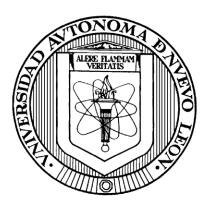
RC-INV-003 Rev. 02-01/2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



"DETECCIÓN DE BACTERIAS EN SANGRE Y MICROORGANISMOS EN HECES DE *Tadarida brasiliensis* (CHIROPTERA: MOLOSSIDAE) EN UN ÁREA NATURAL Y UN ÁREA URBANA EN NUEVO LEÓN"

POR

ANGELA VIVIAN SANTACRUZ LEÓN

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL

Agosto de 2025

"Detección de bacterias en sangre y microorganismos en heces de Tadarida brasiliensis (Chiroptera: Molossidae) en un área natural y un área urbana en Nuevo León"

Aprobación de tesis por el comité particular de

Angela Vivian Santacruz León

COMITÉ DE TESIS

Dr. José Pablo Villarreal Villarreal

Presidente

Dra. Emma Patricia Gómez Ruiz

Secretario

Vocal

"Detección de bacterias en sangre y microorganismos en heces de Tadarida brasiliensis (Chiroptera: Molossidae) en un área natural y un área urbana en Nuevo León"

Aprobación de tesis por el comité particular de

Angela Vivian Santacruz León

COMITÉ DE TESIS

Dr. José Pablo Villarreal Villarreal Director

Dra. Emma Patricia Gómez Ruiz Director Externo

Dr. Jestis Jaime Hernández Escareño

Codirector Interno

Dr. Gerardo Méndez Zamora Codirector Interno

Dr. Uziel Castillo Velázquez Subdirector de Posgrado e Investigación

AGRADECIMIENTOS

Gracias al apoyo brindado por la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) para la realización de este proyecto.

Al posgrado conjunto Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por guiarme y otorgar su apoyo en el camino.

A mi director de tesis, el Dr. José Pablo Villarreal Villarreal, por la ayuda, por su compromiso inmenso, por siempre estar pendiente y por lo aprendido en esta travesía, así como a su esposa, Nelly y su familia: Gerardo y la Sra. Esthela, así como a su tío Armando, que nos acompañaron al salir a campo y nos apoyaron con material para los muestreos.

A los integrantes de mi comité, el Dr. Jesús Jaime Hernández Escareño, la Dra. Emma Patricia Gómez Ruiz y al Dr. Gerardo Méndez Zamora, por la paciencia en explicarme lo necesario en la metodología y por el tiempo que me dedicaron junto al proyecto.

Al Dr. Jorge Lara y a su equipo de trabajo, MC. Bianka Camacho y LBG. Karla García, que, gracias a su conocimiento, paciencia y amabilidad, pude aprender mucho.

A Parques y Vida Silvestre de Nuevo León, principalmente el biólogo Manuel Muzquiz y a Pronatura Noreste, en especial al Dr. Carlos Barriga, por el permiso, tiempo y apoyo al salir a campo. Al equipo de trabajo de la Dra Emma, los biólogos Víctor, María, Miryam, Jonh y Melisa, por su tiempo y dedicación.

A mi mejor amiga Layla Martha Gabriela Quiroz González, por sus consejos, por apoyarme muchas veces al igual que su familia y por ayudar a sentirme mejor de ánimo siempre; así como a mis compañeros de generación Vanesa Cantú y Esteban De Hoyos por hacer esto más llevadero y aconsejarme cuando más lo necesitaba.

A la técnico del laboratorio de Microbiología de la FMVZ, Sabrina Rodríguez, por su apoyo durante la etapa experimental del proyecto, así como a los estudiantes del servicio y prácticas profesionales que siempre estaban dispuestos a ayudar.

Al grupo de estudiantes de veterinaria voluntarios: Max, Román, Lidia, Mayra, Maggi y Valentina, así también a Dalia y a su esposo Diego para salir a campo, por sus ganas de aprender e interés que los llevó a adentrarse al estudio de quirópteros. Gracias por ayudarme cuando me caí, literalmente.

DEDICATORIA

A mis padres, Eleonor y José Luis, por siempre apoyarme, escucharme y creer en mí cuando yo no lo hacía.

A mis hermanas, Andy y Majo, por hacerme reír y motivarme a seguir.

A la persona que me alentó desde el primer momento, Voltaire Musso que, sin importar la distancia, siempre estuvo presente.

ÍNDICE

DEDICATORIA INDICE INDICE DE FIGURAS. INDICE DE FIGURAS. INDICE DE TABLAS. LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURA RESUMEN. ASBTRACT. INTRODUCCIÓN 2. ANTECEDENTES (LITERATURA REVISADA). 2.1 MURCIÉLAGOS A NIVEL MUNDIAL. 2.1.1 MURCIÉLAGOS EN MÉXICO. 2.2 Tadarida brasiliensis. 2.2.1 TAXONOMÍA. 2.2.2 MORFOLOGÍA Y CICLO DE VIDA. 2.2.3 ECOLOGÍA Y ALIMENTACIÓN. 2.2.4 EL MURCIÉLAGO GUANERO EN NUEVO LEÓN. 2.3 PATÓGENOS NO VIRALES EN MURCIÉLAGOS. 2.3.1 BACTERIAS EN SANGRE DE MURCIÉLAGOS. 2.3.2 AGENTES FÚNGICOS. 2.3.3 BACTERIAS EN GUANO DE MURCIÉLAGOS. 2.3.4 OTRAS BACTERIAS AISLADAS DE LA MICROBIOTA DE MURCIÉLAGOS. 2.3.4 OTRAS BACTERIAS AISLADAS DE LA MICROBIOTA DE MURCIÉLAGOS. 2.3.5 JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. 1.4 HIPÓTESIS. 1.5 OBJETIVOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN. 1.5		MIENTOS	
ÍNDICE DE FIGURAS			
ÍNDICE DE TABLAS. LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURA RESUMEN. ASBERRACT. 1. INTRODUCCIÓN. 2. ANTECEDENTES (LITERATURA REVISADA). 2.1 MURCIÉLAGOS A NIVEL MUNDIAL. 2.1.1 MURCIÉLAGOS EN MÉXICO. 2.2 Tadarida brasiliensis. 2.2.1 Taxonomía. 2.2.2 Morfología y ciclo de vida. 2.2.3 Ecología y alimentación. 2.2.4 El murciélago guanero en Nuevo León. 2.3 PATÓGENOS NO VIRALES EN MURCIÉLAGOS. 2.3.1 Bacterias en sangre de murciélagos. 2.3.2 Agentes fúngicos. 2.3.3 Bacterias en guano de murciélagos. 2.3.4 Otras bacterias aisladas de la microbiota de murciélagos. 2.3.4 Otras bacterias aisladas de la microbiota de murciélagos. 2.3.5 JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. 12 4. HIPÓTESIS.			
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURA			
RESUMEN	LISTA DE S	ÍMROLOS Y ARREVIATURA	Δ X 1
ABSTRACT			
1. INTRODUCCIÓN 2. ANTECEDENTES (LITERATURA REVISADA)			
2.1 MURCIÉLAGOS A NIVEL MUNDIAL	1. INTR	ODUCCIÓN	1
2.1.1 Murciélagos en méxico			
2.2.1 TAXONOMÍA	2.1 MU	URCIÉLAGOS A NIVEL MUNDIAL	2
2.2.1 TAXONOMÍA	2.1.1	MURCIÉLAGOS EN MÉXICO	2
2.2.2 MORFOLOGÍA Y CICLO DE VIDA	2.2 Taa	larida brasiliensis	3
2.2.3 ECOLOGÍA Y ALIMENTACIÓN	2.2.1	TAXONOMÍA	3
2.2.4 EL MURCIÉLAGO GUANERO EN NUEVO LEÓN	2.2.2	MORFOLOGÍA Y CICLO DE VIDA	4
2.3.1 BACTERIAS EN SANGRE DE MURCIÉLAGOS	2.2.3	ECOLOGÍA Y ALIMENTACIÓN	5
2.3.1 BACTERIAS EN SANGRE DE MURCIÉLAGOS	2.2.4	El murciélago guanero en Nuevo León	6
2.3.2 AGENTES FÚNGICOS	2.3 PA	TÓGENOS NO VIRALES EN MURCIÉLAGOS	6
2.3.3 BACTERIAS EN GUANO DE MURCIÉLAGOS	2.3.1	BACTERIAS EN SANGRE DE MURCIÉLAGOS	7
2.3.4 OTRAS BACTERIAS AISLADAS DE LA MICROBIOTA DE MURCIÉLAGOS10 3. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2.3.2	AGENTES FÚNGICOS	8
3. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2.3.3	BACTERIAS EN GUANO DE MURCIÉLAGOS	9
4. HIPÓTESIS	2.3.4	OTRAS BACTERIAS AISLADAS DE LA MICROBIOTA DE MURCIÉLAGOS	10
•			
		CTIVOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	13

5.1	OI	BJETIVO GENERAL	13
4	5.1.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
6.	MAT	TERIALES Y MÉTODOS	14
6.1	LU	JGAR DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	14
6.2	ÁF	REA Y TIEMPO DE MUESTREO	14
6.3	M	ETODOLOGÍA	14
(6.3.1	PROTECCIÓN DEL PERSONAL	14
(6.3.2	CAPTURA DE MURCIÉLAGOS	15
(6.3.3	Identificación de individuos y colecta de Datos	15
(6.3.4	COLECTA DE SANGRE	16
(6.3.5	COLECTA DE HECES	17
(6.3.6	Extracción del material genético a partir de sangre	Y R EACCIÓN
1	EN CAD	ENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (qPCR)	17
Ó	6.3.7	CULTIVO FÚNGICO DE HECES FRESCAS E IDENTIFICACIÓN	19
Ó	6.3.8	CULTIVO BACTERIANO DE HECES FRESCAS Y EXTRACCIÓN DE	E MATERIAL
(GENÉTI (<i>CO</i>	19
(6.3.9	Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convenc	IONAL PARA
1	BACTER	IAS EN HECES	20
Ó	6.3.10	ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA	21
Ó	6.3.11	SECUENCIACIÓN SANGER POR ELECTROFORESIS CAPILAR	21
	6312	Secuenciación metagenómica	22

	3.13 Análisis estadístico	24
7.	RESULTADOS	25
7.1	CAPTURAS	25
7.2	DETECCIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS EN SANGRE	28
7.3	IDENTIFICACIÓN FÚNGICA A PARTIR DE HECES FRESCAS	28
7. 4	DETECCIÓN MOLECULAR EN HECES DE BACTERIAS (E.	coli
01	57:H7, Salmonella spp., y L. monocytogenes) POR PCR PUNTO FINAL	28
7.5	SECUENCIACIÓN DE SANGER POR ELECTROFORESIS CAPIL	LAR
	31	
7.6	SECUENCIACIÓN METAGENÓMICA PARA IDENTIFICACIÓN	DE
BA	CTERIAS EN HECES	32
8.	DISCUSIÓN	
9.	CONCLUSIONES	
10.	PERSPECTIVA	58
11.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
12.	ANEXOS	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de <i>T. brasiliensis</i> . Tomado de: Handbook of the Mammals of the
World, 2019
Figura 2. Tadarida brasiliensis (murciélago guanero). Foto por: J. Scott Altenbach4
Figura 3. Porcentaje de la población de T. brasiliensis capturada durante el periodo de
mayo-septiembre 2024 en ambas zonas de muestreo
Figura 4. Resultados de la PCR para E. coli O157H:7. El marcador de peso molecular se
encuentra en el primer carril, el segundo se refiere al control positivo y los carriles 3 y 4
corresponden a muestras positivas. En el último carril está ubicado el control negativo.
29
Figura 5. Resultados de la PCR para Salmonella spp., del cultivo de heces. El primer carril
corresponde al marcador de peso molecular, el segundo carril se refiere al control positivo
y los carriles numerados del 1 al 3 son muestras positivas. El último carril corresponde al
control negativo.
Figura 6. Resultados de la PCR para L. monocytogenes del cultivo de heces. De izquierda
a derecha, el primer carril corresponde al marcador de peso molecular, el control positivo
se posiciona en el segundo carril y los carriles numerados del 28 al 30 son muestras
positivas. El último carril es el control negativo
Figura 7. Resultados del análisis de BLAST para la secuencia de Escherichia coli31
Figura 8. Resultados del análisis de BLAST para la secuencia de Salmonella enterica. 31
Figura 9. Resultados del análisis de BLAST para la secuencia de Listeria monocytogenes.
32
Figura 10. (A) Abundancia relativa (%) de filos mayormente presentes en guano de T.
brasiliensis en ambos sitios de muestreo. (B) Abundancia relativa (%) de bacterias
presentes en menor medida en guano de T. brasiliensis muestreado en ambos sitios del
estudio. 35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Registro de murciélagos capturados
Tabla 2. Colecta de murciélagos guaneros (T. brasiliensis) en área urbana y área natural
(Edificio N.L. Contigo y Cueva de la Boca, respectivamente), divididos por sexo25
Tabla 3. Comparación del peso en los murciélagos capturados en la cueva de La Boca y
el edificio Nuevo León Contigo.
Tabla 4. Comparación de la medida del antebrazo en los murciélagos capturados en la
cueva de La Boca y el edificio Nuevo León Contigo
Tabla 5. Comparación de la condición reproductiva en las hembras capturadas en la cueva
de La Boca
Tabla 6. Comparación de la condición reproductiva en los machos capturados en la cueva
de La Boca y el edificio Nuevo León Contigo
Tabla 7. Comparación de la edad relativa en los murciélagos capturados en la cueva de La
Boca y el edificio Nuevo León Contigo
Tabla 8. Porcentajes de frecuencia de las bacterias en sangre en T. brasiliensis28
Tabla 9. Porcentajes de frecuencia de hongos en guano fresco de T. brasiliensis en ambos
sitios
Tabla 10. Porcentajes de frecuencia en la detección de E. coli O157:H7, Salmonella spp.,
y L. monocytogenes en guano de T. brasiliensis
Tabla 11. Bacterias identificadas en el análisis metagenómico que se encuentran presentes
en ambos sitios de muestreo sin análisis estadístico.
Tabla 12. Comparación de bacterias identificadas en el análisis metagenómico en ambos
sitios de muestreo.

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURA

SÍMBOLO O ABREVIATURA DESCRIPCIÓN

- ADN Ácido Desoxirribonucleico
- qPCR Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real
- PCR Reacción en Cadena de la Polimerasa
 - % Porcentaje
 - g Gramo
- mm Milímetro
- UANL Universidad Autónoma de Nuevo León
- SEMARNAT Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
 - CONANP Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas
 - cm Centímetros
 - NOM Norma Oficial Mexicana
 - # Número
 - ml Mililitro
 - Grados
- FMVZ-UANL Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad
 - Autónoma de Nuevo León
 - qPCR Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real
 - FTA Flinders Technology Associates
 - μl Microlitro
 - °C Grados Celsius
 - g Fuerza centrífuga relativa
 - H₂O Agua
 - FMVZ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
 - rpm Revoluciones por minuto
 - TE Tris y EDTA
 - pb Pares de bases
 - M Molar
 - mM Milimolar
 - EDTA Ácido etilendiaminotetraacético
 - pH Potencial de hidrógeno
 - UV Ultravioleta
 - TAE Tris-Acetato-EDTA
 - mg Miligramos
 - min Minutos
 - BLAST Basic Local Alignment Search Tool
 - gDNA ADN genómico
 - fmol Femtomoles
 - P Valor P
 - N.L. Nuevo León
 - BLAST Basic Local Alignment Search Tool
 - Gb Gigabases
 - kb Kilobases
 - ARNr Ácido Ribonucleico Ribosómico
 - h Horas

RESUMEN

Nuevo León es un estado que alberga distintas especies de quirópteros, incluido el murciélago de cola libre (Tadarida brasiliensis). Esta especie insectívora es indispensable para el control de plagas, debido al servicio ecológico que proporcionan a la agricultura en la zona. Sin embargo, se ha reportado tanto en zonas naturales como en urbanas, lo que conlleva a la interacción con personas. Dado a que no existen investigaciones recientes sobre esta especie en la región, el presente estudio propuso determinar la presencia de bacterias en sangre, así como hongos y bacterias en las heces presentes en dicha especie que pueden ser zoonóticos. Para esto, se recolectó un total de 106 muestras de sangre de estos murciélagos, así como el guano de 78 ejemplares. La extracción de ADN de la sangre se realizó utilizando el Kit de purificación de ADN genómico y posteriormente un análisis en qPCR para la detección de Ehrlichia spp., Anaplasma spp., Bartonella spp., Borrelia spp., y *Rickettsia* spp. Se realizaron cultivos de las heces para la detección e identificación morfológica de hongos. Se hicieron cultivos bacterianos del guano para Escherichia coli O157:H7, Salmonella spp., y Listeria monocytogenes, seguido de la extracción de ADN con el método de Fenol-Cloroformo y posteriormente un análisis con PCR convencional para la detección de dichas bacterias. A partir de estos resultados se llevó a cabo la secuenciación de Sanger por electroforesis capilar, donde las secuencias obtenidas fueron blasteadas para analizar secuencias similares. Adicionalmente se realizó secuenciación metagenómica de sangre y heces. El análisis estadístico de los datos de presencia/ausencia de los hemoparásitos, hongos y bacterias en guano fue presentado en porcentajes de frecuencia, así como prueba t-Student y prueba de Friedman. Se detectaron Ehrlichia spp., y Anaplasma spp., en las muestras sanguíneas, así como diversos hongos y más de 600 especies de bacterias en heces de ambos sitios de muestreo. Se confirma la presencia de bacterias y hongos patógenos con potencial zoonótico que albergan a dicha especie de quirópteros en la región estudiada.

ABSTRACT

Different species of Chiroptera live in the state of Nuevo León, including the free-tailed bat (Tadarida brasiliensis). This insectivorous species is essential for pest control due to the ecological service it provides to agriculture in the area. However, it has been reported in both natural and urban areas, leading to interaction with humans. Due to there is no recent research on this species in the region, the present study aimed to determine the presence of bacteria in blood, as well as fungi and bacteria in feces present in this species that may be zoonotic. To this end, a total of 106 blood samples were collected from the bats, as well as guano from 78 specimens. DNA extraction from blood was performed using the Genomic DNA Purification Kit, followed by qPCR analysis for the detection of Ehrlichia spp., Anaplasma spp., Bartonella spp., Borrelia spp., and Rickettsia spp. Feces cultures were performed for the detection and morphological identification of fungi. Bacterial cultures of the guano were performed for Escherichia coli O157:H7, Salmonella spp., and Listeria monocytogenes, followed by DNA extraction using the phenolchloroform method and subsequent conventional PCR analysis. Based on these results, Sanger sequencing was performed, where the sequences obtained were blasted to analyze similar sequences. Additionally, metagenomic sequencing of blood and feces was performed. The statistical analysis of the data on the presence/absence of hemoparasites, fungi, and bacteria in guano was presented in frequency percentages, as well as Student's t-test and Friedman's test. Ehrlichia spp. and Anaplasma spp. were detected in blood samples, as well as various fungi and more than 600 species of bacteria in feces from both sampling sites. The presence of pathogenic bacteria and fungi with zoonotic potential that harbor this species of Chiroptera in the studied region is confirmed.

1. INTRODUCCIÓN

Los murciélagos son mamíferos voladores pertenecientes al orden Chiroptera, que contiene una gran variedad de especies, siendo México un país con una amplia diversidad. Una especie bien distribuida en casi todo el continente americano es el murciélago guanero (Tadarida brasiliensis), que pertenece a la familia Molossidae. Este murciélago insectívoro tiene hábitos migratorios, pasando los meses de otoño e invierno en el centro de México y completando su ciclo de vida en primavera y verano en el norte del país, como en el sur de Estados Unidos, formando colonias de maternidad en las cuevas de estas áreas. Esta especie consume aproximadamente 25 toneladas de insectos cada noche, siendo el 90% polillas, brindando un servicio de control de plagas que puede alcanzar hasta los 500,000 a 1 millón de dólares por año. T. brasiliensis tiene la capacidad de convivir con otras especies, así como de habitar en las ciudades dentro de diversas estructuras, lo que ha permitido su contacto con personas. Además, es bien sabido que los murciélagos son reservorios de agentes patógenos zoonóticos, no obstante, a diferencia de los agentes virales, otros microorganismos como bacterias y hongos han sido poco estudiados en los murciélagos, a pesar de poder estar involucrados en la transmisión de patógenos a humanos. Se han realizado estudios en quirópteros para la detección de diversas especies de hongos y bacterias que causan enfermedad en animales y humanos como; Aspergillus, Penicillium, Candida, Salmonella, Escherichia, Proteus, etc., así como otros patógenos bacterianos transmitidos por vectores de los géneros Ehrlichia, Anaplasma, Bartonella, Borrelia, Rickettsia, etc., donde los murciélagos pueden ser huéspedes y podrían tener una importancia médica en humanos. Actualmente no se cuentan con estudios similares en el estado, tomando en cuenta que aquí se encuentra una de las cuevas más importantes de maternidad para esta especie de mamíferos voladores y que estos cuentan con la particularidad de ser migratorios. Por lo que, con el fin de comprender parte de la ecología y biología de estos animales, así como su papel intermediario de diferentes infecciones zoonóticas, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de bacterias en sangre, así como agentes fúngicos y bacterianos en heces de murciélagos guaneros en un área natural y un área urbana en Nuevo León.

2. ANTECEDENTES (LITERATURA REVISADA)

2.1 MURCIÉLAGOS A NIVEL MUNDIAL

Los murciélagos pertenecen al orden Chiroptera, que cuenta con más de 1,400 especies distribuidas en 18 familias, comúnmente divididas en dos subórdenes: Megachiroptera y Microchiroptera. Sin embargo, se ha sugerido la reclasificación en Yinpterochiroptera, que incluye a los Megachiroptera y a la superfamilia Rhinolophoidea (antes pertenecientes al suborden Microchiroptera) y Yangochiroptera, excluyendo a Rhinolophoidea (Anderson & Ruxton, 2020; United States Department of the Interior, 2021). No obstante, la subdivisión anterior es la más utilizada aún.

Además de ser el único mamífero volador, el murciélago tiene la capacidad de ecolocación, permitiéndole orientarse en el ambiente por medio de señales producidas al emitir sonidos que generan pulsos de alta frecuencia, permitiéndole cazar (Anderson & Ruxton, 2020; Voigt et al., 2017), en donde los pertenecientes al suborden Microchiroptera son aquellos capaces de realizar sonidos de ecolocación por la laringe (Jones & Teeling, 2006). El 70% de los murciélagos son insectívoros, el resto en su mayoría son frugívoros y nectarívoros. También consumen peces, reptiles y sangre. Se distribuyen a nivel mundial, con una amplia variedad de hábitats, desde regiones áridas a tropicales, excepto en la Antártica y componen el 20% de los mamíferos que se conocen actualmente (Buckles, 2015).

2.1.1 MURCIÉLAGOS EN MÉXICO

En México se tiene un estimado de 138 especies conocidas de murciélagos, siendo uno de los países con mayor diversidad (Aréchiga-Ceballos & Aguilar Setién, 2011). Las especies que podemos encontrar dentro del territorio nacional pertenecen a ocho familias: Emballonuridae, Noctilionidae, Mormoopidae, Phyllostomidae, Thyropteridae, Natalidae, Vespertilionidae y Molossidae (Álvarez et al., 1994). Una de las especies mayormente distribuidas en el hemisferio occidental es el murciélago guanero, *Tadarida brasiliensis*, el cual se encuentra desde Estados Unidos de América hasta el Centro y Sur del continente (Figura 1). En México, este se encuentra en todo el territorio, solamente a excepción de la península de Yucatán (Rodríguez-Moreno et al., 2022). En conjunto con

las poblaciones del sureste de Estados Unidos, el censo de estos puede llegar hasta los 100 millones (Russell et al., 2011).

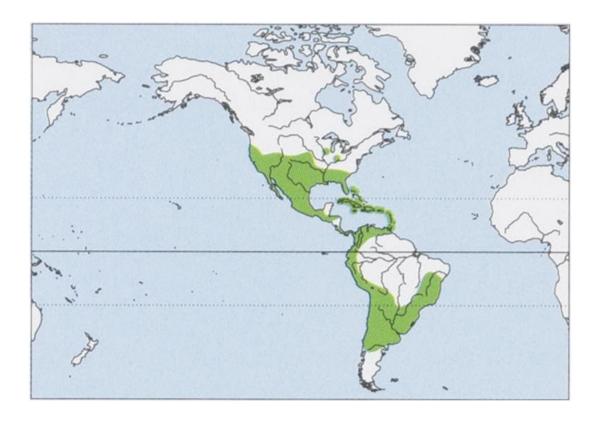


Figura 1. Distribución de T. brasiliensis. Tomado de: Handbook of the Mammals of the World, 2019.

2.2 Tadarida brasiliensis

2.2.1 TAXONOMÍA

El murciélago guanero o de cola libre, *T. brasiliensis*, es un murciélago insectívoro del suborden Yangochiroptera, familia Molossidae, considerándose una especie esencialmente neotropical en América (Koopman, 1994).

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Chiroptera

Suborden: Yangochiroptera

Familia: Molossidae

Género: Tadarida

Especie: Tadarida brasiliensis

Nombre científico: Tadarida

brasiliensis mexicana (de Saussure, 1860)

2.2.2 Morfología y ciclo de vida

Es un murciélago pequeño de 12 a 15 g de peso, con la mitad distal de la cola que se extiende libremente más allá del uropatagio (Figura 2) (Wilkins, 1989). Tiene una longitud total de 46-65 mm, la longitud de la cola se encuentra entre los 29-42 mm, longitud de las patas traseras de 9-11 mm, longitud de las orejas 14-19 mm, longitud del antebrazo de 36-46 mm. El pelaje del dorso es café intenso y corto (Rodríguez-Moreno et al., 2022). El labio superior presenta surcos y pliegues que se extienden verticalmente. La dentadura adulta se conforma de 32 dientes: 1/3 incisivos, 1/1 caninos, 2/2 premolares, 3/3 molares = 7/9 x 2= 32. El tercer molar presenta forma de "Z" y en los machos los caninos son más largos en comparación con las hembras (Jiménez-Guzmán et al., 1999; Wilkins, 1989). Sus orejas son redondeadas y la base de estas no se tocan, quedando un espacio en la línea media de la cabeza y al doblarse sobre el rostro, no sobresalen de la punta de la nariz (Álvarez et al., 1994).



Figura 2. Tadarida brasiliensis (murciélago guanero). Foto por: J. Scott Altenbach.

Las hembras son estacionalmente monoéstricas, presentándose el estro y la receptividad del macho durante la primavera, al mismo tiempo que la actividad reproductiva del macho.

Los testículos de los adultos comienzan a agrandarse en septiembre, con el inicio de la espermatogénesis, alcanzando su longitud máxima en febrero y marzo, coincidiendo con la ovulación de la hembra, que ocurre en un periodo promedio de una semana durante marzo (Krutzsch et al., 2002). Aunque la temporada de estos cambios reproductivos puede variar dependiendo de la latitud donde se encuentren, lo mencionado corresponde al hemisferio norte. La subespecie *T. brasiliensis mexicana*, que es la subespecie encontrada mayormente en el país, es migratoria. Las hembras migran hacia el norte del país en marzo, permaneciendo durante el verano, formando colonias de maternidad, que incluyen casi exclusivamente hembras preñadas. En septiembre vuelven junto a sus crías al sur del país, donde pasan el invierno. La mayoría de los machos no migran al norte, sino que permanecen en su área de distribución invernal, aunque si lo hacen, pueden formar colonias separados de las hembras (Wilkins, 1989; McCracken et al., 2017).

2.2.3 ECOLOGÍA Y ALIMENTACIÓN

Se encuentran habitualmente en cuevas y áreas urbanas como; puentes, escuelas, casas, almacenes y construcciones abandonadas. *T. brasiliensis* es una especie segregacionista, pero se le ha encontrado compartiendo refugio con distintas especies. Esta especie inicia la búsqueda de alimento poco después del atardecer y continúa alimentándose hasta justo antes del amanecer (Krutzsch, 1955). La mayoría de los insectos que consume pertenecen al orden lepidóptera (polillas), como *Helioverpa zea* (gusano elotero o del algodón) y *Spodoptera exigua* (gusano soldado), las cuales en su estado de larva se consideran de las plagas más peligrosas al tener una gran variedad de plantas registradas como hospederas (McWilliams, 2005; Capinera, 2005; Reisig, 2022). Estos murciélagos también se alimentan de coleópteros, hemípteros, homópteros, dípteros, himenópteros y neurópteros (Kunz et al., 1995).

Su importancia como controladores de plagas naturales se refleja al considerar la industria de la agricultura. Se estima que *T. brasiliensis* consume entre 6,000 y 8,000 toneladas métricas de insectos al año en Texas, lo que conlleva a su importancia como controladores de plagas naturales, teniendo un aproximado de 500,000 a 1 millón de dólares por año del servicio ambiental que proporcionan, reduciendo el daño a los cultivos, eliminando al menos una aplicación de pesticidas y retrasando su uso, sugiriendo beneficios tanto

económicos como ambientales (Red Latinoamericana y del Caribe para la Conservación de Murciélagos [RELCOM] s.f; Cleveland et al., 2006).

2.2.4 EL MURCIÉLAGO GUANERO EN NUEVO LEÓN

En el estado se encuentra uno de los refugios más importantes para la conservación de murciélagos, siendo este la cueva de La Boca ubicada en el municipio de Santiago, donde los quirópteros utilizan dicho recinto con fines reproductivos y albergue permanente o temporal. Las especies de murciélagos reportadas que se encuentran en esta área natural son: *T. brasiliensis, Mormoops megalophylla, Myotis velifer, Myotis thysanodes, Choeronycteris mexicana, Natalus stramineus*, etc, donde las especies entomófagas brindan un servicio ecológico de control de plagas en la región (Moreno, 1996; Jiménez-Guzmán et al., 1999). Un estudio publicado en 2023 por Gándara y colaboradores mencionan la importancia económica de *T. brasiliensis* en el control de plagas para los cultivos de sorgo, maíz, cítricos y nuez en el estado, obteniendo valores de entre 0.65 a 1.65 millones de dólares, con un valor esperado entre 11 y 26 dólares por hectárea por año en dichos cultivos.

Además, es posible encontrar a dichos mamíferos en asentamientos humanos debido a la urbanización acelerada y destrucción de sus hábitats naturales, principalmente especies que se pueden ver beneficiadas de las zonas urbanas como los murciélagos insectívoros, al usar diversas estructuras para refugiarse y alimentarse de insectos atraídos por las luces en las calles, como se ha demostrado en estudios que involucran murciélagos de la familia Molossidae (Rodríguez-Aguilar et al., 2017). Asimismo, estos acercamientos implican interacciones con especies domésticas y humanos, por lo que se abre una puerta de transmisión de enfermedades zoonóticas, resaltando características que facilitan esta interacción en los quirópteros, tales como su alimentación versátil, capacidad de vuelo y migración en algunas de las especies como *T. brasiliensis* (Dimkić et al., 2021).

2.3 PATÓGENOS NO VIRALES EN MURCIÉLAGOS

Existen enfermedades infecciosas que afectan a poblaciones de murciélagos, que lo puede llevar a ser reservorios de patógenos zoonóticos. Un gran número de agentes virales, fúngicos y bacterianos han sido aislados de estos mamíferos, aunque la detección de agentes no virales tiende a ser menos estudiada en los murciélagos a pesar de poder estar

involucrados en la transmisión de patógenos a humanos (Wibbelt, et al., 2009; Dimkić et al., 2021). En los estudios relacionados a la microbiota de las distintas especies de murciélagos, siendo esta el conjunto de microorganismos que habita en el cuerpo del huésped formando un ecosistema complejo (Berg et al., 2020), se han encontrado diversas bacterias potencialmente patógenas en humanos y animales domésticos, principalmente en sangre, guano y diversos órganos.

2.3.1 BACTERIAS EN SANGRE DE MURCIÉLAGOS

Las hemobacterias generalmente son transmitidas a través de vectores hematófagos (pulgas, piojos, moscas y garrapatas), que invaden distintos órganos diana, como el tejido endotelial y sangre, con diversos hospedadores mamíferos, entre ellos el murciélago y el humano (Boulouis et al., 2005; Cicuttin et al., 2014). Las infecciones por estas no causan signos clínicos en los hospederos reservorios (Kosoy, et al, 1997). Una bacteria altamente distribuida en murciélagos es Bartonella spp., la cual se ha observado en distintas poblaciones de murciélagos no hematógafos y hematófagos en distintos continentes (Concannon, et al., 2005; Lilley et al., 2017; Bai, et al., 2011, Bai et al., 2012), así también en diversos ectoparásitos que los parasitan (Loftis et al., 2005; Reeves et al., 2007; Moskaluk et al., 2018; Han et al., 2022). Incluso se ha reportado el aislamiento de Candidatus Bartonella mayotimonensis de la válvula aórtica de un paciente humano que padecía endocarditis en Estados Unidos, signo clínico común de algunas especies de Bartonella spp. Adicionalmente, otro patógeno importante transmitido por vectores son aquellas bacterias del género Rickettsia, donde el grupo responsable de la enfermedad conocida como fiebre de las Montañas Rocosas es el más importante en el aspecto clínico, ya que genera enfermedad grave en humanos (Snowden & Simonsen, 2023). Se ha identificado Rickettsia spp., en murciélagos no hematófagos en países como: Romania, Argentina, Brasil e incluso México, donde se ha detectado la presencia de rickettsias zoonóticas como: Rickettsia rickettsii, Rickettsia felis, y Rickettsia typhi (D'Auria et al., 2010; Cicuttin et al., 2017; Lugo-Caballero et al., 2021; Matei et al., 2021).

El género *Borrelia* spp., se comprende de tres grupos: la enfermedad de Lyme, la fiebre recurrente y la asociada a reptiles (Takano et al., 2010; Franke et al., 2013). La distribución de *Borrelia* spp., surge esporádicamente en todo el mundo, pero también depende de la

presencia del vector, generalmente garrapatas del género Ixodes (Gillespie, 1994). Pocos estudios se han realizado sobre esta bacteria en murciélagos, aunque ya se ha detectado en diversos países europeos, África, Asia y también en países del continente americano como: Estados Unidos, Colombia, Brasil y México (Han et al., 2020; Colunga-Salas et al., 2021; Li et al., 2021; Jorge et al., 2022; López et al., 2023).

Dentro de la familia Anaplastamaceae, se encuentran principalmente los géneros Ehrlichia y Anaplasma, las cuales son bacterias patógenas intracelulares que afectan tanto a animales como humanos. Dependiendo de la especie de Ehrlichia spp., estas presentan tropismo ya sea por monocitos, macrófagos, granulocitos o células endoteliales (Thirumalapura & Walker, 2015), mientras que Anaplasma spp., invade eritrocitos, plaquetas y leucocitos de mamíferos, donde se desarrollan y forman mórulas. La distribución de estas bacterias es mundial, con mayor frecuencia en áreas tropicales y subtropicales donde la presencia del vector es abundante, siendo estas las garrapatas duras de diversos géneros (Oteo & Brouqui, 2005). En murciélagos actualmente la detección de bacterias de esta familia no está ampliamente documentada. Se ha detectado Ehrlichia spp., en murciélagos hematófagos y no hematófagos del continente africano (Selmi et al., 2021), el Caribe (Reeves et al., 2016), así como en Europa (Zabashta et al., 2019). Mientras que, en el continente americano, los estudios se concentran principalmente en Brasil (André et al., 2023; Ikeda et al., 2021; De Mello et al., 2024). En países europeos, se ha encontrado ADN de Anaplasma phagocytophilum en murciélagos de la familia Vespertilionidae (Szubert-Kruszyńska et al., 2018; Zabashta et al., 2019) y en guano de murciélagos insectívoros de una colonia de maternidad (Afonso & Goydadin, 2018). En el continente americano también se ha detectado dicho patógeno en murciélagos no hematófagos y murciélagos vampiros, principalmente en Sudamérica (André et al., 2023; De Mello et al., 2024; Villalba-Alemán et al., 2020).

2.3.2 AGENTES FÚNGICOS

Los murciélagos albergan una gran diversidad de hongos, algunos de los cuales son comensales, mientras que otros pueden representar una amenaza para su salud y la de otros animales, incluidos los seres humanos. Estos hongos pueden encontrarse en la piel, guano

o en los ambientes en los que habitan, siendo el guano una fuente ideal de materia orgánica para su crecimiento (Ferreira & Martins, 2019).

Hongos dimórficos de los géneros; *Histoplasma*, *Aspergillus*, *Coccidioides*, *Cryptococcus*, *Penicillium*, *Trichoderma* y levaduras como *Candida*, han sido aislados del guano de distintas especies de murciélagos (Misra, 2015; Cunha et al., 2020; Gugnani & Denning, 2023). Mientras que, dentro de los hongos encontrados en piel de estos mamíferos, el más estudiado es *Pseudogymnoascus destructans*, siendo este el agente causal del síndrome de la nariz blanca, una enfermedad que ha devastado poblaciones de murciélagos en América del Norte (Isidoro-Ayza et al., 2024).

2.3.3 BACTERIAS EN GUANO DE MURCIÉLAGOS

Las bacterias en el tracto gastrointestinal, así como del guano de los murciélagos han sido poco estudiadas desde hace algunas décadas, a pesar de su posible amenaza a la salud pública, tomando en cuenta la destrucción de hábitats, la deforestación y la urbanización acelerada, lo que permite el desplazamiento de estos mamíferos a refugios alternativos en paisajes periurbanos (Russo & Ancillotto, 2014; Dimkić et al., 2021; Popov et al., 2023). El guano se ha estudiado a partir de muestras frescas o de pilas de guano tomadas de diferentes lugares tanto naturales como urbanos, donde se ha observado que las pilas de guano contienen un ambiente de microorganismos más diverso que los del guano fresco, con variaciones en la taxonomía dentro de las pilas, dependiendo de la profundidad de estas (Newman et al., 2018). En general, se han detectado bacterias de los géneros: Bacillus, Enterococcus, Staphylococcus, Streptococcus, Microbacterium, Enterobacter, Proteus, Anaplasma, Bartonella, Pseudomonas, Weissella, Salmonella, Pasteurella, Escherichia, Shigella, Klebsiella, Clostridium y Leptospira entre otras, tanto de áreas naturales como urbanas (Newman et al., 2018; Dimkić et al., 2021; Lobato-Bailón, 2023; Popov et al., 2023). No obstante, es importante remarcar que la variedad del microbioma de los murciélagos depende aparte de su filogenia, de la dieta y del medio ambiente, por lo que es posible encontrar distintos taxones de bacterias entre murciélagos hematófagos, nectarívoros, piscívoros e insectívoros, así como entre las mismas poblaciones de murciélagos (Phillips et al., 2012).

Bacterias de interés zoonótico han sido estudiadas en murciélagos, como son: Salmonella spp., y Escherichia coli, que se consideran parte de la microbiota del intestino delgado y grueso de los humanos y animales de sangre caliente (Wasteson, 2001). Animales como los bovinos, aves de corral, roedores, reptiles y anfibios, pueden ser portadores naturales en sus intestinos y no mostrar signos de enfermedad. La salmonelosis es una enfermedad que causa gastroenteritis en humanos, debido a la manipulación de estos animales. Así también Salmonella spp., puede estar al interior y exterior de jaulas, acuarios y terrarios. El contacto directo con animales o con objetos contaminados en los hábitats de estos, puede transmitirla a las personas (Administración de Alimentos y Medicamentos, 2023). En muestras tomadas de murciélagos, varios estudios han mostrado algunas serovariedades relacionadas a enfermedad en humanos y animales domésticos (Mühldorfer, 2012; Allocati et al., 2016; Armelle et al., 2021; Agustin et al., 2025). Algunas cepas de E. coli están relacionadas con enfermedades en humanos, siendo el grupo de la E. coli diarreogénica la que incluye uno de los patotipos más importantes al generar diarrea hemorrágica e insuficiencia renal en los humanos, E. coli O157:H7, que con dosis infectivas bajas aumenta el riesgo de enfermedad, donde los rumiantes son el reservorio más importante de dicha cepa (Centro para la Seguridad Alimentaria y Salud Pública [CFSPH], 2009). Sin embargo, esta cepa ha sido poco estudiada y detectada en murciélagos (Apun, et al., 2011). Adicionalmente, numerosas cepas de E. coli poseen genes de resistencia que afectan los tratamientos antibióticos en medicina humana y veterinaria, considerándose un problema de salud pública (Poirel et al., 2018). Estudios relacionados con E. coli en quirópteros, se han enfocado a la resistencia a antibióticos como: amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, ampicilina, cloranfenicol, piperacilina, gentamicina, trimetoprima/sulfametoxazol, carbapenémicos, fluoroquinolonas, gentamicina, entre otros (Benavides et al., 2018; McDougall et al., 2021).

2.3.4 Otras bacterias aisladas de la microbiota de murciélagos

De muestras de riñón se ha identificado *Leptospira* spp., en murciélagos (Ballados-González et al., 2018; Bevans et al., 2020), la cual es una bacteria que genera enfermedad en animales y humanos, desde la presentación leve de la enfermedad hasta generar falla multiorgánica lo que ocasiona la muerte (Picardeau, 2017). La bacteria Grampositiva

Listeria, es un patógeno intracelular facultativo que genera enfermedad en humanos y animales domésticos y silvestres, incluidos los murciélagos (Höhne et al., 1975; Zaytseva et al., 2007; Povolyaeva et al., 2020). Se ha investigado el potencial de *L. monocytogenes* para infectar células renales en murciélagos, revelando un mecanismo de invasión similar al que ocurre en el hombre (Povolyaeva et al., 2020). La piel de los murciélagos está compuesta por una compleja comunidad bacteriana, la cual parece estar influenciada por el ambiente, la temperatura de los refugios, su proximidad espacial, etc. (Federici et al., 2022). Adicionalmente, se han descrito una amplia variedad de bacterias en distintas especies de murciélagos: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Enterococcus*, entre otras (Avena et al., 2016; Gaona et al., 2019; Li et al., 2018).

3. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a las condiciones ambientales y a su zona geográfica, Monterrey y su área metropolitana, son una zona adecuada e indispensable para el ciclo de vida del murciélago guanero (*Tadarida brasiliensis*). Un ejemplo es la Cueva de La Boca en Santiago, Nuevo León, considerada la cueva de maternidad más sureña conocida para esta especie, donde habitan millones de hembras lactantes cada verano, aportando un servicio de control de plagas que mantiene el equilibrio ecológico de la región circundante a esta zona, ya que consume aproximadamente 25 toneladas de insectos cada noche. No obstante, se ha reportado en áreas urbanas como puentes, escuelas, casas, almacenes y construcciones abandonadas, lo que conlleva a la interacción con personas, por lo que es de utilidad conocer las bacterias y hongos en esta especie migratoria en la región, que pueden convertirlos en un potencial reservorio. Además, no existen estudios recientes sobre esta especie en la zona metropolitana de Monterrey, Nuevo León, por lo que este proyecto, propone determinar la presencia de bacterias en sangre, así como bacterias y hongos en heces de murciélagos guaneros.

4. HIPÓTESIS

Los murciélagos guaneros que se encuentran en la Cueva de la Boca y de manera urbana en Nuevo León, son reservorios de bacterias en sangre, además de bacterias y hongos en guano con potencial zoonótico.

5. OBJETIVOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia de bacterias en sangre, así como de bacterias y hongos en heces de *Tadarida brasiliensis*, en un área natural y un área urbana en Nuevo León.

5.1.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1. Determinar la presencia de bacterias en sangre de *T. brasiliensis* por medio del diagnóstico molecular y análisis filogenético.
- 2. Identificar los hongos presentes en el guano de *T. brasiliensis* a partir de su morfología macroscópica y microscópica.
- 3. Determinar la presencia de bacterias en guano de *T. brasiliensis* por medio del diagnóstico molecular y análisis filogenético.

6. MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1 LUGAR DE PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Las muestras colectadas se analizaron en los laboratorios de Microbiología y Genética de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL). Asimismo, en conjunto con el Laboratorio de Innovación Diagnóstica S.A de C.V. y el Centro de Investigación e Innovación en Virología Médica de la Facultad de Medicina de la UANL.

6.2 ÁREA Y TIEMPO DE MUESTREO

El muestreo se delimitó al santuario biológico Cueva de La Boca en el municipio de Santiago, 25° 26′ 01.9″ N, 100° 06′ 53.4″ O. Así como en el edificio Nuevo León Contigo en Monterrey, 25° 39′ 9.907″ N, 100° 17′ 35.935″ O. Previo a las colectas se tramitó el permiso de licencia de colecta científica con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre Modalidad B ante la SEMARNAT con el número de oficio SPARN/DGVS/00615/24, el cual tuvo vigencia de un año, desde el 16 de enero de 2024 hasta el 16 de enero de 2025. Además del aviso para realizar actividades de investigación con colecta o manipulación de ejemplares de flora y fauna silvestre en Áreas Naturales Protegidas CNANP-00-007 ante la CONANP y el reglamento contractual de investigación de Pronatura Noreste. La colecta se llevó a cabo desde el 11 de mayo al 21 de septiembre de 2024.

6.3 METODOLOGÍA

6.3.1 Protección del personal

Para el manejo de los especímenes, se tomaron las siguientes medidas físicas de seguridad: guantes de carnaza resistentes a mordeduras, equipo de protección personal como gafas y protectores faciales (mascarilla Kn95 con filtro), botas, ropa resistente a la humedad, overoles desechables, con el propósito de evitar la exposición directa con aerosoles, orina y heces. Cabe destacar que el personal se vacunó con la vacunación antirrábica (dos dosis), de manera obligatoria, adquirida en el Centro de Salud Terminal ubicada en Monterrey Nuevo León, los días 15 y 21 de marzo de 2024.

6.3.2 CAPTURA DE MURCIÉLAGOS

El manejo de los murciélagos se realizó de acuerdo con lo descrito por Kunz y Kurta (2009) y Sikes (2016). Los murciélagos se atraparon con una red de niebla de 6 metros, la cual se colocó media hora antes del atardecer (se observa la hora de la puesta de sol dependiendo la estación), momento en que los murciélagos salían de su refugio para alimentarse. Se utilizaron guantes gruesos de carnaza y de látex para su manejo. Del lado de la red del cual ingresaron, se procedió a separar primero las patas de esta, después un ala y luego la otra, así como la cabeza, sosteniendo el cuerpo con cuidado para evitar que se enredara de nuevo. Ya una vez fuera de la red, se colocaron dentro de una bolsa de tela de manta estéril de 20 × 35 cm y en una canasta, con el fin de moverlos hacia el lugar de trabajo. Cabe destacar que después de la colecta, las suelas de las botas se sumergieron en un tapete sanitario con Hipoclorito de Sodio al 0.5%, además se inactivó todo el material usado con lo antes mencionado y se colocó en bolsas para ser tratado como Residuo Peligroso Biológico Infeccioso bajo la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

6.3.3 IDENTIFICACIÓN DE INDIVIDUOS Y COLECTA DE DATOS

La identificación de los murciélagos se realizó de acuerdo con sus características morfológicas descritas por Wilkins (1989) y Medellín y colaboradores (2007). Se tomó registro de ubicación de captura y de los ejemplares, de acuerdo con Brunet-Rossinni y Wilkinson (2009) y Danielson y colaboradores (2022), tal como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Registro de murciélagos capturados.

Ub	Ubicación:							
Fee	Fecha:							
Ho	Hora de inicio: Hora de finalización:							
	Datos biológicos							
#	Especie	Especie Sexo	Condición reproductiva		Edad	Peso	Antebrazo	
<i>#</i>			M	Н		relativa	(g)	(mm)
1								

Para la toma de dichos datos, se anotaron de la siguiente manera:

<u>Ubicación</u>. Nombre del sitio donde se colectaron los ejemplares y coordenadas de este.

Fecha. Se escribe el día, mes y año de la salida a colecta.

Hora de inicio. Hora de iniciada la colecta de murciélagos.

Hora de finalización. Hora de terminada la colecta y muestreo de murciélagos.

Ejemplar. Número progresivo de 1 a n ejemplares colectados en la noche anterior, siguiendo la numeración dada en campo. La numeración se reinicia cada día.

Sexo. Se usaron las letras M (macho) y H (hembra).

<u>Condición reproductiva M.</u> Testículos: 1 (abdominales), 2 (escrotados). Epidídimo: 1 (vacío), 2 (lleno).

Condición reproductiva H. 1 (inactiva), 2 (preñada), 3 (lactante). Se realizó observando los pezones y glándulas mamarias de las hembras, así como inspección del abdomen, donde se consideraba preñez cuando se encontraba agrandado y era posible palpar un feto. Las que no presentaban cambios visibles se consideraron inactivas (no reproductivas).

<u>Edad relativa</u>. Juvenil o adulto. Se obtiene de acuerdo con el grado de osificación de la articulación entre metacarpos y falanges, apoyándose con una linterna y observando a contraluz.

<u>Peso.</u> Se pesó cada murciélago y se registró en gramos (g). Se colocó el animal dentro de la bolsa de tela y se pesó dentro de esta con una báscula de resorte con capacidad de 100 g (Pesola®), posteriormente se retiraba al animal de la bolsa y se pesaba, restando el peso de la bolsa para determinar el peso del murciélago.

Antebrazo. Se midió el antebrazo de cada murciélago, entendiéndose como la máxima distancia entre los bordes externos de la muñeca y el codo. Se anotó en milímetros (mm). Se sujetó al animal y se tomó dicha medida con un vernier (Truper®).

6.3.4 COLECTA DE SANGRE

La metodología para la colecta de sangre se adaptó de acuerdo con lo publicado por Eshar y Weinberg (2010) y Smith y colaboradores (2010). Se consideró el cuidado de los murciélagos, evitando la presión excesiva sobre éstos y sus alas durante la sujeción. Se tomó en cuenta que el volumen de sangre total de los murciélagos es de 9-11 ml/100 g, siendo seguro extraer una muestra del 1% de su peso corporal. Se sujetaron la cabeza y el cuerpo, entre el pulgar y la palma de la mano, extendiendo el ala, hasta que la articulación

del codo formara un ángulo de 90°. Utilizando guantes de látex se realizó la punción de la vena braquial, preparándose con una torunda con etanol al 70%, usando una aguja de calibre 25 estéril. Una vez hecha la punción, se tomó la gota de sangre con papel FTA Whatman (QIAGEN, Alemania), se dejó secar al aire libre, se rotuló y se mantuvo a temperatura ambiente. Después de la colecta, se colocó una torunda de algodón limpia humedecida con etanol al 70%, ejerciendo presión con los dedos índice y pulgar en el sitio de la punción hasta detener el sangrado. Cabe destacar que personal de Parques y Vida Silvestre de Nuevo León, aseguraron el correcto manejo de los ejemplares y la liberación de estos.

6.3.5 COLECTA DE HECES

Para la colecta de heces se adaptó la técnica descrita por An y colaboradores (2024). Las muestras se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 ml con 1 ml de Infusión Cerebro-Corazón (ICC) para asegurar el crecimiento de microorganismos. El guano se colectó directamente a partir de la bolsa de tela de manta estéril y de la zona anal del animal, usando pinzas estériles, cabe resaltar que antes de que se colectaba el guano de cada animal, las pinzas se limpiaban con alcohol para descontaminarlas. Una vez colectado el total de guano de los especímenes, los tubos se rotularon y se mantuvieron a temperatura ambiente para su posterior análisis en el laboratorio de microbiología de la FMVZ-UANL. Al terminar de realizar los muestreos, se liberaron los animales dentro del área donde fueron capturados, esto bajo la supervisión del personal de Parques y Vida Silvestre de Nuevo León, como se mencionó con anterioridad, los cuales emitieron un reporte en cada ida de colecta. Asimismo, al finalizar el periodo de captura y muestreo, se realizó un informe completo del proyecto dirigido a la SEMARNAT como fue estipulado en el oficio SPARN/DGVS/00615/24.

6.3.6 EXTRACCIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO A PARTIR DE SANGRE Y REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA EN TIEMPO REAL (qPCR)

La extracción de los ácidos nucleicos y las qPCR provenientes de las muestras de sangre de *T. brasiliensis*, se llevaron a cabo en el Laboratorio de Innovación S.A de C.V. Para el aislamiento y purificación del ADN, se utilizó el kit de purificación de ADN genómico (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos). Se inició recortando un cuadro de

aproximadamente 5×5 mm del papel filtro FTA Whatman (QIAGEN, Alemania) con la muestra de sangre y se colocó en un tubo Eppendorf de 1.5 ml. Posteriormente, se añadieron 200 μl de buffer Hanks y se mezcló en el agitador vórtex (Vortex-Genie 2, Scientific Industries, Estados Unidos) durante 20 segundos. Seguido, se agregaron 20 μl de proteinasa K, colocando el tubo después en el termostato de bloque (Thermomixer compact 5350, Eppendorf, Alemania) a 56°C por 300 rpm durante 10 minutos. Pasado este tiempo, se agregaron 400 μl de solución de lisis, incubando a 65°C por 5 minutos en el termostato de bloque. Inmediatamente después, se agregaron 600 μl de cloroformo. Se realizó la emulsión por inversión de la muestra y se centrifugó (Centrífuga D1524R, DLAB Scientific Co., Ltd., China) a 9,400 × g por 2 minutos. En un nuevo tubo Eppendorf estéril se transfirió la fase acuosa y se agregaron 800 μl de solución de precipitación de ADN al 1X y se mezcló por inversión durante 1 minuto.

Posteriormente, se centrifugó a $12,000 \times g$ por 2 minutos. Se retiró el sobrenadante y se agregaron $100 \mu l$ de cloruro de sodio para después mezclarlo en el vórtex. Después se agregaron $300 \mu l$ de etanol frío al 100% y se dejó precipitar el ADN durante 10 minutos a -20° C. Una vez pasado este tiempo, se centrifugó la muestra a $12,000 \times g$ por 2 minutos. Se retiró el etanol y se agregaron $400 \mu l$ de etanol frío al 70% y se centrifugó nuevamente a $12,000 \times g$ por 2 minutos. Se decantó el alcohol y se dejó secar el tubo invertido, una vez seco el tubo, se agregaron $50 \mu l$ de agua desionizada estéril y se mezcló suavemente por inversión.

Para la detección de bacterias en sangre por qPCR, se emplearon dos tipos de ensayos y se realizó a través de pools de dos individuos. En el primer ensayo, se utilizó el agente intercalante SYBR Green (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos), mientras que el segundo se basó en sondas de hidrólisis sintetizadas por IDT Technologies, Estados Unidos. Ambos ensayos fueron rigurosamente estandarizados mediante el uso de controles sintéticos de ADN (gBlocks) y posteriormente validados con muestras positivas para cada patógeno, lo que garantizó su confiabilidad en la detección de las bacterias en sangre objeto de este estudio. Los patógenos a detectar fueron: *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., y *Bartonella* spp. Se utilizó una mezcla que incluía los iniciadores específicos, la muestra de ADN y el Master Mix: para sondas (*Borrelia* spp., *Rickettsia* spp y control endógeno Beta-actina: sonda 0.5 μl, primer F 0.5 μl, primer R 0.5

μl, H₂O 3.5 μl, Master Mix 5 μl, ADN 2 μl. Volumen final 12 μl) y para SYBR Green (*Anaplasma* spp, *Ehrlichia* spp., *Bartonella* spp y control endógeno Beta-actina: primer F 0.5 μl, primer R 0.5 μl, H₂O 3 μl, Master Mix 5 μl, ADN 2 μl. Volumen final 11 μl). La qPCR se estandarizó para la desnaturalización inicial: 95°C durante 3 minutos. 50 ciclos de amplificación que incluyeron, desnaturalización: 95°C durante 10 segundos, alineamiento: 60°C durante 30 segundos y extensión: 72°C durante 30 segundos. La extensión final fue de 72°C durante 5 minutos. Los resultados cualitativos de las muestras de *T. brasiliensis* se determinaron observando la presencia o ausencia de señales de fluorescencia en cada ciclo, lo que indicó la detección del patógeno en las muestras analizadas.

6.3.7 CULTIVO FÚNGICO DE HECES FRESCAS E IDENTIFICACIÓN

Se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología de la FMVZ y la facultad de Medicina, UANL a partir de las heces de *T. brasiliensis* almacenadas en ICC. Se utilizó un medio general (Agar Papa Dextrosa, BD Bioxon, México) para el crecimiento de hongos y levaduras. Se realizó la siembra por estriado con asa bacteriológica y se incubó por 7 días a 32°C. Posteriormente, se realizó la identificación morfológica de acuerdo con Pitt y Hocking (2009), colocando los hongos sobre el portaobjetos, utilizando azul de lactofenol y colocando un cubreobjetos, para su observación en el microscopio óptico (Primo Star 1, Zeiss, Alemania) a 40x, bajo la supervisión tanto del Dr. Jesús Jaime Hernández Escareño de la FMVZ, como del Dr. Rogelio Treviño Rangel del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de la UANL.

6.3.8 CULTIVO BACTERIANO DE HECES FRESCAS Y EXTRACCIÓN DE MATERIAL GENÉTICO

El cultivo y la extracción se llevaron a cabo en el laboratorio de Microbiología de la FMVZ-UANL. Para el cultivo bacteriano se utilizaron medios selectivos para el crecimiento de bacterias zoonóticas como; *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., y *Listeria monocytogenes*, siendo estos el agar Fluorocult y Oxford (Merck, Alemania). Las muestras se sembraron por medio de la técnica estriado por agotamiento y se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

Posteriormente, se tomaron muestras de las colonias aisladas para realizar la extracción de ADN partir del método Fenol-Cloroformo mencionado por Ferrer y colaboradores (2001). De manera individual a partir del tubo Eppendorf de 1.5 ml con la muestra en ICC, se colocaron 200 µl de la muestra en tubos Eppendorf estériles, aplicando 500 µl de buffer de lisis. Se incubaron en el Termoblock (AccuBlock, Labnet International Inc., Estados Unidos) a 65°C durante una hora. Posteriormente, se agregaron 500 µl de Fenol-Cloroformo-Alcohol Isoamílico (49.5:49.5:1) y se centrifugaron (Centrifuge 5430, Eppendorf, Alemania) a 14,000 rpm por 15 minutos. Se tomó el sobrenadante en tubos nuevos a los cuales se agregaron 65 µl de Acetato de Sodio (NaOAC) y 75 µl de Cloruro de Sodio (NaCl), se agitaron suavemente por inmersión y se colocaron a -20°C en el congelador durante 10 minutos. Pasado ese tiempo, se centrifugaron los tubos a 14,000 rpm durante 10 minutos y se pasaron los sobrenadantes en tubos nuevos, añadiendo 270 ul de isopropanol y se mantuvieron en el congelador a -20°C durante 10 minutos. Después, se centrifugaron a 14,000 rpm durante 10 minutos, se eliminó el sobrenadante por decantación y se agregaron 500 µl de etanol al 70%, se centrifugaron nuevamente a 14,000 rpm por 5 min, realizando otra decantación y finalmente se incubaron a 37°C con el tubo boca abajo y colocando una toalla de papel debajo, para secar completamente el etanol. Una vez seco, se agregaron 20 µl de buffer TE para la conservación del ADN a -20°C.

6.3.9 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) CONVENCIONAL PARA BACTERIAS EN HECES

Se realizó la amplificación del material genético del guano mediante la técnica de PCR punto final, utilizando un volumen de reacción de 10 μl para cada uno de los agentes patógenos: *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., y *Listeria monocytogenes*. Los componentes y sus volúmenes de la mezcla de reacción fueron: Master Mix 5 μl, Primer F 0.5 μl, Primer R 0.5 μl, H2O 3 μl, ADN 1 μl. Volumen total: 10 μl. Para la detección de *E. coli* O157:H7., se utilizaron los primers reportados por Park et al., (2006) que amplifican el gen stx2 a 553 pb, para *Salmonella* spp., se utilizaron primers reportados por Chiu et al., (2005) que amplifican la región ITS, a 312 pb. Para *L. monocytogenes.*, se utilizaron primers reportados por Park et al., (2006), los cuales amplifican el gen Hly a 210 pb. La amplificación de muestras se realizó en un termociclador T100 (Thermal

Cycler BioRad, Estados Unidos). Los controles positivos fueron proporcionados por el Laboratorio de Microbiología de la FMVZ.

6.3.10 ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA

Todos los fragmentos amplificados fueron observados por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1.5% diluido en Buffer SB1x (0.09 M Tris, 0:09 M ácido Bórico y 2 mM de EDTA, pH 8.3) a 90 voltios por 90 minutos junto a la tinción para ácidos nucleicos GelRed (Biotium, Estados Unidos), Azul de bromofenol y el marcador de peso molecular, bajo irradiación UV en el transiluminador (Axygen GD-1000, Corning Inc., Estados Unidos).

6.3.11 SECUENCIACIÓN SANGER POR ELECTROFORESIS CAPILAR

Esto se llevó a cabo en el Centro de Investigación e Innovación en Virología Médica de la Facultad de Medicina de la UANL, bajo la supervisión del Dr. Kame Alberto Galán Huerta. Se realizó la secuenciación de los amplicones mediante el método de Sanger por electroforesis capilar. Para esto, se llevó a cabo la electroforesis de los productos de PCR obtenidos anteriormente, utilizando Buffer TAE 1x (40 mM Tris acetato, 1 mM EDTA, pH 8.0), 0.5 g de agarosa y 5 μl de la tinción SYBR Safe (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos). Se utilizó el colorante Orange DNA Loading (Solis BioDyne, Estonia) y el marcador de peso molecular, así como 5 μl de cada una de las muestras en la cámara de electroforesis a 100 voltios por 60 minutos. Se observó en el transiluminador UV (Benchtop 2UV, Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos). Posteriormente se recortaron los fragmentos directamente del gel para su posterior purificación. Se utilizó el kit de purificación QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante que se describen a continuación.

Los fragmentos de ADN del gel de agarosa se pesaron y se agregaron a tubos Eppendorf de 1.5 ml y se agregaron 300 µl de Buffer de solubilización a 100 mg del volumen del gel. Posteriormente, se incubaron los tubos a 50 °C por 10 minutos y 300 rpm en el termostato de bloque (Thermomixer comfort 5355, Eppendorf, Alemania). Se agregó 1 volumen de gel de isopropanol a la muestra y se mezcló. Se colocó por muestra una columna de centrifugación en un tubo de recolección de 2 ml, aplicando la muestra en la columna y se centrifugó por 1 min a 13000 rpm (Centrifuge 5415D, Eppendorf, Alemania), se descartó

el material sobrante y se volvió a colocar la columna en el mismo tubo de recolección. Después, se agregaron 500 µl de buffer de solubilización y se centrifugó durante 1 min a 13000 rpm, se descartó el material sobrante y se volvió a colocar la columna en el tubo. Se realizó el lavado aplicando 750 µl de Buffer PE a la columna, dejando actuar durante 5 minutos y posteriormente centrifugando a 13000 rpm por 1 min. Se descartó el material sobrante y se colocó la columna en un tubo nuevo. Finalmente, se agregaron 30 µl de Buffer EB y se centrifugó la columna a 13000 rpm por 1 min.

Se realizó la cuantificación del material utilizando el espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos). Posteriormente, se realizó la reacción de secuenciación con el volumen final de 10 μl: BigDye Terminator (Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos) 4 μl, primer 1 μl, DNA 1 μl, H₂O 4 μl. Se realizó la amplificación en el termociclador (Thermal cycler 9901 Applied Biosystems, Estados Unidos), con las siguientes condiciones de amplificación: desnaturalización inicial: 96 °C durante 1 minuto, 30 ciclos de amplificación que incluyeron, desnaturalización: 96 °C durante 15 segundos, alineamiento: 50 °C durante 5 segundos y la extensión: 60 °C durante 4 minutos. Para la purificación de la reacción de secuenciación, se utilizó Etanol/EDTA para los 10 μl de la reacción. Las reacciones ya purificadas se colocaron en el secuenciador (3500 Genetic Analayzer, Applied Biosystems, Estados Unidos). Una vez terminada la electroforesis capilar, los resultados obtenidos fueron revisados con el programa para Windows Chromas ver 2.6.6. Posteriormente las secuencias se blastearon (Nucleotide BLAST) para identificar qué microorganismos se encontraron con secuencias similares.

6.3.12 SECUENCIACIÓN METAGENÓMICA

Esto se llevó a cabo en el Laboratorio de Innovación Diagnóstica S.A de C.V. Bajo la supervisión de la MC. Bianka Dianey Camacho Zamora y LBG. Karla García Beraza. Primero se realizó la extracción y purificación del ADN a partir de 3 muestras de sangre elegidas en el papel filtro FTA y 6 muestras de heces en ICC (3 de la cueva y 3 del edificio), utilizando el kit de extracción ReliaPrepTM Blood gDNA Miniprep System (Promega, Estados Unidos), siguiendo las instrucciones del fabricante. Una vez obtenido, se procedió a la preparación de la secuenciación utilizando el kit Rapid PCR Barcoding

24 V14 (Oxford Nanopore Technologies, Reino Unido). Para la preparación de la biblioteca, se colocaron 5 ng de cada muestra en 3 µl de agua libre de nucleasas, en tubos Eppendorf de 1.5 ml. En tubos de PCR de 200 μl, se agregaron los 3 μl de muestra y 1 μl del Mix de Fragmentación y se agitó manualmente. En el termociclador (Step OnePlus, Applied Biosystems, Estados Unidos), se incubaron las muestras a 30 °C por 2 minutos y posteriormente a 80 °C por 2 minutos más, para después se dejó enfriar inmediatamente. Seguido, en tubos de PCR se agregaron los 4 µl anteriores, 11 µl de agua libre de nucleasas, 10 μl de los Rapid Barcode Primers (07-12 a 10 μM), 25 μl de LongAmp Hot Start Taq 2X Master Mix, con un total de la mezcla de reacción de 50 µl. Se llevaron al termociclador con las siguientes condiciones de ciclado: Desnaturalización inicial: 95 °C durante 3 minutos, 30 ciclos de amplificación que incluyeron, desnaturalización: 95 °C durante 15 segundos, alineamiento: 50 °C durante 15 segundos y la extensión: 65 °C durante 6 minutos. Extensión final: 65 °C por 6 minutos. Posteriormente, se agregaron 4 μL de EDTA y se mezcló por pipeteo. Se incubaron los tubos a temperatura ambiente durante 5 minutos para después realizar la cuantificación de cada muestra con 1 µl de ésta utilizando el fluorómetro (Quantus Fluorometer, Promega, Estados Unidos). Se agruparon las muestras en proporciones equimolares hasta obtener una concentración final combinada de 400 fmol (800 ng) en un tubo Eppendorf de 1.5 ml. Seguido, se agregaron 0.6X volúmenes de perlas magnéticas (AMPure XP Beads- AXP, Beckman Coulter, Estados Unidos) y se mezcló por pipeteo. Se incubó por 5 minutos a temperatura ambiente, se prepararon 2 ml de etanol al 80%, y se centrifugó brevemente. La muestra con el sedimento se colocó en una gradilla magnética hasta que el sobrenadante estuviera transparente e incoloro. Se mantuvo el tubo en la gradilla magnética y se pipeteó el sobrenadante. Se mantuvo el tubo sobre el imán y se lavaron las perlas con 1 ml de etanol al 80 % recién preparado. Se retiró el etanol con una pipeta y se descartó. Se centrifugó brevemente y se volvió a colocar el tubo en el imán. Se descartó el etanol residual y se dejó secar durante 30 segundos. Después, se retiró el tubo de la gradilla magnética y se resuspendió el pellet pipeteándolo en 15 µl de tampón de elución (EB). Se centrifugó e incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se extrajeron y conservaron 15 μl del eluido en un tubo Eppendorf limpio de 1.5 ml. Posteriormente se cuantificó 1 µl utilizando el fluorómetro. Seguido, se transfirieron 50 fmol a un tubo Eppendorf de 1.5 ml, completando el volumen a 11 µl con EB. En otro tubo Eppendorf de 1.5 ml, se diluyeron 1.5 µl del Adaptador Rápido (RA), en 3.5 µl de Buffer Adaptador (ADB), y seguido, se agregó 1 µl de esta dilución al tubo del ADN y se agitó suavemente, dejando a temperatura ambiente durante 5 minutos.

Para preparar la mezcla de cebado de la Flow Cell con albúmina de suero bovino, se combinaron los siguientes reactivos en un tubo Eppendorf nuevo de 1.5 ml: 1170 μl de Flow Cell Flush (FCF), 5 μl de albúmina de suero bovino a 50 mg/ml, 30 μl de Flow Cell Tether (FCT), con un volumen final de 1,205 μl. Se agregaron 800 μl de dicha mezcla en la Flow Cell a través del puerto de cebado, evitando la introducción de burbujas de aire. En un nuevo tubo Eppendorf 1.5 ml, se preparó la biblioteca y se cargó de la siguiente manera: 37.5 μl de Buffer de Secuenciación (SB), 25.5 μl de Solución de Biblioteca, 12 μl de ADN, con un volumen final de 75 μl. Se cargaron 200 μl de dicha mezcla en la Flow Cell en el puerto de cebado. Se agregaron los 75 μl de la biblioteca en el puerto de muestra, gota a gota, evitando la formación de burbujas. Se cerró la tapa del dispositivo y se configuró una ejecución de secuenciación en el software MinKNOW. Los datos crudos se analizaron en el programa EPI2ME.

6.3.13 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos de presencia/ausencia de microorganismos se presentaron mediante porcentajes de frecuencia, así como t-Student para la evaluación del peso, antebrazo de los murciélagos, así como en las bacterias identificadas en el análisis metagenómico, además de la prueba Friedman para analizar las posibles diferencias entre las medianas de las etapas reproductivas en las hembras. Los valores de $P \leq 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos

7. RESULTADOS

7.1 CAPTURAS

Se capturaron en total 106 individuos de la especie *T. brasiliensis*, de los cuales 76 pertenecieron a la cueva de La Boca, Santiago N.L., y 30 al edificio Nuevo León Contigo, en Monterrey N.L. Del total, 62 fueron machos y 44 hembras (Tabla 2, Figura 3). En cuanto a los datos obtenidos de cada murciélago, el peso promedio de ambas poblaciones fue de 11.26 g y en la medida del antebrazo el promedio fue de 43.15 mm. La condición reproductiva de las hembras en su mayoría se registró como inactiva, a excepción de tres que se encontraron preñadas. Por otro lado, los machos presentaron inactividad sexual durante todo el periodo de muestreo. Todos los animales capturados fueron adultos.

Tabla 2. Colecta de murciélagos guaneros (*T. brasiliensis*) en área urbana y área natural (Edificio N.L. Contigo y Cueva de la Boca, respectivamente), divididos por sexo.

	Zo	Tatal	
Sexo	Urbana	Natural	Total
Machos	30	32	62
Hembras	0	44	44
Total	30	76	106

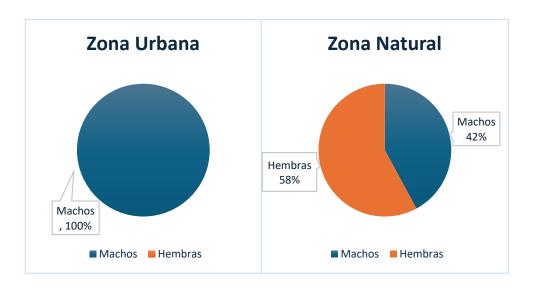


Figura 3. Porcentaje de la población de *T. brasiliensis* capturada durante el periodo de mayo-septiembre 2024 en ambas zonas de muestreo.

De la evaluación de las variables anatómicas de los ejemplares capturados de ambos sitios, se obtuvieron los siguientes resultados:

7.1.1 *PESO*

La Tabla 3 muestra el peso de los murciélagos estudiados en la cueva de La Boca y el edificio Nuevo León Contigo. El peso de los murciélagos resultó diferente (P < 0.05) entre los sitios muestreados, donde los animales de la cueva fueron más pesados.

Tabla 3. Comparación del peso en los murciélagos capturados en la cueva de La Boca y el edificio Nuevo León Contigo.

Sitio	Peso (g)
Cueva	11.47 ± 1.75
Edificio	10.73 ± 0.98
Valor P	0.032

7.1.2 ANTEBRAZO

La medida del antebrazo de los murciélagos mostrada en la Tabla 4, es similar entre los ejemplares de la cueva y del edificio (P > 0.05).

Tabla 4. Comparación de la medida del antebrazo en los murciélagos capturados en la cueva de La Boca y el edificio Nuevo León Contigo.

Sitio	Antebrazo (mm)
Cueva	43.29 ± 1.28
Edificio	42.81 ± 1.38
Valor P	0.088

7.1.3 CONDICIÓN REPRODUCTIVA HEMBRA

La condición reproductiva de las hembras en la cueva en su mayoría fue inactiva, con un total de 41 individuos. Sin embargo, no se mostró una diferencia significativa entre las medianas de los grupos (P > 0.05), como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Comparación de la condición reproductiva en las hembras capturadas en la cueva de La Boca.

Condición reproductiva	Meses (N)	Mediana
Inactiva	3	13.00
Preñada	3	1.00
Lactante	3	0.00
Valor P		0.061

7.1.4 CONDICIÓN REPRODUCTIVA MACHO

Todos los machos capturados en ambos sitios presentaron la misma condición reproductiva (inactiva), Tabla 6.

Tabla 6. Comparación de la condición reproductiva en los machos capturados en la cueva de La Boca y el edificio Nuevo León Contigo.

	Epidí	dimo	Testic	culos	
Sitio	Vacío	Lleno	Abdominales	Escrotados	
Cueva	76	76 0		0	
Edificio	30	0	30	0	

7.1.5 EDAD RELATIVA

Todos los murciélagos capturados en ambos sitios presentaron la misma edad relativa, Tabla 7.

Tabla 7. Comparación de la edad relativa en los murciélagos capturados en la cueva de La Boca y el edificio Nuevo León Contigo.

	Edad relativa	
Sitio	Juvenil	Adulto
Cueva	0	76
Edificio	0	30

7.2 DETECCIÓN MOLECULAR DE BACTERIAS EN SANGRE

De las 53 muestras analizadas por qPCR, 38 fueron provenientes de la cueva y 15 del edificio. Los resultados de frecuencia de la detección de las diversas bacterias patógenas se observan en la Tabla 8.

Tabla 8. Porcentajes de frecuencia de las bacterias en sangre en T. brasiliensis.

Población	Ehrlichia		Anap			Rickettsia		Bartonella		relia
	Positivos		Positivos		Positivos		Positivos		Positivos	
	%	TM	%	TM	%	TM	%	TM	%	TM
Cueva	37	14/38	18	7/38	0	0/38	0	0/38	0	0/38
Edificio	27	4/15	13	2/15	0	0/15	0	0/15	0	0/15

TM: Tamaño de muestra

7.3 IDENTIFICACIÓN FÚNGICA A PARTIR DE HECES FRESCAS

De los 106 individuos de *T. brasiliensis* capturados, sólo 78 evacuaron. 64 fueron provenientes de la Cueva de La Boca y 14 del edificio Nuevo León Contigo. Los resultados de la identificación de hongos y levaduras a partir del cultivo de guano fresco se describen en la Tabla 9.

Tabla 9. Porcentajes de frecuencia de hongos en guano fresco de T. brasiliensis en ambos sitios.

-	Pen	icillium	Cur	vularia	Asp	ergillus	A. n	iger	Веаг	ıveria	Trick	oderma	Can	dida
Población	Pos	sitivos	Pos	itivos	Po	sitivos	Pos	sitivos	Pos	itivos	Posi	tivos	Posit	ivos
	%	TM	%	TM	%	TM	%	TM	%	TM	%	TM	%	TM
Cueva	6	4/64	2	1/64	3	2/64	6	4/64	2	1/64	0	0/64	0	0/64
Edificio	14	2/14	0	0/14	7	1/14	0	0/14	0	0/14	7	1/14	7	1/14

TM: Tamaño de muestra

7.4 DETECCIÓN MOLECULAR EN HECES DE BACTERIAS (E. coli O157:H7, Salmonella spp., y L. monocytogenes) POR PCR PUNTO FINAL

Los resultados de la identificación de bacterias a partir del guano fresco se describen en la Tabla 10 y las figuras 4, 5 y 6. Se detectaron estos tres microorganismos en ambas zonas de muestreo.

Tabla 10. Porcentajes de frecuencia en la detección de *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp., y *L. monocytogenes* en guano de *T. brasiliensis*.

	Е.	coli	Salm	onella	L. mono	cytogenes
Población	Positivos		Posi	itivos	Positivos	
	%	TM	%	TM	%	TM
Cueva	31	20/64	42	27/64	11	7/64
Edificio	28	4/14	71	10/14	14	2/14

TM: Tamaño de muestra

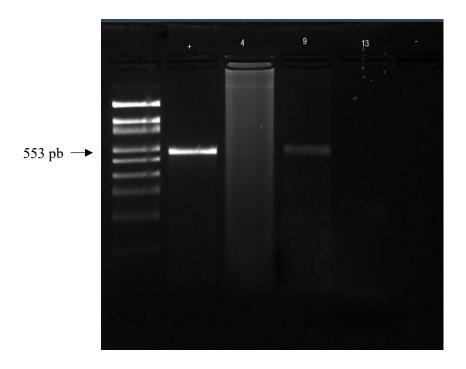


Figura 4. Resultados de la PCR para *E. coli* O157H:7. El marcador de peso molecular se encuentra en el primer carril del lado izquierdo, el segundo se refiere al control positivo y los carriles 3 a 5 corresponden a muestras, siendo la muestra 9 positiva. En el último carril está ubicado el control negativo.

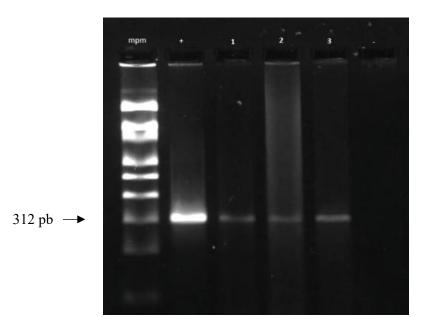


Figura 5. Resultados de la PCR para *Salmonella* spp., del cultivo de heces. El primer carril corresponde al marcador de peso molecular, el segundo carril se refiere al control positivo y los carriles numerados del 1 al 3 son muestras positivas. El último carril corresponde al control negativo.

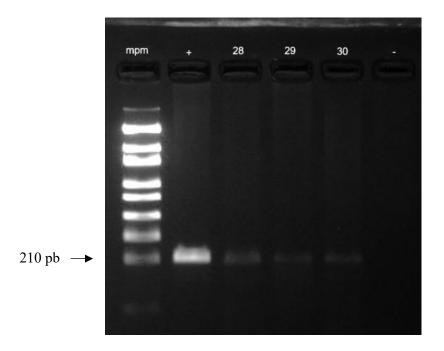


Figura 6. Resultados de la PCR para *L. monocytogenes* del cultivo de heces. De izquierda a derecha, el primer carril corresponde al marcador de peso molecular, el control positivo se posiciona en el segundo carril y los carriles numerados del 28 al 30 son muestras positivas. El último carril es el control negativo.

7.5 SECUENCIACIÓN DE SANGER POR ELECTROFORESIS CAPILAR

De acuerdo con los resultados de las muestras secuenciadas y analizadas por medio de la herramienta BLAST, se obtuvo una secuencia de ADN que fue identificada como *Escherichia coli* O157:H7 (TCAGTATAACGGCCACAGTCCCCAGTATCGCTGATA TATTATTAAAGGATATTCTCCCCACTCTGACACCATCCTCTCCCCGATACTCC GGAAGCACATTGCTGATTCGCCCCAGTTCAGAGGTGAGGTCCACGTCTCCCG GCGTCATCGTATACACAGGAGCAGTTTCAGACAGTGACGAGAATTCTCT CTGTATCTGCCTGAAGCGTAAGGCTTCTGCTGTGACAGTGACAAAACGCAGA ACTGCTCTGGATGCATCTCTGGTCATTGTATTACCACTGAACTCCATTAACGC CAGATATGATGAAAACCAGTGAGTGACGACTGATTTGCATTCCGGAACGTTCC AGCGCTGCGACACGTTGCAGAGTGGTATAACTGCTGTCCGTTGTCATGGAAA CCGTTGTCACACCGGGCACTGATATATGTGTAAAAATCTGAAAAACGGTAGA AAGTATTTGTTGCCGTATTAACGAACCCGGCCACATATAAATTATTTTGCTC AATAATCAGACGAAGATGGTCAAAAACGCGCCCTGATAG) (Figura 7), donde se mostró una coincidencia del 100% en la cobertura de la secuencia (*Query Cover*).

Escherichia coli O157:H7 strain PNUSAE146742 chromosome, complete genome	Escherichia coli	1002	1002	100%	0.0	100.00%	5460134	CP133124.1
Escherichia coli O145 stx2A and stx2B genes for shiga toxin 2 A-subunit and shiga toxin 2 B-subunit, comple.	Escherichia coli	1002	1002	100%	0.0	100.00%	1241	LC151936.1
Escherichia coli O145:H28 112648 DNA, complete genome	Escherichia coli	1002	2004	100%	0.0	100.00%	5488534	AP019706.1

Figura 7. Resultados del análisis de BLAST para la secuencia de Escherichia coli O157:H7.

La siguiente secuencia pertenece a *Salmonella enterica* subsp *salamae* (TAATTCGTTTCCGGGCGCGGCGTGGTGAAGCGAAGCATACATCAGTATGCG AGCTTTCCACAACAAGCACGGGAGAGAATTTGGTAGGCCTGAGTGGACTT GAACCACCGACCTCACCCTTATCAGGGGTGCGCTCTAACCACCTGAGCTACA AGCCTGTAGAGGTTTTACTGCTCGTTTCATCAGACAATCTGT) mostrándose una coincidencia del 100% en la cobertura de la secuencia (Figura 8).

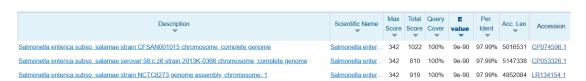


Figura 8. Resultados del análisis de BLAST para la secuencia de Salmonella enterica.

Del mismo modo, se identificó una secuencia de ADN como *Listeria monocytogenes* (AGCCATTCCATAAGGGAAAATTTAATTTTCATCCATGACGCACCACGCAGC ATCTCCGCCTGCAAGTCCTAAGACGCCAATCGAAAAGAAACAGT). En este caso, el alineamiento mostró una cobertura del 95%, siendo un porcentaje alto para la identificación de la especie (Figura 9).



Figura 9. Resultados del análisis de BLAST para la secuencia de Listeria monocytogenes.

7.6 SECUENCIACIÓN METAGENÓMICA PARA IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN HECES

Se detectaron un total de 627 bacterias en el análisis metagenómico de las muestras de heces, donde el rendimiento total de datos de secuenciación generados fue de 0.641 Gb. La longitud de lectura promedio fue de 2649.3 pb, con una mediana de 2702 pb, así como la longitud mínima observada fue de 81 pb y la máxima alcanzó los 37386 pb. La mayoría de las lecturas generadas se agruparon en el rango de 0 a 10 kb, con una media de calidad de 12.6 y mediana de 12.

De las bacterias identificadas, 129 coinciden en ambos sitios de muestreo, con números de lectura variados (Tabla 11), cabe destacar que solamente a 30 de estos microorganismos registrados, se les realizó análisis estadístico por medio de la prueba t-Student (Tabla 12), observando únicamente diferencias significativas en tres bacterias: *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella oxytoca y Lelliottia amnigena*, siendo mayor la presencia de estas en las muestras de guano obtenidas de murciélagos urbanos.

Mientras que, 498 especies de bacterias difieren en su presencia según la zona muestreada. De estas, 364 se encuentran en el guano proveniente de la cueva y 134 en el guano del edificio. Finalmente, en la Figura 10 se puede observar la abundancia relativa de los filos identificados en ambas zonas de muestreo. El resto de los microorganismos se encuentran en el Anexo 1.

Tabla 11. Bacterias identificadas en el análisis metagenómico que se encuentran presentes en ambos sitios de muestreo sin análisis estadístico.

Especie	Núm. L	ecturas	Espacia	Núm. L	ecturas
Especie -	Cueva	Edificio	- Especie -	Cueva	Edificio
Staphylococcus aureus	1324	2783	Citrobacter sp. RHB25-C09	20	660
Staphylococcus haemolyticus	29	44	Enterobacter bugandensis	36	5858
Staphylococcus hominis	9	10	Enterobacter chuandaensis	10	159
Staphylococcus pasteuri	388	478	Enterobacter huaxiensis	654	106
Staphylococcus petrasii	209	390	Enterobacter mori	379	525
Staphylococcus oseudintermedius	9	17	Enterobacter oligotrophicus	6	98
Staphylococcus saprophyticus	24	20	Enterobacter roggenkampii	47	824
Staphylococcus warneri	72	96	Enterobacter sp. 18A13	14	79
Enterococcus avium	125	124	Enterobacter sp. CP102 Enterobacter sp.	9	68
Enterococcus casseliflavus	2948	561	DTU_2021_1002640_1_SI_ PRY_ASU_LCPMC_013	12	68
Enterococcus cecorum	21	3054	Enterobacter sp. JUb54	29	132
Enterococcus dispar	12	23	Enterobacter sp. RHBSTW- 00994	5	104
Enterococcus durans	14	7	Enterobacter wuhouensis	9	46
Enterococcus gallinarum	428	11	Escherichia albertii	177	86
Enterococcus hirae	3	91	Escherichia fergusonii	145	95
Enterococcus innesii	11	39	Escherichia marmotae	140	42
Enterococcus montenegrensis	37	7	Escherichia sp. E4742	83	12
Enterococcus mundtii	15	9	Jejubacter calystegiae	5	24
Enterococcus sp. 7F3_DIV0205	5	8	Klebsiella quasipneumoniae	13	2418
Enterococcus sp. 9D6_DIV0238	84	1017	Klebsiella sp. BDA134-6	7	85
Enterococcus sp. CR-Ec1	52	11	Klebsiella sp. WP3-W18- ESBL-02	88	176
Enterococcus sp. DIV0849a	16	7	Kluyvera ascorbata	4856	470
Enterococcus sp. DIV2402	13	8	Kluyvera cryocrescens	8	136
Enterococcus sp. FDAARGOS_375	17	18	Kluyvera intermedia	6	126
Enterococcus sp. FZMF	24	17	Kosakonia cowanii	51	72
Enterococcus sp. LX10	261	649	Leclercia adecarboxylata	20	273
Enterococcus thailandicus	2698	114	Leclercia pneumoniae	106	4923
Enterococcus_uncultured	19	6	Lelliottia sp. JS-SCA-14	13	34
Lactiplantibacillus plantarum	31	11	Pluralibacter gergoviae	8	46
Weissella cibaria	2	360	Pseudescherichia vulneris	7	76
actococcus formosensis	217	16	Pseudocitrobacter corydidari	11	4031
actococcus garvieae	649	82	Raoultella planticola	13	55
actococcus lactis	253	109	Raoultella sp. HC6	40	52
actococcus petauri	2449	96	Raoultella terrigena	34	37
actococcus sp. LG606	232	14	Salmonella bongori	7	124
Enterocloster bolteae	68	11	Shigella flexneri	385	37
Spiroplasma endosymbiont of Amphimallon solstitiale	16	12	Trabulsiella odontotermitis	10	63
Spiroplasma endosymbiont of Colias croceus	46	26	Hafnia alvei	18	10

Spiroplasma endosymbiont of Dasysyrphus albostriatus	31	33	Hafnia paralvei	757	21
Spiroplasma endosymbiont of Tricholauxania praeusta	28	17	Proteus terrae	5	9
Spiroplasma endosymbiont of Villa modesta	38	29	Providencia rettgeri	360	38
Spiroplasma ixodetis	22	9	Providencia stuartii	54	21
Atlantibacter subterranea	5	80	Serratia marcescens	45	7362
Cedecea neteri	15	130	Serratia proteamaculans	13	62
Citrobacter amalonaticus	84	1278	Serratia symbiotica	13	36
Citrobacter enshiensis	10	104	Yersinia pestis	320	26
Citrobacter farmeri	182	162	Haemophilus parainfluenzae	62	74
Citrobacter freundii complex sp. CFNIH2	12	86	Otariodibacter oris	15	6
Citrobacter rodentium	9	483			
Citrobacter sedlakii	14	24868			
Citrobacter sp. R56	4	167			

No se realizó análisis estadístico en 99 especies de bacterias debido a las limitaciones en cada barcode, ya que se analizaron por esta técnica únicamente 6 muestras y era necesario que cada especie estuviera presente en por lo menos dos barcodes de cada zona de muestreo.

Tabla 12. Comparación de bacterias identificadas en el análisis metagenómico en ambos sitios de muestreo.

Especie –	Núm. de lecturas		Valor P
	Cueva	Edificio	– valoi P
Staphylococcus epidermidis	3580 ± 6129	4540 ± 6359	0.876
Staphylococcus simulans	27.0 ± 24.0	32.50 ± 2.12	0.778
Enterococcus faecalis	3228 ± 3856	24514 ± 20954	0.159
Enterococcus faecium	51.5 ± 61.5	32.0 ± 35.4	0.735
Enterococcus raffinosus	74.5 ± 68.6	27.5 ± 26.2	0.461
Enterococcus sp. 9E7_DIV0242	97 ± 125	21.00 ± 4.24	0.484
Enterococcus wangshanyuanii	1349 ± 1860	53.5 ± 16.3	0.428
Citrobacter braakii	38.5 ± 34.6	357 ± 480	0.449
Citrobacter freundii	76.0 ± 78.2	722 ± 1175	0.396
Citrobacter koseri	27.5 ± 33.2	165 ± 174	0.387
Citrobacter portucalensis	36.0 ± 26.9	163 ± 235	0.522
Cronobacter sakazakii	27.0 ± 35.4	50.5 ± 58.7	0.676
Enterobacter asburiae	25.0 ± 37.3	1607 ± 1739	0.183
Enterobacter cancerogenus	108 ± 119	264 ± 298	0.546
Enterobacter cloacae	42.0 ± 42.4	804 ± 649	0.239
Enterobacter cloacae complex sp.	14.7 ± 11.0	33778 ± 47523	0.270
Enterobacter hormaechei	957 ± 1601	4173 ± 3661	0.236

Enterobacter kobei	249 ± 365	204 ± 100	0.882
Enterobacter ludwigii	315 ± 415	195 ± 132	0.735
Escherichia coli	5895 ± 9831	2054 ± 2241	0.545
Klebsiella aerogenes	28.0 ± 26.1	319.0 ± 2.83	0.001*
Klebsiella michiganensis	29.0 ± 18.5	472 ± 491	0.186
Klebsiella oxytoca	16.33 ± 8.62	282.5 ± 74.2	0.007*
Klebsiella pneumoniae	133 ± 114	6008 ± 8563	0.300
Klebsiella variicola	18.5 ± 0.70	19502 ± 27460	0.421
Lelliottia amnigena	7.00 ± 2.83	43.50 ± 6.36	0.018*
Salmonella enterica	373 ± 534	947 ± 977	0.443
Pantoea agglomerans	18.00 ± 4.24	27.0 ± 12.7	0.443
Morganella morganii	6004 ± 6315	7753 ± 13405	0.848
Proteus mirabilis	62.0 ± 59.4	5746 ± 6276	0.329

La variable es mostrada como promedio ± desviación estándar.

^{*} significancia estadística (P < 0.05)

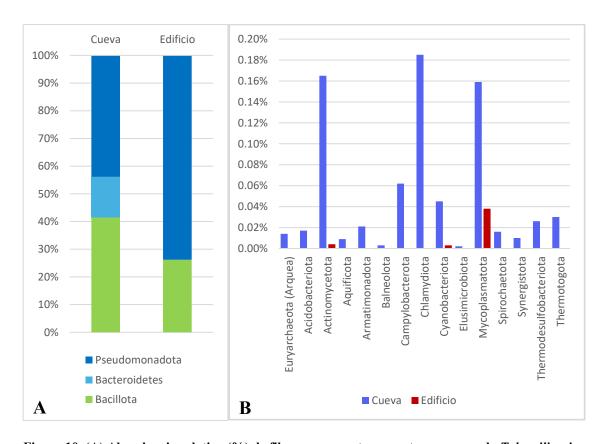


Figura 10. (A) Abundancia relativa (%) de filos mayormente presentes en guano de *T. brasiliensis* en ambos sitios de muestreo. (B) Abundancia relativa (%) de bacterias presentes en menor medida en guano de *T. brasiliensis* muestreado en ambos sitios del estudio.

8. DISCUSIÓN

Los murciélagos son un grupo de mamíferos que contiene una gran cantidad de especies, habitando todos los continentes excepto la Antártida, donde muchas se han sabido adaptar a las áreas urbanas, especialmente las especies insectívoras de tamaño pequeño, con altas tasas de reproducción y flexibilidad en la elección de refugios, los cuales se cree tienen una mayor ventaja en estos entornos por sobre las especies con mayor tamaño (Kingston & Voigt, 2016; Wolf et al., 2022).

En murciélagos, la longitud del antebrazo es un parámetro comúnmente utilizado para indicar el tamaño corporal, así como para la identificación de las especies de murciélagos, ya que es un parámetro menos variable que el peso, además, se han clasificado diferentes especies de insectívoros de acuerdo con la longitud del antebrazo en pequeño (28 - 42 mm), mediano (42 - 57 mm) y grande (57 - 80 mm) (Brasileiro et al., 2022). En algunas especies de murciélagos, se ha observado que dicha longitud es menor en aquellas que toleran mejor las zonas urbanas, donde también se percibe un mayor peso, como lo han indicado diversos estudios (Jung & Kalko, 2011; Jung & Threlfall; 2018). Lo hallado en el presente estudio, concuerda con lo antes mencionado, ya que se muestra un menor tamaño de antebrazo en la zona urbana en comparación con aquellos provenientes de la cueva, sin embargo, esta diferencia no llega a ser notablemente elevada a pesar de tener mayor variedad de peso, lo que puede deberse a que la longitud del antebrazo no parece ser un buen indicador del peso dentro de la misma especie de murciélago, ya que un trabajo publicado por McGuire y colaboradores (2018), menciona el estudio de la correlación de la medida del antebrazo (mm) y la masa corporal (g) de 5 especies de murciélagos, entre ellos *T. brasiliensis*, donde la variación intraespecífica en la masa corporal fue sólo del ≤ 8%, indicando que la longitud del antebrazo no es un buen predictor de dicha variación. Los resultados obtenidos en el peso (g) de los murciélagos, nos indica que los animales capturados de la cueva tienen un mayor peso en comparación con los del edificio. Esto parece diferir con la literatura, ya que las especies pequeñas están relacionadas con una mejor adaptación en espacios urbanos (Wolf et al., 2022), mientras que las especies más grandes como el nóctulo común (Nyctalus noctula), pueden mostrar una menor adaptabilidad, observado en la disminución de las tasas de captura de insectos (Stidsholt

et al., 2023). Además, las alteraciones en los hábitats naturales con la expansión de las ciudades traen consecuencias en la abundancia y diversidad de especies, y los murciélagos no están exentos de esta situación. Un ejemplo son los molósidos, que dentro de esta familia se encuentra T. brasiliensis, la cual es conocida como una especie "explotadora" del medio urbano, donde aprovechan la luz artificial de las ciudades para alimentarse de los insectos atraídos por ella (Jung & Kalko, 2011; Russo & Ancillotto, 2014; Dwyer et al., 2024). Asimismo, este murciélago es bien conocido por su adaptación a ciudades grandes como la Ciudad de México, ya que pueden cubrir largas distancias para alimentarse, utilizando parques grandes y áreas iluminadas principalmente (Ávila-Flores & Fenton, 2005). No obstante, el vuelo y la ecolocalización podrían ser factores que pueden influir en la alimentación de los molósidos en las ciudades, al presentar alas largas y estrechas, lo que permite sostener un vuelo rápido, alto y recto, pero poco maniobrable, así como las llamadas largas de baja frecuencia para detectar presas grandes (Fenton, 1990; Wolf et al., 2022). La disponibilidad de alimento en las ciudades se debe tomar en cuenta, ya que se ha observado una escases de insectos en áreas urbanas, debido principalmente a la pérdida de vegetación nativa, aumento de la densidad poblacional humana y la luz artificial, generando la disminución de insectos nocturnos importantes para la alimentación de los murciélagos como las polillas, trayendo como consecuencia una disminución en la masa corporal del animal, aunque dentro de las ciudades, existen fuentes predecibles de alimento al concentrarse en zonas específicas como los parques (Avila-Flores & Fenton, 2005; Russo & Ancillotto; 2015; Merckx & Van Dyck, 2019). Aunque la zona donde fueron capturados y muestreados los murciélagos del edificio se encuentra altamente urbanizada, ya que contiene a su alrededor parques residenciales, un centro deportivo y un estadio, lo que puede ser suficiente para la alimentación de dichos individuos, al momento del muestreo, la mayoría presentaban heridas lacerantes que pudieran afectar su capacidad de vuelo en búsqueda de alimento.

Cabe destacar que sólo se encontraron hembras en la cueva y en cuanto a la condición reproductiva de estas, mostrado en la Tabla 5, la mayoría (93.18%) se encontraban de forma inactiva, es decir, no presentaban características indicativas de preñez o lactancia y solamente tres hembras se consideraron como preñadas (6.81%). Tomando en cuenta que la primera salida se realizó en mayo, las hembras preñadas que se capturaron fueron

durante dicha salida, por lo que coincide con su ciclo biológico en esta parte del continente, como lo reportado por Sommers y colaboradores (2019) en el estado de Texas en Estados Unidos, donde en su estudio las hembras analizadas en abril y que fue posible detectar un feto, las consideraban preñez temprana, mientras que, a partir del 24-25 de mayo, se consideraban preñadas tardías. En cuanto a hembras lactantes, estas no fueron detectadas durante los muestreos realizados en la cueva, lo que parece ser debido a que la lactancia ocurre a mediados de junio y termina, con un promedio de 54 días, a principios de agosto, seguido del periodo de post lactancia que inicia en el verano tardío (Reichard et al., 2009). Los muestreos se realizaron en la segunda mitad de agosto y septiembre, tomándose en cuenta sólo la presencia o ausencia de leche, sin considerar el periodo post lactancia, donde se distingue por la presencia de una zona desnuda alrededor del pezón o con pelo nuevo creciendo, viéndose más corto y delgado, el cual fue clasificado como de "inactividad" en nuestro caso, aunque distintos autores lo consideran como una clasificación aparte, (Sommers et al., 2019; Danielson et al., 2022), explicando el incremento de hembras inactivas y, aunque no haya una diferencia significativa (Tabla 5), se observa una gran cantidad de ellas en la época del año que ocurrieron los muestreos. Con respecto a la condición reproductiva en machos en ambas zonas (Tabla 6), los ejemplares de T. brasiliensis presentaron el epidídimo vacío (representado el 100%), asimismo, los testículos se ubicaron de forma abdominal para todos los individuos muestreados. De la misma manera, Danielson y colaboradores (2022), reportan un 99.99% de machos adultos no reproductivos. Esto coincide con lo reportado por Krutzsch, et al., en 2002, donde se menciona que en el hemisferio norte para esta especie, los testículos en los meses de mayo a agosto presentan un tamaño disminuido, así como el epidídimo vacío, debido a la ausencia de espermatozoides desde mediados de abril hasta principios de enero, reflejando el ciclo espermático de dicha especie y, debido a que las capturas realizadas en el presente trabajo fueron a partir de mediados de mayo hasta septiembre, lo que la ausencia de machos activos sexualmente es evidente.

La edad relativa se puede clasificar y determinar a partir de diferentes métodos y referencias, pero la más común es evaluando el grado de osificación entre las articulaciones de metacarpos y falanges a contraluz (Brunet-Rossinni & Wilkinson, 2009). Los animales capturados fueron adultos en su totalidad, debido a que sólo se consideraron

estos para el estudio, por lo que existe el contraste con lo publicado por diversos autores, donde el aumento de captura de murciélagos juveniles comienza en agosto y tiene su pico antes de la migración en septiembre (Kunz et al., 1995; Reichard et al., 2009; Danielson et al., 2022).

A pesar de la importancia que tienen los murciélagos como reservorios u hospederos de diversos agentes zoonóticos, estudios relacionados con la presencia de bacterias en quirópteros son menos frecuentes en comparación con los virus (Szentivanyi et al., 2023). En la detección de patógenos en sangre, solamente se detectaron las bacterias Ehrlichia spp., y Anaplasma spp., en ambos sitios del muestreo. De manera general fueron 18/53 muestras positivas a Ehrlichia spp., (34%), mientras que 9/53 a Anaplasma spp., (17%). En la cueva, 14/38 (37%) fueron positivas a Ehrlichia spp., y 7/38 (18%) a Anaplasma spp. En el edificio, se hallaron 4/15 (27%) positivas a Ehrlichia spp., y 2/15 (13%) a Anaplasma spp. Actualmente estudios para la detección de agentes de la familia Anaplasmataceae son escasos, aunque recientemente están en aumento, como lo reportado por De Mello y colaboradores (2024), quienes detectaron Ehrlichia spp., en especies hematófagas de murciélagos como Desmodus rotundus y Diaemus youngii en la zona del noroeste de Brasil, con una presencia relativamente baja del 3% (7/229) en comparación con el presente estudio. Asimismo, Ikeda y colaboradores (2021), detectaron Ehrlichia spp., en 50 de 418 muestras (11.96%), siendo el 20% (10/50) de estas a partir de sangre de murciélagos no hematófagos (Artibeus planirostris, Phyllostomus discolor y Eptesicus furinalis). En dicho estudio se emplearon técnicas de PCR convencional basados en los genes dsb y qPCR utilizando el gen groEL para la amplificación de Ehrlichia spp. Cuando se habla de estudios en fauna silvestre, se debe considerar que los animales probablemente albergan ADN de especies genéticamente diversas de los patógenos de estudio, como Ehrlichia spp., o Anaplasma spp., donde el gen 16S ARNr se encuentra más conservado y es posible detectarlo a pesar de dichas diferencias (Ikeda et al., 2021).

Adicionalmente, otros autores reportan la presencia de *Ehrlichia* spp., y *Anaplasma* spp., en ectoparásitos de murciélagos como son: las garrapatas duras y blandas, los ácaros, las pulgas y la mosca del murciélago, donde tienen un posible papel como vectores de dichos patógenos zoonóticos (Socolovschi et al., 2012; Hornok et al., 2019; Ikeda et al., 2021; Vlaschenko et al., 2022). Sin embargo, en el presente estudio no se encontraron

ectoparásitos visibles, no obstante, esto no quiere decir que se descarta la posibilidad de que estuviesen parasitados. El tipo de muestreo que se realizó en el área con los especímenes vivos, limitaron su inspección. Por ejemplo, las fases adultas de ácaros comúnmente encontrados en el murciélago guanero como Chiroptonyssus robustipes, se encuentran mayormente en las zonas del torso y la cabeza (Spears et al., 1999), por lo que su visualización entre la densidad del pelo se pierde. Además, se ha observado que distintas especies de ectoparásitos utilizan temporalmente al hospedador, pudiendo parasitar solo durante la fase adulta, otras sólo parasitan para alimentarse, descendiendo del animal ya una vez alimentadas y otros parásitos abandonan el cuerpo del murciélago por completo o se trasladan a un sitio anatómico donde es menos probable que se desprendan cuando el animal se prepara para el vuelo nocturno (Hutson, 1972; Spears et al., 1999). Sumado a esto, los hábitos del hospedero también deben considerarse, por ejemplo; los murciélagos tienen diferentes conductas sociales, incluyendo el auto acicalamiento y el acicalamiento colectivo (rascar o lamer), lo que influye en la densidad de ectoparásitos en estos (Ter Hofstede & Fenton, 2005; Kerth, 2008; Ramanantsalama et al., 2018).

En cuanto a *Anaplasma* spp., los resultados obtenidos muestran una baja ocurrencia de dicho patógeno en ambos sitios de muestreo, similar a lo mostrado en diversos estudios, como el de Afonso y Goydadin en 2018, en el que reportaron la presencia de *Anaplasma phagocytophilum* en el 22.7% (63/278) de las muestras analizadas en el murciélago de herradura menor (*Rhinolophus hipposideros*), a partir de muestras de guano en Francia analizadas por PCR convencional a partir del gen msp2. De Mello y colaboradores (2024), mostraron una presencia del 5.24% (12/229) en muestras de bazo tomadas de murciélagos hematófagos en Brasil. En México, los estudios dirigidos a *Anaplasma* spp., se enfocan principalmente en la detección de *A. marginale*, que afecta en gran medida al ganado bovino y su prevalencia se estima mayor al 50% en las regiones tropicales y subtropicales (Ferreira et al., 2022). En fauna peridoméstica se han realizado estudios referentes a agentes Rickettsiales, como el de Rojero-Vázquez y colaboradores (2017), donde identificaron *Anaplasma phagocytophilum* en zarigüeyas (*Didelphis marsupialis*, *Didelphis virginiana*) en el sureste del país, con una ocurrencia del 3% (3/102) a partir de muestras sanguíneas, exponiendo la presencia de este tipo de agentes circulando en fauna

silvestre. Por lo anterior, se puede inferir que *Anaplasma* spp., no es un patógeno abundante en las diferentes especies de murciélagos y ectoparásitos asociados, que, aunque pueden ser susceptibles a la infección por dicho patógeno, probablemente mantengan un rol subordinado en la transmisión de este microorganismo. Sin embargo, se requieren mayores estudios para la detección y monitoreo de estos patógenos, con el fin de comprender el ciclo de estos en la región. Asimismo, el presente proyecto, es el primero que confirma la presencia de *Ehrlichia* spp., y *Anaplasma* spp., en el murciélago guanero en la zona norte de México.

Por otro lado, la ausencia de *Bartonella* spp., *Borrelia* spp., y *Rickettsia* spp., puede deberse a diversas causas, por ejemplo, la dinámica de la bacteriemia influye en la detección por medio de técnicas moleculares como qPCR, debido a la presentación del patógeno de forma intermitente en sangre, siendo estos periodos de variable duración y no son coherentes con la dinámica ni la gravedad de los signos, como sucede con *Rickettsia* spp., y *Bartonella* spp., (Levin et al., 2016; Deng et al., 2018). Sumado a esto, el tipo de muestra de igual forma pudo haber afectado en los resultados, ya que las especies de *Rickettsia* spp., generalmente invaden células endoteliales, mientras que *Borrelia* spp., es una bacteria extracelular que se encuentra principalmente en tejidos y muy pocas veces puede ser detectada en sangre (Levin et al., 2016; John & Taege, 2019). Sin embargo, se eligió dicha técnica y muestras al ser poco invasivas, no requirieron anestesia ni eutanasia, además que las muestras en las tarjetas FTA mantienen la integridad del ADN, con alta recuperación de este y la qPCR es altamente sensible y puede detectar el ADN blanco en bajas concentraciones (Clark & Hartman, 2024).

En cuanto al análisis metagenómico de las muestras de sangre, no se pudo realizar la identificación de ningún microorganismo, incluso de los ya detectados por la qPCR. Esto debido a la naturaleza de la muestra y la sobreabundancia del ADN del huésped, donde la gran mayoría de las lecturas de secuenciación se alinearon con el genoma de este, lo que pudo haber ocultado las señales de los microorganismos al utilizar esta técnica de secuenciación (Shi et al., 2022).

El guano de murciélago es considerado un sustrato adecuado para el crecimiento y proliferación de agentes fúngicos, ya que es rico en nutrientes, nitrógeno y carbono, por lo que ayuda en el estudio de la composición de la microbiota del animal, así como del

ambiente donde se encuentra comúnmente, que son las cuevas (Ogórek et al. 2016). Se detectaron 19 muestras en total con crecimiento fúngico y se identificaron los siguientes hongos y una levadura: Penicillium spp., Curvularia spp., Aspergillus spp., Aspergillus niger, Beauveria spp., Trichoderma spp., y Candida spp. Diversas especies de hongos se han aislado tanto de guano fresco como no-fresco, donde factores como el ambiente, humedad, dieta del murciélago y temperatura, pueden influir en el aislamiento fúngico (Cunha et al., 2020). Cabe destacar que cuando se realizó la colecta, los especímenes se colocaron en bolsas de tela como se describe en materiales y métodos, donde se mantuvieron expuestas al ambiente, por lo que, aunque algunos de los microrganismos aislados son parte de la micobiota intestinal de los murciélagos, no se descarta la presencia de hongos ambientales adquiridos durante el muestreo. Por lo tanto, los hongos aislados representan una combinación potencial de microbiota intestinal y ambiental. Asimismo, muchos hongos requieren condiciones específicas para su crecimiento en condiciones artificiales, por lo que esto también puede afectar en la variedad de hongos cultivados. Los hallazgos en los cultivos fueron principalmente de Penicillium spp., presentándose en un 7.69% (6/78), Aspergillus spp., con 3.84% (3/78) así como Aspergillus niger con 5.12% (4/78). El hongo filamentoso *Penicillium* spp., es uno de los más comunes encontrados en el guano del murciélago. Ogórek y colaboradores (2016), aislaron diferentes hongos a partir de muestras de guano en dos cuevas distintas en Eslovaquia, donde encontraron principalmente especies de Aspergillus spp., y Penicillium spp. Adicionalmente, diversas especies de estos hongos filamentosos han sido también aisladas de muestras de aire, suelo y agua dentro de cuevas, teniendo una presencia predominante (Zhang et al., 2017; Cunha et al., 2020; Wasti et al., 2021). Estos son muy comunes con una distribución mundial, encontrándose en distintos ambientes y seres vivos al diseminar sus conidias (Visagie et al., 2014; Fang & Latgé, 2018). Otros hongos aislados en menor cantidad fueron Beauveria spp., (1/78) representando el 1.28%, así como Curvularia spp., (1/78), únicamente aislados en la zona de la cueva. Beauveria spp., es un género de hongos entomopatógenos que se han registrado en cuevas de diferentes zonas geográficas (Vanderwolf et al., 2013; Cunha et al., 2020; Dominguez-Moñino et al., 2021). Su hallazgo en muestras de cuevas se debe principalmente a la utilización de insectos como fuente de nutrientes (Vanderwolf et al., 2013). Curvularia spp., es un hongo encontrado en suelos, plantas y aire, este se ha identificado en murciélagos cavernarios, por lo que su hallazgo puede tener origen ambiental donde las condiciones de temperatura y humedad facilitan su formación (Cunha et al., 2020).

Trichoderma spp., se detectó en el 1.28% (1/78) de las muestras de guano fresco, así como Candida spp., (1/78), ambas detectadas en muestras provenientes del edificio. En un estudio realizado por Wasti et al., 2021 se aislaron varias especies de Trichoderma tanto en murciélagos, como en guano y cuevas. Cabe resaltar que especies de Trichoderma spp., se conocen como controles biológicos de organismos causantes de enfermedades en plantas y contra nemátodos (Yao et al., 2023). Diferentes especies del género Candida han sido aisladas de muestras relacionadas con murciélagos, como es el caso de Cunha y colaboradores (2020) donde aislaron a Candida spp., a partir de muestras orales, de las alas y pelo de murciélagos, aunque no se aisló de muestras de guano. Un estudio realizado por Ulloa y colaboradores (2006) identificó varias especies de Candida spp., en guano y contenido intestinal de murciélagos en cuevas de Guerrero, México, donde detectaron especies como Candida albicans y Candida ciferrii, las cuales se consideran oportunistas y generan infecciones en humanos inmunosuprimidos (Gunsilius et al., 2001; Talapko et al., 2021).

Las investigaciones relacionadas con el estudio de la microbiota del guano, se centran en muestras frescas o pilas de guano provenientes de diferentes lugares, presentándose resultados variados donde factores ambientales, la dieta del hospedador, su filogenia y la distribución en distintas zonas geográficas, influyen en dicha microbiota, resaltando la escasa información sobre la diversidad bacteriana en el guano de murciélagos que habitan áreas urbanas (Ley et al., 2008; Phillips et al., 2012; Gerbáčová et al., 2020; Dimkić et al., 2021).

Dentro de la amplia variedad de bacterias identificadas en el análisis metagenómico, las de mayor dominancia en las lecturas fueron aquellas pertenecientes a los filos Pseudomonadota y Bacillota (Firmicutes), similar a lo reportado en estudios de la microbiota intestinal y de guano en murciélagos insectívoros, debido a su gran capacidad de descomponer la quitina, un polisacárido presente en el exoesqueleto de diversos insectos (Phillips et al., 2012; Li et al., 2018; Arellano-Hernández et al., 2024; Morni et al., 2025). En los resultados obtenidos, la familia Enterobacteriaceae, perteneciente al filo

Pseudomonadota, fue la más predominante (27. 50%). Las bacterias que tuvieron una mayor presencia significativa en el edificio pertenecen a dicha familia, la cual se comprende de bacterias gramnegativas, anaerobias facultativas del intestino de una amplia variedad de mamíferos, habitando de forma natural, incluidos los murciélagos, así como en agua y suelos. Los resultados del presente estudio muestran una diferencia significativa (P= 0.001), en la presencia de la bacteria Klebsiella aerogenes, resaltando su mayor abundancia en las muestras de guano tomadas de murciélagos que habitaban el edificio. Este género de bacteria es resistente, ya que puede prosperar en condiciones adversas, además se encuentra de forma constante en el tracto gastrointestinal de murciélagos y medio ambiente. La especie K. aerogenes se ha reportado en diversas especies de murciélagos frugívoros, asociado a su dieta rica en azúcares fermentables, ya que este microorganismo bajo determinadas condiciones puede fermentar glucosa, sacarosa y otros compuestos azucarados (Cláudio et al., 2018; Sens-Junior et al., 2018). Sin embargo, el hallazgo de esta bacteria no parece estar determinado por la alimentación del hospedero, ya que se ha reportado en gran abundancia en murciélagos insectívoros a través de técnicas convencionales como cultivos y herramientas de secuenciación metagenómica (Huang et al., 2022). En los resultados obtenidos, la especie Klebsiella oxytoca está presente de forma más abundante en las muestras analizadas de guano en murciélagos urbanos (P= 0.007), en comparación con las de la zona de la cueva. Esta especie se ha detectado en el murciélago insectívoro nóctulo común (Nyctalus noctula), habitando una casa en Rusia (Popov et al., 2023). La identificación de estos microorganismos en las heces de murciélagos guaneros puede estar asociada a condiciones antropogénicas, principalmente aguas residuales. Da Silva y colaboradores (2024), identificaron a K. aerogenes y a K. oxytoca en lodos y aguas residuales tratadas, así como otras especies de Klebsiella spp., en bioaerosoles y efluentes, las cuales fueron aisladas por medio de cultivo en agar MacConkey y Microscan para identificación fenotípica, además de PCR para identificación genotípica, sugiriendo contaminación ambiental constante.

La bacteria *Lelliottia amnigena* es un bacilo gramnegativo anaerobio facultativo que infecta principalmente plantas, causando podredumbre blanda en tubérculos de la papa y la cebolla (Osei et al., 2022). En los resultados del presente estudio, dicha bacteria estuvo más presente en muestras de guano tomadas de murciélagos urbanos (*P*= 0.018). La

presencia de L. amnigena no es común en murciélagos, sugiriendo que el hallazgo de dicha bacteria tiene origen ambiental, pudiendo influir la propia naturaleza de las muestras al estar en contacto con el entorno. Esto se refuerza al ser una bacteria encontrada anteriormente en ambientes como lagos y suelos (Farmer et al., 1985), además, fue aislada de biopelículas superficiales en rocas y agua de cuevas en España, así como otros microorganismos relacionados con la presencia de contaminación ambiental en dichos sitios (Laiz et al., 1999; Martin-Pozas et al., 2023). Cabe destacar, se detectaron más bacterias en común en ambos sitios de muestreo, sin embargo, a la mayoría (99 bacterias, es decir, 76.74%) no fue posible realizar análisis estadístico debido a la limitación del número de muestras analizadas por la técnica metagenómica, aunque otras bacterias tuvieran un mayor número de lecturas que las mencionadas. Gran parte de estas bacterias se encuentran de forma constante en quirópteros a lo largo de todo el mundo, detectándose a partir de diferentes métodos como aislamiento en cultivos y secuenciación de alto rendimiento para genes de ARNr 16S, lo que podría sugerir que sean microorganismos prevalentes en el guano de los murciélagos, aún con los distintos hábitos de alimentación y regiones geográficas (Banskar et al., 2016, Li et al., 2018). Otros géneros encontrados en ambos sitios de muestreo de la familia Enterobacteriaceae (filo Pseudomonadota) fueron: Escherichia spp., Salmonella spp., Shigella spp., Citrobacter spp., y Enterobacter spp., que también han sido identificados en hisopados rectales de murciélagos insectívoros y frugívoros en Brasil (André et al., 2023), así como en muestras de guano de Myotis chiloensis en Chile (Núñez-Montero et al., 2021) y de intestino de Rhinolophus hipposideros en la India (Selvin et al., 2019). Estas bacterias se destacan por su importancia en la digestión, ayudando al correcto funcionamiento del sistema digestivo y están presentes en la mayoría de los mamíferos (André et al., 2023). En el presente trabajo se reporta la presencia de enterobacterias comunes como; Escherichia coli, Salmonella enterica, Shigella flexneri, Enterobacter cloacae, así como Citrobacter spp., siendo este un género bien distribuido en las muestras de ambos sitios. Estas se encuentran comúnmente en suelos, aguas residuales y el tracto gastrointestinal (Jabeen et al., 2023). Dentro de este filo, bacterias de la familia Morganellaceae fueron identificadas, incluyendo la especie Morganella morganii, la cual está presente en gran abundancia en distintas especies de murciélagos (Foti et al., 2021; Huang et al., 2022; Arellano-

Hernández et al., 2024). Adicionalmente, se identificaron a Proteus mirabilis y a Proteus terrae. Del género Providencia spp., a Providencia rettgeri y a Providencia stuartii (Gammaproteobacteria: Morganellaceae) en ambas poblaciones. Di Bella y colaboradores (2025), tuvieron una frecuencia de M. morganii del 9.3% (15/161), siendo esta una de las más encontradas en dicho estudio, así como P. mirabilis, con una ocurrencia del 2.5% (4/161) y Providencia rettgeri en el 6.2% de las muestras (10/161), en los murciélagos insectívoros: Miniopterus schreibersii, Rhinolophus ferrumequinum, Rhinolophus hipposideros y Myotis myotis, a partir de cultivos de hisopados rectales en Italia. Especies de Morganella spp, Proteus spp., y Providencia spp., son consideradas comunes en el intestino de humanos y animales, formando parte de la microbiota normal de estos, así como su encuentro habitual en suelos y fuentes de agua (Moya et al., 2001; Girlich et al., 2020; Barson & Antonara, 2017), sin embargo, en el caso de *Proteus terrae*, esta no es una especie comúnmente observada en el intestino de murciélagos, en comparación con Proteus mirabilis, aunque se puede encontrar en el intestino humano y de animales domésticos como aves de corral (Zheng et al., 2022), por lo que su origen puede tener factores ambientales, así como de colonización natural del intestino. Mientras que, ambas especies de Providencia spp., Providencia rettgeri y Providencia stuartii, se han detectado en murciélagos a partir de cultivos de hisopados orales y de guano (Fajri et al., 2018; Popov et al., 2023), estas bacterias están asociadas a insectos y son patogénicas para estos (Guerfali et al., 2018; Salas et al., 2023).

De igual forma, estuvieron presentes especies del género *Serratia* spp., (Gammaproteobacteria: Yersiniaceae), comúnmente encontradas de forma habitual en el intestino, agua, suelos y aire (Horinouchi et al., 2010). Se ha demostrado su relación cercana con una amplia gama de insectos, ya sea actuando de forma simbiótica o colonizando el intestino, como es el caso de *Serratia symbiotica*, o afectando como patógeno, ya sea por *Serratia marcescens* y/o *Serratia proteamaculans* (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012; Hurst et al., 2018; Renoz et al., 2018). Dentro de la familia Yersiniaceae, fue identificada la especie *Yersinia pestis* en el guano colectado de ambas zonas, con un mayor número de lecturas en los murciélagos de la cueva. El género *Yersinia* spp., se ha identificado en murciélagos de zoológicos y de vida libre como un agente patógeno, capaz de generar una infección que se presenta tanto de forma clínica o subclínica, llegando a

causar la muerte (Mühldorfer et al., 2010; Nakamura et al., 2013; Hughes et al., 2018). Sin embargo, cabe destacar que estas infecciones las causan las especies Yersinia pseudotuberculosis y Yersinia enterocolitica y, aunque Y. pestis no es común en murciélagos, se sabe que el principal vector es la pulga de la rata (Xenopsylla cheopis) (Chouikha & Hinnebusch, 2012), por lo que no se descarta la posibilidad de haber ingerido esta clase de ectoparásitos que pudieran infectar el intestino. En cuanto a la familia Pasteurellaceae, las especies Haemophilus parainfluenzae y Otariodibacter oris fueron también identificadas en las muestras de guano de ambos sitios, aunque con números de lecturas más bajos a diferencia del resto de bacterias mencionadas anteriormente (Anexo 1). La especie H. parainfluenzae es miembro habitual de la microbiota orofaríngea humana y se ha registrado en murciélagos (Henry et al., 2018), incluso en aquellos infectados por virus. Wasimuddin y colaboradores en 2018, reportaron quirópteros de la especie Artibeus jamaicensis infectados con astrovirus, donde grupos de bacterias similares a *Haemophilus* spp., se incrementaron en situaciones de disbiosis, lo que puede suponer la proliferación de coinfecciones. Por su parte, O. oris es una especie bacteriana principalmente encontrada en la cavidad oral de pinnípedos (Hansen et al., 2011) y no es común en murciélagos, por lo que se sugiere colonización transitoria.

Otras filos identificados en ambas zonas de muestreo fueron Bacillota, Mycoplasmatota, Actinomycetota y Cyanobacteriota. Un total de 25 especies del género *Enterococcus* fueron identificadas en ambos sitios de muestreo. Diversas bacterias de la familia Enterococcaceae actúan de forma simbiótica en distintas especies de insectos (Chen et al., 2022; Upfold et al., 2023), por lo que su lectura constante en la metagenómica puede tener origen dietario en los murciélagos guaneros, además de reportarse de manera frecuente en estudios de guano e intestino en estos (Li et al., 2018; Selvin et al., 2019; Huang et al., 2022; Lundberg & McFarlane, 2024). Asimismo, se detectaron distintas especies de *Staphylococcus* spp., así como del género *Lactococcus* spp., (Tabla 11 y 12), los cuales se encuentran de forma habitual en murciélagos de distintas especies (Attaullah et al., 2023; Carrillo-Gaeta et al., 2023; Di Bella et al., 2025). Además, otra especie identificada en murciélagos urbanos y de la cueva fue *Weissella cibaria* (Bacilli: Lactobacillaceae), que se encuentra de forma habitual en la microbiota intestinal de mamíferos y se ha demostrado que posee acción antibacteriana, antiinflamatoria y moduladora del sistema

inmune (Kim et al., 2020; Kang et al., 2023). Estas bacterias pertenecen al filo Bacillota, el cual es el segundo filo más abundante en este estudio (Anexo 1). Los Firmicutes están involucrados en la degradación de carbohidratos complejos y formación de ácidos grasos de cadena corta, que son necesarios para el mantenimiento normal del intestino en otros mamíferos, incluyendo los humanos (Hassan et al., 2022), por lo que de igual forma podrían tener un papel importante en la digestión de los alimentos en quirópteros.

Por otro lado, dentro del filo Mycoplasmatota, se identificaron especies de *Spiroplasma* spp., las cuales actúan de forma simbiótica en insectos (Tabla 11), tal ejemplo son las detectadas en coleópteros como *Amphimallon solstitiale* y lepidópteros como *Colias croceus*, comunes en la dieta de *T. brasiliensis* (Alurralde & Díaz, 2018).

Cabe destacar, la gran mayoría de las bacterias señaladas, a excepción de especies como Serratia symbiotica u Otariodibacter oris, consideradas agentes oportunistas capaces de generar enfermedad en animales o seres humanos, poniendo en riesgo principalmente a personas inmunocomprometidas (André et al., 2023). Por ejemplo, enterobacterias como E. coli, S. enterica y Shigella flexneri generan infecciones gastrointestinales graves dependiendo del serotipo implicado. Otras especies identificadas en las muestras, como Citrobacter koseri, genera meningitis neonatal grave, mientras que Citrobacter amalonaticus y Citrobacter freundii generan infecciones urinarias. Se ha informado que Citrobacter braakii es causante de bacteriemia al igual que C. amalonaticus y C. sedlakii (Palazzi et al., 2006; Lai et al., 2010; Zaghloul, 2014; Quan et al., 2018; Ullauri-González & Freire-Cuesta, 2019; Mueller & Tainter, 2023). La bacteria Lelliottia amnigena es capaz de generar enfermedad en humanos como infecciones en heridas, endolftalmitis, sepsis, colecistitis litiásica purulenta e infecciones respiratorias en personas inmunodeprimidas y, aunque es relativamente rara, puede generar complicaciones clínicas serias (Westerfeld et al., 2009; Nyangacha et al., 2017; Birlutiu et al., 2023; Raptis et al., 2025). La especie Staphylococcus aureus es otro patógeno relevante, que genera infecciones variadas en piel, sistema respiratorio, así como sepsis, osteomielitis y/o endocarditis. Por su parte, Staphylococcus simulans genera infección en animales domésticos, principalmente mastitis en bovinos, así como Staphylococcus pseudintermedius, que se ha identificado frecuentemente en casos de otitis externa y pioderma en perros (Shields et al., 2016; Lynch & Helbig, 2021; Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades [CDC], 2024). Diversas especies de *Enteroccocus* spp., están implicadas en infecciones del tracto urinario, bacteriemia o endocarditis, donde la especie *Enterococcus faecalis* es el agente causal más común en infecciones enterocócicas en humanos, llegando a abarcar entre el 80 y 90% de estas, seguido de *Enterococcus faecium* con una frecuencia del 5 al 10% (Perencevich & Perl, 2012). Asimismo, microorganismos como; *Staphylococcus epidermidis, Serratia marcescens, Klebsiella aerogenes, Klebsiella oxytoca* y *Enterobacter cloacae* son patógenos frecuentes en infecciones nosocomiales, generando brotes epidémicos en ambientes hospitalarios (Dossi et al., 2002; Grisold et al., 2009; Leitner et al., 2014; Davin-Regli & Pagè, 2015; Kleinschmidt et al., 2015; Herruzo et al., 2017; Gowripriya et al., 2024; Secretaría de Salud, 2024).

Sumado a esto, gran parte de dichos agentes bacterianos han mostrado en distintos estudios una resistencia creciente a una amplia gama de antibióticos, principalmente: penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, sulfonamidas, aminoglucósidos, tetraciclinas, fluoroquinolonas y polimixinas (Zárate et al., 2008; Leitner et al., 2014; Shields et al., 2016; Barson & Antonara, 2017; Cláudio et al., 2018; Sens-Junior et al., 2018; Girlich et al., 2020; Baron et al., 2021; Intra et al., 2023; Jabeen et al., 2023; Feng et al., 2024; Di Bella et al., 2025). Esto se considera un problema serio de salud pública, ya que dificulta los tratamientos convencionales y aumenta el riesgo de complicaciones, hospitalizaciones prolongadas y mortalidad, por lo que la detección de este tipo de bacterias resistentes en fauna silvestre es de suma preocupación, al suponer que existen genes de resistencia circulando entre ecosistemas, lo que facilitaría su expansión de forma local e incluso global (Hernando-Amado et al., 2019), donde los murciélagos podrían ayudar a la propagación de dichos patógenos a través del guano.

Por otra parte, la identificación de *E. coli* O157:H7 y *S. enterica* se pudo obtener en ambos métodos de detección molecular, mientras que *Listeria monocytogenes*, se logró detectar únicamente por PCR convencional seguida de secuenciación por Sanger, no pudiendo encontrarse en el análisis metagenómico. Esta diferencia puede atribuirse a varios factores metodológicos inherentes a cada técnica. Por un lado, la PCR convencional con primers específicos permite una detección altamente sensible y dirigida (Da Costa Lima et al., 2013). En contraste, la secuenciación metagenómica Oxford Nanopore MinION puede tener limitaciones al depender de la abundancia relativa de cada taxón presente en la

muestra, lo que puede llevar a una subrepresentación o incluso ausencia de detección de bacterias en baja concentración (Terrón-Camero et al., 2022). Las Tecnologías de Secuenciación de Nueva Generación, se han convertido en herramientas necesarias para generar información sobre la ecología de enfermedades, coevolución de huésped-bacteria, con la ventaja de no necesitar del diseño específico de primers para identificar una determinada secuencia (Lecuit & Eloit, 2014; Garg et al., 2023), aunque el uso de más de una técnica de identificación puede ampliar el panorama de detección de microorganismos, como lo ocurrido en el presente proyecto. Cabe resaltar que L. monocytogenes es una bacteria que afecta a personas, presentándose con variadas presentaciones que pueden ser graves, como la meningitis. Se encuentra en suelos, agua, tracto gastrointestinal y se ha aislado de diversos alimentos (Rogalla & Bomar, 2023), su detección en murciélagos no es tan común, aunque se ha observado infección similar a la humana en riñón y en hisopados rectales se ha detectado por técnicas de secuenciación metagenómica (Povolyaeva et al., 2020; André et al., 2023). Por tanto, los murciélagos muestreados en ambas zonas en el presente estudio podrían diseminar bacterias relacionadas con enfermedades alimentarias como E. coli O157:H7, Salmonella enterica y *L. monocytogenes* a través del guano.

Por otro lado, de las 627 especies de bacterias identificadas a través del análisis metagenómico, 498 (79.42%) difieren en ambos sitios de muestreo. De estas, 364 (73.09%) estuvieron presentes únicamente en las muestras de heces de la cueva, detectándose una mayor diversidad de agentes bacterianos en esta zona en comparación con el edificio, donde se hallaron 134 (26.90%) especies únicas. A pesar de que los ambientes urbanos suelen adjudicarse a una mayor diversidad bacteriana vinculada a actividades humanas, los resultados obtenidos se asocian a distintos factores que influyen en la composición bacteriana del guano, donde ambientes menos perturbados reflejan un microbioma más diverso en comparación con aquellos antropogénicos (Mohd-Yusof et al., 2022; Lobato-Bailón et al., 2023), además de la mayor abundancia y variedad de insectos en ambientes naturales, los cuales se ven afectados por la urbanización, reflejando el impacto de la alimentación en el microbioma intestinal y del guano en los murciélagos (Uhler et al., 2021). Esto podría significar que los murciélagos de áreas con menor impacto humano tienen una mejor salud general, aunque son necesarios más

estudios para asegurar la salud de los especímenes. Este tipo de estudios refuerzan la importancia de conocer los microambientes donde se desarrolla la fauna silvestre de la región, a modo de generar nuevas propuestas para su conservación.

Algunas especies encontradas únicamente en la cueva pertenecen al género Streptomyces (Actinomycetes: Streptomycetaceae), estas son bacterias saprófitas que se encuentran en suelos, agua, insectos y mamíferos, además se ha identificado una amplia variedad de actinobacterias en zonas cavernarias, proliferando a pesar del ambiente hostil de las cuevas, viéndose beneficiadas por las condiciones de temperatura, humedad, poca luminosidad y escasos nutrientes (Mpakosi et al., 2023). Además, tienen la capacidad de producir metabolitos que les confieren ventaja al competir con otros microorganismos, con acción antibacteriana, antifúngica e incluso con compuestos anticancerígenos (Ahmad et al., 2017). También se ha identificado Streptomyces spp., en murciélagos. En el estudio realizado por Hamm y colaboradores (2016), se determinaron 632 aislamientos de actinobacterias a partir de hisopados de piel y alas, exponiendo a diversas especies insectívoras, incluido T. brasiliensis, como reservorios de dichos microorganismos. Sin embargo, la gran diferencia de la abundancia de estos microorganismos en comparación con este estudio puede estar determinada en el tipo de muestra, ya que Streptomyces spp., se ve altamente relacionado al ambiente de la cueva y al estar la piel en mayor contacto con la superficie de esta, hay una alta concentración de dichas bacterias.

Dentro del filo Bacillota, en la zona de la cueva se identificaron las especies *Bacillus* spp., y *Clostridium* spp., las cuales se han encontrado en murciélagos de forma constante como parte de su microbiota comensal o contaminante ambiental. Especies de *Bacillus* spp., se encuentran en heces de murciélagos, incluyendo pilas de guano en cuevas y en zonas del cuerpo como; conjuntiva, cavidad oral y recto (De Leon et al., 2018; Newman et al., 2018; Foti et al., 2022; Di Bella et al., 2025). Por otro lado, un género común de este filo es *Clostridium* spp., el cual se ha reportado en guano fresco y en pilas de guano dentro de cuevas (De Leon et al., 2018; Newman et al., 2018; Vengust et al., 2018; Canata et al., 2024), aunque la presencia del género es variable ya que se ve aumentada por factores como es el tipo de alimentación (Lutz et al., 2019). Adicionalmente, *Bacillus* spp., y *Clostridium* spp., se encuentran de igual forma en el suelo, agua y vegetación, por lo que su adquisición puede estar ligada también a condiciones ambientales, donde la mayor

su crecimiento en cuevas (Janssen, 2006; Newman et al., 2018). Otro factor es la posibilidad de la adquisición de dichas bacterias a través de alimento contaminado, como se ha observado anteriormente con la presencia de Clostridium difficile en insectos en granjas (Burt et al., 2012), así como la detección de Bacillus spp., principalmente en animales herbívoros silvestres (Dong-Hyun et al., 2003), lo que podría significar el contacto de los murciélagos en zonas rurales cercanos a la cueva o cuerpos de agua que contengan estas bacterias, lo que explica por qué una sola muestra de la cueva presentó un gran número de lecturas para Clostridium botulinum (Anexo 1). Además, C. botulinum genera la enfermedad llamada botulismo en humanos y animales causada por la neurotoxina botulínica, provocando parálisis de músculos, dificultad para respirar e incluso la muerte (CDC, 2024). La especie Clostridium chauvoei causa la enfermedad de la pierna negra en ganado bovino, siendo esta una miositis altamente mortal (Garry, 2008). También se identificaron diversas especies pertenecientes al filo Bacteroidetes, el cual involucra principalmente bacterias anaerobias y, a diferencia de otros mamíferos, el intestino corto de los murciélagos no proporciona un ambiente adecuado para estas, viéndose reflejado en estudios de microbioma en quirópteros, que muestran una presencia menor en comparación de otros filos dominantes como Pseudomonadota (Li et al., 2018). Y, aunque en el presente estudio se identificaron 195 especies (31.10%) pertenecientes a este filo, su proporción es menor en el número de lecturas encontradas (Anexo 1). Dentro de los Bacteroidetes, el género Bacteroides fue el más diverso en especies, con más de 20 identificadas únicamente en la zona de la cueva, incluyendo Bacteroides fragilis, Bacteroides thetaiotaomicron, Bacteroides ovatus y Bacteroides uniformis. En menor medida, también se identificaron especies relacionadas dentro del género Parabacteroides spp. Estos géneros son ampliamente conocidos por su papel en el catabolismo de polisacáridos y se encuentran de forma abundante en el tracto gastrointestinal de diversos mamíferos, incluidos los humanos y se ha visto involucrada en el funcionamiento del sistema inmune intestinal del hospedero (Silva et al., 2014; Wexler, 2014; Kollarcikova et al., 2020; Deng et al., 2025). Similar a esto, se identificó el género Phocaeicola spp., incluyendo especies como; Phocaeicola vulgatus, Phocaeicola coprophilus, Phocaeicola dorei y Phocaeicola salanitronis. Estas bacterias

humedad, baja luminosidad y la disposición de nutrientes en el guano, pueden fomentar

anaerobias son comensales comunes en el intestino humano, así como de otros mamíferos y aves de corral (Lan et al., 2006; Evans et al., 2022, Dela-Rosa & Rivera, 2023). Sin embargo, aunque otros estudios indican que la presencia de este filo en murciélagos no está bien representada (Gaona et al., 2019; Bennett et al., 2025), análisis comparativos entre la microbiota del intestino y del guano de murciélagos sugieren un aumento de Bacteroidetes en heces, el cual puede tener una mayor riqueza bacteriana al conservar los microorganismos del alimento consumido (Ingala et al., 2018), por lo que el origen de estas bacterias en el guano podría estar relacionado directamente a esta causa, así como a través de fuentes de agua contaminada cercanas a la cueva.

Las bacterias anaerobias del género *Porphyromonas* spp., identificadas en las muestras de la cueva, se encuentran en diversos entornos, tanto en ambientes antropogénicos como en ambientes pristinos y también como comensales en la microbiota en animales como mamíferos domésticos y silvestres, animales acuáticos, artrópodos y aves (Acuña-Amador & Barloy-Hubler, 2020), por lo que su hallazgo puede estar relacionado con un ambiente diverso. Gran parte de las especies pertenecientes a este género pueden actuar a modo de patógenos oportunistas en humanos y animales, por ejemplo, Porphyromonas somerae se ha descrito en infecciones en ganado, la especie Porphyromonas cangingivalis está relacionada con periodontitis en perros y Porphyromonas gingivalis a la enfermedad periodontal en humanos y a patologías neurodegenerativas y diversos cánceres del sistema digestivo (Collins et al., 1994; Yano et al., 2009; Zhou & Luo, 2019; Huang et al., 2025). El posible efecto negativo específico en murciélagos no se conoce, sin embargo, un estudio realizado por Berman y colaboradores (2023), analizaron la microbiota intestinal de Rousettus aegyptiacus, donde utilizaron Lipopolisacárido (LPS) para activar la respuesta inmune aguda y midieron la proteína haptoglobina como indicador de inflamación. Los resultados mostraron un aumento de diversas bacterias con potencial patógeno en los murciélagos expuestos, incluido el género Porphyromonas, aunque el microbioma recuperó su composición pasadas 48 h, mostrando alta resiliencia, por lo que la presencia de este agente bacteriano no necesariamente indica un riesgo de enfermedad en estos animales.

En el género *Dysgonomonas* spp., se encuentran bacterias anaerobias facultativas que están distribuidas de forma abundante en insectos como mosquitos y termitas, actuando

de forma simbiótica (Bridges & Gage, 2020). Este género se ha reportado en muestras de guano fresco provenientes de murciélagos insectívoros de la especie *Myotis velifer*, que habitaban una cueva en el estado de Morelos (Arellano-Hernández et al., 2024). Este género de bacterias podría no ser común en ambientes antropogénicos, debido a la menor densidad de insectos en comparación con ambientes enriquecidos con una mayor variedad y densidad de artrópodos como son las cuevas. Otras bacterias dentro del filo Bacteroidetes, fueron de los géneros *Flavobacterium* spp., y *Chryseobacterium* spp., pertenecientes al orden Flavobacteriales. Se detectaron más de 10 especies de *Flavobacterium* spp., en el análisis metagenómico, incluyendo especies como *Flavobacterium album*, *Flavobacterium alkalisoli* y *Flavobacterium commune*. Mientras que de *Chryseobacterium* spp., se identificaron especies como: *Chryseobacterium arthrosphaerae*, *Chryseobacterium camelliae* y *Chryseobacterium gambrini*.

Estas bacterias aerobias se encuentran en diversos entornos, incluyendo agua, suelo, así como alimentos de origen animal y peces de vida libre o granjas (González et al., 2000; Ekwe & Kim, 2017).

El género *Flavobacterium* se ha identificado en piel de forma abundante, así como en córnea y conjuntiva, además de muestras de riñón en murciélagos, por lo que podrían ser bacterias comensales o colonizadoras oportunistas (Santos et al., 2013; Li et al., 2021; Kuang et al., 2025). Se ha detectado *Chryseobacterium* spp., en murciélagos frugívoros/nectarívoros de la especie *Pteropus hypomelanus* a partir de hisopados intestinales, donde en el estudio de Mohd-Yusof y colaboradores (2022), reportan un aumento de dicha bacteria en una de las islas muestreadas con menor perturbación humana y con una mejor calidad de la dieta, en comparación de las islas con más perturbación antropogénica, que llevó a una menor variedad y calidad de alimento con cambios en el microbioma.

En cuanto a la zona urbana muestreada, 134 (50.95%) de las 263 especies identificadas en este lugar, fueron exclusivas de dicha zona. La mayor parte de las bacterias pertenecen al filo Pseudomonadota y Bacillota, similar a lo encontrado en la cueva, aunque con abundancias distintas y una ausencia total de otros filos como Bacteroidetes (Figura 10), lo que podría indicar una alteración en la microbiota, como se ha reportado en sitios con mayor perturbación humana (Mohd-Yusof et al., 2022), por lo que los murciélagos del

edificio tienen una menor riqueza bacteriana al encontrarse en un ambiente más homogéneo, aunque se desconoce si estas alteraciones pueden afectar la salud de las poblaciones urbanas de quirópteros. Bacterias identificadas del género Cronobacter spp., se hicieron casi exclusivamente presentes en el edificio (Cronobacter condimenti, Cronobacter dublinensis. Cronobacter malonaticus, Cronobacter Cronobacter sp. JZ38), a excepción de la especie Cronobacter sakazakii, la cual se encontraba en ambas zonas de muestreo. Cronobacter spp., es una bacteria conocida por su tolerancia a condiciones de baja humedad y desecación, siendo común en entornos urbanos como superficies domésticas y una amplia variedad de alimentos secos, además de ser consideradas bacterias asociadas al medio ambiente (Negrete et al., 2018; Berthold-Pluta et al., 2024) y también se han detectado en gran cantidad en el intestino de insectos en áreas urbanas (Pava-Ripoll et al., 2012), por lo que su hallazgo tiene relación más ambiental. Citrobacter spp., se ha encontrado en murciélagos, incluyendo la especie C. sakazakii, que es la más común de este género y tiene importancia médica especialmente en neonatos (Ahmad & Guo, 2014; André et al., 2023; Brito et al., 2023; An et al., 2024). El género Kosakonia está relacionado principalmente con suelos y plantas, donde distintas especies de esta bacteria pueden promover su crecimiento (Berger et al., 2018). En este estudio se detectaron especies como; Kosakonia oryzae, Kosakonia pseudosacchari, Kosakonia radicincitans, Kosakonia sacchari, entre otras. La especie Kosakonia sp. CCTCC M2018092 se encontró solo en la cueva, pero con una abundancia muy baja (25 lecturas), lo que sugiere una presencia ocasional y no una colonización permanente, mientras que sólo la especie Kosakonia cowanii se encontró en ambos sitios. La obtención de estas bacterias en murciélagos urbanos podría estar relacionada con el contacto de plantas a través de insectos que sean más abundantes en la zona urbana. Por otro lado, la mayor abundancia de Kosakonia spp., podría indicar una condición de disbiosis. Morni y colaboradores (2025), estudiaron las comunidades microbianas intestinales de murciélagos en Borneo, a través del análisis de red de correlación, donde identificaron una correlación negativa entre el género probiótico Lactobacillus y otras bacterias, incluyendo Kosakonia, lo que sugirió una competencia por recursos y el desplazamiento de bacterias benéficas, como las probióticas. Por lo tanto, la presencia de Kosakonia spp., en el guano de murciélagos urbanos puede ser un indicativo de un microbioma afectado o estresado.

En esta zona urbana también se determinaron bacterias de la familia Erwiniaceae, siendo estas las especies *Erwinia persicina* y *Erwinia tracheiphila*, mientras que en la cueva solo se identificó *Erwinia tasmaniensis* con muy baja abundancia (7 lecturas). Estas especies son típicas de ambientes vegetales, algunas fitopatógenas y en casos muy específicos pueden generar enfermedad en humanos, como *E. persicina* que ha generado infección en un paciente con colangiocarcinoma perihiliar, así como del tracto urinario (O'Hara et al., 1998; Rojas et al., 2015; Ceylan & Özden, 2022). Su hallazgo no está muy relacionado con mamíferos, por lo que se sugiere que estas bacterias pudieron ser adquiridas por causas ambientales, por ejemplo, por insectos infectados. Algunas especies de escarabajos son reservorios de *E. tracheiphila* e infectan a las plantas al alimentarse de estas (Rojas et al., 2015), por lo que puede ser una forma de transmisión en la zona antropizada desde un ambiente vegetal cercano.

Dentro del filo Bacillota, se identificaron las bacterias *Vagococcus fluvialis* y *Vagococcus lutrae* únicamente en la zona del edificio. El género *Vagococcus* spp., pertenece a cocos anaerobios facultativos encontrados en una amplia variedad de medios, incluido el intestino de diversos animales domésticos: gallinas, cerdos, caballos, ganado; insectos, alimentos contaminados, ambientes acuáticos, suelos y fuentes humanas (Lebreton et al., 2013; Teixeira et al., 2014; Jiménez et al., 2022; Scruggs et al., 2024). *Vagococcus* spp., se ha reportado en murciélagos a partir de diferentes técnicas, incluyendo secuenciación del gen ARNr 16S, cultivo seguida de espectrometría de masas con desorción/ionización láser asistida por matriz o PCR (Cláudio et al., 2018; Qin et al., 2021; Arellano-Hernández et al., 2024), aunque su detección parece ser más ambiental, pudiendo estar principalmente relacionada con las fuentes de agua disponibles en murciélagos urbanos.

9. CONCLUSIONES

Los murciélagos son un grupo amplio de mamíferos y México es un país importante para estos, siendo el estado Nuevo León donde se encuentra la cueva de maternidad más sureña en el territorio, que alberga una de las especies de quirópteros (*Tadarida brasiliensis*) más importantes en la zona al brindar servicios ecológicos de control de plagas.

No obstante, acciones antropogénicas como la urbanización y uso de tierras, obligan a estos animales a formar poblaciones en zonas urbanas y, sumado a características únicas como longevidad, capacidad de vuelo, migración y ser reservorios de diversos patógenos, los convierte en un blanco de atención en el ámbito de salud pública y animal. Sin embargo, las investigaciones de este tipo en el país son limitadas. En este estudio, se detectó la presencia de *Ehrlichia* spp., y *Anaplasma* spp., en sangre, siendo este el primer reporte en *T. brasiliensis* en el país, demostrando la circulación de bacterias de la familia Anaplasmataceae en fauna silvestre de la región. Además, se detectaron diversos hongos y bacterias con potencial de generar infecciones oportunistas en el guano fresco de dicha especie. Adicionalmente, se observaron grupos de microorganismos distintos en ambos sitios de muestreo (cueva y edificio), sugiriendo interacciones variadas con su entorno que podrían influir en aspectos como la salud de las poblaciones locales de murciélagos.

Nuestros hallazgos refuerzan la idea de que el microbioma de los murciélagos está influenciado por el ambiente que les rodea. No obstante, aún es necesario comprender la relación entre el huésped y su microbiota, así como su posible riesgo de infección a humanos y animales domésticos.

10. PERSPECTIVA

El presente trabajo deja la oportunidad de mayores investigaciones que involucran la fauna silvestre de la región, sugiriendo un enfoque a los murciélagos. Tales investigaciones que involucren detección de agentes virales y mecanismos de inmunidad en las especies que habitan en la zona, continuar con el estudio de bacterias enfocado a genes de resistencia a antibióticos, así como ampliar las investigaciones a más especies de quirópteros y aumentar las áreas de muestreo.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña-Amador, L., & Barloy-Hubler, F. (2020). *Porphyromonas* spp. have an extensive host range in ill and healthy individuals and an unexpected environmental distribution: A systematic review and meta-analysis. *Anaerobe*, 66, 102280.
- Afonso, E., & Goydadin, A. C. (2018). Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* DNA in the lesser horseshoe bat (*Rhinolophus hipposideros*) guano. *Epidemiology and infection*, 146(10), 1253–1258.
- Agustin, A. L. D., Effendi, M. H., Tyasningsih, W., & Plumeriastuti, H. (2025). Cave-Dwelling Bats Carrying Antibiotic-Resistant *Salmonella* spp. Bacteria That are Risk to Public Health in West Nusa Tenggara, Indonesia. *Acta Carsologica*, 54(1).
- Ahmad, M. S., El-Gendy, A. O., Ahmed, R. R., Hassan, H. M., El-Kabbany, H. M., & Merdash, A. G. (2017). Exploring the Antimicrobial and Antitumor Potentials of *Streptomyces* sp. AGM12-1 Isolated from Egyptian Soil. *Frontiers in Microbiology*, 8.
- Ahmad, S., & Guo, M. (2014). *Infant formula quality control*. In Elsevier eBooks (pp. 246–272). https://doi.org/10.1533/9780857099150.3.246
- Allocati, N., Petrucci, A. G., Di Giovanni, P., Masulli, M., Di Ilio, C., & De Laurenzi, V. (2016). Bat–man disease transmission: zoonotic pathogens from wildlife reservoirs to human populations. *Cell Death Discovery*, *2*(1).
- Alurralde, S. G., & Díaz, M. M. (2018). Diet of Tadarida brasiliensis (Mammalia: Chiroptera) in Northwestern Argentina. *Acta Chiropterologica*, 20(1), 221–228.
- Álvarez, T., Alvarez Castañeda, S. T., & López Vidal, J. C. (1994). *Claves para murciélagos mexicanos* (No. 599.4).
- An, I., Kim, B., Joo, S., Kim, K., & Lee, T. (2024). Bacterial communities in the feces of insectivorous bats in South Korea. *Journal of Ecology and Environment*, 48.
- Anderson, S., & Ruxton, G. D. (2020). The Evolution of flight in Bats: A novel hypothesis. *Mammal Review*, 50(4), 426-439.
- André, M. R., Ikeda, P., Lee, D. a. B., Amaral, R. B. D., Carvalho, L. a. L., Pinheiro, D. G., Torres, J. M., De Mello, V. V. C., Rice, G. K., Cer, R. Z., Lourenço, E. C., Oliveira, C. E., Herrera, H. M., Barros-Battesti, D. M., Machado, R. Z., Bishop-Lilly, K. A., Dalgard, C. L., & Dumler, J. S. (2023). Characterization of the bacterial microbiome of non-hematophagous bats and associated ectoparasites from Brazil. Frontiers in Microbiology, 14.
- Apun, K, Kho, K.L, Chong, Y.L., Hashimatul, F.H., Abdullah, M.T., Rahman, M.A., Lesley M.B., and Samuel, L. (2011). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in Wildlife from Disturbed Habitats in Sarawak, Malaysia. *Research Journal of Microbiology*, 6: 132-139.

- Aréchiga-Ceballos, N., & Aguilar Setién, A. (2011). Los murciélagos: ¿héroes o villanos? Ciencia Academia Mexicana de Ciencias. 62(2), 76-83.
- Arellano-Hernández, H. D., Montes-Carreto, L. M., Guerrero, J. A., & Martinez-Romero, E. (2024). The fecal microbiota of the mouse-eared bat (*Myotis velifer*) with new records of microbial taxa for bats. *PLoS ONE*, 19(12), e0314847.
- Armelle, N. K., Esther, N. D., Victorien, N. D. T., Souaïbou, N. F., Marc, N. K. T. T., & Théodore, N. A. (2021). Implication of bats in the transmission of zoonotic strains of *Salmonella* in Benin. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 11(5), 583–587.
- Avena, C. V., Parfrey, L. W., Leff, J. W., Archer, H. M., Frick, W. F., Langwig, K. E., Kilpatrick, A. M., Powers, K. E., Foster, J. T., & McKenzie, V. J. (2016). Deconstructing the Bat Skin Microbiome: Influences of the Host and the Environment. Frontiers in microbiology, 7, 1753.
- Avila-Flores, R., & Fenton, M. B. (2005). Use of Spatial Features by Foraging Insectivorous Bats in a Large Urban Landscape. *Journal of Mammalogy*, 86(6), 1193–1204.
- Bai, Y., Kosoy, M., Recuenco, S., Alvarez, D., Moran, D., Turmelle, A., Ellison, J., Garcia, D. L., Estevez, A., Lindblade, K., & Rupprecht, C. (2011). *Bartonella* spp. in Bats, Guatemala. *Emerging infectious diseases*, 17(7), 1269–1272.
- Bai, Y., Recuenco, S., Gilbert, A. T., Osikowicz, L. M., Gómez, J., Rupprecht, C., & Kosoy, M. Y. (2012). Prevalence and diversity of *Bartonella* spp. in bats in Peru. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 87(3), 518–523.
- Ballados-González, G. G., Sánchez-Montes, S., Romero-Salas, D., Colunga Salas, P., Gutiérrez-Molina, R., León-Paniagua, L., Becker, I., Méndez-Ojeda, M. L., Barrientos-Salcedo, C., Serna-Lagunes, R., & Cruz-Romero, A. (2018). Detection of pathogenic Leptospira species associated with Phyllostomid bats (Mammalia: Chiroptera) from Veracruz, Mexico. *Transboundary and emerging diseases*, 65(3), 773–781.
- Banskar, S., Mourya, D. T., & Shouche, Y. S. (2016). Bacterial diversity indicates dietary overlap among bats of different feeding habits. *Microbiological research*, 182, 99–108.
- Baron, S. A., Mediannikov, O., Abdallah, R., Yimagou, E. K., Medkour, H., Dubourg, G., Elamire, Y., Afouda, P., Ngom, I. I., Angelakis, E., Davoust, B., Diatta, G., Barciela, A., Hernandez-Aguilar, R. A., Sokhna, C., Caputo, A., Levasseur, A., Rolain, J., & Raoult, D. (2021). Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae Clones from Wild Chimpanzees and Termites in Senegal. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 65(9).

- Barson, W. J., & Antonara, S. (2017). *Proteus, Providencia*, and *Morganella* species. In Elsevier eBooks (pp. 833-835.e1). https://doi.org/10.1016/b978-0-323-40181-4.00144-4
- Benavides, J. A., Shiva, C., Virhuez, M., Tello, C., Appelgren, A., Vendrell, J., Solassol, J., Godreuil, S., & Streicker, D. G. (2018). Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in common vampire bats *Desmodus rotundus* and livestock in Peru. *Zoonoses and public health*, 65(4), 454–458.
- Bennett, A. J., Suski, C. D., & O'Keefe, J. M. (2025). Molecular epidemiology of Eimeria spp. parasites and the faecal microbiome of Indiana bats (*Myotis sodalis*): a non-invasive, multiplex metabarcode survey of an endangered species. *Microbial Genomics*, 11(2).
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M. C., Charles, T., Chen, X.,
 Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G. H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N.,
 Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., . . . Schloter, M.
 (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges.
 Microbiome, 8(1).
- Berger, B., Patz, S., Ruppel, S., Dietel, K., Faetke, S., Junge, H., & Becker, M. (2018). Successful Formulation and Application of Plant Growth-PromotingKosakonia radicincitansin Maize Cultivation. *BioMed Research International*, 1–8.
- Berman, T. S., Weinberg, M., Moreno, K. R., Czirják, G. Á., & Yovel, Y. (2023). In sickness and in health: the dynamics of the fruit bat gut microbiota under a bacterial antigen challenge and its association with the immune response. *Frontiers in Immunology*, 14.
- Berthold-Pluta, A., Stefańska, I., Forsythe, S., Aleksandrzak-Piekarczyk, T., Stasiak-Różańska, L., & Garbowska, M. (2024). Genomic Analysis of Cronobacter condimenti s37: Identification of Resistance and Virulence Genes and Comparison with Other *Cronobacter* and Closely Related Species. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(16), 8622.
- Bevans, A. I., Fitzpatrick, D. M., Stone, D. M., Butler, B. P., Smith, M. P., & Cheetham, S. (2020). Phylogenetic relationships and diversity of bat-associated *Leptospira* and the histopathological evaluation of these infections in bats from Grenada, West Indies. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(1), e0007940.
- Birlutiu, V., Birlutiu, R., & Dobritoiu, E. S. (2023). *Lelliottia amnigena* and *Pseudomonas putida* Coinfection Associated with a Critical SARS-CoV-2 Infection: A Case Report. *Microorganisms*, 11(9), 2143.
- Boulouis H-J, Chang CC, Henn JB, Kasten RW, Chomel BB, (2005). Factors associated with the rapid emergence of zoonotic *Bartonella* infections. *Vet Res 36: 383*–410
- Brasileiro, L. a. M., Machado, R. B., & Aguiar, L. M. S. (2022). Ecosystems services provided by BATs are at risk in Brazil. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10.

- Bridges, C. M., & Gage, D. J. (2020). Development and application of aerobic, chemically defined media for *Dysgonomonas*. *Anaerobe*, 67, 102302.
- Brito, J. E. C., de Mello, B. G. V., Gaeta, N. C., Batista, J. M. N., Brito, T. R., Agostinho, W. C., Brandão, P. E., Heinemann, M. B., & Dias, R. A. (2023). Bats (Mammalia: Chiroptera) in urban-rural interfaces: community structure associated with pathogen screening in São Paulo-the largest metropolitan region in Brazil. *Veterinary research communications*, 47(3), 1575–1600.
- Brunet-Rossinni, A. K., & Wilkinson G. S. (2009). Methods for age estimation and the study of senescence in bats. En T.H. Kunz, S. Parsons (Eds.), *Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats* (pp.315-325). Johns Hopkins University Press.
- Buckles, E. L. (2015). *Chiroptera (Bats)*. En Elsevier eBooks (pp. 281-290). https://doi.org/10.1016/b978-1-4557-7397-8.00035-9
- Burt, S., Siemeling, L., Kuijper, E., & Lipman, L. (2012). Vermin on pig farms are vectors for *Clostridium difficile* PCR ribotypes 078 and 045. *Veterinary Microbiology*, 160(1–2), 256–258.
- Canata, D. a. M., Benfato, M. S., Pereira, F. D., Pereira, M. J. R., Hackenhaar, F. S., Mann, M. B., Frazzon, A. P. G., & Rampelotto, P. H. (2024). Comparative Analysis of the Gut Microbiota of Bat Species with Different Feeding Habits. *Biology*, *13*(6), 363.
- Capinera, J. L. (2005). *Beet armyworm, Spodoptera exigua (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae)*. Institute of food and Agricultural Sciences, University of Florida. 1-3 pp.
- Carrillo Gaeta, N., Cavalcante Brito, J. E., Nunes Batista, J. M., Gagete Veríssimo de Mello, B., Dias, R. A., & Heinemann, M. B. (2023). Bats Are Carriers of Antimicrobial-Resistant *Staphylococcaceae* in Their Skin. *Antibiotics*, *12*(2), 331.
- Centro para la Seguridad Alimentaria y Salud Pública. (Marzo 2009). *E. coli enterohemorrágica*. https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/ecoli-es.pdf
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. (18 abril 2024). *About Botulism*. https://www.cdc.gov/botulism/about/index.html
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. (15 abril 2024). *Staphylococcus aureus* Basics. Recuperado de: https://www.cdc.gov/staphylococcus-aureus/about/index.html
- Ceylan, A. N., & Özden, İ. (2022). Perihiler Kolanjiyokarsinomlu Hastada Nadir Bir Bakteriyel Patojen: *Erwinia persicina*; Türkiye'den Bildirilen İlk Olgu [NA Rare Bacterial Pathogen in a Patient with Perihilar Cholangiocarcinoma: *Erwinia persicina*; First Case From Turkey]. *Mikrobiyoloji bulteni*, 56(3), 574–579.

- Chiu, T. H., Chen, T. R., Hwang, W. Z., & Tsen, H. Y. (2005). Sequencing of an internal transcribed spacer region of 16S-23S rRNA gene and designing of PCR primers for the detection of *Salmonella* spp. in food. *International journal of food microbiology*, 97(3), 259–265.
- Chouikha, I., & Hinnebusch, B. J. (2012). *Yersinia*—flea interactions and the evolution of the arthropod-borne transmission route of plague. *Current Opinion in Microbiology*, 15(3), 239–246.
- Cicuttin, G. L., De Salvo, M. N., La Rosa, I., & Dohmen, F. E. G. (2017). *Neorickettsia risticii, Rickettsia* sp. and *Bartonella* sp. in *Tadarida brasiliensis* bats from Buenos Aires, Argentina. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 52, 1–5.
- Cicuttin, G. L., Naz, D. S. M., Boeri, E. J., Beltrán, F. J., & Gury Dohmen, F. E. (2014). Bartonella spp en murciélagos Tadarida brasiliensis de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. In III Congreso Panamericano de Zoonosis. Argentina.
- Clark, K. L., & Hartman, S. (2024). PCR Detection of Bartonella spp. and Borreliella spp. DNA in Dry Blood Spot Samples from Human Patients. *Pathogens*, 13(9), 727.
- Cláudio, V. C., Gonzalez, I., Barbosa, G., Rocha, V., Moratelli, R., & Rassy, F. (2018). Bacteria richness and antibiotic-resistance in bats from a protected area in the Atlantic Forest of Southeastern Brazil. *PloS one*, *13*(9), e0203411.
- Cleveland CJ, Betke M, Federico P et al. (2006). Economic value of the pest control service provided by Brazilian free-tailed bats in south-central Texas. *Frontiers in Ecology and the Environment 4*, 238–43.
- Collins, M. D., Love, D. N., Karjalainen, J., Kanervo, A., Forsblom, B., Willems, A., Stubbs, S., Sarkiala, E., Bailey, G. D., Wigney, D. I., & Jousimies-Somer, H. (1994). Phylogenetic Analysis of Members of the Genus Porphyromonas and Description of Porphyromonas cangingivalis sp. nov. and Porphyromonas cansulci sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology, 44*(4), 674–679.
- Colunga-Salas, P., Sánchez-Montes, S., León-Paniagua, L., & Becker, I. (2021). *Borrelia* in neotropical bats: Detection of two new phylogenetic lineages. *Ticks and tick-borne diseases*, 12(2), 101642.
- Concannon, R., Wynn-Owen, K., Simpson, V. R., & Birtles, R. J. (2005). Molecular characterization of haemoparasites infecting bats (Microchiroptera) in Cornwall, UK. *Parasitology*, *131*(Pt 4), 489–496.
- Cunha, A. O. B., Bezerra, J. D. P., Oliveira, T. G. L., Barbier, E., Bernard, E., Machado, A. R., & Souza-Motta, C. M. (2020). Living in the dark: Bat caves as hotspots of fungal diversity. *PLoS ONE*, *15*(12), e0243494.
- Da Costa Lima, M. S., Junior, Zorzenon, D. C. R., Dorval, M. E. C., Pontes, E. R. J. C., Oshiro, E. T., Cunha, R., Andreotti, R., & Matos, M. D. F. C. (2013). Sensitivity of

- PCR and real-time PCR for the diagnosis of human visceral leishmaniasis using peripheral blood. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, *3*(1), 10–15.
- Da Silva, L. V., Medeiros, S. H. W., Schneider, A. L. D. S., Santos-Silva, J. C. D., Souza, A. L. F., & Rhoden, S. A. (2024). Identification of antibiotic-resistant, gramnegative bacteria in sewage and bioaerosols from a wastewater treatment plant: A genotypic and phenotypic study. *Journal of Water and Health*, 22(7), 1153–1161.
- Danielson, J. R., Williams, J. A., Sherwin, R. E., Ekholm, K. L., & Hamilton, B. T. (2022). Seasonal variation in age, sex, and reproductive status of Mexican free-tailed bats. *Population Ecology*, *64*(3), 254-266.
- D'Auria, S. R., Camargo, M. C., Pacheco, R. C., Savani, E. S., Dias, M. A., da Rosa, A. R., de Almeida, M. F., & Labruna, M. B. (2010). Serologic survey for rickettsiosis in bats from São Paulo city, Brazil. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 10(5), 459–463.
- Davin-Regli, A., & Pagès, J. M. (2015). *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in microbiology*, 6, 392.
- De Leon, M. P., Montecillo, A. D., Pinili, D. S., Siringan, M. a. T., & Park, D. (2018). Bacterial diversity of bat guano from Cabalyorisa Cave, Mabini, Pangasinan, Philippines: A first report on the metagenome of Philippine bat guano. *PLoS ONE*, 13(7), e0200095.
- De Mello, V. V. C., De Oliveira, L. B., Coelho, T. F. S. B., Lee, D. a. B., Neves, L. F. D., Franco, E. O., Mongruel, A. C. B., Machado, R. Z., & André, M. R. (2024). Diversity of *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., and *Neorickettsia* spp. in vampire bats. *Current Research in Parasitology and Vector-Borne Diseases*, *5*, 100182.
- Dela-Rosa, C. J., & Rivera, W. L. (2023). Bacteroides: From a fecal pollutant to a useful tool in solving water pollution. *SciEnggJ*, *16*(2), 403–419.
- Deng, H., Pang, Q., Zhao, B., & Vayssier-Taussat, M. (2018). Molecular mechanisms of *Bartonella* and mammalian erythrocyte interactions: a review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8.
- Deng, X., Guo, T., He, Y., Gao, S., Su, J., Pan, H., & Li, A. (2025). *Parabacteroides goldsteinii* Alleviates Intestinal Inflammation in Dextran Sulfate Sodium-Treated Pigs. *Animals: an open access journal from MDPI*, 15(9), 1231.
- Di Bella, S., Gambino, D., Foti, M., Orlandella, B. M., Fisichella, V., Gucciardi, F., Mira, F., Grasso, R., Spena, M. T., Purpari, G., & Guercio, A. (2025). Exploring Antimicrobial Resistance in Bacteria from Fecal Samples of Insectivorous Bats: A Preliminary Study. *Veterinary Sciences*, 12(6), 516.

- Dimkić, I., Fira, D., Janakiev, T., Kabić, J., Stupar, M., Nenadić, M., Unković, N., & Grbić, M. L. (2021). The microbiome of bat guano: for what is this knowledge important? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(4), 1407–1419.
- Dominguez-Moñino, I., Jurado, V., Rogerio-Candelera, M. A., Hermosin, B., & Saiz-Jimenez, C. (2021). Airborne Fungi in Show Caves from Southern Spain. *Applied Sciences*, 11(11), 5027.
- Dong-Hyun L., In H. C., Doo S. W., and Michio O. (2003). Microbial ecology of *Bacillus thuringiensis*: fecal populations recovered from wildlife in Korea. *Canadian Journal of Microbiology*. 49(7): 465-471.
- Dossi C., M. T., Escalona U., M., Serrano A., C., Silva D., M. A., Juliet L., C., Fernández V., A., Leiva C., V., & Fernández O., J. (2002). Serratia marcescens: Descripción de un brote de infección intrahospitalaria. *Revista chilena de infectología*, 19(4), 262-266.
- Dwyer, J. M., Moore, M. S., & Lewis, J. S. (2024). Trade-offs in habitat use and occupancy of bats across the gradient of urbanization and seasons. *Ecosphere*, 15(7).
- Ekwe, A. P., & Kim, S. B. (2017). Flavobacterium commune sp. nov., isolated from freshwater and emended description of *Flavobacterium seoulense*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(1), 93–98.
- Eshar, D., & Weinberg, M. (2010). Venipuncture in bats. Lab animal, 39(6), 175-176.
- Evans, J. C., McEneany, V. L., Coyne, M. J., Caldwell, E. P., Sheahan, M. L., Von, S. S., Coyne, E. M., Tweten, R. K., & Comstock, L. E. (2022). A proteolytically activated antimicrobial toxin encoded on a mobile plasmid of Bacteroidales induces a protective response. *Nature Communications*, 13(1).
- Fajri, S. R., Primawati, S. N., Hadi, I., & Tresnani, G. (2018). The Risk of Disease Transmission from Bat's Bacteria to Humans and other Animals. *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 9(12), 1414.
- Farmer, J. J., Davis, B. R., Hickman-Brenner, F. W., McWhorter, A., Huntley-Carter, G. P., Asbury, M. A., Riddle, C., Wathen-Grady, H. G., Elias, C., & Fanning, G. R. (1985). Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 21(1), 46–76.
- Federici, L., Masulli, M., De Laurenzi, V., & Allocati, N. (2022). An overview of bats microbiota and its implication in transmissible diseases. *Frontiers in microbiology*, *13*, 1012189.
- Feng, Y., Yang, Y., Hu, Y., Xiao, Y., Xie, Y., Wei, L., Wen, H., Zhang, L., McNally, A., & Zong, Z. (2024). Population genomics uncovers global distribution, antimicrobial resistance, and virulence genes of the opportunistic pathogen *Klebsiella aerogenes*. Cell Reports, 43(8), 114602.

- Fenton, M. B. (1990). The foraging behaviour and ecology of animal-eating bats. *Canadian Journal of Zoology*, 68(3), 411–422.
- Ferreira, G. C. M., Canozzi, M. E. A., Peripolli, V., Moura, G. P., Sánchez, J., & Martins, C. E. N. (2022). Prevalence of bovine *Babesia* spp., *Anaplasma marginale*, and their co-infections in Latin America: Systematic review-meta-analysis. *Ticks and tick-borne diseases*, 13(4), 101967.
- Ferreira, R.L. & Martins, R.P. (1999). Trophic structure and natural history of bat guano invertebrate communities, with special reference to Brazilian caves. *Tropical Zoology*, 12(2): 231-252.
- Ferrer, C., Colom, F., Frases, S., Mulet, E., Abad, J. L. y Alió, J. K. (2001). Detection and Identification of Fungal Pathogens by PCR and by ITS2 and 5.8S Ribosomal DNA Typing in Ocular Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(8), 2873-2879.
- Foti, M., Spena, M. T., Fisichella, V., Mascetti, A., Colnaghi, M., Grasso, M., Piraino, C., Sciurba, F., & Grasso, R. (2021). Physiological and potentially pathogenic microbial flora in bats. *Research Square*.
- Franke J., Hildebrandt A., Dorn W. (2013). Exploring gaps in our knowledge on Lyme borreliosis spirochaetes—Updates on complex heterogeneity, Ecology, and Pathogenicity. *Ticks Tick Borne Dis*, 4:11–25.
- Gándara, G., Correa, A.N. and Hernández, C.A. (2023) Ecological Service Offered by *Tadarida brasiliensis* Bats as Natural Plague Controllers in Northern Mexico and Their Economic Valuation. *Open Access Library Journal*, *10*, 1-16.
- Gaona, O., Cerqueda-García, D., Falcón, L. I., Vázquez-Domínguez, G., Valdespino-Castillo, P. M., & Neri-Barrios, C. (2019). Microbiota composition of the dorsal patch of reproductive male *Leptonycteris yerbabuenae*. *PLoS ONE*, 14(12), e0226239.
- Garg, K. M., Lamba, V., Sanyal, A., Dovih, P., & Chattopadhyay, B. (2023). Next generation sequencing revolutionizes organismal biology research in BaTs. *Journal of Molecular Evolution*, 91(4), 391–404.
- Garry, F. (2008). *Miscellaneous infectious diseases*. In Elsevier eBooks (pp. 606–639). https://doi.org/10.1016/b978-141603137-6.50018-1
- Gerbáčová, K., Maliničová, L., Kisková, J., Maslišová, V., Uhrin, M., & Pristaš, P. (2020). The Faecal Microbiome of Building-Dwelling Insectivorous Bats (*Myotis myotis* and *Rhinolophus hipposideros*) also Contains Antibiotic-Resistant Bacterial Representatives. *Current Microbiology*, 77(9), 2333–2344.
- Gillespie, S. H. (1994). Spiral bacteria. Medical Microbiology Illustrated, 108-112.
- Girlich, D., Bonnin, R. A., Dortet, L., & Naas, T. (2020). Genetics of Acquired Antibiotic Resistance Genes in *Proteus* spp. *Frontiers in Microbiology*, 11.

- González, C. J., Santos, J. A., García-López, M., & Otero, A. (2000). Psychrobacters and related bacteria in freshwater fish. *Journal of Food Protection*, 63(3), 315–321.
- Gowripriya, T., Yashwanth, R., Prabhanand, B. J., Suresh, R., & Balamurugan, K. (2024). Klebsiella aerogenes ingestion elicits behavioral changes and innate immunity in the host, Caenorhabditis elegans. *Developmental & Comparative Immunology*, 154, 105138.
- Grisold, A. J., Zarfel, G., Strenger, V., Feierl, G., Leitner, E., Masoud, L., Hoenigl, M., Raggam, R. B., Dosch, V., & Marth, E. (2010). Use of automated repetitive-sequence-based PCR for rapid laboratory confirmation of nosocomial outbreaks. *The Journal of infection*, 60(1), 44–51.
- Guerfali, M. M., Djobbi, W., Charaabi, K., Hamden, H., Fadhl, S., Marzouki, W., Dhaouedi, F., & Chevrier, C. (2018). Evaluation of Providencia rettgeri pathogenicity against laboratory Mediterranean fruit fly strain (*Ceratitis capitata*). *PLoS ONE*, *13*(5), e0196343.
- Gugnani, H. C., & Denning, D. W. (2023). Infection of bats with *Histoplasma* species. *Medical mycology*, 61(8), myad080.
- Gunsilius, E., Lass-Flörl, C., Kähler, C. M., Gastl, G., & Petzer, A. L. (2001). *Candida ciferrii*, a new fluconazole-resistant yeast causing systemic mycosis in immunocompromised patients. *Annals of hematology*, 80(3), 178–179.
- Hamm, P. S., Caimi, N. A., Northup, D. E., Valdez, E. W., Buecher, D. C., Dunlap, C. A., Labeda, D. P., Lueschow, S., & Porras-Alfaro, A. (2016). Western Bats as a Reservoir of Novel *Streptomyces* Species with Antifungal Activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(5).
- Han, H. J., Li, Z. M., Li, X., Liu, J. X., Peng, Q. M., Wang, R., Gu, X. L., Jiang, Y., Zhou, C. M., Li, D., Xiao, X., & Yu, X. J. (2022). Bats and their ectoparasites (Nycteribiidae and Spinturnicidae) carry diverse novel *Bartonella* genotypes, China. *Transboundary and emerging diseases*, 69(4), e845–e858.
- Han, H., Liu, J., Wen, H., Li, Z., Lei, S., Qin, X....Yu, X. (2020). Pathogenic New World Relapsing Fever Borrelia in a Myotis Bat, Eastern China, 2015. *Emerging Infectious Diseases*, 26(12), 3083-3085.
- Hansen, M. J., Bertelsen, M. F., Christensen, H., Bojesen, A. M., & Bisgaard, M. (2011). Otariodibacter oris gen. nov., sp. nov., a member of the family Pasteurellaceae isolated from the oral cavity of pinnipeds. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(Pt_11), 2572–2578.
- Hassan, N. E., Shebini, S. M. E., El-Masry, S. A., Ahmed, N. H., Kamal, A. N., Ismail, A. S., Alian, K. M., Mostafa, M. I., Selim, M., & Afify, M. a. S. (2022). Brief overview of dietary intake, some types of gut microbiota, metabolic markers and research opportunities in sample of Egyptian women. *Scientific Reports*, 12(1).

- Henry, R., Galbraith, P., Coutts, S., Prosser, T., Boyce, J., & McCarthy, D. T. (2018). What's the risk? Identifying potential human pathogens within grey-headed flying foxes faeces. *PLoS ONE*, *13*(1), e0191301.
- Hernando-Amado, S., Coque, T. M., Baquero, F., & Martínez, J. L. (2019). Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nature Microbiology*, 4(9), 1432–1442.
- Herruzo, R., Ruiz, G., Gallego, S., Diez, J., Sarria, A., & Omeñaca, F. (2017). VIM-Klebsiella oxytoca outbreak in a Neonatal Intensive Care Unit. This time it wasn't the drain. Journal of preventive medicine and hygiene, 58(4), E302–E307.
- Höhne K, Loose B, Seeliger HP. (1975). Isolation of *Listeria monocytogenes* in slaughter animals and bats of Togo (West Africa). *Annales de Microbiologie*, (4):501-507. PMID: 812407.
- Horinouchi, S., Ueda, K., Nakayama, J., & Ikeda, T. (2010). *Cell-to-Cell Communications among Microorganisms*. In Elsevier eBooks (pp. 283–337). https://doi.org/10.1016/B978-008045382-8.00098-8
- Hornok, S., Szőke, K., Meli, M. L., Sándor, A. D., Görföl, T., Estók, P., Wang, Y., Tu,
 V. T., Kováts, D., Boldogh, S. A., Corduneanu, A., Sulyok, K. M., Gyuranecz, M.,
 Kontschán, J., Takács, N., Halajian, A., Epis, S., & Hofmann-Lehmann, R. (2019).
 Molecular detection of vector-borne bacteria in bat ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae)
 from eight countries of the Old and New Worlds. *Parasites & Vectors*, 12(1).
- Huang, Y., Sun, Y., Huang, Q., Lv, X., Pu, J., Zhu, W., Lu, S., Jin, D., Liu, L., Shi, Z., Yang, J., & Xu, J. (2022). The Threat of Potentially Pathogenic Bacteria in the Feces of Bats. *Microbiology spectrum*, 10(6), e0180222.
- Huang, Z., Hao, M., Shi, N., Wang, X., Yuan, L., Yuan, H., & Wang, X. (2025). *Porphyromonas gingivalis*: a potential trigger of neurodegenerative disease. *Frontiers in Immunology*, 16.
- Hughes, K., Constantino-Casas, F., Haverson, V. A., & Philp, S. J. (2018). Pathology in practice. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 253(7).
- Hurst, M. R. H., Beattie, A., Jones, S. A., Laugraud, A., Van Koten, C., & Harper, L. (2018). Serratia proteamaculans Strain AGR96X Encodes an Antifeeding Prophage (Tailocin) with Activity against Grass Grub (*Costelytra giveni*) and Manuka Beetle (*Pyronota* Species) Larvae. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(10).
- Hutson, A. M. (1972). Ectoparasites of British bats. Mammal Review, 1(6), 143-150.
- Ikeda, P., Torres, J. M., Placa, A. J. V., De Mello, V. V. C., Lourenço, E. C., Herrera, H. M., De Oliveira, C. E., Hemsley, C., Titball, R. W., Machado, R. Z., & André, M. R. (2021). Molecular Survey of Anaplasmataceae Agents and Coxiellaceae in Non-Hematophagous Bats and Associated Ectoparasites from Brazil. *Parasitologia*, 1(4), 197–209.

- Ingala, M. R., Simmons, N. B., Wultsch, C., Krampis, K., Speer, K. A., & Perkins, S. L. (2018). Comparing microbiome sampling methods in a wild mammal: fecal and intestinal samples record different signals of host ecology, evolution. Frontiers in Microbiology, 9.
- Intra, J., Carcione, D., Sala, R. M., Siracusa, C., Brambilla, P., & Leoni, V. (2023).
 Antimicrobial Resistance Patterns of *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella aerogenes*Strains Isolated from Clinical Specimens: A Twenty-Year Surveillance Study.
 Antibiotics, 12(4), 775.
- Isidoro-Ayza, M., Lorch, J. M., & Klein, B. S. (2024). The skin I live in: Pathogenesis of white-nose syndrome of bats. *PLoS Pathogens*, 20(8), e1012342.
- Jabeen, I., Islam, S., Hassan, A. K. M. I., Tasnim, Z., & Shuvo, S. R. (2023). A brief insight into *Citrobacter* species a growing threat to public health. *Frontiers in Antibiotics*, 2.
- Janssen P. H. (2006). Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied and environmental microbiology*, 72(3), 1719–1728.
- Jimenez, A. R., Guiglielmoni, N., Goetghebuer, L., Dechamps, E., George, I. F., & Flot, J. (2022). Comparative genome analysis of *Vagococcus fluvialis* reveals abundance of mobile genetic elements in sponge-isolated strains. *BMC Genomics*, 23(1).
- Jiménez-Guzmán, A., Zúñiga-Ramos, M. A., & Niño-Ramírez, J. (1999). *Mamíferos de Nuevo León, México*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- John, T. M., & Taege, A. J. (2019). Appropriate laboratory testing in Lyme disease. Cleveland Clinic journal of medicine, 86(11), 751–759.
- Jones, G., & Teeling, E. C. (2006). The evolution of echolocation in bats. *Trends in Ecology and Evolution*, 21(3), 149-156
- Jorge, F. R., Muñoz-Leal, S., De Oliveira, G. M. B., Serpa, M. C. A., Magalhães, M. M. L., De Oliveira, L. M. B., Moura, F. B. P., Teixeira, B. M., & Labruna, M. B. (2022). Novel *Borrelia* Genotypes from Brazil Indicate a New Group of *Borrelia* spp. Associated with South American Bats. *Journal of Medical Entomology*, 60(1), 213–217.
- Jung, K., & Kalko, E. K. V. (2011). Adaptability and vulnerability of high flying Neotropical aerial insectivorous bats to urbanization. *Diversity and Distributions*, 17(2), 262–274.
- Jung, K., & Threlfall, C. G. (2018). Trait-dependent tolerance of bats to urbanization: a global meta-analysis. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 285(1885), 20181222.
- Jurat-Fuentes, J. L., & Jackson, T. A. (2012). *Bacterial entomopathogens*. In Elsevier eBooks (pp. 265–349). https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384984-7.00008-7

- Kang, M. S., Park, G. Y., & Lee, A. R. (2023). In Vitro Preventive Effect and Mechanism of Action of *Weissella cibaria* CMU against *Streptococcus mutans* Biofilm Formation and Periodontal Pathogens. *Microorganisms*, 11(4), 962.
- Kerth, G. (2008). Causes and consequences of sociality in bats. *BioScience*, 58(8), 737–746.
- Kim, M., You, Y., Kang, J., Kim, H., & Kang, M. (2020). Weissella cibaria CMU exerts an anti-inflammatory effect by inhibiting *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-induced NF-κB activation in macrophages. *Molecular Medicine Reports*.
- Kleinschmidt, S., Huygens, F., Faoagali, J., Rathnayake, I. U., & Hafner, L. M. (2015). *Staphylococcus epidermidis* as a cause of bacteremia. *Future Microbiology*, 10(11), 1859–1879.
- Kollarcikova, M., Faldynova, M., Matiasovicova, J., Jahodarova, E., Kubasova, T., Seidlerova, Z., Babak, V., Videnska, P., Cizek, A., & Rychlik, I. (2020). Different *Bacteroides* species colonise human and chicken intestinal tract. *Microorganisms*, 8(10), 1483.
- Koopman, K. F. (1994). *Handbuch der Zoologie (Handbook of Zoology)*, volume VIII, part 60, Mammalia. Walter de Gruyter.
- Kosoy, M.Y., Regnery R. L., Tzianabos T, Marston E. L., Jones D. C, Green D, et al. (1997). Distribution, diversity, and host specificity of *Bartonella* in rodents from the Southeastern United States. *Am J Trop Med Hyg.* 57:578–88.
- Krutzsch, P. H., Fleming, T. H., & Crichton, E. G. (2002). Reproductive biology of male Mexican free-tailed bats (*Tadarida brasiliensis mexicana*). *Journal of Mammalogy*, 83(2), 489-500.
- Kuang, G., Yang, T., Yang, W., Wang, J., Pan, H., Pan, Y., Gou, Q., Wu, W., Wang, J., Yang, L., Han, X., Chen, Y., Eden, J., Holmes, E. C., Shi, M., & Feng, Y. (2025). Infectome analysis of bat kidneys from Yunnan province, China, reveals novel henipaviruses related to Hendra and Nipah viruses and prevalent bacterial and eukaryotic microbes. *PLoS Pathogens*, 21(6), e1013235.
- Kunz, T. H., & Kurta, A. (2009). Capture methods and holding devices. En T. H. Kunz, S. Parsons (Eds.), *Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats* (2a ed., pp. 775-794). Johns Hopkins University Press.
- Kunz, T. H., Whitaker, J. O., Jr, & Wadanoli, M. D. (1995). Dietary energetics of the insectivorous Mexican free-tailed bat (*Tadarida brasiliensis*) during pregnancy and lactation. *Oecologia*, 101(4), 407–415.
- Lai, C., Tan, C., Lin, S., Liu, W., Liao, C., Huang, Y., & Hsueh, P. (2010). Bacteraemia caused by non-freundii, non-koseri *Citrobacter* species in Taiwan. Journal of Hospital Infection, 76(4), 332–335.

- Laiz, L., Groth, I., Gonzalez, I., & Saiz-Jimenez, C. (1999). Microbiological study of the dripping waters in Altamira cave (Santillana del Mar, Spain). *Journal of microbiological methods*, 36(1-2), 129–138.
- Lan, P. T. N., Sakamoto, M., Sakata, S., & Benno, Y. (2006). Bacteroides barnesiae sp. nov., *Bacteroides salanitronis* sp. nov. and *Bacteroides gallinarum* sp. nov., isolated from chicken caecum. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(12), 2853–2859.
- Lebreton, F., Valentino, M. D., Duncan, L. B., Zeng, Q., Mcguire, A. M., Earl, A. M., & Gilmore, M. S. (2013). High-Quality Draft Genome Sequence of *Vagococcus lutrae* Strain LBD1, Isolated from the Largemouth Bass Micropterus salmoides. *Genome Announcements*, 1(6).
- Lecuit, M., & Eloit, M. (2014). The diagnosis of infectious diseases by whole genome next generation sequencing: a new era is opening. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4.
- Leitner, E., Zarfel, G., Luxner, J., Herzog, K., Pekard-Amenitsch, S., Hoenigl, M., Valentin, T., Feierl, G., Grisold, A. J., Högenauer, C., Sill, H., Krause, R., & Zollner-Schwetz, I. (2014). Contaminated Handwashing Sinks as the Source of a Clonal Outbreak of KPC-2-Producing *Klebsiella oxytoca* on a Hematology Ward. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(1), 714–716.
- Levin, M. L., Snellgrove, A. N., & Zemtsova, G. E. (2016). Comparative value of blood and skin samples for diagnosis of spotted fever group rickettsial infection in model animals. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 7(5), 1029–1034.
- Ley, R. E., Hamady, M., Lozupone, C., Turnbaugh, P. J., Ramey, R. R., Bircher, J. S., Schlegel, M. L., Tucker, T. A., Schrenzel, M. D., Knight, R., & Gordon, J. I. (2008). Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*, *320*(5883), 1647–1651.
- Li, A., Li, Z., Dai, W., Parise, K. L., Leng, H., Jin, L., Liu, S., Sun, K., Hoyt, J. R., & Feng, J. (2021). Bacterial community dynamics on bats and the implications for pathogen resistance. *Environmental Microbiology*, 24(3), 1484–1498.
- Li, J., Li, L., Jiang, H., Yuan, L., Zhang, L., Ma, J., Zhang, X., Cheng, M., & Chen, J. (2018). Fecal Bacteriome and Mycobiome in Bats with Diverse Diets in South China. *Current Microbiology*, 75(10), 1352–1361.
- Li, Z., Xiao, X., Zhou, C., Liu, J., Gu, X., Fang, L., Liu, B., Wang, L., Yu, X., & Han, H. (2021). Human-pathogenic relapsing fever Borrelia found in bats from Central China phylogenetically clustered together with relapsing fever borreliae reported in the New World. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 15(3), e0009113.
- Lilley, T. M., Wilson, C. A., Bernard, R. F., Willcox, E. V., Vesterinen, E. J., Webber, Q. M. R., Kurpiers, L. A., Prokkola, J. M., Ejotre, I., Kurta, A., Field, K. A., Reeder, D. M., & Pulliainen, A. T. (2017). Molecular detection of *Candidatus Bartonella*

- mayotimonensis in North American bats. Vector-borne and Zoonotic Diseases, 17(4), 243-246.
- Lobato-Bailón, L., García-Ulloa, M., Santos, A., Guixé, D., Camprodon, J., Florensa-Rius, X., Molleda, R., Manzano, R., Ribas, M. P., Espunyes, J., Dias-Alves, A., Marco, I., Migura-Garcia, L., Martínez-Urtaza, J., & Cabezón, O. (2023). The fecal bacterial microbiome of the Kuhl's pipistrelle bat (*Pipistrellus kuhlii*) reflects landscape anthropogenic pressure. *Animal Microbiome*, 5(1).
- Loftis, A. D., Gill, J. S., Schriefer, M. E., Levin, M. L., Eremeeva, M. E., Gilchrist, M. J., & Dasch, G. A. (2005). Detection of *Rickettsia, Borrelia*, and *Bartonella* in Carios kelleyi (Acari: Argasidae). *Journal of medical entomology*, 42(3), 473–480.
- López, Y., Muñoz-Leal, S., Martínez, C., Guzmán, C., Calderón, A., Martínez, J., Galeano, K., Muñoz, M., Ramírez, J. D., Faccini-Martínez, Á. A., & Mattar, S. (2023). Molecular evidence of *Borrelia* spp. in bats from Córdoba Department, northwest Colombia. *Parasites & Vectors*, 16(1).
- Lugo-Caballero, C., Torres-Castro, M., López-Ávila, K., Hernández-Betancourt, S., Noh-Pech, H., Tello-Martín, R., Puerto-Manzano, F., & Dzul-Rosado, K. (2021). Molecular identification of zoonotic *Rickettsia* species closely related to *R. typhi*, *R. felis* & *R. rickettsii* in bats from Mexico. *The Indian journal of medical research*, 154(3), 536–538.
- Lundberg, J., & McFarlane, D. A. (2024). Time-transgressive microbial diversity in a tropical bat guano accumulation, Deer Cave, Mulu, Borneo. *International Journal of Speleology*, 53(3), ijs2508.
- Lutz, H. L., Jackson, E. W., Webala, P. W., Babyesiza, W. S., Peterhans, J. C. K., Demos, T. C., Patterson, B. D., & Gilbert, J. A. (2019). Ecology and host identity outweigh evolutionary history in shaping the bat microbiome. *mSystems*, 4(6).
- Lynch, S. A., & Helbig, K. J. (2021). The Complex Diseases of Staphylococcus pseudintermedius in Canines: Where to Next? *Veterinary Sciences*, 8(1), 11.
- Matei, I. A., Corduneanu, A., Sándor, A. D., Ionică, A. M., Panait, L., Kalmár, Z., Ivan, T., Papuc, I., Bouari, C., Fit, N., & Mihalca, A. D. (2021). *Rickettsia* spp. in bats of Romania: high prevalence of *Rickettsia monacensis* in two insectivorous bat species. *Parasites & Vectors*, 14(1).
- McCracken, G. F., Bernard, R. F., Gamba-Rios, M., Wolfe, R., Krauel, J. J., Jones, D. N., Russell, A. L., & Brown, V. A. (2017). Rapid range expansion of the Brazilian free-tailed bat in the southeastern United States, 2008–2016. *Journal of Mammalogy*, 99(2), 312–320.
- McDougall, F. K., Boardman, W. S. J., & Power, M. L. (2021). Characterization of beta-lactam-resistant *Escherichia coli* from Australian fruit bats indicates anthropogenic origins. *Microbial genomics*, 7(5), 000571.

- McGuire, L. P., Kelly, L. A., Baloun, D. E., Boyle, W. A., Cheng, T. L., Clerc, J., Fuller, N. W., Gerson, A. R., Jonasson, K. A., Rogers, E. J., Sommers, A. S., & Guglielmo, C. G. (2018). Common condition indices are no more effective than body mass for estimating fat stores in insectivorous bats. *Journal of Mammalogy*, 99(5), 1065–1071.
- McWilliams, L. A. (2005). Variation in diet of the Mexican free-tailed bat (*Tadarida brasiliensis mexicana*). *Journal of Mammalogy*, 86(3), 599-605.
- Medellín, R. A., Arita, H., & Sanchez, O. (2008). Identificación de los murciélagos de México. Clave de campo. Segunda Edición. Instituto de Ecología.
- Merckx, T., & Van Dyck, H. (2019). Urbanization-driven homogenization is more pronounced and happens at wider spatial scales in nocturnal and mobile flying insects. *Global Ecology and Biogeography*, 28(10), 1440–1455.
- Misra, P. K. (2015). Guanophilic fungi of Mouse-Tailed bats. *South Asian Journal of Life Sciences*, 3(2), 56–62.
- Mohd-Yusof, N. S., Abdul-Latiff, M. a. B., Mohd-Ridwan, A. R., Badrulisham, A. S., Othman, N., Yaakop, S., Md-Nor, S., & Md-Zain, B. M. (2022). First report on metabarcoding analysis of gut microbiome in Island Flying Fox (Pteropus hypomelanus) in island populations of Malaysia. *Biodiversity Data Journal*, 10.
- Moreno A. (1996). *Murciélagos de Nuevo León nuestros invaluables aliados*. Impresora Monterrey. S.A de C.V.
- Morni, M. A., William-Dee, J., Jinggong, E. R., Sabaruddin, N. A., Azhar, N. a. A., Iman, M. A., Larsen, P. A., Seelan, J. S. S., Bilung, L. M., & Khan, F. a. A. (2025). Gut microbiome community profiling of Bornean bats with different feeding guilds. *Animal Microbiome*, 7(1).
- Moskaluk, A. E., Stuckey, M. J., Jaffe, D. A., Kasten, R. W., Aguilar-Setién, A., Olave-Leyva, J. I., Galvez-Romero, G., Obregón-Morales, C., Salas-Rojas, M., García-Flores, M. M., Aréchiga-Ceballos, N., García-Baltazar, A., & Chomel, B. B. (2018). Molecular Detection of *Bartonella* Species in Blood-Feeding Bat Flies from Mexico. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 18(5), 258–265.
- Moya, T., Herrera, M., Vargas, A., Herrera, Marín, J. F., José, P., & Herrera, M. (2001). Morganella morganii: estudio sobre el aislamiento de 192 cepas en el Hospital Nacional de Niños, entre 1995 y 2000. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera, 36(1-2), 57-62.
- Mpakosi, A., & Mironidou-Tzouveleki, M. (2023). The Cave Ecosystem in the Research of New Antibiotic Discovery and Development. *Environmental and Earth Sciences Proceedings*, 26(1), 116.
- Mueller, M., & Tainter, C. R. (2023, July 13). *Escherichia coli Infection*. StatPearls NCBI Bookshelf. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/

- Mühldorfer, K. (2012). Bats and Bacterial Pathogens: a review. *Zoonoses and Public Health*, 60(1), 93–103.
- Mühldorfer, K., Wibbelt, G., Haensel, J., Riehm, J., & Speck, S. (2010). *Yersinia* Species Isolated from Bats, Germany. *Emerging Infectious Diseases*, 16(3), 578–580.
- Nakamura, S., Settai, S., Hayashidani, H., Urabe, T., Namai, S., & Une, Y. (2013). Outbreak of yersiniosis in Egyptian rousette bats (*Rousettus aegyptiacus*) caused by *Yersinia* pseudotuberculosis serotype 4b. *Journal of comparative pathology*, *148*(4), 410–413.
- Negrete, F., Jang, H., Gangiredla, J., Woo, J., Lee, Y., Patel, I. R., Chase, H. R., Finkelstein, S., Wang, C. Z., Srikumar, S., Nguyen, S., Eshwar, A., Stephan, R., Lehner, A., Fanning, S., Tall, B. D., & Gopinath, G. R. (2018). Genome-wide survey of efflux pump-coding genes associated with Cronobacter survival, osmotic adaptation, and persistence. *Current Opinion in Food Science*, 30, 32–42.
- Newman, M. M., Kloepper, L. N., Duncan, M., McInroy, J. A., & Kloepper, J. W. (2018). Variation in bat guano bacterial community composition with depth. *Frontiers in Microbiology*, 9.
- Núñez-Montero, K., Santos, A., Quezada-Solís, D., Martínez-Urtaza, J., Lisón, F., & Barrientos, L. (2021). Bacterial Communities in Fecal Samples of *Myotis chiloensis* from Southern, Chile. *International Journal of Morphology*, 39(1), 57–63.
- Nyangacha, R. M., Odongo, D., Oyieke, F., Ochwoto, M., Korir, R., Ngetich, R. K., Nginya, G., Makwaga, O., Bii, C., Mwitari, P., & Tolo, F. (2017). Secondary bacterial infections and antibiotic resistance among tungiasis patients in Western, Kenya. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(9), e0005901.
- Ogórek R, Dylag M, Kozak B, Višnovska Z, Tančinová D, Lejman A. (2016). Fungi isolated and quantified from bat guano and air in Harmanecká and Driny Caves (Slovakia). *J Cave Karst Stud*, 78(1):41–49.
- O'Hara, C. M., Steigerwalt, A. G., Hill, B. C., Miller, J. M., & Brenner, D. J. (1998). First report of a human isolate of *Erwinia persicinus*. *Journal of clinical microbiology*, 36(1), 248–250.
- Osei, R., Yang, C., Cui, L., Ma, T., Li, Z., & Boamah, S. (2022). Isolation, identification, and pathogenicity of *Lelliottia amnigena* causing soft rot of potato tuber in China. *Microbial Pathogenesis*, 164, 105441.
- Oteo, J. A., & Brouqui, P. (2005). *Ehrlichiosis y anaplasmosis humana*. Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica, 23(6), 375–380.
- Palazzi, D. L., Klein, J. O., & Baker, C. J. (2006). *Bacterial sepsis and meningitis*. In Elsevier eBooks (pp. 247–295). https://doi.org/10.1016/B0-72-160537-0/50008-6

- Park, Y. S., Lee, S. R., & Kim, Y. G. (2006). Detection of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in kimchi by multiplex polymerase chain reaction (mPCR). *Journal of microbiology (Seoul, Korea)*, 44(1), 92–97.
- Pava-Ripoll, M., Pearson, R. E., Miller, A. K., & Ziobro, G. C. (2012). Prevalence and relative risk of *Cronobacter* spp., *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* associated with the body surfaces and guts of individual filth flies. *Applied and environmental microbiology*, 78(22), 7891–7902.
- Perencevich, E. N., & Perl, T. M. (2012). *Enterococcal infections*. In Elsevier eBooks (pp. 1830–1832). https://doi.org/10.1016/b978-1-4377-1604-7.00299-2
- Phillips, C. D., Phelan, G., Dowd, S. E., McDONOUGH, M. M., Ferguson, A. W., Hanson, J. D., Siles, L., Ordóñez-garza, N., Francisco, M. S., & Baker, R. J. (2012). Microbiome analysis among bats describes influences of host phylogeny, life history, physiology and geography. *Molecular Ecology*, 21(11), 2617–2627.
- Picardeau, M. (2017). Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis: still terra incognita? *Nature Reviews Microbiology*, 15(5), 297–307.
- Pitt, J.I. & Hocking, A.D. (2009) Fungi and Food Spoilage. 3rd Edition, Springer Dordrecht Heidelberg London New York Cambridge, 519 p.
- Popov, I. V., Berezinskaia, I. S., Popov, I. V., Martiusheva, I. B., Tkacheva, E. V., Gorobets, V. E., Tikhmeneva, I. A., Aleshukina, A. V., Tverdokhlebova, T. I., Chikindas, M. L., Venema, K., & Ermakov, A. M. (2023). Cultivable Gut Microbiota in Synanthropic Bats: Shifts of Its Composition and Diversity Associated with Hibernation. *Animals: an open access journal from MDPI*, 13(23), 3658.
- Povolyaeva, O., Chalenko, Y., Kalinin, E., Kolbasova, O., Pivova, E., Kolbasov, D., Yurkov, S., & Ermolaeva, S. (2020). *Listeria monocytogenes* Infection of Bat *Pipistrellus nathusii* Epithelial cells Depends on the Invasion Factors InlA and InlB. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(11), 867.
- Qin, T., Jiang, L. X., Ren, H. Y., Jia, X. Y., Nie, X. D., & Li, Y. N. (2021). Isolation and Characterization of *Vagococcus fluvialis* from Bats. *PubMed*, *34*(10), 834–837.
- Quan, G., Xia, P., Zhao, J., Zhu, C., Meng, X., Yang, Y., Wang, Y., Tian, Y., Ding, X.,
 & Zhu, G. (2018). Fimbriae and related receptors for *Salmonella Enteritidis*. *Microbial Pathogenesis*, 126, 357–362.
- Ramanantsalama, R. V., Andrianarimisa, A., Raselimanana, A. P., & Goodman, S. M. (2018). Rates of hematophagous ectoparasite consumption during grooming by an endemic Madagascar fruit bat. *Parasites & Vectors*, 11(1).
- Raptis, D., Aljareh, A., Shah, U., Tufail, M. U., & Kolli, S. T. (2025). A Case of *Lelliottia amnigena*-Induced Acute Calculous Cholecystitis and a Literature Review. *Cureus*, 17(4), e82743.

Red Latinoamericana y del Caribe para la Conservación de Murciélagos. (s.f.). La Cueva de la Boca México.

https://www.relcomlatinoamerica.net/%C2%BFqu%C3%A9-hacemos/conservacion/aicoms-sicoms/aicoms-sicoms-buscador/ad/sicoms,2/la-boca,176.html

- Reeves, W. K., Beck, J., Orlova, M. V., Daly, J. L., Pippin, K., Revan, F., & Loftis, A. D. (2016). Ecology of bats, their ectoparasites, and associated pathogens on Saint Kitts Island. *Journal of Medical Entomology*, 53(5), 1218–1225.
- Reeves, W. K., Rogers, T. E., Durden, L. A., & Dasch, G. A. (2007). Association of *Bartonella* with the fleas (Siphonaptera) of rodents and bats using molecular techniques. *Journal of vector ecology: journal of the Society for Vector Ecology*, 32(1), 118–122.
- Reichard, J. D., Gonzalez, L. E., Casey, C. M., Allen, L. C., Hristov, N. I., & Kunz, T. H. (2009). Evening emergence behavior and seasonal dynamics in large colonies of Brazilian free-tailed bats. *Journal of Mammalogy*, 90(6), 1478–1486.
- Reisig, D. (2022). Helicoverpa zea (bollworm). Invasive Species Compedium. 26776.
- Renoz, F., Pons, I., Vanderpoorten, A., Bataille, G., Noël, C., Foray, V., Pierson, V., & Hance, T. (2019). Evidence for Gut-Associated *Serratia symbiotica* in Wild Aphids and Ants Provides New Perspectives on the Evolution of Bacterial Mutualism in Insects. *Microbial ecology*, 78(1), 159–169.
- Rodríguez-Aguilar, G., Orozco-Lugo, C. L., Vleut, I., & Vazquez, L. (2017). Influence of urbanization on the occurrence and activity of aerial insectivorous bats. *Urban Ecosystems*, 20(2), 477–488.
- Rodríguez-Moreno, Á., Martínez-Hernández, E. Y., & Fernández, J. A. (2022). A Brazilian free-tailed bat, *Tadarida brasiliensis* (I. Geoffroy, 1824) (Chiroptera, Molossidae), colony in Santa Eulalia, Chihuahua, Mexico, with records of other bat species. *Check List*, 18(6), 1369-1375.
- Rogalla, D., & Bomar, P. A. (2023, July 4). Listeria monocytogenes. StatPearls NCBI Bookshelf. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534838/
- Rojas, E. S., Batzer, J. C., Beattie, G. A., Fleischer, S. J., Shapiro, L. R., Williams, M. A., Bessin, R., Bruton, B. D., Boucher, T. J., Jesse, L. C. H., & Gleason, M. L. (2015).
 Bacterial wilt of cucurbits: Resurrecting a classic pathosystem. *Plant Disease*, 99(5), 564–574.
- Rojero-Vázquez, E., Gordillo-Pérez, G., & Weber, M. (2017). Infection of Anaplasma phagocytophilum and *Ehrlichia* spp. in Opossums and Dogs in Campeche, Mexico: The Role of Tick Infestation. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 5.

- Russell, A. L., Cox, M. P., Brown, V. A., & McCracken, G. F. (2011). Population growth of Mexican free-tailed bats (*Tadarida brasiliensis mexicana*) predates human agricultural activity. *BMC Evolutionary Biology*, 11(1).
- Russo, D., & Ancillotto, L. (2014). Sensitivity of bats to urbanization: a review. *Mammalian Biology*, 80(3), 205–212.
- Salas, B., Conway, H. E., Vacek, D. C., Vitek, C., & Schuenzel, E. L. (2023). Pathogenicity of multiple *Providencia* species (Enterobacteriales: Morganellaceae) to the mass-reared Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Science*, 23(3).
- Santos, L. L. D., Montiani-Ferreira, F., Lima, L., Lange, R., & De Barros Filho, I. R. (2013). Bacterial microbiota of the ocular surface of captive and free-ranging microbats: *Desmodus rotundus, Diameus youngi* and *Artibeus lituratus. Veterinary Ophthalmology*, 17(3), 157–161.
- Scruggs, E. F., Gulley, Z., Steele, G., Alahmadi, M., Barnawi, A., Majrshi, H., & Tiong, H. K. (2024). Recovery of Pasteurization-Resistant *Vagococcus lutrae* from Raw Seafoods Using a Two-Step Enrichment, Its Presumptive Prevalence, and Novel Classification Phenotypes. *Applied Microbiology*, 4(4), 1434–1452.
- Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2001). NOM-087-ECOL-SSA1-2002: Protección ambiental Salud ambiental Residuos peligrosos biológico-infecciosos Clasificación y especificaciones de manejo.
- Secretaría de Salud. (2024, 3 diciembre). Alerta Epidemiológica por *Klebsiella oxytoca*. Gobierno de México. https://www.gob.mx/salud/documentos/alerta-epidemiologica-por-klebsiella-oxytoca
- Selmi, R., Belkahia, H., Dhibi, M., Said, M. B., & Messadi, L. (2021). First case of Ehrlichia canis infection in the common pipistrelle bat (*Pipistrellus pipistrellus*). *Veterinary Record Case Reports*, 9(4).
- Selvin, J., Lanong, S., Syiem, D., De Mandal, S., Kayang, H., Kumar, N. S., & Kiran, G. S. (2019). Culture-dependent and metagenomic analysis of lesser horseshoe bats' gut microbiome revealing unique bacterial diversity and signatures of potential human pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 137, 103675.
- Sens-Junior, H., Trindade, W. A., Oliveira, A. F., Zaniolo, M. M., Serenini, G. F., Araujo-Ceranto, J. B., Gonçalves, D. D., & Germano, R. M. (2018). Bacterial resistance in bats from the Phyllostomidae family and its relationship with unique health. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(6), 1207–1216.
- Shi, Y., Wang, G., Lau, H. C., & Yu, J. (2022). Metagenomic sequencing for microbial DNA in human samples: Emerging technological advances. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2181.

- Shields, B. E., Tschetter, A. J., & Wanat, K. A. (2016). *Staphylococcus simulans*: An emerging cutaneous pathogen. *JAAD Case Reports*, 2(6), 428–429.
- Sikes, R. S. (2016). 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education: *Journal of Mammalogy*, 97(3), 663–688.
- Silva, J. O., Reis, A. C. M., Quesada-Gómez, C., Pinheiro, A. Q., Freire, R. S., Oriá, R. B., & De Carvalho, C. B. M. (2014). In vitro effect of antibiotics on biofilm formation by *Bacteroides fragilis* group strains isolated from intestinal microbiota of dogs and their antimicrobial susceptibility. *Anaerobe*, 28, 24–28.
- Smith, C. S., De Jong, C. E., & Field, H. E. (2010). Sampling Small Quantities of Blood from Microbats. *Acta Chiropterologica*, *12*(1), 255–258.
- Snowden, J., & Simonsen, K. A. (2023, July 17). Rocky Mountain Spotted Fever (*Rickettsia rickettsii*). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430881/
- Socolovschi, C., Kernif, T., Raoult, D., & Parola, P. (2012). *Borrelia, Rickettsia,* and *Ehrlichia* species in bat ticks, France, 2010. *Emerging infectious diseases*, 18(12), 1966–1975.
- Sommers, A. S., Rogers, E. J., & McGuire, L. P. (2019). Migration and reproduction are associated with similar degrees of phenotypic flexibility in an insectivorous bat. *Oecologia*, 190(4), 747–755.
- Spears, R. E., Durden, L. A., & Hagan, D. V. (1999). Ectoparasites of Brazilian free-tailed bats with emphasis on anatomical site preferences for *Chiroptonyssus robustipes* (Acari: Macronyssidae). *Journal of medical entomology*, 36(4), 481–485.
- Stidsholt, L., Scholz, C., Hermanns, U., Teige, T., Post, M., Stapelfeldt, B., Reusch, C., & Voigt, C. C. (2023). Low foraging rates drive large insectivorous bats away from urban areas. *Global Change Biology*, *30*(1).
- Szentivanyi, T., McKee, C., Jones, G., & Foster, J. T. (2023). Trends in Bacterial Pathogens of Bats: global distribution and knowledge gaps. *Transboundary and Emerging Diseases*, 1–17.
- Szubert-Kruszyńska, A., Stańczak, J., Cieniuch, S., Podsiadły, E., Postawa, T., & Michalik, J. (2018). Bartonella and Rickettsia Infections in Haematophagous *Spinturnix myoti* Mites (Acari: Mesostigmata) and their Bat Host, Myotis myotis (Yangochiroptera: Vespertilionidae), from Poland. *Microbial Ecology*, 77(3), 759–768.
- Takano A., Goka K., Une Y., Shimada Y., Fujita H., Shiino T., Watanabe H., Kawabata H. (2010). Isolation and characterization of a novel Borrelia group of tick-borne borreliae from imported reptiles and their associated ticks. *Environ. Microbiol*, 12:134–146.

- Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I. (2021). *Candida albicans*-The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(2), 79.
- Teixeira, L., Merquior, V., & Shewmaker, P. (2014). *Vagococcus*. In Elsevier eBooks (pp. 673–679). https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384730-0.00342-6
- Ter Hofstede, H. M., & Fenton, M. B. (2005). Relationships between roost preferences, ectoparasite density, and grooming behaviour of neotropical bats. *Journal of Zoology*, 266(4), 333–340.
- Terrón-Camero, L. C., Gordillo-González, F., Salas-Espejo, E., & Andrés-León, E. (2022). Comparison of Metagenomics and Metatranscriptomics Tools: A guide to making the right choice. *Genes*, 13(12), 2280.
- Thirumalapura, N., & Walker, D. H. (2015). *Ehrlichia*. In Elsevier eBooks (pp. 2011–2032). https://doi.org/10.1016/b978-0-12-397169-2.00109-8
- Uhler, J., Redlich, S., Zhang, J., Hothorn, T., Tobisch, C., Ewald, J., Thorn, S., Seibold, S., Mitesser, O., Morinière, J., Bozicevic, V., Benjamin, C. S., Englmeier, J., Fricke, U., Ganuza, C., Haensel, M., Riebl, R., Rojas-Botero, S., Rummler, T., . . . Müller, J. (2021). Relationship of insect biomass and richness with land use along a climate gradient. *Nature Communications*, 12(1).
- Ullauri-González, C., & Freire-Cuesta, S. (2019). Citrobacter freundii multirresistente como agente etiológico de infección de vías urinarias. *Kasmera*, 47(1), 09-13.
- Ulloa, M., Lappe, P., Aguilar, S., Park, H., Pérez-Mejía, A., Toriello, C., & Taylor, M, L. (2006). Contribution to the study of the mycobiota present in the natural habitats of *Histoplasma capsulatum*: an integrative study in Guerrero, Mexico. *Revista mexicana de biodiversidad*, 77(2), 153-168.
- United States Department of the Interior. (20 octubre 2021). 13 Awesome Facts About Bats. https://www.doi.gov/blog/13-facts-about-bats
- Vanderwolf, K. J., Malloch, D., & McAlpine, D. F. (2013). A world review of fungi, yeasts, and slime moldes in caves. *International Journal of Speleology*, 42(1), 77-96.
- Vengust, M., Knapic, T., & Weese, J. S. (2018). The fecal bacterial microbiota of bats; Slovenia. *PLoS ONE*, *13*(5), e0196728.
- Villalba-Alemán, E., Bustos, X., Crisante, G., De Jesús, R., Mata, J., Pereira, F., & Muñoz-Romo, M. (2020). Hematological Characterization of Common Bats in Urban Areas from Mérida (Venezuela), and Observations on Possible Hemopathogens. Acta Chiropterologica, 22(2).
- Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S. B., Klaassen, C. H., Perrone, G., Seifert, K. A., Varga, J., Yaguchi, T., & Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in mycology*, 78, 343–371.

- Vlaschenko, A., Răileanu, C., Tauchmann, O., Muzyka, D., Bohodist, V., Filatov, S., Rodenko, O., Tovstukha, I., & Silaghi, C. (2022). First data on bacteria associated with bat ectoparasites collected in Kharkiv oblast, Northeastern Ukraine. *Parasites & vectors*, 15(1), 443.
- Voigt, C. C., Frick, W. F., Holderied, M. W., Holland, R. A., Kerth, G., Mello, M. A. R., Plowright, R. K., Swartz, S. M., & Yovel, Y. (2017). Principles and Patterns of bat Movements: From Aerodynamics to Ecology. *The Quarterly Review of Biology*, 92(3), 267-287.
- Voigt, C.C., Kingston, T. (2016). Bats in the Anthropocene. In: Voigt, C., Kingston, T. (eds) Bats in the Anthropocene: *Conservation of Bats in a Changing World*. Springer, Cham.
- Wasimuddin, N., Brändel, S. D., Tschapka, M., Page, R., Rasche, A., Corman, V. M., Drosten, C., & Sommer, S. (2018). Astrovirus infections induce age-dependent dysbiosis in gut microbiomes of bats. *The ISME Journal*, *12*(12), 2883–2893.
- Wasteson Y. (2001). Zoonotic Escherichia coli. Acta veterinaria Scandinavica. Supplementum, 95, 79–84.
- Wasti, I. G., Khan, F. A. A., Bernard, H., Hassan, N. H., Fayle, T., & Sathiya Seelan, J. S. (2021). Fungal communities in bat guano, speleothem surfaces, and cavern water in Madai cave, Northern Borneo (Malaysia). *Mycology*, *12*(3), 188–202.
- Westerfeld, C., Papaliodis, G. N., Behlau, I., Durand, M. L., & Sobrin, L. (2009). Enterobacter amnigenus endophthalmitis. Retinal cases & brief reports, 3(4), 409–411.
- Wexler, H. M. (2014). *The genus bacteroides*. In Springer eBooks (pp. 459–484). https://doi.org/10.1007/978-3-642-38954-2_129
- Wibbelt, G., Speck S., & Field, H. (2009). Methods for Assessing Diseases in Bats. En T. H. Kunz, S. Parsons (Eds.), *Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats* (2a ed., pp. 775-794). Johns Hopkins University Press.
- Wilkins, K. T. (1989). Tadarida brasiliensis. Mammalian species, (331), 1-10.
- Wolf, J. M., Jeschke, J. M., Voigt, C. C., & Itescu, Y. (2022). Urban affinity and its associated traits: A global analysis of bats. *Global Change Biology*, 28(19), 5667–5682.
- Yano, T., Moe, K. K., Yamazaki, K., Ooka, T., Hayashi, T., & Misawa, N. (2009). Identification of candidate pathogens of papillomatous digital dermatitis in dairy cattle from quantitative 16S rRNA clonal analysis. *Veterinary Microbiology*, *143*(2–4), 352–362.
- Yao, X., Guo, H., Zhang, K., Zhao, M., Ruan, J., & Chen, J. (2023). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in microbiology*, 14, 1160551.

- Zabashta, M. V., Orlova, M. V., Pichurina, N. L., Khametova, A. P., Romanova, L. V., Borodina, T. N., & Zabashta, A. V. (2019). Participation of bats (Chiroptera, mammalia) and their ectoparasites in circulation of pathogens of natural focal infections in the south of Russia. *Entomological Review*, 99(4), 513–521.
- Zaghloul, M. (2014). Bacteria: *Shigella*. In Elsevier eBooks (pp. 523–529). https://doi.org/10.1016/b978-0-12-378612-8.00114-1
- Zárate, M. S., Gales, A. C., PicãO, R. C., Pujol, G. S., Lanza, A., & Smayevsky, J. (2008). Outbreak of OXY-2-Producing *Klebsiella oxytoca* in a Renal Transplant Unit. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(6), 2099–2101.
- Zaytseva, E., Ermolaeva, S., & Somov, G. P. (2007). Low genetic diversity and epidemiological significance of Listeria monocytogenes isolated from wild animals in the far east of Russia. *Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 7(6), 736–742.
- Zhang, Z., Liu, F., Zhou, X., Liu, X., Liu, S., & Cai, L. (2017). Culturable mycobiota from Karst caves in China, with descriptions of 20 new species. Persoonia *Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 39(1), 1–31.
- Zheng, X., Ma, J., Lu, Y., Sun, D., Yang, H., Xia, F., & Tang, B. (2022). Detection of tet(X6) variant–producing Proteus terrae subsp. cibarius from animal cecum in Zhejiang, China. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 29, 124–130.
- Zhou, Y., & Luo, G. H. (2019). *Porphyromonas gingivalis* and digestive system cancers. *World journal of clinical cases*, 7(7), 819–829.

12. ANEXOS

Anexo 1. Análisis metagenómico de bacterias en guano de T. brasiliensis

https://docs.google.com/spreadsheets/d/1dk69Q57N0F14EgIO1Ngdc0sIHU3joWvmP Ws8U baGTk/edit?usp=sharing

