de acción de antibióticos" (Cita internet 4)

- 3.2.- KETOCONAZOL.

Es una droga fungistática que también puede ser fungicida, según su concentración. Inhibe la biosíntesis de ergosterol u otros esteroides, lesionando la membrana de la pared celular del hongo y alterado su permeabilidad; inhibe la biosíntesis de triglicéridos y fosfolípidos de los hongos y la actividad enzimática oxidativa y peroxidativa. (Lepori, 2002). El Ketoconazol es activo frente a varias especies de hongos que producen micosis profundas y diseminadas, pero en muchas de ellas su actividad por vía oral es inferior a la de la anfotericina B, por lo que queda como fármaco de su segunda elección. Esta especialmente indicado en las mismas micosis de mucosas y piel por *Candida*; es eficaz en las micosis moderadas por *Paracoccidioides* y *Blastomyces*, hongos productores de cromomicosis, criptococosis no meníngea, histoplasmosis y esporotricosis. En las micosis superficiales se pueden utilizar la vía tópica, mientras que la oral quedaría solo para las micosis resistentes a otros tratamientos, incluido el de griseofulvina. (Flores, 2004)

Reacciones adversas: Náuseas, vómitos, diarreas, mareos, somnolencia, Rash cutáneo o prurito. Ante aparición de orina oscura, heces pálidas, cansancio o debilidad no habituales o ictericia se requerirá de forma inmediata atención médica. (Lepori, 2002) En el 2-5% de los pacientes puede elevar temporalmente y asintómicamente las enzimas hepáticas, origina lesión hepática de carácter idiosincrático. En varones y a dosis superiores a 600mg/día puede ocasionar ginecomastia, infertilidad, oligospermia y reducción de la libido por los mecanismos descritos anteriormente. También eleva los niveles de ciclosporina y aumenta el tiempo de protrombina en pacientes que toman anticoagulantes orales. (Flores, 2004)

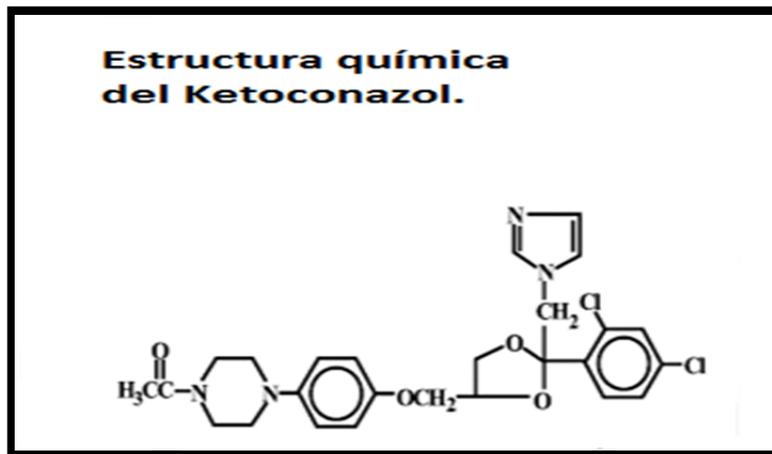


Figura 11 "Estructura química del Ketoconazol" (Cita internet 5)

- 3.3.- NISTATINA.

Es un antibiótico antimicótico de aplicación tópica exclusivamente, producida por *Streptomyces noursei*. Al igual que la Anfotericina B. En cambio carece de actividad frente a bacterias, virus y protozoos. Aunque su espectro cubre varios géneros de hongos, el hecho de que no se pueda administrar por vía parenteral debido a su toxicidad obliga a restringir su acción terapéutica a las infecciones mucocutáneas producidas por las distintas especies de *Candida* en boca, esófago y vagina. (Flores, 2004)

Su mecanismo consiste en la unión a los esteroides en la membrana celular fúngica, que ocasiona la incapacidad de la membrana para funcionar como barrera selectiva, con la pérdida de constituyentes celulares esenciales. A penas se absorbe por el tracto gastrointestinal y se excreta casi totalmente en heces como fármaco inalterado. No se absorbe cuando se aplica en forma tópica sobre piel o membranas mucosas intactas.

Reacciones adversas: En vía oral causa diarrea, náuseas, vómitos y gastralgia en vía tópica causa irritación de piel y lo mismo ocurre por vía vaginal. (Lepori, 2004)

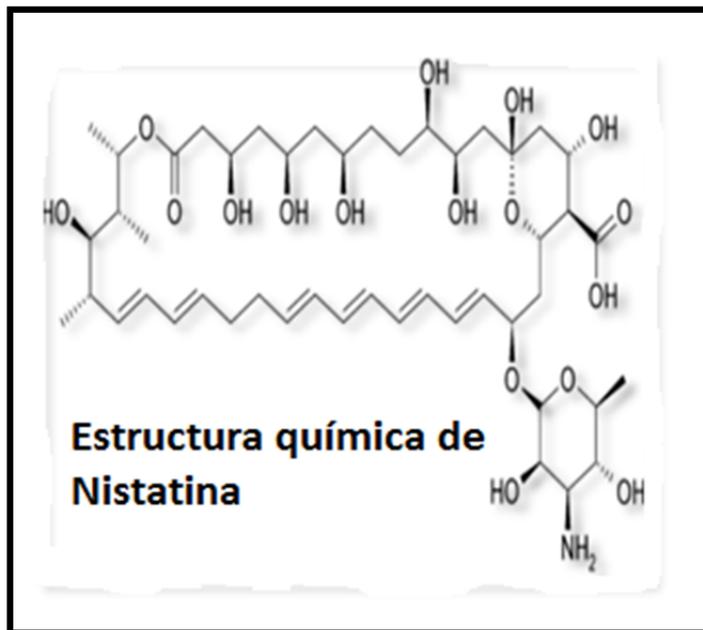


Figura 12. "Estructura química de Nistatina" (Cita internet 5)

- 3.4.- TERBINAFINA.

Es una alilamina similar desde el punto de vista estructural al fármaco que se administra por vía tópica, naftifina. (Goodman y Gilman, 2003). La terbinafina tiene un amplio espectro de actividad antimicótica, en bajas concentraciones es fungicida contra dermatofitos y ciertos hongos dimorficos. La actividad contra las levaduras es fungicida o fungistático dependiendo de la especie. (Lepori, 2002)

Las alilaminas actúan en la vía de la síntesis del ergosterol, inhibiendo la epoxidación del escualeno; la sensibilidad de la escualeno-epoxidasa de hongos la terbinafina es muy superior a la de los mamíferos. Es pues su acción anterior a la de los Imidazoles dentro la misma cadena de síntesis de ergosterol. A diferencia de estos, tiene escasa afinidad por el citocromo P-450, por lo que no interfiere en la síntesis de hormonas esteroideas. (Flores, 2004)

Reacciones adversa: En general es bien tolerada los efectos son leves a moderados y transitorios. Los más comunes son los gastrointestinales (sensación de saciedad, pérdida de apetito, dispepsia, nauseas, dolor abdominal, diarrea) o en formas de reacción en piel leves: rashes, urticaria.

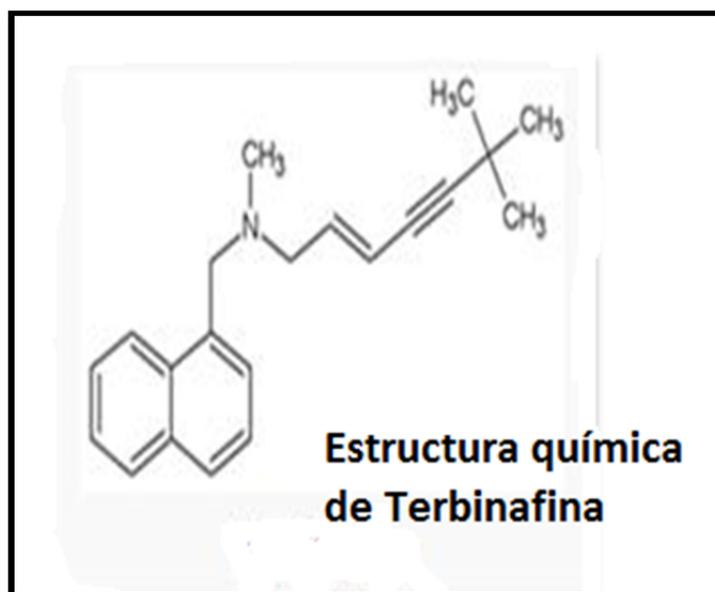


Figura 13 "Estructura química de Terbinafina" (Cita internet 6)

---

---

#### 4.- JUSTIFICACION.

Los estudios realizados a la microbiota que se encuentra presente en los murciélagos son escasos. Los investigadores se han concentrado en los microorganismos que están presentes en su ecosistema o habitat natural.

El interés de la presente investigación es conocer la microbiota que se encuentra presente en el tracto gastrointestinal del murciélago. Para este estudio se trabajó con murciélagos capturados en la reserva de Chamela Jalisco y de la especie *Artibeus sp.*

---

---

## 5.- OBJETIVOS.

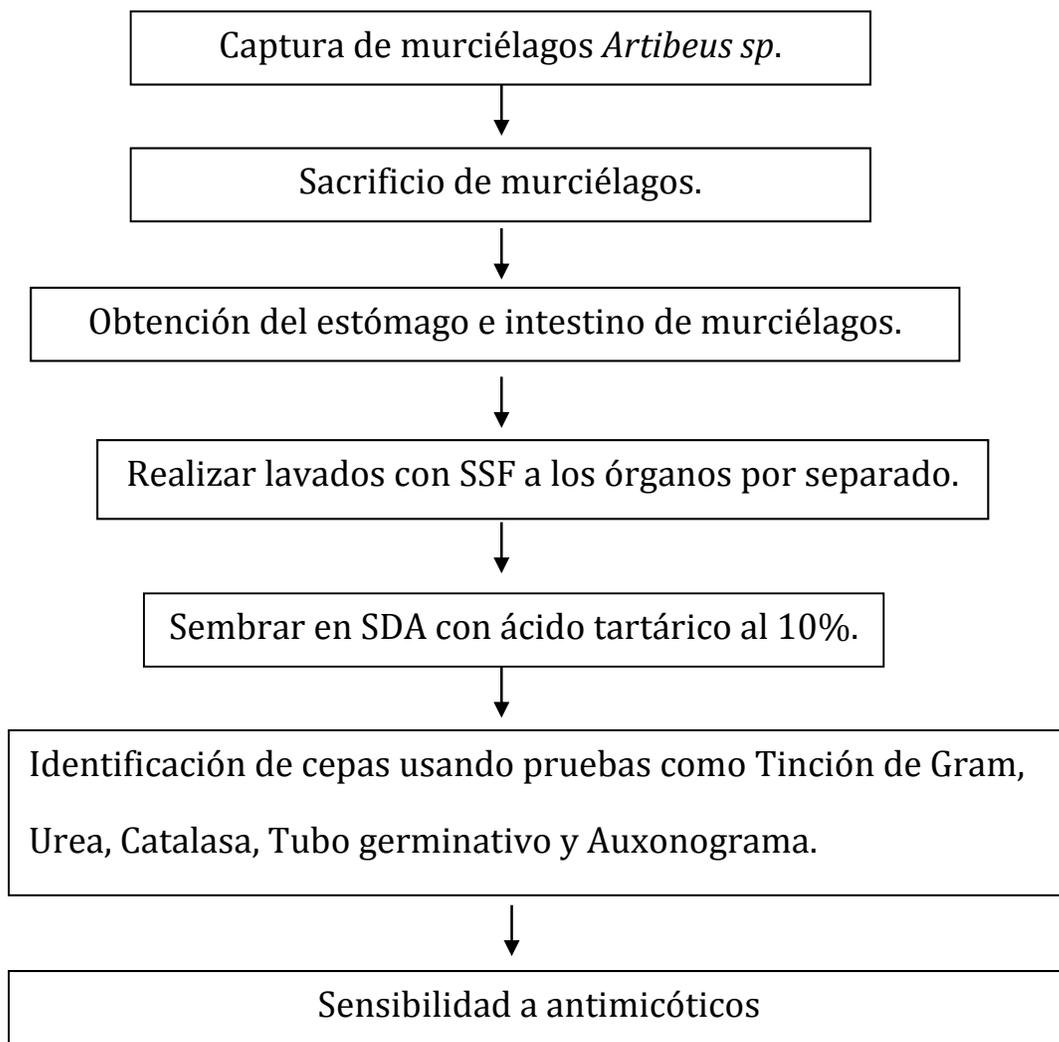
### OBJETIVO GENERAL

- Realizar el aislamiento e identificación de levaduras que se encuentren en estomago e intestino de murciélagos *Artibeus sp*, para realizar una determinación de sensibilidad a antimicóticos.

### OBJETIVOS PARTICULARES

- A partir de lavados con Solución Salina Fisiológica de estómago e intestino de murciélago *Artibeus sp*. y medios selectivos se obtendrá el aislamiento de las levaduras.
- Realizar la identificación de las levaduras aisladas.
- A las levaduras identificadas realizar la prueba de sensibilidad a antimicóticos.

## 6.- DISEÑO EXPERIMENTAL.



## 7.- METODOS Y MATERIALES.

- **7.1.- Captura y Sacrificio.**

La captura de los 30 murciélagos se realizó en Chamela en el estado de Jalisco después fueron trasladados a la UMAE en Centro Médico en la Ciudad de México donde se realizó el sacrificio. A los murciélagos se les anestesió por vía intramuscular en pecho con 0.03ml de Ketamina/Xilacina(1:1) y sangrados vía intracardiaca con jeringa de 3ml.

- **7.2.- Preparación de Medio SDA.**

Se preparó ácido tartárico al 10% esterilizando en autoclave a 121 C a 15 libras por 15 minutos dejándolo enfriar y reservado para su uso.

Se preparó medio Agar Dextrosa Saboraud (SDA) dejando enfriar a una temperatura entre 45-50 C y en completa esterilidad se adicionaron 14 ml de ácido tartárico al 10% y se sembró en cajas Petri estériles, dejar enfriar y realizar prueba de esterilidad, (24 horas en la incubadora a 37 C).

- **7.3- Lavado de los órganos.**

A partir de los 30 murciélagos ya sacrificados y en condiciones de esterilidad se procedió a obtener el estómago e intestino de cada uno de ellos y por separado se colocaron en cajas Petri de vidrio, posteriormente y con ayuda de una jeringa de insulina se le inyectó SSF estéril en el interior de cada órgano, posteriormente con un bisturí y pinza estéril se abrió el órgano para que saliera el contenido después con SSF se lavó el órgano y se separó el tejido restante dejando el contenido solo y este se homogenizó.

- **7.4.- Aislamiento microbiológico.**

De la solución obtenida a partir de los lavados de los 30 murciélagos, cada uno fue inoculado en condiciones de esterilidad y mediante la técnica de siembra por dilución en el medio SDA con ácido tartárico 10%, incubando a 37 C durante 24-48 horas para el crecimiento levaduriforme.

- **7.5.- Identificación de cepas.**

A los microorganismos desarrollados se les realizaron pruebas microbiológicas para su identificación las cuales se mencionan a continuación.

- **7.5.1- Tinción de Gram.**

**FUNDAMENTO:**

El cristal violeta actúa como colorante primario, que se une a la pared del hongo luego de un tratamiento con una solución de yodo, las bacterias Gram (+) por su naturaleza química retienen el cristal violeta aun después de una decoloración con alcohol-acetona y aparecen de color azul intenso. Las bacterias Gram (-) no son capaces de retener el cristal violeta por su mayor contenido lipídico en su pared después de la decoloración, y se contracolorean de rojo con la safranina.

A partir de un crecimiento de 24-48 horas se seleccionó una colonia completamente aislada y realizó un frotis para teñir con la tinción de Gram.

**INTERPRETACION:**

Gram (+): coloración azul-violeta.

Gram (-): coloración rojo-rosado

- **7.5.2- Catalasa**

**FUNDAMENTO**

Se determina la transformación del peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno por acción de la enzima catalasa.

A partir de una colonia pura de 24 horas de crecimiento, con un palillo estéril se recuperó el centro de la colonia y se colocó en un portaobjetos después se adicionó una gota de peróxido de hidrogeno al 3%.

**INTERPRETACION:**

Catalasa (+). Mostrará la formación de burbujas.

Catalasa (-): No mostrara formación de burbujas.

- **7.5.3- Prueba de Ureasa.**

**FUNDAMENTO.**

Se detecta la hidrolisis de la urea catalizada por la presencia de la ureasa con producción de amoniaco y dióxido de carbono que forman carbonato de amonio y alcalinizan el medio aumentando el pH.

---

---

A partir de una colonia pura de 24-48 horas se inoculó con un asa el medio que estaba contenido en tubos de ensaye y se colocó en incubación durante 48 horas.

INTERPRETACION:

Ureasa (+): Coloración del medio rosa intenso.

Ureasa (-): Sin cambio en la coloración del medio.

- **7.5.4- Tubo germinativo.**

**FUNDAMENTO:**

El tubo germinativo es una extensión filamentososa de la levadura, sin estrechamiento en su origen cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud es de tres o cuatro veces mayor que la célula madre.

Se colocó 0.5 ml de suero de ovino estéril, se suspendió una pequeña muestra de la cepa pura con 24 horas de crecimiento, se incubó a 37 C por 2 horas y 30 minutos, pasando este tiempo se colocaron 2 gotas de la suspensión en un portaobjeto y cubrió con cubreobjetos para observar al microscopio con objetivo de 40X.

INTERPRETACION:

Tubo germinativo (+): Desarrolla una estructura elongada a partir de la levadura.

Tubo germinativo (-): No desarrollo de estructura elongada a partir de la levadura.

- **7.5.5- Prueba de Auxonograma.**

**FUNDAMENTO:**

La prueba de asimilación de carbohidratos estudia la capacidad de utilizar los diversos azúcares como única fuente de carbono, para ellos se emplean medios que contienen todos los elementos esenciales para el crecimiento con la excepción de una fuente de carbono, y posteriormente se incorpora un determinado azúcar.

**Preparación de soluciones:**

La preparación del medio se realizó disolviendo extracto de levadura colocando 4 ml de éste en tubos de ensaye, esterilizando a 121C durante 15 minutos, dejando enfriar a temperatura ambiente. Los carbohidratos empleados al 20% (glucosa, raffinosa, galactosa, maltosa, lactosa, sacarosa y dextrosa) se esterilizaron por filtración.

### Procedimiento:

Cada muestra previamente identificada como levadura fue suspendida en 1 ml de solución salina ajustando ( $3 \times 10^8$  UFC) empleando el tubo número uno de Mc Farland, colocar 1ml del carbohidrato y 500 $\mu$ l de suspensión de levadura dejar incubar 24 horas a 37 C.

### INTERPRETACION:

Prueba (+): Se observa turbidez.

Prueba (-): No se observara turbidez.

## 7.6.- Resistencia a antimicóticos.

### • 7.6.1.- Preparación de antimicótico.

De cada antimicótico (ketoconazol, nistatina y terbinafina) con la sal pura se preparó una solución a una concentración de 0.05M realizando diluciones decimales con agua destilada estéril (ver figura 14)

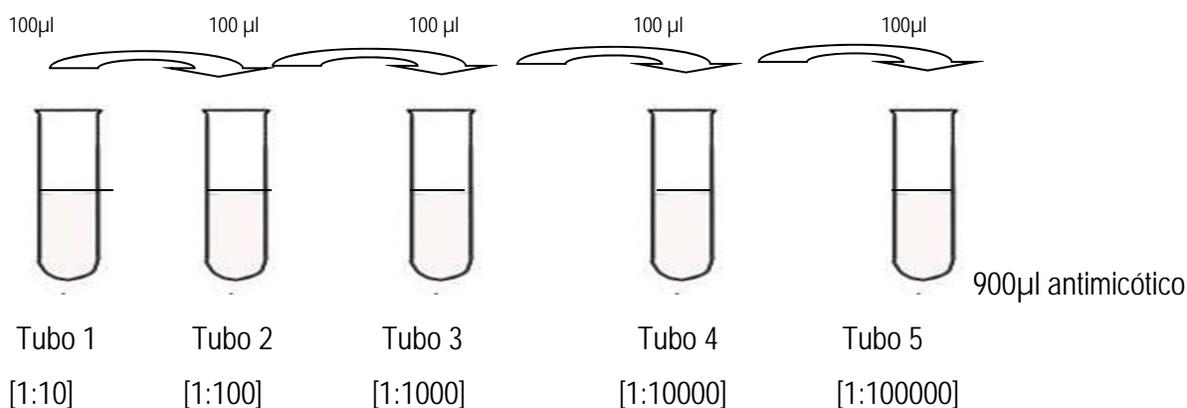


Figura 14 "Preparación de soluciones"

### • 7.6.2.- Preparación de la muestra.

Las cepas previamente identificadas con crecimiento de horas fueron suspendidas en 4 ml de agua destilada estéril ajustando el tubo 0.5 Mc Farland ( $1.5 \times 10^8$ UFC).

### • 7.6.3.- Inoculación de las cepas.

Se preparó agar Mueller-Hillton y se colocó 10 ml en cajas Petri y se dejó gelificar, posteriormente ya que esta lista la primera capa agregar 4 ml de la suspensión de levaduras y se le agrego otros 10 ml de agar Mueller-Hillton y dejar gelificar; ya gelificadas se colocó sin presionar sobre el agar 5 penicilindros con una separación aproximada de 4 centímetros (ver figura 15) sin hacer presión para no dañar el agar, colocando la dilución del antimicótico correspondiente; se dejó incubar 24 horas a 37 C.

INTERPRETACION:

Prueba Sensible: mayor de 10 milímetros.

Prueba Resistente: menor de 3 milímetros.

Prueba Intermedia: de 4 a 9 milímetros.

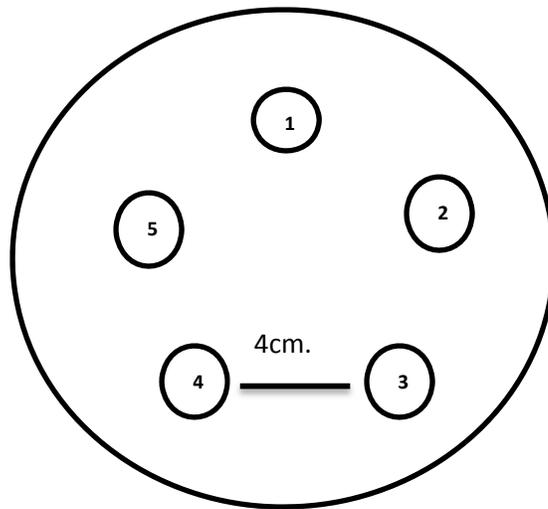


Figura 15 "Imagen de penicilindros"

## 8.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En la tabla 1 se muestra los resultados obtenidos de las pruebas que se les realizaron a la microbiota que se aisló del contenido del intestino de murciélago ya que en el estómago no hubo crecimiento, al realizar la Tinción de Gram determinamos que hubo un crecimiento levaduriforme.

Tabla 1. " Levaduras aisladas"

Muestra	Tinción de Gram	Prueba Catalasa	Prueba Urea	Tubo Germinativo
1	+	+	-	+
2	+	+	-	-
3	+	+	-	+
4	+	+	-	+
5	+	+	-	-
6	+	+	+	-
7	+	+	-	+
8	+	+	-	+
9	+	+	-	+
10	+	+	-	-
11	+	+	-	-
12	+	+	-	-
13	+	+	-	-
14	+	+	-	-
15	+	+	-	-
16	+	+	+	-
17	+	+	+	-
18	+	+	-	-
19	+	+	-	+
20	+	+	-	-
21	+	+	+	-
22	+	+	-	-
23	+	+	+	-
24	+	+	-	-
25	+	+	-	-
26	+	+	-	-
27	+	+	-	-
28	+	+	-	+
29	+	+	-	-
30	+	+	-	-

- 8.1.- "Tinción de Gram"

De las 30 cepas de levaduras que se obtuvieron del aislamiento todas fueron Gram (+), como se observa en la Tabla 1.



Figura N.15 "Morfología de levaduras" (Hidalgo, 2010)

El aspecto que presentaba las levaduras en la caja de SDA era de colonias secas de color blanquizco y al realizar la tinción y obsérvala en el microscopio fue de un aspecto en forma de semilla (ver figura 15), y de un color morado que nos indica que el cristal violeta que es el colorante primario se ha unido a la pared bacteriana ya que su naturaleza química retiene este colorante aun después de la coloración ver Figura 16. (Mac Fadin, 2003)

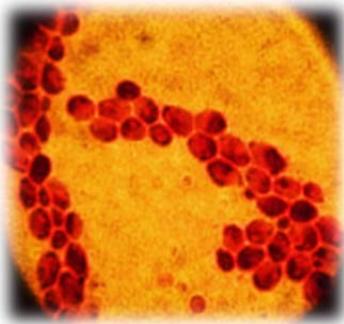


Figura 16 "Gram (+)" Tomada en la experimentación"

- 8.2.- "Catalasa"

En la Tabla 1 "Levaduras aisladas" se pueden observar los resultados que de las 30 cepas que se les realizo la prueba de catalasa todas dieron Catalasa (+) como se muestra en la Figura 17.



Figura 17 "Catalasa (+)" Tomada en la experimentación.

- **8.3.- “Urea”**

Se puede consultar los resultados de esta prueba en la Tabla 1, esta prueba nos da dos distintos resultados de las 30 cepas aisladas 25 dieron una prueba Ureasa (-) y solo 5 dieron Ureasa (+) las cuales son las siguientes muestras 6, 16, 17, 21 y 23. La urea es una diamina del ácido carbónico la hidrolisis de la urea es catalizada por una enzima específica llamada ureasa con la producción de amoníaco y dióxido de carbono y se forma carbonato de amonio y alcaliniza el medio y aumenta el pH, además forman parte de las pruebas bioquímicas secundarias

- **8.4.- “Tubo Germinativo”**

De 30 cepas aisladas 8 dieron tubo germinativo (+) como se muestra en la Tabla 1 “Levaduras aisladas” y como se muestra en la Figura 18 ya se desarrolla una estructura elongada a partir de la levadura y 22 muestras son prueba (-). La prueba de tubo germinativo se realiza ya que es una de las pruebas más sencilla, rápida, económica y más utilizada, como prueba preliminar para la identificación, conocida también como prueba de filamentación en suero o filamentación precoz. Se forma una pequeña prolongación filamentososa proveniente de la célula levaduriforme, sin constricción en el punto de origen, semejante a “un espejo de mano”, cuyo espesor puede medir alrededor de la mitad del diámetro de la levadura, y tener una longitud tres a cuatro veces mayor de dicho diámetro. Esta formación constituye el llamado tubo germinativo.



**Figura 18 “Tubo germinativo (+)” Tomado en experimentación.**

- 8.5.- "Auxonograma"

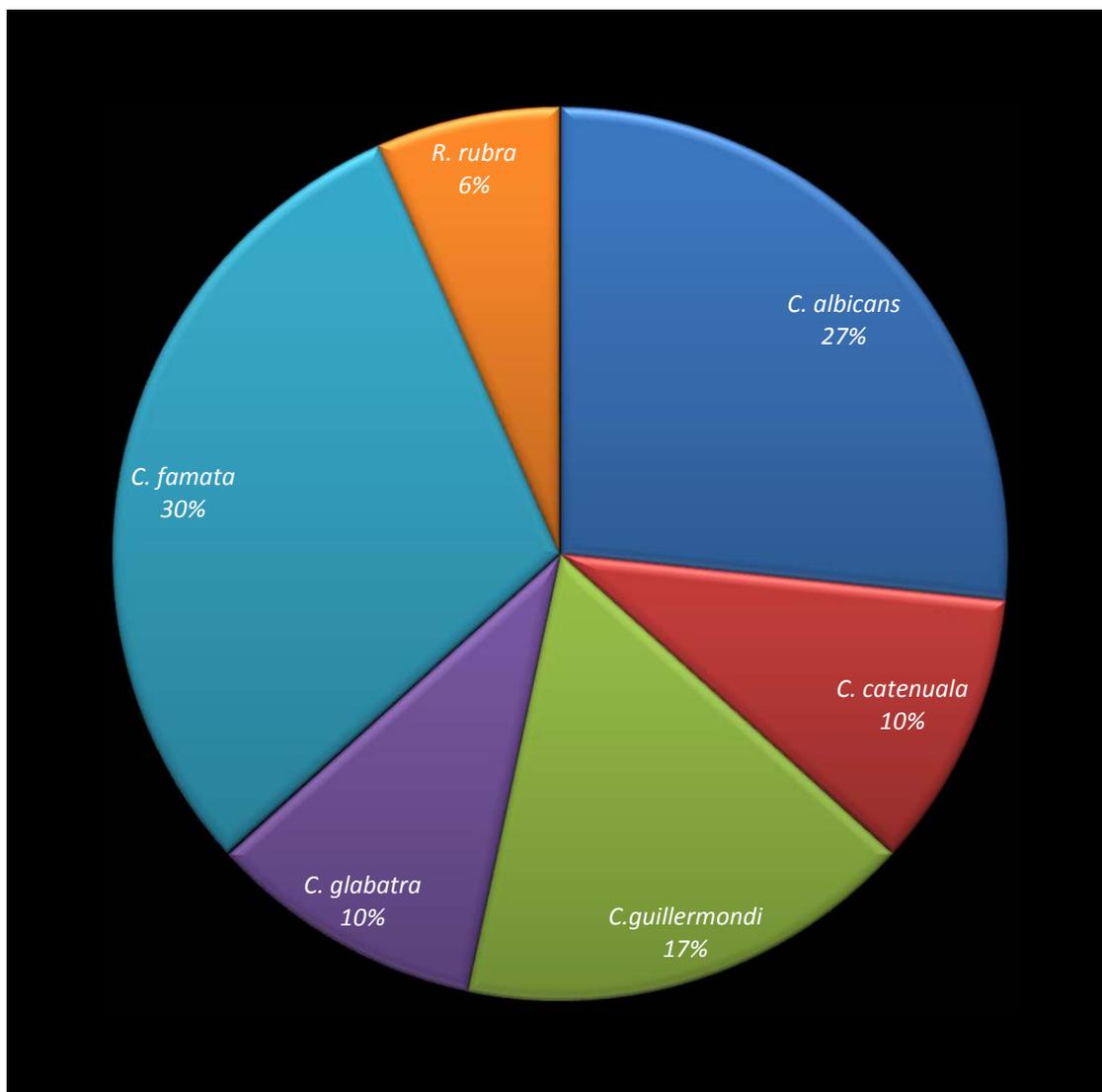


Grafico 1 "Levaduras aisladas e identificadas"

El auxonograma es una prueba que evalúa la posibilidad de utilizar el carbono a partir de diferentes azúcares para poder realizar la identificación de levaduras (Prats, 2005). Como se puede observar en la Tabla 3 y en el Gráfico 1, de las 30 cepas que fueron aisladas y procesadas por las pruebas bioquímicas correspondientes para su identificación y con el auxonograma se obtuvieron los siguientes resultados que se encuentran en la tabla número 2:

**Tabla 2.**

Número de cepas aisladas	Porcentaje	Nombre de la levadura.
9 cepas	30%	<i>Candida famata</i>
8 cepas	27%	<i>Candida albicans</i>
5 cepas	17%	<i>Candida guilliermondi</i>
3 cepas	10%	<i>Candida catenulata</i>
3 cepas	10%	<i>Candida glabrata</i>
2 cepas	6%	<i>Rhodotorula rubra</i>
Total de 30 cepas	100%	

Estos resultados obtenidos en la experimentación de este trabajo para la identificación de la microbiota que se puede encontrar en los murciélagos los podemos comparar en el artículo con el nombre de "Contribución al conocimiento de la microbiota presente en los hábitos naturales de *Histoplasma capsulatum*: un estudio integral en Guerrero, México", (Ulloa; Lappe, 2006) ya que en ese artículo se aislaron levaduras que también se encontraron algunas especies de *Candida* por ejemplo *Candida albicans*, *Candida famata*, *Candida guilliermondi*, *Candida catenulata*, *Candida glabrata* y *Rhodotorula rubra* estas levaduras también fueron aisladas en este trabajo experimental.

Como se puede observar el 30% de las cepas aisladas son de *Candida famata*, esta misma cepa de levadura fue encontrada en guano y en el intestino de los murciélagos *Glossophaga soricina*, *Pteronotus davyi* y *Mormoops megalophylla* estos forman parte de la especie de murciélagos insectívoros y también en el murciélago *Pteronotus parnellii* y este murciélago es insectívoro, ya que esta levadura se puede localizar en algunos sustratos (licor de surtido, sake, suelo, cerveza, salsa de soya e insectos) y la fruta es quizá el motivo por el cual la aislamos del intestino del murciélago con el que se trabajó ya que su alimentación es básicamente frutas.

---

---

Con un 17% se encontró en el intestino a *Candida guillermondi* levadura también es aislada en el guano de murciélagos y en el aire, suelo, excremento y sedimentos, quizá la razón por la cual se encontró en el intestino es que los murciélagos al realizar sus actividades nocturnas y dirigirse a sus áreas de alimentación y no consumen ahí el fruto maduro si no que lo llevan a su refugio nocturno y lo consumen ahí y por lo tanto este alimento está en contacto con las heces del murciélago. También podría ser que esta levadura esté presente en el intestino ya que los murciélagos al realizar su forrajeo para encontrar su alimento puede ser cercano o lejano a su cueva o en caso de que se encuentren en algunas zonas tropicales ellos utilizan los huecos de árboles o se refugian debajo de hojas de estos mismo y al trasladar su alimento se contamine con el aire del medio ambiente y después lo ingiera.

También se aisló del intestino a *Candida catenulata* con un 10% aunque esta levadura la podemos encontrar en agua y suelo, al ser lo murciélagos mamíferos deben de consumir agua para su sobrevivencia y si se encuentra esta levadura ahí puede ser ingerida por estos animales. Otra levadura aislada fue *Rodhotorula rubra* comprendiendo el 6% de las cepas aisladas esta levadura como se sabe es cosmopolita aunque está relacionada con cuevas si este tipo de murciélagos viven en alguna cueva puede ser que este en plena convivencia. Hay que mencionar que estas últimas tres levaduras se aislaron del guano de murciélagos en el artículo de referencia para este trabajo.

Es muy importante mencionar que se aislaron dos levaduras más que no habían sido aisladas en algún otro estudio, estas levaduras son *Candida albicans* con un 27% y *Candida glabrata* con el 10% como se sabe estas dos levaduras son comensales y en algunos casos suelen ser transitorios en el tracto gastrointestinal aunque *Candida albicans* se ha aislado de algunas excretas de aves si esas excretas son depositadas cerca de los frutos que los murciélagos pueden llegar a ingerirlas y por eso fueron encontradas en el aislamiento. Estos datos sobre la microbiota pueden llegar a variar de especie a especie de murciélago ya que en esta investigación se trabajó con la especie *Artibeus* sp.

Tabla 3 "Auxonograma"

Muestra	Sacarosa	Lactosa	Galactosa	Rafinosa	Maltosa	Glucosa	Dextrosa	Identificación de levadura.
1	+	-	+	-	+	+	+	<i>C. albicans</i>
2	+	+	+	-	+	+	+	<i>C. catenulata</i>
3	+	-	+	-	+	+	+	<i>C. albicans</i>
4	-	-	+	-	+	+	+	<i>C. albicans</i>
5	+	-	+	+	+	+	+	<i>C. guillermondi</i>
6	-	-	-	-	-	+	+	<i>C. glabatra</i>
7	+	-	+	-	+	+	+	<i>C. albicans</i>
8	+	-	+	-	+	+	+	<i>C. albicans</i>
9	+	-	+	-	+	+	+	<i>C. albicans</i>
10	-	-	+	-	+	+	+	<i>C. catenulata</i>
11	+	+	+	+	+	+	+	<i>C. famata</i>
12	+	-	+	-	+	+	+	<i>C. catenulata</i>
13	+	-	+	+	+	+	+	<i>C. guillermondi</i>
14	+	-	+	+	+	+	+	<i>C. guillermondi</i>
15	+	+	+	+	+	+	+	<i>C. famata</i>
16	+	-	+	+	+	+	+	<i>R. rubra</i>
17	+	-	+	+	+	+	+	<i>R. rubra</i>
18	+	+	+	+	+	+	+	<i>C. famata</i>
19	+	-	+	-	+	+	+	<i>C. albicans</i>
20	+	+	+	+	+	+	+	<i>C. famata</i>
21	-	-	-	-	-	+	+	<i>C. glabatra</i>
22	+	-	+	+	+	+	+	<i>C. guillermondi</i>
23	-	-	-	-	-	+	+	<i>C. glabatra</i>
24	+	+	+	+	+	+	+	<i>C. famata</i>
25	+	+	+	+	+	+	+	<i>C. famata</i>
26	+	+	+	+	+	+	+	<i>C. famata</i>
27	+	+	+	+	+	+	+	<i>C. famata</i>
28	+	-	+	-	+	+	+	<i>C. albicans</i>
29	+	+	+	+	+	+	+	<i>C. famata</i>
30	+	-	+	+	+	+	+	<i>C. guillermondi</i>

Para poder analizar los resultados de la Tabla 3 obtenidas en la experimentación se consultaron algunas bibliografías (Balows, 2005) y (Koneman, 2008) para poder determinar el tipo de levaduras.

- 8.6.- “Resistencia a antimicóticos”

Al evaluar la resistencia que muestran las levaduras que ya han identificadas previamente, se realizó un enfrentamiento a antimicóticos que son Nistatina, Ketoconazol y Terbinafina obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4 “Resistencia de levaduras a antimicóticos”

Muestra.	Nistatina.	Ketoconazol.	Terbinafina.
<i>C. albicans</i>	Intermedio	Intermedio	Sensible
<i>C. catenulata</i>	Intermedio	Intermedio	Sensible
<i>C. albicans</i>	Intermedio	Intermedio	Sensible
<i>C. albicans</i>	Intermedio	Intermedio	Sensible
<i>C. guilliermondi</i>	Intermedio	Resistente	Sensible
<i>C. glabatra</i>	Intermedio	Resistente	Sensible
<i>C. albicans</i>	Intermedio	Intermedio	Sensible
<i>C. albicans</i>	Intermedio	Intermedio	Sensible
<i>C. albicans</i>	Intermedio	Intermedio	Sensible
<i>C. catenulata</i>	Intermedio	Intermedio	Sensible
<i>C. famata</i>	Intermedio	Resistente	Resistente
<i>C. catenulata</i>	Intermedio	Intermedio	Sensible
<i>C. guilliermondi</i>	Intermedio	Resistente	Sensible
<i>C. guilliermondi</i>	Intermedio	Resistente	Sensible
<i>C. famata</i>	Intermedio	Resistente	Resistente
<i>R. rubra</i>	Intermedio	Resistente	Resistente
<i>R. rubra</i>	Intermedio	Resistente	Resistente
<i>C. famata</i>	Intermedio	Resistente	Resistente
<i>C. albicans</i>	Intermedio	Intermedio	Sensible
<i>C. famata</i>	Intermedio	Resistente	Resistente
<i>C. glabatra</i>	Intermedio	Resistente	Sensible
<i>C. guilliermondi</i>	Intermedio	Resistente	Sensible
<i>C. glabatra</i>	Intermedio	Resistente	Sensible
<i>C. famata</i>	Intermedio	Resistente	Resistente
<i>C. famata</i>	Intermedio	Resistente	Resistente
<i>C. famata</i>	Intermedio	Resistente	Resistente
<i>C. famata</i>	Intermedio	Resistente	Resistente
<i>C. albicans</i>	Intermedio	Intermedio	Sensible
<i>C. famata</i>	Intermedio	Resistente	Resistente
<i>C. guilliermondi</i>	Intermedio	Resistente	Sensible

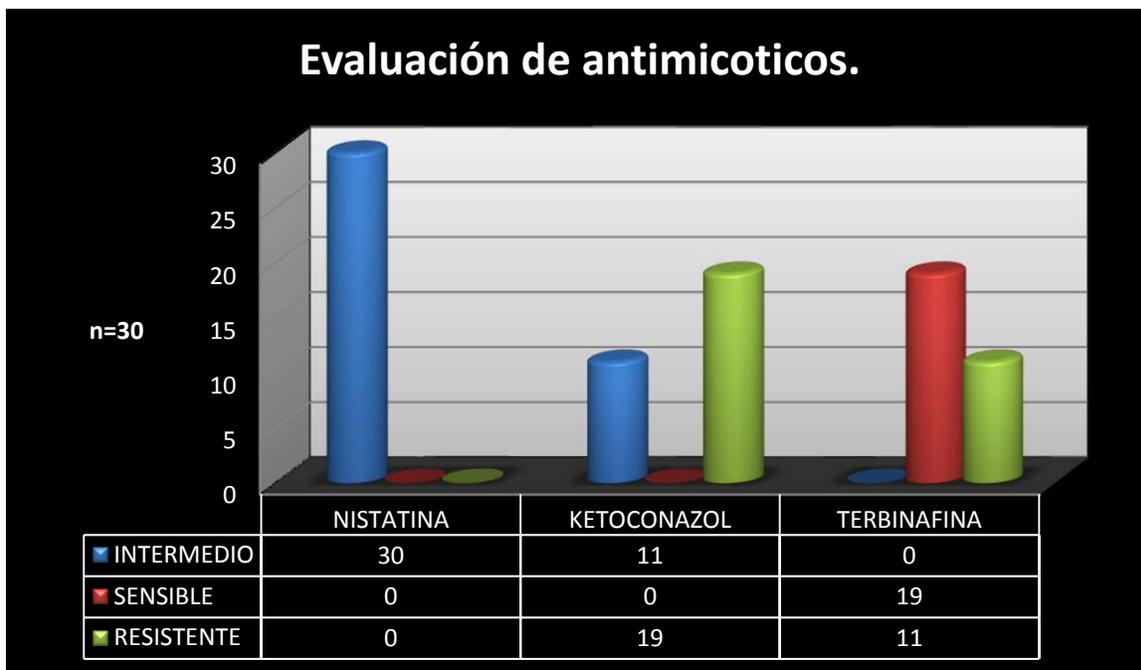


Grafico N.2 "Evaluación de antimicóticos"

#### Nistatina.

Como podemos observar en el Grafico N.2 "Evaluación de antimicóticos" las 30 muestras identificadas el 100% de las cepas presentan una sensibilidad intermedio al antimicótico nistatina. La nistatina es un antimicótico el cual su mecanismo de acción es alterar la permeabilidad de la membrana de la célula fúngica (González y Lopera, 2003) la nistatina al unirse con el ergosterol que se encuentra en la membrana de la célula provoca que se formen poros los cuales permiten el escape de iones y macromoléculas intracelulares (Remington, 2003) cuando la membrana celular del hongo es dañada pierde características por ejemplo que le proporciona su forma característica, le brinda protección, por su permeabilidad permite el pasaje de elementos nutritivos y la eliminación de residuos metabólicos y también al poseer proteínas y polisacáridos de alto peso molecular se comportan como antígenos los cuales provocan una respuesta inmune en el hospedero (Negroni, 2009).

Al saber cómo es su mecanismo de acción de la Nistatina, podemos decir que el motivo de que estas cepas de levaduras muestren una resistencia intermedia al antimicótico es que hay una pequeña disminución en los esteroides que se encuentran en la membrana fúngica por lo tanto podría haber un cambio en su estructura y sus propiedades de iones, por el cual la Nistatina no realiza con éxito su acción fungistático. (Wolf, 2010).

## Ketoconazol.

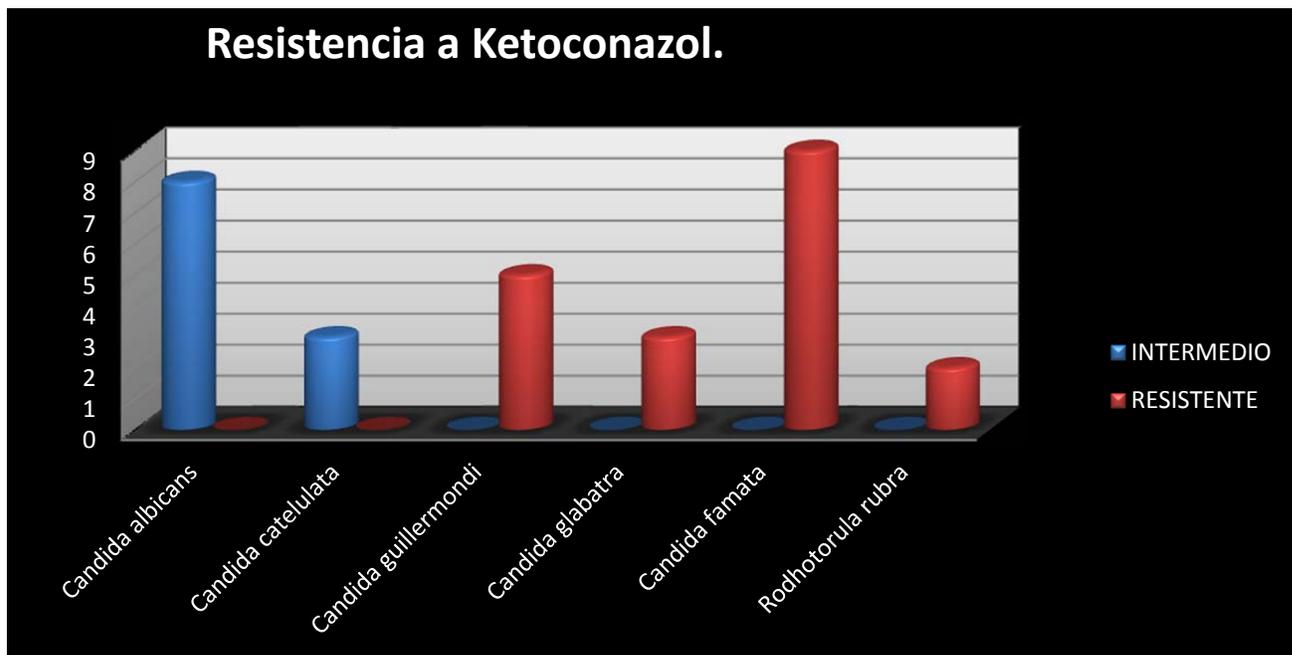


Gráfico N.3 "Resistencia a Ketoconazol"

En el Tabla 4 "Evaluación de antimicóticos" observar que de las 30 muestras identificadas el 37% presentan sensibilidad intermedia y el 63% son resistentes al antimicótico. En el Gráfico N.3 "Resistencia a Ketoconazol" podemos observar que las levaduras *Candida albicans* con 8 cepas, *Candida catenulata* con 3 cepas son de una sensibilidad intermedia y *Candida guilliermondi* con 5 cepas, *Candida glabrata* con 3 cepas, *Candida famata* con 9 cepas, *Rodothorula rubra* con 2 cepas son resistentes al antimicótico Ketoconazol.

El ketoconazol es un antimicótico que presenta un amplio espectro en su actividad para los hongos (Tortora, 2006), este antimicótico actúa en la inhibición selectiva del citocromo P450 o también identificada como CYP51. El CYP51 cataliza la desmetilización de moléculas esteroides y en las levaduras esta reacción está implicada en la síntesis del ergosterol, que es un importante lípido de membrana. (Devlin, 2004).

Al mostrar resistencia a Ketoconazol las cepas de levaduras *Candida guilliermondi*, *Candida famata* y *Rodothorula rubra* es probable la acción del ketoconazol no actúa sobre el sistema enzimático de la levadura la cual no provoca que allí algún deterioramiento de la biosíntesis del ergosterol así la membrana. Y en el caso de *Candida albicans* y *Candida catenulata* quizá si exista esta alteración en la

acción enzimática pero el deterioro del ergosterol es menor y x lo tanto su acción fungistático y fungicida es el suficiente para destruir a la levadura.

### Terbinafina.



Gráfico N.4 "Resistencia a Terbinafina"

Como se demuestra en la Tabla 3 observamos que de las 30 muestras identificadas el 37% muestran una resistencia al antimicótico y el 63% son sensibles a la Terbinafina. Y en el Gráfico N.4 "Resistencia a Terbinafina" que las levaduras *Candida albicans* con 8 cepas, *Candida catenulata* con 3 cepas, *Candida guilliermondi* con 5 cepas, *Candida glabrata* con 3 cepas presentan sensibilidad al antimicótico y *Candida famata* con 9 cepas, *Rodothorula rubra* con 2 cepas son resistentes al antimicótico Terbinafina.

La Terbinafina es un antimicótico inhibe a la enzima escueleno epoxidasa de la membrana del hongo, bloquea así la biosíntesis de ergosterol. La escualeno epoxidasa es una enzima microsomal compleja no pertenece al citocromo P450, esta enzima es la que cataliza el primer paso en la síntesis del ergosterol: la conversión de escualeno en epóxido.

En consecuencia la terbinafina produce una acumulación intracelular anormal de escualeno y una deficiencia de ergosterol, la acumulación de escualeno es la causa de la actividad fungicida de la terbinafina mientras que la deficiencia de ergosterol se asocia con su actividad fungistática. (Wolf y

---

---

Goldsmith, 2010). El ergosterol se comienza a formar a partir de Acetil-CoA y después se van sintetizando algunos metabolitos hasta llegar al escualeno, es ahí en donde el antimicótico terbinafina actúa sobre la enzima escualeno epoxidasa (**SQO**) impidiendo que la reacción involucrada se lleve a cabo ya que no permite que el FADH<sub>2</sub> con O<sub>2</sub> produzcan un intermediario flavin hidroperóxido, el cual transfiere un oxígeno al escualeno en una ruta iniciada por el ataque nucleofílico del doble enlace del escualeno en el oxígeno del hidroperóxido terminal (McMurry, 2008) y así impidiendo que el escualeno pase a ser 2,3-oxidoescualeno (**OSC**) (Rss 1).

Las levaduras que presentan sensibilidad a la Terbinafina son 4 cepa ya que este antimicótico si daña su biosíntesis del ergosterol en su fase inicial por lo que lleva a que exista una déficit del ergosterol y una acumulación del escualeno intracelular y por lo tanto lleva a la muerte celular micótica, y la resistencia a la Terbinafina solo son dos cepas esto es porque la acción de este antimicótico no les a la fase inicial del ergosterol daña.

## Conclusiones.

- De los 30 murciélagos *Artibeus sp.* procesados y de los cuales se obtuvieron el estómago e intestino se logró recuperar 30 cepas levaduriformes solamente del intestino ya que de estómago no hubo crecimiento alguno.
- En el caso de Nistatina todas las levaduras presentaron una sensibilidad intermedia al antimicótico, con el Ketoconazol el 63% de la levaduras (*C. guillermondi*, *C. glabatra*, *C. famata*, *R. rubra*) son resistentes y el 37% de la levaduras (*C. albicans*, *C. catenulata*) son de sensibilidad intermedia. Y finalmente con la Terbinafina el 63% de la levaduras (*C. albicans*, *C. catenulata*, *C. guillermondi*, *C. glabatra*) son sensibles al antimicótico y el 37% (*C. famata*, *R. rubra*) son resistentes.
- Por lo tanto podemos decir que el antimicótico que mostró más resistente al enfrentarlo con las levaduras es el Ketoconazol, en tanto esta misma microbiota al enfrentarla con la Nistatina muestra una sensibilidad intermedia y finalmente con el antimicótico Terbinafina se observa que la microbiota es sensible a este antimicótico, es interesante este resultado ya que las levaduras no han tenido contacto con algún fármaco y se puede observar que aun así se presenta resistencia o sensibilidad a algunos antimicóticos.
- El antimicótico que podemos recomendar si hay alguna infección o contagio de algunas de estas cepas de levaduras al manipular el murciélago de especie *Artibeus sp.* es la Terbinafina ya que en la mayoría de las levaduras se presentó sensibilidad a este antimicótico.
- Es interesante los resultados obtenidos al realizar la prueba de sensibilidad a antimicóticos estas levaduras aisladas son puras y no han tenido contacto con algún fármaco y se puede observar que aun así se presenta resistencia o sensibilidad a ciertos antimicóticos.

---

---

## Bibliografía.

1. - Balows, A. (2005). *Manual of Clinical Microbiology*. Washintong: American Society for Microbiology.
- 2.- Cheverria, G. (2006). Flora bacteriana aerobia del tracto digestivo del vampiro comun *Desmodus rotunds* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Revista de Biología Tropical*, 54:717-724.
- 3.- Devlin, T. M. (2004). *Bioquímica. Libro de Texto con Aplicaciones Clínicas*. España: Reverte.
- 4.- Flores Crespo, R. (1998). *La Rabia en las diferentes especies, sus transmisores y su Control*. México: INIFAP, SAGARPA.
- 5.- Flores, J., & Armijio, J. A. (2004). *Farmacología Humana*. Paris: Madison.
- 6.- Garcia, V. (2004). *Introducción a la Microbiología*. México: EUNED.
- 7.- Gonzalez Agudelo, M. A., Lopera Lotero, W. D., & Arango Villa, Á. (2004-2005). *Fundamentos de Medicina: Manual de Terapeutica*. Colombia: Corporacion para Investigaciones Biologicas.
- 8.- Granados Perez, R., & Villaverde Peris, M. C. (1998). *Microbiología*. Madrid: Paraninfo
- 9.- Goodman, L. S., & Gilman, A. (2003). *Las Bases Farmacologicas de la Terapeutica*. México: Mc Graw- Hill.
- 10.- Hidalgo Togares , J. (2010). *Tratado de Enalología, Tomo 2*. España: Mundi-Prensa.
- 11.- Hill, J., & Smith, T. (1998). *Bats: a natural history*. Texas: Unisersity of Texas
- 12.- Koneman, E. W. (2008). *Diagnostico Microbiologico: Atlas color y texto*. México: Panamericana.
- 13.- Kunz, H. T., & Fenton, M. B. (2003). *Bats Ecology the University of Chicago*. EUA: Press.
- 14.- Laval, R. K., & Rodriguez H, B. (2003). *Murcielagos de Costa Rica*. Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio).
- 15.- Lepori, L. R. (2002). *Farmacolgia Clinica de Bolsillo*. Buenos Aires: DEVA´S.
- 16.- Mac, F. (2003). *Pruebas Bioquimicas para la identificacion de Bacterias de importancia Clinica*. México: Panamericana.

- 
- 
- 17.- Mc Murry, J. (2008). *Química Orgánica*. México: Cengage Learning.
  - 18.- Medellín, R. A., & Gaona, O. (2000). ¿Qué tienen los murciélagos que uno los quiere destruir y otros salvar? *Especies*, 3-6.
  - 19.- Montoya Villafañe, H. H. (2008). *Microbiología Básica para el área de la Salud y Afines*. Colombia: Universidad de Antioquia.
  - 20.- Mora Benavides, J. M. (200). *Mamíferos Silvestres de Costa Rica*. EUNED.
  - 21.- Negrori, M. (2009). *Microbiología Estomológica Fundamentos y Guía Práctica*. Buenos Aires.: Panamericana.
  - 22.- Noriega Jurge, F. A., & García Aldrete, A. N. (2002). *Historia Natural de Chamela*. México: Instituto de Biología UNAM.
  - 23.- Prats, G. (2005). *Microbiología Clínica*. Buenos Aires: Panamericana.
  - 24.- Remington. (2003.). *Farmacología*. Buenos Aires.: Panamericano.
  - 25.- Romero Almaraz, M. d. (2006). *Murciélagos benéficos y vampiros: características, importancia, rabia, control y conservación*. México: AGT editor.
  - 27.- Simmons, N. K., Seymour, K. L., Habersetzer, J., & Gunnell, G. R. (2008). Primitive Early Eocene bat from Wyoming and the evolution of flight and echolocation. *Nature (415)*, 818-821.
  - 28.- Tortora, G. J., & Derrickson, B. H. (2006). *Principios de Anatomía y Fisiología*. México: Panamericana.
  - 29.- Ulloa, M., Lappe, P., Aguilar, S., Park, H., & Pérez Mejía, A. (2006). Contribución al conocimiento de la microbiota presente en los hábitos naturales de *Histoplasma capsulatum*: un estudio integral en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 77:153-168.
  - 30.- Vázquez de Ricciardi, L. (2009). Terapéutica Antileismania: Revisando el pasado, presente y futuro. *Gac. Médica Caracas*, 117: 93-111.
  - 31.- Velasco Martín, A., San Roman del Barrio, L., & Serrano Molina, J. S. (2002). *Farmacología Fundamental*. Madrid: Mc-Graw Hill.

- 32.- Willson, D. E., & Reeder, Deeann M. (2005). *Mammalia Species of the world. A taxonomic an Geographic*. United States of America: University Press.
- 33.- Wilson, D. E. (2002). *Murcielago. Respuesta al vuelo*. México.
- 34.- Wolf, K., Goldsmith, L. A., Katz, S. I., & Gilcrest, B. A. (2010). *Fitzpatrick.Dermatología en Medicina General, Tomo4*. México: Panamericana.

### Citas de internet

1. - <http://www.ibiologia.unam.mx/ebchamela/www/reserva.html>
2. - <http://barbotina.blogspot.mx/2008/12/el-dios-murcilago.html>
3. - <http://www.ibiologia.unam.mx/ebchamela/www/mamiferos.htm>
4. - <http://www.mednet.cl/link.cgi/Medwave/PuestaDia/Cursos/3548>
5. - <http://med.javeriana.edu.co/fisiologia/fw/c781.htm>
6. - <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Terbinafine.svg>

